



โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ สมบัติการต้านออกซิเดชันของผักข่า (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng) ในประเทศไทย และการประยุกต์ในไข่แดงเต็มผง

ชื่อนิสิต นายพลตรี อธิฐโก
นายอัทม์ชลัมพล ฉันทติลก

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

ปีการศึกษา 2561

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการทางวิชาการที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการทางวิชาการที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of senior projects in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)

are the senior project authors' files submitted through the faculty.

สมบัติการต้านออกซิเดชันของฟักข้าว (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng) ใน
ประเทศไทย และการประยุกต์ในไข่แดงเค็มผง

โดย

นายพลตรี อธิฐกอ
นายอัทธ์ชลัมพล ฉันทติลล

อาจารย์ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์ ดร. นินนาท ชินประหัชชูลู

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ประจำปีการศึกษา 2561

ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF THAI GAC (*Momordica cochinchinensis* (Lour.)
Spreng) AND THE APPLICATION IN SALTED EGG YOLK POWDER

Pontree Itkor
Autchalumpol Chantadilok

Project Advisor

Assoc. Prof. Ninnart Chinprahast, Ph.D.

A Report Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Bachelor of Science Program in Food Technology
Department of Food Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2018

| | |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| หัวข้องานวิจัย | สมบัติการต้านออกซิเดชันของฟักข้าว (<i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) Spreng) ในประเทศไทย และการประยุกต์ในไข่แดงเค็มผง |
| โดย | นายพลตรี อธิกร นายอัครวัฒน์พล ฉันทติลิก |
| สาขาวิชา | เทคโนโลยีทางอาหาร |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | รองศาสตราจารย์ ดร. นินนาท ชินประห์ชัย |
| ปีการศึกษา | 2561 |

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ประจำปีการศึกษา 2561


.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. นินนาท ชินประห์ชัย)
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร


.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. นินนาท ชินประห์ชัย)
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

| | |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| หัวข้องานวิจัย | สมบัติการต้านออกซิเดชันของฟักข้าว (<i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) Spreng) ในประเทศไทย และการประยุกต์ในไข่แดงเค็มผง |
| โดย | นายพลตรี อธิฐกอ นายอัทม์ชลัมพล ฉันทติลล |
| สาขาวิชา | เทคโนโลยีทางอาหาร |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | รองศาสตราจารย์ ดร. นินนาท ชินประห์ชัย |
| ปีการศึกษา | 2561 |

บทคัดย่อ

ฟักข้าว เป็นพืชวงศ์แตงกวาที่อุดมไปด้วยสารต้านออกซิเดชัน ได้แก่ โไลโคปีน และบีตาแคโรทีน โดยที่ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดมีปริมาณสารต้านออกซิเดชันมากที่สุด งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันของฟักข้าว โดยสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ hexane : acetone : ethanol อัตราส่วน 2 : 1 : 1 ethanol : hexane อัตราส่วน 4 : 3 และ hexane : acetone อัตราส่วน 3 : 2 แปรอัตราส่วนเนื้อเยื่อพืชต่อตัวทำละลายเป็น 1 : 5, 1 : 10 และ 1 : 20 วิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด และสมบัติการต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) พบว่าตัวทำละลาย hexane : acetone : ethanol อัตราส่วน 2 : 1 : 1 และสัดส่วนเนื้อเยื่อพืชต่อตัวทำละลายเป็น 1 : 20 มีประสิทธิภาพในการสกัดดีที่สุด และนำฟักข้าว (ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ด) มาประยุกต์ในไข่แดงเค็มผง ในปริมาณ 200 และ 400 mg total carotenoid content/kg salted egg yolk powder เปรียบเทียบกับสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (butylated hydroxyl anisole, BHA) 200 ppm และตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านต่างๆ โดยการวิเคราะห์ค่าสี, ค่า water activity (a_w), conjugated diene (CD) และ thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ที่เวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ พบว่า ไข่แดงเค็มผงที่มีการเติม BHA ให้ประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันสูงสุด โดยมีค่า CD 5.66 $\mu\text{mol/g}$ salted egg yolk powder และค่า TBARS 0.132 mg malondialdehyde/kg salted egg yolk powder ณ สัปดาห์ที่ 8 ของการเก็บรักษา รองลงมาคือ ปริมาณเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 400, 200 ppm และตัวอย่างควบคุม ตามลำดับ ส่วนค่า lightness (L^*) ต่ำกว่า ขณะที่ค่า redness (a^*) และ yellowness (b^*) สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อปริมาณเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวเพิ่มขึ้น และเมื่อเวลาเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่าการเติมเยื่อหุ้มเมล็ดปริมาณสูงสุดช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันได้ดีพอๆ กับ BHA

Project title Antioxidant activities of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng) and the application in salted egg yolk powder

Student name Mr. Pontee Itkor
Mr. Autchalumpol Chantadilok

Study Program Bachelor of Science in Food Technology

Advisor Assoc. Prof. Ninnart Chinprahast, Ph.D.

Department Food Technology

Academic Year 2018

Abstract

Momordica cochinchinensis (Lour.) Spreng belongs to the Cucumber family which is abundant with antioxidative carotenoid compounds, such as lycopene and beta-carotene. Where the aril (seed coat) has the most antioxidant content. The objective of this research was to study the antioxidant activities of *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng by extraction with three different types of solvent including hexane : acetone : ethanol; ethanol : hexane and hexane : acetone at ratios of 2 : 1 : 1; 4 : 3 and 3 : 2, respectively and with the ratios of plant tissue to solvent at 1 : 5; 1 : 10 and 1 : 20. The extracts were analyzed for the total amount of carotenoids and their antioxidant properties with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and ferric reducing antioxidant power (FRAP). It was found that the hexane : acetone : ethanol ratio (2 : 1 : 1) and the ratio of plant tissue to solvent at 1 : 20 were more appropriate. Then the arils were applied in salted egg yolk powder at 200 and 400 mg total carotenoid content/kg in comparison with synthetic antioxidant (butylated hydroxyl anisole, BHA) at 200 ppm and control samples (without any antioxidant) and the sample were stored at room temperature (30°C). Alterations of their properties by color analysis, water activity (a_w), conjugated diene (CD) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) at 0, 2, 4, 6 and 8 weeks were appraised. It was found that the salted egg yolk powder added with BHA gave the highest antioxidant efficiency with the CD value of 5.66 $\mu\text{mol/g}$ salted egg yolk powder and the TBARS value of 0.132 mg malondialdehyde/kg salted egg yolk powder at 8 weeks. BHA had the highest antioxidant efficiency followed by 400, 200 ppm of the fruit aril and the control, the lightness (L^*) was lower while the redness (a^*) and yellowness (b^*) values were higher ($p \leq 0.05$) when the amount of aril was increased. An addition of aril at the highest level could comparably help increase antioxidant efficiencies to those of BHA.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของการเรียนการสอนตามหลักสูตรในระดับปริญญาบัณฑิตของภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งได้รับเงินทุนอุดหนุนจากงบประมาณของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ปีการศึกษา 2561 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ.ดร.นินนาท ชินประห์ชัย ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ เป็นอย่างสูงที่ได้ให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ รวมทั้งความช่วยเหลือต่างๆ อันเป็นประโยชน์แก่งานวิจัยมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านที่กรุณาถ่ายทอดความรู้อันมีค่าตลอดหลักสูตรจนผู้วิจัยสามารถนำมาบูรณาการให้เกิดเป็นงานวิจัยนี้ได้อย่างสมบูรณ์

ขอขอบคุณหัวหน้าห้องปฏิบัติการ บุคลากร รุ่นพี่นิสิต และเพื่อนนิสิตทุกท่านในภาควิชาฯ ที่อำนวยความสะดวกและให้ความช่วยเหลือทุกๆ ด้านจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษา และการวิจัยในหัวข้อที่เกี่ยวข้องต่อไปในอนาคต

นายพลตรี อธิฐกอ

นายอัฒม์ชัลล์พล ฉันทติลล

สารบัญ

| | หน้า |
|-------------------------------------|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | ง |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | จ |
| กิตติกรรมประกาศ..... | ฉ |
| สารบัญตาราง..... | ช |
| สารบัญรูป..... | ฌ |
| บทที่ | |
| 1. บทนำ..... | 1 |
| 2. วารสารปริทัศน์..... | 4 |
| 3. วิธีดำเนินการวิจัย..... | 15 |
| 4. ผลการวิจัยและการอภิปรายผล..... | 22 |
| 5. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... | 32 |
| เอกสารอ้างอิง..... | 33 |
| ภาคผนวก..... | 39 |
| ภาคผนวก ก..... | 40 |
| ภาคผนวก ข..... | 54 |
| ภาคผนวก ค..... | 56 |
| ภาคผนวก ง..... | 61 |

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | หน้า |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 2.1 ส่วนประกอบทางเคมีของไข่เค็ม..... | 14 |
| 4.1 องค์ประกอบโดยประมาณของเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว..... | 22 |
| 4.2 ค่า total carotenoid content ของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่ใช้ตัวทำละลาย และสัดส่วนเนื้อเยื่อพืชต่อตัวทำละลายแตกต่างกัน..... | 23 |
| 4.3 ค่า DPPH radical scavenging activity และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) ของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่ใช้ตัวทำละลาย และสัดส่วนเนื้อเยื่อพืชต่อตัวทำละลายแตกต่างกัน..... | 24 |
| 4.4 ค่า water activity ของตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง..... | 27 |
| ข.1 ค่าสีของตัวอย่างตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง..... | 54 |
| ข.2 ค่า conjugated diene ($\mu\text{mol/g}$ egg powder) ของตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30 °C)..... | 55 |
| ข.3 ค่า thiobarbituric acid reactive substances (mg malondialdehyde /kg egg powder) ของตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30 °C)..... | 55 |
| ค.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า total carotenoid content..... | 56 |
| ค.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับ DPPH radical scavenging activity..... | 56 |
| ค.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า ferric reducing antioxidant power (FRAP). .. | 57 |
| ค.4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า water activity (a_w)..... | 57 |
| ค.5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า L* (lightness)..... | 58 |
| ค.6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า a* (redness)..... | 58 |
| ค.7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า b* (yellowness)..... | 59 |
| ค.8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า CD (conjugated diene)..... | 59 |
| ค.9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า TBARS (thiobarbituric acid reactive substances)..... | 60 |

สารบัญรูป

| รูปที่ | | หน้า |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 2.1 | ปริมาณไลโคปีนในผักข้าว เปรียบเทียบกับผัก และผลไม้ชนิดต่างๆ | 4 |
| 2.2 | ส่วนประกอบต่างๆ ของผลผักข้าว..... | 5 |
| 2.3 | หน่วยไอโซพรีน (a) และ โครงสร้างของไลโคปีน (b)..... | 6 |
| 2.4 | ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการวิเคราะห์ FRAP..... | 9 |
| 2.5 | ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการวิเคราะห์ DPPH..... | 10 |
| 2.6 | ปฏิกิริยาขั้น Initiation..... | 11 |
| 2.7 | ปฏิกิริยาขั้น Propagation..... | 11 |
| 2.8 | ปฏิกิริยาขั้น Termination..... | 12 |
| 2.9 | การเกิด conjugated diene และ malondialdehyde ระหว่างปฏิกิริยาออกซิเดชัน..... | 13 |
| 2.10 | ปฏิกิริยาระหว่าง 2-thiobarbituric acid (TBA) กับ malonaldehyde (MDA)..... | 13 |
| 4.1 | ค่า L* ของตัวอย่างตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการ เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง..... | 28 |
| 4.2 | ค่า a* ของตัวอย่างตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการ เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง..... | 28 |
| 4.3 | ค่า b* ของตัวอย่างตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการ เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง..... | 29 |
| 4.4 | ค่า conjugated diene ($\mu\text{mol/g}$ salted egg yolk powder) ของตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่ เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง..... | 30 |
| 4.5 | ค่า thiobarbituric acid reactive substances (mg malondialdehyde /kg salted egg yolk powder) ของตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่าง การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง..... | 31 |
| ก.1 | กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด..... | 47 |
| ก.2 | กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์สมบัตการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH..... | 49 |
| ก.3 | กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์สมบัตการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP..... | 51 |
| ก.4 | กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ค่า TBARS..... | 53 |

บทที่ 1

บทนำ

ฟักข้าว (Gac) เป็นพืชไม้เลื้อยอยู่ในวงศ์แตงกวา และมะระที่นิยมปลูกกันในทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยนิยมรับประทานผล และยอดอ่อน เนื่องจากมีการศึกษาทางการแพทย์ที่พบว่าส่วนต่างๆ ของฟักข้าวมีสรรพคุณเด่น โดยเฉพาะผลสุกมีสารประกอบของบีตาแคโรทีน และไลโคปีน ซึ่งเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยส่วนต่างๆ ของผลฟักข้าวให้ปริมาณของสารประกอบชนิดต่างๆ ไม่เท่ากัน ดังนั้นหากมีการศึกษาการใช้ปัจจัยที่เหมาะสมในการสกัด เพื่อให้ได้ปริมาณสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมากที่สุด แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปประยุกต์ในอาหารที่มีน้ำมันหรือไขมันเป็นองค์ประกอบเพื่อหน่วงเหนี่ยวหรือป้องกันการเกิดออกซิเดชันอันเป็นเหตุให้เกิดกลิ่นรสหืน จะเป็นการช่วยรักษาคุณภาพของอาหาร และเป็นการนำพืชพื้นเมืองภายในประเทศมาใช้ประโยชน์สูงสุดสำหรับอุตสาหกรรมอาหารได้

ไข่เค็มเป็นผลิตภัณฑ์ไข่แปรรูปที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในประเทศจีน และยังแพร่กระจายไปในหลายๆ ประเทศทั่วทวีปเอเชีย โดยประเทศไทยเป็นอีกประเทศหนึ่งที่มีการแปรรูปอาหารชนิดดังกล่าวเพื่อเป็นการถนอมไข่เป็ดให้มีอายุการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น ในต่างประเทศ อาทิ ประเทศสิงคโปร์ มีการใช้ไข่เค็มผง (salted egg powder) แทนการใช้ไข่เค็มปกติ เพื่อเพิ่มความสะดวกในการนำไปประกอบอาหาร และเพิ่มมูลค่าให้กับไข่เค็ม แต่ในประเทศไทย การนำไข่เค็มผงไปประกอบอาหารยังไม่เป็นที่แพร่หลายนัก อีกทั้งไข่เค็มรูปแบบปกติที่มีการซื้อขายกัน ยังประสบปัญหาในเรื่องของการเน่าเสียค่อนข้างง่าย ผลิตภัณฑ์ที่ขายในประเทศไทยจึงเป็นเพียงผงปรุงรสแต่งกลิ่นรสไข่เค็ม ทั้งนี้ไข่แดงจะมีกรดไขมันอยู่หลายประเภท รวมถึงกรดไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแล้วเกิดกลิ่นรสหืนจึงทำให้ส่งผลต่อเสถียรภาพและอายุในการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ จึงควรเติมสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันลงไปเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา และหากเป็นไปได้ควรหลีกเลี่ยงการใช้สารสังเคราะห์ เนื่องจากสารดังกล่าวอาจก่ออันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค ดังนั้นจึงมีการตระหนักถึงความสำคัญของการใช้สารต้านออกซิเดชันที่สกัดได้จากธรรมชาติ โดยมีผลงานวิจัยมากมายที่ศึกษาเปรียบเทียบการใช้สารสังเคราะห์ และสารสกัดจากธรรมชาติ พบว่าสารสกัดจากธรรมชาติในปริมาณที่เหมาะสม มีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันได้ดีกว่า หรือเทียบเท่ากับสารสังเคราะห์

1.1 วัตถุประสงค์ของโครงการ

- วิเคราะห์และเปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ดห่มเมลิ็ดฟักข้าว เมื่อใช้ชนิดของตัวทำละลาย และอัตราส่วนเห็ดห่มเมลิ็ดฟักข้าวต่อตัวทำละลายที่แตกต่างกัน
- ศึกษาและเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีของไข่แดงเค็มผงที่ประยุกต์กับเนื้อเห็ดฟักข้าว โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลาต่างๆ

1.2 ขอบเขต/กรอบแนวคิดของการวิจัย

1.2.1 ขอบเขตเนื้อหา

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาเกี่ยวกับสมบัติการต้านออกซิเดชันของฟักข้าว และการประยุกต์ในผลิตภัณฑ์ไข่แดงเค็มผง

- การศึกษาเกี่ยวกับฟักข้าว
- การศึกษาเกี่ยวกับปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน และสารต้านออกซิเดชัน
- การศึกษาเกี่ยวกับการสกัด
- การศึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์
- การศึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชัน
- การศึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์การเกิดออกซิเดชันของไขมัน
- การศึกษาเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ไข่แดงเค็มผง

1.2.2 ขอบเขตระยะเวลา

ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย ตั้งแต่เดือนสิงหาคม 2561 ถึงเดือน เมษายน 2562

โดยจะทำการศึกษาที่ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร และห้องปฏิบัติการประกันคุณภาพอาหารและพัฒนาผลิตภัณฑ์ ณ อาคารมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

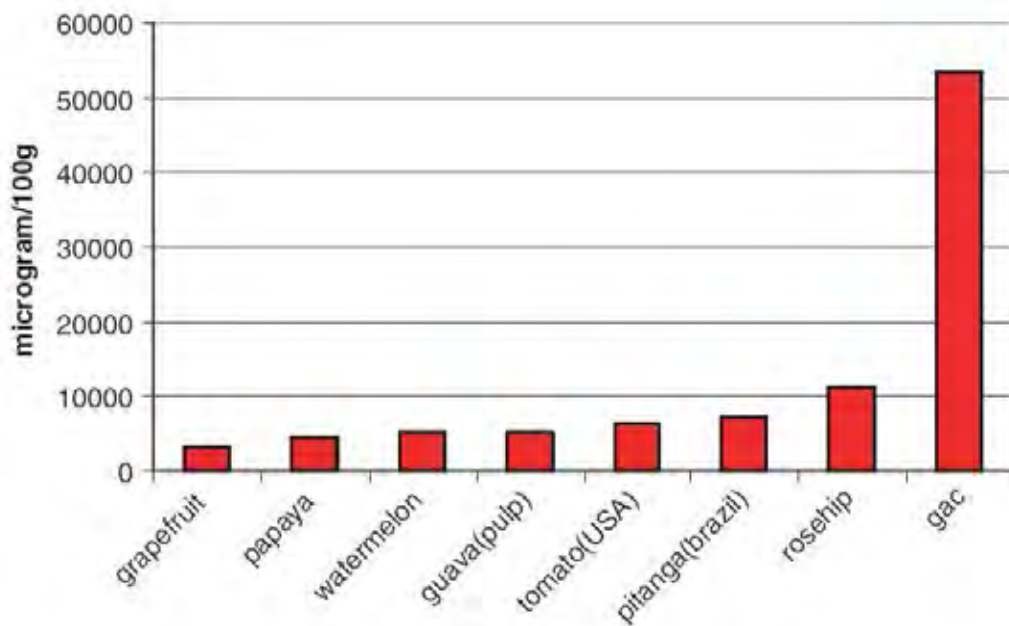
- ทราบชนิดของตัวทำลาย และอัตราส่วนของเชื้อหุ้มเมล็ดพืชข้าวต่อตัวทำลายในการสกัดเพื่อให้ได้สมบัติการต้านออกซิเดชันที่เหมาะสม
- ทราบสัดส่วนของเนื้อเยื่อพืชข้าวที่เหมาะสมในการประยุกต์กับไข่เค็มผง เพื่อการหน่วงเหนี่ยว หรือยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง โดยเปรียบเทียบกับสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

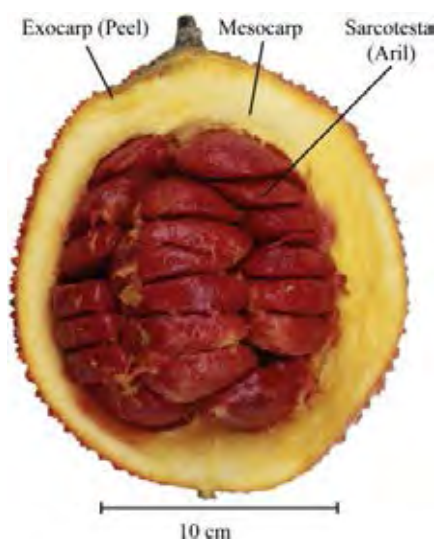
2.1 ฟักข้าว (Gac fruit)

ฟักข้าวเป็นพืชไม้เลื้อยอยู่ในวงศ์แตงกวา (Cucurbitaceae) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng นิยมปลูกกันทางตอนเหนือของประเทศเวียดนามและในหลายๆประเทศในทวีปเอเชีย อาทิ บังคลาเทศ จีน และอินเดีย (Vuong และคณะ, 2006) ส่วนต่างๆ ของฟักข้าวมีสรรพคุณเด่น โดยเฉพาะผลสุกมีส่วนประกอบของปีตาแคโรทีน และไลโคปีน (Aoki และคณะ, 2002) ปัจจุบันมีการศึกษาทางการแพทย์ที่พบว่าไลโคปีนมีส่วนช่วยในการลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ และการเกิดมะเร็งที่อวัยวะต่างๆ ได้ โดยเฉพาะมะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งปอด และมะเร็งกระเพาะอาหาร (Goula และ Adamopoulos, 2005) อีกทั้งมีผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าเยื่อหุ้มเมล็ดและน้ำมันจากฟักข้าวเป็นแหล่งของแคโรทีนและไลโคปีน (Vuong และคณะ, 2003) โดย West และ Poortvliet (1993) ได้ศึกษาพบว่าฟักข้าวมีปริมาณไลโคปีนสูงกว่าผัก และผลไม้ทั่วไปชนิดอื่นๆ ดังแสดงใน รูปที่ 2.1.1



