

เสถียรภาพการเกิดออกซิเดชันของน้ำสลัดที่ใช้น้ำมันบริโภคปีบเย็นชนิดผสม  
ที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.

นางสาวมาสิริ มโนมัยวดี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร  
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2555

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)  
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

OXIDATIVE STABILITY OF SALAD DRESSING CONTAINING BLENDED COLD-  
PRESSED EDIBLE OIL ENRICHED WITH CRUDE FROM SPANISH PLUM LEAF

*Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.

Miss Masiri Manomaiwajee

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2012

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์ เสถียรภาพการเกิดออกซิเดชันของน้ำสลัดที่ใช้ น้ำมัน

บริเวณคืบเย็นชนิดผสมที่เติมสารสกัดจากใบ

มะกอกน้ำ *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.

โดย นางสาวมาสิริ มโนมัยวจี

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก อาจารย์ ดร.ศศิگانต์ กู้พงษ์ศักดิ์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยรับนี้เป็นส่วน  
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พาสวดี ประทีปะเสน)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(อาจารย์ ดร.ศศิگانต์ กู้พงษ์ศักดิ์)

..... กรรมการ  
(อาจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(อาจารย์ ดร.ณัฐวิณี เนียมศิริ)

มาสิริ มโนมัยวดี : เสถียรภาพการเกิดออกซิเดชันของน้ำสลัดที่ใช้ น้ำมันบริโภคบีบเย็นชนิดผสมที่เติม สารสกัดจากใบมะกอกน้ำ *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. (OXIDATIVE STABILITY OF SALAD DRESSING CONTAINING BLENDED COLD-PRESSED EDIBLE OIL ENRICHED WITH CRUDE FROM SPANISH PLUM LEAF *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.) อ.ที่ปริกษวิทยานิพนธ์หลัก : อ.ดร.ศศิกันต์ กู้พงษ์ศักดิ์, 92 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากใบมะกอกน้ำ *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. ศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารจากใบมะกอกน้ำ หาอัตราส่วนของน้ำมันผสมที่เหมาะสม และนำไปปรับปรุงคุณภาพน้ำสลัดที่ใช้ น้ำมันผสม ให้มีความเสถียรต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยขั้นแรกศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากใบมะกอกน้ำด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยแปรอุณหภูมิ (5°C อุณหภูมิห้อง และ 65°C) และเวลา (30 นาที และ 12 ชั่วโมง) ที่ใช้ในการสกัด วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สมบัติการต้านออกซิเดชัน (แสดงในรูปของค่า ความเข้มของสารที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (EC<sub>50</sub>) และค่า antiradical efficiency (AE)) และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่า ภาวะในการสกัดมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการต้านออกซิเดชัน (p≤0.05) พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 468-628 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/มิลลิลิตร การสกัดสารจากใบมะกอกน้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เป็นภาวะที่มีค่า AE มากที่สุด ซึ่งมีค่า EC<sub>50</sub> น้อยที่สุด จึงถูกเลือกให้เป็นภาวะที่เหมาะสมในการสกัดในงานวิจัยครั้งนี้ และในสารสกัดที่ได้ พบว่าประกอบด้วย gallic acid epigallocatechin catechin และ gallocatechin ขั้นที่สอง เป็นการศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันรำข้าวและน้ำมันทานตะวันบีบเย็น พบว่า สัดส่วนที่สอดคล้องกับคำแนะนำของสมาคมหัวใจแห่งสหรัฐอเมริกา มีค่าเท่ากับ 4:1 และในขั้นสุดท้ายเป็นการประยุกต์ สารสกัดจากใบมะกอกน้ำในปริมาณ 0 200 400 800 และ 1600 ppm ลงในน้ำสลัดที่ใช้ น้ำมันผสมที่มีสัดส่วนเหมาะสม ศึกษาเสถียรภาพในการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4°C พบว่าตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา น้ำสลัดทุกสูตรมีค่าดัชนีความเสถียรของอิมัลชัน ค่า firmness และ ค่า index of viscosity ไม่เปลี่ยนแปลง จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราไม่เกินกำหนดในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.1402-2540) มีการเปลี่ยนแปลงทางด้านสี (ค่า L\* b\* ลดลง และ a\* เพิ่มขึ้น) เมื่อพิจารณาโครงสร้างทางจุลภาค ของน้ำสลัดทุกสูตร พบว่า ขนาดของหยดน้ำมันมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บเพิ่มขึ้น จากค่าความชื้นของสมการทางคณิตศาสตร์ ของค่า Total oxidation (TOTOX) พบว่าเมื่อเติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำเพิ่มขึ้น ค่าความชื้นของสมการมีค่าลดลง บ่งบอกได้ถึงอัตราการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำสลัดมีค่าลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ ทั้งนี้เมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์ น้ำสลัดทุกสูตรยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด มากกว่า 80% และ DPPH radical scavenging activity เหลืออยู่เฉลี่ย 33% ผลการทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส พบว่า น้ำสลัดที่เติมสารจากใบมะกอกน้ำ 400 ppm เป็นสูตรที่ผู้บริโภคยอมรับมากที่สุด

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร.....ลายมือชื่อ.....  
 สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร.....ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษวิทยานิพนธ์หลัก.....  
 ปีการศึกษา 255..... 5.....

## 5372304323 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORDS : OXIDATIVE STABILITY / SALAD DRESSING / BLENDED OIL / SPANISH PLUM LEAF EXTRACT

MASIRI MANOMAIWAJEE: OXIDATIVE STABILITY OF SALAD DRESSING CONTAINING BLENDED COLD-PRESSED EDIBLE OIL ENRICHED WITH CRUDE FROM SPANISH PLUM LEAF *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.

ADVISOR: SASIKAN KUPONGSAK, Ph.D., 92 pp.

The purpose of this study was to find optimum extraction condition of Spanish plum leaves *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz., to determine antioxidant properties, to find the optimum ratio of blended oil, and to apply the extract in salad dressing containing blended oil for improving oxidative stability. The first step of this study, Spanish plum leaves were extracted with water (1:10, weight/volume) by varying extraction temperature (5°C, room temperature (RT) and 65°C) and extraction time (30 minutes and 12 hours). It was found that the extraction condition (temperature and time) significantly ( $p \leq 0.05$ ) influenced the total phenolic content and antioxidant activity (as expressed in half maximal effective concentration ( $EC_{50}$ ) and antiradical efficiency (AE)) of the extract. The obtained total phenolic content was in the range 468-628  $\mu\text{g}$  gallic acid equivalent/ml. The highest antioxidant efficiency, with the lowest  $EC_{50}$ , was found by extracting at room temperature for 30 minutes. All extraction conditions were classified into the very high antiradical efficiency group. With the high total phenolic content and the highest antioxidant efficiency, room temperature and 30 minutes was selected for optimum temperature and time for extraction of Spanish plum leaves in this study. The extract contained gallic acid, epigallocatechin, catechin and galocatechin. In the second step of this study, the fatty acid profiles of cold-pressed sunflower and rice bran oils were adjusted to the recommended ratio by the American Heart Association. The optimum ratio of rice bran and sunflower oils was 4:1. In the final step, Spanish plum extracts in varying concentrations (0, 200, 400, 800 and 1600 ppm) were added in salad dressings containing blended oils. The results from stability studies after 4 week of storage at 4°C showed that all salad dressing had unchanged emulsion stability index, firmness, and index of viscosity. The amounts of total viable plate count, yeast and mold were lower than the recommended microbial standard values of the Thai Industrial Standard (TIS.1402-2540). The color values changed ( $L^*$ ,  $b^*$  decreased and  $a^*$  increased). Results of microstructure demonstrated that the oil droplets were increased during storage. From the slopes of the mathematical models of the total oxidation (TOTOX) values, it was found that when the leaf-extract concentration increased, the slopes of the model decreased. This indicated that the rate of oxidation of salad dressing was decreased with the increasing of the amounts of leave extracts. After 4 weeks of storage, all salad dressing contained more than 80% total phenolic content and 30% average DPPH radical-scavenging activity. The results from sensory evaluation showed that salad dressing with 400 ppm extract was the most acceptance from consumers.

Department : .....Food Technology..... Student's Signature.....

Field of Study : .....Food Technology..... Advisor's Signature.....

Academic Year : ...2012.....

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ศศิگانต์ กู้พงษ์ศักดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ คำสอน ข้อคิดเห็น กำลังใจ ตลอดการทำงานวิจัย และกรุณา สละเวลาอันมีค่า ช่วยตรวจทาน แก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ รวมทั้ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พาสวดี ประทีปะเสน อาจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช และอาจารย์ ดร. ณัฐฐวี เนียมศิริ ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และให้คำแนะนำ ในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟลาวเวอร์ ฟูด สำหรับความอนุเคราะห์ให้น้ำมันทานตะวันบีบเย็น ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกคน ที่ช่วยสอน แนะนำ ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวก ในการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์และห้องวิจัย ขอขอบคุณรุ่นพี่ นิสิตปริญญาเอก รุ่นพี่ เพื่อน และรุ่นน้อง นิสิตปริญญาโท เพื่อนร่วมสถาบัน รวมถึงผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องที่ไม่ได้เอ่ยนาม สำหรับมิตรภาพไมตรี และ ความช่วยเหลือในรูปแบบต่างๆ จนทำให้ งานวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ท้ายที่สุดขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ผู้มีพระคุณ ขอขอบคุณญาติ พี่ น้อง และ เพื่อน สำหรับ ความรัก การดูแลเอาใจใส่ การสนับสนุนในการศึกษา ความช่วยเหลือ และกำลังใจ ในทุกๆด้านแก่ผู้วิจัยอย่างดียิ่งตลอดมาจนสำเร็จการศึกษา

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูป.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์.....	3
2.1 มะกอกน้ำ.....	3
2.2 น้ำมันและองค์ประกอบของกรดไขมัน.....	5
2.3 ระบบอิมัลชันและการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา.....	8
2.3.1 อิมัลชันและการเกิดอิมัลชัน.....	8
2.3.2 การเปลี่ยนแปลงของอิมัลชันระหว่างการเก็บรักษา.....	10
2.4 การเสื่อมคุณภาพของอาหารที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ และการยับยั้ง.....	13
2.4.1 ปฏิกริยาออกซิเดชัน.....	13
2.4.2 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดออกซิเดชันในอาหาร.....	14
2.5 การวัดความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน.....	19
2.6 น้ำสลัด และการประยุกต์สารต้านออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์อาหาร.....	22
บทที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	24
3.1 ขอบเขตงานวิจัย.....	24
3.2 วัตถุประสงค์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	24
3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	25
3.4 สารเคมี.....	25
3.5 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	26
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	30

4.1 สมบัติการต้านออกซิเดชันและภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากใบมะกอกน้ำ.....	30
4.1.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จากสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ.....	30
4.1.2 ค่าความเข้มของสารที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (EC <sub>50</sub> ) และ ค่า antiradical efficiency (AE) และการจัดกลุ่มประสิทธิภาพการต้านอนุมูล ของสารสกัดจากใบมะกอกน้ำที่ภาวะต่างๆ.....	31
4.1.3 ชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ.....	33
4.2 องค์ประกอบของกรดไขมันอิ่มตัว (SFA) กรดไขมันไม่อิ่มตัวตำแหน่งเดียว (MUFA) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (PUFA) ของน้ำมันรำข้าว (RBO) น้ำมันทานตะวันบีบเย็น (SFO) และน้ำมันผสมอัตราส่วนต่างๆ.....	34
4.3 สมบัติทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และลักษณะทางประสาทสัมผัส ของน้ำสลัดสูตรต่างๆในระหว่างการเก็บรักษา.....	36
4.3.1 ดัชนีเสถียรภาพของอิมัลชันของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา.....	36
4.3.2 ค่า firmness และ ค่า Index of viscosity ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	37
4.3.3 ค่าสีของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา.....	39
4.3.4 โครงสร้างจุลภาคของน้ำสลัดสูตรต่างๆระหว่างการเก็บรักษา.....	39
4.3.5 ค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา.....	44
4.3.6 ค่า p-Anisidine (AV) ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา.....	45
4.3.7 ค่า TOTOX ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา.....	46
4.3.8 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา.....	48
4.3.9 ค่า DPPH radical scavenging activity (%) ของน้ำสลัดที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ และเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	48
4.3.10 สมบัติทางจุลชีววิทยาของน้ำสลัดที่เก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	51
4.3.6 การประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำสลัดสูตรต่างๆ.....	52



บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	53
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	53
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	54
รายการอ้างอิง.....	55
ภาคผนวก.....	61
ภาคผนวก ก.....	62
ภาคผนวก ข.....	73
ภาคผนวก ค.....	76
ภาคผนวก ง.....	79
ภาคผนวก จ.....	83
ภาคผนวก ฉ.....	90
ภาคผนวก ช.....	91
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	92

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้จากการสกัดสารจากใบมะกอกน้ำที่ ภาวะต่างๆ.....	31
4.2 ค่าความเข้มของสารที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (EC <sub>50</sub> ) และค่า antiradical efficiency (AE) และการจัดกลุ่มประสิทธิภาพการต้านอนุมูล ของ สารสกัดจากใบมะกอกน้ำที่ภาวะต่างๆ.....	32
4.3 ชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ ที่ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที และ 12 ชั่วโมง จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC.....	33
4.4 องค์ประกอบของกรดไขมันอิ่มตัว (SFA) กรดไขมันไม่อิ่มตัวตำแหน่งเดียว (MUFA) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (PUFA) ของน้ำมันรำข้าว (RBO) น้ำมันทานตะวันบีบเย็น (SFO) และน้ำมันผสมอัตราส่วนต่าง.....	35
4.5 ดัชนีเสถียรภาพของอิมัลชันของน้ำสลัด ที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำสูตร ต่างๆ.....	36
4.6 ค่า firmness (g) ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	37
4.7 ค่า index of viscosity (g.sec) ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	38
4.8 ค่า L* ของน้ำสลัด ที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำในปริมาณต่างๆ ที่ ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ.....	40
4.9 ค่า a* ของน้ำสลัด ที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำในปริมาณต่างๆ ที่ ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ.....	41
4.10 ค่า b* ของน้ำสลัด ที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำในปริมาณต่างๆ ที่ ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ.....	42
4.11 ค่าเปอร์ออกไซด์ (mEqv.O <sub>2</sub> /kg) ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษา เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	44

ตารางที่	หน้า	
4.12	ค่า p-Anisidine (AV) ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	45
4.13	สมการทางคณิตศาสตร์ และค่า R <sup>2</sup> ของค่า TOTOX ของน้ำสลัด ที่ผ่านการเก็บรักษา เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	47
4.14	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครกรัมกรดแกลลิก/มิลลิลิตร) ของน้ำสลัดที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ และเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	49
4.15	ค่า DPPH radical scavenging activity (%) ของน้ำสลัดที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ และเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	50
4.16	ปริมาณจุลินทรีย์ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ที่ระยะเวลาเก็บรักษาต่างๆ ที่อุณหภูมิ 4 °C.....	51
4.17	คะแนนการยอมรับของผู้บริโภคในการทดสอบทางประสาทสัมผัสต่อน้ำสลัดสูตรต่างๆ.....	52
ก.1	ปริมาณของสารสกัดจากใบมะกอกน้ำในการวิเคราะห์ค่า DPPH radical-scavenging activity.....	67
ค.1	องค์ประกอบ (%) กรดไขมันของน้ำมันรำข้าว (RBO) และน้ำมันทานตะวันบีบเย็น (SFO).....	78

## สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	มะกอกน้ำ.....	3
2.2	โครงสร้างโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์.....	5
2.3	โครงสร้างของฟอสฟาทีดิลคอลีน.....	9
2.4	กระบวนการทางกายภาพที่ทำให้เกิดการเสียสภาพของอิมัลชัน.....	10
2.5	การเกิดชั้นครีมของอิมัลชัน.....	11
2.6	การรวมตัวบางส่วนของอนุภาค.....	12
2.7	โครงสร้างของสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์.....	17
2.8	โครงสร้างโมเลกุลของสารในกลุ่ม Catechins.....	19
2.9	ปฏิกิริยาของ DPPH ต่อสารต้านออกซิเดชัน.....	20
2.10	ปฏิกิริยาของ p-anisidine ต่อแอลดีไฮด์.....	21
4.1	โครงสร้างทางจุลภาคของน้ำสลัด ที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำปริมาณต่างๆ โดยเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ด้วยกำลังขยาย 40 เท่า.....	43
4.2	ค่า TOTOX ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	46
ก.1	กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก.....	64
ข.1	โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน.....	75
ข.2	โครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์สารสกัดจากใบมะกอกน้ำ.....	75

## บทที่ 1

### บทนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคส่วนใหญ่คำนึงถึงการบริโภคเพื่อสุขภาพมากขึ้น ทำให้อาหารเพื่อสุขภาพ หรือ health food ได้รับความสนใจ รวมถึงอาหารที่มีน้ำมันเป็นองค์ประกอบหลัก เช่น น้ำสลัด ที่มีปริมาณน้ำมัน 30-60% ผู้บริโภคมักคำนึงถึงคุณค่าทางโภชนาการ ซึ่งแปรตามปริมาณกรดไขมัน ประเภทไม่อิ่มตัว ก่อนตัดสินใจซื้อ น้ำมันรำข้าวและน้ำมันทานตะวันจัดเป็นน้ำมันสุขภาพในกลุ่ม oleic-linoleic มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง อีกทั้งยังอุดมไปด้วยสารในกลุ่มไฟโตสเตอรอล กลุ่มโทโคฟีรอล และกลุ่มโทโคไตรอีนอล (นิธิยา รัตนานนท์ , 2548; พันทิพา จันทวัฒน์ และคณะ, 2548) น้ำมันที่ผ่านกระบวนการบีบเย็น จะสามารถคงสภาพสารที่มีคุณค่าจากธรรมชาติในน้ำมัน ได้สูง (Siger และคณะ, 2007) แต่อย่างไรก็ตามน้ำมันที่มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง มีความคงตัวต่ำ มีโอกาสเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และอนุมูลอิสระได้ง่าย โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมัน จะเกิดขึ้นที่พันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกับออกซิเจน เกิดพันธะเปอร์ออกไซด์ ที่หมู่  $\alpha$ -methylene (-CH=CH-) ยิ่งถ้ามีพันธะคู่มากปฏิกิริยายังมีโอกาสเกิดมากขึ้นด้วย ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น เป็นปฏิกิริยาที่ เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง เกิดสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ที่สามารถสลายตัวเป็นสาร โมเลกุลเล็กๆ เช่น แอลดีไฮด์ คีโตน อัลเคน และแอลกอฮอล์ มีผลทำให้มีกลิ่น และ/หรือรสชาติของ อาหารผิดปกติไป การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำมันจะส่งผลถึงคุณภาพของน้ำสลัด ทำให้อายุการเก็บรักษาน้ำสลัดค่อยๆเสื่อมลง เช่น อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะปรากฏ ซึ่งทำให้อายุการเก็บรักษาน้ำสลัดสั้นลงด้วย การแก้ปัญหาดังกล่าวทำได้โดยการเติมสารต้าน ออกซิเดชันจากธรรมชาติ ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำสลัดให้มีความเสถียรต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน มีการศึกษาสมบัติในการต้านออกซิเดชันของสารจากมะกอกน้ำ *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. พบว่าสารจากมะกอกน้ำประกอบด้วยสารในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ และฟีนอลิก ที่มี ประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันได้ (ดิษยา พรพัฒน์นางกุล , 2548; อธิยา เรืองจักรเพชร และ ณะบุญย์ สัจจาอนันตกุล , 2550 และทิษัมพร พิมพ์แก้ว , 2553) สารพวกฟลาโวนอยด์มี ประสิทธิภาพเป็น free radical scavenger เนื่องจากสามารถให้ alcoholic hydrogen atom แก่ อนุมูลอิสระได้ (Madsen, 2000)

ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประยุกต์ สารจากใบมะกอกน้ำ *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. เป็นสารต้านออกซิเดชันธรรมชาติในน้ำสลัดที่ใช้น้ำมันผสมระหว่าง น้ำมันรำข้าวและน้ำมันทานตะวันบีบเย็นเป็นน้ำมันพื้นฐาน เพิ่มความเสถียรต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างเก็บรักษา อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มคุณค่าทางอาหาร เพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบ และเป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือกให้แก่ผู้บริโภคที่ต้องการรักษาสุขภาพได้อีกด้วย

## บทที่ 2

### วารสารปริทัศน์

#### 2.1 มะกอกน้ำ

มะกอกน้ำ หรือ Spanish plum (แสดงในรูปที่ 2.1) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz อยู่ในวงศ์ ELAEOCARPACEAE เป็นไม้ยืนต้นพื้นเมืองของประเทศไทย สูงประมาณ 8-10 เมตร ชอบขึ้นใกล้ลำน้ำ ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงแบบบันไดเวียนห่างๆ รูปไข่กลับ กว้าง 2-3 เซนติเมตร ยาว 5.5-8.5 เซนติเมตร ปลายมน โคนใบสอบแคบ ขอบใบหยักมนตื้นๆ และห่างๆ ใบเกลี้ยง ก้านใบสีแดง ยาว 1-2 เซนติเมตร เส้นแขนงใบจำนวน 7-9 คู่ ออกเรียงสลับไม่เป็นระเบียบ ปลายเส้นแขนงโค้งไปจรดเส้นถัดไป เส้นย่อยเป็นร่างแหชัดเจน ใบอ่อน สีเขียวอ่อน ใบแก่ สีเขียวเข้ม และก่อนร่วงเปลี่ยนเป็นสีส้มแดง (ลินา ผู้พัฒนพงศ์, 2530)



