รายงานการวิจัย

ศักยภาพของสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ต่อการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

(Potential use of young cashew (*Anacardium occidentale* L.) leaves extract on prolong shelf - life of meat product)

ผศ.ดร.สุภาษิต ชูกลิ่น

คณะอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
งบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. 2560

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2560 เป็นงานวิจัยประยุกต์เพื่อก่อให้เกิดการพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางอาหารด้วยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารในการเก็บรักษาอาหารที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยที่ได้ให้การสนับสนุนทุนในการทำวิจัยนี้ ขอขอบคุณผู้ที่เกี่ยวข้องทุกฝ่ายที่ได้ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ทั้งความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ ตลอดจนสถานที่ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้การช่วยเหลืออำนวยความสะดวกด้วยดีตลอดมา ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยที่อุทิศกำลังกายและกำลังใจช่วยวิจัยครั้งนี้ลุล่วงด้วยดี ตลอดจนครอบครัวและผองเพื่อนที่ให้ความห่วงใย เป็นกำลังใจให้เสมอมา ประโยชน์อันใดที่เกิดจากงานวิจัยนี้ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของท่านและหน่วยงาน ผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบพระคุณมา ณ โอกาส นี้

ผศ.ดร.สุภาษิต ชูกลิ่น

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ต้องการประเมินผลของสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ต่อคุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางจุลินทรีย์ของกุนเชียงในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน พบว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์เท่ากับ 219.58±2.35 mg GAE/g DW และ 1,205.68±3.12 mg vitamin C/g DW ตามลำดับ สารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์แสดงการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ (*L. monocytogenes* DMST 17003, *E. coli* TISTR 780 และ *S. aureus* 1466) ด้วยวิธี agar well diffusion โดยกุนเชียงที่เติมสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์เก็บในสภาวะตู้เย็นจะมี ค่า L* ต่ำ และ ค่า a* สูง เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ส่วนค่า TBARS และปริมาณจุลินทรีย์ ในกุนเชียงจะมีค่าต่ำกว่าเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเช่นกัน หากเก็บรักษานานขึ้น ดังนั้นสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์จึงมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการเกิดออกซิเดชันของไขมันในกุนเชียงได้

คำสำคัญ: ผักพื้นบ้าน อัลตร้าซาวด์ช่วยสกัด สารฟีนอลิก การต้านออกซิเดชัน

Abstract

The objective of this study was to assess the effect of cashew leaves extract (CLE) on the quality in chemical and microbial properties of Chinese sausage stored at 4°C for 21 days. The total phenolic and antioxidant activity of CLE were 219.58±2.35 mg GAE/g DW and 1,205.68±3.12 mg vitamin C/g DW, respectively. CLE inhibited tested microorganisms (*L. monocytogenes* DMST 17003, *E. coli* TISTR 780 and *S. aureus* 1466) by agar well diffusion method. During refrigerated storage, sausages containing CLE showed lower L* values and higher a* value compared to the control. CLE showed retard increases in TBARS values. Moreover, microbial counts of the sausages with CLE were lower than control samples during storage. These results demonstrate that CLE are effective against microbial growth and lipid oxidation and show potential as a natural antioxidant and antimicrobial in Chinese sausages.

Keywords: Indigenous vegetables, Ultrasound assisted, Phenolic compound, Antioxidant

สารบัญ

เรื่อง **หน้า**

กิตติกรรมประกาศ ..... ก
บทคัดย่อ ..... ข
สารบัญภาพ ..... จ
สารบัญตาราง ..... ฉ
บทนำ 1
ที่มาและความสำคัญของปัญหา 1
การตรวจเอกสาร 3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย 22
วิธีการดำเนินการวิจัย 23
ผลการวิจัยและวิจารณ์ 26
สรุปผลการวิจัย 35
เอกสารอ้างอิง 36
ภาคผนวก .....
ก. วิธีการวิเคราะห์ 41
ข. การเผยแพร่ผลงานวิจัย 49

สารบาญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ใบมะม่วงหิมพานต์	15
2	การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโดยสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 40	29
3	ปริมาณน้ำอิสระในกุนเชียงเติมสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4°C	31
4	ค่าสีของกุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เวลา 21 วัน	32
5	ค่าไทโอบาบิวไทริกแอซิดของกุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เวลา 21 วัน	33
6	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของกุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เวลา 21 วัน	34
7	กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกด้วยวิธี Folin-ciocalteu method	42
8	กราฟมาตรฐานความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของวิตามินซีที่ความเข้มข้น 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัม/ลิตร	44
9	กราฟมาตรฐานของมาโลนไดออลดีไฮด์	47

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แหล่งของพืชที่ใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันธรรมชาติในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์	17
2	สารต้านออกซิเดชันธรรมชาติที่ใช้ในทางการค้าสำหรับเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์	17
3	คุณสมบัติของสารสกัดธรรมชาติเป็นสารต้านออกซิเดชันในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์	18
4	สมดุลมวลสารของกระบวนการเตรียมสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์	26
5	ขนาดของบริเวณใสที่เกิดจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์	28
6	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 40 ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)	30

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ผลิตภัณฑ์อาหารเมื่อผ่านการเก็บรักษาไว้ระยะเวลาหนึ่งสามารถเกิดการเสื่อมเสียได้ทั้งการเสื่อมเสียทางกายภาพ (Physical deterioration) การเสื่อมเสียทางเคมี (Chemical deterioration) และการเสื่อมเสียทางจุลินทรีย์ (Microbial deterioration) โดยการเสื่อมเสียดังกล่าวส่ง8ผลให้อาหารเกิดการสูญเสียคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส คุณค่าทางด้านโภชนาการ การไม่ยอมรับของผู้บริโภคเนื่องจากอายุการเก็บรักษาที่สั้นและอันตรายจากสารพิษหรือจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการเสื่อมเสียของอาหาร ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้องกับการยอมรับของผู้บริโภค อันได้แก่ ผลกระทบที่เกิดจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านประสาทสัมผัสของอาหาร เช่น สี กลิ่นรส ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวก่อให้เกิดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ การเสื่อมเสียของอาหารและยังเกี่ยวข้องกับความปลอดภัยของอาหารด้วย เนื่องจากไขมันที่ถูกออกซิไดซ์ในปริมาณมากจะก่อให้เกิดสารพิษ นอกจากนั้นอนุมูลอิสระยังเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดสิ่งผิดปกติในระดับโมเลกุลของเซลล์สิ่งมีชีวิต ก่อให้เกิดการเสื่อมของเซลล์ หรือการเกิดโรคในมนุษย์ เช่น โรคมะเร็ง (วิลาวัณย์, 2539)

ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (ไส้กรอก กุนเชียง หมูยอ ลูกชิ้น เบคอน แฮม เป็นต้น) เป็นอาหารที่มีโปรตีนคุณภาพสูงและมีไขมันเป็นองค์ประกอบปริมาณมาก จึงมักประสบปัญหาการเสื่อมเสียโดยผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แช่เย็น (2-5 องศาเซลเซียส) ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดจะเกิดการเสื่อมเสียในระหว่างการแช่เย็นเนื่องมาจาก 2 สาเหตุ คือ การเจริญของจุลินทรีย์และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันเกิดจากการสูญเสียไฮโดรเจนอะตอมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในขั้นต้นและเกิดเป็นอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาลูกโซ่ในขั้นต่อมา ส่วนการเจริญของจุลินทรีย์เกิดจากการปนเปื้อนในกระบวนการผลิตและการแปรรูปเนื้อสัตว์จากอุปกรณ์และเครื่องมือโดยจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย คือ *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* และ *Escherichia coli* การเกิดออกซิเดชันของไขมันและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษาโดยการใช้สารต้านออกซิเดชันและสารยับยั้งจุลินทรีย์กับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เพื่อชะลอการเน่าเสีย ยืดอายุการเก็บรักษาและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ยังคงคุณภาพและปลอดภัย สารสังเคราะห์ที่ช่วยยืดอายุการเก็บรักษามีมากมาย เช่น บิวทิลเลต ไฮดรอกซีอะนีโซล (Butylated hydroxyanisole, BHA) บิวทิลเลต ไฮดรอกซีโทลูอีน (Butylated hydroxytoluene, BHT) เทอร์บิวทิลไฮโดรควิโนน (*Tert*-butylhydroquinone, TBHQ) และโพรพิลแกลเลต (Propyl gallate, PG) (Kim *et al*., 2013) แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารดังกล่าวเมื่อไม่กี่ปีมานี้ พบว่า มีความเสี่ยงต่อการก่อให้เกิดสารพิษต่อร่างกาย โดย Iqbal และ Bhanger (2007) รายงานว่าสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (TBHQ) จะถูกห้ามใช้ในอาหารสำหรับประเทศญี่ปุ่น แคนนาดา และยุโรป รวมทั้ง BHA ได้ถูกแยกออกจากกลุ่มสารที่ปลอดภัย (Generally recognized as safe, GRAS) ด้วยเหตุดังกล่าวนักวิทยาศาสตร์การอาหารจึงให้ความสนใจสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติ (Natural antioxidant) มากขึ้น (Moure *et al*., 2001)

ใบมะม่วงหิมพานต์ (*Anacardium occidentale* L.) อยู่ในวงศ์ Anacardiaceae มีสารพฤษเคมี (Phytochemical) สูง เช่น สารโพลีฟีนอล เป็นต้น ลักษณะใบเป็นใบเดี่ยวเรียงเวียนคล้ายรูปไข่กลับหัวถึง

รูปรีกว้าง หนาและเกลี้ยงเหมือนแผ่นหนัง เนื้อในมีกลิ่นหอม มีสรรพคุณเป็นยาสมานลำไส้ บรรเทาอาการท้องร่วง ป้องกันเลือดออกตามไรฟัน รวมถึงช่วยป้องกันมะเร็งกระเพาะอาหารและลำไส้ (วัลลิ์รุกขบุปผชาติ, 2556) ปัจจุบันมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการนำสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์มาใช้ในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน (antioidant) และการยับยั้งจุลินทรีย์ (antimicrobial) เช่น Ajileye *et al*. (2015) ศึกษาคุณลักษณะการต้านออกซิเดชันและการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ พบว่าสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50} เท่ากับ 9.94 μg/mL) และยับยั้งแบคทีเรียได้

เทคนิคการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากผักต่างๆ ในงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่า การสกัดส่วนใหญ่จะใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction) (Chotimakorn *et al.*, 2008) สกัดด้วยของไหลเหนือจุดวิกฤติ (Supercritical fluid extraction) (Shen *et al*., 1997) และสกัดด้วยไมโครเวฟ (Microwave extraction) (Zigoneanu *et al.*, 2008) เป็นต้น สำหรับการสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นที่นิยมมาก เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ง่ายในการแยกสารออกจากของผสม แต่อาจมีข้อด้อย คือ ใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน และต้องเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ซึ่งในช่วงหลังเทคนิคใหม่ๆ เริ่มเข้ามามีบทบาทมากในการสกัด เช่น การนำอัลตร้าโซนิกมาช่วยในกระบวนการสกัดร่วมกับตัวทำละลายอินทรีย์ เพื่อให้ได้ปริมาณสารสำคัญเพิ่มมากขึ้น โดยใช้เวลาในกระบวนการสกัดสั้นลง (Vilkhu *et al.,* 2008) ซึ่งกลไกของการสกัดจะเกิดจากการสั่นสะเทือนโมเลกุลของตัวทำละลายที่เกิดจากคลื่นอัลตร้าซาวด์ ที่จะเป็นการไปเพิ่มพื้นที่ผิวในการสัมผัสระหว่างตัวอย่างกับตัวทำละลาย สำหรับการใช้เทคนิคอัลตร้าโซนิกอาจเป็นทางเลือกใหม่ในการสกัดสารสำคัญจากผักพื้นบ้าน และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางการค้าได้ (Valero *et al.,* 2007)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาการใช้สารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ด้วยวิธีอัลตร้าซาวด์เสริมมาใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันและสารยับยั้งแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้จะเป็นแนวทางในการนำสารสกัดธรรมชาติจากใบมะม่วงหิมพานต์มาใช้เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและสารยับยั้งแบคทีเรียธรรมชาติ เพื่อทดแทนการใช้สารสังเคราะห์และยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.การเน่าเสียของอาหาร (Food spoilage)

การเน่าเสียของอาหาร หมายถึง การที่อาหารมีการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและกายภาพซึ่งทำให้ลักษณะของอาหาร เช่น ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่น รส สีและคุณค่าทางอาหารเปลี่ยนไป การเน่าเสียจะเกิดจากจุลินทรีย์หรือเอนไซม์ไปทำให้อาหารเสื่อมคุณภาพและมีลักษณะที่ไม่ต้องการเป็นผล ทำให้ต้องสูญเสียเศรษฐกิจไปเป็นจำนวนมาก และอาจทำให้ไม่ปลอดภัยในการบริโภคอีกด้วย

1. สาเหตุการเสียของอาหาร (Causes of food spoilage)

การเสียของอาหาร เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและกายภาพ อันอาจเป็นผลให้อาหารนั้นเป็นพิษ หรือบริโภคไม่ได้ และลักษณะของอาหารทางด้านรส กลิ่นและลักษณะเนื้อสัมผัสเปลี่ยนไป สาเหตุที่ทำให้อาหารเสียแยกออกเป็น 2 อย่าง คือ

1.1. การเสียของอาหารที่เกิดขึ้นภายในเนื่องจากเอนไซม์ (Endogeneous food spoilage) เป็นการเสียที่เกิดขึ้นจากสิ่งที่อยู่ภายในของเนื้ออาหารตัวการที่ทำให้

เกิดการเสีย ได้แก่ เอนไซม์ (Enzyme) ตัวอย่างการเสียของอาหารเนื่องจากเอนไซม์ เช่น ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของอาหารไปเป็นสีน้ำตาล (Browning reaction) การเหม็นหืน (Rancidity) ของอาหารพวกไขมันเป็นต้น เอนไซม์ คือ โปรตีนชนิดหนึ่งซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวเร่ง (Catalyst) ปฏิกิริยาทางเคมีในสิ่งที่มีชีวิตทุกชนิด หลังจากพืชถูกเก็บเกี่ยวหรือสัตว์ถูกฆ่าชำแหละแล้วปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ยังคงดำเนินอยู่เอนไซม์นอกจากจะพบตามธรรมชาติในอาหารแล้วยังพบมากในจุลินทรีย์ต่าง ๆ

1.2. การเสียของอาหารที่เกิดขึ้นจากภายนอก (Exogenous food spoilage) ซึ่งแบ่งได้ เป็น 3 ประเภท คือ

1.2.1 สาเหตุทางเคมี (Chemical causes) อาหารทุกชนิดประกอบขึ้นจากส่วนประกอบทางเคมีของธาตุและสารประกอบ เมื่อพืช ผัก ผลไม้ ตาย ก็ย่อมเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี นอกจากนี้ปฏิกิริยาทางเคมีที่ทำให้อาหารเสีย เช่น ปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนในไขมันที่มีน้ำอยู่ด้วยทำให้ไขมันเหม็นหืน ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค หรือในอาหารกระป๋องที่ไล่อากาศออกไม่หมด ทำให้ออกซิเจนยังคงหลงเหลืออยู่ภายในจะก่อให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างออกซิเจนและดีบุกที่เคลือบภายในของกระป๋อง ลักษณะภายในของกระป๋องเปลี่ยนไปทำให้คุณภาพของอาหารที่บรรจุอยู่เสียไปด้วย

1.2.2 สาเหตุทางกายภาพ (Physical causes) การเสียของผัก ผลไม้และอาหารอื่นๆ เริ่มต้นตั้งแต่การเก็บเกี่ยวจนถึงผู้บริโภค การเก็บเกี่ยว การบรรจุ การขนย้ายที่ไม่ถูกวิธี ทำให้เกิดการกระแทกกระเทือน ระยะเวลาของการเก็บรักษา รวมถึงสภาพแวดล้อมของการเก็บรักษาจนถึงผู้บริโภค สิ่งต่างๆ เหล่านี้มีผลทำให้ผัก ผลไม้ ทำให้อาหารเกิดรอยช้ำทำให้อาหารเสียและคุณภาพอาหารด้อยลงด้วย

1.2.3 สาเหตุที่เกิดจากจุลินทรีย์ (Microbial causes) จุลินทรีย์จะเจริญได้เร็วบนอาหารที่มีความชื้นพอเหมาะ สารอาหารครบถ้วน ในสภาพที่มีอุณหภูมิและออกซิเจนเหมาะสมอาหารแต่ละชนิด จึงเป็นแหล่งสำหรับการแพร่พันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์เป็นอย่างดี ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ (Class of microrganism) ที่ทำให้อาหารเสีย