รูปที่ 2.1 ปริมาณไลโคปีนในฟักข้าว เปรียบเทียบกับผัก และผลไม้ชนิดต่างๆ

ฟักข้าวผลหนึ่งๆ จะมีปริมาณแคโรทีนอยด์ที่แตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ รวมไปถึงส่วนที่แตกต่างกัน ในฟักข้าวผลเดียวกันก็มีปริมาณของแคโรทีนอยด์ที่ต่างกัน จากการศึกษาของ Kubola และ Siriamornpun (2011) ได้ผลสรุปว่าส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด (aril) มีปริมาณของไลโคปีนและบีตาแคโรทีนมากที่สุด



รูปที่ 2.2 ส่วนประกอบต่างๆ ของผลฟักข้าว

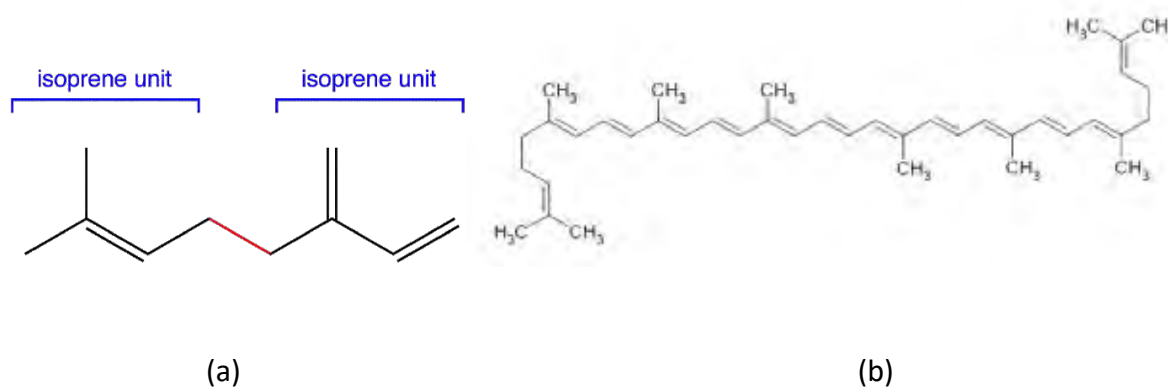
2.2 แคโรทีนอยด์ (carotenoids)

แคโรทีนอยด์เป็นสารประกอบที่พบตามธรรมชาติ เพื่อประโยชน์ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงในพืช สาหร่าย และแบคทีเรียสังเคราะห์แสง โดยส่วนใหญ่แคโรทีนอยด์จะทำให้ส่วนต่างๆ ของพืชมีสีเหลือง สีส้ม และสีแดง แม้ว่าร่างกายของมนุษย์จะไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้ แต่สารประกอบนี้มีบทบาทที่สำคัญในกระบวนการทางชีวภาพ เช่น มีส่วนในช่วยการพัฒนาตัวอ่อนและระบบสืบพันธุ์ เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน และยังเป็นเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) (Müller-Maatsch และคณะ, 2017)

แคโรทีนอยด์พบได้ในสัตว์บางชนิดเช่น นก ปลา กุ้ง และแมลง อย่างไรก็ตามสัตว์อีกหลายชนิดรวมทั้งมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้ ดังนั้นการรับประทานอาหารจึงเป็นวิธีเดียวที่จะได้รับแคโรทีนอยด์ (Amorim-Carrilho และคณะ, 2014) ปริมาณของสารพฤกษเคมี (phytochemicals) เช่น แคโรทีนอยด์ จะแตกต่างกันไปโดยขึ้นกับปัจจัย เช่น การเพาะปลูก สภาพอากาศที่เกิดขึ้นในช่วงก่อนการเก็บเกี่ยว และสายพันธุ์ของพืชนั้นๆ (Degl'Innocenti และคณะ, 2008) นอกจากนั้นส่วนต่างๆ ของพืชผักก็มีปริมาณสารประกอบนี้แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น Ranveer และคณะ (2000) และ Patil และคณะ (2013) พบว่าในเปลือกของมะเขือเทศมีปริมาณของไลโคปีนสะสมมากกว่าส่วนอื่นๆ ของผลอย่างมีนัยสำคัญ

โครงสร้างของแคโรทีนอยด์

โครงสร้างพื้นฐานของแคโรทีนอยด์คือ ไลโคปีน (lycopene) โดยโครงสร้างของไลโคปีนจะประกอบไปด้วยหน่วยไอโซพรีน (isoprene) จำนวน 8 หน่วย เป็นไฮโดรคาร์บอนชนิดไม่อิ่มตัว มีพันธะคู่หลายตำแหน่ง โดยต่อกันแบบพันธะคู่สลับกับพันธะเดี่ยว (conjugated double bond)



รูปที่ 2.3 หน่วยไอโซพรีน (a) และ โครงสร้างของไลโคปีน (b)

แคโรทีนอยด์สามารถจำแนกเป็น 2 กลุ่มคือ

1. กลุ่มแคโรทีน (carotenes) เป็นสารสีแดงหรือสีส้ม มีโครงสร้างโมเลกุลที่ประกอบด้วยสายไฮโดรคาร์บอน ที่ไม่มีขั้ว และละลายได้ในลิพิด (lipid) ตัวอย่างของแคโรทีนอยด์ในกลุ่มนี้ได้แก่ บีตาแคโรทีน (β -carotene) และ ไลโคปีน
2. กลุ่มแซนโทฟิลล์ (xanthophylls) เป็นสารสีเหลืองหรือสีน้ำตาล มีอะตอมของออกซิเจนอยู่ในโมเลกุล จึงมีความเป็นขั้วมากกว่าและละลายในลิพิด ได้น้อยกว่าแคโรทีน แคโรทีนอยด์ในกลุ่มนี้ได้แก่ lutein และ astaxanthin

แคโรทีนอยด์ในอาหาร

ในอาหารทั่วไปจะมีปริมาณสารประกอบกลุ่มนี้แปรค่าไปตามสีของผัก หรือผลไม้ต่างๆ (Rao และ Rao, 2007)

- ผักและผลไม้ที่มีสีเหลือง และส้มเป็นหลักจะพบแคโรทีนอยด์ในกลุ่มของบีตาแคโรทีน (β -carotene) และแอลฟาแคโรทีน (α -carotene)
- ผลไม้ที่มีสีส้มจะพบกลุ่มของแอลฟาคริปโทแซนทิน (α -cryptoxanthin)
- ผักที่มีสีเขียวเข้ม และไข่แดงจะพบกลุ่มของสารลูทีน (lutein) และซีแซนทิน (zeaxanthin)
- มะเขือเทศจะพบกลุ่มของไลโคปีน
- ผักและผลไม้ที่พบบีตาแคโรทีนในปริมาณมาก ได้แก่ หัวผักกาด ผักโขม มะม่วง พริก พักทอง และแครอท ส่วนแอลฟาแคโรทีนจะพบได้ในผักที่มีสีส้ม เช่น แครอท มันฝรั่ง และพักทอง และผักที่มีสีเขียวเข้ม เช่น บร็อคโคลี่ ถั่วเขียว และผักขม ส่วนแอลฟาคริปโทแซนทินพบในปริมาณมากใน ส้มแมนดาริน มะละกอ ข้าวโพด และถั่วลิสง

2.3 การสกัดสารกลุ่มแคโรทีนอยด์

อาหารหลากหลายประเภทโดยเฉพาะพืชที่มีแคโรทีนอยด์เป็นองค์ประกอบ จะมีปริมาณสารที่แตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ หรือส่วนที่แตกต่างกันในพืชชนิดเดียวกัน ดังนั้นจึงไม่มีวิธีการที่ได้รับการยอมรับโดยทั่วไป หรือวิธีมาตรฐานสำหรับการสกัดแคโรทีนอยด์ในห้องปฏิบัติการ (Canela และ Rivera, 2012)

มีการนำตัวทำละลายอินทรีย์หลายชนิดมาใช้ในการวิเคราะห์ แคโรทีนอยด์ เนื่องจากโครงสร้างที่หลากหลายของแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดที่มีสภาพความเป็นขั้วแตกต่างกัน จึงเป็นสาเหตุสำคัญในการเลือกตัวทำละลายที่จะใช้ในการสกัด ตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น เฮกเซน (hexane) เป็นตัวเลือกที่ดีที่สุดที่จะใช้ในการสกัดแคโรทีนอยด์ที่ไม่มีขั้ว เช่น แคโรทีน ส่วนตัวทำละลายที่มีขั้วอย่างเอทานอล (ethanol) และอะซิโตน (acetone) เป็นตัวเลือกที่ดีที่สุดที่จะใช้ในการสกัดแคโรทีนอยด์ที่มีขั้ว เช่น แซนโทฟิลล์

การสกัดแคโรทีนอยด์จะใช้ตัวทำละลายเป็น อะซิโตน เอทานอล THF (tetrahydrofuran) เฮกเซน โทลูอิน (toluene) ไดเอทิลอีเทอร์ (diethyl ether) เมทานอล (methanol) เอทิล อะซิเตท (ethyl acetate) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) ปีโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) คลอโรฟอร์ม (chloroform) และบิวทานอล (butanol) การศึกษาส่วนใหญ่นิยมใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายตามด้วย อะซิโตน เมทานอล และ THF อย่างไรก็ตามสารละลายที่ใช้ในการสกัดแคโรทีนอยด์จะอยู่ในรูปสารผสม เช่น เอทานอล : เฮกเซน ในอัตราส่วน 4 : 3 หรือ เฮกเซน : อะซิโตน : เอทานอล ในอัตราส่วน 2 : 1 : 1 ในการศึกษา

เปรียบเทียบการสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายด้วยตัวทำละลายต่างๆ พบว่าเฮกเซน ไตคลอโรมีเทน ไดเอทิลอีเทอร์ และ THF มีประสิทธิภาพในการสกัดดีขึ้นหลังจากทำให้ตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (homogenizer) และผสมตัวทำละลายเหล่านี้ด้วยเอทานอล (Sarkar และคณะ, 2012)

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแคโรทีนอยด์

โครงสร้างพื้นฐานของแคโรทีนอยด์จะประกอบไปด้วยหน่วยไอโซพรีนจำนวน 8 หน่วย เป็นสารไฮโดรคาร์บอนชนิดไม่อิ่มตัว มีพันธะคู่หลายตำแหน่ง โดยต่อกันแบบพันธะคู่สลับกับพันธะเดี่ยว ส่งผลให้แคโรทีนอยด์ มีสภาพที่ไวต่อปฏิกิริยาที่เกิดจากตัวแปรบางประเภท โดยเฉพาะอย่างยิ่งแสง ความร้อน กรด และออกซิเจน (Amante และคณะ, 2011) พบสารประกอบนี้ได้ในธรรมชาติทั้งในรูปแบบอิสระ และรูปแบบที่มีเสถียรภาพเนื่องจากเกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันกับกรดไขมัน เนื่องจากมีความแปรปรวนของโครงสร้างทางเคมีสูง และเสถียรภาพที่ไม่ดีของแคโรทีนอยด์ ส่งผลให้การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ค่อนข้างขาดประสิทธิภาพ

การเลือกวิธีที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ในพืชขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการศึกษา รวมถึงงบประมาณที่มีในการวิจัย การวิเคราะห์ชนิด และปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ถูกต้อง และแม่นยำ ในปัจจุบันนิยมใช้วิธีการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC) (Iltle และ Kabelka, 2009) แต่เนื่องจากเครื่องมือดังกล่าวมีราคาแพง และมีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ค่อนข้างสูง อีกทั้งมีขั้นตอนในการดำเนินงานที่ยาก จึงมีการเลือกวิธีอื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกลุ่มแคโรทีนอยด์แทนการใช้เครื่อง HPLC

สารแคโรทีนอยด์ที่พบในผักข้าวส่วนใหญ่คือ ไลโคปีน และบีตาแคโรทีน จากการตรวจสอบพบว่า ในพืชหลายชนิด สีของเนื้อเยื่อมีความสัมพันธ์กับปริมาณแคโรทีนอยด์ ดังนั้นจึงมีการศึกษาหาความสัมพันธ์ของสีเนื้อเยื่อ โดยใช้ระบบ CIE ซึ่งมีค่า L^* , a^* , b^* , chroma และ hue angle กับปริมาณไลโคปีน และบีตาแคโรทีนในส่วนต่างๆ ของผักข้าว ทั้งนี้ลักษณะเฉพาะของสารประกอบแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดสามารถตรวจสอบยืนยันได้ด้วยวิธีการแยกสาร และตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณสำหรับตัวอย่างที่เป็นของเหลว (liquid chromatography) ควบคู่กับ แมสสเปกโตรเมทรี (mass spectrometry) (LC-MS) (Tran, 2007)

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด

Tran (2007) ได้คิดค้นวิธีการวิเคราะห์ ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (total carotenoids) โดยใช้ spectrophotometer เนื่องจากไลโคปีน และบีตาแคโรทีนมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากัน และเป็นสารประกอบแคโรทีนอยด์หลักในเยื่อหุ้มเมล็ดพืช จึงสามารถวัดปริมาณไลโคปีน และบีตาแคโรทีนรวมกันในรูปผลรวมของสารทั้งสอง แล้วคิดเป็นปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดได้ ซึ่งสามารถหาได้จากจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 473 นาโนเมตรเทียบกับสารละลายมาตรฐานของบีตาแคโรทีน หรือไลโคปีน

2.6 การวิเคราะห์สมบัตินอกออกซิเดชัน

Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

FRAP assay เป็นวิธีการตรวจวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชัน (AH) ที่จะไปรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของ ferric ion และ 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride (TPTZ) โดยจะรีดิวซ์ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+} เกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน Fe^{2+} -TPTZ (Fe^{2+} tripyridyltriazine) และวัดการเปลี่ยนแปลงโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ซึ่งนิยมใช้กราฟมาตรฐานของ Trolox และรายงานค่าในรูปของ $\mu\text{mol Trolox equivalent/g sample}$ (Alam และคณะ, 2013; Benzie และ Strain, 1996)



รูปที่ 2.4 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการวิเคราะห์ FRAP

DPPH radical scavenging activity

การใช้ข้อมูล 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากพืช ถือเป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการถ่ายโอนอะตอมไฮโดรเจน หรืออิเล็กตรอนของสารสกัด และสารประกอบบริสุทธิ์ โดยใช้ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) เป็น reagent (Gulluce และคณะ, 2007; Nagarajan และคณะ, 2017)

หลักการ คือ DPPH• เป็น stable radical ชนิดหนึ่ง เมื่อละลายอยู่ในตัวทำละลายจะให้สารละลายสีม่วง ซึ่งสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่นในช่วง 515-517 nm เมื่อเติมสารต้านออกซิเดชัน (AH) ลงไป DPPH• จะเกิดปฏิกิริยารีดักชันกับสารดังกล่าว หรืออาจเกิดกับสารกลุ่ม radical species (R•) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคือ สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง ซึ่งทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ตรวจวัดได้ในช่วงความยาวคลื่นสูงสุดของ DPPH• มีค่าลดลง



รูปที่ 2.5 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการวิเคราะห์ DPPH

การรายงานค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารตัวอย่างนิยมรายงานเป็นค่า 50% effective concentration (EC₅₀) คือ ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH• ลดลง 50 % โดยค่านี้สามารถหาได้จากการสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับ %radical scavenging activity นอกจากนี้ยังสามารถรายงานค่าในรูปแบบอื่นๆ ได้แก่ การเทียบกับสารมาตรฐานต่างๆ เช่น Trolox ในหน่วย mmol Trolox equivalent/g sample ได้เช่นเดียวกัน โดยวิธีนี้มีข้อดีคือ ทำได้ง่าย นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ

2.7 ปฏิกริยาออกซิเดชัน

ปฏิกริยาออกซิเดชันคือปฏิกริยาที่เกิดอนุมูลจากการสูญเสียอิเล็กตรอนในอะตอมหรือโมเลกุลของสารใดๆ ให้แก่สารอื่นหรือสิ่งแวดล้อม เกิดได้จากหลายปัจจัย ได้แก่ ชนิดรวมถึงปริมาณของกรดไขมัน ความเข้มข้นของออกซิเจน อุณหภูมิ พื้นที่ผิวต่อปริมาตร ความชื้น และสารต้านออกซิเดชัน (Richardson และ Korycka-Dahl, 1983) ซึ่งการเกิดออกซิเดชันของไขมันหมายถึงการเสียหายของไขมันที่มีพันธะคู่ในโมเลกุลจากการเกิดออกซิเดชัน (Devasagayam และคณะ, 2003) แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

ปฏิกริยาขั้นเริ่มต้น (initiation)

กรดไขมันถูกกระตุ้นจาก initiator หรือ catalyst ($\text{In}\cdot$) ได้แก่ ออกซิเจน ความร้อน แสง หรือไอออนของโลหะ ส่งผลให้เกิดการแตกตัวของไฮโดรเจนเกิดเป็นอนุมูลอิสระของกรดไขมัน (alkyl radical : $\text{R}\cdot$) ซึ่งมักเกิดกับ allylic hydrogen ซึ่งเป็นไฮโดรเจนที่อยู่ ณ หมู่เมทิลีน เนื่องจากมีพลังงานพันธะน้อย

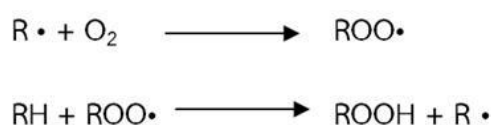


รูปที่ 2.6 ปฏิกริยาขั้น Initiation

ในกรณีของ polyunsaturated fatty acid อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะถูกทำให้เสถียรได้โดยการจัดเรียงโมเลกุลใหม่เกิดเป็น conjugated diene

ปฏิกริยาเพิ่ม หรือทวีจำนวน (propagation)

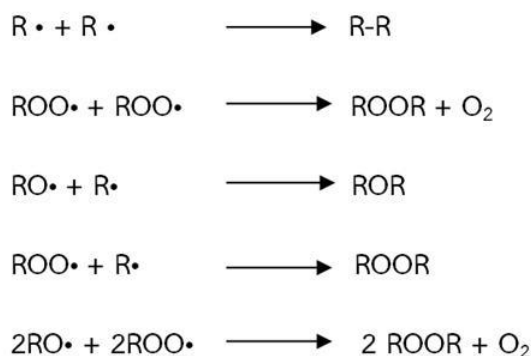
เป็นการเกิดปฏิกริยาระหว่างอนุมูลอิสระกับออกซิเจน โดย $\text{R}\cdot$ จะทำปฏิกริยากับออกซิเจนเกิดเป็น peroxy radical ($\text{ROO}\cdot$) ซึ่ง $\text{ROO}\cdot$ นั้นสามารถแตกไฮโดรเจนจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้อีก เกิดเป็น lipid hydroperoxide (ROOH) และเกิด $\text{R}\cdot$ ขึ้นใหม่ เกิดเป็นปฏิกริยาลูกโซ่ต่อไป



รูปที่ 2.7 ปฏิกริยาขั้น Propagation

ปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย (termination)

อนุมูลอิสระหลายๆ ชนิดที่เกิดขึ้นจะรวมตัวกันเอง หรือกับอนุมูลอิสระอื่นๆ เกิดเป็นสารใหม่ในระดับทุติยภูมิ (secondary product) เช่น aldehyde, ketone และกรดที่ระเหยง่ายทำให้เกิดกลิ่นรสหืนในอาหาร



รูปที่ 2.8 ปฏิกิริยาขั้น Termination

ผลิตภัณฑ์ aldehyde ที่เกิดขึ้น เช่น malondialdehyde (MDA) และ 4-hydroxy-nonenal มักใช้วัดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

2.8 การวิเคราะห์การเกิดออกซิเดชันของไขมัน

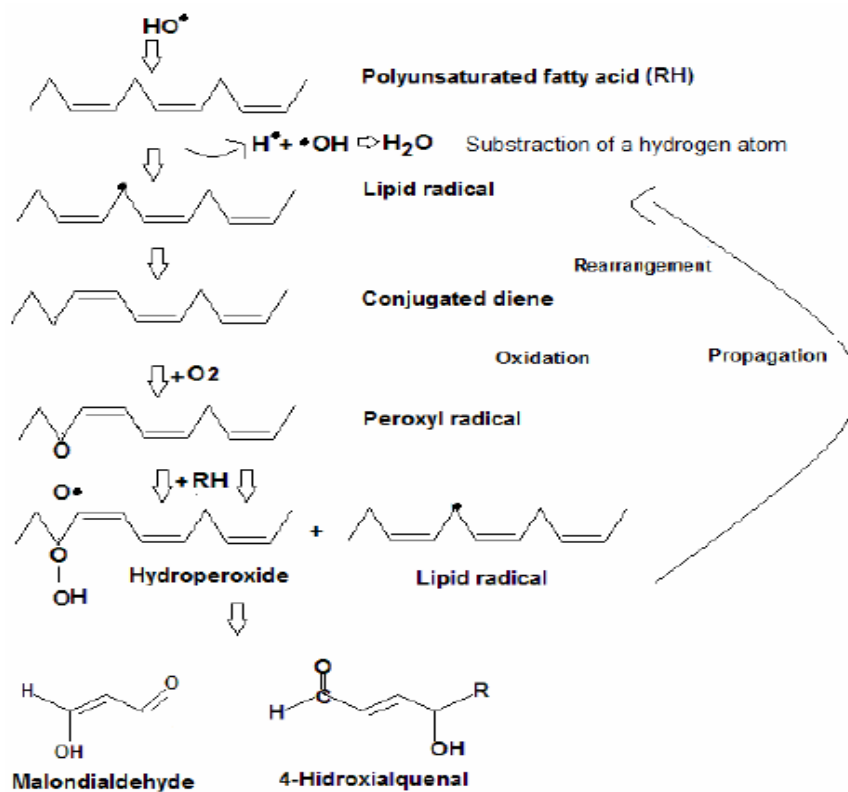
ในการพิจารณาการเกิดออกซิเดชันของไขมันมักตรวจวัดจากผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ได้แก่ conjugated dienes, lipid hydroperoxides, aldehydes เช่น 4-hydroxynonenal และ MDA ผ่านการวัดค่าต่างๆ เช่น conjugated diene, peroxide value หรือ TBARS และอาจตรวจสอบร่วมกับปัจจัยทางกายภาพ เช่น สี รวมถึงลักษณะทางประสาทสัมผัส เช่น กลิ่นรสที่เปลี่ยนแปลงไป