รูปที่ 2.1 มะกอกน้ำ

ที่มา: [http://www.uru.ac.th/~botany/detail.php?botany\\_id=7-53000-001-](http://www.uru.ac.th/~botany/detail.php?botany_id=7-53000-001-)

0151&field=&value=&page=16

การศึกษาสมบัติต่างๆของสารสกัดจากใบมะกอกน้ำและการประยุกต์

ดิษยา พรพัฒน์นางกุล (2548) วิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชัน ของสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. และใบมะกอกฝรั่ง *Spondias cytherea* Sonn. ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method โดยสกัดด้วยเอทานอล 75% ปริมาตรต่อปริมาตร พบว่าสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. มีสมบัติในการต้านออกซิเดชันได้มากกว่า

อริยา เรืองจักรเพชร และ ธนะบุญย์ สัจจาอนันตกุล (2550) วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ และกิจกรรมต้านออกซิเดชันของผลมะกอกน้ำ *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. ที่มีอายุการเก็บเกี่ยว 5 6 7 และ 8 เดือนหลังติดดอก พบว่ามะกอกน้ำอายุ 6 เดือนหลังติดดอกมีปริมาณฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิก และความสามารถต้านออกซิเดชันมากที่สุดเมื่อเทียบกับอายุการเก็บเกี่ยวอื่น โดยมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ และกรดแกลลิกมากที่สุด

ทิษฐ์พร พิมพ์แก้ว (2553) ศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. ในน้ำมันผสมสำหรับทอด ที่มีส่วนผสมระหว่างน้ำมันคาโนลาและน้ำมันปาล์ม โอเลอีนในอัตราส่วน 25:75 (v/v) โดยแปรปริมาณสารสกัดจากใบมะกอกน้ำเป็น 0 200 400 600 และ 800 ppm พบว่าน้ำมันผสมที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกปริมาณ 800 ppm มีเสถียรภาพต่อการทอดมันฝรั่งแผ่นที่อุณหภูมิ 180 °C มากที่สุด เมื่อศึกษาเสถียรภาพในการเก็บรักษาน้ำมันผสมที่เติมสารจากใบมะกอกน้ำ ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าน้ำมันผสมดังกล่าวมีเสถียรภาพในการเก็บรักษาดีที่สุด โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกคงเหลืออยู่ในน้ำมันมากที่สุด และมีอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 24 เดือน

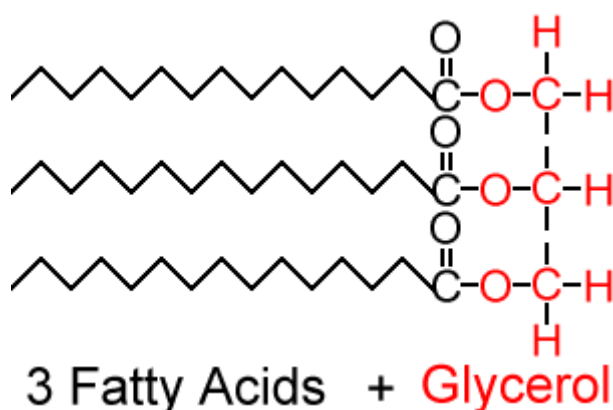
Nanasombat et al. (2012) ได้ศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และวิธี Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี agar disk diffusion ของสารสกัดจากผลไม้พื้นเมืองในประเทศไทยด้วยเมทานอล ได้แก่ พิลังกาสา มะเฟือง มะกอกน้ำ มะขวิด มะขามป้อม และมะดัน พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อม พิลังกาสา และมะกอกน้ำ มีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันมากที่สุด สารสกัดจากมะดัน มะกอกน้ำและมะขามป้อมมีสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella Typhimurium* *Staphylococcus aureus* และ *Rhodotorula glutinis* โดยสามารถทำให้เกิดบริเวณใส (Clear zone)



## 2.2 น้ำมันและองค์ประกอบของกรดไขมัน

**น้ำมันหรือไขมัน** (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

น้ำมันหรือไขมัน เป็นสารในกลุ่มลิพิด (lipid) ประเภทกลีเซอไรด์หรือเอซิลกลีเซอรอล ประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งไตรกลีเซอไรด์ประกอบด้วยกลีเซอรอล 1 โมเลกุล จับกับกรดไขมัน 3 โมเลกุล ด้วยพันธะเอสเทอร์ แสดงในรูปที่ 2.2 โดยทั่วไปไตรกลีเซอไรด์แบ่งออกเป็น 2 ประเภทขึ้นอยู่กับชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ ไตรกลีเซอไรด์ธรรมดา (simple triglyceride) คือไตรกลีเซอรอลที่ประกอบด้วยกรดไขมันชนิดเดียวกัน และไตรกลีเซอไรด์ผสม (mixed triglyceride) คือไตรกลีเซอรอลที่ประกอบด้วยกรดไขมันต่างชนิดกัน ชนิดและปริมาณกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ เป็นตัวกำหนดสมบัติของไขมันหรือน้ำมันแต่ละชนิดให้มีความแตกต่างกัน



รูปที่ 2.2 โครงสร้างโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์

ที่มา: <http://www.familyhealthavenue.com/wp-content/uploads/2009/04/triglyceride-structure.gif>

### กรดไขมัน

กรดไขมันเป็นกรดอินทรีย์สายตรง มีสูตรโมเลกุลเป็น  $R-COOH$  ประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิล ( $-COOH$ ) หนึ่งหมู่ มีสมบัติเป็นไฮโดรฟิลิก (hydrophilic) และหมู่แอลคิล ( $R-$ ) มีสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) พันธะระหว่างคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลของกรดไขมัน มีทั้งที่เป็นพันธะเดี่ยวและพันธะคู่ กรดไขมันที่มีพันธะเดี่ยวทั้งหมดเรียกว่า กรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid, SFA) ส่วนกรดไขมันที่มีพันธะคู่ หนึ่ง ตำแหน่งหรือมากกว่าเรียกว่า กรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) น้ำมันและไขมันแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันที่ชนิด และปริมาณกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุล ไตรกลีเซอไรด์ กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักในโมเลกุล ไตรกลีเซอไรด์ของไขมันส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันอิ่มตัว ในขณะที่น้ำมันประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์

### กรดไขมันอิ่มตัว

กรดไขมันอิ่มตัว สูตรทางเคมีคือ  $C_nH_{2n}O_2$  เป็นกรดไขมันที่มีพันธะระหว่างคาร์บอนอะตอมในสายโมเลกุลเป็นพันธะเดี่ยวทั้งหมด ไม่สามารถรับไฮโดรเจนอะตอมได้อีก มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาเคมีน้อย มีจุดหลอมเหลวสูงกว่ากรดไขมันชนิดอื่นที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมเท่ากัน แต่มีพันธะคู่ในโมเลกุล ตัวอย่างได้แก่ butyric acid (C4:0) lauric acid (C12:0) myristic acid (C14:0) palmitic acid (C16:0) stearic acid (C18:0) arachidic acid (C20:0) behenic acid (C22:0) lignoceric acid (C24:0) เป็นต้น

### กรดไขมันไม่อิ่มตัว

กรดไขมันไม่อิ่มตัว เป็นกรดไขมันที่มีพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลบางตำแหน่ง สามารถเติมไฮโดรเจนอะตอมเข้าไปในโมเลกุลได้อีก มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาค่อนข้างมาก สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยๆตามจำนวนพันธะคู่ ได้ดังนี้

ก. กรดไขมันไม่อิ่มตัวตำแหน่งเดียว (monounsaturated fatty acid, MUFA)

มีสูตรทางเคมีทั่วไปเป็น  $C_nH_{2n-1}COOH$  เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ในโมเลกุลเพียง 1 พันธะ ตัวอย่างกรดไขมันชนิดนี้ได้แก่ palmitoleic acid (C16:1) oleic acid (C18:1) และ eicosenoic acid (C20:1) เป็นต้น

ข. กรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (polyunsaturated fatty acid, PUFA)

กรดไขมันชนิดนี้จะมีพันธะคู่ในโมเลกุลมากกว่า 1 พันธะ ส่วนใหญ่จะมีคาร์บอนในโมเลกุล 18-22 อะตอม และมีพันธะคู่ 2-6 พันธะ ตัวอย่างกรดไขมันชนิดนี้ได้แก่ linoleic acid (C18:2) และ linolenic acid (C18:3)

### น้ำมันรำข้าว

น้ำมันรำข้าว เป็นน้ำมันที่สกัดมาจากรำข้าวใหม่ ประกอบด้วย กรดไขมันอิ่มตัว 15-20% กรดไขมันไม่อิ่มตัว 80-85% (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548) น้ำมันรำข้าวมีกรดไขมันอิสระสูงมาก เพราะรำข้าวมีเอนไซม์ไลเปสสูง ประโยชน์ของน้ำมันรำข้าวต่อสุขภาพเกิดจากส่วนประกอบชนิด สารที่ซาฟอนิไฟต์ไม่ได้ ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในรำข้าว ได้แก่ แกมมาโอไรซานอล ( $\gamma$ -oryzanol) โทโคฟีรอล (tocopherol) โทโคไตรอีนอล (tocotrienol) ไฟโตสเตอรอล (phytosterol) โพลีฟีนอล (polyphenol) และสควอลีน (squalene) ซึ่งสารเหล่านี้มีเสถียรภาพต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน และมีคุณสมบัติเป็น micronutrient (พันทิพา จันทวัฒน์ และคณะ 2548)

### น้ำมันทานตะวัน

น้ำมันทานตะวัน สกัดได้จากเมล็ดของทานตะวัน (*Helianthus annuus* L.) ประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัว 15% กรดไขมันไม่อิ่มตัวประมาณ 85% ซึ่งส่วนใหญ่เป็น oleic-linoleic จัดเป็นน้ำมันสุขภาพ (Healthy oil) เหมาะสำหรับเป็นส่วนผสมในน้ำสลัด มีกรดไขมันจำเป็นสำหรับมนุษย์ และพบสารที่ซาฟอนิไฟต์ไม่ได้ ได้แก่ โทโคฟีรอล ไฟโตสเตอรอล สเตอรอล และแคโรทีนอยด์ หลังทำให้เป็นน้ำมันบริสุทธิ์แล้วจะทำให้สารต่างๆ เหล่านี้ลดลงเหลือ 30-40% (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548; พันทิพา จันทวัฒน์ และคณะ, 2548)

จากการศึกษาประโยชน์ของการใช้น้ำมันผสม พบว่า เกศณี ลิขิตเกียรียงไกร และฐาปนีย์ จูติ - ถาวร (2549) ได้ศึกษาเสถียรภาพของ น้ำมันทอดที่ผลิตจาก น้ำมันผสม ระหว่างน้ำมันพืชชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันทานตะวัน น้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม และน้ำมันเมล็ดฝ้าย สำหรับการทอดมันฝรั่งแบบน้ำมันท่วม โดย กำหนดอัตราส่วนของน้ำมันผสมให้มี อัตราส่วนของ SFA ต่อ MUFA ต่อ PUFA ใกล้เคียง 1:1:1 หรือ MUFA ต่อ SFA ใกล้เคียง 2:1 ซึ่งสอดคล้องกับคำแนะนำของสมาคมหัวใจแห่งสหรัฐอเมริกา (American Heart Association, AHA) พบว่า สัดส่วนของน้ำมันรำข้าวต่อน้ำมันทานตะวันที่สอดคล้องต่อคำแนะนำดังกล่าวมีค่าเท่ากับ 4:1

## 2.3 ระบบอิมัลชันและการเปลี่ยนแปลงระหว่างการรักษา

### 2.3.1 อิมัลชันและกลไกการเกิดอิมัลชัน

อิมัลชัน (emulsion) คือ ระบบเกิดจากของเหลวที่ไม่ละลายเข้ากันเป็นเนื้อเดียวได้ 2 ชนิดขึ้นไป สามารถผสมเป็นเนื้อเดียวกันได้ โดยของเหลวที่กระจายตัวเป็นอนุภาคเล็กๆ เรียกว่า วัฏภาคกระจาย (dispersion phase) กระจายตัวแทรกอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่งเรียกว่าวัฏภาคต่อเนื่อง (continuous phase) ในอาหารส่วนใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคอยู่ระหว่าง 0.1-100  $\mu\text{m}$  (McClements and Decker, 2000) อิมัลชัน สามารถแบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่

- 1) อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water, O/W emulsion) มีน้ำมันเป็นวัฏภาคกระจายอยู่ในน้ำที่เป็นวัฏภาคต่อเนื่อง ตัวอย่างเช่น นม น้ำสลัด และมายองเนส
- 2) อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (water in oil, W/O emulsion) มีน้ำเป็นวัฏภาคกระจายอยู่ในน้ำมันที่เป็นวัฏภาคต่อเนื่อง ตัวอย่างเช่น มากา린 และเนย

#### กลไกการเกิดอิมัลชัน

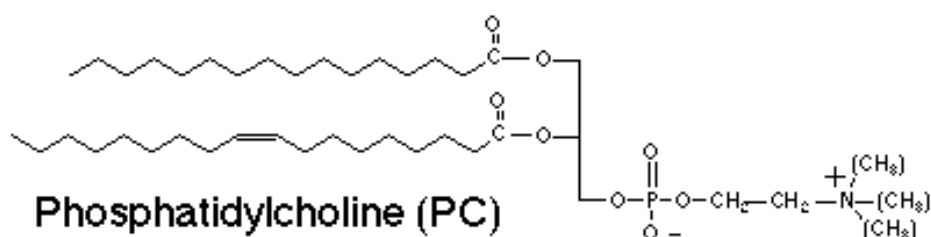
เมื่อของเหลว 2 ชนิดที่ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เช่น น้ำกับน้ำมัน ถูกนำมารวมกันจะเกิดการแยกชั้น เนื่องจากมีแรงตึงผิวของของเหลว 2 ชนิด แต่เมื่อนำมาเขย่ารวมกัน การเขย่าจะเป็นการเพิ่มพลังงานและเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างของเหลวทั้งสอง ทำให้ของเหลวนั้นกระจายตัวเป็นหยดเล็กๆ ในกันและกันได้ และมีลักษณะของอิมัลชันเกิดขึ้น แต่เกิดขึ้นชั่วคราว สามารถอธิบายได้ว่าการเขย่าเป็นการเพิ่มพลังงานอิสระที่พื้นผิว (surface free energy) ของเหลวทั้งสอง จึงเข้ากันได้ชั่วคราว ภาวะนี้ถือว่าไม่เสถียร เพราะเมื่อหยุดเขย่าแรงตึงผิวระหว่างของเหลว (interfacial tension) จะพยายามทำให้อนุภาคของของเหลวรวมตัวเข้าหากันเอง และแยกตัวออกจากของเหลวอีกชนิดหนึ่ง เพื่อทำให้มีพื้นที่ผิวน้อยลง เมื่อของเหลวมีอนุภาคใหญ่ขึ้น พื้นที่ผิวลดลง ของเหลวใดที่มีความหนาแน่นน้อยจะลอยตัวอยู่ด้านบน ส่วนของเหลวที่มีความหนาแน่นมากกว่าจะแยกตัวอยู่ด้านล่าง จึงเกิดการแยกชั้นขึ้น (McClements and Decker, 2000)

ดังนั้นการสร้างอิมัลชัน ทำได้โดยทำให้ของเหลวแตกตัวกระจายเป็นหยดขนาดเล็กๆ สามารถทำได้ด้วยการใช้แรงกล เช่น การผสมด้วยเครื่องผสม และการทำให้อิมัลชันคงตัว เพื่อไม่ให้แยกชั้นเมื่อตั้งทิ้งไว้ ด้วยการลดแรงตึงผิวของของเหลวทั้งสองส่วน โดยการเติมสาร อิมัลซิ-ฟายเออร์ (emulsifier)

## อิมัลซิฟายเออร์

อิมัลซิฟายเออร์ หรือ surface-active-agent เป็นสารช่วยลดแรงตึงผิว (interfacial tension) ของน้ำและน้ำมัน และป้องกันการรวมตัวของอนุภาคกระจาย ช่วยสร้างเสถียรภาพให้ระบบอิมัลชัน โดยอิมัลซิฟายเออร์จะดูดซับอยู่ที่ระหว่างผิวของน้ำกับน้ำมัน โดยจัดเรียงส่วนที่เป็นส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) ของโมเลกุลอยู่ในส่วนน้ำ และจัดเรียงส่วนไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) อยู่ในส่วนของน้ำมัน (McClement, 2008)

เลซิทีน เป็นฟอสโฟไลปิด (phospholipid) ชนิดหนึ่ง พบมากในไข่แดงและถั่วเหลือง โมเลกุลของเลซิทีนหรือฟอสฟาติดีลคอลลีน (phosphatidylcholine) ประกอบด้วย กลีเซอรอล กรดไขมัน ฟอสฟอริก และคอลลีน โดยเลซิทีนส่วนใหญ่มีหมู่เอซิลเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวตำแหน่งที่ 1 และเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวที่ตำแหน่งที่ 2 กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของเลซิทีน ได้แก่ palmitic acid, oleic acid และ linoleic acid เป็นต้น เลซิทีนสามารถทำหน้าที่เป็นอิมัลซิฟายเออร์ได้ เนื่องจากในโมเลกุลของเลซิทีนมีส่วนที่เป็นกรดไขมันสายยาวซึ่งมีสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิก คือไม่ชอบน้ำ และส่วนที่เป็นหมู่ฟอสเฟตซึ่งต่ออยู่กับเบสหรือพอลิออล (polyol) มีสมบัติเป็นไฮโดรฟิลิก คือชอบน้ำ ดังรูปที่ 2.3 ในระบบ oil in water มีเลซิทีนแทรกตัวอยู่ที่ oil in water interfaces โดยมีส่วนที่เป็นโพลาร์หรือไฮโดรฟิลิก ละลายอยู่ในน้ำและส่วนที่เป็นไฮโดรโฟบิกละลายอยู่ในน้ำมัน ดังนั้นโมเลกุลของเลซิทีนจึงทำหน้าที่เป็นตัวกั้น (barrier) อยู่ระหว่างผิวของหยดน้ำมันกับน้ำ ป้องกันไม่ให้หยดน้ำมันมารวมตัวกัน ทำให้อิมัลชันมีความคงตัวได้ดี (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

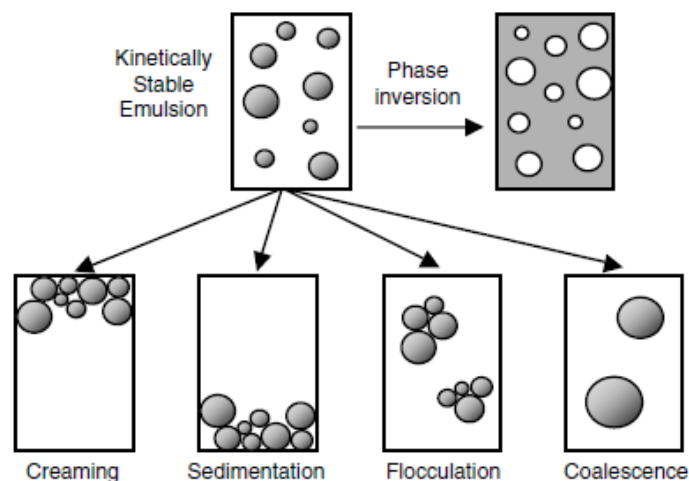


รูปที่ 2.3 โครงสร้างของฟอสฟาติดีลคอลลีน

ที่มา: <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1093/phospholipid>

### 2.3.2 การเปลี่ยนแปลงของอิมัลชันระหว่างการเก็บรักษา

อิมัลชันจัดเป็นระบบที่ไม่เสถียรทางเทอร์โมไดนามิก (thermodynamically unstable) เมื่อเวลาผ่านไปอิมัลชันจะเกิดการแยกชั้นเป็นชั้นน้ำมัน (ชั้นบน) และชั้นน้ำ (ชั้นล่าง) ดังนั้นเสถียรภาพของอิมัลชันจึงเป็นความสามารถของอิมัลชันที่ต้านทานการเปลี่ยนแปลงสมบัติต่างๆ เมื่อเวลาผ่านไป โดยยังมีการเปลี่ยนแปลงช้า แสดงว่าอิมัลชันมีความเสถียรมาก การเสถียรภาพของอิมัลชันเกิดได้ทั้งจากกระบวนการทางกายภาพ และเคมี โดยกระบวนการทางกายภาพ เช่น creaming flocculation coalescence และ partial coalescence เป็นต้น (ดังแสดงในรูปที่ 2.4) นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงจากกระบวนการทางเคมี เช่น การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของไบโอพอลิเมอร์ เป็นต้น (McClements, 2008; Smith and Charter, 2010)



รูปที่ 2.4 กระบวนการทางกายภาพที่ทำให้เกิดการเสถียรภาพของอิมัลชัน

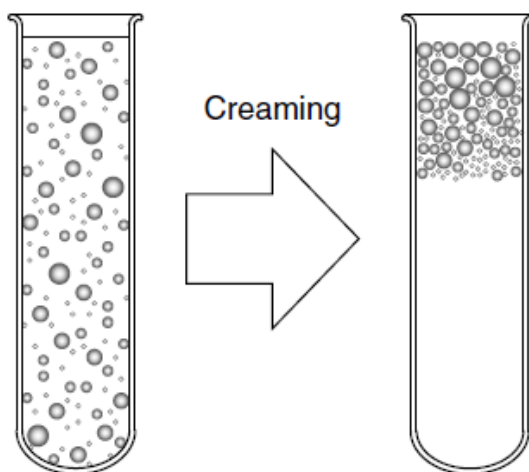
ที่มา: McClements (2005)