- เชื้อรา (Mold) สามารถเจริญได้ในอาหารทุกชนิด ที่ประกอบขึ้นจากสารเคมีจำ พวก คาร์บอน ไฮโดรเจนและออกซิเจน อาหารส่วนใหญ่ถ้าพบว่ามีเชื้อราเจริญอยู่จะทำให้อาหารนั้นไม่เป็นที่พึงประสงค์ของผู้บริโภค
- ยีสต์ (Yeast) เจริญได้ดีในอาหารที่มีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบทำให้เกิดกระบวนการหมักดอง (Fermentation)
- แบคทีเรีย (Bacteria) มีหลายชนิดเจริญได้ทั้งในอากาศ ดิน น้ำ และอาหารทุกประเภท แบคทีเรียบางชนิดเมื่อเจริญบนอาหาร ทำให้เกิดการสลายตัวของอาหารได้เป็นสารที่มีพิษต่อมนุษย์ แบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่เจริญในสภาพของอาหารที่มีความเป็นกรดสูงแต่ในสภาพที่เหมาะสมแบคทีเรียจะเจริญได้เร็วมาก ซึ่งแต่ละชนิดมีสภาพที่เหมาะสมแตกต่างกันออกไป เช่น บางชนิดชอบอาศัยในที่ซึ่งไม่มีออกซิเจนอยู่เลย (Anaerobic bacteria) บางชนิดต้องการออกซิเจน (Aerobic bacteria) บางชนิดเจริญได้ดีในอาหารประเภทโปรตีน ความร้อนกับอาหารที่มีความเป็นกรดสูง ช่วยในการทำลายแบคทีเรีย ดังนั้นในการเก็บรักษาและถนอมอาหารจึงควรต้องทราบสภาพที่จะใช้ทำ ลายหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด

ไขมันและน้ำมันที่ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ มีความสำคัญ คือ ช่วยเพิ่มรสชาติของอาหารให้ดีขึ้น ช่วยให้อาหารที่ทำด้วยแป้ง เช่น ขนมเค้ก กะหรี่ปั๊บ มีเนื้อสัมผัสนุ่มและร่วนเป็นชั้น เป็นตัวนำความ

ร้อนที่ทำให้อาหารสุก ช่วยหล่อลื่นไม่ให้อาหารติดภาชนะที่ใช้ทอดและช่วยทำให้อาหารมีสีสวย แต่ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันหรือน้ำมันเป็นองค์ประกอบเหล่านี้จะมีผลต่ออายุการเก็บรักษา โดยการเสียของผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันหรือน้ำมันที่พบมากที่สุด คือ การเสียที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาทางเคมี โดยเฉพาะอย่างยิ่งคือ การเกิดออกซิเดชันซึ่งมีผลทำให้คุณภาพของอาหารเสื่อมลง เกิดการหืน อาหารมีสีผิดปกติ กลิ่นรสและลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารเปลี่ยนแปลงไป คุณค่าทางอาหารลดลง และบางครั้งอาจมีสารที่เป็นอันตรายต่อร่างกายเกิดขึ้นด้วย (วนิดา, 2545)

2.ปฏิกิริยาการหืน (Rancidity reaction)

การเหม็นหืนของไขมัน หมายถึง การที่ไขมันมีกลิ่นผิดปกติ ระหว่างการเก็บอาหารที่มีส่วนประกอบของไขมัน การเหม็นหืนอาจเกิดจากการที่อาหารที่เก็บไว้ในภาชนะเปิด ทำให้ไขมันดูดเอาสารอื่นจากอากาศเข้าไป หรือเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมี 3 แบบ

1. การเหม็นหืนเนื่องจากน้ำ (Hydrolytic rancidity)

เกิดจากการที่โมเลกุลของไขมัน (Triglyceride) ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีอยู่ในไขมันและเมื่อมีน้ำอยู่ด้วยก็จะได้กรดไขมัน ถ้ากรดไขมันที่ได้มีโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น กรดบิวไทริก (butyric acid) จะทำให้เกิดกลิ่นขึ้น เอนไซม์ที่มีอยู่ในอาหารที่มีในไขมันมักถูกทำลายด้วยความร้อน การเหม็นหืนชนิดนี้ป้องกันได้โดยใช้ความร้อนทำลายเอนไซม์และระวังอย่าให้มีน้ำปนในไขมัน

2. การเหม็นหืนเนื่องจากการเกิดสารพวกคีโตน (Ketonic rancidity)

เกิดกับไขมันที่อิ่มตัว โดยปฏิกิริยาของเอนไซม์ซึ่งมาจากเชื้อราต่างๆ เชื้อราจะผลิตสารที่ทำให้กรดไขมันอิ่มตัว เกิดสารจำพวกคีโตนขึ้น ซึ่งเป็นสารที่มีกลิ่น เนื่องจากการเหม็นหืนชนิดนี้เกิดจากเชื้อรา ดังนั้นการป้องกันการเหม็นหืนจึงต้องกำจัดสิ่งที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อรา เช่น ความชื้น อากาศ เป็นต้น

3. การเหม็นหืนเนื่องจากออกซิเจน (Oxidation rancidity)

กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศได้สารประเภทไฮโดรเพอร์ออกไซด์ (Hydroperoxide) ปฏิกิริยาที่กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวรวมกับออกซิเจน เรียกว่าปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation)

3.สารต้านออกซิเดชัน (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นคำศัพท์ที่แปลมาจากคำว่า antiradical ปัจจุบันคำศัพท์นี้ได้ถูกบัญญัติใหม่เป็นสารขจัดหรือกำจัดอนุมูล (Radical scavenger) เพื่อให้ถูกต้องตรงกับการทำงาน และอาจใช้คำว่าสารต้านออกซิเดชันแทน สารต้านออกซิเดชันเป็นสารที่ใช้เป็นตัวชะลอหรือป้องกันการเกิดออกซิเดชันของสารที่ถูกออกซิไดซ์ (Oxidize) ได้ง่าย สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรงเพื่อกำจัดอนุมูลให้หมดไป หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อ สารต้านออกซิเดชันที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เช่น กรดยูริค (Uric acid) บิลิรูบิน (Bilirubin) จะกำจัดอนุมูล ส่วนวิตามินซี วิตามินอี กลูตาไธโอน (Glutathione) เบตาแคโรทีน (Beta-carotene) และยูบิควิโนน (Ubiquinone) จะหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ สารต้านออกซิเดชันประเภทหลังมีบทบาทสำคัญทำให้ลิพิดเปอร์ออกซิเดชันสิ้นสุดลง สารต้านออกซิเดชันที่กล่าวมามีโครงสร้างเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน เช่น วิตามินอีมีโครงสร้างเคมีที่ละลายไขมันได้ดี ดังนั้นจึงสามารถเข้าไปออกฤทธิ์ที่เมมแบรนได้ วิตามินอีจัดเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีฤทธิ์แรงสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ได้ วิตามินอีจะทำปฏิกิริยาขจัดอนุมูลลิพิดเปอร์ออกซีและได้เป็นอนุมูลวิตามินซี ($E\text{-}O^{\bullet}$) อนุมูล $E\text{-}O^{\bullet}$ เป็นอนุมูลอิสระที่

มีความไวต่ำ ทำให้ไม่สามารถเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันต่อไปได้ วิตามินซีละลายน้ำได้ดีมีหน้าที่เปลี่ยนอนุมูล E-O$^{\bullet}$ ทำให้ได้วิตามินอีกลับคืนมา โดยการรับอิเลคตรอนจากอนุมูล E-O$^{\bullet}$ อนุมูลวิตามินซีจะถูกขับออกทางปัสสาวะ (โอภา และคณะ, 2549)

องค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (Food and drug Adminisstration; FDA) กำหนดให้สารกันหืน หรือสารต้านออกซิเดชันเป็นสารที่ใช้รักษาคุณภาพอาหารโดยชะลอการเสื่อมเสียที่เกิดจากการหืนหรือการเปลี่ยนแปลงสีเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน สารต้านออกซิเดชันควรมีสมบัติดังนี้

1) ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค
2) ต้องเป็นชนิดที่กฎหมายของต่ละประเทศอนุญาตให้ใช้
3) ละลายหรือกระจายตัวได้ดีในไขมันและน้ำมัน และทำงานได้อย่างสม่ำเสมอในผลิตภัณฑ์
4) ไม่มีผลข้างเคียงต่อไขมันหรืออาหารที่มีไขมัน
5) ยังคงมีประสิทธิภาพอยู่ แม้ว่าจะผ่านกระบวนการแปรรูปแล้ว
6) เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค
7) มีประสิทธิภาพเพียงพอเมื่อใช้ในปริมาณน้อย จึงไม่เพิ่มต้นทุนการผลิตมาก
8) หาได้ง่าย และราคาพอสมควร

สารต้านออกซิเดชันส่วนใหญ่จะเป็นพวกฟีนอลิกอะโรมาติก (Phenolic aromatic) ซึ่งบางครั้งเรียกว่า ฟีนอลิคแอนตีออกซิแดนท์ (Phenolic antioxidant) มีทั้งในรูปของแข็งและของเหลว (ละลายสารต้านออกซิเดชันในน้ำมันพืช โพรพิลีนไกลคอล หรือเอทานอล) สารต้านออกซิเดชันแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ใหญ่ๆ คือ สารต้านออกซิเดชัน (Primary antioxidant) และสารเสริมต้านออกซิเดชัน (Synergist)

1. การทำงานของสารต้านออกซิเดชัน จะทำหน้าที่ใน 3 ลักษณะ คือ

1) ลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาเริ่มต้น

สารต้านออกซิเดชันทำให้เปอร์ออกไซด์สลายตัว หรือลดปริมาณเปอร์ออกไซด์ลงโดยเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ หรือเร่งการสลายตัวไปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ ดังสมการ

$$ROOH \xrightarrow{2H} ROH + H_2O$$

$$R_3COOH \xrightarrow{H^-} R_2C{=}O$$

2) หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่

สารประกอบฟีนอลิคหรือวงแหวนเอมีนสามารถจับคู่กับอนุมูลอิสระเปอร์ออกซิลโดยสารประกอบฟีนอลิคจะให้ฟีนอลิคไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว

$$ROO^{\bullet} + ArOH \longrightarrow ROOH + ArO^{\bullet}$$

$ROO^{\bullet}$ คือ อนุมูลอิสระเปอร์ออกซิล
ArOH คือ วงแหวนฟีนอลิค
ROOH คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
$ArO^{\bullet}$ คือ อนุมูลอิสระฟีนอกซิล

อนุมูลอิสระฟีนอกซิล ($ArO^{\bullet}$) อยู่ในสภาพเรโซแนนท์ (Resonance) ที่คงตัว ดังนั้น ปฏิกิริยาลูกโซ่จะไม่เกิดต่อไป ซึ่งถูกทำลายในขั้นสุดท้ายโดยเกิดปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเปอร์ออกซิล ขั้นที่ 2 หรืออาจถูกนำกลับไปใช้ได้อีก โดยทำปฏิกิริยากับสารรีดิวซ์ที่ละลายน้ำได้ เช่น วิตามินซี แล้วกลับไปเป็นสารฟีนอลเริ่มต้น

$ROO^{\bullet} + ArO^{\bullet} \longrightarrow$ nonradical product
$ArO^{\bullet} + AH \longrightarrow ArOH + A^{\bullet}$

3) ลดตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยา

เป็นสารคีเลต (Chelating agent) โดยเฉพาะสารโพลีฟีนอลที่มีโครงสร้างเป็นออร์โธไดไฮดรอกซีฟีนอลิค ทำหน้าที่จับหรือฟอร์มพันธะโคออร์ดิเนตกับโลหะหนัก เช่น ทองแดง และเหล็ก ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการสร้าง รวมทั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ

2. ประเภทของสารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชัน มีอยู่มากมายหลายชนิด สามารถจำแนกประเภทตามแหล่งกำเนิดได้เป็น 2 ประเภท คือ

1) สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์

สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์คือ สารที่ผลิตขึ้นโดยวิธีทางเคมี โดยใช้วัตถุดิบประเภทผลิตภัณฑ์จากอุตสาหกรรมปิโตรเลียม และมีคุณสมบัติยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ตัวอย่างเช่น บิวทิลเลตเทต ไฮดรอกซีอะนิโซล (BHA) บิวทิลเลตไฮดรอกซีโทลูอีน (BHT) เทอเทียรีบิวทิลไฮโดรควิโนน (TBHQ) โพรพิลแกลเลต (Propyl gallate; PG) และกรดนอร์ไดไฮโดรกวอเรดิก (Nordihydroguaretic acid; NDGA) เป็นต้น สารเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบฟีนอลิคซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ดี และไม่ทำให้เกิดสีในอาหารหรือไขมันที่เติมลงไป

2) สารต้านออกซิเดชันธรรมชาติ

สารต้านออกซิเดชันธรรมชาติ คือ สารประกอบที่ได้จากพืชหรือเนื้อเยื่อของสัตว์ต่างๆ และมีคุณสมบัติยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน สารต้านออกซิเดชันธรรมชาติมีอยู่หลายชนิดซึ่งได้จากแหล่งต่างๆ ได้แก่ วิตามินซี, วิตามินอี, แซนโทฟิลล์, ฟลาโวนอยด์ และกรดไฟติค (ประสาร และสุพร, 2545)

4.การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation reaction)

การเกิดปฏิกิริยาทางเคมีก่อให้เกิดกลิ่นหืนในอาหาร (Rancidity) เช่น การเกิดกลิ่นหืนหรือเหม็นหืน (Rancid) มักเกิดกับอาหารประเภทน้ำมันหรือไขมัน รวมทั้งอาหารประเภทที่มีน้ำมันหรือไขมันเป็นส่วนประกอบ โดยทั่วไปพบว่า ไขมันจากพืชจะเกิดกลิ่นหืนช้ากว่าไขมันจากสัตว์ เนื่องจากในพืชมีสารป้องกันการหืน (Antioxidant) อยู่ในเนื้อเยื่อโดยธรรมชาติ ซึ่งเมื่อทำการสกัดน้ำมันจากพืช สารนี้จะติดมากับน้ำมันด้วย ในทำนองเดียวกัน ไขมันธรรมชาติบางชนิดมีส่วนในการเร่งการหืน (Pro-oxidant) เป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย นอกจากนี้สารเร่งการหืนจำพวกเศษโลหะ หรือสารประกอบโลหะส่วนใหญ่ จะติดมากับไขมันระหว่างการผลิตไขมันด้วยเครื่องมือที่ทำด้วยโลหะ การเกิดกลิ่นหืนในอาหารที่เป็นกลิ่นที่ผู้บริโภคไม่ต้องการนี้เกิดจากปฏิกิริยาทางเคมีของน้ำมันและไขมันที่เป็นส่วนประกอบในอาหาร

ขั้นตอนการเกิดออโตออกซิเดชัน (Autoxidation)

1. ขั้นเริ่มต้น (Initiation)

ไฮโดรเจนถูกดึงออกจากไฮโดรคาร์บอนที่ไม่อิ่มตัว (Unsaturated hydrocarbon) เกิดเป็นอนุมูลอิสระ (Free radical) เช่น อนุมูลเปอร์ออกซี (Peroxy radical; $RO^{\bullet}_2$) อนุมูลอัลคอกซี (Alkoxy radical; $RO^{\bullet}$) อนุมูลอัลคิล (Alkyl radical; $R^{\bullet}$)

2. ขั้นการแพร่ขยายลูกโซ่ (Chain propagation)

เป็นขั้นตอนที่ออกซิเจนเข้ารวมตัวกับอนุมูลอิสระเกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่และทำปฏิกิริยาต่อไปเรื่อยๆ

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow RO^{\bullet}_2$$
$$RO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROH + R^{\bullet}$$
$$RO^{\bullet}_2 + RH \longrightarrow ROOH + R^{\bullet}$$

3. ขั้นการสิ้นสุดลูกโซ่ (Chain termination)

ในขั้นตอนนี้อนุมูลอิสระจะรวมตัวกันเองเกิดเป็นสารประกอบที่เป็นกลางและเสถียร ไม่ทำปฏิกิริยาต่อ

$$2R^{\bullet} \longrightarrow RR$$
$$R^{\bullet} + RO^{\bullet}_2 \longrightarrow ROOR$$
$$2\,RO^{\bullet}_2 \longrightarrow ROOR + O_2$$

การเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาสูงขึ้น เนื่องจากทำให้ขั้นตอนการแพร่ขยายลูกโซ่เกิดได้เร็วขึ้น และทำให้เปอร์ออกไซด์ (Peroxide; ROOH, ROOR) สลายตัว ปริมาณอนุมูลอิสระจึงมีมากขึ้นและเกิดปฏิกิริยาได้ดีขึ้น ปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดขึ้นเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ดังนี้