ค่า conjugated diene (CD)

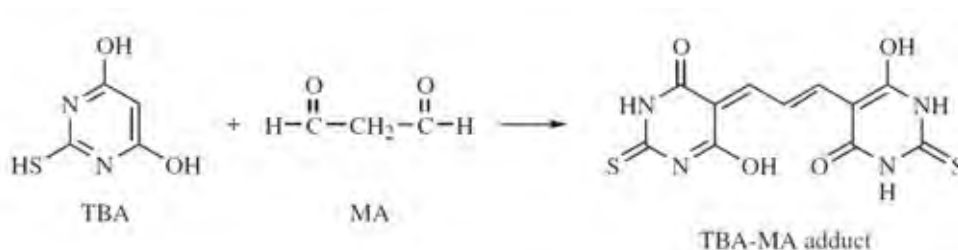
การเกิดขึ้นของ CD ซึ่งเกิดขึ้นจากการจัดเรียงตัวของพันธะคู่บนสายโซ่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในระหว่างการสร้าง hydroperoxide สามารถบ่งบอกการเกิด autoxidation ของไขมันได้ (Corongiu และ Banni, 1994) ดังนั้นจึงตรวจวัดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้จากการตรวจวัด CD ที่มีค่าการดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่น 233 นาโนเมตร (Glende และ Recknagel, 1984)

ค่า thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)

การตรวจวัด malondialdehyde (MDA) สามารถตรวจวัดได้จากการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง MDA จำนวน 1 โมล กับ 2-thiobarbituric acid (TBA) จำนวน 2 โมล เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีชมพูแดง ซึ่งดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ในอดีตเรียกว่า thiobarbituric acid (TBA) number โดยระบุเป็นจำนวนมิลลิกรัมหรือไมโครโมล ของ MDA ต่อกิโลกรัมของตัวอย่างหรือต่อ 1 กรัมของน้ำมันหรือไขมัน แต่เนื่องจาก aldehyde ที่เกิดขึ้นและสกัดได้ไม่ใช่เฉพาะ MDA ชนิดเดียว ยังมี aldehydes รวมถึงสารชนิดอื่นที่ทำปฏิกิริยากับ TBA แล้วให้สีเช่นเดียวกับ MDA ปัจจุบันจึงระบุเป็นค่า TBARS และมีหน่วยเป็นเทียบเท่ามิลลิกรัมของ MDA ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง (Witte และคณะ, 1970)



รูปที่ 2.9 การเกิด conjugated diene และ malondialdehyde ระหว่างปฏิกิริยาออกซิเดชัน



รูปที่ 2.10 ปฏิกิริยาระหว่าง 2-thiobarbituric acid (TBA) กับ malonaldehyde (MDA)

2.9 ไข่เค็มผง

ไข่เป็นอาหารของมนุษย์ที่นิยมบริโภคกันมากที่สุดชนิดหนึ่ง เนื่องจากไข่อุดมไปด้วยโปรตีนที่มีคุณภาพสูง รวมไปถึงวิตามินและเกลือแร่หลายชนิด (Gutierrez และคณะ, 1996) ในการนำไข่มาประกอบอาหารสามารถกระทำได้หลายวิธี เช่น ไข่ดาว ซึ่งหนึ่งในวิธีการยืดอายุการเก็บรักษาไข่ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายคือ การดองเกลือ (Chen และคณะ, 1999) โดยไข่เค็มมักทำจากไข่เป็ดเนื่องจากให้ลักษณะเนื้อสัมผัสที่ละเอียด และทำให้ไข่แดงเค็มมีความมันมากกว่าไข่ไก่ (Cheng และคณะ, 2018) ในต่างประเทศมีการใช้ผงไข่เค็ม (Salted egg powder) แทนการใช้ไข่เค็มปกติ เพื่อเพิ่มความสะดวกในการขนส่ง และนำไปประกอบอาหาร และนำไปเพิ่มกลิ่นรสในขนมขบเคี้ยว เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับไข่เค็ม Ganesan และคณะ (2014) ได้งานส่วนประกอบของไข่แดงเค็ม (ตารางที่ 2.1) ซึ่งในส่วนของไข่แดงนั้นมีปริมาณไขมันอยู่สูง โดยมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบ โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวนี้จะส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และมีผลกระทบต่อเสถียรภาพ และอายุในการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ ซึ่งสามารถป้องกันปัญหาการเสื่อมเสียของอาหารได้หากมีการนำสารสกัดจากเนื้อเยื่อพืชที่มีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันมาประยุกต์

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบทางเคมีของไข่เค็ม

| | ส่วนประกอบ (% wb) | | | | |
|------------|-------------------|-------------|--------------|-----------|-----------|
| | โปรตีน | ไขมัน | คาร์โบไฮเดรต | เถ้า | เกลือ |
| ไข่ทั้งฟอง | 14 | 16.6 | 4.1 | 7.5 | NR |
| ไข่ขาว | 9.55-10.10 | 0.03-0.05 | 1.66-2.77 | 3.02-4.04 | 3.96-6.90 |
| ไข่แดง | 16.70-21.30 | 38.39-53.71 | 2.49-4.06 | 1.91-2.45 | 0.54-0.87 |

NR=No Reported.

ที่มา : Ganesan และคณะ (2014)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 วัตถุดิบ

- พริกขี้หนู จากสวนดวงส้ม ตำบลหนองหญ้า อำเภอมะนัง จังหวัดกาญจนบุรี ขนส่งโดยรถยนต์ส่วนบุคคล เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น (4 °C) จนกว่าจะใช้งาน
- ไข่เป็ดเค็มดิบ บรรจุถุงพลาสติกไว้ในกล่องกระดาษแข็งปิดสนิท จากบริษัท อาหารดีเพื่อชีวิต จำกัด ขนส่งโดยรถยนต์ส่วนบุคคล จากนั้นนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องจนกว่าจะนำมาใช้งาน

3.1.2 สารเคมี

- ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดพริกขี้หนู
 - ethanol A.R. grade
 - acetone A.R. grade
 - hexane A.R. grade
- การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด
 - hexane A.R. grade
 - β -carotene (synthetic, type I) A.R. grade
- การวิเคราะห์ DPPH radical scavenging activity
 - Trolox A.R. grade
 - 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) A.R. grade
 - methanol A.R. grade
- การวิเคราะห์ ferric reducing antioxidant power (FRAP)
 - Trolox A.R. grade
 - sodium acetate trihydrate A.R. grade
 - 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) A.R. grade
 - ferric chloride A.R. grade
 - glacial acetic acid A.R. grade

| | |
|-------------------------------------------------------------------|------------|
| hydrochloric acid | A.R. grade |
| methanol | A.R. grade |
| - การวิเคราะห์ค่า thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) | |
| trichloroacetic acid | A.R. grade |
| 2-thiobarbituric acid | A.R. grade |
| malondialdehyde | A.R. grade |
| - การวิเคราะห์ปริมาณ conjugated diene (CD) | |
| hexane | A.R. grade |
| isopropanol | A.R. grade |

3.1.3 วัสดุและอุปกรณ์

- วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดพืชข้าว
 - rotary vacuum evaporator (Eyela N-N series SB-651, Tokyo Rikakikai Co., Ltd., Japan)
 - ตู้เย็น (Sanyo, SF-C95, Tokyo, Japan)
 - เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius, BA4100S, Bradford, Germany)
 - เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Scaltec Instrument GmbH, SBC 31, Goettingen, Germany)
 - ขวดแก้วสีชาขนาด 60 มิลลิลิตร
 - magnetic stirrer
 - กระดาษกรองเบอร์ 4 (Whatman, Maidstone, England)
- วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมไข่แดงเค็มผง
 - blender (Moulinex, masterchef 30, Caen, France)
- วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางกายภาพ
 - Chroma meter (Konica Minolta, CR-400, Osaka, Japan)
- วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมี
 - hot air oven (Memmert, UF 110, Büchenbach, Germany)
 - muffle furnace (CARBOLITE, model CWF 1200, Cambridge, England)
 - Soxhlet extractor (Gerhardt, model EV 16, Brackley, UK)

rotary vacuum evaporator (Eyela rotary vacuum evaporator N-N series SB-651, Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)

protein digestion unit (BÜCHI model K-424, Flawil, Switzerland)

scrubber (BÜCHI, model B-414, Flawil, Switzerland)

spectrophotometer (Thermo Spectronic, GENESYS 10UV, Rochester, NY, USA)

centrifuge (Hettich, Rotanta 460 R, Kirchleugern, Germany)

pH meter (Eutech Instruments, pH 2700 meter, Ayer Rajah Crescent, Singapore)

เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius, BA4100S, Bradford, Germany)

เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Scaltec Instrument GmbH, SBC 31, Goettingen, Germany)

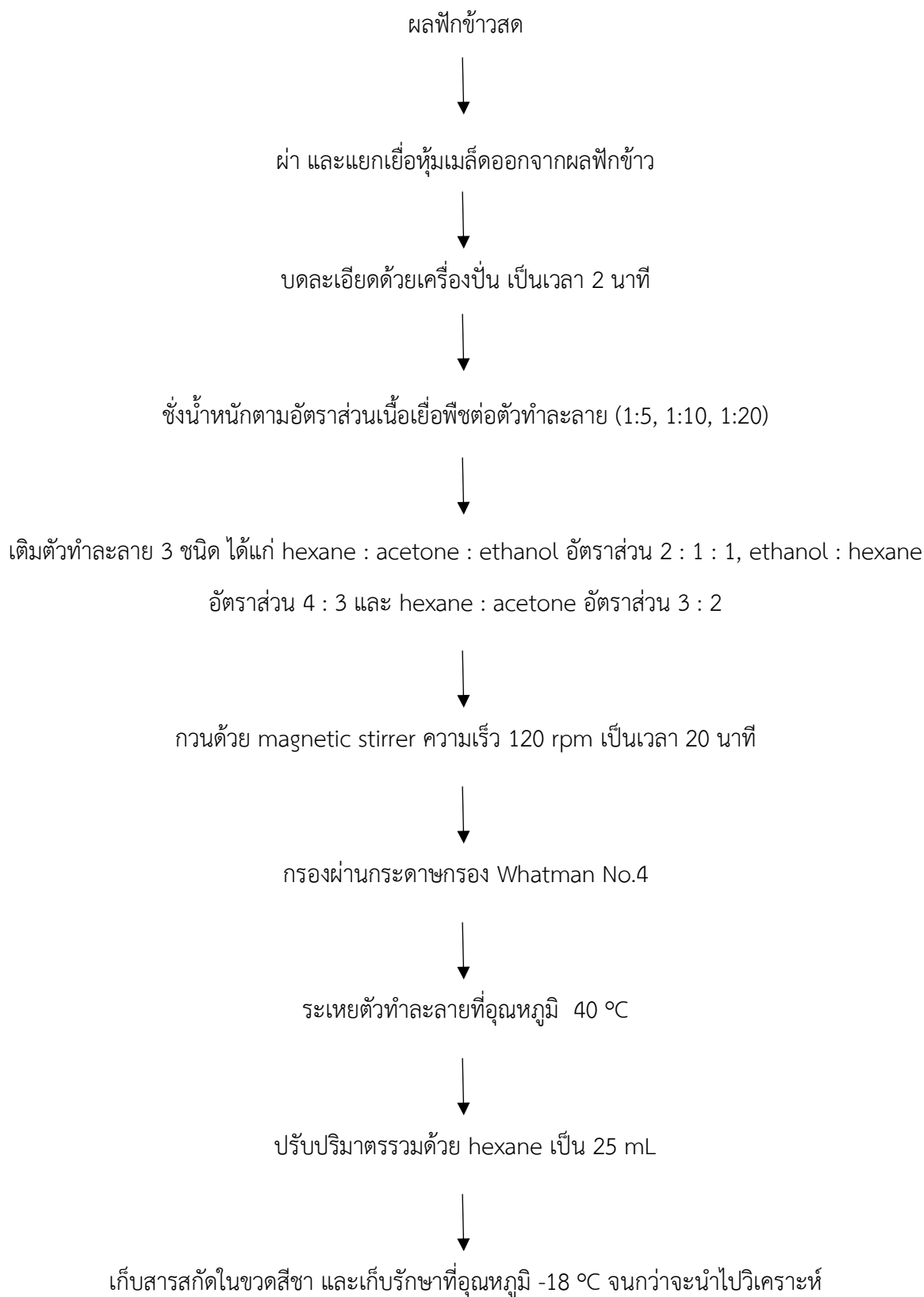
กระดาษกรอง เบอร์ 41 (Whatman, Maidstone, England)

3.1.4 วิธีวิเคราะห์ และตรวจวัดสมบัติด้านต่างๆ

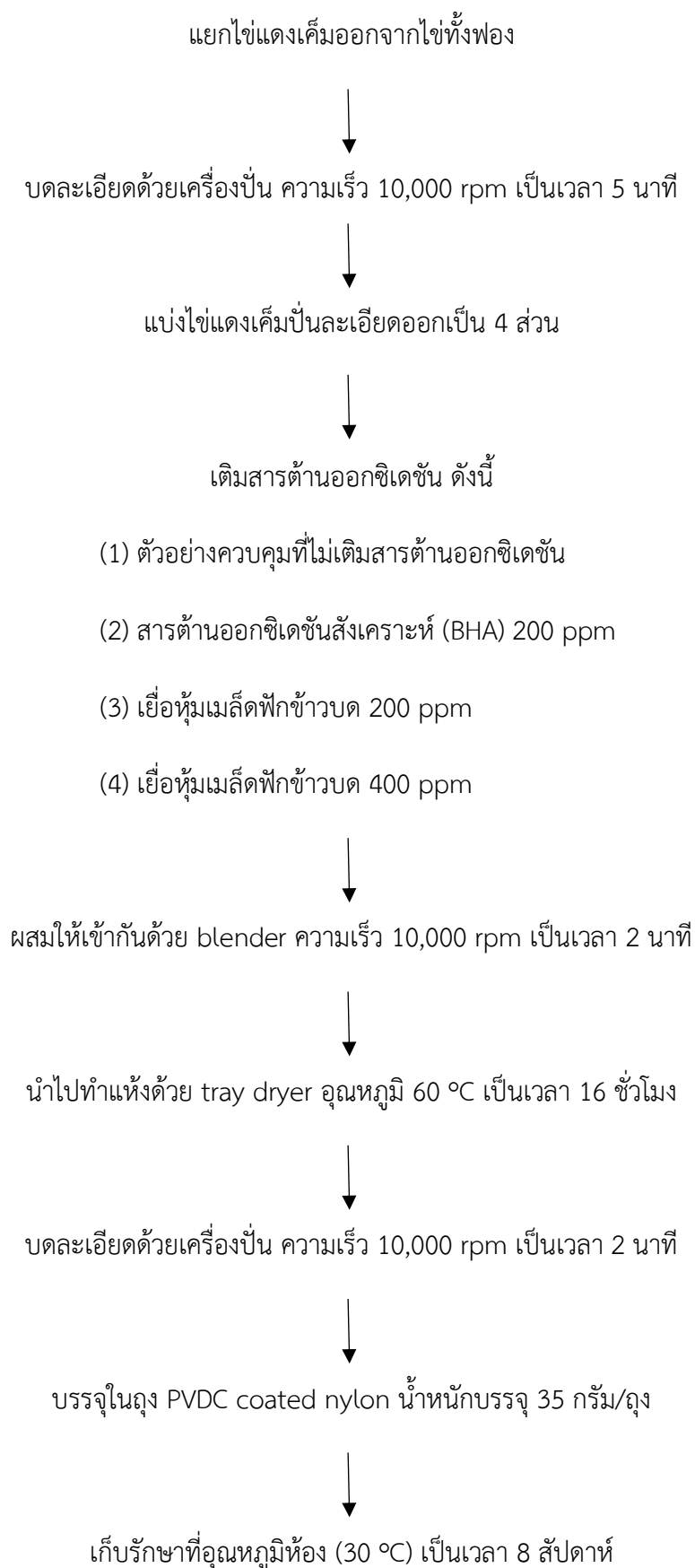
- การวัดค่าสี (color) (ภาคผนวก ก.1)
ตามวิธีของ Rannou และคณะ (2015)
- การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ภาคผนวก ก.2 - ก.7)
ตามวิธีของ AOAC (2005)
- การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (ภาคผนวก ก.8)
ด้วยวิธี Spectrophotometry ตามวิธีของ Tran (2007)
- การวิเคราะห์ DPPH radical scavenging activity (ภาคผนวก ก.9)
ดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams และคณะ (1995)
- การวิเคราะห์ ferric reducing antioxidant power (FRAP) (ภาคผนวก ก.10)
ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie และ Strain (1996)
- การวิเคราะห์ปริมาณ conjugated diene (CD) (ภาคผนวก ก.11)
ตามวิธีของ Srinivasan และคณะ (1996)
- การวิเคราะห์ค่า TBARS (ภาคผนวก ก.12)
ตามวิธีของ Witte และคณะ (1970)

3.2 วิธีวิจัย

3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดพืชข้าว



3.2.2 การเตรียมตัวอย่างไข่แดงเค็มผง



3.2.3 ขั้นตอนงานวิจัย

งานวิจัยนี้ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลัก ดังนี้

3.2.3.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณสารและสมบัติการต้านออกซิเดชันของเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

- วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยการทำ proximate analysis ดังนี้

| | |
|--------------------|--------------------------------|
| ปริมาณความชื้น | โดยวิธีของ AOAC 32.1.02 (2005) |
| ปริมาณโปรตีน | โดยวิธีของ AOAC 32.1.22 (2005) |
| ปริมาณไขมัน | โดยวิธีของ AOAC 32.1.25 (2005) |
| ปริมาณคาร์โบไฮเดรต | คำนวณเป็นค่าผลต่างจาก 100% |
| ปริมาณเส้นใยอาหาร | โดยวิธีของ AOAC 32.1.16 (2005) |
| ปริมาณเถ้า | โดยวิธีของ AOAC 32.1.05 (2005) |
- วิเคราะห์ปริมาณสารต้านออกซิเดชัน
 - ปริมาณแคโรทีนอยทั้งหมด (total carotenoid content)
ด้วยวิธีของ Tran (2007)
 - DPPH radical scavenging activity (DPPH)
ดัดแปลงจากวิธีของ (Brand-Williams และคณะ (1995)
 - Ferric reducing antioxidant power (FRAP)
ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie และ Strain (1996)

วางแผนการทดลองแบบ 3x3 factorial in completely randomized design (CRD) โดยแปรชนิดสารสกัด และสัดส่วนเนื้อเยื่อพืช : ตัวทำละลาย วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดย analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ $p \leq 0.05$ (Cochran และ Cox, 1992) ทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบและพิจารณาผลการทดลองที่ได้ เพื่อกำหนดชนิดของตัวทำละลาย และอัตราส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวต่อตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมสารสกัด และนำไปคำนวณปริมาณเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่ต้องใช้ในงานทดลองขั้นต่อไป

3.2.3.2 ศึกษาผลของการเติมเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่มีต่อเสถียรภาพของไข่แดงเค็มผง

นำตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เก็บรักษาไว้ ได้แก่ ตัวอย่างควบคุมที่ไม่ผสมสารต้านออกซิเดชัน ตัวอย่างที่ผสมสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (BHA) 200 ppm ตัวอย่างที่ผสมเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวบด 200 ppm และ 400 ppm มาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสมบัติต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30 °C) ในสัปดาห์ที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 โดยติดตามผลดังนี้

- วัดค่าสี (CIE L*, a* และ b*)
- วิเคราะห์ปริมาณ conjugated diene (CD)
- วิเคราะห์ค่า thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)
- ตรวจวัดค่า water activity (a_w)

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ 4x5 factorial in CRD โดยแปรตัวอย่างไข่แดงเค็มผง และระยะเวลาการเก็บรักษา วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดย ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย DNMRD ที่ระดับนัยสำคัญ $p \leq 0.05$ (Cochran และ Cox, 1992) ทดลอง 2 ซ้ำ

บทที่ 4

ผลการวิจัย และการอภิปรายผล

4.1 องค์ประกอบโดยประมาณของเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

เมื่อนำเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบโดยประมาณของเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

| ปริมาณ (g/100 g, wb) | เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว |
|-------------------------|-----------------------|
| ความชื้น | 79.12 ± 0.71 |
| โปรตีน | 2.77 ± 0.18 |
| ไขมัน | 6.59 ± 0.02 |
| คาร์โบไฮเดรต | 6.50 ± 1.00 |
| เส้นใยอาหาร | 1.26 ± 0.01 |
| เถ้า | 3.76 ± 0.12 |

จากผลการวิเคราะห์ในตารางที่ 4.1 พบว่า เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวมีปริมาณความชื้น 79.12 g/100 g, wb ปริมาณโปรตีน 2.77 g/100 g, wb ปริมาณไขมัน 6.59 g/100 g, wb ปริมาณคาร์โบไฮเดรต 6.50 g/100 g, wb ปริมาณเส้นใยอาหาร 1.26 g/100 g, wb และปริมาณเถ้า 3.76 g/100 g, wb ซึ่งค่อนข้างใกล้เคียงกับผลการวิจัยของ Vuong และคณะ (2006) ที่พบว่าเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวมีสมบัติทางเคมีต่างๆ ดังนี้ ปริมาณความชื้น 77 g/100 g, wb ปริมาณโปรตีน 2.1 g/100 g, wb ปริมาณไขมัน 7.9 g/100 g, wb ปริมาณคาร์โบไฮเดรต 10.5 g/100 g, wb ปริมาณเส้นใยอาหารรายงานเป็น cellulose 1.8 g/100 g, wb และปริมาณเถ้า 0.7 g/100 g, wb นอกจากนี้ยังมีผลการวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม (56 mg/100 g, wb) และฟอสฟอรัส (6.4 mg/100 g, wb)