การเกิดชั้นครีม (creaming)

อนุภาคในอิมัลชัน (วัฏภาคกระจาย) มีความหนาแน่นแตกต่างจากของเหลวที่อยู่บริเวณโดยรอบ (วัฏภาคต่อเนื่อง) อนุภาคมีความหนาแน่นต่ำกว่าจะลอยตัวขึ้นด้านบนเกิดเป็นชั้นครีม ดังแสดงในรูปที่ 2.5 แต่ในทางกลับกันถ้าอนุภาคมีความหนาแน่นสูงกว่าจะตกลงสู่ด้านล่าง (sedimentation) ดังนั้นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ มีแนวโน้มที่จะเกิดชั้นครีมขึ้น ส่วนอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันจะเกิดเป็น sediment อัตราการเกิดชั้นครีมขึ้นอยู่กับการขนาดของอนุภาค ดังนั้นอนุภาคขนาดใหญ่จะมีอัตราการเกิดชั้นครีมได้เร็วกว่าอนุภาคขนาดเล็ก การเกิดชั้นครีมเริ่มต้นจากการที่อนุภาคลอยตัวขึ้นสู่ด้านบนของอิมัลชัน หลังจากนั้นอนุภาคจะจัดเรียงตัวกันเป็นชั้นครีม โดยความ

หนาของชั้นครีมขึ้นอยู่กับการเรียงตัวของอนุภาค ถ้าอนุภาคจัดเรียงตัวกันแบบหนาแน่นชั้นครีมจะบาง แต่ถ้าอนุภาคจัดเรียงตัวแบบหลวมจะได้ชั้นครีมหนา

วิธีการลดการเกิดชั้นครีมของอิมัลชัน ทำได้โดยการลดความแตกต่างของความหนาแน่นระหว่างสองวัฏภาค การลดขนาดอนุภาคของวัฏภาคกระจาย หรือเพิ่มความหนืดของวัฏภาคต่อเนื่อง



รูปที่ 2.5 การเกิดชั้นครีมของอิมัลชัน

ที่มา: McClements (2005)

การเกาะกลุ่มกันของอนุภาค (flocculation)

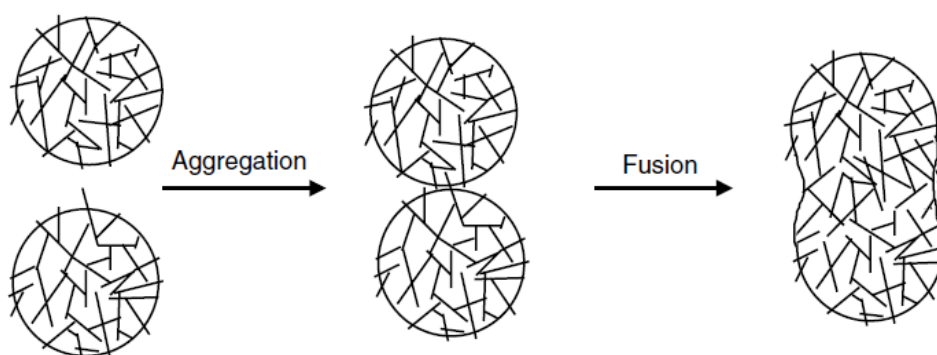
flocculation เกิดจากการเคลื่อนที่ของอนุภาคมาชนกัน ถ้าเกิดแรงดึงดูดระหว่างอนุภาค (attractive force) มากกว่าแรงผลักรัง (repulsive force) อนุภาคจะรวมตัวกันแต่ยังคงแยกเป็นอนุภาคอยู่ การเกิด flocculation มีผลต่อสมบัติการไหลของอิมัลชัน โดยอิมัลชันที่เกิด flocculation จะมีความหนืดสูงกว่าอิมัลชันที่ไม่เกิด flocculation ที่ระดับความเข้มข้นของอนุภาคเดียวกัน เนื่องจากวัฏภาคต่อเนื่องบางส่วนจะถูกรวมเข้าไปในกลุ่มของอนุภาคที่เกิด flocculation เป็นผลให้เส้นผ่านศูนย์กลางของกลุ่มอนุภาคเพิ่มขึ้น (McClement, 2008)

การรวมตัวของอนุภาค (coalescence)

coalescence เป็นกระบวนการที่อนุภาค 2 อนุภาคหรือมากกว่า เกาะกลุ่มกันแล้วเกิดการเสียดสีของฟิล์มที่อยู่รอบอนุภาค ทำให้อนุภาคเกิดการรวมตัวเชื่อมกันเป็นอนุภาคเดียวกันที่มีขนาดใหญ่ขึ้น (McClement, 2008) การเกิด coalescence เป็นผลทำให้เกิด creaming หรือ sedimentation ได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากอนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น และสุดท้ายจะเกิดชั้นน้ำมันขึ้นด้านบนของอิมัลชัน (oiling off) เกิดการเสียดสีที่เยื่อหุ้มของอิมัลชัน

การรวมตัวบางส่วนของอนุภาค (partial coalescence)

partial coalescence เกิดขึ้นเมื่ออนุภาคน้ำมันที่มีผลึกไขมันบางส่วน 2 อนุภาคหรือมากกว่ารวมตัวกันกลายเป็นอนุภาคที่มีรูปร่างไม่ปกติ (irregularly shape) โดยผลึกไขมัน (ของแข็ง) ของหยदन้ำมันหนึ่งแทรกเข้าไปในส่วนที่เป็นน้ำมัน (ของเหลว) ของอีกหยदन้ำมันหนึ่ง (McClement, 2008) ดังแสดงในรูปที่ 2.6 และเมื่อผลึกไขมันละลายหยदन้ำมันจะรวมตัวกันอย่างสมบูรณ์ หยदन้ำมันขนาดใหญ่มีแนวโน้มเกิด partial coalescence ได้มากกว่า เนื่องจากหยदन้ำมันขนาดใหญ่มีพื้นผิวสัมผัสระหว่างหยदन้ำมันสูงกว่าหยदन้ำมันขนาดเล็ก



รูปที่ 2.6 การรวมตัวบางส่วนของอนุภาค

ที่มา: McClements (2005)

การกลับวิภูภาค (phase inversion)

เกิดขึ้นเมื่ออิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เปลี่ยนเป็นอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน หรืออิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันเปลี่ยนเป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำโดยมีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนองค์ประกอบ ชนิด และความเข้มข้นของอิมัลซิฟายเออร์ หรือ ionic strength ในอิมัลชัน หรืออาจเกิดจากการกวนผสมอิมัลชัน

กลไกการเกิดออกซิเดชันในระบบอิมัลชันมีความแตกต่างจากในไขมันหรือน้ำมันทั่วไป เนื่องจากระบบอิมัลชันมีความซับซ้อน จึงทำให้การเข้าทำปฏิกิริยาของสารประกอบแต่ละชนิดแตกต่างกันไป โดยทั่วไปอิมัลชันจะมีอิมัลซิฟายเออร์หุ้มอยู่รอบอนุภาคทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้อนุภาคเกิดการรวมตัวกัน ผลจากการมี interfacial region รอบอนุภาคทำให้กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในระบบอิมัลชัน มีความแตกต่างจากของไขมันและน้ำมันทั่วไป (McClements and Decker, 2000) โดยในระบบอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ ปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดที่ interfacial region ของหยदन้ำมัน โดยเป็นการทำปฏิกิริยาระหว่าง lipid hydroxides ที่อยู่บริเวณผิวหยदन้ำมันกับ transition metals ที่อยู่ในวิภูภาคต่อเนื่อง



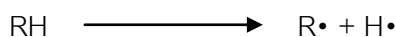
## 2.4 การเสื่อมคุณภาพของอาหารที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ และการยับยั้ง

กระบวนการแปรรูป และการเก็บรักษาอาหารทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่มีผลต่อคุณภาพของอาหาร โดยปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพ และการเสื่อมเสียของอาหาร เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ออกซิเจน และแสง ซึ่งมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ (นิธิยา รัตนานนท์, 2548) การเสื่อมสภาพของอาหารที่มีไขมันหรือน้ำมันเป็นองค์ประกอบที่สำคัญคือ การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

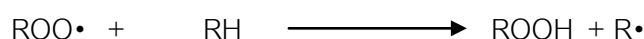
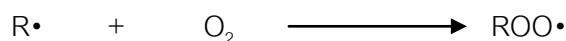
### 2.4.1 ปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบ autoxidation เป็นปฏิกิริยาเคมีอาหารที่สำคัญ สามารถเกิดขึ้นเองได้อย่างต่อเนื่อง ปฏิกิริยาเกิดขึ้นที่พันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกับออกซิเจน ยิ่งถ้ามีพันธะคู่มากปฏิกิริยาออกซิเดชันก็จะมีโอกาสเกิดมากขึ้นด้วย เกิดสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ สามารถสลายตัวเป็นสารโมเลกุลเล็กๆ เช่น แอลดีไฮด์ คีโตน อัลเคน และแอลกอฮอล์ มีผลทำให้มีกลิ่นและรสชาติผิดปกติไป เป็นสาเหตุทำให้คุณภาพของน้ำมันจะค่อยๆ เสื่อมลง ตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น (นิธิยา รัตนานนท์, 2548) กลไกการเกิดปฏิกิริยาสามารถแบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

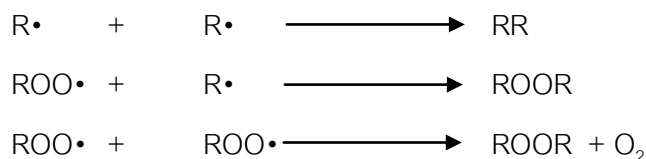
- ปฏิกิริยาขั้นต้น (initiation) เป็นขั้นที่เกิดอนุมูลอิสระขึ้น เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างกรดไขมันไม่อิ่มตัว (RH, มี  $-C=C-$  /  $-C=C-CH_2-C=C-$  ในโมเลกุล) และออกซิเจน โดยมีความร้อน แสง รังสี อิออนของโลหะ และ singlet oxygen ( $^1O_2$ ) เป็นตัวกระตุ้น ดังสมการ



- ปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่อง (propagation) เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดอนุมูลเปอร์ออกไซด์ (ROO•) และอนุมูลเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นนี้จะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันเกิดสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (ROOH) และอนุมูลอิสระ (R•) ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อเนื่องไปเรื่อยๆ ดังสมการ



- ปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย (termination) เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นตอนท้ายๆ ของปฏิกิริยาออกซิเดชัน เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระต่างๆ ที่เกิดขึ้น เกิดการรวมตัวกันและทำให้เกิดสารที่มีความคงตัว และทำให้ปฏิกิริยาลิ้นสุดลง ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ต่อไป ดังสมการต่อไปนี้



กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในระบบอิมัลชัน มีความแตกต่างจากในไขมันหรือน้ำมันทั่วไป เนื่องจากระบบอิมัลชันมีความซับซ้อน ทำให้การเข้าทำปฏิกิริยาของสารประกอบแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน โดยลักษณะทั่วไปของอิมัลชันมักไม่เสถียร ดังนั้นการมีองค์ประกอบที่สาม เช่น อิมัลซิฟายเออร์ หุ้มเป็นชั้นบางรอบอนุภาคของของเหลวชนิดหนึ่งไว้จะช่วยให้ระบบอิมัลชันมีความเสถียรมากยิ่งขึ้น ผลจากการมีเยื่อบางรอบอนุภาคทำให้กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแตกต่างจากในไขมันหรือน้ำมันทั่วไป (McClement and Decker, 2000) โดยในระบบอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ ปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดที่บริเวณเยื่อหุ้มผิวของอนุภาคไขมัน โดยเป็นการทำปฏิกิริยาระหว่าง lipid hydroperoxides ที่อยู่ในบริเวณผิวอนุภาคไขมันกับตัวเร่งปฏิกิริยาที่อยู่ในวัฏภาคน้ำ

McClement and Decker (2000) อธิบายกลไกของปฏิกิริยาออกซิเดชันในระบบอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำไว้ว่า กลไกของปฏิกิริยาดังกล่าวนี ส่วนใหญ่เป็นการสลายของสาร hydroperoxide (ROOH) ไปเป็น peroxide radical (ROO•) และ alkoxy radical (RO•) โดยมีไอออนของโลหะหนัก ( transition metals) เช่น ไอออนของเหล็ก ( $Fe^{3+}$ ) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา หลังจากนั้น peroxy radicals และ alkoxy radicals ที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของกรดไขมันอื่นเกิดเป็น hydroperoxides โมเลกุลใหญ่ และ lipid radicals ( $R\cdot$ )

ในขั้นต่อมา lipid radicals ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาสามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจน เกิดเป็น peroxy radicals ที่สามารถเกิดปฏิกิริยาถูกใช้กับโมเลกุลของกรดไขมันอื่น ได้สาร hydroperoxide และ lipid radicals โดยปฏิกิริยาในขั้นนี้จะเกิดซ้ำๆกันหลายครั้ง และเกิดอย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิด hydroperoxide เพิ่มขึ้นมากมาย

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นรวมทั้ง hydroperoxides จะเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้ผลิตภัณฑ์เป็นไฮโดรคาร์บอน คีโตน และแอลดีไฮด์ ซึ่งมีขนาดโมเลกุลเล็กและเป็นตัวการที่ทำให้เกิดกลิ่นหืน และส่งผลต่อคุณภาพของไขมันหรือน้ำมัน

#### 2.4.2 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดออกซิเดชันในอาหาร (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2553)

ในอาหารแต่ละชนิดมีส่วนประกอบหลายอย่าง โดยส่วนประกอบต่างๆ ในอาหารนั้นอาจทำหน้าที่ร่วมในการเกิดออกซิเดชัน (co-oxidation) หรือทำปฏิกิริยากับลิปิดที่ถูกออกซิไดซ์

แล้ว หรือผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการออกซิเดชัน ดังนั้นปฏิบัติการการเกิดออกซิเดชันของไขมันจึงเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและซับซ้อน ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดออกซิเดชันมีดังนี้

- 1) ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ เนื่องจากชนิดของกรดไขมันในโมเลกุลไขมันและน้ำมัน มีผลกระทบต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยอัตราในการเกิดออกซิเดชันนั้นแตกต่างกันตามชนิดของกรดไขมัน กรดไขมันที่มีพันธะคู่มากจะเกิดการออกซิเดชันได้ไวกว่ากรดไขมันที่มีพันธะคู่น้อย
- 2) ปริมาณกรดไขมันอิสระ กรดไขมันที่มีอยู่ในรูปกรดไขมันอิสระจะถูกออกซิไดส์ได้ง่ายกว่ากรดไขมันที่อยู่ในรูปของเอสเทอร์หรือกลีเซอรอล
- 3) ความเข้มข้นของออกซิเจน ในภาวะที่มีออกซิเจนมากอัตราการเกิดออกซิเดชันจะไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของออกซิเจน แต่ในภาวะที่มีออกซิเจนน้อยอัตราการเกิดออกซิเดชันจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของออกซิเจน แต่อย่างไรก็ตามผลของออกซิเจนยังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและพื้นที่ผิวสัมผัสด้วย
- 4) อุณหภูมิ อัตราเร็วในการเกิดออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น นอกจากนี้ อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงจะส่งผลถึงความดันย่อยของออกซิเจน เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นการเปลี่ยนแปลงความดันย่อยของออกซิเจนจะส่งผลเล็กน้อยต่ออัตราเร็วในการเกิดออกซิเดชัน เนื่องจากการละลายของออกซิเจนในลิปิดและน้ำจะลดลง
- 5) พื้นที่ผิวสัมผัส อัตราเร็วในการเกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้น เป็นสัดส่วนโดยตรงกับพื้นที่ผิวของลิปิดที่สัมผัสกับอากาศ ดังนั้นหากอัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรเพิ่มขึ้นการเกิดออกซิเดชันจะเร็วขึ้นด้วย สำหรับอาหารประเภทอิมัลชันชนิด oil in water การเกิดออกซิเดชันจะขึ้นอยู่กับอัตราการแพร่กระจายของออกซิเจนเข้าไปยังส่วนที่เป็นน้ำมัน
- 6) ความชื้น อัตราเร็วในการเกิดออกซิเดชันขึ้นอยู่กับค่าวอเตอร์แอกทิวิตี  $(a_w)$  อาหารแห้งที่มีความชื้นต่ำ ( $a_w$  ประมาณ 0.1) ปฏิกริยาออกซิเดชันจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อค่า  $a_w$  เพิ่มขึ้นถึง 0.3 จะเกิดการยับยั้งการเกิดลิปิดออกซิเดชันให้เกิดขึ้นน้อยที่สุด แต่เมื่อค่าวอเตอร์แอกทิวิตีเพิ่มมากขึ้นอยู่ในช่วง 0.55-0.85 อัตราการเกิดออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นอีกครั้ง เนื่องจากปริมาณน้ำมีมากพอที่ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของคะตะลิสต์และออกซิเจน

7) การเกิดอิมัลชันในอาหารที่เป็นอิมัลชันชนิด oil in water หยดนํ้ามันจะกระจายตัวอยู่ในตัวกลางที่เป็นน้ำ ออกซิเจนต้องแพร่กระจายผ่านตัวกลางที่เป็นน้ำเข้าสู่หยดนํ้ามัน ผ่านชั้นระหว่างผิวของน้ำกับนํ้ามัน ดังนั้นอัตราการเกิดออกซิเดชันจึงเกิดขึ้นร่วมกันกับปัจจัยอื่นๆ เช่น ชนิดและความเข้มข้นของอิมัลซิฟายเออร์ ขนาดของอนุภาคหยดนํ้ามัน พื้นที่ผิวระหว่างหยดนํ้ามันกับน้ำที่เป็นตัวกลาง ความหนืดของนํ้ามันที่เป็นตัวกลาง ค่าพีเอช ส่วนประกอบ และคุณสมบัติของตัวกลาง

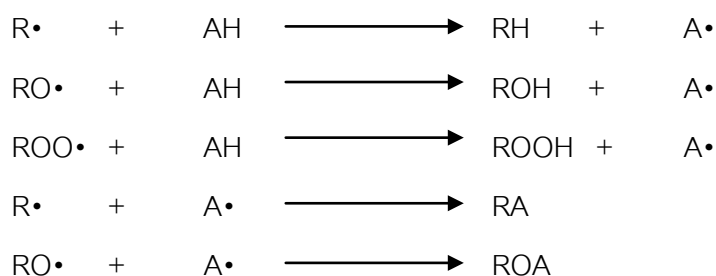
8) โปรออกซิเดนต์ (pro-oxidants) แร่ธาตุหรือโลหะบางชนิด เช่น โคบอลต์ เหล็ก แมงกานีส มีสมบัติเป็นโปรออกซิเดนต์ได้แม้มีความเข้มข้นเพียง 0.1 ppm ซึ่งอาจจะปนเปื้อนมาจากดินที่ปลูกพืช ทำให้ปนเปื้อนอยู่ในนํ้ามันพืช หรือจากอุปกรณ์โลหะต่างๆที่ใช้ระหว่างการแปรรูป และการเก็บรักษา

9) แสงและรังสีต่างๆ เช่น แสงอัลตราไวโอเล็ต รังสีแกมมา มีผลช่วยในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เร็วขึ้นได้

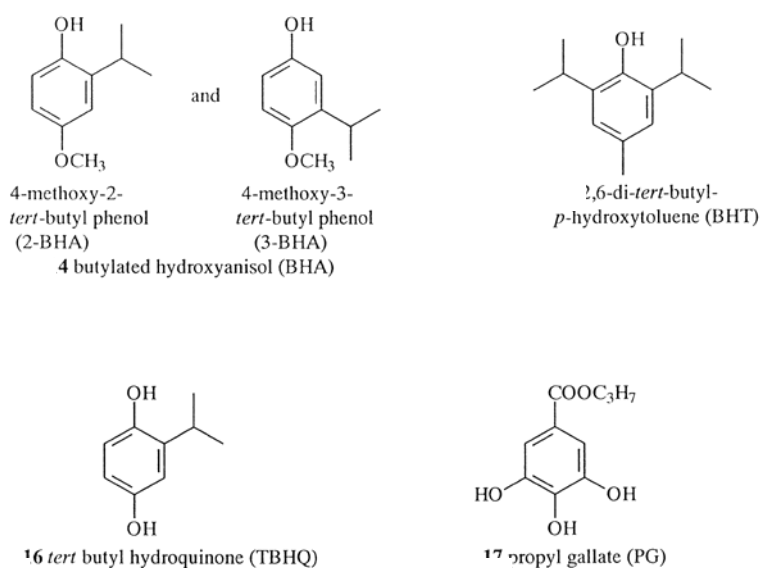
10) สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant, AH)

สารต้านออกซิเดชัน คือ สารที่มีสมบัติในการชะลอ ยับยั้ง หรือ ป้องกันไม่ให้ไขมันหรือนํ้ามันเกิดการหืน หรือการเสื่อมเสียกลิ่นรสอื่นๆที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้ จึงเป็นสารที่เติมลงในไขมัน นํ้ามัน และผลิตภัณฑ์ที่มีองค์ประกอบของไขมันหรือนํ้ามัน เพื่อชะลอ หรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้มีความคงตัว สามารถรักษาคุณลักษณะ กลิ่น และรสชาติไว้ได้นานขึ้น (Shahidi and Naczk, 2004)

การเติมสารต้านออกซิเดชัน ลงไปในอาหารที่มีไขมันและนํ้ามันเป็นองค์ประกอบอยู่ สารต้านออกซิเดชันจะไปทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ และตัวมันเอง เปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระแทน (ถูกออกซิไดส์) โดยกลไกการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารต้านออกซิเดชัน มีดังสมการ