1) แสง เป็นแหล่งพลังงานสำคัญที่ส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยเฉพาะแสงที่มีความยาวคลื่นๆ (ช่วงของแสงอัลตราไวโอเลต) ได้มีการศึกษาโดยใช้น้ำมันพืชหลายชนิด สัมผัสกับแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ แล้ววัดอัตราการดูดกลืนออกซิเจนของน้ำมันแต่ละชนิด พบว่าในช่วงแสงที่มีความยาวคลื่นสั้น (ประมาณ 300 นาโนเมตร) คือในช่วงของแสงอัลตราไวโอเลต น้ำมันทุกชนิดจะมีอัตราการดูดซึมออกซิเจนสูงสุด นั้นคือเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงสุดนั่นเอง ป้องกันได้โดยใช้ภาชนะบรรจุที่แสงส่องผ่านไม่ได้หรือขวดสีชา

2) อุณหภูมิ เนื่องจากพลังงานที่ต้องใช้ในการเกิดปฏิกิริยาระยะที่ 1 และ 2 ของปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันค่อนข้างต่ำ ดังนั้นการลดอุณหภูมิไขมันให้ต่ำกว่าอุณหภูมิห้อง จะขัดขวางปฏิกิริยาดังกล่าว ซึ่งอุณหภูมิมีผลน้อยกว่ามากต่อโฟโตออกซิเดชัน แต่เพิ่มอัตราเร็วของปฏิกิริยาลูกโซ่ของออกซิเดชันและทำให้เกิดการสลายตัวของเปอร์ออกไซด์ ทำให้เพิ่มปริมาณอนุมูลอิสระที่จะเข้าสู่ปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป

3) โลหะ โลหะในกลุ่มทรานซิชัน (Transition) ที่สำคัญ คือ เหล็กและทองแดงซึ่งโลหะทั้งสองชนิดนี้มีโอกาสปนเปื้อนมากจากกระบวนการผลิตน้ำมันและปริมาณเพียงเล็กน้อยในรูปที่ไม่ละลายน้ำ แต่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ทำให้ระยะเหนี่ยวนำของไขมันลดลง กลไกการออกฤทธิ์ของโลหะคือทำให้ไฮโดรเปอร์ออกไซด์เกิดการสลายตัวได้อนุมูลอิสระ (RO, ROO) ซึ่งจะเข้าสู่ปฏิกิริยาลูกโซ่ของออโตออกซิเดชัน ดังนี้

$$M^{+} + ROOH \longrightarrow RO^{\bullet} + OH^{-} + M^{2+}$$
$$M^{2+} + ROOH \longrightarrow ROO^{\bullet} + H^{+} + M^{+}$$
$$2ROOH \longrightarrow RO^{\bullet} + ROO^{\bullet} + H_2O$$

เมื่อ M^{+}, M^{2+} คือ โลหะที่มีเวเลนซีเป็น 1+ กับ 2+

ROOH คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

$RO^{\bullet}$, $ROO^{\bullet}$ คือ อนุมูลอิสระ

ในอาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบมักจะพบโลหะปนเปื้อนอยู่เล็กน้อย ถึงแม้ว่าอาหารนั้นจะผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์มาแล้วก็ตาม ทั้งนี้เนื่องจากโลหะเหล่านี้เป็นส่วนประกอบของสารที่สำคัญบางชนิดในเซลล์ของพืชและสัตว์ เช่น คลอโรฟิลล์ ไซโตโครม ฮีโมโกลบินและไมโอโกลบิน ปัญหาการปนเปื้อนของโลหะจึงเป็นปัญหาสำคัญ แต่สามารถหลีกเลี่ยงได้โดยใช้สารเคมี เช่น เอทธิลีนเอมีนเตตราอะซิติกแอซิด (Ethylene diamine tetraacetic acid; EDTA)

4) โครงสร้างของโมเลกุลไขมัน น้ำมันหรือไขมันที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว คือ มีพันธะคู่ในโมเลกุล เกิดการหืนเนื่องจากออกซิเจนทำปฏิกิริยาได้ดีกว่ากรดไขมันอิ่มตัว และยิ่งมีพันธะคู่มาก คือ มีความไม่อิ่มตัวสูงจะยิ่งหืนได้เร็วกว่าน้ำมันที่มีความไม่อิ่มตัวต่ำ กรดไขมันที่มีความไม่อิ่มตัวสูง เช่น กรดลิโนลีอิค (2 พันธะคู่) กรดลิโนเลนิค (3 พันธะคู่) พบว่า การเกิดโฟโตออกซิเดชันของเมทธิลโอลิดอิคต่อเมทธิลลิโนลีเอท ต่อเมทธิลลิโนลีเนท เท่ากับ 1:1.7:2.3

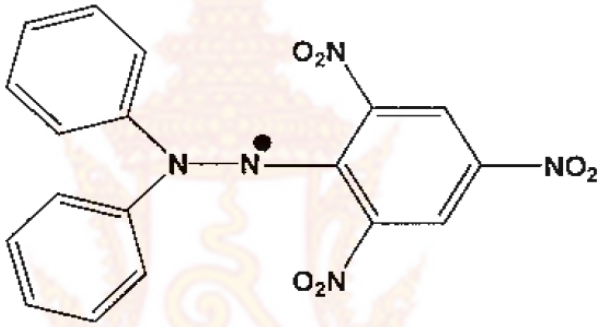
5) ส่วนประกอบของน้ำมันและไขมัน น้ำมันหรือไขมันแต่ละชนิดมีความไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันแตกต่างกัน ขึ้นกับส่วนประกอบต่างๆ ที่รวมกันเป็นน้ำมันชนิดนั้นๆ ตัวอย่างเช่น น้ำมันที่มีร้อยละของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เร็วกว่าน้ำมันที่มีร้อยละของกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่ำหรือเป็นกรดไขมันอิ่มตัว ตัวอย่างน้ำมันที่มีกรดไขมันไม่

อิ่มตัวสูง เช่น น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันถั่วเหลือง นอกจากส่วนประกอบหลักแล้ว ยังมีส่วนประกอบย่อยๆ อื่นที่มีผลต่ออัตราการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันนั้นๆ เช่น วิตามินอี ฟอสฟาไทด์ สารประกอบทั้งสองนี้จะเสริมฤทธิ์กันในการต้านออกซิเดชันทำให้น้ำมันเกิดการหืนช้าลง ในไขมันสัตว์อาจพบวิตามินอีบ้างเล็กน้อยซึ่งมาจากการที่สัตว์กินพืชที่มีวิตามินอีเป็นอาหาร

6) ตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) หรือโปรออกซิเดนท์ (Pro-oxidant) ได้แก่ เอนไซม์ไลพอกซีจีเนส สารประกอบฮีตามีน สารสี (pigment) ต่างๆ เช่น คลอโรฟิลล์ คาโรทีนอยด์ (Carotenoid) บางตัวสามารถเร่งการเกิดออกซิเดชันได้ (ศิรินทร, 2544)

5.การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) เป็นอนุมูลอิสระที่เสถียร (Stable free radical) นิยมใช้ในการหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ มีโครงสร้างดังนี้



DPPH radical (DPPH°)

DPPH radical ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง (Scavenging activity) สารละลายของ $(DPPH)^{\bullet}$ มีสีม่วงในเอทานอล มีค่าการดูดกลืนแงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 517 nm และเมื่อได้รับ $H^{\bullet}$ จะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง (ชุติกาญจน์, 2551)

6.อายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร

อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารเป็นการบ่งบอกถึงระยะเวลาที่ผลิตภัณฑ์นั้นยังมีความปลอดภัยต่อการบริโภค รวมถึงยังมีลักษณะทางประสาทสัมผัส เคมี กายภาพ และชีวภาพเป็นที่พึงพอใจ และคงไว้ซึ่งคุณค่าทางโภชนาการตามที่ระบุไว้ในฉลากโภชนาการ ทั้งนี้ต้องอยู่ภายใต้เงื่อนไขของการเก็บรักษาตามสภาวะที่เหมาะสม

นอกจากนี้หากพิจารณาถึงปัจจัยที่ส่งผลต่ออายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารแล้วสามารถแบ่งได้ 2 ปัจจัยหลัก ได้แก่ ปัจจัยภายใน และปัจจัยภายนอกดังนี้

1. ปัจจัยภายใน (Intrinsic factors)

1.1 วัตถุดิบ (Raw materials)

วัตถุดิบที่ใช้จะมีผลอย่างมากต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ซึ่งยังรวมไปถึงอายุการเก็บรักษาด้วย เช่น กะหล่ำปลีแช่เย็นจะมีปริมาณเชื้อยีสต์สูงกว่ากะหล่ำปลีสด ดังนั้นเมื่อนำไปใช้ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สลัดผักแบบ coleslaw จะมีผลทำให้อายุการเก็บ

สั้นลง นั่นแสดงถึงชนิดและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นที่มีอยู่ในวัตถุดิบแต่ละชนิด และความคงทนต่อสภาวะแวดล้อมของเชื้อจุลินทรีย์ด้วย

1.2 สูตรและองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์ (Product composition and formation)

องค์ประกอบหรือส่วนประกอบที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์นับว่าเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งที่ควรต้องคำนึงถึง เนื่องจากส่งผลต่ออายุการเก็บของผลิตภัณฑ์อาหารโดยตรง เช่น ในผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรตต่างกันจะมีผลทำให้อายุการเก็บต่างกันได้นั่นเอง

1.3 โครงสร้างของอาหาร (Food structure)

โครงสร้างของอาหารมีความสำคัญต่ออายุการเก็บรักษาเนื่องจาก ในหลายๆ ผลิตภัณฑ์ เช่น ไส้กรอก หรือมายองเนส ลักษณะโครงสร้างของอาหารไม่ได้เป็นเนื้อเดียวกันอย่างแท้จริง ดังนั้น การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี กายภาพ ซึ่งสัมพันธ์ไปถึงคุณภาพทางจุลินทรีย์จะแปรผันตามตำแหน่งที่อยู่ในโครงสร้างของอาหารนั้นๆ

1.4 ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ (Water activity, aw)

ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้เป็นค่าที่สำคัญในการควบคุมและป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร เนื่องจากค่าวอเตอร์แอคติวิตี้เป็นปัจจัยที่ชี้ระดับปริมาณน้ำขั้นต่ำในอาหารที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและใช้ในการเกิดปฏิกิริยาเคมีต่างๆ

1.5 ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ปริมาณกรดและชนิดกรด

ค่า pH จะขึ้นกับองค์ประกอบของอาหาร โดยมีผลต่ออายุการเก็บรักษาและความปลอดภัยของอาหาร ทั้งนี้เชื้อจุลินทรีย์จะสามารถเจริญเติบโตได้ในช่วง pH ที่เหมาะสมแตกต่างกัน ซึ่งอาหารที่มีกรดต่ำมีโอกาสที่เชื้อจุลินทรีย์จะสามารถเจริญเติบโตได้ดี ในขณะที่อาหารที่มีกรดสูงจะมีโอกาสเน่าเสียจากเชื้อจุลินทรีย์ยากกว่า

2.ปัจจัยภายนอก (Extrinsic factors)

2.1 กระบวนการแปรรูป (Processing)

ปัจจัยหนึ่งที่ต้องพิจารณาคือกระบวนการแปรรูปและกระบวนการที่เกี่ยวข้องอื่นๆ ซึ่งจะส่งผลอย่างมากต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของผลิต ภัณฑ์ทั้งในแง่ของคุณภาพทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และประสาทสัมผัส เช่น การเตรียมวัตถุดิบ การแยกกระบวนการแปรรูปที่ใช้ไอน้ำ กระบวนการแปรรูปที่ใช้ลม กระบวนการแปรรูปที่ลดอุณหภูมิ เป็นต้น

2.2 วัสดุและระบบบรรจุภัณฑ์ (Packaging materials and systems)

บรรจุภัณฑ์นับว่ามีส่วนสำคัญอย่างมากต่ออายุการเก็บรักษา ทั้งในแง่การป้องกันการปนเปื้อนทั่วไป หรือมีหน้าที่ป้องกันเฉพาะทางในระหว่างการขนส่ง เก็บรักษา และจัดจำหน่าย โดยบรรจุภัณฑ์จะต้องเลือกให้เหมาะสมกับชนิดของผลิตภัณฑ์ และมีหน้าที่เฉพาะทาง เช่น การป้องกันแสง การป้องกันการแลกเปลี่ยนแก๊สหรือความชื้น ซึ่งมีส่วนสำคัญในการช่วยยืดอายุการเก็บรักษาหรือชะลอการเสื่อมเสียของอาหารได้ ทั้งนี้จะขึ้นกับองค์ประกอบของแก๊สที่มีอยู่ด้วย บรรจุภัณฑ์จึงมักเป็นปัจจัยหนึ่งที่มักจะถูกนำมาใช้เป็นปัจจัยที่ควบคุมอายุการเก็บรักษา

2.3 การเก็บรักษา ขนส่ง และจัดจำหน่าย (Storage, distribution and retail display)

สภาวะต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในระหว่างการเก็บรักษา ขนส่ง และจัดจำหน่ายนับว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญมากที่กระทบโดยตรงต่ออายุการเก็บรักษา ไม่ว่าจะเป็นปัจจัยด้านอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ความเสี่ยงในการถูกแสง เช่น แสงแดด หรือแม้แต่แสงไฟตามอาคารก็ตาม (ยุทธนา, 2553)

7.เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์ หมายถึง เนื้อที่ได้จากสัตว์เพื่อนำมาใช้เป็นอาหารซึ่งรวมถึงกล้ามเนื้อและอวัยวะต่างๆ ที่บริโภคได้ เนื้อจากสัตว์ต่างๆ ได้แก่ โค กระบือ สุกร แพะ แกะ และสัตว์ปีก (Poultry) เช่น เป็ด ไก่ เป็นต้น เนื้อสัตว์จะมีส่วนประกอบทางเคมีแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสภาพของสัตว์ก่อนนำมาฆ่า สัตว์ต่างชนิดกันหรืออายุต่างกัน โดยทั่วไปกล้ามเนื้อของสัตว์จะมีส่วนประกอบทางเคมี ได้แก่ น้ำ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน เอนไซม์ และแร่ธาตุต่างๆ เป็นต้น

ส่วนประกอบของเนื้อ เมื่อนำกล้ามเนื้อมาวิเคราะห์ จะมีส่วนประกอบต่างๆ ดังนี้

- น้ำ ร้อยละ 60-75
- โปรตีน ร้อยละ 17-25
- ไขมัน ร้อยละ 5-25
- เถ้า ร้อยละ 1
- คาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 1

คุณภาพที่ดีของเนื้อสัตว์ หมายถึง เนื้อสัตว์ที่ปลอดภัยต่อการบริโภค เป็นเนื้อที่มีลักษณะชวนรับประทาน อีกทั้งมีกลิ่นรส ตลอดจนมีเนื้อสัมผัสที่ดี มีความหวานของเนื้อ และเป็นเนื้อที่ไม่เหนียวจนเกินไป คุณภาพของเนื้อสัตว์สามารถแบ่งได้ 3 ลักษณะ คือ

1.เนื้อสัตว์ที่มีคุณภาพปกติ คือ เนื้อสัตว์ที่มี pH ลดลงอย่างสม่ำเสมอ เนื้อสัตว์ชนิดนี้เหมาะที่จะนำไปทำผลิตภัณฑ์สัตว์ เช่น แฮมต้ม

2.เนื้อสัตว์ที่มีสีซีดและมีน้ำมากกว่าปกติ คือ เนื้อสัตว์ที่มี pH ลดต่ำลงอย่างรวดเร็ว สีของเนื้อจะซีดจาง เนื้อยุ่ย และมีลักษณะน้ำเยิ้มออกจากก้อนเนื้อ ความสามารถในการอุ้มน้ำก็มีน้อยด้วยเนื้อชนิดนี้ไม่สามารถมีความชุ่มฉ่ำเมื่อเคี้ยวในปาก และไม่เหมาะที่จะนำมาทำผลิตภัณฑ์สัตว์ต่างๆ เพราะมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำ

3.เนื้อสัตว์ที่มีสีดำและแห้ง คือ เนื้อสัตว์ที่มี pH สูง สีของเนื้อจะแดงเข้มเนื้อแน่น ผิวจะมีลักษณะแห้ง เนื้อสัมผัสจะมีลักษณะเหนียวหนืด มีความสามารถในการอุ้มน้ำสูง เนื้อจะเน่าเสียง่ายเพราะมี pH สูง จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ดี เนื้อชนิดนี้เหมาะสำหรับทำไส้กรอกชนิดต่างๆ เพราะมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูง

การเก็บรักษาเนื้อสัตว์ การเก็บรักษาเนื้อสัตว์ หมายถึง การกระทำใดๆ ที่ชะงักการเน่าเสียของเนื้อสัตว์ เพื่อเก็บรักษาคุณภาพของเนื้อสัตว์ไว้ได้เป็นระยะเวลานาน ซึ่งมีหลายวิธีต่างๆ ดังนี้

1.การใช้ความเย็น เป็นการเก็บรักษาเนื้อสัตว์ที่อุณหภูมิต่ำจะช่วยชะงักการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และปฏิกิริยาทางเคมี ทำได้ 2 วิธี คือ