4.2 ปริมาณสารต้านออกซิเดชันในสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

นำเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวมาสกัดสารต้านออกซิเดชันด้วยตัวทำละลายคือ hexane : acetone : ethanol อัตราส่วน 2 : 1 : 1, ethanol : hexane อัตราส่วน 4 : 3 และ hexane : acetone อัตราส่วน 3 : 2 ใช้สัดส่วนของเนื้อเยื่อพืชต่อตัวทำละลาย 1 : 5 1 : 10 และ 1 : 20 แล้วนำสารสกัดไปวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด และวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity และวิธี FRAP ได้ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 4.2 - 4.3

ตารางที่ 4.2 ค่า total carotenoid content ของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่ใช้ตัวทำละลาย และสัดส่วนเนื้อเยื่อพืชต่อตัวทำละลายแตกต่างกัน

| Solvent | Solid : solvent | Total carotenoid content ($\mu\text{g/g}$, db) |
|----------------------------------------|-----------------|--------------------------------------------------|
| Hexane : acetone : ethanol (2 : 1 : 1) | 1:5 | 2527.18 \pm 390.51 ^c |
| | 1:10 | 3426.90 \pm 679.66 ^b |
| | 1:20 | 4504.89 \pm 604.53 ^a |
| Ethanol : hexane (4 : 3) | 1:5 | 1463.88 \pm 197.20 ^d |
| | 1:10 | 1082.18 \pm 82.52 ^d |
| | 1:20 | 1560.35 \pm 276.84 ^d |
| Hexane : acetone (3 : 2) | 1:5 | 3775.04 \pm 266.12 ^{ab} |
| | 1:10 | 3972.19 \pm 894.96 ^{ab} |
| | 1:20 | 4328.72 \pm 442.40 ^{ab} |

ค่าในตารางแสดงในรูป ค่าเฉลี่ย \pm SD จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

a,b... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับไว้ในแนวดิ่ง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดของฟักข้าวพบว่า ตัวทำละลายทั้งสามชนิดให้ค่าปริมาณสารดังกล่าวที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ดูผลการวิเคราะห์ทางสถิติได้จากตารางที่ ค.1, ภาคผนวก ค.) โดยเมื่อใช้ตัวทำละลายเป็น hexane : acetone : ethanol อัตราส่วน 2 : 1 : 1 และสัดส่วนเนื้อเยื่อพืชต่อตัวทำละลายเป็น 1 : 20 จะได้ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดสูงสุด และ ethanol : hexane อัตราส่วน 4 : 3 ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดน้อยที่สุดในทุกสัดส่วนเนื้อเยื่อพืชต่อตัวทำละลาย ซึ่งสอดคล้องกับผลวิจัยของ Olives Barba และคณะ (2006) ที่ใช้สารสกัดชนิดต่างๆ ในการสกัดแคโรทีนอยด์จากผักผลไม้ที่มีแคโรทีนอยด์สูง เช่น มะเขือเทศ แครอท และแตงโม พบว่าสารที่สกัดด้วย hexane : acetone : ethanol อัตราส่วน 2 : 1 : 1 สามารถสกัดแคโรทีนอยด์ออกมาได้ดีที่สุดจากการวิเคราะห์ด้วย high-performance liquid chromatography (HPLC) เทียบกับสารสกัดต่างๆ อีก 5

ชนิด และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ranveer และคณะ (2000) ที่ศึกษาชนิด และอัตราส่วนต่างๆ ของตัวทำละลายที่ใช้สกัดไลโคปีนจากมะเขือเทศ ซึ่งพบว่า hexane : acetone : ethanol อัตราส่วน 2 : 1 : 1 สามารถสกัดไลโคปีนออกมาได้มากที่สุด

4.3 สมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

ในการตรวจสอบหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดจำเป็นต้องพิจารณาทั้งปริมาณสารต้านออกซิเดชัน ควบคู่ กับสมบัติในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดนั้น ผลทดลอง (ตารางที่ 4.3) แสดงว่า เมื่อสกัดด้วย hexane : acetone อัตราส่วน 3 : 2 ที่อัตราส่วนเนื้อเยื่อพืชต่อตัวทำละลาย 1 : 20 ค่า DPPH ของสารสกัดมีค่าสูงที่สุด และเมื่อสกัดด้วย ethanol : hexane อัตราส่วน 4 : 3 ที่อัตราส่วนเนื้อเยื่อพืชต่อตัวทำละลาย 1 : 20 ค่า FRAP ของสารสกัดมีค่าสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้พบว่าสำหรับสมบัติการต้านออกซิเดชันที่วัดได้จากวิธี DPPH สะท้อนว่าชนิดของตัวทำละลายที่ใช้สกัดส่งผลกระทบต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันมากกว่าอัตราส่วนของเนื้อเยื่อพืชต่อตัวทำละลาย ส่วนค่าที่วัดได้จาก FRAP มีแนวโน้มที่ไม่คงที่ (ดูผลวิเคราะห์ทางสถิติจากตารางที่ ค.2 - ค.3, ภาคผนวก ค.)

ตารางที่ 4.3 ค่า DPPH radical scavenging activity และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) ของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่ใช้ตัวทำละลาย และสัดส่วนเนื้อเยื่อพืชต่อตัวทำละลายแตกต่างกัน

| Solvent | Solid : solvent | DPPH ($\mu\text{mol Trolox equivalent/g, db}$) | FRAP ($\mu\text{mol Trolox equivalent/g, db}$) |
|----------------------------------------|-----------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Hexane : acetone : ethanol (2 : 1 : 1) | 1 : 5 | 1.54 \pm 0.26 ^b | 2.90 \pm 0.36 ^d |
| | 1 : 10 | 2.35 \pm 0.07 ^a | 7.20 \pm 1.70 ^{ab} |
| | 1 : 20 | 2.78 \pm 0.10 ^a | 7.36 \pm 1.63 ^{ab} |
| Ethanol : hexane (4 : 3) | 1 : 5 | 2.25 \pm 0.79 ^a | 4.07 \pm 0.37 ^{cd} |
| | 1 : 10 | 1.09 \pm 0.28 ^c | 3.26 \pm 0.84 ^d |
| | 1 : 20 | 0.57 \pm 0.24 ^c | 9.08 \pm 1.36 ^a |
| Hexane : acetone (3 : 2) | 1 : 5 | 2.63 \pm 0.05 ^a | 2.67 \pm 0.35 ^d |
| | 1 : 10 | 2.70 \pm 0.17 ^a | 6.09 \pm 1.37 ^b |
| | 1 : 20 | 2.79 \pm 0.10 ^a | 5.88 \pm 0.73 ^{bc} |

ค่าในตารางแสดงในรูป ค่าเฉลี่ย \pm SD จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

a,b... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับไว้ในแนวนอนนี้ แสดงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ค่า DPPH และ FRAP ที่ได้ไม่เป็นแนวโน้มนัยเดียวกับปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด อาจเนื่องจากสาเหตุสามประการ ประการแรกในสารสกัดไม่ได้มีเพียงแคโรทีนอยด์เป็นสารต้านออกซิเดชันเพียงชนิดเดียว แต่มีสารประกอบฟีนอลิก รวมถึงวิตามินต่างๆ ซึ่งส่งผลต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยรวมของตัวอย่าง ประการที่สองไม่เพียงแค่ว่าปริมาณ แต่ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของแคโรทีนอยด์ก็ส่งผลให้สมบัติการต้านออกซิเดชันแตกต่างกัน เช่น β -carotene ที่มีลักษณะโครงสร้างแบบ trans ทั้งหมด (all-trans- β -carotene) จะมีสมบัติการต้านออกซิเดชันมากกว่า β -carotene ที่มีลักษณะโครงสร้างแบบ 13-cis (13-cis- β -carotene) (Bohm และคณะ, 2002) และ 9-cis-lycopene มีสมบัติการต้านออกซิเดชันมากกว่า 13-cis-lycopene (Phan-Thi และ Waché, 2014) ประการสุดท้าย สารต้านออกซิเดชันในเยื่อหุ้มเมล็ดของพริกขี้หนูซึ่งไม่ได้มีเพียงแคโรทีนอยด์เพียงชนิดเดียว อาจจะมีการทำงานร่วมกันส่งผลให้สมบัติการต้านออกซิเดชันที่วัดได้มีค่าไม่สอดคล้องกับปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด

อีกทั้งค่า DPPH และ FRAP ที่ได้ไม่เป็นแนวโน้มนัยเดียวกัน อาจเนื่องจากการวัดสมบัติการต้านออกซิเดชันทั้งสองวิธีนี้มีกลไกการตรวจวัดที่แตกต่างกัน โดยวิธี DPPH จะขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาการต้านออกซิเดชันแบบ hydrogen atom transfer และ electron transfer แต่วิธี FRAP จะขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาการต้านออกซิเดชันแบบ electron transfer แต่อย่างใดโดยจะเป็นการตรวจวัดความสามารถในการเป็น reducing agent ของสารต้านออกซิเดชันนั้น (Prior และคณะ, 2005) ดังนั้นสารต้านออกซิเดชันชนิดเดียวกันจึงอาจให้ค่าแตกต่างกันในแต่ละวิธีวิเคราะห์ และสารต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพในการจับกับโลหะ เช่น สารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจะส่งผลต่อค่า FRAP ได้ อย่างไรก็ตามในงานวิจัยมักจะใช้การวัดด้วยวิธี DPPH และ FRAP ร่วมกันในการตรวจสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยรวม เนื่องจากทั้งสองวิธีนี้จะถูกรบกวนจากสารอื่นๆ เช่น กรดแอมิโน และกลูโคส น้อยกว่าการวัดด้วยวิธี ABTS และ ORAC ดังนั้นจึงเหมาะสมในการวัดสมบัติการต้านออกซิเดชันในตัวอย่างที่ไม่มีการทำให้บริสุทธิ์ ดังเช่นที่ใช้ในงานวิจัยนี้ (Tanuwong และ Tewaruth, 2010)

จากการที่ปริมาณสารต้านออกซิเดชัน และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดไม่เป็นแนวโน้มนัยเดียวกัน สภาวะการสกัดที่เหมาะสมจึงพิจารณาจากปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่มากที่สุด และให้สมบัติการต้านออกซิเดชันที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งได้แก่ การสกัดด้วย hexane : acetone : ethanol อัตราส่วน 2 : 1 : 1 ที่อัตราส่วนเนื้อเยื่อพืชต่อตัวทำละลาย 1 : 20 โดยมีปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด 4504.89 $\mu\text{g/g}$, db และให้ค่า DPPH และ FRAP เป็น 2.78 และ 7.36 $\mu\text{mol Trolox equivalent/g}$, db ตามลำดับ จากนั้นใช้เป็นปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในเยื่อหุ้มเมล็ดพริกขี้หนูเพื่อนำไปคำนวณปริมาณที่ต้องใช้ประยุกต์ในไข่แดงเค็มผงต่อไป

4.4 การประยุกต์ใช้เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวในไข่แดงเค็มผง

เตรียมไข่แดงเค็มผงโดยใช้ไข่แดงเค็มผงผสมกับเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวในปริมาณ 200 และ 400 mg total carotenoid content /kg salted egg yolk powder (ppm) เปรียบเทียบกับสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (butylated hydroxyl anisole, BHA) 200 ppm และตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชันบรรจุในถุง PVDC coated nylon แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติต่างๆ ตามช่วงเวลาที่เหมาะสม ตลอด 8 สัปดาห์ โดยการวัดค่า water activity (a_w) สี CD และ TBARS ได้ผลทดลองดังนี้

4.4.1 ค่า Water activity (a_w)

ค่า water activity (a_w) สำคัญมากในระบบอาหารเนื่องจากเกี่ยวข้องกับสมบัติของอาหารในด้านเคมีกายภาพ และชีวภาพ กล่าวได้ว่าค่า a_w มีความเกี่ยวข้องกับอายุการเก็บรักษาของอาหาร (Barbosa-Cánovas และคณะ, 2007) จากผลการทดลอง (ตารางที่ 4.4) แสดงว่าค่า a_w ของไข่แดงเค็มผงมีค่าอยู่ในช่วง 0.346 – 0.502 ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 8 สัปดาห์ โดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเก็บเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ดูผลวิเคราะห์ทางสถิติจากตารางที่ ค.4, ภาคผนวก ค.) จากกราฟความสัมพันธ์ของ water activity กับคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร (Labuza และคณะ, 1970) ค่า a_w ที่มากกว่า 0.4 ขึ้นไปจะส่งผลให้เกิดการจับตัวเป็นก้อนของอาหารผง และที่ a_w มีค่าน้อยกว่า 0.6 จุลินทรีย์จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ก่อโรคนางชนิดอาจอยู่รอด เมื่อมีความชื้นจะสามารถสร้างสารพิษได้ (Guo, 2016) โดยจากมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนเรื่อง ไข่เค็ม มาตรฐานเลขที่ มผช. 27/2550 สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2550) จุลินทรีย์ที่เฝ้าระวังในไข่เค็มได้แก่ *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens* และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งจากงานวิจัยของ Garibaldi และคณะ (1969) *Salmonella* spp. จะถูกทำลายไป 90% ที่อุณหภูมิ 60 °C ระยะเวลา 0.27 นาที และจากข้อมูลของ Food and Drug Administration (2012) ระบุว่า *Clostridium perfringens* จะถูกทำลายเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C และในงานวิจัยของ Amarantini และคณะ (2017) ระบุว่า *Staphylococcus aureus* จะถูกทำลายเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 60 นาที ดังนั้นไข่แดงเค็มผงที่มีค่า a_w ดังกล่าว และผ่านกระบวนการทางความร้อนที่ 60 °C เป็นระยะเวลา 16 ชั่วโมง จึงไม่มีความเสี่ยงต่อปัญหาการบริโภคในด้านจุลินทรีย์

ตารางที่ 4.4 ค่า water activity ของตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

| Treatment | Weeks of storage | | | | |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
| a _w Control | 0.392±0.001 ^j | 0.354±0.004 ^m | 0.376±0.000 ^{kl} | 0.411±0.008 ⁱ | 0.458±0.000 ^e |
| BHA | 0.396±0.002 ^j | 0.371±0.001 ^l | 0.418±0.004 ^h | 0.449±0.004 ^f | 0.502±0.005 ^a |
| เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 200 ppm | 0.382±0.001 ^k | 0.424±0.004 ^h | 0.439±0.001 ^g | 0.466±0.001 ^d | 0.483±0.001 ^b |
| เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 400 ppm | 0.346±0.003 ⁿ | 0.389±0.006 ^j | 0.438±0.001 ^g | 0.441±0.001 ^g | 0.474±0.003 ^c |

ค่าในตารางแสดงในรูป ค่าเฉลี่ย ± SD จากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

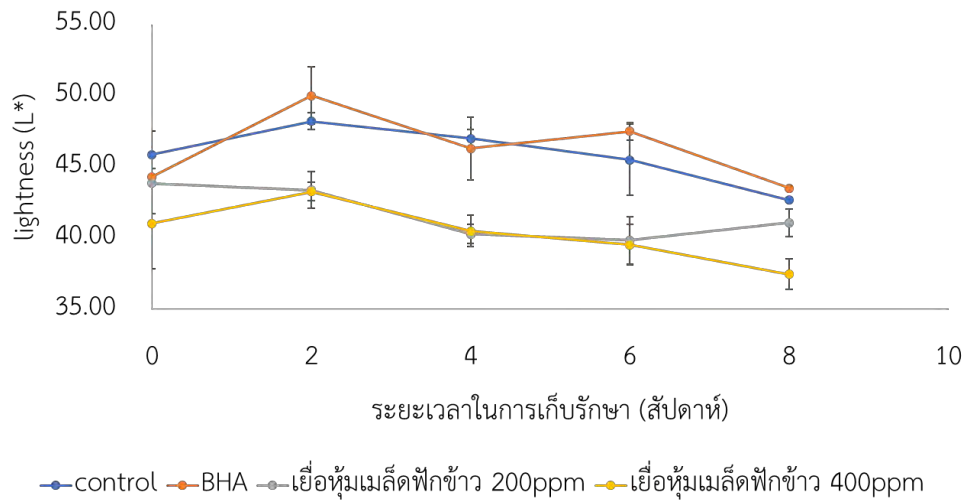
a,b... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับไว้โนแนวตั้ง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.4.2 ค่าสี (Color)

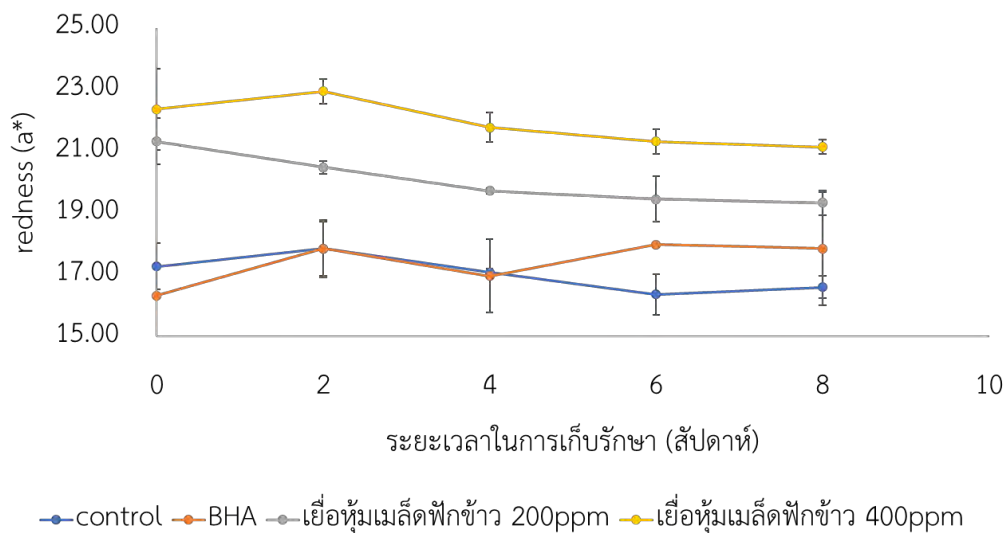
ค่าสีแสดงในรูป L* (lightness), a* (redness) และ b* (yellowness) ดังรูปที่ 4.1 – 4.3 พบว่าตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวมีค่า lightness (L*) ต่ำกว่า โดยที่ค่า redness (a*) และ yellowness (b*) สูงกว่า เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่อื่น อย่างไม่ค่อยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ดูผลวิเคราะห์ทางสถิติจากตารางที่ ค.5 - ค.7, ภาคผนวก ค.) เนื่องจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวมีสีส้มแดงซึ่งเป็นผลจากแคโรทีนอยด์ ได้แก่ โลโคปิ่น ที่ให้สีแดง และบีตาแคโรทีน ที่ให้สีเหลืองส้ม ดังนั้นการเติมเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวในตัวอย่างไข่แดงเค็มผงจึงทำให้ตัวอย่างมีสีส้มแดงมากขึ้น (Nagarajan และคณะ, 2017) เมื่อเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ค่า L* ของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อธิบายได้จากการเกิดปฏิกิริยา Maillard ของน้ำตาลรีดิวซ์ และกรดแอมิโนในไข่แดงเค็มผงที่เกิดขึ้นได้เมื่อ a_w มีค่ามากกว่า 0.3 รวมถึงการเกิดปฏิกิริยา Maillard ของกรดแอมิโน และผลิตภัณฑ์ออกซิเดชันหุติยภูมิ เช่น carbonyls ที่เกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา (Rao และ Labuza, 2012) ซึ่งสอดคล้องกับผลวิจัยของ Rannou และคณะ (2015) ที่ศึกษาผลของอายุการเก็บรักษาต่อสมบัติต่าง ๆ ของไข่แดงผง พบว่าค่า L* มีค่าลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งผลที่เกิดขึ้นเช่นนี้อาจมีมากกว่า และบดบังอิทธิพลของปริมาณความชื้น (ซึ่งสอดคล้องกับค่า a_w) ที่เพิ่มขึ้น แต่กลับทำให้ค่าความสว่างลดลง

เมื่อเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นค่า a* และ b* ของตัวอย่างควบคุมมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นถึงการลดลงของสารต้านออกซิเดชันในตัวอย่างจากการเกิดออกซิเดชัน โดยแคโรทีนอยด์เมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ออกซิเดชันปฐมภูมิได้แก่ apocarotenoids และ epoxides ซึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ออกซิเดชันหุติยภูมิต่อไป ส่งผลให้สีส้มแดงลดลง (Borsarelli และ Mercadante, 2009; Takyi, 2001) อีกทั้งแคโรทีนอยด์ชนิด all-trans-isomer อาจถูกเปลี่ยนเป็น cis-isomer เมื่อได้รับความร้อน และแสง ส่งผลให้เกิดการลดลงของสี (Ngamwonglumlert และคณะ, 2017)