สารต้านออกซิเดชันสามารถจำแนกตามแหล่งที่มาได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) และสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ (natural antioxidants) ตัวอย่างสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ ที่ได้รับอนุญาตให้เติมลงในอาหาร ได้แก่ butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), propyl gallate (PG) และ tert-butylhydroquinone (TBHQ) ดังแสดงในรูปที่ 2.7 นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการต้านออกซิเดชันของไขมัน และยับยั้งการหืนในอาหาร แต่แนวโน้มในการหลีกเลี่ยงหรือการลดปริมาณการใช้สารสังเคราะห์ในอาหาร เนื่องจากปัจจุบันมีข้อมูลทางด้านความเป็นพิษของสารต้านออกซิเดชันที่ยืนยันว่า การใช้สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์เป็นเวลานาน ภายใต้ความดันสูง ก่อให้เกิดความเป็นพิษขึ้นได้ (Pokorny et al, 2001) ทำให้มีการเลือกใช้สารต้านออกซิเดชันที่ได้จากธรรมชาติมากขึ้น เนื่องจากสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ มีความปลอดภัย บางชนิดมีประสิทธิภาพในการต้านมะเร็ง และสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายสิ่งมีชีวิตได้ (Frankel, 2005)



รูปที่ 2.7 โครงสร้างของสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์

ที่มา: Pokorny et al, 2001

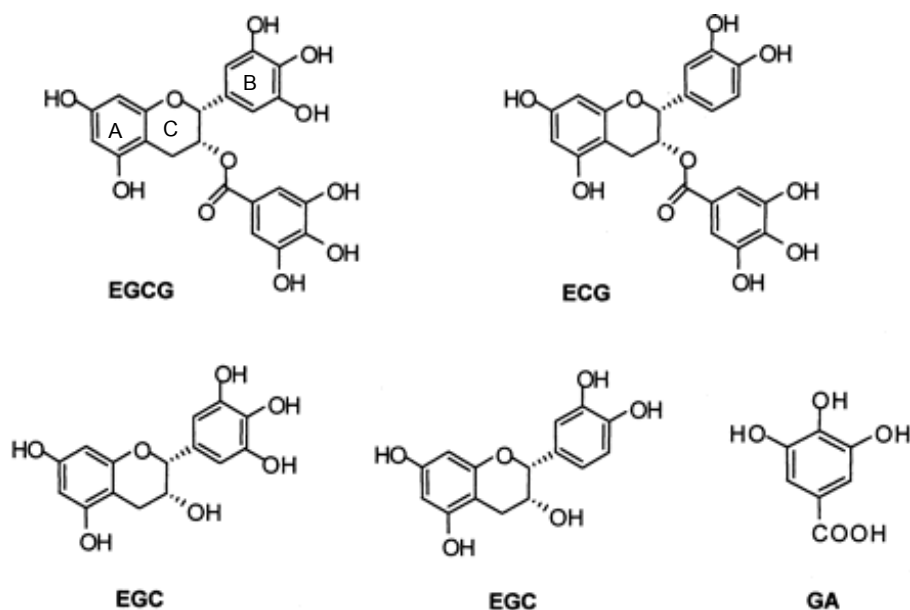
สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านออกซิเดชัน (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ , 2549) พบได้มากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชา - เขียว ชาดำ ซีอิ๊วโกแลต ไวน์แดง รวมถึงเครื่องเทศ เช่น ขิง พริกไทยดำ โรสแมรี่ เสดจ ลูกจันทร์เทศ

อบเชย ออริกาโน ดอกกจันท์เทศ กานพลู cassia savory thyme และ turmeric acid เป็นต้น (Pokorny et al, 2001; Shahidi and Naczki, 2004) ในปัจจุบันพบสารฟีนอลิก (phenolic) มากกว่า 8,000 ชนิดในธรรมชาติ สารฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ มีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด รวมไปถึงการเป็นสารต้านการก่อมะเร็ง เป็นต้น ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชัน

โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติก (aromatic) และมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซี อย่างน้อย 1 หมู่ ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มที่มีความสำคัญและพบบ่อยได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และ กรดฟีนอลิกต่างๆ

ฟลาโวนอยด์ เป็นกลุ่มของรงควัตถุที่พบในพืช มีสีเหลือง มีความคงตัวต่อความร้อน และปฏิกิริยาออกซิเดชันมากกว่าแอนโทไซยานิน แต่สามารถเปลี่ยนสีได้ง่ายเมื่อรวมตัวกับโลหะ เช่น เมื่อรวมตัวกับเหล็กจะให้สีน้ำเงินหรือเขียว (นิธิยา รัตนานนท์, 2553)

Catechins เป็นกลุ่มสารที่สำคัญในพืช จากรูปที่ 2.8 แสดงให้เห็นโครงสร้างหลักของสารกลุ่มนี้ คือ flavan-3-ol ซึ่งวง C จะอิมตัวไม่มีพันธะคู่ ทำให้อิเล็กตรอนไม่สามารถเคลื่อนที่ไปมาระหว่างวง A และ B ดังนั้นฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจึงเกิดขึ้นกับจำนวนหมู่ฟีนอลิกในโครงสร้าง โดยสารที่มีหมู่ฟีนอลิกมากกว่า สามารถให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมากกว่า (Shahidi and Naczki, 2004) เห็นได้จากค่า Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) สามารถเรียงลำดับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารกลุ่ม catechins จากมากไปน้อยได้ ดังนี้ epicatechin gallate (ECG) ~ epigallocatechin gallate (EGCG) > epigallocatechin (EGC) > gallic acid (GA) > epicatechin ~ catechin อย่างไรก็ตาม ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารกลุ่ม catechins (TEAC >2.4 mM) มากกว่าของวิตามินอี หรือวิตามินซี (TEAC~11 mM) กว่า 2 เท่า (โสภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2549) ทั้งนี้สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์มีประสิทธิภาพเป็น free radical scavenger เนื่องจากสามารถให้ alcoholic hydrogen atom แก่อนุมูลอิสระได้ (Madsen, 2000)

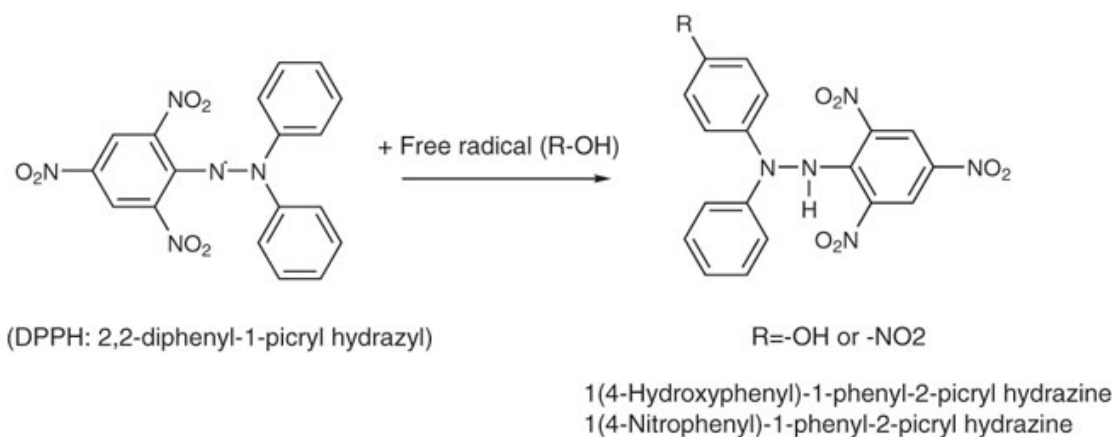


รูปที่ 2.8 โครงสร้างโมเลกุลของสารในกลุ่ม Catechins

ที่มา: Cabrera, Artacho and Giménez, 2006

## 2.5 การวัดความสามารถการเป็นสารต้านออกซิเดชัน

การวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระชนิด DPPH ของสารต้านออกซิเดชัน วิธีนี้เป็นที่นิยมในการใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ วิธีนี้ทำโดยการติดตาม radical-scavenging activity ของสารตัวอย่างแต่ละชนิดที่มีต่อสาร DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วง อยู่ในรูปอนุมูล ใช้วิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ การวัดทำโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์วัดการเปลี่ยนแปลงของสี เมื่อเติมสารต้านออกซิเดชันลงไป โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร โดยเมื่อได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชัน ทำให้ DPPH เปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน (Prior, Wu and Schaich, 2005) ดังปฏิกิริยาที่แสดงในรูปที่ 2.9 สามารถแสดงผลได้ ในรูปของค่าความเข้มข้นของสารที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ( $EC_{50}$ ) กลไกในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารต้านออกซิเดชันกับอนุมูลอิสระ DPPH ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของสารต้านออกซิเดชัน เช่นสารต้านออกซิเดชันที่มีปริมาณหมู่ไฮดรอกซิลมาก ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH จะเกิดขึ้นได้เร็ว และมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันมาก (Ebada et al., 2008)



รูปที่ 2.9 ปฏิกิริยาของ DPPH ต่อสารต้านออกซิเดชัน

ที่มา: Ebada et al. (2008)

Gramza et al. (2005) ศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากใบชา ด้วยวิธี DPPH และคำนวณหาค่าความเข้มของสารที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (EC<sub>50</sub>) และค่า antiradical efficiency (AE) จากสูตร  $AE=1/EC_{50}$  ซึ่งสามารถจัดกลุ่มประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารสกัดให้อยู่ในกลุ่มต่างๆ จากค่า AE ได้ดังต่อไปนี้

$AE = 1 \times 10^{-3}$	low antiradical activity
$1 \times 10^{-3} < AE = 5 \times 10^{-3}$	medium antiradical activity
$5 \times 10^{-3} < AE = 10 \times 10^{-3}$	high antiradical activity
$AE > 10 \times 10^{-3}$	very high antiradical activity

การติดตามปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและน้ำมัน

ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value, PV)

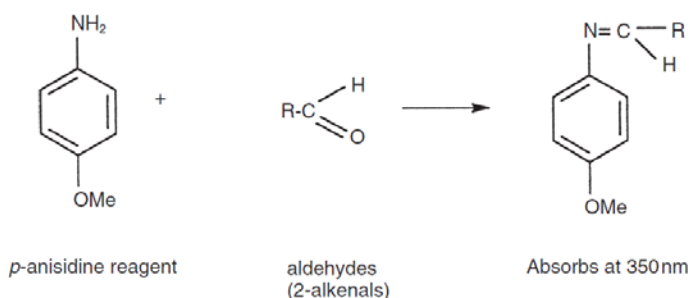
ค่าเปอร์ออกไซด์เป็นวิธีการทางเคมีที่นิยมใช้ตรวจหาปริมาณเปอร์ออกไซด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยเกิดจากออกซิเจนเข้าทำปฏิกิริยาตรงตำแหน่งพันธะคู่ของกรดไขมัน เกิดเป็นสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ในขั้นปฐมภูมิ (primary oxidation) ซึ่งสารนี้ไม่คงตัว สามารถเปลี่ยนแปลงเป็นผลิตภัณฑ์ของการเกิดออกซิเดชันขั้นทุติยภูมิ ได้แก่ แอลดีไฮด์ คีโตน



ไฮโดรคาร์บอน โมโนเมอร์ ไดเมอร์ และไตรเมอร์ เป็นต้น การวัดเปอร์ออกไซด์จึงเป็นการพิจารณาการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันก่อนที่สารไฮโดรเปอร์ออกไซด์จะเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์อื่น

ค่า p-anisidine (AV)

ค่า p-anisidine เป็นค่าที่ใช้ในการบอกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขั้นทุติยภูมิ (secondary oxidation) ของน้ำมัน เกิดจากการสลายตัวของสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ เกิดเป็นสารพวก แอลดีไฮด์ คีโตน ไฮโดรคาร์บอน โมโนเมอร์ ไดเมอร์ และไตรเมอร์ เป็นต้น เป็นการหาปริมาณของสารแอลดีไฮด์ที่เกิดขึ้น แอลดีไฮด์หลักที่ตรวจวัดคือ 2-alkenals โดยการให้แอลดีไฮด์ทำปฏิกิริยากับสาร p-anisidine ภายใต้ภาวะที่เป็นกรด ผลของปฏิกิริยาดังกล่าวให้สารสีเหลืองสามารถวัดได้โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร ดังแสดงในรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 ปฏิกิริยาของ p-anisidine ต่อแอลดีไฮด์

ที่มา : Pokorny et al, 2001

ค่า Total oxidation (TOTOX)

ค่า TOTOX หรือค่ารวมของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เป็นเป็นค่าที่บอกปริมาณไขมันที่ถูกออกซิเดชันทั้งหมดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันขั้นปฐมภูมิ (วัดในรูปค่า PV) และทุติยภูมิ (วัดในรูปค่า AV) สามารถคำนวณได้จากสมการ  $TOTOX\ value = 2P+AV$

## 2.6 น้ำสลัด และการประยุกต์สารต้านออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์อาหาร

น้ำสลัด (salad dressing)

น้ำสลัด เป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (oil-in-water) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการผสมน้ำมันพืชกับไข่แดงให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยน้ำมันกระจายตัวอยู่ในส่วนที่เป็นวัฏภาคต่อเนื่องของน้ำส้มสายชูและน้ำมะนาว มีเลซิตินในไข่แดงทำหน้าที่เป็นอิมัลซิฟายเออร์ มีส่วนผสมประกอบด้วย ไข่แดง น้ำส้มสายชู น้ำมันสลัด เกลือ น้ำตาล เครื่องเทศ และแป้ง คุณภาพของน้ำสลัด พิจารณาจากปริมาณน้ำมันที่เป็นส่วนผสม (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก 1402-2540) น้ำสลัดต้องมีไขมันไม่ น้อยกว่าร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก แต่ไม่ถึงร้อยละ 65 โดยน้ำหนัก มีความเป็นกรด -ด่างไม่เกิน 4.1 และปริมาณน้ำไม่เกิน 30% โดยน้ำหนัก อีกทั้งจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องน้อยกว่า 1000 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ยีสต์และราต้องน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

จากการศึกษาการประยุกต์สารต้านออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์อาหาร พรรณทิพา เจริญไทยกิจ (2546) ศึกษาประสิทธิภาพของวัตถุกันหืนที่สกัดจากหัวกุ้งกุลาดำ ( TE) สายพันธุ์ *Penaeus monodon* ด้วยเอทานอล 95% เพื่อชะลอการหืนในน้ำมันถั่วเหลือง และมายองเนส พบว่าเมื่อนำ TE ที่สกัดได้มาเติมลงในน้ำมันถั่วเหลืองในปริมาณ 250 500 750 และ 1000 ppm เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 18 วัน พบว่า TE ปริมาณ 500 750 และ 1000 ppm มีประสิทธิภาพในการชะลอการเปลี่ยนแปลง ค่า PV และค่า thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) และคุณภาพทางด้านกลิ่นหืนทางประสาทสัมผัสของ น้ำมันถั่วเหลืองได้ดีกว่าตัวอย่างที่ไม่เติม TE และตัวอย่างที่มีการเติม BHT ในปริมาณ 200 ppm จากนั้นเติม TE ในปริมาณ 500 ppm ลงในมายองเนส แล้วทำการศึกษาอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 34 45 และ 55 องศา °C. เป็นเวลา 42 วัน เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่เติม พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงค่า PV ค่าTBARS รวมถึงคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านกลิ่นหืนน้อยกว่าตัวอย่างที่ไม่เติม ตลอดเวลาการเก็บรักษา และ เมื่อนำสมการ arrhenius มาใช้ในการทำนายอายุการเก็บ พบว่ามายองเนสที่มีการเติม TE 500 ppm มีอายุการเก็บรักษานานกว่าตัวอย่างที่ไม่มีการเติม โดยที่ตัวอย่างที่มีการเติม TE 500 ppm มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 45 และ 55 °C เป็นเวลา 34 26 และ 6 วัน ตามลำดับ ในขณะที่ตัวอย่างที่ไม่เติม มีอายุการเก็บรักษาเพียง 25 17 และ 4 วัน ตามลำดับ

Frankel and Huang (1996) พบว่าสารสกัดจากโรสแมรี่ carnosol และ carnosic acid มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดออกซิเดชันในน้ำมันพืชชนิดต่างๆ เช่น น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันถั่วลิสง และน้ำมันปลาได้ดี แต่สารสกัดจากโรสแมรี่สามารถเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันในอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำของน้ำมันดังกล่าว

Madsen et al. (1998) ศึกษาการสมบัติการต้านออกซิเดชันของใบแห้งและสารสกัดจากใบ savary และ โรสแมรี่ที่เติมลงในน้ำสลัด ที่เก็บที่อุณหภูมิ 20 °C ในที่ที่มีแสง และในที่มืด เป็นเวลา 24 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับการเติม propyl gallate 80 ppm วิเคราะห์ conjugated dienes PV head space hexanal และ TBARS พบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (22°C) เป็นเวลา 6 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์ค่า PV และ volatile oxidative product พบว่า  $\gamma$ -tocopherol และ EDTA มีสมบัติในการต้านออกซิเดชันในน้ำสลัดได้ โดยการชะลอการเกิด lipid hydroperoxides และ volatile oxidation products ได้แก่ 1-penten-3-one 1-penten-3-ol 2-hexenol และ 2,4-heptadienal ได้ แต่ในทางกลับกัน ascorbyl palmitate มีสมบัติเป็น pro-oxidant ที่ความเข้มข้น 30 mg/kg ในขณะที่ความเข้มข้นของ 5 mg/kg สามารถต้านการเกิดออกซิเดชันได้

Let, Jacobsen and Meyer (2007) ศึกษาความสามารถของ  $\gamma$ -tocopherol ascorbyl palmitate และ ethylenediaminetetraacetate (EDTA) ในการป้องกันการเกิด ลิปิดออกซิเดชันของน้ำสลัดที่ใช้ส่วนผสมระหว่างน้ำมันปลา และน้ำมัน rapeseed ในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1.5 เป็นน้ำมันพื้นฐาน ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (22°C) เป็นเวลา 6 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์ค่า PV และ volatile oxidative product พบว่า  $\gamma$ -tocopherol และ EDTA มีสมบัติในการต้านออกซิเดชันในน้ำสลัดได้ โดยการชะลอการเกิด lipid hydroperoxides และ volatile oxidation products ได้แก่ 1-penten-3-one 1-penten-3-ol 2-hexenol และ 2,4-heptadienal ได้ แต่ในทางกลับกัน ascorbyl palmitate มีสมบัติเป็น pro-oxidant ที่ความเข้มข้น 30 mg/kg ในขณะที่ความเข้มข้นของ 5 mg/kg สามารถต้านการเกิดออกซิเดชันได้

Tananuwong and Tewaruth (2010) ศึกษาการนำสารสกัดหยาบจากข้าวเหนียวดำ ที่ความเข้มข้น 500 ppm และ 1000 ppm ไปใช้เป็นสารต้านออกซิเดชัน และสารให้สีในผลิตภัณฑ์มายองเนสเสริมน้ำมันปลา ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 30 วัน โดยวิเคราะห์หาปริมาณ Conjugated diene hydroperoxide (CDH) ปริมาณ TBARS และค่าสีในระบบ Hunter (L, a, b) พบว่าสารสกัดหยาบสามารถชะลอการเพิ่มปริมาณ CDH และ TBARS ได้ โดยสารสกัดที่มีความเข้มข้น 1000 ppm มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันสูงกว่า อย่างไรก็ตามค่าความสว่าง (L) และค่าสีเหลือง (b) ของตัวอย่างมีค่าลดลง ในขณะที่ค่าสีแดง (a) ค่าเพิ่มขึ้น เนื่องมาจาก สารแอนโทไซยานินที่อยู่ในสารสกัดมีสมบัติในการต้านออกซิเดชันที่ดี แต่มีความไม่คงตัวในการใช้เป็นสารให้สีในผลิตภัณฑ์

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

##### 3.1 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่

- 3.1.1 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากใบมะกอกน้ำ
- 3.1.2 แปรอัตราส่วนและวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันผสม
- 3.1.3 ศึกษาผลการเติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ ต่อเสถียรภาพในการเก็บรักษาของน้ำสลัดที่ใช้น้ำมันผสมเป็นน้ำมันพื้นฐาน

##### 3.2 วัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย

- 1) ใบมะกอกน้ำสายพันธุ์ *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. เก็บเกี่ยวในช่วงเดือน เมษายน ปี 2555 ชื่อจากตลาดธนบุรี กรุงเทพมหานคร
- 2) น้ำมันทานตะวันบีบเย็น ตราเนเชอรา ผลิตโดย ห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟลาวเวอร์ ฟูด ผลิตเมื่อวันที่ 1 สิงหาคม 2555 ได้รับความอนุเคราะห์จาก ห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟลาวเวอร์ ฟูด
- 3) น้ำมันรำข้าว ตราคิง ผลิตโดยบริษัท น้ำมันบริโภคไทย จำกัด ผลิตเมื่อวันที่ 8 สิงหาคม 2555 ชื่อจาก บริษัท สยามแม็คโคร จำกัด (มหาชน) สาขาจรัญสนิทวงศ์
- 4) ไข่ไก่ เบอร์ 1 ตราซีพี ผลิตโดยบริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) ชื่อจากบริษัท เอก-ชัย ดีสทริบิวชั่น ซิสเทม สาขาจามจุรีสแควร์
- 5) น้ำส้มสายชู ตราคิวพี ผลิตโดยบริษัท กิวไป จำกัด ชื่อจากบริษัท เอก-ชัย ดีสทริบิวชั่น ซิสเทม สาขาจามจุรีสแควร์
- 6) น้ำตาลทราย ตรา มิตรผล ผลิตโดยบริษัท น้ำตาลมิตรผล จำกัด ผลิตเมื่อวันที่ 14 พฤศจิกายน 2555 ชื่อจากบริษัท เอก-ชัย ดีสทริบิวชั่น ซิสเทม สาขาจามจุรีสแควร์
- 7) เกลือป่น ตราปรุงทิพย์ ผลิตโดยบริษัท อุตสาหกรรมเกลือบริสุทธิ์ จำกัด ผลิตเมื่อวันที่ 30 ตุลาคม 2554 ชื่อจากบริษัท เอก-ชัย ดีสทริบิวชั่น ซิสเทม สาขาจามจุรีสแควร์
- 8) มัสตาร์ดผง ตราแม็กกาเรต ผลิตโดยบริษัทคอนติเนนตัล ฟูด จำกัด ผลิตเมื่อวันที่ 13 พฤษภาคม 2554 ชื่อจากร้านซอร์คัตตี้เครื่องครัว กรุงเทพมหานคร