1.1 Chilling คือ การใช้ความเย็นที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เช่น cool room

1.2 Freezing คือ การใช้ความเย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 ถึง -40 องศาเซลเซียส เช่น ตู้แช่แข็ง ซึ่งจะรักษาไว้ได้นานเป็นเดือนหรือปี

2.การให้ความร้อน คือ การใช้ความร้อนไปทำลายการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ถ้าใช้อุณหภูมิสูงกว่า 100 องศาเซลเซียส หรือ 121 องศาเซลเซียส เรียกว่า ขบวนการสเตอริไลเซชั่นเป็นการทำลายจุลินทรีย์และสปอร์ ถ้าใช้อุณหภูมิระหว่าง 55-75 องศาเซลเซียส เรียกว่า ขบวนการพาสเจอร์ไรเซชั่นจะทำลายจุลินทรีย์ได้บางส่วน ซึ่งความร้อนระดับนี้จะใช้กับผลิตภัณฑ์เนื้อเป็นส่วนใหญ่ ฉะนั้นผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เหล่านี้ต้องให้เก็บรักษาไว้ในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำ

3.การทำให้แห้ง คือ การทำให้เนื้อสัตว์แห้งโดยการใช้ความร้อนและอากาศช่วยทำให้น้ำในเนื้อสัตว์ระเหยออกไปอาจใช้ความร้อนจากแสงแดด แก๊สหรือไฟฟ้า

4.การใช้สารเคมี สารเคมีที่ใส่ลงไปป้องกันไม่ให้อาหารเน่าเสีย หรือเสียช้าลง และสารที่ใช้นี้จะต้องไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และไม่มีรส ที่ไม่พึงประสงค์ ปริมาณที่ใช้นั้นจะต้องปลอดภัยต่อผู้บริโภคด้วย สารเคมีที่นิยมใช้ ได้แก่ โซเดียมเบนโซเอท โปแทสเซียมซอร์เบท และสารกันหืนต่างๆ

5.การรมควัน วัตถุที่ใช้ให้เกิดควันได้แก่ ขี้เลื่อยของไม้เนื้อแข็ง ซังข้าวโพด ชานอ้อย การรมควันนี้ทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นหอม มีสีสวย และช่วยทำลายแบคทีเรียบริเวณผิวหน้าของผลิตภัณฑ์ด้วยทำให้เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้นาน

6.การหมักเกลือ เป็นวิธีการเก็บรักษาเนื้อสัตว์ที่นิยมกันมากที่สุด องค์ประกอบที่ใช้ในการหมักเนื้อสัตว์ ได้แก่

6.1 เกลือ ช่วยให้เก็บรักษาเนื้อสัตว์ไว้ได้นานทำให้เนื้อสัตว์มีรสชาติดีขึ้น เกลือจะแทรกซึมเข้าไปอยู่ในเนื้อสัตว์ และขณะเดียวกันก็ซับน้ำเลือดออกมา ทำให้สารละลายในก้อนเนื้อมีความเข้มข้นเป็นการช่วยลดการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

6.2 โซเดียมไนเตรท/โซเดียมไนไตรท์ ช่วยทำให้เนื้อสัตว์มีสีแดง นอกจากนี้สามารถยับยั้งจุลินทรีย์พวก *Clostridium botulinum* ได้ด้วย

7.การหมัก การหมักที่ใช้ในการถนอมอาหารนั้นมีทั้งผลิตแอลกอฮอล์และผลิตกรดซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (กรมปศุสัตว์, 2546)

การเสื่อมเสียทางจุลินทรีย์

สาเหตุสำคัญของการเสื่อมเสียของเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ การเก็บรักษาเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่อุณหภูมิต่ำช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ลงได้บางส่วน แต่การเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญ และสามารถเจริญเติบโตได้ในที่อุณหภูมิต่ำ (Psychrophiles) ยังคงเป็นปัญหา จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียในอาหารประเภทเนื้อ ไก่และปลาสดที่เก็บในสภาพบรรยากาศปกติที่อุณหภูมิต่ำ ได้แก่ *Pseudomonas sp., Acinetobacter sp.* และ *Moraxella sp.*

ในการควบคุมคุณภาพอาหารทางด้านจุลชีววิทยา ต้องมีการตรวจสอบอาหารและมีมาตรฐานอาหาร ซึ่งต้องคำนึงถึงจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสีย (spoilage

microorganism) จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเป็นพิษ (pathogenic microorganism) จำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญและเกี่ยวข้องกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เป็นตัวชี้ถึงสุขลักษณะของอาหารซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอาหารในทางที่ไม่ต้องการ สามารถสังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะไปจากเดิมในเรื่องสี กลิ่น และลักษณะปรากฏ เช่น เนื้อสัตว์ มีเมือก กลิ่นเหม็นเน่าเหม็นหืน มีลักษณะเน่านิ่ม มีกลิ่นเหม็น เป็นต้น การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในอาหารจากแหล่งต่างๆ เช่น น้ำ ดิน อากาศ น้ำเสีย พืชผักผลไม้ สัตว์ ในระหว่างการจำหน่ายและการผลิต โดยอาจมาจากเครื่องมือที่ใช้สัมผัสกับอาหาร ภาชนะบรรจุ การขนส่ง และอาจมาจากคนงานที่ทำการผลิต ส่งผลทำให้มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรครวมไปถึงจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสีย

1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม มักพบเป็นเดี่ยวๆ หรือคู่เกาะกันด้วยสายสั้นๆ เป็นกิ่งหรือลักษณะพวงองุ่น ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ เจริญได้ในที่ที่อากาศและไม่มีอากาศ (Facultative anaerobic) อุณหภูมิที่สามารถเจริญได้ คือ 46 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชที่เหมาะสม คือ 7.0 ถึง 7.5 สามารถตรวจพบได้ในอาหารที่มีค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ต่ำถึง 0.86 *S.aureus* สามารถสร้างสารพิษพวกเอนเทอโรท็อกซิน ซึ่งทนต่อความร้อนได้ดี การทำลายสารพิษของ *S.aureus* จะต้องใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที (บุษกร, 2547) การบริโภคสารพิษชนิดนี้ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่เรียกว่า สเตรปฟีโรเอนเทอโรท็อกซิโคซีส (Staphyloenterotoxicosis) สเตรปฟีโรเอนเทอโรท็อกซีเมีย(Staphylorenterotoxemia) ทำให้ผู้ป่วยมีอาการอาเจียนรุนแรง วิงเวียน ปวดท้อง ถ่ายเป็นน้ำและท้องเสียอย่างรุนแรง

โดยส่วนมากจะพบจุลินทรีย์ชนิดนี้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ประเภทปิ้งย่าง และรมควันซึ่งผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่ไม่เพียงพอต่อการทำลายเซลล์ แต่ความร้อนนี้จะเป็นสาเหตุให้แบคทีเรียที่เหลือรอดมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ซึ่งกรณีดังกล่าวเป็นกรณีที่พบบ่อยในการเกิดอาหารเป็นพิษจาก *S. aureus* (Forsythe, 2000)

2. *Escherichia coli*

Escherichia. coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน จัดเป็นฟีคัลโคลิฟอร์ม (Feacal coliform) ที่สำคัญ เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์บ่งชี้ว่าอาหารมีการสุขาภิบาลที่ดีเพียงพอหรือไม่ สามารถเจริญได้ในที่ที่มีและไม่มีอากาศ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำประมาณ 5 องศาเซลเซียส โดยมีแหล่งปนเปื้อนที่สำคัญคือ ดิน อุจจาระ และสิ่งสกปรกต่างๆ (บุษกร, 2547) แบคทีเรียชนิดนี้มีประโยชน์ต่อระบบขับถ่ายของร่างกายคือ ช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นโทษต่อร่างกาย มีเพียงบางสายพันธุ์เท่านั้นที่เป็นโทษต่อมนุษย์ *E. coli* O157:H7 เป็นชนิดที่สร้างสารพิษที่มีผลทำให้เกิดการระคายเคืองเยื่อบุผนังลำไส้ เนื่องจากสร้างสารพิษที่เรียกว่าไซกาไลท์ (Shiga-like) หรือเวอโรท็อกซิน (Verotoxin; VT) ซึ่งมี 2 ชนิด คือ ชนิด I และ II อาการของโรคชนิดนี้ คือ ท้องเสีย ปวดท้องเป็นตะคริวในช่องท้องอุจจาระมีลักษณะคล้ายน้ำซาวข้าว บางครั้งมีลิ่มเลือดออกมาด้วย มีการอาเจียนในบางครั้งและมีไข้ อาการป่วยจะหายไปเองโดยเฉลี่ยประมาณ 8 วัน แต่บางครั้งอาจมีการถ่ายเป็นน้ำมากผิดปกติ

3. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคลิสเทอริโอซีส (Listeriosis) แบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อน ขนาด 0.5 x 1 ถึง 2 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ในสถานที่มีอากาศและไม่มีอากาศ ที่สำคัญคือเป็นแบคทีเรียที่ทนต่ออุณหภูมิต่ำหรืออยู่ในกลุ่มไซโครโทรป เจริญได้ ณ อุณหภูมิตั้งแต่ 3 ถึง 42 องศาเซลเซียส เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิเหมาะสมคือ 30 ถึง 35 องศา

เซลเซียส ค่าพีเอชที่เจริญได้คือ 5.0 ถึง 9.0 ค่าพีเอชและวอเตอร์แอกติวิตี้ต่ำสุดที่เจริญได้คือที่ 4.4 และ 0.92 ตามลำดับ และแบคทีเรียชนิดนี้ทนเกลือได้ดี พบว่าบางสายพันธุ์เจริญได้ที่เกลือสูงถึงร้อยละ 10 จุลินทรีย์ถูกทำลาย ณ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แหล่งของเชื้อโรคได้แก่ ดิน น้ำ น้ำโสโครก และสิ่งปฏิกูล ผักเน่าเปื่อย มูลสัตว์ สัตว์และคน พบมากในน้ำนมดิบ เนยแข็ง (cheese) อาหารจากเนื้อสดและเนื้อแช่แข็ง ผลิตภัณฑ์จากผักและผลไม้ (สุมณฑา, 2545)

8.มะม่วงหิมพานต์

ชื่อวิทยาศาสตร์ "Anacardirm occidentale Linn."

วงศ์ "ANACARDIACEAE"

ชื่อสามัญ Cashew Nut Tree

ชื่อพื้นเมือง ยกร่อง (ใต้) กะแตแก (มาลายู, นราธิวาส) กายี (ตรัง) ตำหยาว ท้ายล่อ กาหยี ม่วงล่อ หัวครก กะแตแหล กาจู กาหยู ส้มม่วงชูหน่าย (ใต้) นายอ (มาลายู-ยะลา) มะม่วงกาสอ (อุตรดิตถ์) มะม่วงกุลา มะม่วงสังกา มะม่วงสิงหน มะม่วงหยอด (ภาคเหนือ) มะม่วงทูนหน่วย ส้มม่วงทุนหน่วย(สุราฎร์ธานี) มะม่วงยางหุย (ระนอง) ยาโหย ยามักม่วงหิมพานต์ (อุดรธานี-อีสาน)

ลักษณะทางพฤกษศาตร์

มะม่วงหิมพานต์เป็นต้นไม้ตระกูลเดียวกับมะม่วง จำแนกตามสีของผลมี 2 พันธุ์ คือ ผลสุกสีเหลืองจัด และผลสุกสีแดงคล้ำ มะม่วงหิมพานต์เป็นไม้ยืนต้นไม่ผลัดใบสูง 6-12 เมตร มีกิ่งก้านเป็นพุ่มแผ่โดยรอบ เนื้อไม้เป็นไม้เนื้ออ่อน มียางสีเหลืองและเหนียวใสเปลือกต้นสีน้ำตาลใบเป็นใบเดี่ยว สีเขียวเข้มหนา ออกใบแบบสลับใบรูปร่างรูปไข่กลับ ปลายใบมนป้านและฐานใบแหลม กว้าง 6-11 เซนติเมตร ยาว 7.5-19 เซนติเมตร (รูปที่ 1) ดอกออกเป็นช่อตามปลายกิ่ง มีกลิ่นอ่อนๆ กลีบดอกมี 5 กลีบ สีขาว ยาวครึ่งนิ้ว ดอกมีเกสรตัวเมีย และเกสรตัวผู้ในดอกเดียวกัน เมื่อดอกบานจะกลายเป็นสีชมพู ส่วนของฐานรองดอกจะเจริญค่อยๆ กลายเป็นผลโดยจะขยายใหญ่พองโตคล้ายกับผลชมพู่ เรียกกันว่า ผลปลอม เมื่อสุกกลายเป็นสีเหลือง หรือสีแดงคล้ำ มีรสเปรี้ยวอมหวานนิ่มและมีกลิ่นหอมผลปลอมชาวบ้านทั่วไปเรียกว่า เต้า (Cashewapple) ส่วนปลายสุดของผลปลอมเป็นส่วนของดอก ที่ได้รับการผสมเกสรแล้วเจริญเป็นผลจริงชนบ้านเรียกว่าเมล็ดหรือลูกใน หรือหัวใน (Nut) รูปร่างคล้ายไตระยะแรกสีม่วงแล้วกลายเป็นสีเขียวอ่อนนุ่มเมื่อโตเต็มที่ลดขนาดลงเล็กน้อยแก่จัดจะแข็ง เปลี่ยนเป็นสีเทาส่วนนี้เป็นเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ที่เป็นสินค้าออกสำคัญของภาคใต้

รูปที่ 1 ใบมะม่วงหิมพานต์

ที่มา: http://www.cashewthai.com.

การปลูก

มะม่วงหิมพานต์เป็นพืชปลูกง่ายปลูกในที่กลางแจ้ง ทนต่อแสงแดดได้ดี ขึ้นได้ในดินทุกชนิด การขยายพันธุ์ทำได้ 2 วิธี คือการเพาะเมล็ด และการตอนกิ่ง

ประโยชน์ทางยา

- ราก สรรพคุณแก้โรคท้องร่วงและเป็นยาฝาดสมาน
- ใบ สรรพคุณเป็นยาสมานลำไส้บรรเทาอาการท้องร่วง
- ใบแก่ ใช้บดใส่แผลไฟไหม้หรือน้ำร้อนลวก และใบสดนำมาเผาไฟ สูดดมควันเพื่อรักษาอาการ ไอ เจ็บคอ
- เมล็ด สรรพคุณแก้กลากเกลื้อน โรคผิวหนัง ทำให้เนื้อชา ยาง ช่วยกัดทำลายเนื้อที่เป็นตุ่ม ไต ตาปลา โรคเท้าแตก และแก้เลือดออกตามไรฟัน
- สารสกัดจากส่วนในของเปลือกต้น (การวิจัยในประเทศบราซิล) สารสกัดจากส่วนเหนือดินของต้นมะม่วงหิมพานต์ (การวิจัยในประเทศอินเดีย) พบว่า สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้

ประโยชน์ทางอาหาร

ส่วนที่เป็นผักยอดอ่อน ใบอ่อนใช้รับประทาน ผลและเมล็ดนำมาปรุงอาหารได้ การปรุงอาหาร ชาวใต้รับประทานยอดอ่อนและใบอ่อนสดเป็น "ผักเหนาะ" ร่วมกับน้ำพริก แกง เผ็ดขนมจีนน้ำยาเช่นเดียวกับชาวอีสานที่นำยอดอ่อนและใบอ่อนสดรับประทานกับลาบก้อยป่นปลาและน้ำพริกส่วนเมล็ดนิยมทำให้สุกก่อนโดยการเผาไฟหรือคั่ว นำไปผัดหรือยำร่วมกับอาหารอื่น หรือรับประทานเป็นของว่าง

9.การประยุกต์ใช้สารสกัดธรรมชาติในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติได้ถูกนำมาใช้ในเนื้อสัตว์โดยมีการนำเอาส่วนที่เป็นใบ ราก ผล และเมล็ดมาใช้ในงานวิจัย (ตารางที่ 1) และสารต้านออกซิเดชันธรรมชาติบางชนิดที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในทางการค้าได้ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 แหล่งของพืชที่ใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันธรรมชาติในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

แหล่ง	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	ตัวทำละลายที่สกัด
Rosemary	*Rosmarinus officinalis*	ใบและกิ่ง ใบ ใบ	Dimethyl sulfoxide Deionized water Acetone, hexane
Nettle	*Urtica dioica*	ใบ ดอก	Water Water
Pomegranate	*Punica granatum*	เปลือก เปลือก เปลือก	70% ethanol Water 80% ethanol
Ginger	*Zingiber officinale*	ลำต้นใต้ดิน	90% ethanol
Broccoli	*Brassica oleracea*	ดอก	Water

Grape	*Vitis vinifera*	เมล็ด	80% ethanol
Garlic	*Allium sativum*	หัว	Water
Lotus	*Nelumbo nucifera*	ใบ	Water