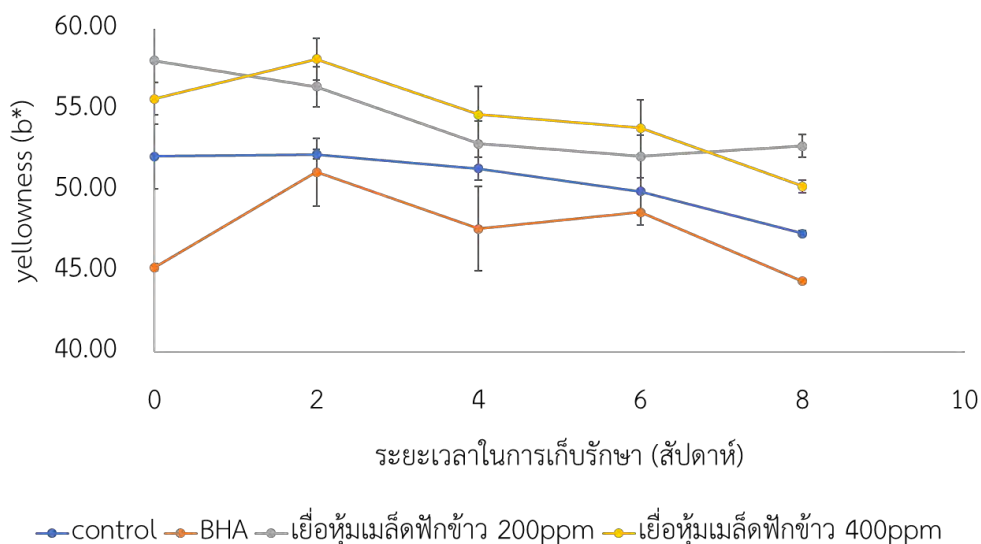
โดยการลดลงของค่าสีนั้นสามารถนำมาพิจารณาควบคู่กับผลการวิเคราะห์การเกิดออกซิเดชัน เมื่อเทียบกับค่า CD และ TBARS ซึ่งจะเห็นว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นตัวอย่างที่มีการเติมเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 400 ppm ยังคงรักษาคุณสมบัติด้านต่างๆ ไว้ได้มากกว่าตัวอย่างที่มีการเติมเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 200 ppm และตัวอย่างอื่นๆ สอดคล้องกับคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันที่สูงกว่า



รูปที่ 4.1 ค่า L* ของตัวอย่างตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง



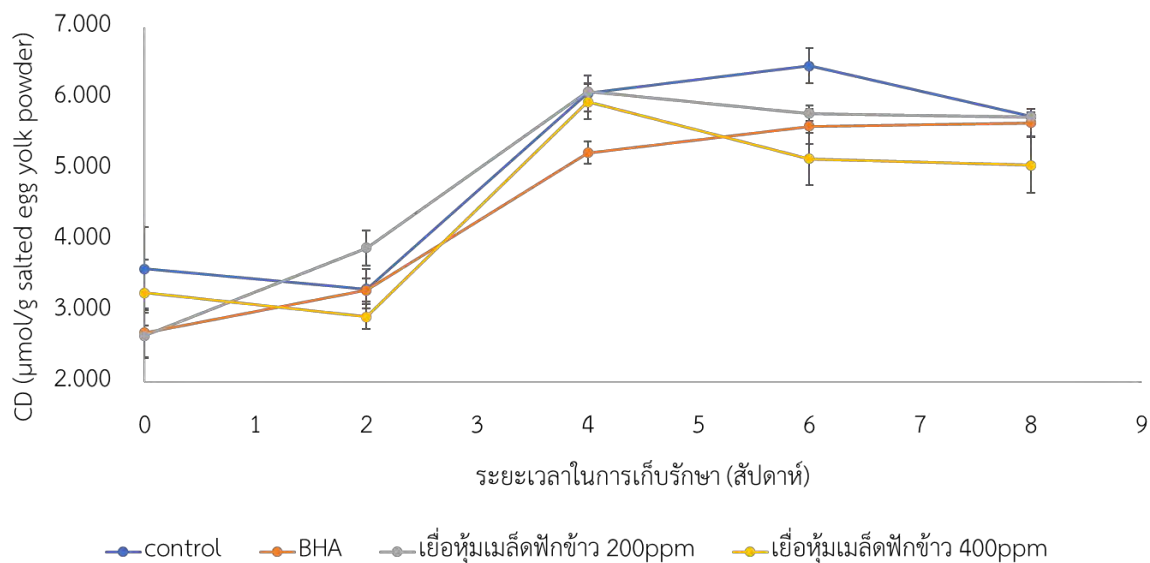
รูปที่ 4.2 ค่า a* ของตัวอย่างตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง



รูปที่ 4.3 ค่า b* ของตัวอย่างตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

4.4.3 Conjugated diene (CD)

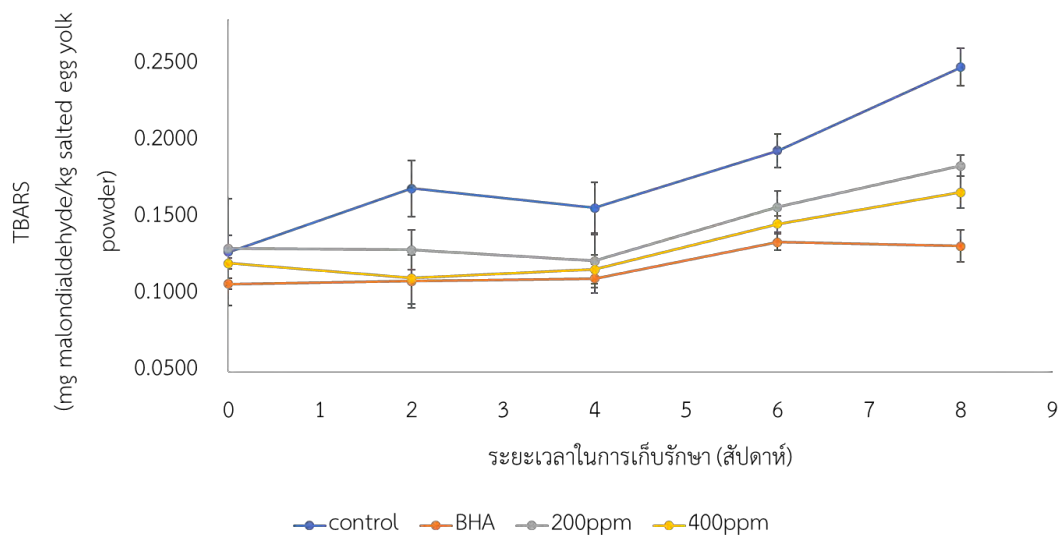
จากรูปที่ 4.4 พบว่าตัวอย่างที่ผสม BHA และตัวอย่างที่ผสมเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 400 ppm มีการเพิ่มขึ้นของ CD น้อยกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ดูผลวิเคราะห์ทางสถิติจากตารางที่ ค.8, ภาคผนวก ค.) โดยตัวอย่างที่ผสม BHA มีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันสูงสุด รองลงมาคือตัวอย่างที่ผสมเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 400 และ 200 ppm ตามลำดับ ส่วนค่า CD ของตัวอย่างควบคุมจะเพิ่มขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 4 แล้วเริ่มลดลงหลังจากสัปดาห์ที่ 6 เนื่องจาก conjugated diene hydroperoxides สลายตัวไปเป็นผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน (Hwang et al., 2013) ดังนั้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมแล้ว ตัวอย่างที่ผสมเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวช่วยลดการก่อตัวของ conjugated diene ได้ อีกทั้งยังพบว่าการลดลงของค่า CD จะสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของค่า TBARS โดยผลงานวิจัยสอดคล้องกับ Matumoto-Pintro และคณะ, 2017 ที่ศึกษาผลของอุณหภูมิ และระยะเวลาในการเก็บรักษาไข่แดงเทียบกับตัวอย่างที่มีการเติมสารต้านออกซิเดชัน ได้ผลวิจัยว่าค่า CD ของไข่แดงจะคงที่เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานกว่า 30 วัน นอกจากนี้ Juntachote และคณะ (2006) ได้ผลวิจัยว่าตัวอย่างเนื้อหมูบดปรุงสุกที่เติมสารสกัดจากกะเพราและข่า มีค่า CD เพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 3 และลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บ อีกทั้งยังพบว่าการลดลงของค่า CD จะสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของค่า TBARS



รูปที่ 4.4 ค่า conjugated diene ($\mu\text{mol/g}$ salted egg yolk powder) ของตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

4.4.4 Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)

ค่า TBARS บ่งบอกการเกิดขึ้นของผลิตภัณฑ์ออกซิเดชันขั้นทุติยภูมิ ซึ่งจากการทดลองพบว่า ตัวอย่างที่เติม BHA มีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันสูงสุด ซึ่งแตกต่างจากตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) รองลงมาคือตัวอย่างที่เติมเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 400 และ 200 ppm (ดูผลวิเคราะห์ทางสถิติจากตารางที่ ค.9, ภาคผนวก ค.) ซึ่ง Gray และ Pearson (1987) รายงานว่า อาหารที่มีค่า TBA เท่ากับ 0.5 mg/kg สามารถเกิดกลิ่นหืนในระดับที่ตรวจพบได้ จึงแสดงได้ว่าเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว และ BHA ช่วยยืดอายุของผลิตภัณฑ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่วนตัวอย่างควบคุมมีค่า TBARS สูงที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันไปมาก ดังแสดงในรูปที่ 4.5 ผลงานวิจัยสอดคล้องกับ Matumoto-Pintro และคณะ, 2017 ที่ศึกษาผลของอุณหภูมิ และระยะเวลาในการเก็บรักษาไข่ผงเทียบกับตัวอย่างที่ผสมสารต้านออกซิเดชัน ได้ผลวิจัยว่า ไข่ผงที่ไม่ผสมสารต้านออกซิเดชันมีการเพิ่มขึ้นของค่า TBARS สูงที่สุด และเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งผลทดลองในงานวิจัยนี้พบว่า ค่า TBARS ของตัวอย่างที่ผสมสารต้านออกซิเดชันทั้งสองชนิด คือ สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ และสารธรรมชาติยังคงมีค่าที่ค่อนข้างเพิ่มขึ้นตลอดเวลาแต่มีประสิทธิภาพที่ดีกว่า ซึ่งอาจอธิบายได้ว่า สารที่ออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ช่วยยืดเวลาในการเกิดผลิตภัณฑ์ที่เกิดในขั้นตอนทุติยภูมิออกไป



รูปที่ 4.5 ค่า thiobarbituric acid reactive substances (mg malondialdehyde /kg salted egg yolk powder) ของตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

ดังนั้นการผสมเยื่อหุ้มเมล็ดพืชข้าวซึ่งมีแคโรทีนอยด์ที่ให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันอยู่มาก สามารถช่วยลดการเกิดออกซิเดชันของไขมันในไข่แดงเค็มผงได้ เมื่อพิจารณาจากค่า CD และ TBARS พบว่าการเติมที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm ให้ประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันใกล้เคียงกับ BHA มากที่สุด และมีแนวโน้มของการเกิดออกซิเดชันใกล้เคียงกัน

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

- ตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพในการสกัดแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวออกมาได้ดีที่สุดคือ hexane : acetone : ethanol อัตราส่วน 2 : 1 : 1 และสัดส่วนเนื้อเยื่อพืชต่อตัวทำละลายเป็น 1 : 20
- ค่า a_w ของไข่แดงเค็มผงมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา แต่ยังไม่เกินค่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของไข่เค็ม และผงปรุงรส
- ค่าสีของไข่แดงเค็มผงมีค่า lightness (L^*) น้อยกว่า ขณะที่ค่า redness (a^*) และ yellowness (b^*) มากกว่าเมื่อปริมาณเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวเพิ่มขึ้น
- BHA ให้ประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันสูงสุด รองลงมาคือ ปริมาณปริมาณเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 400, 200 ppm และตัวอย่างควบคุม ตามลำดับ โดยพิจารณาจากค่า CD และ TBARS

5.2 ข้อเสนอแนะ

- ควรศึกษาวิธีการสกัดโดยใช้ปัจจัยที่ส่งผลต่อการสกัดสารต้านออกซิเดชันอื่น ๆ เพิ่มเติม เช่น ความเข้มข้นของตัวทำละลาย เวลา และอุณหภูมิ เป็นต้น
- การผสมเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวอาจมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคในด้านสี และกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากสีแดงเข้ม และกลิ่นรสของเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่จะใช้เป็นวัตถุดิบ จึงควรมีการทดสอบด้านประสาทสัมผัส และหาวิธีที่สามารถนำเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวมาใช้ร่วมกับผลิตภัณฑ์ โดยยังคงสมบัติการต้านออกซิเดชันอยู่
- ควรมีการศึกษาอายุการเก็บผลิตภัณฑ์จนถึงจุดที่ผลิตภัณฑ์เสื่อมเสียรวมถึงจุดที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ ซึ่งอาจจะศึกษาควบคู่กับการทดสอบทางประสาทสัมผัส รวมถึงศึกษาที่สภาวะการเก็บแบบแช่เย็น (4 °C) เพื่อให้ได้ผลการศึกษาที่ครอบคลุมมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2550. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน เรื่อง ไข่เค็ม มาตรฐานเลขที่ มผช. 27/2550. 6 หน้า.
- หยาดฝน ทนงการกิจ และ พูนพัฒน์ พูนน้อย. 2557. การผลิตสีผสมอาหารธรรมชาติจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว. คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่. 38 หน้า.
- Alam, M. N., Bristi, N. J., and Rafiquzzaman, M. 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), 143–152.
- Amante, E. R., Dias, C. O., and Provesi, J. G. 2011. Changes in carotenoids during processing and storage of pumpkin puree. *Food Chemistry*, 128, 195–202.
- Amarantini, C., Budiarto, T. Y., and Yaniarti, M. N. 2017. The effect of temperature and pasteurization time on *Staphylococcus aureus* isolates from dairy products. 8th International Conference on Global Resource Conservation. AIP Conference Proceedings, 1908(1), 050003-1–050003-8
- Amorim-Carrilho, K. T., Cepeda, A., Fente, C., and Regal, P. 2014. Review of methods for analysis of carotenoids. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 56, 49–73.
- AOAC. 2005. Official methods of analysis of AOAC International, 18th ed., Gaithersberg, MD, USA: AOAC International.
- Aoki, H., Kieu, N. T. M., Kuze, N., Tomisaka, K., and Van Chuyen, N. 2002. Carotenoid pigments in gac fruit (*Momordica cochinchinensis* SPRENG). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 66(11), 2479–2482.
- Barbosa-Cánovas, G. V., Fontana, A. J. Jr., Schmidt, S. J., Labuza, T. P. 2007. Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications, 1st ed., Iowa: Blackwell Publishing Professional, 435 p.
- Benzie, I. F. F., and Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.

- Bohm, V., Puspitasari-Nienaber, N. L., Ferruzzi, M. G., and Schwartz, S. J. 2002. Trolox equivalent antioxidant capacity of different geometrical isomers of α -carotene, β -carotene, lycopene, and zeaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 221–226.
- Borsarelli, C. D., and Mercadante, A. Z. 2009. Thermal and Photochemical Degradation of Carotenoids. *Carotenoids: Physical, Chemical, and Biological Functions and Properties*, CRC Press, New York, NY, 568 p.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25-30.
- Canela, R., and Rivera, S. 2012. Influence of sample processing on the analysis of carotenoids in maize. *Molecules*, 17, 11255–11268.
- Chen, X. D., Freeman, Y., Guo, F., and Chen, P. 1999. Diffusion of sodium chloride through chicken eggshell in relation to an ancient method of egg preservation. *Food and Bioproducts Processing*, 77(1), 40-46.
- Cheng, S., Zhang, T., Wang, X., Song, Y., Huihui, W., Wang, H., et al. 2018. Influence of salting processes on water and lipid dynamics, physicochemical and microstructure of duck egg. *LWT-Food Science and Technology*, 95, 143–149.
- Cochran, W. G., and Cox, G. M. 1992. *Experimental Designs*, 2nd ed., John Wiley and Sons, New York, NY, 611 p.
- Corongiu, F. P., and Banni, S. 1994. Detection of conjugated dienes by second derivative ultraviolet spectrophotometry. *Methods in Enzymology*, 233(C), 303–310.
- Degl'Innocenti, E., Guidi, L., Massai, R., Remorini, D., and Tavarini, S. 2008. Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. *Food Chemistry*, 107, 282–288.
- Devasagayam, T. P. A., Boloor, K. K., and Ramasarma, T. 2003. Methods for estimating lipid peroxidation: An analysis of merits and demerits. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 40, 300–308.
- Food and Drug Administration. 2012. *Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins*, 2 ed., Department of Health and Human Services, Washington, D.C., 292 p.

- Ganesan, P., Kaewmanee, T., Benjakul, S., and Baharin, B. S. 2014. Comparative study on the nutritional value of pidan and salted duck egg. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 34(1), 1–6.
- Garibaldi, J. A., Ijichi, K., and Straka, R. P. 1969. Heat resistance of salmonella in various egg products. *Applied Microbiology*, 17(4), 491–496.
- Glende, E. A., Jr., and Recknagel, R.O. 1984. Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. *Methods in Enzymology*, 105, 331-336.
- Goula, A. M., and Adamopoulos, K. G. 2005. Stability of lycopene during spray drying of tomato pulp. *LWT - Food Science and Technology*, 38(5), 479–487.
- Gray, J.I., and Pearson A.M. 1987. Rancidity and warmed-over flavor. *Advanced Meat Research*, 3, 221–269.
- Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., et al. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food Chemistry*. 103(4), 1449-1456.
- Guo, M. 2016. Storage Stability Study of a Commercial Spray-dried Hen Egg Yolk Powder. Doctoral dissertation, University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota, USA, 165 p.
- Gutierrez, M. A., Takahashi, H., and Juneja, L. R. 1996. Nutritive evaluation of hen eggs. In: *Hen Eggs: Basic and Applied Science*, Edited by Yamamoto T., Juneja L. R., Hatta H., and Kim M., CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, pp. 25–35.
- Hwang, K. E., Choi, Y. S., Choi, S. M., Kim, H. W., Choi, J. H., Lee, M. A., et al. 2013. Antioxidant action of *ganghwayakssuk* (*Artemisia princeps* Pamp.) in combination with ascorbic acid to increase the shelf life in raw and deep fried chicken nuggets. *Meat Science*. 95, 593-602.
- Itle, R. A., and Kabelka, E. A. 2009. Correlation between lab color space values and carotenoid content in pumpkins and squash (*Cucurbita* spp.). *HortScience: a publication of the American Society for Horticultural Science*, 44(3), 633-637
- Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S., Bauer, F. 2006. The antioxidative properties of Holy basil and Galangal in cooked ground pork. *Meat Science*, 72(3), 446-456.

- Kubola, J., and Siriamornpun, S. 2011. Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food Chemistry*, 127(3), 1138–1145.
- Labuza, T. P., Tannenbaum, S., and Karel, M. 1970. Water content and stability of low- moisture and intermediate-moisture foods. *Food Technology*, 24, 543–550.
- Matumoto-Pintro, P. T., Murakami, A. E., Vital, A. C., Croge, C., da Silva, D. F., Ospina-Roja, I. C., et al. 2017. Effects of storage time and temperature on lipid oxidation of egg powders enriched with natural antioxidants. *Food Chemistry*, 228, 463–468.
- Müller-Maatsch, J., Sprenger, J., Hempel, J., Kreiser, F., Carle, R., and Schweiggert, R. M. 2017. Carotenoids from gac fruit aril (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.) are more bioaccessible than those from carrot root and tomato fruit. *Food Research International*, 99, 928–935.
- Nagarajan, J., Ramanan, R. N., Raghunandan, M. E., Galanakis, C. M., and Krishnamurthy, N. P. 2017. Carotenoids. In: *Nutraceutical and Functional Food Components: Effects of Innovative Processing Techniques*. Edited by Galanakis, C., Elsevier, London, pp. 259–295.
- Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S., and Chiewchan, N. 2017. Natural colorants: pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(15), 3243–3259.
- Olives Barba, A. I., Cámara Hurtado, M., Sánchez Mata, M. C., Fernández Ruiz, V., and López Sáenz De Tejada, M. 2006. Application of a UV-vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and β -carotene in vegetables. *Food Chemistry*, 95(2), 328–336.
- Patil, S. N., Ranveer, R. C., and Sahoo, A. K. 2013. Effect of different parameters on enzyme-assisted extraction of lycopene from tomato processing waste. *Food and Bioproducts Processing*, 91, 370–375.

- Phan-Thi, H., and Waché, Y. 2014. Isomerization and increase in the antioxidant properties of lycopene from *Momordica cochinchinensis* (gac) by moderate heat treatment with UV-Vis spectra as a marker. *Food Chemistry*, 156, 58–63.
- Prior, R. L., Wu, X., and Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302.
- Rannou, C., Queveau, D., Beaumal, V., David-Briand, E., Le Borgne C., Meynier, A., et al. 2015. Effect of spray-drying and storage conditions on the physical and functional properties of standard and n-3 enriched egg yolk powders. *Journal of Food Engineering*, 154, 58–68.
- Ranveer, R. C., Patil, S. N., and Sahoo, A. K. 2000. Effect of different parameters on enzyme-assisted extraction of lycopene from tomato processing waste. *Food and Bioproducts Processing*, 91(4), 370–375.
- Rao, A. V., and Rao, L. G. 2007. Carotenoids and human health, *Pharmacological Research*, 55, 207–216.
- Rao, Q., and Labuza, T. P. 2012. Effect of moisture content on selected physicochemical properties of two commercial hen egg white powders. *Food Chemistry*, 132(1), 373–384.
- Richardson, T., and Korycka-Dahl, M. 1983. Lipid oxidation. In: *Developments in Dairy Chemistry-2*, Edited by Fox, P. F., Elsevier, London, pp. 241–363.
- Sarkar, C. R., Bhagawati, B., Das, L. and Goswami, B. Ch. 2012. A comparative study of carotenoid extraction from algae in different solvent system, *Asian Journal of Plant Sciences*, 2, 546–549.
- Srinivasan, S., Xiong, Y. L., and Decker, E. A. 1996. Inhibition of protein and lipid oxidation in beef heart surimi-like material by antioxidants and combinations of pH, NaCl, and buffer type in the washing media. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1), 119–125.