- 9) น้ำดื่ม ตรานนท์โล่เพียวไลฟ์ ผลิตโดยบริษัท เปอริเอ่ วิทเทล (ประเทศไทย) จำกัด ซื้อจาก บริษัท เอก-ชัย ดีสทริบิวชั่น ซิสเทม สาขาจามจุรีสแควร์

### 3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1) เครื่องวัดสี (Minolta Chroma Meter, CR-400, Japan)
- 2) เครื่องผสมอาหาร (KENWOOD, Major Classic, United Kingdom)
- 3) กล้องจุลทรรศน์ (OLYMPUS รุ่น BX51 ติดกล้อง Panasonic wv-CP240/G, Japan)
- 4) นาฬิกาจับเวลา (Alba, sw01-x002)
- 5) Spectrophotometer (Thermo Spectronic Genesys 10UV, USA)
- 6) Spectrophotometer (Lambda 25UV/VIS, Perkin Elmer instrument, USA)
- 7) เครื่องเขย่า ( K-550-GE, Scientific Industried, Inc, USA)
- 8) เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (TA-XT Plus, Stable Micro System, Surrey, United Kingdom)
- 9) ตู้เย็น (MR – F33X-DS Mitsubishi, Japan)
- 10) ตู้อบลมร้อน (Binder, Germany)
- 11) เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, MS1602s, USA)
- 12) เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Satorius, A 200s, USA)

### 3.4 สารเคมี

- 1) 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH): SIGMA-ALDRICH, Germany
- 2) 2,2,4-Trimethylpentane (Isooctane): QReC™, New Zealand
- 3) Chloroform: BDH Prolabo chemicals, United Kingdom
- 4) Ethanol: QReC™, New Zealand
- 5) Folin Ciocalteu reagent: Merck, Germany
- 6) Gallic acid: SIGMA-ALDRICH, Germany
- 7) Glacial-Acetic acid: QReC™, New Zealand
- 8) Hydrochloric acid: QReC™, New Zealand
- 9) Methanol: QReC™, New Zealand
- 10) Phenolphthalein: APS Ajax Finechem, Australia

- 11) Potassium iodide: APS Ajax Finechem, Australia
- 12) Starch, soluble iodometric indicator: APS Ajax Finechem, Australia
- 13) Sodium Carbonate: QReC™, New Zealand
- 14) Sodium Hydroxide pellets: Rankem, India
- 15) Sodium thiosulfate: APS Ajax Finechem, Australia

### 3.5 ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

1. เตรียมและสกัดสารจากใบมะกอกน้ำ *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. โดยเลือกใบมะกอกน้ำที่มีขนาด สี โกล้เคียงกัน ล้างน้ำให้สะอาด อบด้วยเตาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เก็บใน desiccator ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน (ศิษัมพร พิมพ์แก้ว , 2553) ปั่นให้มีขนาดเล็กลง ด้วยเครื่องผสมอาหาร ที่ความเร็วสูง นาน 3 นาที ร่อนผ่านตะแกรง ขนาด 50 mesh สกัดสารจากใบมะกอกน้ำ โดยแช่ใบมะกอกน้ำ อบแห้งที่ร้อนแล้ว ลงในน้ำ อัตราส่วน 1:10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยแปรภาวะในการสกัด ที่อุณหภูมิ 5°C อุณหภูมิห้อง(30±3°C) และ 65°C และแปรเวลาที่ 30 นาที และ 12 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดจากใบมะกอกน้ำไปปั่นเหวี่ยง ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 rpm และกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 นำสารที่กรองได้ มาทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง บรรจุแบบสุญญากาศในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ ที่บรรจุ และบรรจุของวัดดูดออกซิเจน (Oxygen absorber) ไว้ เก็บรักษาใน dessicator เพื่อรอวิเคราะห์ต่อไป

จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ มาวิเคราะห์สมบัติทางเคมี ดังนี้

- สมบัติการต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธี DPPH method (Brand-Williams et al., 1995; Tananuwong and Tewaruth, 2010) รายละเอียดในภาคผนวก ก
- ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (Waterhouse, 2005) รายละเอียดในภาคผนวก ก
- สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ด้วย High-Performance Liquid Chromatography (HPLC, Waters alliance รุ่น Water 966, USA) ส่งวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการสถาบันชา มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง (รายละเอียดในภาคผนวก ข)

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

โดยใช้วิธี Duncan's multiple-range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เลือกตัวอย่างที่มีสมบัติการต้านออกซิเดชัน และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด มากกว่าเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

2. แปรสัดส่วนและวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันของน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันรำข้าว และน้ำมันทานตะวันบีบเย็น

- 2.1. รวบรวมข้อมูลทางด้านองค์ประกอบของกรดไขมันของน้ำมันบริโภค โดยเฉพาะสัดส่วนของกรดไขมันอิ่มตัวต่อกรดไขมันไม่อิ่มตัวตำแหน่งเดียวต่อกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง ของน้ำมันรำข้าว และน้ำมันทานตะวัน เพื่อนำมาพัฒนาเป็นน้ำมันผสม และวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน ดัดแปลงจากวิธีของ Lepage and Roy (1986) โดยใช้เครื่อง Gas Chromatography-Mass Spectrometry (SHIMADZU รุ่น GC-2010+AOC2i+s, Japan) ส่งตรวจวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการวิจัยและบริการ ศูนย์วิทยาศาสตร์ฮาลาล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (รายละเอียดในภาคผนวก ค)
- 2.2. นำผลขององค์ประกอบของกรดไขมันจากข้อ 2.1 มากำหนดสัดส่วนของน้ำมันผสมที่มีปริมาณกรดไขมันที่เหมาะสม สอดคล้องกับคำแนะนำของ AHA ที่มีสัดส่วนของ MUFA:SFA ใกล้เคียง 2:1

3. การประยุกต์สารสกัดจากใบมะกอกน้ำในปริมาณ 0 (ตัวอย่างควบคุม) 200 (SP-200) 400 (SP-400) 800 (SP-800) และ 1600 (SP-1600) ppm ลงในน้ำสลัดที่มีส่วนผสมเป็นน้ำมันผสม (สูตรที่มีสัดส่วนเหมาะสม) 60% ไข่แดง 10% น้ำ 10% น้ำตาล 8% น้ำส้มสายชู 5% น้ำมันมะนาว 5% มัสตาร์ด 1% เกลือ 1% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) โดยในการผลิตน้ำสลัดเริ่มจากการตีไข่แดงในเครื่องผสมอาหารด้วยความเร็วสูงเป็นเวลา 1 นาที ละลายเกลือ น้ำตาล มัสตาร์ด และสารสกัดจากใบมะกอกน้ำลงในน้ำส่วนแรก (ปริมาณ  $\frac{2}{3}$  ของปริมาณน้ำทั้งหมด) แล้วเติมส่วนผสมดังกล่าวลงไป บั่นผสมเป็นเวลา 2 นาที ค่อยๆหยดน้ำมันลงในเครื่องผสมอาหารช้าๆในขณะที่บั่นด้วยความเร็วสูงโดยใช้เวลาทั้งหมด 12 นาที หลังจากนั้นเติมน้ำส้มสายชู น้ำมันมะนาว และน้ำส่วนที่เหลือลงไป บั่นผสมที่ความเร็วสูงประมาณ 1 นาที และบั่นที่ความเร็วต่ำต่ออีกประมาณ 1 นาที บรรจุน้ำสลัดที่ได้ลงในขวดแก้วขนาด 7 ออนซ์ ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปิดด้วยฝาเกลียว

ศึกษาเสถียรภาพในการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4°C สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ เคมี ของน้ำสลัด ทุก 7 วัน ทางจุลชีววิทยาในวันเริ่มต้น วันที่ 15 และวันสุดท้ายและวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส ดังนี้

- 3.1. ตรวจวัดสมบัติทางกายภาพ (รายละเอียดในภาคผนวก ง) ได้แก่
  - ค่าสี ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) โดยใช้ Minolta Chroma Meter รุ่น CR-400. Japan
  - ค่าดัชนีเสถียรภาพของอิมัลชัน ( Emulsion stability index, ESI) ตามวิธีของ Mirhosseini (2008)
  - ค่า firmness และ ค่า index of viscosity โดยใช้เครื่องวัดเนื้อสัมผัส รุ่น TA-XT Plus (Stable Micro System, Surrey, United Kingdom)
  - โครงสร้างทางจุลภาค ( Microstructure) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ (OLYMPUS รุ่น BH-2 ติดกล้อง Panasonic wv-CP240/G, Japan)
- 3.2. วิเคราะห์สมบัติทางเคมี (รายละเอียดในภาคผนวก ก) ได้แก่
  - วิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value, PV) โดยวิธี Titration (AOCS: Cd 8-53, 2009)
  - วิเคราะห์ค่า p-anisidine (AV) ตามวิธี AOCS: Cd 18-90 (2009)
  - คำนวณค่า Total oxidation (TOTOX value) จากสูตร  $TOTOX = 2PV + AV$
  - สมบัติการต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธี DPPH method (Kubola and Siriamornpun, 2008)
  - ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (Waterhouse, 2005)
- 3.3. ตรวจสอบ สมบัติทางจุลชีววิทยา (รายละเอียดในภาคผนวก จ) โดยตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา ตามวิธีในมาตรฐานอุตสาหกรรม มายองเนส และสลัดครีม (มอก.1402-2540)

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



- 3.4. ประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำสลัดสูตรต่างๆ โดยประเมินความชอบในด้านลักษณะปรากฏ สี เนื้อสัมผัส รสชาติ กลิ่น และความชอบโดยรวม โดยใช้การทดสอบฮีโดนิคแบบ 7 จุด ( seven-point hedonic scale) ใช้ผู้ทดสอบแบบผู้บริโภค (customer-type panels) ที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 43 คน (รายละเอียดในภาคผนวก ฉ)

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

## บทที่ 4

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 สมบัติการต้านออกซิเดชันและภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากใบมะกอกน้ำ

##### 4.1.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จากสารสกัดใบมะกอกน้ำ

ในการสกัดสารจากใบมะกอกน้ำที่ภาวะต่างๆ จากตารางที่ 4.1 พบว่าภาวะที่ใช้ในการสกัดสารจากใบมะกอกน้ำ มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ซึ่งอยู่ในช่วง 468 - 628 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร โดยภาวะในการสกัดสารจากใบมะกอกน้ำที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการสกัดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง โดยภาวะดังกล่าว มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด คือ 628 และ 618 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือการสกัดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที และการสกัดที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 30 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 566 และ 541 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตรตามลำดับ จากการสกัดใบมะกอกน้ำที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 65°C ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าที่อุณหภูมิ 5°C อาจเนื่องมาจากการสกัดในภาวะที่มีอุณหภูมิสูงกว่า พลังงานจลน์ในระบบมีมากกว่า ทำให้ตัวทำละลายมีโอกาสสัมผัสตัวถูกละลายมากขึ้น สารที่ต้องการจึงถูกสกัดออกมาได้มากขึ้นกว่าการใช้อุณหภูมิต่ำในการสกัด นอกจากนี้จากผลการทดลองพบว่า ที่อุณหภูมิเดียวกัน การใช้เวลาในการสกัดมากกว่า ทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าด้วย

**ตารางที่ 4.1** ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้จากการสกัดสารจากใบมะกอกน้ำที่ภาวะต่าง ๆ

ภาวะในการสกัดสารจากใบมะกอกน้ำ (อุณหภูมิ/เวลา)	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/มิลลิลิตร)
5°C/30นาที	468 <sup>c</sup> ± 15.62
5°C/12ชั่วโมง	491 <sup>c</sup> ± 11.02
อุณหภูมิห้อง/30นาที	566 <sup>b</sup> ± 21.17
อุณหภูมิห้อง/12ชั่วโมง	618 <sup>a</sup> ± 21.39
65°C/30นาที	541 <sup>b</sup> ± 10.26
65°C/12ชั่วโมง	628 <sup>a</sup> ± 1.15

a, b, c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

#### 4.1.2 ค่าความเข้มของสารที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (EC<sub>50</sub>) และค่า antiradical efficiency (AE) และการจัดกลุ่มประสิทธิภาพการต้านอนุมูล

ผลจากการวิเคราะห์สมบัตินอกซีเดชัน ด้วยวิธี DPPH จะถูกคำนวณไปเป็นค่าความเข้มของสารที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (EC<sub>50</sub>) และค่า antiradical efficiency (AE) ภาวะในการสกัดสารจากใบมะกอกน้ำที่ทำให้ได้ค่า EC<sub>50</sub> ต่ำที่สุด (30µg/ml) และค่า AE สูงที่สุดคือที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดจากใบมะกอกน้ำที่สกัดได้จากทุกภาวะสามารถจัดให้อยู่ในกลุ่มที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลสูงมาก (very high antiradical activity group) ตามการจัดกลุ่มของ Gramza et al. (2005) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับ BHA ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ซึ่งจากการทดลองพบว่าค่า EC<sub>50</sub> และ AE ไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด อาจเกิดจากอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดส่งผลถึงความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ กล่าวคือที่การสกัดสารที่อุณหภูมิต่ำ (5°C) จะได้ปริมาณของสารต้านออกซีเดชันน้อยกว่าการสกัดสารที่อุณหภูมิสูงกว่า (อุณหภูมิห้อง และ 65°C) อย่างไรก็ตามการใช้อุณหภูมิสูงในการสกัดอาจทำให้ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระลดลง หรืออาจเป็นไปได้ว่าในสารสกัดที่สกัดได้มีสารอื่นๆนอกจากสารประกอบฟีนอลิกที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้

ตารางที่ 4.2 ค่าความเข้มของสารที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (EC<sub>50</sub>) และค่า antiradical efficiency (AE) และการจัดกลุ่มประสิทธิภาพการต้านอนุมูล ของสารสกัดจากใบมะกอกน้ำที่ภาวะต่างๆ

ภาวะในการสกัด (อุณหภูมิ/เวลา)	EC <sub>50</sub> (µg/ml)	AE (1/EC <sub>50</sub> )	Antiradical efficiency classification
BHA	2.8 <sup>e</sup> ± 0.0	0.352 <sup>a</sup> ± 0.0001	very high
5°C/30นาที	41.5 <sup>a</sup> ± 2.7	0.024 <sup>e</sup> ± 0.0016	very high
5°C/12ชม.	36.6 <sup>b</sup> ± 0.6	0.027 <sup>de</sup> ± 0.0035	very high
อุณหภูมิห้อง/30นาที	30.2 <sup>d</sup> ± 4.0	0.033 <sup>b</sup> ± 0.0010	very high
อุณหภูมิห้อง/12ชม.	32.2 <sup>cd</sup> ± 1.3	0.031 <sup>bc</sup> ± 0.0004	very high
65°C/30นาที	35.4 <sup>bc</sup> ± 1.3	0.028 <sup>cd</sup> ± 0.0013	very high
65°C/12ชม.	38.8 <sup>ab</sup> ± 3.7	0.026 <sup>de</sup> ± 0.0022	very high

a, b, c,d และ e... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.1.3 ชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ

จากการวิเคราะห์สารจากใบมะกอกน้ำด้วยเครื่อง HPLC พบว่าสารสกัดจากใบมะกอกน้ำที่สกัดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที และ 12 ชั่วโมง มี gallic acid epigallocatechin catechin และ gallocatechin เป็นองค์ประกอบ ดังแสดงในตารางที่ 4.3 ทั้งนี้ภาวะในการสกัดที่แตกต่างกันสามารถสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ปริมาณแตกต่างกัน เช่นการสกัดจากใบมะกอกน้ำที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที มีปริมาณกรดแกลลิกมากที่สุด ในขณะที่สารสกัดจากใบมะกอกน้ำที่สกัดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง มีปริมาณ catechin มากที่สุด งานวิจัยของ อธิยา เรืองจักรเพ็ชร และ ธนบุญย์ สัจจาอนันตกุล (2550) ที่วิเคราะห์สารสกัดจากผลมะกอกน้ำด้วยเอทานอล ที่มีอายุการเก็บเกี่ยวต่างกัน พบว่ามะกอกน้ำอายุ 6 เดือนหลังติดดอก มีปริมาณกรดแกลลิกมากกว่าอายุการเก็บเกี่ยวอื่น โดยพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 345.8 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสด 100 กรัม และพบกรดแกลลิก 103.6 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักสด 100 กรัม เป็นต้น

#### ตารางที่ 4.3 ชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ ที่

อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที และ 12 ชั่วโมง จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	ปริมาณ (กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) ที่ได้ที่ภาวะในการสกัด	
	อุณหภูมิห้อง/30นาที	อุณหภูมิห้อง/12ชม.
Gallic acid	1.44	0.92
(-)-Galocatechin	1.02	1.08
(-)-Epigallocatechin	1.21	1.12
(+)-Catechin	1.07	1.53

ดังนั้นภาวะที่เหมาะสมที่เลือกใช้ในการสกัดสารจากใบมะกอกน้ำในงานวิจัยขึ้นไป คือ ภาวะที่ใช้ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที โดยคัดเลือกจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และค่าประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระ นอกจากนี้คำนึงถึงความยากง่ายในทางปฏิบัติ และ ต้นทุนที่ใช้ในการสกัดด้วย

#### 4.2 องค์ประกอบกรดไขมันในน้ำมันรำข้าว น้ำมันทานตะวันบีบเย็น และน้ำมันผสม

เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันของน้ำมันรำข้าว และน้ำมันทานตะวันบีบเย็น พบว่า น้ำมันรำข้าวส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว ตำแหน่งเดียว และน้ำมันทานตะวันบีบเย็น ส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว หลายตำแหน่ง เมื่อนำน้ำมันทั้ง 2 ชนิดมาผสม โดยแปร อัตราส่วนน้ำมันรำข้าวต่อน้ำมันทานตะวันเป็น 1:1 2:1 3:1 4:1 (ปริมาตร/ปริมาตร) พบว่า อัตราส่วนของน้ำมันผสมที่ใกล้เคียงกับคำแนะนำของ AHA คือ น้ำมันรำข้าวต่อน้ำมันทานตะวัน อัตราส่วน 3:1 และ 4:1 ดังแสดงในตารางที่ 4.4 แต่เมื่อพิจารณาถึงต้นทุนและกลิ่นเฉพาะตัวของ น้ำมันทานตะวันแล้ว สัดส่วนของน้ำมันที่เหมาะสมในการนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป คือ น้ำมันรำข้าวต่อน้ำมันทานตะวัน อัตราส่วน 4:1 ซึ่งสอดคล้องกับกับงานวิจัยของ เกศณี ลิขิตเกรียงไกร และฐาปนีย์ จูติถาวร (2549) ได้ศึกษาเสถียรภาพของ น้ำมันทอดที่ได้จาก น้ำมันผสม ระหว่าง น้ำมันพืชชนิดต่างๆ พบว่าสัดส่วนของน้ำมันรำข้าวต่อน้ำมันทานตะวันที่สอดคล้องต่อคำแนะนำ ดังกล่าวมีค่าเท่ากับ 4:1

ตารางที่ 4.4 องค์ประกอบของกรดไขมันอิ่มตัว (SFA) กรดไขมันไม่อิ่มตัวตำแหน่งเดียว (MUFA) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (PUFA) ของน้ำมันรำข้าว (RBO) น้ำมันทานตะวันบีบเย็น (SFO) และน้ำมันผสมอัตราส่วนต่างๆ

องค์ประกอบของกรดไขมัน	SFA	MUFA	PUFA	SFA:MUFA:PUFA
Sun Flower Oil (SFO)	9.70	28.78	61.53	1:3.0:6.3
Rice Bran Oil (RBO)	20.70	44.31	34.51	1:2.1:1.7
RBO:SFO 1:1	14.84	36.50	48.02	1:2.5:3.2
RBO:SFO 2:1	16.79	39.10	43.52	1:2.3:2.6
RBO:SFO 3:1	17.77	40.40	41.27	1:2.2:2.3
RBO:SFO 4:1	18.35	41.18	39.91	1:2.2:2.2

### 4.3 สมบัติทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์และลักษณะทางประสาทสัมผัส ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษา

#### 4.3.1 ดัชนีเสถียรภาพของอิมัลชันของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา

จากการทดสอบค่าดัชนีเสถียรภาพของอิมัลชันของน้ำสลัดสูตรต่างๆ พบว่าน้ำสลัดทุกสูตรมีเสถียรภาพที่ดีตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยไม่เกิดการแยกชั้น แสดงด้วย %ESI เป็น 100% ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ดัชนีเสถียรภาพของอิมัลชันของน้ำสลัด ที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำสูตรต่างๆ