ที่มา: Shah *et al*., (2014)

ตารางที่ 2 สารต้านออกซิเดชันธรรมชาติที่ใช้ในทางการค้าสำหรับเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

สารสกัด	**ชื่อทางการค้า**	**บริษัท**	**เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์**
Grape seed	ActiVin™	InterHealth (Benicia, Cilif., USA)	เนื้อวัว
	ActiVin	-	ไส้กรอกวัว
	Gravinol-S	-	เนื้อวัวและเนื้อหมู
	Gravinol Super™	-	เนื้อวัวและเนื้อหมู
	Gravinol Super™	Kikkoman (Tokyo, Japan)	เนื้อวัว
Green tea	-	New Kinglong Natural Product Co., Ltd.	ไส้กรอกหมู
	-	Nestle Research Centre, Lausanne, Switzerland	เนื้อหมู
Rosemary oleoresin	Herbalox® Seasoning HT-25	Kalsec Inc., Kalamazoo, MI, USA	เนื้อวัวและเนื้อหมู
Rosemary	FlavorPlus™ Ref. # 050501	SharonBolel Chemical Marketing, South Africa	ไส้กรอก
	Fortium™	Kemin Americas, Inc., Des Moines, IA	ไส้กรอกหมู

ที่มา: Shah *et al*., (2014)

การเกิดออกซิเดชันของไขมันในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เป็นสาเหตุหลักของการสูญเสียคุณภาพต่อเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์โดยจะส่งผลต่อเนื้อสัมผัส สี กลิ่นและคุณค่าทางอาหารทำให้อายุการเก็บรักษาสั้นลง การป้องกันหรือการชะลอกระบวนการเกิดออกซิเดชันโดยการใช้สารสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์จึงได้ถูกนำมาใช้กับเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แต่การใช้สารสังเคราะห์ก็เป็นพิษจึงส่งผลให้ผู้บริโภคมีความสนใจในการใช้สารธรรมชาติด้วยเหตุนี้อุตสาหกรรมเนื้อสัตว์จึงมองหาสารต้านออกซิเดชันธรรมชาติที่คุ้มทุนและมีประสิทธิภาพเพื่อทดแทนสารสังเคราะห์และไม่ส่งผลต่อผลิตภัณฑ์และการยอมรับของผู้บริโภค การใช้สารสกัดจากพืชเป็นสารต้านออกซิเดชันในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 คุณสมบัติของสารสกัดธรรมชาติเป็นสารต้านออกซิเดชันในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

สารสกัด	ความเข้มข้นสารสกัด	เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์	สภาวะการเก็บรักษา	ผล
Rosemary Grape skin Green tea Coffee	200 ppm 200 ppm 200 ppm 50 ppm	เนื้อหมู	สุญญากาศ, 4.5 องศาเซลเซียส, 10 วัน	ลด TBARS และประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชัน: rosemary>grape skin>green tea>coffee
Grape seed	1%	เนื้อวัว	4 องศาเซลเซียส, 9 วัน	ลดค่า TBARS
	0.1, 1%	เนื้อวัวและเนื้อหมู	แช่เย็น	ยับยั้งผลิตภัณฑ์เริ่มต้นและลำดับสองในการเกิดออกซิเดชัน
	0.01, 0.02%	เนื้อวัวและเนื้อหมู	ห่อด้วย PVC, 4 องศาเซลเซียส, 8 วัน	ลดการหืน
Adzuki bean	100, 300, 500 ppm	ไส้กรอกหมู	37 องศาเซลเซียส, 5 วัน	ลดการเกิดออกซิเดชันของไขมัน, สารสกัด 0.2% adzuki bean เท่ากับ 0.1% BHT
Cinamon Oregano Clove Pomegranate	100 mL/25 g	เนื้อหมู	-20 องศาเซลเซียส, 9 วัน	ยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน
Ginger Onion Garlic	5, 10%	เนื้อหมู	4 องศาเซลเซียส, 12 วัน	ยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน

ที่มา: Shah *et al*., (2014)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.งานวิจัยที่เกี่ยวกับสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์

ปุณณาณี (2554) ศึกษาการสกัด องค์ประกอบ คุณสมบัติบางประการและการประยุกต์ใช้ของสารสกัดแทนนินจากวัสดุเศษเหลือของพืช สารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ สารสกัดจากใบเคี่ยม และสารสกัดจากเปลือกสะตอ พบว่า สารสกัดสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคที่นำมาทดสอบ 6 ชนิด (*Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* และ *Vibrio cholerae*)

Arul doss and Thangavel (2011) ศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันและการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยการใช้สารกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ พบว่า กิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงสุดของใบมะม่วงหิมพานต์ด้วยวิธี DPPH เท่ากับร้อยละ 52.50 (1,000 μg/mL) และสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคแกรมบวก 2 ชนิด (*Micrococcus luteus* และ *Staphylococcus*

aureus) และแกรมลบ 4 ชนิด (*Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa*)

Tan and Chan (2014) ศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันและการยับยั้งแบคทีเรียของใบมะม่วงหิมพานต์และใบพลู พบว่า กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของใบมะม่วงหิมพานต์เท่ากับ 6,620±513 mg ascorbic acid/100 g และ 3,260±235 mg gallic acid equivalent/100 g สูงกว่าใบพลู 7.1 และ 7.2 เท่า ส่วนการยับยั้งแบคทีเรียสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์และใบพลูสามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้งแกรมบวก (*Brevibacillus brevis*, *Micrococcus luteus* และ *Staphylococcus cohnii*) และแบคทีเรียแกรมลบ (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Salmonella entererica*)

Ajileye *et al*. (2015) ศึกษาคุณลักษณะของการต้านออกซิเดชันและการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ พบว่า กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ด้วยวิธี DPPH เท่ากับ IC_{50} = 0.96±0.01 μg/mL และสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวกที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (Minimum inhibition concentration, MIC) เท่ากับ 0.25 mg/mL ของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Clostridium sporogens*, 0.5 mg/mL ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ 1.0 mg/mL ของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Klebsiella pneumonia*

2.งานวิจัยที่เกี่ยวกับการใช้สารสกัดธรรมชาติในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

กิติศาสตร์ และคณะ (มปป) ศึกษาผลของสารสีจากเชื้อรา *Monasous* จากปลายข้าวในการยับยั้งการหืนในผลิตภัณฑ์กุนเชียงหมู พบว่า ตลอดอายุการเก็บรักษา ค่า PV และ TBARS ของกุนเชียงหมูที่ผสมสารสีร้อยละ 1 มีค่า PV และ TBARS ต่ำกว่าสูตรอื่นๆ และกุนเชียงหมูที่ผสมสารสีร้อยละ 1 มีค่า a* มากที่สุด ในขณะที่ ค่า L* และ b* มีค่าน้อยสุด ส่วนคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า กุนเชียงหมูที่ผสมสารสีร้อยละ 1 มีลักษณะปรากฏ และความชอบรวมได้รับคะแนนความชอบสูงที่สุด โดยกุนเชียงหมูที่ผสมสารสีทุกระดับความเข้มข้น (0.25, 0.50, 0.75 และ 1.0 ของน้ำหนักเนื้อในกุนเชียงหมู) มีอายุการเก็บรักษาที่ 14 วัน

นภาพร และ เพรชรัตน์ (มปป) ศึกษาผลของการเติมสารสกัดแอนโธไซยานินส์จากรำข้าวเหนียวดำต่อการเหม็นหืนของผลิตภัณฑ์กุนเชียง พบว่า ผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่เติมสารสกัดแอนโธไซยานินส์จากรำข้าวเหนียวดำร้อยละ 3 และโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2 มีปริมาณความชื้นน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่เติมโซเดียมไนไตรท์ร้อยละ 1 ร่วมกับสารสกัดแอนโธไซยานินส์ร้อยละ 3 ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุดและสามารถยับยั้งการหืนของไขมันในกุนเชียงได้ในระหว่างการเก็บรักษา โดยมีค่า TBA น้อยกว่าตัวอย่างควบคุมในทุกสัปดาห์

เยาวลักษณ์ และ ประพันธ์ (มปป) ศึกษาการใช้สารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในผลิตภัณฑ์หมูแผ่นและกุนเชียงดิบ พบว่า การใช้สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานเติมลงไปในส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ 2 ชนิด คือ หมูแผ่นและกุนเชียงดิบที่ระดับร้อยละ 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.3 โดยน้ำหนัก เปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันของสารสกัดดังกล่าวกับสาร BHT ร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก พบว่าการใช้สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่ระดับร้อยละ 0.1-0.3 โดยน้ำหนัก เติมลงไปในส่วนผสมของหมูแผ่นและกุนเชียงดิบ มีผลในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซเดชันของไขมันได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม และมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับ BHT ที่ระดับร้อยละ 0.01 โดยน้ำหนัก เมื่อใช้สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่ระดับร้อยละ 0.3

วิชชุดา (2553) ศึกษาผลของสารสกัดใบกระโดนบกต่อลักษณะทางกายภาพประสาทสัมผัสและการเกิดออกซิเดชันของไส้กรอกแฟรงค์เฟอร์เตอร์ พบว่า เมื่อปริมาณผงสารสกัดกระโดนบกเพิ่มขึ้น ไส้กรอกมีค่าแรงตัดขาดและความสว่างลดลง ในขณะที่การทดสอบทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกที่มีการเติมผงสารสกัดกระโดนบกปริมาณร้อยละ 1.0 ได้คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสในทุกด้านไม่แตกต่างจากไส้กรอกสูตรควบคุม ($p > 0.05$) เมื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาของตัวอย่างที่เติมผงสารสกัดกระโดนบกร้อยละ 1.0 เปรียบเทียบกับสูตรควบคุม สูตรที่เติม BHT ร้อยละ 0.02 และสูตรที่เติม α-tocopherol ร้อยละ 0.02 โดยการประเมินผลทางประสาทสัมผัส การสูญเสียน้ำ % purge และการเกิดออกซิเดชันในรูปของ TBA พบว่า ไส้กรอกที่เติมผงสารสกัดกระโดนบกร้อยละ 1.0 มีคะแนนด้านความชุ่มฉ่ำ ความอ่อนนุ่ม กลิ่นรสแปลกปลอมและการยอมรับโดยรวม ไม่แตกต่างจากสูตรควบคุม ($p > 0.05$) เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ไส้กรอกทุกตัวอย่างมีค่า % purge เพิ่มขึ้น นอกจากนี้สูตรที่เติมผงสารสกัดกระโดนบกมีค่า TBA ต่ำกว่าสูตรควบคุม สูตรที่เติม BHT ร้อยละ 0.02 และสูตรที่เติม α-tocopherol ร้อยละ 0.02

Lara *et al*. (2011) ประเมินสารสกัดธรรมชาติ 2 ชนิด (*Rosmarinus officinalis* L. และ *Melissa officinalis* L.) เป็นสารต้านออกซิเดชันในหมูแผ่นปรุงสุกบรรจุในการดัดแปลงบรรยากาศ (Modified atmosphere packaging, MAP) พบว่า หมูแผ่นปรุงสุกที่เติมสารสกัดธรรมชาติทั้งสองมีค่า a* สูงกว่าตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่เติม BHT ($p < 0.01$) หมูแผ่นปรุงสุกที่เติมสารสกัด *Melissa officinalis* L. มีค่าความแข็งต่ำที่สุดหลังจากการเก็บรักษา 3 วัน และหมูแผ่นปรุงสุกที่เติมสารสกัด *Rosmarinus officinalis* L. จะมีค่า TBARS ต่ำที่สุด

Biswas *et al*. (2012) ศึกษาศักยภาพการต้านออกซิเดชันของ สารสกัดจากใบ *Murraya koenigii* L. และ *Mentha spicata* และผลของสารสกัดต่อสีและความสามารถในการต้านออกซิเดชันต่อเนื้อหมูในระหว่างการเก็บแบบแช่เย็น พบว่า สารสกัดจากใบ *Murraya koenigii* L. ด้วยเอทานอลและสารสกัดจากใบ *Mentha spicata* ด้วยน้ำมีค่า DPPH และ ABTS สูง และสารสกัดจากใบ *Murraya koenigii* L. ด้วยเอทานอลมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด การใช้สารสกัดจากใบ *Murraya koenigii* L. ด้วยเอทานอลและสารสกัดจากใบ *Mentha spicata* ด้วยน้ำจะลดค่า L และ a แต่จะเพิ่มค่า b ในการเก็บรักษาที่ 4°C อย่างไรก็ตามค่า pH และค่า TBARS จะมีค่าสูงในตัวอย่างควบคุม

Kim *et al*. (2013) ศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชัน (Total phenolic content, TPC; 2,2-diphenyl-1-pycrylhydrazyl, DPPH; และ 2,2-azinobis-3 ethyl benxothiazoline-6-sulphonic acid, ABTS) และการยับยั้งจุลินทรีย์ (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, และ *Bacillus subtilis*) ของสารสกัดผักใบเขียวเพื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (4 องศาเซลเซียส, 12 วัน) พบว่า การเติมสารสกัดใบชาเขียวจะลดค่า TBARS และจุลินทรีย์ในเนื้อวัวโดยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้อีกทั้งการใช้สารสกัดผักใบเขียวยังช่วยรักษาความคงตัวของสีเนื้อสัตว์

Mariem *et al*. (2014) ศึกษาคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจาก *Nitraria retusa* และการใช้สารสกัดกับการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ พบว่าสารสกัดที่แตกต่างกัน 4 ชนิด (เมทานอล, เอทานอล, อะซีโตนและน้ำ) ของน้ำผลไม้ *N. retusa* ถูกนำมาทดสอบการต้านออกซิเดชันและการยับยั้งจุลินทรีย์โดยการสกัดด้วยน้ำจาก *N. retusa* จะมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด, ฟลาโวนอยด์และแอนโธไซยานินสูงสุดและแสดงถึงการกิจกรรมต้านออกซิเดชันและการยับยั้งจุลินทรีย์ที่สูงในการทดสอบทั้งหมด และผลการทดสอบสารสกัดในเนื้อวัวที่ความเข้มข้นสารสกัดร้อยละ 0.5-1.0 อุณหภูมิการเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียส นาน 9 วัน พบว่า ค่า TBARS และการเจริญของจุลินทรีย์ในเนื้อวัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่มีการเติมสารสกัด *N. retusa*)

Nurwantoro *et al*. (2015) ศึกษาการต้านออกซิเดชันของกระเทียม (*Allium sativum* L.) เพื่อป้องกันการหืนของเนื้อสัตว์โดยพิจารณา 3 ปัจจัย คือ ระดับสารสกัด (ร้อยละ 0, 3, 6, 9 และ 12 w/w), เวลาการเก็บรักษา (3, 6, 9 และ 12 วัน) และอุณหภูมิการแช่เย็น (3-5 องศาเซลเซียส) พบว่า มีความสัมพันธ์กันระหว่างค่า TBA กับปริมาณไขมันเนื้อสัตว์ ($p<0.05$) และสารสกัดกระเทียมสามารถยับยั้งการหืนของไขมันได้ในระหว่างการเก็บแบบแช่เย็น

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์

2.เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการใช้สารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

3.เพื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ใช้สารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.ทราบคุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันและสารยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ในสารสกัดหยาบและการใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

2.ทราบระยะเวลาการบรรจุและสภาวะในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่เติมสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์

3.เป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าของใบมะม่วงหิมพานต์ทำให้เกษตรกรที่ปลูกมีรายได้เพิ่มขึ้น

4.ทดแทนการใช้สารสังเคราะห์ในกุนเชียงและหมูยอทำให้ปลอดภัยต่อผู้บริโภค

5.ยืดอายุการเก็บรักษาและเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการในกุนเชียงด้วยการเติมสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์

วิธีการดำเนินการวิจัย

1.การเตรียมใบมะม่วงหิมพานต์

ใบมะม่วงหิมมะพานต์ซื้อจากตลาดในท้องถิ่น (จังหวัดนครศรีธรรมราช) นำมาล้างทำความสะอาดแล้วอบด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาด อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 6 ชั่วโมง (ความชื้นไม่เกินร้อยละ 10) จากนั้นบดด้วยเครื่องบดละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.25 มิลลิเมตร เก็บตัวอย่างที่ผ่านการคัดขนาดในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนที่จะนำมาสกัด

2.การเตรียมสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ด้วยอัลตร้าซาวด์เสริม

ชั่งตัวอย่าง (ข้อ 1) 5 กรัม ใส่ลงในขวดชมพู่ (100 มิลลิลิตร) เติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60 ปริมาตรต่อปริมาตร ปริมาณ 100 มิลลิลิตร นำไปสกัดด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิก (120 วัตต์, 45 กิโลเฮริร์ต) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 25 นาที (Chooklin, 2013) แล้วจึงแยกส่วนใสและตะกอนออกด้วยการกรองสุญญากาศ สารละลายที่ได้นำไปทำระเหยเอทานอลด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนสุญญากาศ (Rotary evaporator) คำนวณร้อยละผลได้ของสารสกัด (Izadiyan and Hemmateenejad, 2016) แล้วทำเป็นผงด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry)

3.คุณสมบัติทางเคมีและทางจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์

3.1 คุณสมบัติทางเคมีของสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์

นำผงสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ (ข้อ 2) มาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้ Folin Ciocalteu colorimetric method (mg gallic acid equivalent/g dry plant) (Hinneburg *et al*., 2006) และร้อยละกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัด (ดัดแปลงจาก Brand-Williams *et al*., 1995)

3.2 การยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์

นำผงสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ (ข้อ 3.1) มาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ (Minimum inhibitory concentration; MIC) โดยใช้เชื้อแบคทีเรียอินดิเคเตอร์ 3 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* TISTR 780, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 และ *Listeria monocytogenas* DMST 17303 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด trypticase broth supplemented with yeast extract (TSBYE)

การหาค่า MIC ของสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์โดยวิธี Agar dilution assay ดัดแปลงจากวิธีการของ NCCLS (2002) โดยเทอาหาร TSAYE ที่มีวุ้นร้อยละ 0.75 ซึ่งมีปริมาณเชื้อ 10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร ทับบนอาหารแข็ง NA ปริมาตร 30 มิลลิลิตร พักให้แห้งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ในตู้ปลอดเชื้อ แล้วทำการเจาะหลุมเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 8 มิลลิเมตร หลังจากนั้นหยดสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ที่ไม่เจือจางและที่ผ่านการเจือจางครั้งละ 2 เท่าด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (Serial two fold dilution) 9 ความเข้มข้น ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลุมที่มีอาหารกึ่งแข็ง 4 มิลลิลิตร ผสมเชื้อทดสอบ 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้เป็นค่า MIC โดยสังเกตการณ์เกิดบริเวณใส (Inhibition zone) แล้วคำนวณกิจกรรมการยับยั้งของสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ ดังสูตร

$$\text{กิจกรรมการยับยั้ง (AU/ml)} = \frac{1000\ \mu l \times A}{B\ \mu l}$$

เมื่อ A = ค่าการเจือจางสูงสุดที่ทำให้เกิดวงใส

B = ปริมาตรส่วนใสที่หยดลงในหลุม หรือที่หยดบนอาหาร

4.การเตรียมตัวอย่างกุนเชียง

4.1 สูตรมาตรฐานของกุนเชียง (กรมปศุสัตว์, 2546)

ผลิตภัณฑ์	**ส่วนประกอบ**	**ปริมาณ (ร้อยละโดย น.น)**
กุนเชียง	เนื้อหมู	67.00
	มันหมู	16.75
	เกลือ	1.84
	น้ำตาล	10.05
	น้ำ	4.19

4.2 ขั้นตอนการผลิตกุนเชียง

1.คลุกเนื้อหมู (เนื้อแดงล้วนๆ ไม่มีมัน) มันหมู (มันแก้มหรือมันสันหลัง) และเครื่องปรุงอื่นๆ

2.เติมน้ำและคลุกให้ทั่วจนเหนียว

3.บรรจุในไส้เทียมนาทูรินขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 22 มิลลิเมตร มัดปล้องความยาวปล้องละ 10 เซนติเมตร

4.อบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

5.ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ในกุนเชียง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomize Design, CRD) ใช้สารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ที่ 5 ระดับ ความเข้มข้น (ร้อยละ 0, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก) เปรียบเทียบกับสูตรควบคุม BHA และ BHT ร้อยละ 0.01 โดยน้ำหนัก เติมลงในส่วนผสมในหัวข้อ 4.2 และดำเนินการผลิตกุนเชียงตามขั้นตอนจนกระทั่งได้กุนเชียง เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นติดตามประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันโดยเก็บตัวอย่างที่เก็บรักษาในวันที่ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน มาวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี จุลินทรีย์ ดังนี้

5.1 ค่า Thiobarbituric acid reactive substance, TBARS (Witte *et al*., 1970)

5.2 ค่าสี โดยใช้เครื่องวัดสี บันทึกค่า L* (ความสว่าง), a* (แดง±เขียว) และ b* (เหลือง±น้ำเงิน)

5.3 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Singleton and Rossi, 1965)

5.4 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM, 2000)

6.ศึกษาอายุการเก็บรักษาของกุนเชียงที่เติมสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomize Design, CRD) ใช้ระดับของสารสกัดที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด (ข้อ 5) ในการผลิตกุนเชียง เปรียบเทียบกับชุดควบคุมมาศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์โดยบรรจุผลิตภัณฑ์กุนเชียงในถุงพลาสติกชนิดโพรลีโพรพิลีน (PP) ปิดผนึกแบบธรรมดาและสุญญากาศ และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องและแช่เย็น (4 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 21 วัน นำกุนเชียงมาทำการตรวจสอบคุณภาพและอายุการเก็บรักษาทุกๆ 7 วัน โดยตรวจสอบ ค่าสี ด้วยเครื่องวัดสี (L*, a* และ b*) aw, TBARS (Witte *et al*., 1970), จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM, 2000)

7.การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของทรีตเมนท์ด้วยวิธี Duncan’s new multiple ranger test (DMRT) ที่ระดับ

ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม SPSS 17.0 for Windows ทำการทดลองทั้งหมดจำนวน 2 ชุดการทดลอง (replication) แต่ละชุดการทดลองวิเคราะห์ผลอย่างน้อย 3 ซ้ำ

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1.การเตรียมและคุณสมบัติทางเคมีของสารสกัดของใบมะม่วงหิมพานต์

1.1 การเตรียมสารสกัด

ใบมะม่วงหิมพานต์ที่ผ่านการเตรียมด้วยกระบวนการอบแห้ง การบดและคัดขนาด การสกัดและการทำแห้งได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4 พบว่า ผลได้ของกระบวนการกระบวนการอบแห้ง การบดและคัดขนาด การสกัดและการทำแห้งเท่ากับร้อยละ 22.5, 28.3, 94.69 และ 1.26 ตามลำดับ

ตารางที่ 4 สมดุลมวลสารของกระบวนการเตรียมสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์

Process	Input	Output
Drying		
-Cashew leaves	1,000 g	225 g (22.5%)
-Moisture	74.9%	4.9%
Milling and sieving		
-Milled cashew leaves (mesh no.60)	225 g	63.68 g (28.3%)
Extraction (S/L ratio 1:50)		
-Ethanol (40%)	3,183.75 mL	2,336.87 mL (70.34%)
-Milled cashew leaves	63.68 g	
-Crude extract	846.88 g	801.91 g (94.69%)
Freeze dry		
-Crude extract	801.91 g	10.10 g (1.26%)

1.2.การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin- Ciocalteu (ดัดแปลงจาก Yingngam และคณะ, 2014) ของสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่า ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 500 μg/mL สามารถวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกได้เท่ากับ 219.58±2.35 mg GAE/g DW เมื่อนำผลการทดลองมาเทียบกับงานวิจัยของ Razari และคณะ (2008) ซึ่งได้ทำการศึกษาการสกัดสารสำคัญจากยอดมะม่วงหิมพานต์

ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ พบว่า สารสกัดของเมทานอลมีปริมาณสารฟีนอลิกเท่ากับ 307.33±0.11 mg GAE/g ซึ่งมีค่าอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับผลการทดลองในครั้งนี้ กล่าวคือใบมะม่วงหิมพานต์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เทียบออกมาในรูปของกรดแกลลิกในปริมาณที่สูง จากงานวิจัยของ Kongkachuichai และคณะ (2015) ซึ่งได้ศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากผักพื้นบ้านภาคใต้ พบว่า ยอดมะม่วงหิมพานต์มีปริมาณสารฟีนอลิกสูงกว่าผักพื้นบ้านชนิดอื่นๆ ที่ได้ทำการศึกษา จึงเหมาะที่จะนำมารับประทานคู่กับอาหารเพื่อเสริมคุณค่าทางโภชนาการให้กับผู้บริโภค

1.3.การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

จากการวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ดัดแปลงจาก Sompong และคณะ, 2011 และ Tangkanakul และคณะ, 2006) ของสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่า ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 20 μg/mL สามารถวิเคราะห์ค่า Scavenging ability (%) ได้เท่ากับร้อยละ 55 จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์มีความสามารถในการจับอนุมูลอิสระได้ดี เพราะที่ความเข้มข้นต่ำๆ ก็สามารถจับอนุมูลอิสระได้เกินร้อยละ 50 และเมื่อนำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแอสคอบิกพบว่ามีค่าเท่ากับ 1,205.68±3.12 mg vitamin C/g DW ปริมาณดังกล่าวแสดงถึงความสามารถในการจับอนุมูลอิสระของสารสกัดเมื่อเทียบกับวิตามินซีซึ่งพบว่ามีความใกล้เคียงกัน

2. คุณสมบัติทางจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 40 เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *L.monocytogenes* DMST 17303, *S. aureus* TISTR 1466 และ *E. coli* TISTR 780 โดยใช้วิธี agar well diffusion และ พิจารณาความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียจากขนาดของบริเวณใสที่เกิดขึ้น (inhibition zone) ดังแสดงผลในตารางที่ 5 และรูปที่ 2

ตารางที่ 5 ขนาดของบริเวณใสที่เกิดจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์

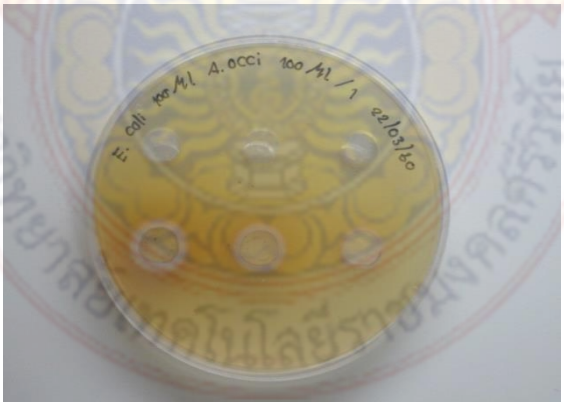
สายพันธ์เชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณเชื้อ (ไมโครลิตร)	ปริมาณสารสกัด (ไมโครลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส (มม.) ความเข้มข้น (ร้อยละปริมาตรต่อปริมาตร)		
			1	3	5
L. monocytogenase DMST 17003	50	100	12.5±0.71^{b}	15.5±2.12^{ab}	17.5±3.54^{a}
		200	12.0±0.00^{c}	16.5±0.71^{b}	18.5±0.71^{a}
	100	100	12.0±0.00^{b}	14.0±0.00^{a}	15.0±0.00^{a}
		200	12.5±0.71^{c}	16.0±0.00^{b}	19.5±0.71^{a}
S. aureus TISTR 1466	50	100	12.0±0.00^{b}	14.0±0.00^{a}	15.5±0.71^{a}
		200	12.5±0.71^{b}	16.0±1.41^{a}	17.0±0.00^{a}
	100	100	12.0±0.00^{b}	14.0±0.00^{a}	15.5±0.71^{a}
		200	12.5±0.71^{c}	15.0±0.00^{b}	17.5±0.71^{a}
E.coli TISTR 780	50	100	12.0±0.00^{c}	14.0±0.00^{b}	16.0±0.00^{a}
		200	12.5±0.71^{c}	15.0±0.00^{b}	18.0±0.00^{a}
	100	100	12.0±0.00^{c}	14.25±0.35^{b}	16.0±0.00^{a}
		200	12.75±0.35^{c}	16.25±0.35^{b}	18.25±0.35^{a}

จากการทดลอง พบว่า สารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 40 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 3 และ 5 มีผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธ์ คือ *L. monocytogenase* DMST 17003, *S. aureus* TISTR 1466 และ *E.coli* TISTR 780 พบว่าประสิทธิภาพจากสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดจะแปรผันตรงต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย คือ *L. monocytogenase* DMST 17003, *S. aureus* TISTR 1466 และ *E.coli* TISTR 780 โดยที่ความ

เข้มข้นของสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ร้อยละ 5 จะมีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เป็นดังนี้ 19.5±0.71, 17.5±0.71 และ 18.25±0.35 มิลลิเมตร ตามลำดับ ผลการทดลองเมื่อนำมาเปรียบเทียบในงานวิจัยของ Dahake A.P. *et al* (2009) ได้ใช้สารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70 สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ได้เป็นดังนี้ 20 และ 11 มิลลิเมตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์มีผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* มีค่าใกล้เคียงกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับการยับยั้งของเชื้อ *E. coli* สารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70 จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่สูงกว่า อย่างไรก็ตามสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้

L. monocytogenase DMST 17003

S. aureus TISTR 1466



E.coli TISTR 780

รูปที่ 2 การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโดยสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 40

ผลการทดลองจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 3 และ 5 มีประสิทธิภาพสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ ดังนั้นจึงนำสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ที่

ความเข้มข้นร้อยละ 1 เพื่อเป็นตัวแทนสำหรับการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration , MIC) ด้วยวิธี Agar dilution assay ดัดปลงจากวิธีการของ NCCLS (2002) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303, *S. aureus* TISTR 1466 และ *E. coli* TISTR 780 ของสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 40 โดยมีกิจกรรมยับยั้งเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 40 ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)

เชื้อจุลินทรีย์	**ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)**								
	5.0	2.5	1.25	0.625	0.3125	0.156	0.078	0.039	0.019
L. monocytogenes DMST 17303	+	+	-	-	-	-	-	-	-
S. aureus TISTR 1466	+	+	-	-	-	-	-	-	-
E.coli TISTR 780	+	+	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ + มีฤทธิ์ยับยั้ง
- ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

3.ผลของสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ต่อคุณภาพกุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษา

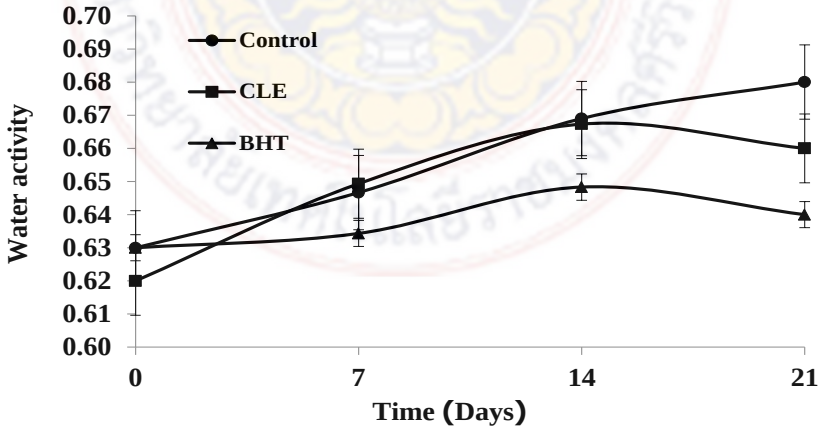
3.1 ปริมาณน้ำอิสระและค่าสี

ปริมาณน้ำอิสระในกุนเชียงเพิ่มขึ้นกับการเพิ่มขึ้นของระยะเวลาในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 21 วัน โดยปริมาณน้ำอิสระในกุนเชียงของตัวอย่างที่ทดสอบมีค่าอยู่ระหว่าง 0.62 – 0.68 (รูปที่ 3)

ค่า L* ของกุนเชียงลดลงขึ้นกับการเพิ่มขึ้นของระยะเวลาในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 21 วัน (รูปที่ 4A) ค่า L* ของกุนเชียงที่เติมสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์มีค่าต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม เนื่องมาจากสารสีที่อยู่ในใบมะม่วงหิมพานต์โดยเฉพาะคลอโรฟีลล์ (Li-wen et al., 2012) และพอลีฟีนอลในสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ถูกออกซิไดส์ด้วย