- Takyi, E. E. K. 2001. Bioavailability of carotenoids from vegetables versus supplements. In: *Vegetables, Fruits and Herbs in Health Promotion*, Edited by Watson, R. R., CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, pp. 19–34.
- Tananuwong, K., and Tewaruth, W. 2010. Extraction and application of antioxidants from black glutinous rice. *LWT - Food Science and Technology*, 43(3), 476–481.
- Tran, T. H. 2007. Producing carotenoid-rich powder from gac fruit. Master's Thesis, University of Western Sydney, Australia, 118 p.
- Vuong, L. T. and King, J. C., 2003. A method of preserving and testing the acceptability of gac fruit oil, a good source of b-carotene and essential fatty acids. *Food and Nutrition Bulletin*, 24 (2), 224–230.
- Vuong, L. T., Franke, A. A., Custer, L. J., and Murphy, S. P. 2006. *Momordica cochinchinensis* Spreng. (gac) fruit carotenoids reevaluated. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6–7), 664–668.
- West, C. E., and Poortvliet, E. J. 1993. *The Carotenoid Content of Foods with Special Reference to Developing Countries*, Washington, D.C., USA, 210 p.
- Witte, V. C., Krause, G. F., and Bailey, M. E. 1970. A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *Journal of Food Science*, 35, 582-585.
- Yaniarti, M. N., Amarantini, C., and Budiarmo, T. Y. 2017. The effect of temperature and pasteurization time on *Staphylococcus aureus* isolates from dairy products. *AIP Conference Proceedings*, 1908.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์

การตรวจวัดทางกายภาพ

ภาคผนวก ก.1 การวัดค่าสี ตามวิธีของ Rannou และคณะ (2015)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- Chroma meter (Konica Minolta รุ่น CR-400, Japan)

วิธีวิเคราะห์

1. สอบเทียบเครื่อง Chroma meter ด้วย white standard plate $L^* = 97.59$, $a^* = 0.00$ และ $b^* = 1.98$
2. วัดค่าสี (CIE L^* , a^* และ b^*) บนผิวตัวอย่างจาก 3 ตำแหน่งที่แตกต่างกัน แล้วบันทึกผล

การวิเคราะห์ทางเคมี

ภาคผนวก ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีของ AOAC (2005)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- ตู้อบลมร้อน (hot air oven, Memmert รุ่น UF110, Germany)
- ถ้วยอะลูมิเนียม
- เตสิคเคเตอร์

วิธีวิเคราะห์

1. นำถ้วยอะลูมิเนียมไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 ± 5 °C นาน 1 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบแล้วทิ้งให้เย็นในเตสิคเคเตอร์ จากนั้นจึงชั่งน้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมเปล่าที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดพืชข้าวให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ในถ้วยอะลูมิเนียม
3. อบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 ± 5 °C จนตัวอย่างมีน้ำหนักคงที่ (ได้ผลต่างของน้ำหนักทั้ง 2 ครั้ง ติดต่อกันไม่เกิน 0.005 กรัม)
4. นำตัวอย่างออกจากตู้อบลมร้อน ทิ้งให้เย็นในเตสิคเคเตอร์
5. ชั่งน้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมที่มีตัวอย่างแห้ง และคำนวณหาปริมาณความชื้นตามสูตรดังนี้

$$\% \text{ moisture (wet basis)} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100\%$$

$$\% \text{ moisture (dry basis)} = \frac{M_1 - M_2}{M_2} \times 100\%$$

เมื่อ M_1 = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

M_2 = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

ภาคผนวก ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (crude protein) ตามวิธีของ AOAC (2005)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- เครื่องย่อยโปรตีน (BÜCHI รุ่น K-424, Switzerland)
- เครื่องดักจับไอกรด (BÜCHI รุ่น B-414, Switzerland)
- เครื่องกลั่นไนโตรเจน (BÜCHI รุ่น B-324, Switzerland)

สารเคมี

- conc. sulfuric acid (A.R. grade, J.T. Baker Neutrasorb, U.S.A.)
- hydrochloric acid 0.1 N (A.R. grade, Ajax Finechem, Australia)
- สารละลาย sodium hydroxide 50% w/v (A.R. grade, CarioErba, France)
- สารละลาย boric acid 4% w/v (A.R. grade, Merck, Germany)
- selenium mixture (A.R. grade, Merck, Germany)
- อินดิเคเตอร์ (เตรียมโดยละลาย methyl red 0.125 g และ methylene blue 0.0825 g ใน 90% ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร)

วิธีวิเคราะห์

ขั้นตอนการย่อย

1. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งน้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.5 g (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ในหลอดย่อย
2. เติม selenium mixture 0.5 กรัม และ sulfuric acid 20 มิลลิลิตร ลงในหลอดย่อย
3. ทำ blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่างประมาณ 1 มิลลิลิตร แล้ววิเคราะห์เช่นเดียวกับตัวอย่าง
4. นำหลอดย่อยต่อเข้ากับเครื่องย่อยโปรตีน แล้วย่อยจนตัวอย่างมีสีน้ำตาลเข้ม (ใช้เวลาประมาณ 30-45 นาที)
5. ปิดเตา และยกออกจากเครื่องย่อย ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

ขั้นตอนการกลั่นและไทเทรต

1. นำขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml ที่บรรจุ boric acid 4% (w/v) 25 ml ผสมอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้ โดยให้ปลายของอุปกรณ์ควมแน่นแช่ในสารละลาย เติม NaOH 50% (w/v) ปริมาตร 90 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร ลงในหลอดย่อยโปรตีน เวลาในการกลั่นเท่ากับ 5 นาที เพื่อให้ทำปฏิกิริยาเกินพอ ซึ่งสังเกตได้จากสารละลายเปลี่ยนเป็นสีคล้ำ
2. กลั่นให้ได้ของเหลวอยู่ในระดับ 200 ml
3. ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้ในขวดรูปชมพู่ด้วย HCl 0.1 N ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน จนถึงจุดยุติ (สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน) บันทึกปริมาตร HCl ที่ใช้ และคำนวณหาปริมาณโปรตีนดังสมการ

$$\% \text{ Nitrogen} = \frac{(\text{ml HCl} - \text{ml blank})}{\text{g sample}} \times 0.14 \%$$

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ Nitrogen} \times \text{conversion factor}$$

หมายเหตุ ใช้ conversion factor เท่ากับ 6.25 สำหรับเยื่อหุ้มเมล็ดพืชข้าว (หยาดฝน ทนงการกิจ และ พูนพัฒน์ พูนน้อย, 2557)

ภาคผนวก ก.4 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันทั้งหมด (crude fat) ตามวิธีของ AOAC (2005)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- เครื่องสกัดไขมัน (Soxhlet extractor, Gerhardt, รุ่น HC61, Germany)
- เครื่องระเหย (rotary vacuum evaporator, Eyela รุ่น SB-651, Japan)
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven, Memmert รุ่น UF110, Germany)
- เดสิคเคเตอร์

สารเคมี

- petroleum ether (A.R. grade, QR&C, New Zealand)

วิธีวิเคราะห์

1. นำขวดก้นกลมขนาด 250 ml ออบในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 100 ± 5 °C จนแห้งสนิท และทิ้งให้เย็นในเดสิคเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนักขวดเปล่าที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างที่อบแห้งแล้วให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
3. นำตัวอย่างใส่ลงในทิมเบล แล้วปิดด้วยสำลี นำทิมเบลประกอบเข้ากับชุดสกัดไขมัน โดยใช้ตัวทำละลาย petroleum ether ปริมาตร 250 ml ใช้เวลาในการสกัดประมาณ 2 ชั่วโมง
4. นำขวดก้นกลมไประเหย petroleum ether ด้วยเครื่องระเหยจนหมด
5. ออบในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 100 ± 5 °C จนแห้งสนิท แล้วทิ้งให้เย็นในเดสิคเคเตอร์
6. ชั่งน้ำหนักขวดก้นกลมที่อบแล้ว (มีไขมัน) เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณไขมันทั้งหมด ตามสูตรดังนี้

$$\text{ปริมาณไขมันทั้งหมด (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักขวดก้นกลมที่มีไขมัน} - \text{น้ำหนักขวดก้นกลมเปล่า}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100 \%$$

ภาคผนวก ก.5 การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยหยาบ (crude fiber) ตามวิธีของ AOAC (2005)

อุปกรณ์

- แท่งแก้วปลายยาง
- ผ้าขาวบาง
- กระดาษลิตมัส
- กรวยบุชเนอร์
- ปีมสุญญากาศ
- ครุชีเบล
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven, Memmert รุ่น UF110, Germany)
- hot plate
- เต้าเผา
- เครื่องชั่ง
- เดสิคเคเตอร์
- ถ้วยอะลูมิเนียม

สารเคมี

- sulfuric acid 1.25% (w/w) (A.R. grade, J.T. Baker Neutrasorb, U.S.A.)
- sodium hydroxide 5% (w/w) (A.R. grade, CarioErba, France)
- hydrochloric acid 1% (w/w) (A.R. grade, Ajax Finechem, Australlia)
- ethanol 95% (A.R. grade, QRëC, New Zealand)
- น้ำกลั่นต้มเดือด

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างแห้งที่ผ่านการสกัดไขมันแล้ว ประมาณ 5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
2. เติม sulfuric acid 1.25% จนถึงขีดบอกระดับ 200 มิลลิลิตร
3. ให้ความร้อนจนเดือด แล้วต้มด้วยไฟอ่อน 20 นาที ในระหว่างการต้ม หากปริมาตรลดต่ำกว่าขีด 200 มิลลิลิตร ให้เติมน้ำกลั่นต้มเดือดให้ถึงขีด ระหว่างต้ม ให้คนด้วยแท่งแก้วที่มีปลายยางเป็นระยะๆ
4. นำส่วนผสมมากรองผ่านผ้าขาวบางหลายๆ ชั้น บนกรวยบุชเนอร์ ซึ่งวางบนขวดรูปชมพู่ ที่ต่อกับปีมสุญญากาศ

5. ล้างกากของตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นต้มเดือดหลายๆครั้ง จนน้ำที่ผ่านออกมาไม่เป็นกรดอีก (ทดสอบความเป็นกรดของน้ำที่ผ่านออกมาด้วยกระดาษลิตมัส)
6. นำกากใส่กลับลงในบีกเกอร์ใบเดิม หากมีกากติดอยู่ที่ผ้าขาวบาง ให้ชะออกด้วยน้ำกลั่นปริมาณน้อยที่สุด
7. เติม sodium hydroxide 5% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
8. เติมน้ำกลั่นต้มเดือดจนถึงขีดบอกริมาตร 200 มิลลิลิตร
9. ให้ความร้อนจนเดือด แล้วต้มด้วยไฟอ่อน 20 นาที ในระหว่างการต้ม หากปริมาตรลดลงต่ำกว่าขีด 200 มิลลิลิตร ให้เติมน้ำกลั่นต้มเดือดจนถึงขีด ระหว่างต้ม คนด้วยแท่งแก้วที่มีปลายยางเป็นระยะๆ
10. นำส่วนผสมมารองผ่านผ้าขาวบางหลายๆ ชั้น บนกรวยบุชเนอร์ ซึ่งวางบนขวดรูปชมพู่ ที่ต่อกับปั๊มสุญญากาศ
11. ล้างกากด้วยน้ำกลั่นต้มเดือดหลายๆครั้ง แล้วชะด้วย hydrochloric acid 1% 1 ครั้ง จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นต้มเดือดจนน้ำล้างที่ผ่านออกมาไม่เป็นกรดอีก (ทดสอบความเป็นกรดของน้ำล้างที่ผ่านออกมาด้วยกระดาษลิตมัส)
12. ชะกากด้วย ethanol 95% จากนั้นนำกากใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียม อบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 ± 5 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่
13. นำถ้วยอะลูมิเนียมออกจากตู้อบ ทิ้งให้เย็นในเดสิคเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก (หักกลับน้ำหนักของภาชนะ กำหนดให้น้ำหนักตัวอย่างนี้เป็น W_1)
14. ชั่งครุชชีเบลพร้อมฝาที่เผาและทิ้งให้เย็น (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน)
15. นำกากออกมาใส่ครุชชีเบล นำไปเผาบน hot plate จนได้เถ้าสีดำและหมดควัน
16. นำไปเผาต่อในเตาเผา (muffle furnace) ที่ 550 °C จนได้เถ้าสีขาว
17. นำครุชชีเบลออกมาจากเตาเผา ทิ้งให้เย็นในเดสิคเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก (หักกลับน้ำหนักของภาชนะ กำหนดให้น้ำหนักตัวอย่างนี้เป็น W_2) คำนวณ %crude fiber ตามสมการ

$$\% \text{ crude fiber} = \frac{(W_1 - W_2)}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (g)}} \times 100 \%$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนัก crude fiber + น้ำหนักเถ้า

W_2 = น้ำหนักเถ้า

ภาคผนวก ก.6 การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (ดัดแปลงจาก AOAC, 2005)

อุปกรณ์

- ครูซิเบล
- เตาเผา (muffle furnace)
- hot plate
- เติสเคเตอร์
- เครื่องชั่ง

วิธีการวิเคราะห์

1. เเผาครูซิเบลพร้อมฝาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 °C นาน 3 ชั่วโมง นำออกจากเตาเผา แล้วทิ้งให้เย็นใน เติสเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก
2. ทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 1 จนกระทั่งได้น้ำหนักที่คงที่ (ต่างกันไม่เกิน 0.005 กรัม) แล้วบันทึกผล (W_1)
3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 3 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ลงในครูซิเบล บันทึกผล (S)
4. นำไปเผาบน hot plate จนได้เถ้าสีดำ และหมดควัน
5. นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 °C จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว (อย่างต่ำ 3 ชั่วโมง) นำออกจากเตาเผา เก็บในเติสเคเตอร์ ปล่อยให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนัก
6. ทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 5 จนกว่าน้ำหนักจะคงที่ (ต่างกันไม่เกิน 0.005 กรัม) หาค่าเฉลี่ย บันทึกผล (W_2)
7. คำนวณหาปริมาณเถ้าจากสมการ

$$\% \text{ ash} = \frac{(W_2 - W_1)}{S} \times 100\%$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักครูซิเบล
 W_2 = น้ำหนักครูซิเบล + น้ำหนักเถ้า
 S = น้ำหนักตัวอย่าง

ภาคผนวก ก.7 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต

คำนวณโดยวิเคราะห์องค์ประกอบอื่นๆ ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เส้นใยอาหาร และเถ้า รวมกันในหน่วยร้อยละ แล้วหักออกจาก 100 จะได้ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ดังสมการต่อไปนี้

$$\% \text{คาร์โบไฮเดรต (wet basis)} = 100 - (\% \text{ความชื้น} + \% \text{โปรตีน} + \% \text{ไขมัน} + \% \text{เส้นใยอาหาร} + \% \text{เถ้า}) \%$$

$$\% \text{คาร์โบไฮเดรต (dry basis)} = 100 - (\% \text{โปรตีน} + \% \text{ไขมัน} + \% \text{เส้นใยอาหาร} + \% \text{เถ้า}) \%$$

ภาคผนวก ก.8 การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ด้วยวิธี Spectrophotometry ตามวิธีของ Tran (2007)

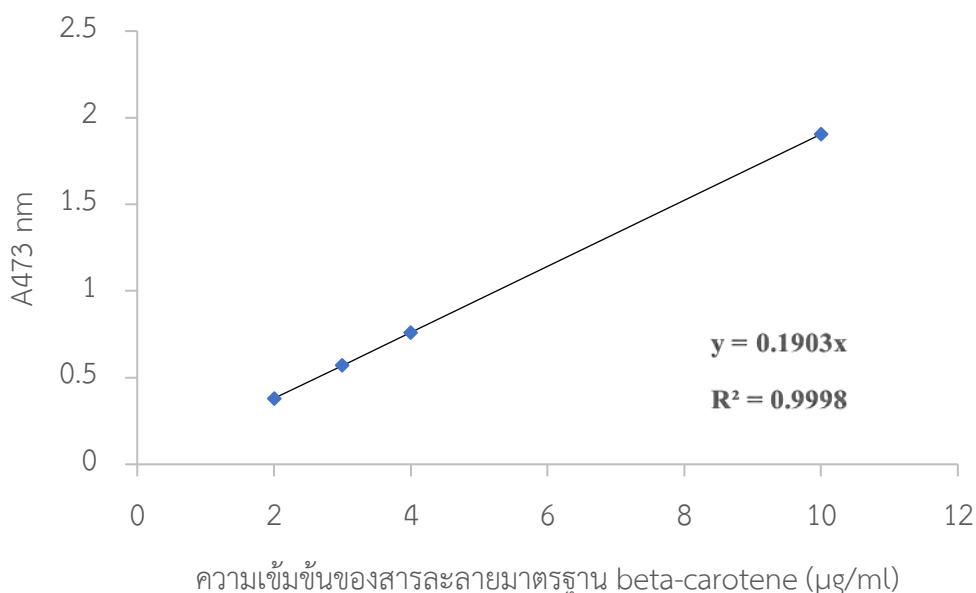
อุปกรณ์และเครื่องมือ

spectrophotometer (Thermo Spectronic, รุ่น GENESYS 10 UV)

สารเคมี

วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน beta-carotene และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. นำสารละลาย beta-carotene ละลายใน hexane จนได้ความเข้มข้น 2, 3, 4 และ 10 $\mu\text{g/ml}$
2. นำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 473 นาโนเมตร โดยใช้ hexane ในการปรับค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0 (set blank)
3. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน beta-carotene กับ ค่าการดูดกลืนแสง (รูปที่ ก.1)



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด

วิธีวิเคราะห์

1. นำสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 473 นาโนเมตร โดยใช้ hexane ในการปรับค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0 (set blank)
2. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่างไปคำนวณหาโดยเทียบกับค่าการดูดกลืนแสง ของกราฟมาตรฐานของสาร beta-carotene คำนวณ และรายงานค่าเป็นปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ($\mu\text{g/g}$ ของเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว)

ภาคผนวก ก.9 การวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay ดัดแปลงจาก Brand-Williams และคณะ (1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

spectrophotometer (Thermo Spectronic, รุ่น GENESYS 10 UV)

สารเคมี

- 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) (Fluka, Denmark)
- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Fluka, USA)
- methanol 99.9% (A.R. grade, Fisher Scientific, UK)

วิธีเตรียมสารละลาย DPPH

1. เตรียม stock solution โดยนำ DPPH 24 มิลลิกรัม ละลายใน methanol ประมาณ 50 มิลลิลิตร เติมน้ำในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 ml แล้วปรับปริมาตรด้วย methanol จะได้สารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 6×10^{-4} M (เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C ได้ไม่เกิน 5 วัน)
2. เตรียม daily working solution โดยปิเปตสารละลาย DPPH (stock solution) 10 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 ml แล้วปรับปริมาตรด้วย methanol นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm (A_{initial}) ซึ่งควรมีค่าประมาณ 1.1 หากค่าการดูดกลืนแสงมากหรือน้อยกว่า 1.1 ให้เติม methanol หรือ stock solution เพื่อปรับค่า A_{initial}

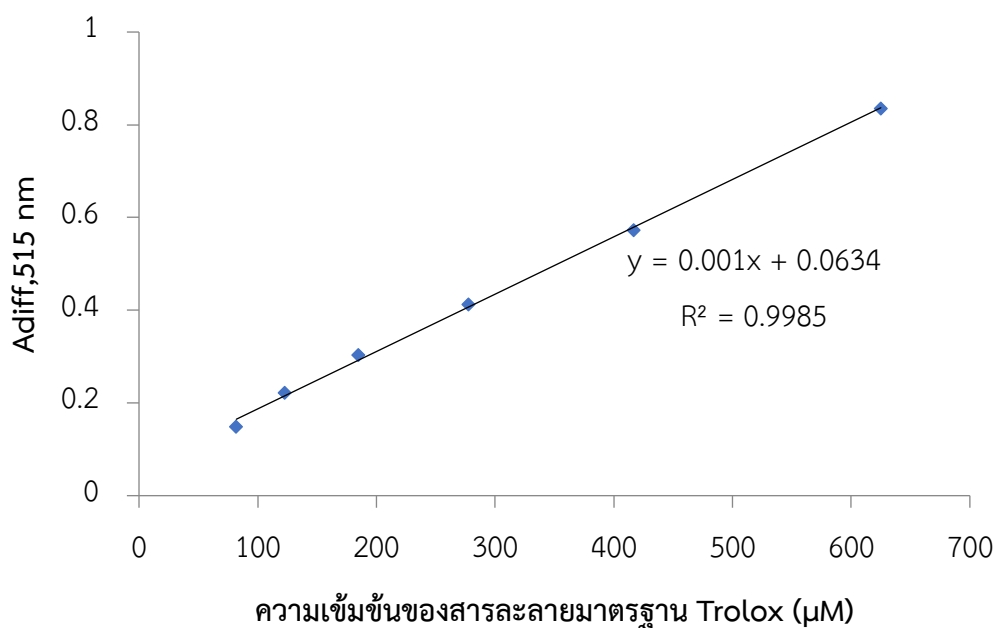
วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Trolox และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ชั่ง Trolox 25 มิลลิกรัม ละลายใน methanol 10 มิลลิลิตร เติมน้ำในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 ml ผสมให้เข้ากัน จะได้สารละลาย Trolox ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10,000 μM
2. นำสารละลาย Trolox จากข้อ 1 มาเจือจางด้วย methanol จนได้ความเข้มข้น 82-625 μM
3. ปิเปตสารละลาย Trolox 250 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ปริมาตร 4.75 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง ทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที

- นำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร โดยใช้ methanol ในการปรับค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0 (set blank)
- นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH (A_{initial}) มาหักลบออกด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่าง (A_{final} ซึ่งควรมีค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 0.6-0.7) ได้เป็นผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง (A_{diff})

$$A_{\text{diff}} = A_{\text{initial}} - A_{\text{final}}$$

- สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Trolox กับ A_{diff} (รูปที่ ก.2)



รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH

วิธีวิเคราะห์

- ปิเปตตัวอย่างสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดพริกขี้หนู 250 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH 4.75 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง ทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที
- นำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร โดยใช้ methanol ในการปรับค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0 (set blank)
- นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH (A_{initial}) และค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่าง (A_{final}) มาคำนวณผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง (A_{diff})
- นำ A_{diff} ที่ได้จากตัวอย่างไปคำนวณหาค่าสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยเทียบกับ A_{diff} ของกราฟมาตรฐานของสาร Trolox (รูปที่ ก.2) รายงานค่าเป็น $\mu\text{mol Trolox equivalent}$ ต่อกรัม

ภาคผนวก ก.10 การวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) (ดัดแปลงจาก Benzie และ Strain, 1996)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

spectrophotometer (Thermo Spectronic, รุ่น GENESYS 10 UV)

สารเคมี

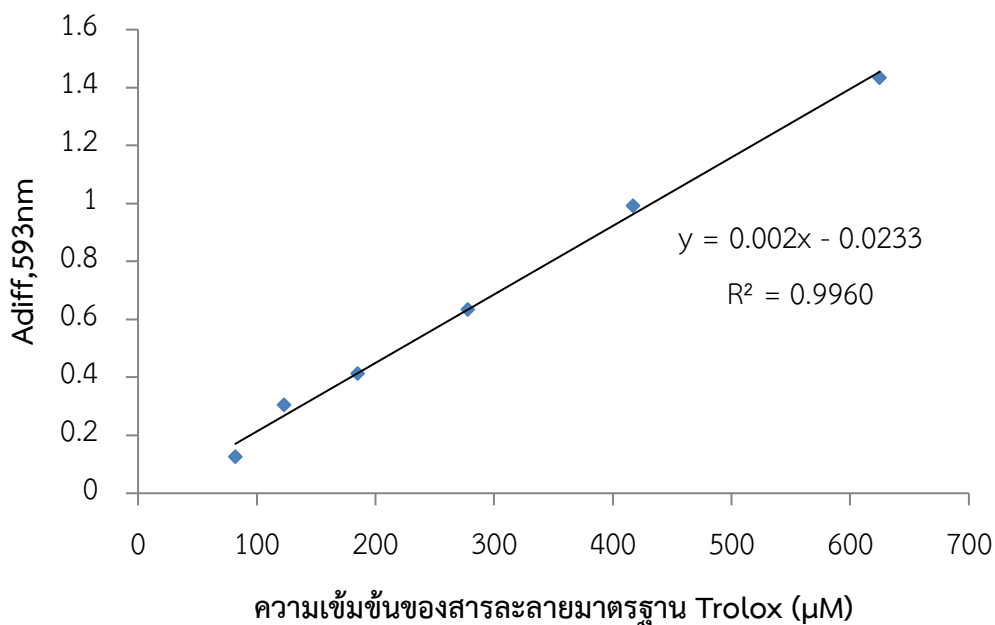
- Trolox (Fluka, Denmark)
- sodium acetate trihydrate (A.R. grade, QRëC, New Zealand)
- tripyridyltriazine (TPTZ) (Fluka, Switzerland)
- ferric chloride (QRëC, New Zealand)
- glacial acetic acid (A.R. grade, QRëC, New Zealand)
- hydrochloric acid 0.1 M (A.R. grade, Ajax Finechem, Australlia)
- methanol 99.9% (A.R. grade, Fisher Scientific, UK)

วิธีเตรียมสารละลาย FRAP

1. เตรียมสารละลาย acetate buffer โดยผสม sodium acetate trihydrate 0.3 กรัม และ glacial acetic acid 1.6 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
2. เตรียมสารละลาย ferric chloride โดยละลาย ferric chloride 270 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับเป็นปริมาตร 50 มิลลิลิตร
3. เตรียมสารละลาย hydrochloric acid 0.04 M โดยปิเปตสารละลาย hydrochloric acid 0.1 M 20 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
4. เตรียมสารละลาย TPTZ โดยชั่งน้ำหนัก 31.2 มิลลิกรัม ละลายใน HCl 0.04 M (ซึ่งเตรียมจาก HCl 0.1 M) เทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร และเติม HCl 0.04 M จนถึงขีดบอกปริมาตร
5. เตรียมสารละลาย FRAP โดยผสม acetate buffer 25 มิลลิลิตร, ferric chloride 2.5 มิลลิลิตร และ TPTZ 2.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ

วิธีเตรียมสารละลายมาตรฐาน Trolox

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆตามที่ระบุไว้ในการสร้างกราฟมาตรฐานของภาคผนวก ก.9



รูปที่ ก.3 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP

วิธีวิเคราะห์

1. ให้ความร้อนสารละลาย FRAP ที่อุณหภูมิ 37 °C ใน water bath จะได้สารละลายสีน้ำตาลอมส้ม
2. บีบตัวอย่างสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 250 ไมโครลิตร (ในการสร้างกราฟมาตรฐานจะใช้สารละลายของ Trolox แทนตัวอย่าง) ผสมกับสารละลาย FRAP 4.75 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่น ในการปรับค่าการดูดกลืนแสงเป็น 0 (set blank) ซึ่งสีของตัวอย่างจะเปลี่ยนสีจากเดิมไปเป็นสีน้ำเงิน
4. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่าง (A_{final}) มาหักลบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย FRAP (A_{initial}) จะได้เป็นผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง (A_{diff})

$$A_{\text{diff}} = A_{\text{final}} - A_{\text{initial}}$$

5. นำ A_{diff} ที่ได้ไปคำนวณหาสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยเทียบกับ A_{diff} ของกราฟมาตรฐานของ Trolox (รูปที่ ก.3) รายงานค่าเป็น $\mu\text{mol Trolox equivalent}$ ต่อกรัม

ภาคผนวก ก.11 การวิเคราะห์ปริมาณ conjugated diene ตามวิธีของ Srinivasan และคณะ (1996)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- spectrophotometer
- centrifuge

สารเคมี

- hexane (A.R. grade, Fisher Chemical, UK)
- isopropanol (A.R. grade, QRëC, New Zealand)

วิธีวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างไข่แดงเค็มผง 0.5 กรัม มาเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน ด้วยการคนด้วยแท่งแก้ว
2. นำ suspension ที่ได้ 0.5 มิลลิลิตรมาผสมกับ hexane:isopropanol (3:1) 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที
3. ปั่นเหวี่ยงที่ 2,000 g เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำส่วนสารละลายใสด้านบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 233 นาโนเมตร รายงานผลในหน่วย $\mu\text{mol}/\text{mg}$ salted egg yolk powder ใช้ค่า molar extinction coefficient เท่ากับ $25,200 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

ภาคผนวก ก.12 วิเคราะห์ค่า thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ตามวิธีของ

Witte และคณะ (1970)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- spectrophotometer

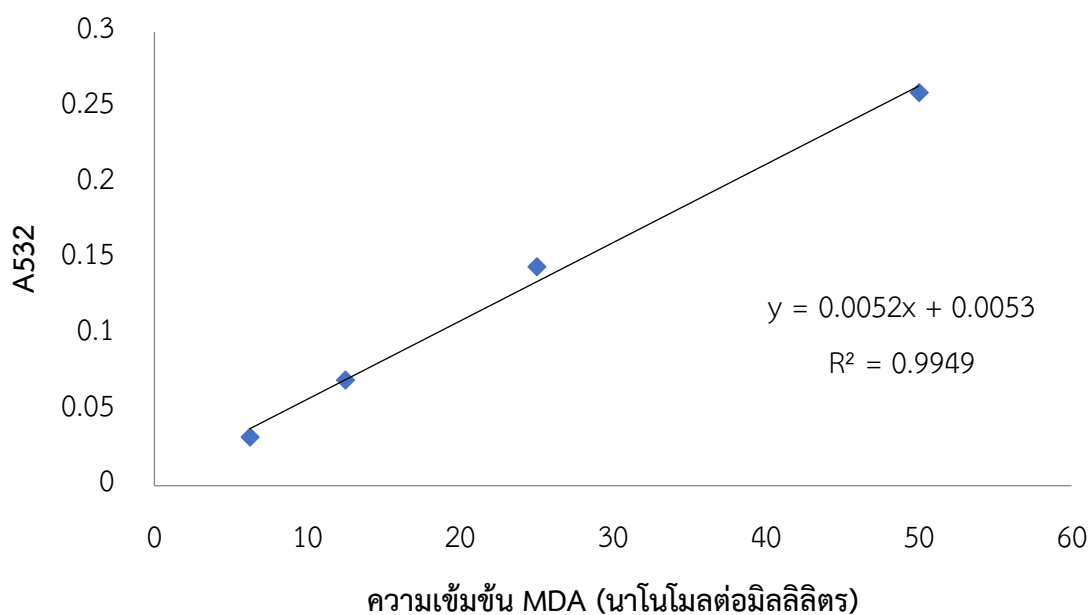
สารเคมี

- trichloroacetic acid 10% (w/w) (A.R. grade, Sigma-Aldrich, Germany)
- 98% 2-thiobarbituric acid (2.88 กรัมต่อ น้ำ 1 ลิตร) (A.R. grade, Fluka, USA)
- 96% malondialdehyde (A.R. grade, Sigma-Aldrich, Germany)

การทำกราฟมาตรฐาน

1. ปิเปตสารละลาย malondialdehyde 10 ไมโครลิตรลงในขวดกำหนดปริมาตร และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลาย malondialdehyde ความเข้มข้น 4,000 นาโนโมล/มิลลิลิตร
2. นำสารละลายข้างต้นมา 100 ไมโครลิตรผสมกับน้ำกลั่น 3.9 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย malondialdehyde ความเข้มข้น 100 นาโนโมล/มิลลิลิตร
3. นำสารละลาย malondialdehyde จากขั้นที่แล้วมาเจือจางจนได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 6.25-50 นาโนโมลต่อมิลลิลิตร

4. นำสารละลาย malondialdehyde แต่ละความเข้มข้นไปทำปฏิกิริยากับสารละลาย thiobarbituric acid และนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของ malondialdehyde และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร (รูปที่ ก.4)



รูปที่ ก.4 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ค่า TBARS

วิธีวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างไข่แดงเค็มผง 10 กรัม เติม trichloroacetic acid 50 มิลลิลิตร ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน
2. กรองผ่านกระดาษกรอง แล้วปรับปริมาตรสารละลายที่ได้ด้วยน้ำกลั่น เป็น 50 มิลลิลิตร
3. ปิเปตสารละลายส่วนใส 5 มิลลิลิตร แล้วเติม 2-thiobarbituric acid 5 มิลลิลิตร ให้ความร้อนใน boiling water bath เป็นเวลา 10 นาที แล้วทิ้งให้เย็น
4. วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ malondialdehyde (MDA) และรายงานค่าในหน่วย mg malondialdehyde (MDA)/kg salted egg yolk powder

ภาคผนวก ข
ผลวิจัยเพิ่มเติม

ตารางที่ ข.1 ค่าสีของตัวอย่างตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30 °C)

| Treatment | Weeks of storage | | | | | |
|----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|--|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | |
| L* Control | 45.88±1.63 ^{bcdef} | 48.22±0.59 ^{ab} | 47.00±0.63 ^{abcd} | 45.50±2.5 ^{bcdef} | 42.69±0.17 ^{fghij} | |
| BHA | 44.31±0.61 ^{cdefg} | 50.02±2.01 ^a | 46.30±2.2 ^{bcde} | 47.52±0.61 ^{abc} | 43.51±0.01 ^{defgh} | |
| เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 200 ppm | 43.87±2.11 ^{defgh} | 43.40±1.31 ^{efghi} | 40.29±0.66 ^{hijk} | 39.87±1.68 ^{ijk} | 41.09±0.95 ^{ghij} | |
| เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 400 ppm | 41.05±3.2 ^{ghij} | 43.29±0.63 ^{efghi} | 40.52±1.12 ^{hijk} | 39.56±1.42 ^{jk} | 37.49±1.06 ^k | |
| a* Control | 17.27±0.75 ^{efg} | 17.85±0.93 ^{ef} | 17.08±0.13 ^{efg} | 16.37±0.66 ^{fg} | 16.60±0.36 ^{efg} | |
| BHA | 16.33±0.04 ^g | 17.85±0.88 ^{ef} | 16.97±1.18 ^{efg} | 17.98±0.08 ^e | 17.85±1.84 ^{ef} | |
| เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 200 ppm | 21.33±0.74 ^{bc} | 20.49±0.21 ^{cd} | 19.73±0.09 ^d | 19.46±0.73 ^d | 19.34±0.40 ^d | |
| เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 400 ppm | 22.37±1.31 ^{ab} | 22.95±0.40 ^a | 21.78±0.47 ^{abc} | 21.32±0.40 ^{bc} | 21.15±0.24 ^{bc} | |
| b* Control | 52.14±2.00 ^{def} | 52.26±0.28 ^{def} | 51.36±0.69 ^{defg} | 49.96±2.10 ^{fgh} | 47.35±0.18 ^{ijk} | |
| BHA | 45.26±0.23 ^{jk} | 51.14±2.09 ^{efg} | 47.64±2.62 ^{ij} | 48.66±0.06 ^{gh} | 44.40±0.05 ^k | |
| เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 200 ppm | 58.05±2.33 ^a | 56.44±1.24 ^{ab} | 52.90±1.38 ^{cdef} | 52.12±1.31 ^{def} | 52.77±0.72 ^{cdef} | |
| เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 400 ppm | 55.69±1.00 ^{abc} | 58.14±1.28 ^a | 54.70±1.76 ^{bcd} | 53.88±1.75 ^{bcde} | 50.28±0.39 ^{fgh} | |

ค่าในตารางแสดงในรูป ค่าเฉลี่ย ± SD จากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

a,b... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับไว้ในแนวดิ่ง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.2 ค่า conjugated diene ($\mu\text{mol/g}$ egg powder) ของตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($30\text{ }^{\circ}\text{C}$)

| Treatment | Weeks of storage | | | | |
|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
| Control | 3.599 \pm 0.585 ^e | 3.319 \pm 0.273 ^{ef} | 6.460 \pm 0.251 ^{ab} | 6.460 \pm 0.247 ^a | 5.751 \pm 0.098 ^{bc} |
| BHA | 2.699 \pm 0.349 ^f | 3.299 \pm 0.161 ^{ef} | 5.236 \pm 0.159 ^{cd} | 5.607 \pm 0.252 ^{bcd} | 5.658 \pm 0.190 ^{bcd} |
| เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 200 ppm | 2.662 \pm 0.325 ^f | 3.897 \pm 0.249 ^e | 6.099 \pm 0.122 ^{ab} | 5.793 \pm 0.114 ^{bc} | 5.739 \pm 0.064 ^{bc} |
| เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 400 ppm | 3.265 \pm 0.466 ^{ef} | 2.926 \pm 0.177 ^f | 5.952 \pm 0.249 ^{ab} | 5.151 \pm 0.368 ^{cd} | 5.063 \pm 0.395 ^d |

ค่าในตารางแสดงในรูป ค่าเฉลี่ย \pm SD จากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

a,b... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับไว้ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.3 ค่า thiobarbituric acid reactive substances (mg malondialdehyde /kg egg powder) ของตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เติมสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($30\text{ }^{\circ}\text{C}$)

| Treatment | Weeks of storage | | | | |
|-------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
| Control | 0.1280 \pm 0.0348 ^{efg} | 0.1695 \pm 0.185 ^{bcd} | 0.1569 \pm 0.0165 ^{cde} | 0.1941 \pm 0.0110 ^b | 0.2486 \pm 0.0123 ^a |
| BHA | 0.1073 \pm 0.0114 ^g | 0.1089 \pm 0.0161 ^g | 0.1107 \pm 0.0031 ^g | 0.1345 \pm 0.0119 ^{efg} | 0.1319 \pm 0.0107 ^{efg} |
| เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 200 ppm | 0.1304 \pm 0.0086 ^{efg} | 0.1293 \pm 0.0129 ^{efg} | 0.1221 \pm 0.0172 ^{fg} | 0.1573 \pm 0.0108 ^{cde} | 0.1843 \pm 0.0068 ^{bc} |
| เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 400 ppm | 0.1206 \pm 0.0034 ^{fg} | 0.1111 \pm 0.0172 ^g | 0.11676 \pm 0.0095 ^{fg} | 0.1463 \pm 0.0054 ^{def} | 0.1671 \pm 0.0103 ^{bcd} |

ค่าในตารางแสดงในรูป ค่าเฉลี่ย \pm SD จากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

a,b... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับไว้ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ค.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า total carotenoid content

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-----------------|---------------------------|----|---------------|---------|------------|
| Corrected Model | 42233421.641 ^a | 8 | 5279177.705 | 21.898 | 8.9563E-8 |
| Intercept | 236586691.143 | 1 | 236586691.143 | 981.361 | 3.7306E-17 |
| Solvent | 35494382.258 | 2 | 17747191.129 | 73.615 | 2.1609E-9 |
| Ratio | 3691809.021 | 2 | 1845904.510 | 7.657 | .0039 |
| Solvent * Ratio | 3047230.362 | 4 | 761807.591 | 3.160 | .0393 |
| Error | 4339441.852 | 18 | 241080.103 | | |
| Total | 283159554.637 | 27 | | | |
| Corrected Total | 46572863.494 | 26 | | | |

a. R Squared = .907 (Adjusted R Squared = .865)

ตารางที่ ค.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า DPPH radical scavenging activity

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|----------|------------|
| Corrected Model | 15.922 ^a | 8 | 1.990 | 20.506 | 1.5027E-7 |
| Intercept | 116.530 | 1 | 116.530 | 1200.621 | 6.2491E-18 |
| Solvent | 9.103 | 2 | 4.552 | 46.896 | 7.2741E-8 |
| Ratio | .052 | 2 | .026 | .270 | .7667 |
| Solvent * Ratio | 6.767 | 4 | 1.692 | 17.430 | 5.2599E-6 |
| Error | 1.747 | 18 | .097 | | |
| Total | 134.199 | 27 | | | |
| Corrected Total | 17.669 | 26 | | | |

a. R Squared = .901 (Adjusted R Squared = .857)

ตารางที่ ค.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า ferric reducing antioxidant power (FRAP)

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|---------|------------|
| Corrected Model | 123.640 ^a | 8 | 15.455 | 12.734 | 5.5271E-6 |
| Intercept | 785.024 | 1 | 785.024 | 646.831 | 1.4679E-15 |
| Solvent | 3.991 | 2 | 1.996 | 1.644 | .2209 |
| Ratio | 80.244 | 2 | 40.122 | 33.059 | 9.4070E-7 |
| Solvent * Ratio | 39.404 | 4 | 9.851 | 8.117 | .0006 |
| Error | 21.846 | 18 | 1.214 | | |
| Total | 930.510 | 27 | | | |
| Corrected Total | 145.485 | 26 | | | |

a. R Squared = .850 (Adjusted R Squared = .783)

ตารางที่ ค.4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า water activity (a_w)

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|------------------|-------------------------|----|-------------|------------|------------|
| Corrected Model | .074 ^a | 19 | .004 | 349.452 | 3.7344E-21 |
| Intercept | 7.066 | 1 | 7.066 | 633729.471 | 1.7263E-46 |
| Treatment | .009 | 3 | .003 | 261.495 | 3.2990E-16 |
| Week | .055 | 4 | .014 | 1241.904 | 1.1781E-23 |
| Treatment * Week | .010 | 12 | .001 | 73.957 | 7.3369E-14 |
| Error | .000 | 20 | 1.115E-5 | | |
| Total | 7.140 | 40 | | | |
| Corrected Total | .074 | 39 | | | |

a. R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .994)

ตารางที่ ค.5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า L* (lightness)

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------------|
| Corrected Model | 415.808 ^a | 19 | 21.885 | 9.807 | 2.1470E-6 |
| Intercept | 75921.597 | 1 | 75921.597 | 34020.768 | 8.6382E-34 |
| Treatment | 265.199 | 3 | 88.400 | 39.612 | 1.3273E-8 |
| Week | 103.731 | 4 | 25.933 | 11.621 | 4.8517E-5 |
| Treatment * Week | 46.878 | 12 | 3.906 | 1.751 | .1295 |
| Error | 44.633 | 20 | 2.232 | | |
| Total | 76382.037 | 40 | | | |
| Corrected Total | 460.440 | 39 | | | |

a. R Squared = .903 (Adjusted R Squared = .811)

ตารางที่ ค.6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า a* (redness)

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------------|
| Corrected Model | 176.958 ^a | 19 | 9.314 | 23.804 | 8.5124E-10 |
| Intercept | 14594.310 | 1 | 14594.310 | 37301.036 | 3.4424E-34 |
| Treatment | 160.083 | 3 | 53.361 | 136.384 | 1.7499E-13 |
| Week | 6.373 | 4 | 1.593 | 4.072 | .0142 |
| Treatment * Week | 10.502 | 12 | .875 | 2.237 | .0538 |
| Error | 7.825 | 20 | .391 | | |
| Total | 14779.093 | 40 | | | |
| Corrected Total | 184.783 | 39 | | | |

a. R Squared = .958 (Adjusted R Squared = .917)

ตารางที่ ค.7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า b* (yellowness)

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------------|
| Corrected Model | 564.166 ^a | 19 | 29.693 | 14.717 | 6.6149E-8 |
| Intercept | 107153.552 | 1 | 107153.552 | 53108.229 | 1.0072E-35 |
| Treatment | 351.253 | 3 | 117.084 | 58.030 | 4.7546E-10 |
| Week | 146.252 | 4 | 36.563 | 18.122 | 1.9763E-6 |
| Treatment * Week | 66.662 | 12 | 5.555 | 2.753 | .0219 |
| Error | 40.353 | 20 | 2.018 | | |
| Total | 107758.072 | 40 | | | |
| Corrected Total | 604.519 | 39 | | | |

a. R Squared = .933 (Adjusted R Squared = .870)