สูตรน้ำสลัด	Emulsion Stability Index (%ESI)
ตัวอย่างควบคุม	100%
SP-200	100%
SP-400	100%
SP-800	100%
SP-1600	100%

#### 4.3.2 ค่า firmness และ ค่า index of viscosity ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา

จากผลการทดลองพบว่า น้ำสลัดทุกสูตรมีค่า firmness และ ค่า index of viscosity ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ดังแสดงในตารางที่ 4.6 และ 4.7 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน้ำสลัดทุกสูตรมีความคงตัวที่ดีตลอดระยะเวลาการเก็บ ซึ่งสอดคล้องกันกับค่า ESI ที่ไม่เปลี่ยนแปลง



ตารางที่ 4.6 ค่า firmness (g) ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์

	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
ตัวอย่างควบคุม <sup>ns</sup>	83.31 ± 19.80	82.56 ± 9.34	108.86 ± 19.69	80.50 ± 13.89	82.32 ± 21.18
SP-200 <sup>ns</sup>	68.68 ± 24.41	73.56 ± 13.70	65.90 ± 5.76	73.11 ± 24.43	68.42 ± 14.00
SP-400 <sup>ns</sup>	56.86 ± 15.76	55.37 ± 5.53	56.28 ± 10.86	55.80 ± 14.81	52.84 ± 12.39
SP-800 <sup>ns</sup>	59.69 ± 21.33	54.52 ± 16.32	45.05 ± 5.12	57.68 ± 21.47	60.87 ± 21.47
SP-1600 <sup>ns</sup>	52.77 ± 3.75	62.48 ± 9.70	54.82 ± 8.37	65.21 ± 16.19	52.52 ± 8.97

ns หมายถึง ตัวเลขที่อยู่ในแถวเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

ตารางที่ 4.7 ค่า Index of Viscosity (g.sec) ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์

	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
ตัวอย่างควบคุม <sup>ns</sup>	-323.68 ± 65.39	-330.12 ± 33.03	-393.52 ± 52.18	-331.58 ± 35.71	-319.66 ± 72.00
SP-200 <sup>ns</sup>	-282.95 ± 90.70	-296.59 ± 60.75	-264.91 ± 15.22	-297.04 ± 75.90	-281.30 ± 46.02
SP-400 <sup>ns</sup>	-251.26 ± 79.63	-239.50 ± 17.33	-238.24 ± 42.61	-242.94 ± 83.16	-229.37 ± 68.01
SP-800 <sup>ns</sup>	-254.48 ± 91.26	-222.78 ± 67.01	-197.21 ± 18.48	-243.54 ± 106.09	-266.13 ± 101.61
SP-1600 <sup>ns</sup>	-228.19 ± 20.56	-274.13 ± 53.69	-234.68 ± 32.94	-267.61 ± 74.74	-235.81 ± 51.14

ns หมายถึง ตัวเลขที่อยู่ในแถวเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

#### 4.3.3 ค่าสีของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา

น้ำสลัดทุกสูตรมีสีเหลือง-ขาวขุ่น จากการวัดค่าสี ( $L^*$   $a^*$   $b^*$ ) พบว่าน้ำสลัดทุกสูตร เมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ค่าความสว่าง ( $L^*$ ) และค่าสีเหลือง ( $b^*$ ) มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ในขณะที่ค่าสีเขียว ( $a^*$ ) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 4.8 4.9 และ 4.10 เนื่องจากหยदन้ำมันบางส่วนเกิด flocculation ทำให้หยदन้ำมันมาเกาะกลุ่มรวมตัวใหญ่ขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตอนเริ่มต้น เป็นผลให้ลำแสงสามารถ กระเจิงได้มากขึ้นค่า  $L^*$  จึงลดลง (McClements, 2005) และสารสกัดจากใบมะกอกน้ำที่เติมลงไปใต้น้ำสลัดเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ จากข้อ 4.1.3 มีสีเหลือง-เขียว (นิธิยา รัตนานพนธ์, 2553) จึงอาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า  $b^*$  และค่า  $a^*$  ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Santipanichwong and Suphantharika (2007) ที่ได้ศึกษาความเสถียรของค่าสี (CIE  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) เมื่อเติมแคโรทีนอยด์และลูเทออินในมายองเนสชนิดไขมันเต็มและมายองเนสชนิดลดไขมัน พบว่ามายองเนสทุกตัวอย่างมีค่า  $b^*$  ลดลง และเมื่อเก็บรักษามายองเนสชนิดไขมันเต็มเป็นเวลา 2 เดือน ค่า  $L^*$  มีค่าลดลง เนื่องจากเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ส่งผลให้ขนาดของอนุภาคน้ำมันในมายองเนสมีขนาดใหญ่ขึ้น และทำให้ประสิทธิภาพในการกระเจิงแสงของหยदन้ำมันมากขึ้น

#### 4.3.4 โครงสร้างจุลภาคของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา

เมื่อพิจารณาโครงสร้างทางจุลภาคของน้ำสลัดทุกสูตร (รูปที่ 4.1) เมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ขนาดของหยदन้ำมันมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บเพิ่มขึ้น เนื่องมาจากการเกิด flocculation (ดังแสดงตามลูกศร) ของหยदन้ำมันบางส่วนใต้น้ำสลัด เป็นผลให้หยदन้ำมันมีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งสอดคล้องกันกับงานวิจัยของศรดา สถิตวรพจนานา (2554) ที่ศึกษาเสถียรภาพการเก็บรักษามายองเนสที่ใช้ไขมันผสมระหว่างน้ำมันรำข้าวและน้ำมันมะพร้าวเป็นน้ำมันพื้นฐาน พบว่าเมื่อมายองเนสผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์ หยदन้ำมันบางส่วนของมายองเนสสูตรน้ำมันรำข้าว 100% เกิด flocculation และ coalescence ทำให้หยदन้ำมันมีขนาดใหญ่ขึ้น ในขณะที่มายองเนสสูตรน้ำมันมะพร้าวต่อน้ำมันรำข้าว 30:70 หยदन้ำมันบางส่วนจะเกิด flocculation แต่ขนาดหยदन้ำมันไม่เปลี่ยนแปลงไปมากนัก

**ตารางที่ 4.8** ค่า L\* ของน้ำสลัด ที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกในปริมาณต่างๆ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ

	ตัวอย่างควบคุม	SP-200	SP-400	SP-800	SP-1600
สัปดาห์ที่ 0	75.20 <sup>a</sup> ± 1.07	76.02 <sup>a</sup> ± 0.74	71.84 <sup>a</sup> ± 1.16	72.47 <sup>a</sup> ± 1.01	71.00 <sup>b</sup> ± 1.11
สัปดาห์ที่ 1	72.49 <sup>b</sup> ± 0.52	72.82 <sup>b</sup> ± 0.27	73.39 <sup>a</sup> ± 1.58	74.41 <sup>a</sup> ± 1.16	73.31 <sup>a</sup> ± 0.35
สัปดาห์ที่ 2	67.09 <sup>c</sup> ± 1.81	68.62 <sup>c</sup> ± 0.54	67.87 <sup>b</sup> ± 0.93	67.71 <sup>b</sup> ± 1.25	67.12 <sup>c</sup> ± 0.50
สัปดาห์ที่ 3	64.59 <sup>d</sup> ± 1.13	64.83 <sup>d</sup> ± 0.92	64.75 <sup>c</sup> ± 1.82	64.65 <sup>c</sup> ± 0.44	65.29 <sup>d</sup> ± 0.83
สัปดาห์ที่ 4	64.06 <sup>d</sup> ± 0.01	63.28 <sup>e</sup> ± 0.23	63.50 <sup>c</sup> ± 0.59	62.59 <sup>c</sup> ± 0.95	62.94 <sup>e</sup> ± 0.47

a, b, c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

ตารางที่ 4.9 ค่า  $a^*$  ของน้ำสลัด ที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำในปริมาณต่างๆ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ

	ตัวอย่างควบคุม	SP-200	SP-400 <sup>ns</sup>	SP-800	SP-1600
สัปดาห์ที่ 0	-1.47 <sup>c</sup> ±0.05	-1.46 <sup>ab</sup> ±0.08	-1.25 ± 0.15	-1.37 <sup>a</sup> ± 0.12	-1.27 <sup>a</sup> ±0.13
สัปดาห์ที่ 1	-1.51 <sup>c</sup> ±0.07	-1.57 <sup>b</sup> ±0.08	-1.55 ± 0.18	-1.73 <sup>c</sup> ± 0.05	-1.68 <sup>c</sup> ±0.04
สัปดาห์ที่ 2	-1.45 <sup>cb</sup> ±0.08	-1.52 <sup>b</sup> ±0.06	-1.42 ± 0.25	-1.55 <sup>b</sup> ± 0.10	-1.49 <sup>b</sup> ±0.07
สัปดาห์ที่ 3	-1.34 <sup>a</sup> ±0.04	-1.40 <sup>ab</sup> ±0.16	-1.34 ± 0.18	-1.38 <sup>a</sup> ± 0.08	-1.38 <sup>bc</sup> ±0.03
สัปดาห์ที่ 4	-1.31 <sup>a</sup> ± 0.07	-1.31 <sup>a</sup> ± 0.07	-1.36 ± 0.06	-1.41 <sup>a</sup> ± 0.09	-1.32 <sup>bc</sup> ±0.01

a, b, c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

ns หมายถึง ตัวเลขที่อยู่ในสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

ตารางที่ 4.10 ค่า b\* ของน้ำสลัด ที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำในปริมาณต่างๆ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ

	ตัวอย่างควบคุม	SP-200	SP-400	SP-800	SP-1600
สัปดาห์ที่ 0	20.75 <sup>a</sup> ± 0.27	20.58 <sup>a</sup> ± 1.15	20.25 <sup>a</sup> ± 0.90	19.05 <sup>ab</sup> ± 2.49	18.65 <sup>b</sup> ± 1.04
สัปดาห์ที่ 1	20.43 <sup>a</sup> ± 0.41	20.27 <sup>a</sup> ± 0.98	21.19 <sup>a</sup> ± 0.97	20.74 <sup>a</sup> ± 1.01	20.75 <sup>a</sup> ± 0.24
สัปดาห์ที่ 2	16.78 <sup>b</sup> ± 0.65	17.02 <sup>b</sup> ± 0.65	16.64 <sup>b</sup> ± 0.61	16.95 <sup>b</sup> ± 1.01	16.25 <sup>c</sup> ± 0.24
สัปดาห์ที่ 3	16.49 <sup>b</sup> ± 0.74	16.44 <sup>b</sup> ± 0.36	16.55 <sup>b</sup> ± 0.88	16.55 <sup>b</sup> ± 1.39	16.53 <sup>c</sup> ± 0.27
สัปดาห์ที่ 4	15.91 <sup>b</sup> ± 0.94	16.05 <sup>b</sup> ± 0.67	16.56 <sup>b</sup> ± 1.59	17.37 <sup>b</sup> ± 1.23	16.21 <sup>c</sup> ± 1.16

a, b, c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
ตัวอย่างควบคุม					
SP-200					
SP-400					
SP-800					
SP-1600					

รูปที่ 4.1 โครงสร้างทางจุลภาคของน้ำสลัด ที่เติมสารสกัดจากโสมมะกอกน้ำปริมาณต่างๆ โดยเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ด้วยกำลังขยาย 40 เท่า

#### 4.3.5 ค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา

เมื่อพิจารณาค่าเปอร์ออกไซด์ จากตารางที่ 4.11 พบว่า น้ำสลัดสูตรที่ไม่เติม และสูตรที่เติม สารสกัดจากใบมะกอกน้ำ 200 ppm มีค่าเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ในขณะที่น้ำสลัดที่เติมสารจากใบมะกอกน้ำ 400 800 และ 1600 ppm ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างการเก็บรักษา ทั้งนี้สารสกัดจากใบมะกอกน้ำ มีสมบัติในการต้านการเกิดออกซิเดชัน ดังนั้นการเติมสารต้านออกซิเดชันจากใบมะกอกน้ำลงในน้ำสลัดในปริมาณที่เพียงพอ ทำให้น้ำสลัดเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้น้อยกว่าน้ำสลัดที่ไม่เติม หรือเติมในปริมาณน้อย เนื่องมาจากการเติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำสามารถต้านการเกิดออกซิเดชันของน้ำสลัดได้ ทำให้เกิดสารเปอร์ออกไซด์น้อยลง พรรณทิพา เจริญไทยกิจ (2546) รายงานว่าการเก็บรักษามายองเนสที่เติม และไม่เติมสารสกัด TE ค่าเปอร์ออกไซด์ของมายองเนสทุกสูตรมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นโดยตัวอย่างที่เติมสารสกัดมีการเปลี่ยนแปลงของค่าเปอร์ออกไซด์น้อยกว่า เนื่องมาจากการเติมสาร TE สามารถต้านการเกิดออกซิเดชันได้ อีกทั้งโดยทั่วไปค่ามาตรฐานเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันบริโภคมีค่าไม่เกิน 10 mEqv.O<sub>2</sub>/kg (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

ตารางที่ 4.11 ค่าเปอร์ออกไซด์ (mEqv.O<sub>2</sub>/kg) ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษา เป็นเวลา 4 สัปดาห์

	ตัวอย่าง				
	ควบคุม	SP-200	SP-400 <sup>ns</sup>	SP-800 <sup>ns</sup>	SP-1600 <sup>ns</sup>
สัปดาห์ที่ 0	1.62 <sup>c</sup> ± 0.08	1.26 <sup>b</sup> ± 0.20	1.49 ± 0.09	1.43 ± 0.12	1.26 ± 0.17
สัปดาห์ที่ 1	1.70 <sup>c</sup> ± 0.11	1.45 <sup>ab</sup> ± 0.06	1.31 ± 0.17	1.36 ± 0.09	1.16 ± 0.13
สัปดาห์ที่ 2	1.87 <sup>bc</sup> ± 0.21	1.52 <sup>b</sup> ± 0.11	1.34 ± 0.22	1.39 ± 0.13	1.24 ± 0.13
สัปดาห์ที่ 3	2.08 <sup>b</sup> ± 0.18	1.46 <sup>ab</sup> ± 0.06	1.51 ± 0.07	1.33 ± 0.15	1.14 ± 0.07
สัปดาห์ที่ 4	2.44 <sup>a</sup> ± 0.14	1.61 <sup>a</sup> ± 0.03	1.48 ± 0.02	1.35 ± 0.06	1.39 ± 0.11

a, b, c ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

ns หมายถึง ตัวเลขที่อยู่ในสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )



#### 4.3.6 ค่า p-Anisidine (AV) ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา

จากผลการทดลองพบว่า เมื่อเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ค่า AV ของน้ำสลัดทุกสูตรจะมีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมัน เกิดการสลายตัวของสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ เกิดเป็นสารพวก แอลดีไฮด์ คีโตน ไฮโดรคาร์บอน นอกจากนี้ น้ำสลัดสูตรที่เติมสารจากใบมะกอกน้ำในปริมาณต่างๆ จะมีค่า AV ต่ำกว่าน้ำสลัดสูตรที่ไม่เติม อาจเนื่องมาจากการเติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำทำให้เกิดการยับยั้งหรือชะลอการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันในน้ำสลัด ดังแสดงในตารางที่ 4.12

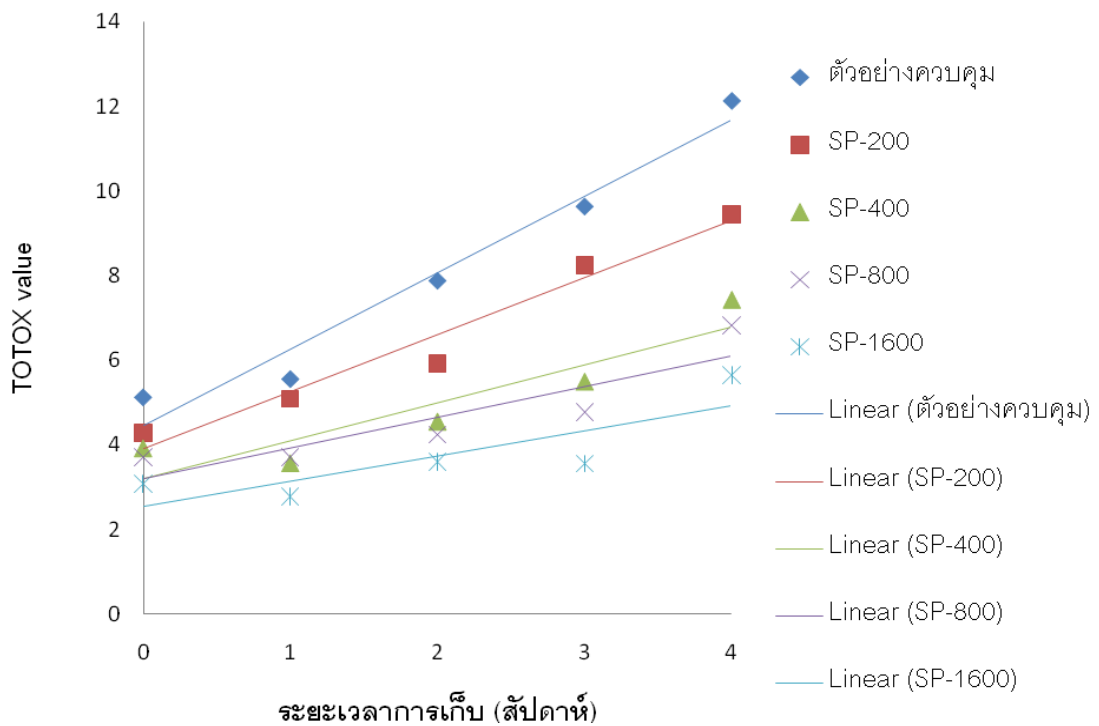
ตารางที่ 4.12 ค่า p-Anisidine (AV) ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์

	ตัวอย่าง				
	ควบคุม	SP-200	SP-400	SP-800	SP-1600
สัปดาห์ที่ 0	1.89 <sup>c</sup> ±0.49	1.77 <sup>b</sup> ±0.72	0.95 <sup>b</sup> ±0.14	0.85 <sup>b</sup> ±0.25	0.56 <sup>b</sup> ±0.17
สัปดาห์ที่ 1	2.16 <sup>c</sup> ±0.04	2.20 <sup>b</sup> ±0.01	0.96 <sup>b</sup> ±0.12	0.99 <sup>b</sup> ±0.12	0.45 <sup>b</sup> ±0.17
สัปดาห์ที่ 2	4.14 <sup>bc</sup> ±1.05	2.87 <sup>b</sup> ±1.88	1.88 <sup>b</sup> ±1.70	1.47 <sup>b</sup> ±0.09	1.11 <sup>b</sup> ±0.85
สัปดาห์ที่ 3	5.47 <sup>ab</sup> ±2.45	5.31 <sup>a</sup> ±0.70	2.48 <sup>ab</sup> ±0.73	2.12 <sup>ab</sup> ±1.57	1.28 <sup>b</sup> ±0.75
สัปดาห์ที่ 4	7.97 <sup>a</sup> ±1.36	6.22 <sup>a</sup> ±1.29	5.21 <sup>a</sup> ±1.00	4.12 <sup>a</sup> ±2.27	2.87 <sup>a</sup> ±1.00

a, b, c ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.3.7 ค่า TOTOX ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา

ค่า TOTOX สามารถคำนวณได้จากสูตร  $TOTOX = 2PV+AV$  แสดงผลในรูปที่ 4.2 พบว่า น้ำสลัดทุกสูตรเมื่อผ่านการเก็บเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ค่า TOTOX มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน



รูปที่ 4.2 ค่า TOTOX ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์

จากตารางที่ 4.13 แสดงสมการทางคณิตศาสตร์ ของค่า TOTOX ของน้ำสลัด เมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อพิจารณาค่าความชันของแต่ละสมการ พบว่าเมื่อเติมสารสกัดจากโสมกะกอน้ำเพิ่มขึ้น ค่าความชันของสมการมีค่าลดลง ซึ่งค่าความชันที่ลดลงนี้ บ่งบอกได้ถึงอัตราการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำสลัดมีค่าน้อยลงเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดจากโสมกะกอน้ำ

ตารางที่ 4.13 สมการทางคณิตศาสตร์ และค่า  $R^2$  ของค่า TOTOX ของน้ำสลัด เมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์

	สมการทางคณิตศาสตร์จากการทดลอง	ค่า $R^2$
ตัวอย่างควบคุม	$y = 1.805x + 4.454$	$R^2 = 0.9635$
SP-200	$y = 1.343x + 3.91$	$R^2 = 0.9609$
SP-400	$y = 0.892x + 3.216$	$R^2 = 0.8367$
SP-800	$y = 0.729x + 3.196$	$R^2 = 0.7988$
SP-1600	$y = 0.593x + 2.544$	$R^2 = 0.6924$

จากการศึกษาของ Eidhin and O'Beirne (2010) ที่ศึกษาเสถียรภาพในการเกิดออกซิเดชันของ camelina oil ที่อุดมไปด้วย omega-3 ในผลิตภัณฑ์อาหาร ได้แก่ น้ำสลัดที่เติมกระเทียม basil chilli และ มัสตาร์ด เพื่อเป็นสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ และน้ำมันทอดเปรียบเทียบกับน้ำมันทานตะวัน เก็บรักษาเป็นเวลาประมาณ 3 เดือน โดยวิเคราะห์ค่า PV ค่า AV และ ค่า TOTOX พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น ค่า PV AV และ TOTOX ของผลิตภัณฑ์อาหารมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน เกิดสารประกอบเปอร์ออกไซด์ และไฮโดรเปอร์ออกไซด์ขึ้น นอกจากนั้นการเติมสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติสามารถช่วยชะลอการเกิดออกซิเดชันในน้ำสลัดได้