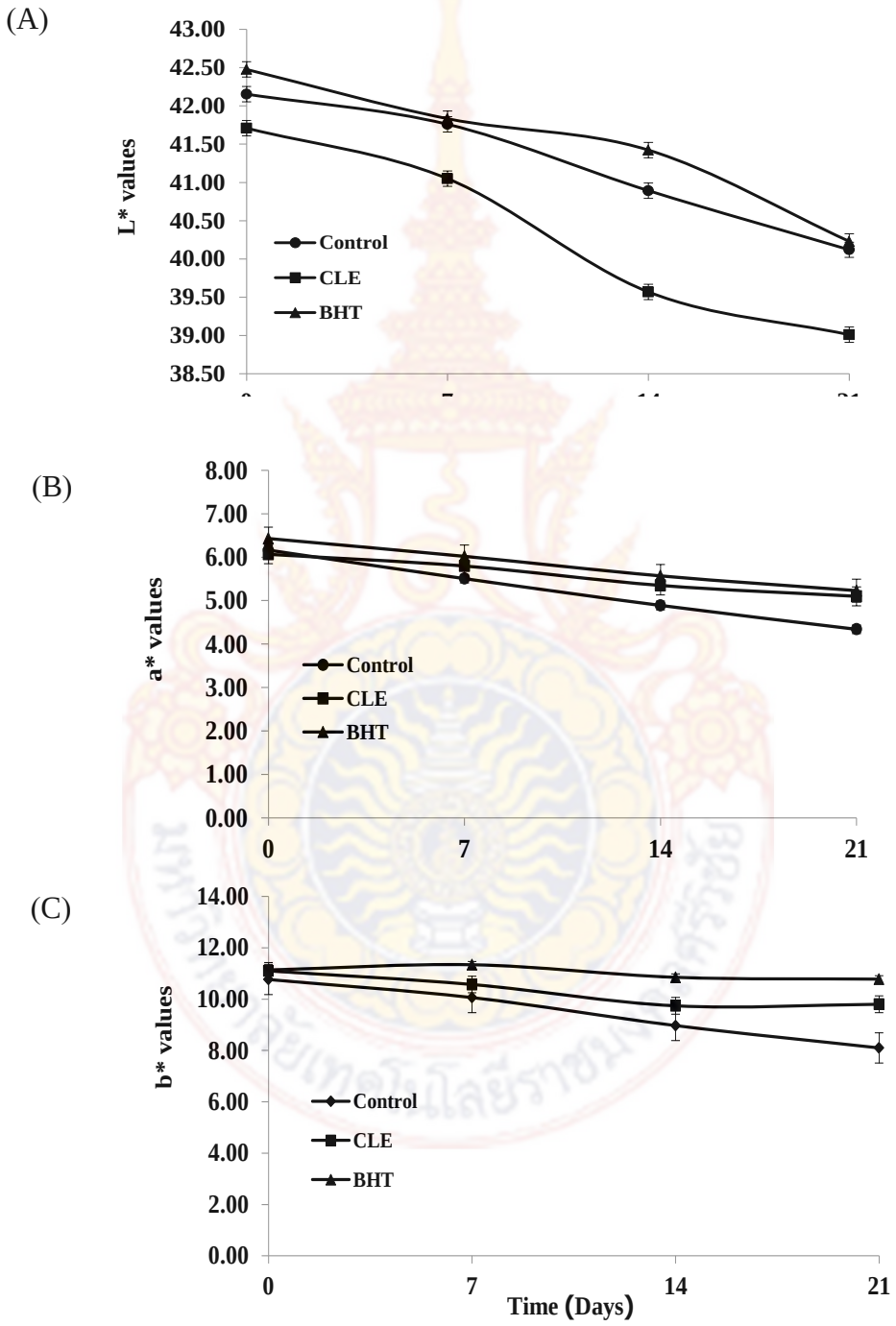
พอลีฟีนอลออกซิเดสได้เป็นควิโนนซึ่งเมื่อควบแน่นจะเป็นสารในรูปสีเข้มจึงมีผลต่อสีของผลิตภัณฑ์ (Lui et al., 2009)

ค่า a* ของกุนเชียงลดลงกับการเพิ่มขึ้นของระยะเวลาในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4ºC เป็นเวลา 21 วัน (รูปที่ 4B) ค่า a* ของกุนเชียงที่เติมสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์และ BHT จะมีค่าสูงกว่าตัวอย่างควบคุมระหว่างการเก็บรักษาในวันที่ 7, 14 และ 21 โดยตัวอย่างกุนเชียงที่เติมสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์จะสามารถป้องกันการลดลงของค่าเสียได้ในระหว่างการเก็บรักษา ความเป็นสีแดงของผลิตภัณฑ์เนื้อเกิดจากฮีโมโกลบินและไมโอโกลบิน การออกซิเดชันของไขมันจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัฑ์เนื้อสัตว์ การป้องกันการเกิดออกซิเดชันโดยใช้สารสกัดธรรมชาติจะช่วยลดการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ โดยสารประกอบฟีนอลิกจะแสดงการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในอาหาร (Zhang et al., 2013) ดังนั้นสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ซึ่งมีสารประกอบฟีนอลิกจึงสามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงสีในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้



รูปที่ 3 ปริมาณน้ำอิสระในกุนเชียงเติมสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4ºC

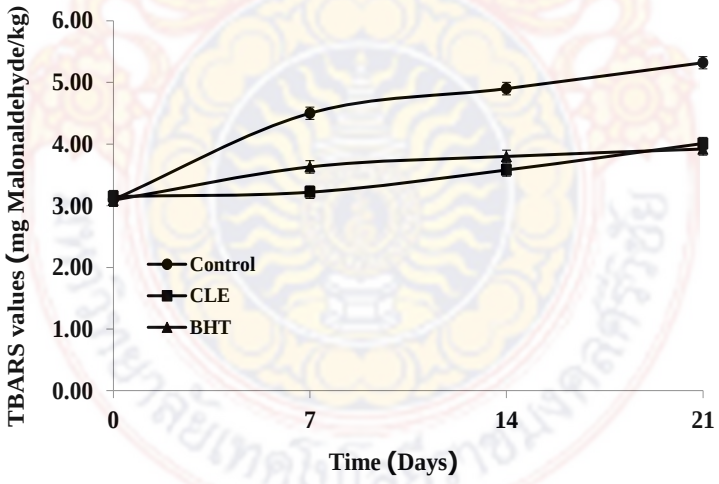
ตัวกุนเชียงที่เติมสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์จะแสดงการลดลงของค่า b* กับการเพิ่มขึ้นของระยะเวลาในระหว่างการเก็บรักษา (รูปที่ 3C) โดยตัวกุนเชียงที่เติมสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์จะมีค่าสูงกว่าตัวอย่างควบคุม เนื่องมาจากสารสีที่อยู่ในใบมะม่วงหิมพานต์



รูปที่ 4 ค่าสีของกุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาทีอุณหภูมิ 4°C เวลา 21 วัน

3.2 ค่าไทโอบาบิวไทริกแอซิด (TBARS)

ค่าไทโอบาบิวไทริกแอซิดใช้วิเคราะห์ผลิตภัณฑ์อันดับสองของการเกิดออกซิเดชันไขมันโดยวัดในรูปของมาลอนอัลดีไฮด์ซึ่งจะแสดงการเกิดการเปลี่ยนแปลงกลิ่นรสที่เกิดจากการออกซิไดซ์ของไขมัน รูปที่ 5 แสดงผลของสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ในกุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 21 วัน ค่า TBARS ของตัวอย่างทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นกับการเพิ่มขึ้นของระยะเวลาการเก็บรักษา ค่า TBARS ของตัวอย่างที่เติมสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์จะมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่เติม BHT นั้นแสดงว่าสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์จะสามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ดีในผลิตภัณฑ์กุนเชียง สารต้านออกซิเดชันธรรมชาติจะหยุดยั้งการเกิดอนุมูลอิสระได้ด้วยสารฟีนอลิกเช่นเดียวกับการใช้สารสกัดจากใบผักกาดที่แสดงการต้านออกซิเดชันในอาหารเนื่องจากปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่สูง (Lee et al., 2010) นอกจากนี้ Zhang et al. (2016) ศึกษาผลของกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และออกซิเดชันของสารสกัดพริกต่อผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ พบว่า ผลการต้านออกซิเดชันของสารสกัดสามารถยับยั้งค่า TBARS ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ได้ อีกทั้งการศึกษาของ Zhang et al. (2013) พิจารณาสารสกัดจากเครื่องเทศที่เติมในกุนเชียง พบว่า สารสกัดสามารถยับยั้งการเพิ่มขึ้นของค่า TBARS ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น

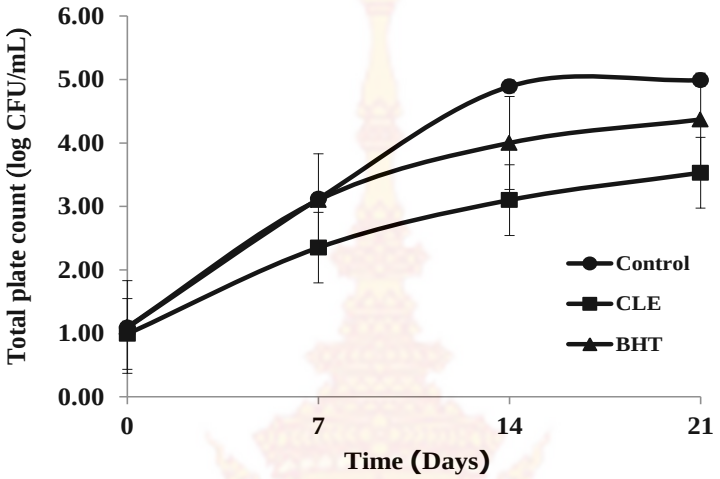


รูปที่ 5 ค่าไ 21 วัน

3.3 ปริมาณจุลินทรีย์

ในการศึกษานี้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างกุนเชียงจะเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น (รูปที่ 6) โดยปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างกุนเชียงที่เติมสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์มีค่าเท่ากับ 0.99 – 3.53 log CFU/g ซึ่งมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม (1.09 – 4.99 log CFU/g) งานวิจัยที่ผ่านมาแสดงว่าสารประกอบฟีนอลิกจากพืชที่มาจากแหล่งต่างๆ จะสามารถ

ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคซึ่งมาจากการแสดงกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของฟีนอลิกทั้งหมด (Shan et al., 2007) กิจกรรมการต้านจุลินทรียของสารประกอบฟีนอลิกเกิดจากการทำให้ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์แตกจนเซลล์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้อีก (Shan et al., 2007)



รูปที่ 6 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของกุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เวลา 21 วัน

สรุปผลการทดลอง

1.สารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ เท่ากับ 219.58±2.35 mg GAE/g DW และ 1,205.68±3.12 mg vitamin C/g DW ตามลำดับ

2.สารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 40 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 3 และ 5 มีผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธ์ คือ *L. monocytogenase* DMST 17003, *S. aureus* TISTR 1466 และ *E.coli* TISTR 780

3.กุนเชียงที่เติมสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 21 วัน โดยปริมาณน้ำอิสระในกุนเชียงมีค่าอยู่ระหว่าง 0.62 – 0.68 ค่า L* a* และ b* ของกุนเชียงลดลงกับการเพิ่มขึ้นของระยะเวลาในระหว่างการเก็บรักษา ส่วนปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างกุนเชียงที่เติมสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์มีค่าเท่ากับ 0.99 – 3.53 log CFU/g ซึ่งมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม (1.09 – 4.99 log CFU/g)

เอกสารอ้างอิง

กรมปศุสัตว์. 2546. การฝึกอบรมเทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์. กลุ่มวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์, จังหวัดปทุมธานี.

กิติศาสตร์ กระบวน, นิติพงศ์ จิตรีโภชน์, ธีรพร กงบังเกิด, กมลวรรณ โรจน์สุนทรกิตติ และวรสิทธิ์ โทจำปา. มปป. ผลของสารสี *Monasous* จากปลายข้าวในการยับยั้งการหืนในผลิตภัณฑ์

ชุติกาญจน์ ศักดิ์สิงห์. 2551. การศึกษาสมบัติต้านอนุมูลอิสระในผักพื้นบ้าน. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

นภาพร ดีสนาม และ เพรชรัตน์ บัววงศ์. มปป. ผลของการเติมสารสกัดแอนโธไซยานินส์จากรำข้าวเหนียว ดำต่อการเหม็นหืนของผลิตภัณฑ์กุนเชียง. วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร ฉบับพิเศษ การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ครั้งที่ 5.

ประสาร สวัสดิ์ชิตัง และสุพร นุชดำรง. 2545. การพัฒนาวิธีการอย่างต่อเนื่องเพื่อวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชันของน้ำผลไม้. โครงการวิจัยด้านวิชาการ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ปุณณาณี สัมภวะผล. 2554. การสกัด องค์ประกอบ คุณสมบัติบางประการ และการประยุกต์ใช้ของสารสกัดแทนนินจากวัสดุเศษเหลือของพืช. รายงานวิจัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ยุทธนา พิมลศิริผล. 2553. เทคนิคการประเมินอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร. สาขาวิชาเทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ และ ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม. มปป. การใช้สารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซเดชันธรรมชาติในผลิตภัณฑ์หมูแผ่นและกุนเชียงดิบ. โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วนิดา ศรีอานร์. 2545. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาหร่ายทะเลบางชนิดในการยับยั้งแบคทีเรียและการเป็นสารกันหืน. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง) สาขาผลิตภัณฑ์ประมง ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิชชุดา สังข์แก้ว. 2553. ผลของสารสกัดจากใบกระโดนบกต่อลักษณะทางกายภาพ ประสาทสัมผัสและการเกิดออกซิเดชันของไส้กรอกแฟรงค์เฟอร์เตอร์. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 3/1 (พิเศษ): 153-156.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2539. จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร. โอเคส พริ้นติ้ง เฮ้าส์, กรุงเทพฯ.

วัลลิ์รุกขบุปผชาติ. 2556. ถิ่นกำเนิดมะม่วงหิมพานต์. ตามรอยพระบาทบรมราชกุมารี โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.

ศิรินทร สุวรรณรงค์. 2544 การศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารกันหืนของสารละลายโทโคเฟอรอลสกัดจากรำข้าว (*Oryza sativa*). วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจง, จันทนา บุณยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ Radical Scavenging Agents, กรุงเทพฯ: พี.เอส.พริ้นท์.

Ajileye, O.O., Obuotor, E.M., Akinkunmi, E.O. and Aderogba, M.A. 2015. Isolation and characterization of antioxidant and antimicrobial compounds from *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae) leaf extract. Journal of King Saud University Science, 27: 244-252.

Arul doss, V. and Thangavel, K.P. 2011. Antioxidant and antimicrobial activity using different extracts of *Anacardium occidentale* L. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology, 2: 436-443.

BAM. 2000. Bacteriological Analytical Manual. 8th ed. Available Source: http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM070875.

Biswas, A.K, Chatli, M.K. and Sahoo, J. 2012. Antioxidant potential of curry (*Murraya koenigii* L.) and mint (*Mentha spicata*) leaf extracts and their effect on colour and oxidative stability of raw ground pork meat during refrigeration strorage.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science Technology. 28(1), 25-30.

Chooklin, S. 2013. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from brown rice and their antioxidant activities. Kasetsart Journal (Natural Science), 47(6): 864- 873.

Chotimarkon, C., Benjakul, S. and Silalai, N. 2008. Antioxidant components and properties of five long-grained rice bran extracts from commercial available cultivars in Thailand. Food Chemistry 111:636-841.

http://www.cashewthai.com.

Iqbal, S. and Bhanger, M.I. 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. Food Chemistry, 100: 246-254.

Izadiyan, P. and Hemmateenejad, B. 2016. Multi-response optimization of factors affecting ultrasonic assisted extraction from Iranian basil using central composite design. Food Chemistry, 190: 864-870.

Kim, S.J., Cho, A.R. and Han, J. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. Food Control, 29: 112-120.

Kongkachuichai, R., Chareonsiri, R., Yakoh, K., Kringkasemsee, A. and Insung, P. 2015. Nutrients value and antioxidant content of indigenous vegetables from southern Thailand. Food Chemistry, 173: 838-846.

Lara, M.S, Gutierrez, J.I, Timon, M. and Andres, A.I. 2011. Evaluation of two natural extracts (*Rosmarinus officinalis* L. and *Melissa officinalis* L.) as antioxidants in cooked pork patties packed in MAP. Meat Science, 88: 481-488.

Lee, M.A., Choi, J.H., Choi, D.J., Choi, Y.S., Han, D.J., Kim, H.Y. and Shim, S.Y. 2010. The antioxidative properties of mustard leaf (*Brassica juncea*) kimchi extracts on refrigerated raw ground pork meat against lipid oxidation. Meat Science 84(3): 498 – 504.

Li-wen, Z., Guo-cheng, Z., Li, Z., Rui-wu, Y., Chun-bang, D. and Yong-hong, Z. 2012. A study on photosynthesis and photo-response charecteristics of three Salvia species. Acta Prataculturae Sinica 21(2): 70-76.

Marieum, C., Sameh, M., Nadhem, S., Soumaya, Z., Najiba, Z. and Raoudha, E.G. 2014. Antioidants and antimicrobial properties of the extracts from *Nitraria retusa* and their applications to meat product preservation. Industrial Crops and Products, 55: 295-303.

Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D., Dominguez, J.M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M.J. and Parajo, J.C. 2001. Natural antioxidants from residual sources. Food Chemistry, 72(2): 145-171.

NCCLS. 2002. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Baterial Isolated from Animals; Approved Standard-2nd ed. M31-A2. 6: 22.

Nurwantoro, Bintoro, V.P, Legowo, A.M, Purnomoadi, A. and Setiani, B.E. 2015. Garlic antioxidant (*Allium sativum* L.) to prevent meat rancidity. International Symposium on Food and Agro-biodiversity (ISFA2014), Procedia Food Science, 3: 137-141.