ตารางที่ ค.8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า CD (conjugated diene)

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|------------------|-------------------------|----|-------------|-----------|------------|
| Corrected Model | 6.667E-5 ^a | 19 | 3.509E-6 | 43.252 | 3.0496E-12 |
| Intercept | .001 | 1 | .001 | 10947.240 | 7.1727E-29 |
| treatment | 2.264E-6 | 3 | 7.547E-7 | 9.303 | .0005 |
| week | 6.105E-5 | 4 | 1.526E-5 | 188.119 | 1.4538E-15 |
| treatment * week | 3.359E-6 | 12 | 2.799E-7 | 3.450 | .0071 |
| Error | 1.623E-6 | 20 | 8.113E-8 | | |
| Total | .001 | 40 | | | |
| Corrected Total | 6.829E-5 | 39 | | | |

a. R Squared = .976 (Adjusted R Squared = .954)

ตารางที่ ค.9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับค่า TBARS (thiobarbituric acid reactive substances)

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|------------------|-------------------------|----|-------------|----------|------------|
| Corrected Model | .048 ^a | 19 | .003 | 13.089 | 1.8454E-7 |
| Intercept | .828 | 1 | .828 | 4269.144 | 8.5805E-25 |
| treatment | .021 | 3 | .007 | 35.538 | 3.3116E-8 |
| week | .022 | 4 | .005 | 27.909 | 6.2149E-8 |
| treatment * week | .006 | 12 | .000 | 2.538 | .0317 |
| Error | .004 | 20 | .000 | | |
| Total | .880 | 40 | | | |
| Corrected Total | .052 | 39 | | | |

a. R Squared = .926 (Adjusted R Squared = .855)

ภาคผนวก ง

รายละเอียดโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ประจำปีงบประมาณ 2561

| | | |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| ชื่อโครงการ | สมบัติการต้านออกซิเดชันของฟักข้าว (<i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) Spreng) ในประเทศไทย และการประยุกต์ในไข่แดงเค็มผง | |
| | Antioxidant activities of Thai gac (<i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) Spreng) and the application in salted egg yolk powder | |
| นิสิตผู้ร่วมโครงการ | นายพลตรี อธิภู | เลขประจำตัวนิสิต 5832547423 |
| | นายอัทธ์ชลัมพล ฉันทติลิก | เลขประจำตัวนิสิต 5832582323 |
| อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ | รองศาสตราจารย์ ดร. นินนาท ชินประหารัฐ | |

1. มุลเหตุจูงใจ

ไข่เค็มเป็นผลิตภัณฑ์ไข่แปรรูปที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในประเทศจีน และยังแพร่กระจายไปในหลายๆ ประเทศทั่วทวีปเอเชีย โดยประเทศไทยเป็นอีกประเทศหนึ่งที่มีการแปรรูปอาหารชนิดดังกล่าวเพื่อเป็นการถนอมไข่เป็ดให้มีอายุการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น ในต่างประเทศ อาทิ ประเทศสิงคโปร์ มีการใช้ไข่เค็มผง (salted egg powder) แทนการใช้ไข่เค็มปกติ เพื่อเพิ่มความสะดวกในการนำไปประกอบอาหาร และเพิ่มมูลค่าให้กับไข่เค็ม แต่ในประเทศไทย การนำไข่เค็มผงไปประกอบอาหารยังไม่เป็นที่แพร่หลายนัก อีกทั้งไข่เค็มรูปแบบปกติที่มีการซื้อขายกัน ยังประสบปัญหาในเรื่องของการเน่าเสียค่อนข้างง่าย ผลิตภัณฑ์ที่ขายในประเทศไทยจึงเป็นเพียงผงปรุงรสแต่งกลิ่นรสไข่เค็ม ทั้งนี้ไข่แดงจะมีกรดไขมันอยู่หลายประเภท รวมถึงกรดไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแล้วเกิดกลิ่นรสนิ่งจึงทำให้ส่งผลต่อเสถียรภาพและอายุในการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ จึงควรเติมสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันลงไปเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา และหากเป็นไปได้ ควรหลีกเลี่ยงการใช้สารสังเคราะห์ เนื่องจากสารดังกล่าวอาจก่ออันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค ดังนั้นจึงมีการตระหนักถึงความสำคัญของการใช้สารต้านออกซิเดชันที่สกัดได้จากธรรมชาติ โดยมีผลงานวิจัยมากมายที่ศึกษาเปรียบเทียบการใช้สารสังเคราะห์ และสารสกัดจากธรรมชาติ พบว่าสารสกัดจากธรรมชาติในปริมาณที่เหมาะสม มีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันได้ดีกว่า หรือเทียบเท่ากับสารสังเคราะห์ โดยงานวิจัยนี้เลือกใช้ฟักข้าว (Gac) ที่มีสารประกอบของบีตาแคโรทีน และไลโคปีน ซึ่งเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน หากมีการศึกษาการใช้ปัจจัยที่เหมาะสมในการสกัด เพื่อให้ได้ปริมาณสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมากที่สุด แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปประยุกต์ในอาหารที่มีน้ำมันหรือไขมันเป็นองค์ประกอบเพื่อหน่วงเหนี่ยวหรือป้องกันการ

เกิดออกซิเดชันอันเป็นเหตุให้เกิดกลิ่นรสหืน จะเป็นการช่วยรักษาคุณภาพของอาหาร และเป็นการนำพืชพื้นเมืองภายในประเทศมาใช้ประโยชน์สูงสุดสำหรับอุตสาหกรรมอาหารได้

2. ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการ

ไข่เค็มเป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์จากประเทศจีน และมีการบริโภคกันอย่างแพร่หลายในประเทศประเทศอื่น ๆ ในเอเชีย นอกจากนี้ไข่แดงเค็มยังใช้กันอย่างแพร่หลายเป็นวัสดุสำหรับอาหารพิเศษ เช่น ขนมไหว้พระจันทร์, Zongzi (พุดdingข้าวจีนโบราณ) และฟัพไข่แดง

โปรตีนไข่แดงส่วนใหญ่ประกอบด้วยไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (LDL) 68%, ไลโปโปรตีนความหนาแน่นสูง (HDL) 16%, ฟอสฟิวทิน (phosvitin) 4%, และ ลิเวติน (livetins) 10% (Mine และ Yang, 2010) ไข่แดงนั้นมีปริมาณไขมันอยู่สูง โดยมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบ โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวนี้จะส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และมีผลกระทบต่อเสถียรภาพ และอายุในการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ ซึ่งสามารถป้องกันปัญหาการเสื่อมเสียของอาหารได้หากมีการนำสารสกัดจากเนื้อเยื่อพืชที่มีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันมาประยุกต์ใช้

ปฏิกิริยาออกซิเดชันคือปฏิกิริยาที่เกิดอนุมูลจากการสูญเสียอิเล็กตรอนในอะตอมหรือโมเลกุลของสารใดๆ ให้แก่สารอื่นหรือสิ่งแวดล้อม เกิดได้จากหลายปัจจัย ได้แก่ ชนิดรวมถึงปริมาณของกรดไขมัน ความเข้มข้นของออกซิเจน อุณหภูมิ พื้นที่ผิวต่อปริมาตร ความชื้น และสารต้านออกซิเดชัน (Richardson และ Korycka-Dahl, 1983) ซึ่งการเกิดออกซิเดชันของไขมันหมายถึงการเสถียรภาพของไขมันที่มีพันธะคู่ในโมเลกุลจากการเกิดออกซิเดชัน (Devasagayam และคณะ, 2003)

ฟักข้าวเป็นพืชไม้เลื้อยอยู่ในวงศ์แตงกวา (Cucurbitaceae) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng นิยมปลูกกันทางตอนเหนือของประเทศเวียดนามและในหลายๆประเทศในทวีปเอเชีย อาทิ บังคลาเทศ จีน และอินเดีย (Vuong และคณะ, 2006) ส่วนต่างๆ ของฟักข้าวมีสรรพคุณเด่น โดยเฉพาะผลสุกมีส่วนประกอบของบีตาแคโรทีน และไลโคปีน (Aoki และคณะ, 2002)

ในการพิจารณาการเกิดออกซิเดชันของไขมันมักตรวจวัดจากผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ได้แก่ conjugated dienes, lipid hydroperoxides, aldehydes เช่น 4-hydroxynonenal และ MDA ผ่านการวัดค่าต่างๆ เช่น conjugated diene, peroxide value หรือ TBARS และอาจตรวจสอบร่วมกับปัจจัยทางกายภาพ เช่น สี รวมถึงลักษณะทางประสาทสัมผัส เช่น กลิ่นรสที่เปลี่ยนแปลงไป

การเกิดขึ้นของ conjugated diene (CD) ซึ่งเกิดขึ้นจากการจัดเรียงตัวของพันธะคู่บนสายโซ่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในระหว่างการสร้าง hydroperoxide สามารถบ่งบอกการเกิด autoxidation ของไขมันได้ (Corongiu และ Banni, 1994) ดังนั้นจึงตรวจวัดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้จากการตรวจวัด CD ที่มีค่าการดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่น 233 นาโนเมตร (Glende และ Recknagel, 1984)

การตรวจวัด malondialdehyde (MDA) สามารถตรวจวัดได้จากการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง MDA จำนวน 1 โมล กับ 2-thiobabaturic acid (TBA) จำนวน 2 โมล เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีชมพูแดง ซึ่งดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ในอดีตรเรียกว่า thiobabaturic acid (TBA) number โดยระบุเป็นจำนวนมิลลิกรัมหรือไมโครโมล ของ MDA ต่อกิโลกรัมของตัวอย่างหรือต่อ 1 กรัมของน้ำมันหรือไขมัน แต่เนื่องจาก aldehyde ที่เกิดขึ้นและสกัดได้ไม่ใช่เฉพาะ MDA ชนิดเดียว ยังมี aldehydes รวมถึงสารชนิดอื่นที่ทำปฏิกิริยากับ TBA แล้วให้สีเช่นเดียวกับ MDA ปัจจุบันจึงระบุเป็นค่า TBARS และมีหน่วยเป็นเทียบเท่ามิลลิกรัมของ MDA ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง (Witte และคณะ, 1970)

3.วัตถุประสงค์

3.1 วิเคราะห์และเปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว เมื่อใช้ชนิดของตัวทำละลาย และอัตราส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวต่อตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

3.2 ศึกษาและเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีของไข่แดงเค็มผงที่ประยุกต์กับเนื้อเยื่อฟักข้าว โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลาต่างๆ

4.ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

4.1 ทราบชนิดของตัวทำละลาย และอัตราส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวต่อตัวทำละลายในการสกัด เพื่อให้ได้สมบัติการต้านออกซิเดชันที่เหมาะสม

4.2 ทราบสัดส่วนของเนื้อเยื่อฟักข้าวที่เหมาะสมในการประยุกต์กับไข่เค็มผง เพื่อการห่อหุ้มเหนียวหรือยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง โดยเปรียบเทียบกับสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์

5. ขั้นตอนการดำเนินงาน

| ขั้นตอนการดำเนินงาน | ส.ค. | ก.ย. | ต.ค. | พ.ย. | ธ.ค. | ม.ค. | ก.พ. | มี.ค. | เม.ย. |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|--------|------|------|------|------|--------|-------|-------|
| 1. คั่นคว้า รวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับ งานวิจัยจากวารสารและสิ่งพิมพ์ต่างๆ | ←————→ | | | | | | | | |
| 2. ศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูล วางแผน และออกแบบการทดลอง เพื่อเสนอ อาจารย์ที่ปรึกษา จัดหาอุปกรณ์และวัสดุดิบ | | ←————→ | | | | | | | |
| 3. ดำเนินการทดลองและรวบรวมข้อมูลจากการทดลอง | ←————→ | | | | | | | | |
| 4. วิเคราะห์ข้อมูล สรุปผลการทดลอง จัดทำรายงานและเสนอผลงาน | | | | | | | ←————→ | | |

6. รายละเอียดและการดำเนินงาน

6.1 ศึกษาค้นคว้าข้อมูลจากวารสาร สิ่งพิมพ์ต่าง ๆ เกี่ยวกับฟักข้าว รายละเอียดเกี่ยวกับสมบัติการต้านออกซิเดชัน วิธีวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชันต่าง ๆ รวมทั้งรายละเอียดเกี่ยวกับไข่แดงเค็มผง

6.2 วิเคราะห์ข้อมูลทางวิชาการต่าง ๆ ที่รวบรวมมาได้ วางแผนการทดลองและออกแบบการทดลองที่เหมาะสมกับตัวแปรที่ต้องการศึกษา ตลอดจนวางแผนจัดหาวัสดุ อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

6.3 ดำเนินการทดลอง โดยแบ่งเป็นขั้นตอนดังนี้

6.3.1 เตรียมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดพริกขี้หนู โดยแปรอัตราส่วนเนื้อเยื่อพืชต่อตัวทำละลาย เป็น 1 : 5 1 : 10 และ 1 : 20 (g : ml) ผสมกับตัวทำละลายที่มีอัตราส่วนของ hexane : acetone : ethanol อัตราส่วน 2 : 1 : 1, ethanol : hexane อัตราส่วน 4 : 3 และ hexane : acetone อัตราส่วน 3 : 2 คนผสมด้วย magnetic stirrer ความเร็ว 120 rpm เป็นเวลา 20 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.4 ระเหยตัวทำละลายที่อุณหภูมิ 40 °C ปรับปริมาตรรวมด้วย hexane เป็น 25 mL เก็บสารสกัดในขวดสีชา และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 °C จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์

6.3.2 เตรียมตัวอย่างไข่แดงเค็มผง โดยการนำไข่แดงเค็มดิบมาบดละเอียดด้วยเครื่องปั่น ความเร็ว 10,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที แล้วแบ่งออกเป็น 4 ส่วน จากนั้นเติมสารต้านออกซิเดชัน ได้แก่ ตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชัน สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (BHA) 200 ppm เยื่อหุ้มเมล็ดพริก ขี้หนูบด 200 ppm และ 400 ppm ผสมให้เข้ากันด้วย blender ความเร็ว 10,000 rpm เป็นเวลา 2 นาที นำไปทำแห้งด้วย tray dryer ด้วยอุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง แล้วบดละเอียดด้วยเครื่องปั่น ความเร็ว 10,000 rpm เป็นเวลา 2 นาที บรรจุตัวอย่างในถุง PVDC coated nylon และเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้อง (30 °C) เป็นเวลา 8 สัปดาห์

6.3.3 ขั้นตอนงานวิจัย งานวิจัยนี้ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลัก ดังนี้

6.3.3.1. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณสาร และสมบัติการต้านออกซิเดชัน ของเยื่อหุ้มเมล็ดพริกขี้หนู โดยการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านออกซิเดชัน จากปริมาณแคโรทีนอยทั้งหมด (total carotenoid content) ด้วยวิธีของ Tran (2007) และวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชัน จากค่า DPPH radical scavenging activity (DPPH) และ Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ด้วยวิธีของ Brand-Williams และคณะ (1995) และ Benzie และ Strain (1996) ตามลำดับ โดยวางแผนการทดลองแบบ 3x3 factorial in completely randomized design (CRD) โดยแปรชนิดสารสกัด และสัดส่วนเนื้อเยื่อพืช : ตัวทำละลาย วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดย analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ $p \leq 0.05$ (Cochran และ Cox, 1992) ทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบและพิจารณาผลการทดลองที่ได้ เพื่อกำหนดชนิดของตัวทำละลาย และอัตราส่วน เยื่อหุ้มเมล็ดพริกขี้หนูต่อตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมสารสกัด และนำไปคำนวณปริมาณเยื่อหุ้ม เมล็ดพริกขี้หนูที่ต้องใช้ในงานทดลองขั้นต่อไป

6.3.3.2. ศึกษาผลของการเติมเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่มีต่อเสถียรภาพของไข่แดงเค็มผง

นำตัวอย่างไข่แดงเค็มผงที่เก็บรักษาไว้ ได้แก่ ตัวอย่างควบคุมที่ไม่ผสมสารต้านออกซิเดชัน ตัวอย่างที่ผสมสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (BHA) 200 ppm ตัวอย่างที่ผสมเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวบด 200 ppm และ 400 ppm มาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสมบัติต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ในสัปดาห์ที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 โดยติดตามผลดังนี้

- วัดค่าสี (CIE L*, a* และ b*)
- วิเคราะห์ปริมาณ conjugated diene (CD)
- วิเคราะห์ค่า thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)
- ตรวจวัดค่า water activity (aw)

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ 4x5 factorial in CRD โดยแปรตัวอย่างไข่แดงเค็มผง และระยะเวลาการเก็บรักษา วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดย ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย DNMRD ที่ระดับนัยสำคัญ $p \leq 0.05$ (Cochran และ Cox, 1992) ทดลอง 2 ซ้ำ

6.4 เก็บรวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ผลทางสถิติที่ได้สำหรับผลการทดลองในแต่ละขั้นและสรุปผลการทดลองที่ได้

6.5 จัดทำรายงานและนำเสนอผลงาน

7. งบประมาณ

7.1 ค่าใช้จ่ายทั่วไป

| | | | | |
|---------------------------------------|--|--|-----|-----|
| ค่าสำเนาเอกสารและสิ่งพิมพ์ | | | 500 | บาท |
| ค่าเดินทางในการจัดหาวัตถุดิบและข้อมูล | | | 700 | บาท |

7.2 วัตถุดิบ

| | | | | |
|---------|-----|----------|-------|-----|
| ฟักข้าว | 25 | กิโลกรัม | 1,750 | บาท |
| ไข่เค็ม | 150 | ฟอง | 1,500 | บาท |

7.3 สารเคมี

| | | | | |
|-----------------------------------|------|------|-------|-----|
| 70% methanol | 6 | ลิตร | 390 | บาท |
| 99.9% ethanol | 4 | ลิตร | 424 | บาท |
| acetone | 4 | ลิตร | 284 | บาท |
| sodium acetate | 55 | กรัม | 220 | บาท |
| 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl | 0.1 | กรัม | 3,800 | บาท |
| Trolox | 0.15 | กรัม | 850 | บาท |
| ferric chloride | 0.1 | ลิตร | 1,150 | บาท |
| 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine | 4 | กรัม | 5,120 | |

บาท

| | | | | |
|---------------------------------------|-----|------|-------|-----|
| trichloroacetic acid | 500 | กรัม | 1,360 | บาท |
| 2-thiobarbituric acid | 1.3 | กรัม | 121 | บาท |
| hexane | 6 | ลิตร | 1,267 | บาท |
| isopropanol | 2 | ลิตร | 667 | บาท |
| β -carotene (synthetic, type I) | 2.5 | กรัม | 1330 | บาท |

7.4 อุปกรณ์

| | | | | |
|------------------------------------|----|-------|-----|-----|
| ขวดสีชาขนาด 30 ml | 30 | ขวด | 150 | บาท |
| กระดาษกรอง Whatman No.4 ขนาด 90 มม | 1 | กล่อง | 220 | บาท |
| ถุง PVDC – coated Nylon | 50 | ใบ | 125 | บาท |

รวม 21,928 บาท

8. เอกสารอ้างอิง

- Aoki, H., Kieu, N. T. M., Kuze, N., Tomisaka, K., and Van Chuyen, N. 2002. Carotenoid pigments in gac fruit (*Momordica cochinchinensis* SPRENG). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 66(11), 2479–2482.
- Benzie, I. F. F., and Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25-30.
- Cochran, W. G., and Cox, G. M. 1992. *Experimental Designs*, 2nd ed., John Wiley and Sons, New York, NY, 611 p.
- Devasagayam, T. P. A., Boloor, K. K., and Ramasarma, T. 2003. Methods for estimating lipid peroxidation: An analysis of merits and demerits. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 40, 300–308.
- Glende, E. A., Jr., and Recknagel, R.O. 1984. Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. *Methods in Enzymology*, 105, 331-336.
- Mine, Y., and Yang, M. 2010. Functional properties of egg components in food systems. In: *Handbook of Poultry Science and Technology: Volume 1: Primary Processing*, Edited by Guerrero-Legarreta, I., John Wiley and Sons, New York, NY, pp. 579–616.
- Tran, T. H. 2007. Producing carotenoid-rich powder from gac fruit. Master's Thesis, University of Western Sydney, Australia, 118 p.
- Vuong, L. T., Franke, A. A., Custer, L. J., and Murphy, S. P. 2006. *Momordica cochinchinensis* Spreng. (gac) fruit carotenoids reevaluated. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6–7), 664–668.

ประวัติผู้วิจัย

| | |
|---------------------|---------------------------|
| ชื่อ-สกุล | นายพลตรี อีฐก้อง |
| ตำแหน่ง | หัวหน้าโครงการ |
| วุฒิการศึกษา | วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) |
| ภาควิชา | เทคโนโลยีทางอาหาร |
| คณะ | วิทยาศาสตร์ |
| มหาวิทยาลัย | จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย |
| ปีที่สำเร็จการศึกษา | 2561 |
| โทรศัพท์ | 087-097-5895 |
| Email | cartong2011@gmail.com |



ประวัติผู้วิจัย

| | |
|---------------------|----------------------------------|
| ชื่อ-สกุล | นายอัฒพ์ชลัมพล ฉันทติลก |
| ตำแหน่ง | ผู้วิจัยร่วม |
| วุฒิการศึกษา | วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) |
| ภาควิชา | เทคโนโลยีทางอาหาร |
| คณะ | วิทยาศาสตร์ |
| มหาวิทยาลัย | จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย |
| ปีที่สำเร็จการศึกษา | 2561 |
| โทรศัพท์ | 092-962-9635 |
| Email | Autchalumpol.chan777@hotmail.com |