Shah, M.A., Bosco, S.J.D. and Mir, S.A. 2014. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat product. Meat Science, 98: 21-33.

Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D. and Corke, H. 2007. The in vitrio antibacterial activity of dietary spice and medical herb extracts. International Journal of Microbiology 117: 112 – 119.

Shen, Z., Palmer, M.V., Ting, S.T. and Faircloug, R.J. 1997. Pilot scale extraction and fractionation of rice bran oil using supercritical carbon dioxide. Journal of agricultural and food chemistry. 45: 4540-4544.

Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimerty of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology Viticulture, 16: 144-158.

Sompong,R.,Siebenhandl-Ehn, S., Linsberger-Marin, G. and Berghofer, E. 2011.

Physicochemical and antioxidantive properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. Food Chemistry. 124: 132-40.

Tan, Y.P. and Chan, E.W.C. 2014. Antioxidant, antityrosinase and antibacterial properties of fresh and processed leaves of *Anacardium occidentale* and *Piper betle*. Food Bioscience, 6: 17-23.

Tangkanakul, P., Trakoontivakorn, G., Auttaviboonkul, P., Niyomvit, B. and Wongkrajang, K. 2006. Antioxidant Activity of Northern and Northeastren Thai Foods Cantaining Indigenous Vegetables. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 40 (Suppl.): 47-58.

Valero M., recrosio N., Saura D., Munoz N.. Martic N. and Lizama V. 2007. Effect of ultrasonic treatments in orange juice processing. Journal of food engineering. 80:509-516.

Vilkhu K.,Mawson R., Simons L. and Bated D. 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry. Innovative Food Science and Emerging technologies. 9: 161-169.

Witte, V.C., Krause, F.G. and Bailey, E.M. 1970. A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. Journal of Food Science, 35: 582-585.

Yingngam, B., Monschein, M. and Brantner, A. 2014. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Cratoxylum formosum* ssp. Leaves using central composite design and evaluation of its protective ability against H_2O_2-induced cell death. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 7 (Suppl 1): 497-505.

Zhang, L., Lin, Y.H., Leng, X.J., Huang, M. and Zhou, G.H. 2013. Effect of sage *(Salvia officinalis)* on the oxidative stability of Chinese-style sausage during refrigerated storage. Meat Science 95: 145-150.

Zhang, H., Wu, J. and Guo, X. 2016. Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality. Food Science and Human Wellness 5: 39-48.

Zigoneanu, I.G., Williams, L., Xu, Z. and Sabliov, C.M. 2008. Determination of antioxidant component in rice bran oil extracted by microwave-assisted method. Bioresource Technology. 99:4910-4918.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์

1.การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (ดัดแปลงจาก Yingngam *et al*, 2014)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. อุปกรณ์เครื่องแก้ว
2. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น Libra S12
3. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
4. เอทานอลบริสุทธิ์ (absolute ethanol) 99.9%
5. กรดแกลลิก (gallic acid monohydrate) จากบริษัท Sigma-Aldrich
6. โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)
7. สารโฟลิน (Folin-Ciocalteau reagent)

การเตรียมสารเคมี

1. สารโฟลินความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร (10% v/v Folin-Ciocalteau reagent) นำสารละลายโฟลินมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเป็นร้อยละ 10 โดยปริมาตร เช่นใช้สารละลายโฟลิน 10 มิลลิลิตรผสมกับน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร เป็นต้น
2. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (7.5% w/v) ชั่ง Na_2CO_3 anhydrous มา 75 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
3. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม/ลิตร โดยชั่งกรดแกลลิก 0.025 กรัม ละลายในเอทานอลบริสุทธิ์และปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร จากนั้นนำสารละลายมาตรฐาน กรดแกลลิกเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม/ลิตร มาเจือจางด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ให้มีความเข้มข้นเป็น 0, 50, 100 และ 150 มิลลิกรัม/ลิตร

วิธีการทดลอง

Sample 0.2 ml

↓

Distilled water 2.5 ml

↓

10% Folin-Ciocalteau reagent 0.2 ml

↓

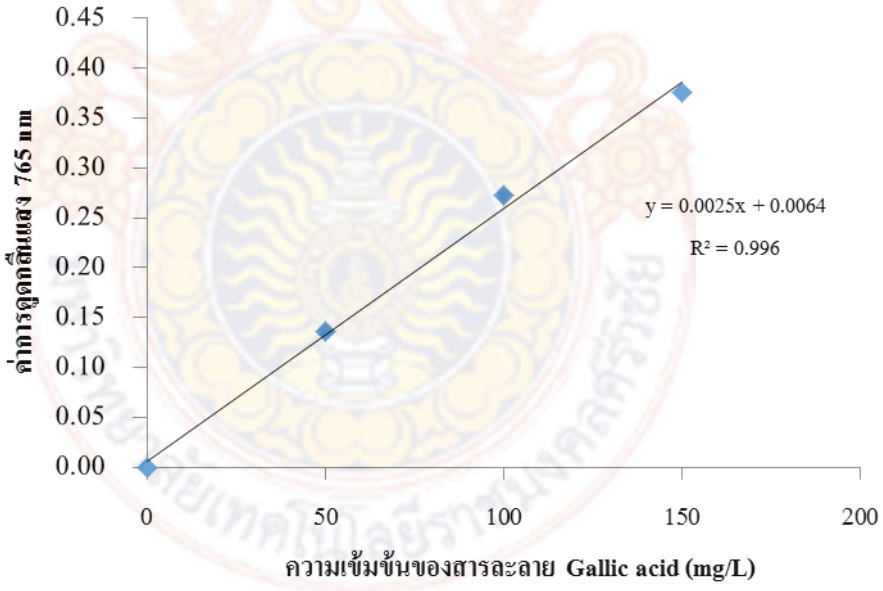
7.5% Na_2CO_3 2 ml

↓

Keep in the dark 90 min

↓

Measurement of absorbance with spectrophotometer at OD 765 nm



รูปที่ 7 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกด้วยวิธี Folin-ciocalteu method

การคำนวณ ปริมาณสารฟีนอลิกในตัวอย่างสารสกัด

$$\text{mg GAE/g DW} = \left(\frac{OD765 - 0.0064}{slope}\right)\frac{dilution \times volume}{1000 \times W}$$

W คือ น้ำหนักของตัวอย่าง (g)

Slope คือ ความชันที่ได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ในที่นี้คือ 0.0025

Volume คือ ปริมาตรของสารสกัด (ml)

Dilution คือ ค่าการเจือจางตัวอย่างก่อนนำมาวิเคราะห์

2.การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ดัดแปลงจาก Sompong *et al.* 2011 และ Tangkanakul *et al.*, 2006)

1. วิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานด้วยวิธี DPPH

1.1 อุปกรณ์และสารเคมี

1) สารละลายเอทานอล 99.9%

2) L-Ascorbic acid

3) เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Libra S12)

4) DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 0.1 mM (Sigma-Aldrich) (ชั่ง DPPH 0.0039 กรัม ละลายในเอทานอล 100 มิลลิลิตร)

5) อุปกรณ์เครื่องแก้ว

1.2 วิธีวิเคราะห์

1) ชั่งแอสคอร์บิก 0.025 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร จะได้ความเข้มข้นเป็น 1,000 mg/l จากนั้นนำมาเจือจางเป็น 10 เท่า จะได้ความเข้มข้นเป็น 100 mg/l จากนั้นจึงนำมาเจือจางเป็น 10, 20, 30, 40 และ 50 mg/l นำตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นมา 0.3 มิลลิลิตร

2) ปิเปต DPPH 0.1 mM ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร

3) นำมาเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 40 นาที ในที่มืด

4) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

5) นำค่าวัดการดูดกลืนแสงไปคำนวณตามสูตรร้อยละกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

สูตรร้อยละกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

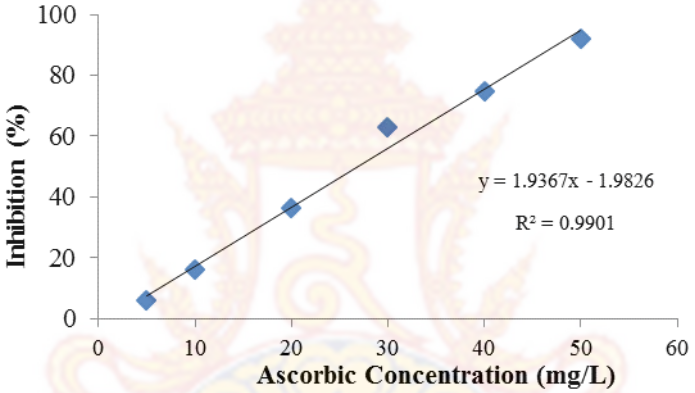
$$Scavenging \quad ability(\%) = \left[\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] x100$$

หมายเหตุ :

A_o = ethanol 0.3 ml + DPPH 1.5 ml

A_1 = sample 0.3 ml + DPPH 1.5 ml

6) นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดังรูปที่ 8



รูปที่ 8 กราฟมาตรฐานความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของวิตามินซีที่ความเข้มข้น 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัม/ลิตร

2. วิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างผักพื้นบ้านภาคใต้ด้วยวิธี DPPH

2.1 อุปกรณ์และสารเคมี

1) สารละลายเอทานอล 99.9%

2) ตัวอย่างสารสกัดจากผักพื้นบ้าน

3) เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Libra S12)

4) DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 0.1 mM

5) อุปกรณ์เครื่องแก้ว

2.2 วิธีวิเคราะห์

1) ปิเปตตัวอย่างสารละลายผักพื้นบ้านภาใต้ ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร

2) ปิเปต DPPH 0.1 mM ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร

3) นำมาเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 40 นาที ในที่มืด

4) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

5) นำค่าวัดการดูดกลืนแสงไปคำนวณตามสูตรร้อยกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

สูตรร้อยละกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

$$Scavenging \quad ability(\%) = \left[\frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \right] x100$$

หมายเหตุ :

A_o = ethanol 0.3 ml + DPPH 1.5 ml

A_1 = sample 0.3 ml + DPPH 1.5 ml

A_2 = ethanol 1.5 ml + sample 0.3 ml

หากตัวอย่างไม่มีสีก็อาจไม่ต้องทำ A_2

การคำนวณ

ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เมื่อเทียบในรูปของกรดแอสคอบิก

$$\text{mg vitamin C/g DW} = \left(\frac{\%Inhibition + 1.9826}{slope} \right) \frac{dilution \times volume}{1000 \times W}$$

W คือ น้ำหนักของตัวอย่างผักผง (g)

Slope คือ ความชันที่ได้จากกราฟมาตรฐานกรดแอสคอบิก ในที่นี้คือ 1.9367

Volume คือ ปริมาตรของสารสกัดทั้งหมด (mL)

Dilution คือ ค่าการเจือจางตัวอย่างก่อนนำมาวิเคราะห์

3.การวิเคราะห์ TBARS

สารเคมี

1. 15%TCA ใช้สำหรับการเตรียม TBA solution และไว้ละลายตัวอย่าง โดยชั่ง trichloroacetic acid 15 g ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 ml

2. 20 mM TBA solution ต้องการเตรียม 50 ml โดยการละลายใน 15% TCA ด้วยการนำ 15%TCA จากข้อ 1 มา 50 ml เติม 2-Thiobarbituric acid 0.144 g ละลายจนหมด เก็บไว้ในตู้เย็นใช้ได้ประมาณ 1 เดือน
3. การเตรียมตัวอย่าง นำกุนเชียงมา 5 g ละลายด้วย 15%TCA 15 ml จากข้อ 1 ปั่นผสมให้เข้ากัน

วิธีการทดลอง

นำสารละลายตัวอย่างมา 1 ml

↓

เติม TBA solution 2.0 ml

↓

ปั่นผสม (vortex)

↓

ต้มในน้ำเดือด 15 นาที

↓

ทำให้เย็นโดยการผ่านน้ำก็อก 15 นาที

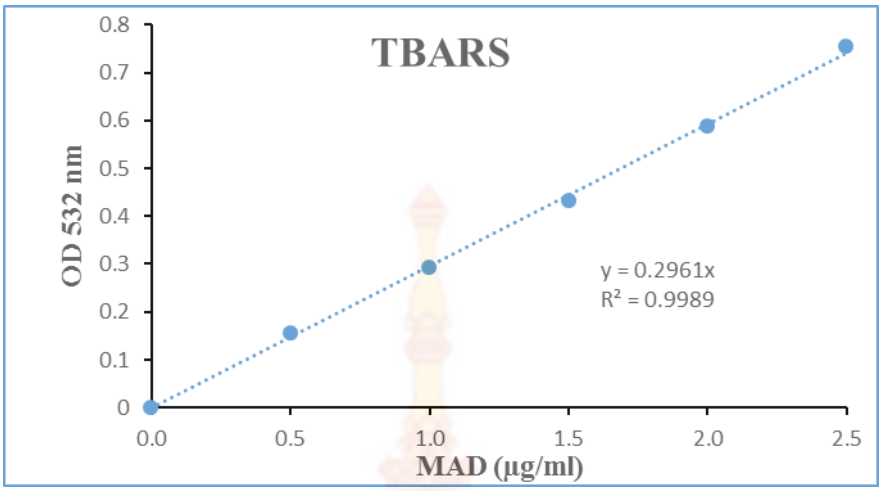
↓

หมุนเหวี่ยงที่ 4,500 rpm 15 นาที

↓

OD 532 n

นำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของมาโลนไดออลดีไฮด์ โดยการใช้สาร 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) เป็นสารมาตรฐาน



รูปที่ 9 กราฟมาตรฐานของมาโลนไดออลดีไฮด์

4.การทดสอบจุลินทรีย์ด้วย agar well diffusion

วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี

1. เชื้อจุลินทรีย์

   Listeria monocytogenes DMST 17303

   Staphylococcus aureus TISTR 1466

   Escherrichia coli TISTR 780

2. วัตถุดิบ (สารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์)
3. อุปกรณ์
   - ทิปเหลืองขนาด 200 ไมโครลิตร
   - ทิปฟ้าขนาด 1,000 ไมโครลิตร
   - ออโต้ปิเปตขนาด 100 ไมโครลิตร
   - ออโต้ปิเปตขนาด 200 ไมโครลิตร
   - ออโต้ปิเปตขนาด 1,000 ไมโครลิตร
   - บิ๊กเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 5 ใบ
   - กระตวงขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 1 อัน
   - ขวดปรับปริมาตร
   - แท่งแก้วคน จำนวน 1 อัน
   - ช้อนตักสาร
   - หลอดหยด
   - หลอดทดลอง

- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- ค็อกบอยเลอร์ขนาด 9 มิลลิเมตร
- เพลทพลาสติก

4. สารเคมี/อาหารเลี้ยงเชื้อ
   - เอทานอล
   - อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Nutrient broth (NB)
   - อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Nutrient agar (NA)
5. เครื่องมือที่ใช้
   - หม้อนึ่งความดันไอ
   - ตู้อบชนิดควบคุมอุณหภูมิ
   - ตู้ปลอดเชื้อ

วิธีการ

1.1 การเตรียมแบคทีเรียอินดิเคเตอร์ (Indicator Microorganisms)

ถ่ายเชื้อ *Listeria monocytogenes* DMST 17303, *Escherrichia coli* TISTR 780 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 จำนวน 10 ไมโครลิตร จาก glycerol stock ลงในอาหาร Nutrient broth ปริมาตร 4 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นดูดเชื้อ 100 ไมโครลิตร ลงในอาหาร Nutrient broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 ชั่วโมง จากนั้นดูดเชื้อ 50 ไมโครลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient soft agar

1.2 การทดสอบความสามารถในการทดสอบสารสกัดยับยั้งเชื้อแบคทีเรียอินดิเคเตอร์ด้วยวิธี agar well diffusion (ดัดแปลงจาก นิลเนตร อัศวะศิริจินดา, 2553) ละลายสารสกัด ในสารละลายเอทานอล 40 % ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 1 3 และ 5 % v/v นำสารละลายปริมาตร 100 และ 200 ไมโครลิตร ใส่ลงหลุมในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารกึ่งแข็ง (soft agar) 4 มิลลิลิตร ที่ผสมเชื้อแบคทีเรียอินดิเคเตอร์ *Listeria monocytogenes* DMST 17303, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 และ *Escherrichia coli* TISTR 780 จำนวน 50 และ 100 ไมโครลิตรเทบนอาหารแข็งปริมาตร 30 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง โดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสการยับยั้ง (inhibition zone) ที่เกิดขึ้น ทำการทดลองทั้งหมด 2 ซ้ำ

ภาคผนวก ข การเผยแพร่ผลงานวิจัย

Supasit Chooklin and Parichat Ninup-patham. 2018. Potential use of cashew leaves extract for the quality improvement in Chinese sausage (Kun-Chiang). The 9th Rajamangala University of Technology International Conference, 1-3 August 2018, Rua Rasada Hotel, Trang, Thailand.