#### 4.3.8 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา

จากผลการทดลองพบว่า น้ำสลัดทุกสูตรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลง ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) น้ำสลัดสูตรที่ไม่เติมสารจาก ไบมะกอกน้ำ (ตัวอย่างควบคุม) พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดหลงเหลืออยู่ อาจ เนื่องจากนํ้ามันรำข้าวและนํ้ามันทานตะวันบีบเย็นมีสารในกลุ่มโทโคฟีรอล โทโคไตรอีนอล รวมถึงโพลีฟีนอลอื่นๆ ซึ่งสารเหล่านี้มีความเสถียรต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน ( พันทิพา จันทวัฒน์ และคณะ 2548; นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548) อีกทั้งนํ้ามะนาวและผงมัสดาร์ตที่เป็นส่วนประกอบ ของน้ำสลัด มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันได้ (Wu et al., 2004) น้ำสลัดที่เติมสารจากไบ มะกอกน้ำ 200 400 800 และ 1600 ppm จะมีเปอร์เซ็นต์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เหลืออยู่ เท่ากับ 84.95 82.27 87.04 85.05 และ 82.09 % ตามลำดับ เนื่องจากสารสกัดจากไบมะกอกน้ำ เป็นสารต้านออกซิเดชันตามธรรมชาติ อาจถูกนำไปใช้ในปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือเสื่อมสภาพลง ในระหว่างการเก็บรักษา (Shahidi and Naczki, 2004) ดังแสดงในตารางที่ 14.14 ซึ่งสอดคล้อง กันกับงานวิจัยของชิซุมพร พิมพ์แก้ว (2553) ที่เก็บรักษานํ้ามันผสมที่เติมสารสกัดจากไบ มะกอกน้ำ ที่อุณหภูมิห้องและ  $40^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 4 เดือน พบว่าเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในนํ้ามันลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่นํ้ามันผสมที่เก็บที่ อุณหภูมิห้องจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่านํ้ามันที่เก็บที่อุณหภูมิ  $40^{\circ}\text{C}$  สามารถอธิบายได้ว่าสารต้านออกซิเดชันสามารถถูกทำลายได้ด้วยความร้อน เมื่อเก็บรักษาที่ อุณหภูมิสูง เป็นเวลานาน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สามารถบอกถึงความสามารถใน การต้านออกซิเดชันในนํ้ามันได้ หากมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมาก นํ้ามันจะเกิดปฏิกิริยา ออกซิเดชันได้ยาก ทำให้นํ้ามันมีความคงตัวหรือมีเสถียรภาพในการเก็บรักษาได้ดี

#### 4.3.9 ค่า DPPH radical scavenging activity ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา

จากผลการทดลอง เมื่อเก็บรักษาน้ำสลัดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ค่า DPPH radical scavenging activity มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เหลืออยู่ 33% โดยเฉลี่ย ทั้งนี้ ผลการทดลองดังกล่าวมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับการลดลงของปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมด ในน้ำสลัดเมื่อผ่านการเก็บรักษาที่ระยะเวลาดังกล่าว ดังแสดงในตารางที่ 14.15 เมื่อระยะเวลาในการเก็บนานขึ้น สารต้านออกซิเดชันสามารถถูกทำลายได้มากขึ้น ส่งผลให้ ความสามารถในการกำจัดสารอนุมูลอิสระในรูปของค่า DPPH radical scavenging activity ของ การเติมสารสกัดดังกล่าวมีค่าลดลง (ชิซุมพร พิมพ์แก้ว, 2553)

ตารางที่ 4.14 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครกรัมกรดแกลลิก/มิลลิลิตร) ของน้ำสลัดที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ และเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์

	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	ปริมาณฟีนอลิก ทั้งหมดที่เหลืออยู่ (%)
ตัวอย่างควบคุม	300.95 <sup>a</sup> ± 4.93	295.20 <sup>a</sup> ± 31.10	274.36 <sup>ab</sup> ± 11.77	270.48 <sup>ab</sup> ± 11.91	255.65 <sup>c</sup> ± 6.45	84.95
200ppm <sup>ns</sup>	315.50 ± 9.51	233.26 ± 89.66	277.11 ± 25.29	272.07 ± 31.99	259.57 ± 10.50	82.27
400ppm	298.22 <sup>a</sup> ± 16.44	276.09 <sup>ab</sup> ± 7.72	302.50 <sup>a</sup> ± 16.93	254.97 <sup>b</sup> ± 26.52	259.56 <sup>b</sup> ± 11.41	87.04
800ppm	312.32 <sup>a</sup> ± 7.24	300.61 <sup>ab</sup> ± 37.65	281.44 <sup>abc</sup> ± 9.11	257.79 <sup>c</sup> ± 8.56	265.63 <sup>bc</sup> ± 14.58	85.05
1600ppm	320.56 <sup>a</sup> ± 14.69	296.01 <sup>ab</sup> ± 25.68	281.46 <sup>ab</sup> ± 32.93	265.82 <sup>b</sup> ± 17.64	263.16 <sup>b</sup> ± 8.55	82.09

a, b, c ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

ns หมายถึง ตัวเลขที่อยู่ในแถวเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

ตารางที่ 4.15 ค่า DPPH radical scavenging activity (%) ของน้ำสลัดที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ และเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์

	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	DPPH radical scavenging activity ที่เหลืออยู่ในน้ำสลัด (%)
ตัวอย่างควบคุม	18.08± 0.63 <sup>a</sup>	18.52±3.32 <sup>a</sup>	7.65±0.45 <sup>b</sup>	6.80±0.61 <sup>b</sup>	6.18±1.05 <sup>b</sup>	34.18
200ppm	18.03±1.44 <sup>a</sup>	20.05±2.32 <sup>a</sup>	7.29±0.66 <sup>b</sup>	6.89±0.61 <sup>b</sup>	6.44±0.35 <sup>b</sup>	35.72
400ppm	18.13±0.22 <sup>a</sup>	18.72±3.03 <sup>a</sup>	7.14±1.08 <sup>b</sup>	6.36±1.08 <sup>b</sup>	5.86±0.72 <sup>b</sup>	32.32
800ppm	17.38±0.51 <sup>a</sup>	17.07±3.87 <sup>a</sup>	6.78±0.33 <sup>b</sup>	6.40±0.33 <sup>b</sup>	5.79±0.52 <sup>b</sup>	33.31
1600ppm	18.00±0.32 <sup>a</sup>	22.31±8.31 <sup>a</sup>	6.64±0.82 <sup>b</sup>	6.44±0.82 <sup>b</sup>	5.61±0.72 <sup>b</sup>	31.16

a, b ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.3.10 สมบัติทางจุลชีววิทยา

ผลการทดสอบคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ แสดงในตารางที่ 4.16 พบว่า ตลอดการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ น้ำสลัดทุกสูตรมีปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา อยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัย ไม่เกินที่มาตรฐานอุตสาหกรรมได้กำหนดไว้ คือ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องน้อยกว่า 1000 CFU/g ยีสต์และรา ต้องน้อยกว่า 10 CFU/g อาจเนื่องมาจากน้ำสลัดที่เตรียมในงานวิจัยนี้มีค่า pH อยู่ในช่วง 2.9-3.5 ซึ่งจัดว่าเป็นอาหารที่มีสภาพเป็นกรด (acid food) ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ อีกทั้งค่า  $a_w$  ของน้ำสลัดมีค่าประมาณ 0.8 ซึ่งเป็นค่า  $a_w$  ต่ำสุดที่ยีสต์และราจะเจริญได้ (ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์ และสุดสาย ตวีวานิช, 2549)

ตารางที่ 4.16 ปริมาณจุลินทรีย์ของน้ำสลัดสูตรต่างๆ ที่ระยะเวลาเก็บรักษาต่างๆ ที่อุณหภูมิ 4 °C

	จุลินทรีย์	ระยะเวลาการเก็บรักษา		
		สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4
ตัวอย่าง	จุลินทรีย์ทั้งหมด	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g
ควบคุม	ยีสต์และรา	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g
SP-200	จุลินทรีย์ทั้งหมด	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g
	ยีสต์และรา	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g
SP-400	จุลินทรีย์ทั้งหมด	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g
	ยีสต์และรา	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g
SP-800	จุลินทรีย์ทั้งหมด	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g
	ยีสต์และรา	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g
SP-1600	จุลินทรีย์ทั้งหมด	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g
	ยีสต์และรา	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g	< 10 CFU/g

#### 4.3.11 การประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำสลัดสูตรต่างๆ

ผลการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำสลัดสูตรต่างๆ โดยใช้การทดสอบฮีดอนิกแบบ 7 จุด ( seven-point hedonic) ใช้ผู้ทดสอบแบบผู้บริโภค (customer-type panels) ที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 43 คน ประเมินความชอบในด้านลักษณะปรากฏ สี เนื้อสัมผัส รสชาติ กลิ่น และความชอบโดยรวม พบว่าคะแนนการยอมรับของน้ำสลัด ทั้ง 5 สูตร ด้านสี กลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัส ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนทางด้านลักษณะปรากฏ และความชอบโดยรวมมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยสูตรที่ได้รับการยอมรับมากที่สุด เมื่อพิจารณาจากลักษณะปรากฏและความชอบโดยรวม คือ น้ำสลัดที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ 400 ppm (SP-400) ดังแสดงในตารางที่ 4.17

ตารางที่ 4.17 คะแนนการยอมรับของผู้บริโภคในการทดสอบทางประสาทสัมผัสต่อน้ำสลัดสูตรต่างๆ

	คะแนนเฉลี่ยสำหรับ					ความชอบโดยรวม
	ลักษณะปรากฏ	สี <sup>ns</sup>	กลิ่น <sup>ns</sup>	รสชาติ <sup>ns</sup>	เนื้อสัมผัส <sup>ns</sup>	
ตัวอย่างควบคุม	4.67 <sup>b</sup> ±1.13	5.16±0.97	4.33±1.25	3.84±1.68	4.07±1.53	3.98 <sup>b</sup> ±1.46
SP-200	4.60 <sup>b</sup> ±1.24	5.16±1.02	4.16±1.34	4.05±1.59	4.19±1.45	4.19 <sup>b</sup> ±1.47
SP-400	5.16 <sup>a</sup> ±1.17	5.40±0.90	4.44±1.22	4.28±1.39	4.33±1.39	4.65 <sup>a</sup> ±1.13
SP-800	4.81 <sup>b</sup> ±1.12	5.23±0.92	4.07±1.37	3.86±1.30	4.16±1.48	4.07 <sup>b</sup> ±1.08
SP-1600	5.14 <sup>a</sup> ±1.13	5.40±0.88	4.02±1.37	3.88±1.71	4.26±1.42	4.12 <sup>b</sup> ±1.20

a, b ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

ns หมายถึง ตัวเลขที่อยู่ในสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )



## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัด ศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากใบมะกอกน้ำและการประยุกต์ในน้ำสลัดที่ใช้น้ำมันผสมเป็นน้ำมันพื้นฐาน พบว่า

1. ภาวะในการสกัดมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการต้านออกซิเดชัน ( $p \leq 0.05$ ) โดยพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 468-628 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร
2. การสกัดสารจากใบมะกอกน้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เป็นภาวะที่มีค่า AE มากที่สุด ซึ่งมีค่า  $EC_{50}$  น้อยที่สุด (30 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร) จึงถูกเลือกให้เป็นภาวะที่เหมาะสมในการสกัดในงานวิจัยครั้งนี้ โดยคำนึงถึงความยากง่ายและราคาที่ใช้ในการสกัด เมื่อเปรียบเทียบกับภาวะอื่นๆ
3. ในสารสกัดที่สกัดได้ มี gallic acid epigallocatechin catechin และ gallocatechin เป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชัน และถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลสูงมาก (very high antiradical efficiency group)
4. เมื่อศึกษาองค์ประกอบ และแปรสัดส่วนของน้ำมันรำข้าวกับน้ำมันทานตะวันบีบเย็น พบว่า อัตราส่วนที่สอดคล้องกับคำแนะนำของ AHA มีค่าเท่ากับ 4:1
5. จากการศึกษาสมบัติและเสถียรภาพการเก็บรักษาน้ำสลัดที่เติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำในปริมาณต่างๆ พบว่า ค่า  $L^*$   $b^*$  ลดลง และ  $a^*$  เพิ่มขึ้น รวมทั้งขนาดของหยดน้ำมันมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บนานขึ้น
6. เมื่อพิจารณาค่าความชื้นจากสมการทางคณิตศาสตร์ ของค่า Total oxidation (TOTOX) พบว่าเมื่อเติมสารสกัดจากใบมะกอกน้ำเพิ่มขึ้น ค่าความชื้นของสมการมีค่าลดลง ซึ่งบอกได้ถึงอัตราการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำสลัด ที่มีค่าน้อยลงเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดจากใบมะกอกน้ำมากขึ้น
7. ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา น้ำสลัดทุกสูตร มีค่าดัชนีความเสถียรของอิมัลชัน ค่า firmness และ ค่า index of viscosity ไม่เปลี่ยนแปลง จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา ไม่เกินกำหนดในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 1402-2540)

8. ผลการทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส เมื่อพิจารณาจากค่าลักษณะปรากฏและความชอบโดยรวม พบว่า น้ำสลัดที่เติมสารจากใบมะกอกน้ำ 400 ppm เป็นสูตรที่ผู้บริโภคยอมรับมากที่สุด

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการศึกษาความคงตัวของสารสกัดจากใบมะกอกน้ำที่อุณหภูมิห้อง เพื่อศึกษาการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีการขนส่งและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิดังกล่าว

5.2.2 ประยุกต์สารสกัดจากใบมะกอกน้ำลงในผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น ที่มีส่วนประกอบของไขมัน เช่น นม ไอศกรีม เนยเทียม เป็นต้นเพื่อช่วยในเรื่องสมบัติในการต้านออกซิเดชัน

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

- เกศณี ลิขิตเกรียงไกร และสุภาพนีย์ ลีติวร . 2549. การพัฒนาน้ำมันผสมสำหรับทอดแบบน้ำมันท่วม. โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ศิษัมพร พิมพ์แก้ว . 2553. การพัฒนาน้ำมันผสมสำหรับทอดที่ประกอบด้วยกรดไขมันโอเมก้า 3 และ 6 ให้มีเสถียรภาพต่อการเก็บรักษาโดยใช้สารต้านออกซิเดชันตามธรรมชาติที่สกัดจากใบมะกอกน้ำ *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ดิษยา พรพัฒน์นางกูร . 2548. การวิเคราะห์สารสกัดจากใบมะกอกเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง. โครงการการเรียนการสอนเพื่อส่งเสริมประสบการณ์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- นิตยา รัตนานนท์ . 2548. วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน . พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์, 244
- นิตยา รัตนานนท์. 2553. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์, 504
- ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์ และสุดสาย ตีรวานิช. 2549. จุลินทรีย์ในอาหาร. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 5 กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 528
- พันธิพา จันทวัฒน์, ศศิกานต์ กุ้งษ์ศักดิ์, สุเมธ ต้นตระเจียร และอินทาวุธ สรรพวรสถิตย์ . 2548. การศึกษาข้อมูลด้านสมบัติทางกายภาพเคมีและคุณค่าทางโภชนาการของน้ำมันบริโภค . กรุงเทพมหานคร: ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- พรพนทิพา เจริญไทยกิจ. 2546. การใช้ประโยชน์สารสกัดจากหัวกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เพื่อใช้เป็นวัตถุกันหืนธรรมชาติในผลิตภัณฑ์น้ำมันถั่วเหลือง และมายองเนส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชา พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- ลีนา ผู้พัฒนาพงศ์. 2530. สมุนไพรไทยตอนที่ 5. กรุงเทพมหานคร : กรมป่าไม้, 632

- ศรุดา สถิตวรวพจนา. 2554. สมบัติและเสถียรภาพของมายองเนสที่ใช้ น้ำมันผสมระหว่างน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันรำข้าวเป็นน้ำมันพื้นฐาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม. 2540. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมมายองเนสและสลัดครีม. เล่มที่ 114. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงอุตสาหกรรม
- อธิยา เว็องจักรเพ็ชร และ ธนะบุญย์ สัจจาอนันตกุล. 2550. ผลอายุการเก็บเกี่ยวมะกอกน้ำต่อปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และกิจกรรมสารต้านออกซิเดชัน. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ฉบับพิเศษ ประจำปี 2550: 127-130
- โสภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง, จันทนา บุญยะรัตน์ และ มาลีรักษ์ อัดดีสินทอง. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ. นนทบุรี: พี.เอส.พริ้นท์, 200

### ภาษาอังกฤษ

- AOCS. 2009. Official Method and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 6<sup>th</sup> ed. Illinois: American Oil Chemists' Society
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel Wissenschaft and Technologie. 28: 25-30
- Cabrera, C., Artacho, R. and Giménez, R. 2006 Beneficial effects of green tea-a review. Journal of the American College of Nutrition. 25(2): 79-99
- Chiou, A., Kalogeropoulos, N., Salta, F.N., Efstathiou, P. and Andrikopoulos, N.K. 2009. Pan-frying of French fries in three different edible oils enriched with olive leaf extract: Oxidative stability and fate of microconstituents. LWT-Food Science and Technology. 42: 1090-1097
- Depree, J. A. and Savage, G. P. 2001. Physical and flavor stability of mayonnaise. Trends in Food Science and Technology. 12: 157-163
- Dickinson, E. and McClements, D. J. 1996. Advances in Food Colloids. London: Blackie Academic & Professional

- Ebada, S. S., Edrada, R. A., Lin, W. and Proksch, P. 2008. Methods for isolation, purification and structural elucidation of bioactive secondary metabolites from marine invertebrates. Nature Protocols. 3: 1820 - 1831
- Farag, R. S., Mahmoud, E. A. and Basuny, A. M. 2007. Use crude olive leaf juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during heating. International Journal of Food Science and Technology. 42: 107-115
- Frankel, E. N. and Huang, S. W. 1996. Evaluation of antioxidant activity of rosemary extract, carnosol and carnosic acid in bulk vegetable oils and fish oil and their emulsion. Journal of the Science of Food and Agriculture. 72: 201-208
- Frankel, E. N., 2005. Lipid Oxidation. Bridgwater: The Oily Press
- Gramza, A., Pawlak-Lemanska, K., Korczak, J., Wasowicz, E. and Rudzinska, M. 2005. Tea extracts as free radical scavengers. Polish Journal of Environmental Studies. 6: 861-867
- Gunstone, F. D. 2002. Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses. Berlin: Blackwell Publishing
- Kubula, J. and Siriamornpun, S. 2008 Phenolic contents and antioxidant activities of bitter melon (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. Food Chemistry. 100: 881-890
- James, C. S. 1995. Analytical Chemistry of Foods. 1<sup>st</sup> ed. London: Blackie Academic & Professional
- Lalas, S., Athanasiadis, V., Gortzi, O., Bounitsi, M. and Giovanoudis, I. 2011. Enrichment of table olives with polyphenols extracted from olive leaves. Food Chemistry. 127:1521-1525
- Let, M. B., Jacobsen, C. and Meyer, A. S. 2007. Ascorbyl palmitate,  $\gamma$ -tocopherol and EDTA affect lipid oxidation in fish oil enriched salad dressing differently. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55: 2369-2375
- Madsen, H. L., Andersen, C. M., Jørgensen, L. V. and Skibsted, L. H. 2000. Radical scavenging by dietary flavonoids. A kinetic study of antioxidant efficiencies. European Food Research and Technology. 211: 240-246

- Madsen, H. L., Serensen, B., Skibsted, L. H. and Bertelsen, G. 1998. The antioxidative activity of summer savory (*Satureja hortensis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in dressing stored exposed to light or in darkness. Food Chemistry. 63(2): 173-180
- Maturin, L. J. and Peeler, J. T. 2001. Bacteriological Analytical Manual. [Online]. Available from:[http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/Laboratory Methods/ucm063346.htm](http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063346.htm) [2013, January 13]
- McClements, D. J. 2005. Food Emulsion: Principles, Practices and Techniques, 2<sup>nd</sup> ed. Boca Raton: CRC Press
- McClements, D. J. 2008. Lipid-based emulsions and emulsifiers. In Akoh, C. C. and Min, D. B. (eds.), Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology. pp. 63-97. Boca Raton: CRC Press
- McClements, D. J. and Decker, E. A. 2000. Lipid oxidation in oil-in water emulsions: impact of molecule environments on chemical reactions in heterogeneous food systems. Journal of Food Science. 65(8): 1270-1282
- McClements, D. J. and Decker, E. A. 2008. Lipids In Damodran, S., Parkin, K.L. and Fennema, O.R. (eds.), Fennema's Food Chemistry. pp. 156-182. Boca Raton: CRC Press
- Mirhosseini, H., Tan, C. P., Hamid, N. S. A. and Yusof, S. 2008. Effect of arabic gum, xanthan gum and orange oil content on  $\zeta$ - potential, conductivity, stability, size index and pH of orange beverage emulsion. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 315: 47-56
- Nanasombat, S., Khanha, K., Phan-im, J., Wannasomboon, S., Patradisakorn, S. and Wongsil, A. 2012. Antimicrobial and antioxidant activities of Thai local fruit extracts: Application of a selected fruit extract, *Phyllanthus embica* Linn. As a natural preservative in raw ground pork during refrigerated storage. The Online Journal of Science and Technology. 2(1): 1-7

- Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M. 2001. Antioxidants in Food: Practical Applications. Boca Raton: CRC Press; Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited
- Prior, R.L., Wu, X. and Schaich, K. 2005. Standardized method for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53: 4290-4302
- Santipanichwong, R. and Supphantharika, M. 2007. Carotenoids as colorants in reduced-fat mayonnaise containing spent brewer's yeast  $\beta$ -glucan as a fat replacer. Food Hydrocolloids. 21: 565-574
- Shahidi, F. and Naczk, M. 2004. Phenolics in food and nutraceuticals Boca Raton: CRC Press
- Siger, A., Nogla-kalucka, M. and Lampart-Szczapa, E. 2007. The content antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. Journal of Food Lipid. 15: 137-149
- Smith, J. and Charter, E. 2010. Functional Food Product Development. Wiley-Blackwell Publishing Limited
- Tananuwong, K. and Tewaruth, W. 2010. Extraction and application of antioxidants from black glutinous rice. LWT-Food Science and Technology. 43: 476-481
- Tournas, V., Stack, M. W., Mislivec, P. B., Koch, H. A. and Bandler, R. 2001. Bacteriological Analytical Manual. [Online]. Available from: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071435.htm>. [2013, January 13]
- Waterhouse, A. L. 2005. Determination of total phenolics. In Wrolsrud, R. E., Acree, T. E., Decker, E. A., Penner, M. H., Reid, D. S., Schwartz, S. J., Shoemaker, C. F., Smith, D. and Sporns, P. (eds), Handbook of food analytical chemistry. pp. 463-470. Hoboken: J. Wiley

- Wong, S. P., Leong, L. P. and Koh, J. H. W. 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. Food Chemistry. 99(4): 775-783
- Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J., Haytowitz, D. B. and Prior R. L. 2004. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52: 4026-4037



ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

## วิธีการวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

## ก.1 การสกัดสารต้านออกซิเดชันจากตัวอย่างน้ำสลัดก่อนนำไปวิเคราะห์

ดัดแปลงจาก James 1995

- 1) ชั่งตัวอย่างน้ำสลัด 10 กรัม ใส่ลงใน stopped-erlenmeyer flask
- 2) เติม 95% methanol ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ปิดจุก และเขย่าเป็นเวลา 1 นาที
- 3) เปิดจุก แล้วนำไปใส่อ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 45 °C เป็นเวลา 15 นาที
- 4) เทของเหลวทั้งหมดลงในกรวยแยก (separatory funnel) ขนาด 250 มิลลิลิตร ปล่อยให้ตั้งไว้ให้แยกชั้น โดยส่วนน้ำมันอยู่ชั้นล่าง และส่วน methanol อยู่ชั้นบน
- 5) ไซ้ชั้นน้ำมันลงใน Erenmeyer flask เพื่อนำไปสกัดซ้ำอีกครั้ง ส่วนชั้น methanol แยกเก็บไว้ต่างหาก
- 6) นำชั้นน้ำมันไปสกัดซ้ำ โดยเติม 95% methanol ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ปิดจุกและเขย่าเป็นเวลา 1 นาที
- 7) เปิดจุก แล้วนำไปใส่อ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 45 °C เป็นเวลา 15 นาที
- 8) เทของเหลวทั้งหมดลงในกรวยแยก (separatory funnel) ขนาด 250 มิลลิลิตรปล่อยให้ตั้งไว้ให้แยกชั้น ไซ้ชั้นน้ำมันทิ้ง และใส่ของเหลวชั้น methanol ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 9) ปรับปริมาตร ด้วย 95% methanol
- 10) เติม calcium carbonate 1 กรัม เขย่าประมาณ 1 นาที เพื่อ neutralize
- 11) กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ทิ้งสารที่กรองผ่านออกมาประมาณ 2 มิลลิลิตร แล้วจึงเก็บสารที่กรองได้ หากสารที่กรองได้ไม่ใสให้ทำตามข้อ 10-11 ซ้ำ

## ก.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ตามวิธีของ Waterhouse (2005)

### อุปกรณ์

เครื่อง spectrophotometer (Spectronic รุ่น Genesys 10UV, USA)

### สารเคมี

1. สารละลาย Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Merck, Germany)
2. สารละลาย Sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) อิมิตัว
3. สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

#### วิธีเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

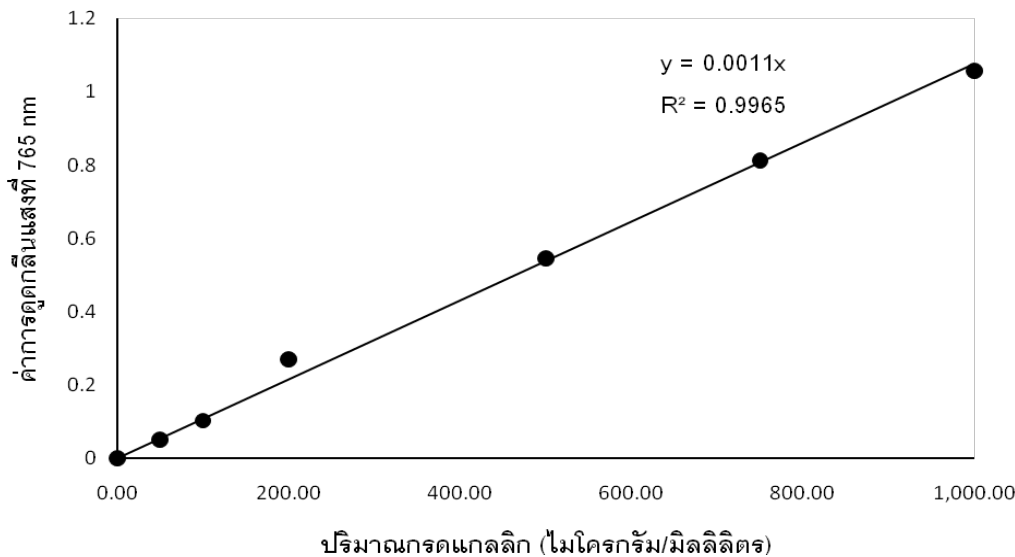
1. ชั่งกรดแกลลิก 0.5 กรัม ละลายในเอทานอล 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเท่ากับ 5 กรัมต่อลิตร
2. ปิเปตสารละลายจากข้อ 1 ปริมาตร 1, 2, 5, 10, 15 และ 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 50, 100, 250, 500, 750 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สามารถเก็บไว้ใช้ได้ไม่เกิน 2 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

#### วิธีเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิมิตัว

1. ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 200 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ให้ความร้อนจนโซเดียมคาร์บอเนตละลายหมด ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
2. เติมเกล็ดโซเดียมคาร์บอเนตลงไป ในสารละลายข้อ 1 เล็กน้อย ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง
3. นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง

### การสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่น 7 มิลลิลิตร ตามด้วย สารละลาย Folin-ciocalteu ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 นาที
3. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัว ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
4. เมื่อครบเวลา นำสารละลายดังกล่าว ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ blank (น้ำกลั่น)
5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาตรละลายกรดแกลลิก ดังรูปที่ ก.1



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

### วิธีการวิเคราะห์

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง(ทั้งสารสกัดจากใบมะกอกน้ำและสารสกัดจากน้ำสลัดจากภาคผนวก ก.1) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่น 7 มิลลิลิตร ตามด้วย สารละลาย Folin-ciocalteau ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 นาที
3. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตคิมตัว ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
4. เมื่อครบเวลา นำสารละลายดังกล่าว ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ blank (น้ำกลั่น)
5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐาน กรดแกลลิก รายงานค่าเป็น mg gallic acid equivalent (GAE)/g sample

### ก.3 การวิเคราะห์หาค่า DPPH radical-scavenging activity ของสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ

ดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams และคณะ (1995) และ Tananuwong and

Tewaruth (2010)

#### อุปกรณ์

เครื่อง Spectrophotometer (Spectronic รุ่น Genesys 10UV, USA)

#### สารเคมี

1. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (SIGMA-ALDRICH, Germany)
2. เมทานอล (A.R. grade)
3. Butylated hydroxyanisole (BHA) ความเข้มข้น 0.001 M

#### วิธีการเตรียมสารละลาย DPPH

ชั่งสาร DPPH ปริมาณ 4 มิลลิกรัม ละลายในเมทานอลประมาณ 50 มิลลิลิตร เติงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยเมทานอล จะได้สารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ  $1 \times 10^{-4}$  M เก็บสารละลาย DPPH ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่เกิน 5 วัน (ควรเตรียมสารละลาย DPPH ใหม่ทุกครั้งเมื่อทำการทดลอง เนื่องจาก DPPH เป็นอนุมูลอิสระซึ่งสามารถดึงอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลข้างเคียงหรือจับกับออกซิเจน ได้อนุมูลอิสระตัวใหม่ นอกจากนั้นอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นอาจรวมกันได้เป็นสารที่มีความเสถียร ทำให้ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ที่เตรียมได้เปลี่ยนไป ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์จะคลาดเคลื่อน)

#### วิธีการวิเคราะห์

- 1) ชั่งสารสกัดจากใบมะกอกน้ำ 0.1 กรัม ละลายด้วยน้ำ 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร จะได้สารสกัดจากใบมะกอกน้ำความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
- 2) ปิเปตสารสกัดตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 1 มาปริมาตรต่างๆ ดังตารางที่ ก.1
- 3) เติมเมทานอลปริมาตรต่างๆ ให้ได้ปริมาตรสารละลายรวมเท่ากับ 1 มิลลิลิตร (ทำเช่นเดียวกัน สำหรับหลอดทดลองที่มีสารละลายมาตรฐาน BHA)
- 4) เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จะได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 5 มิลลิลิตร เท่ากันทุกหลอดทดลอง

- 5) เขย่าสารละลายทั้งหมดให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที
- 6) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้ไปคำนวณหา % Radical scavenging activity โดยใช้สูตรตามสมการ

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = [1 - (A_{\text{control}} / A_{\text{sample}})] \times 100$$

$A_{\text{control}}$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่เติมสารสกัดตัวอย่าง

$A_{\text{sample}}$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่เติมสารสกัดตัวอย่าง

- 7) ค่า % radical scavenging activity ที่คำนวณได้ นำไปวาดกราฟเส้นตรงกับความเข้มข้นของตัวอย่าง ได้เป็นค่า  $EC_{50}$  ( $EC_{50}$  คือ ค่าความเข้มข้นของสารต้านการออกซิเดชันสูงสุดที่ทำให้อนุมูลอิสระลดลงไปได้ 50%) โดยรายงานเป็น  $\mu\text{g/ml}$

ตารางที่ ก.1 ปริมาตรของสารสกัดจากใบมะกอกน้ำในการวิเคราะห์ค่า DPPH radical-scavenging activity

ปริมาตรสารสกัด (ml)	ปริมาตรเมทานอล (ml)	ปริมาณ DPPH (ml)
0.00	1.00	3.00
0.02	0.98	3.00
0.05	0.95	3.00
0.10	0.90	3.00
0.20	0.75	3.00
0.50	0.50	3.00
1.00	0.00	3.00

#### ก.4 วิธีวิเคราะห์ DPPH ของตัวอย่างน้ำสกัด

ดัดแปลงจากวิธีของ Kubola and Siriamornpun (2008)

##### วิธีการวิเคราะห์

1. ปิเปิดตัวอย่างจากภาคนวก ก.1 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง
2. เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-4}$  M ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
3. ตั้งสารละลายดังกล่าวทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร
4. คำนวณค่า DPPH radical-scavenging activity จากสูตร

$$\% \text{ inhibition} = \frac{A_0 - A_e}{A_0} \times 100$$

เมื่อ  $A_0$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่เติมสารละลายตัวอย่าง

$A_e$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่เติมสารละลายตัวอย่าง



### ก.5 การวิเคราะห์หาค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value)

ตามวิธีของ AOCS: Cd 8-53 (1998)

#### สารเคมี

1. สารละลาย acetic acid-chloroform  
เตรียมโดยผสม acetic acid กับ chloroform ในอัตราส่วน 3:2
2. สารละลาย potassium iodide (KI)  
เตรียมโดยละลาย KI อิมตัว เก็บในขวดสีชา
3. สารละลายมาตรฐาน sodium thiosulfate ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) ความเข้มข้น 0.1 N  
เตรียมโดยสารละลาย sodium thiosulfate จำนวน 24.9 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร เก็บในขวดสีชาสารละลายที่ได้มีความเข้มข้น 0.1 N กรณีที่น้ำมันที่นำมาวิเคราะห์มีค่า peroxide value (PV) ต่ำไม่เกิน 2 mEqv. $\text{O}_2/\text{kg}$  ควรใช้ sodium thiosulphate 0.1 N ทำการ standardized จนทราบความเข้มข้นที่แน่นอน ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มเพื่อไล่ออกซิเจน
4. สารละลายน้ำแป้งสุก 1%  
เตรียมโดยชั่งแป้ง (potato starch iodometry) 1 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร และ เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร คนให้ละลายและนำไปต้มนาน 2-3 นาที

#### การ Standardization สารละลาย Sodium thiosulphate

1. อบ potassium dichromate ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์
2. ชั่งน้ำหนัก  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  ให้มีน้ำหนักแน่นอนระหว่าง 0.16-0.2 กรัม ใน flask ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร และ hydrochloric acid (HCl) 5 มิลลิลิตร
3. เติม KI อิมตัว 20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ในที่มีดประมาณ 5 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

4. ไทเทรตด้วยสารละลาย sodium thiosulphate เขย่าตลอดเวลา จนกระทั่งสีเหลืองของสารละลายจางหายไปเกือบหมด เติมน้ำแฉ่งเพื่อเป็นอินดิเคเตอร์ 2 มิลลิลิตร จะได้สารละลายสีน้ำเงินไทเทรตต่ออย่างช้าๆ จนกระทั่งสีน้ำเงินจางหายไป
5. คำนวณความเข้มข้นของสารละลาย sodium thiosulphate มาตรฐาน จากสูตร

$$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \text{ (N)} = \frac{20.394 \times \text{น้ำหนักของ } \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \text{ ที่ชั่งได้ (กรัม)}}{\text{ml ของสารละลาย } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}}$$

#### วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 5.00±0.05 กรัมลงใน glass-stoppered Erlenmeyer ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย acetic acid:chloroform 3:2 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ปิดฝาจุก แล้วเขย่าให้ละลาย
3. เติมสารละลาย KI อิมิตัว ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าตลอดเวลา 1 นาที เมื่อครบเวลาให้เติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร ลงในขวดทันที
4. เติมสารละลายน้ำแฉ่ง 1 % ประมาณ 2 มิลลิลิตร สารละลายจะกลายเป็นสีน้ำเงิน
5. ไทเทรตอย่างช้าๆ ด้วยสารละลาย sodium thiosulphate 0.01 N เขย่าอย่างแรง ไทเทรตจนกระทั่งสีฟ้าจางหายไป
6. ทดลองกับ Blank (โดยทำเหมือนข้อ 1-5 ทุกประการ ยกเว้นไม่ต้องเติมตัวอย่าง) โดยการไทเทรต blank จะต้องใช้สารละลาย sodium thiosulphate 0.01 N ไม่เกิน 0.1 มิลลิลิตร
7. คำนวณค่า peroxide value จากสูตร

$$\text{Peroxide value (mEqv.O}_2\text{/kg)} = \frac{(S-B) \times N \times 1000}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

เมื่อ S = ปริมาตร (มิลลิลิตร) ของสารละลาย sodium thiosulphate ที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่างน้ำมัน

B = ปริมาตร (มิลลิลิตร) ของสารละลาย sodium thiosulphate ที่ใช้ในการไทเทรต blank

N = ความเข้มข้นของสารละลาย sodium thiosulphate

### ก.7 การวิเคราะห์หาค่า p-anisidine

ตามวิธีของ AOCS: Cd 18-90 (2009)

#### สารเคมี

1. สารละลาย isooctane (2,2,4-trimethylpentane)
2. สารละลาย glacial acetic acid
3. สารละลาย p-anisidine

เตรียมโดยละลาย p-anisidine 0.25 กรัม ในสารละลาย glacial acetic acid

ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

#### วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 0.5-4.0±0.001 กรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายตัวอย่างน้ำมันและปรับปริมาตรด้วยสารละลาย isooctane
2. ปิเปตสารละลายตัวอย่างจากข้อ 1. ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง 2 หลอด หลอดที่หนึ่งเติมสารละลาย p-anisidine ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และหลอดที่สอง ไม่เติมสารละลาย p-anisidine จากนั้นเตรียม blank โดยปิเปตสารละลาย isooctane ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย p-anisidine ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงใน หลอดทดลองที่สาม โดยไม่ต้องเติมสารละลายตัวอย่าง
3. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 350 นาโนเมตร
4. คำนวณค่า p-anisidine จากสูตร

$$\text{p-anisidine value (AV)} = \frac{25 \times (1.2A_s - A_b)}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

เมื่อ  $A_s$  = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างน้ำมันที่เติมสารละลาย p-anisidine

$A_b$  = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างน้ำมันที่ไม่เติมสารละลาย p-anisidine

## ภาคผนวก ข

### การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณคาเฟอีนและคาเทชิน 8 ชนิด

ตามวิธีของ ISO 14502-2 (2005)

#### เครื่องมือ

High Performance liquid chromatography (HPLC), Waters alliance รุ่น Water 966, USA

#### สารเคมี

- สารมาตรฐาน (-)-gallocatechin (GC) Sigma, USA
- สารมาตรฐาน (-)-epigallocatechin (EGC) Sigma, USA
- สารมาตรฐาน(+)-catechin (C) Sigma, USA
- สารมาตรฐาน (-)-epicatechin (EC) Sigma, USA
- สารมาตรฐาน (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) Sigma, USA
- สารมาตรฐาน caffeine (CF) Sigma, USA
- สารมาตรฐาน (-)-gallocatechin gallate (GCG) Sigma, USA
- สารมาตรฐาน (-)-epicatechin gallate (ECG) Sigma, USA
- สารมาตรฐาน (-)-catechin gallate (CG) Sigma, USA
- acetonitrile , Fluka, Germany
- trifluoroacetic acid (TFA) Fluka, Germany
- methanol (HPLC-grade) Fluka, Germany

#### การสกัดตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างใบแห้ง 2 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นที่เดือด (อุณหภูมิ 95 °C) ผสมให้เข้ากันด้วย magnetic stirrer กวนอย่างต่อเนื่องนาน 10 นาที
2. กรองสารละลายตัวอย่างผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 ใช้น้ำกลั่น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ล้างตะกอนที่เหลือให้กระดาษกรอง 3 ครั้ง
3. ปรับปริมาตรสารละลายตัวอย่างในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ึ่งให้สารละลายตัวอย่างเย็นที่อุณหภูมิห้อง
4. กรองด้วย PTFE ขนาด 0.45 µm ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC (ทดสอบตัวอย่างละ 2 ซ้ำ)

### การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ละลายสารมาตรฐาน GC, EGC, C, EC, EGCG, CF, GCG, ECG, CG ด้วยเมทานอล ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 999.0, 313.6, 412.0, 880.0, 911.8, 1036, 1000, 469, 832.0 และ 514.8 ตามลำดับ เก็บเป็น Stock solution จากนั้นผสมสารมาตรฐานโดยนำ Stock solution ของสารมาตรฐานแต่ละชนิดในปริมาตรที่เท่ากันมาผสมกัน จากนั้นกรองด้วย PTFE ขนาด 0.45µm ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC

### การวิเคราะห์ด้วย HPLC

เครื่อง HPLC รุ่น Water 966 ประกอบด้วย vacuum degasser, quaternary pump, auto-sampler, thermostatted column compartment และ photo diode array detector

#### สภาวะทดสอบ

- Column: Platinum EPS C18 reversed phase, 3µm (53×7 mm)
- Mobile phase: water/acetonitrile (87:13) ที่มี trifluoroacetic acid (TFA) 0.05% (v/v)
- Flow rate: 2ml/min
- Absorption wavelength: 210 nm
- Column temperature: 30 °C
- Sample injection 20µl

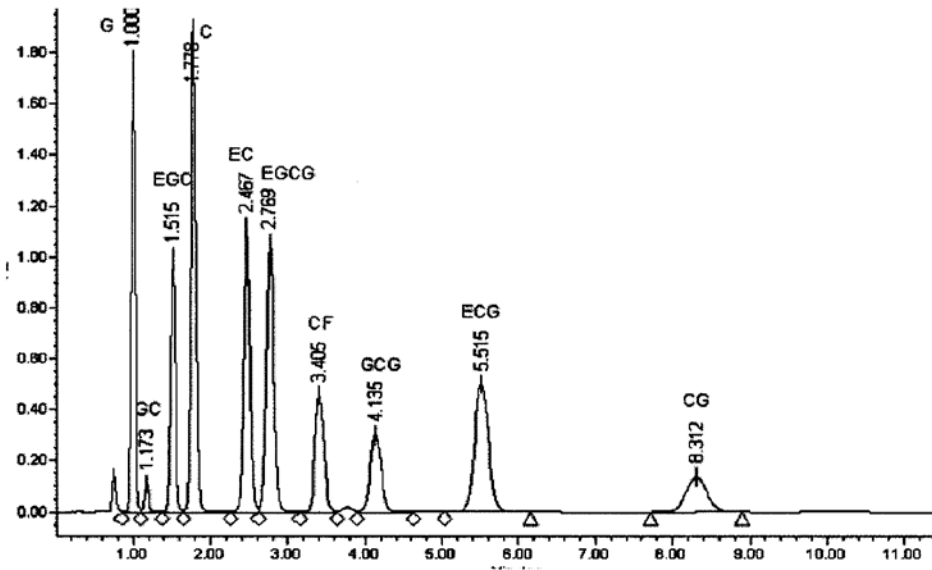
### การรายงานผล

นำจุดยอดของกราฟ (peak) ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับ retention time และ UV spectra ในช่วงความยาวคลื่น 190-400 nm กับกราฟของสารมาตรฐาน

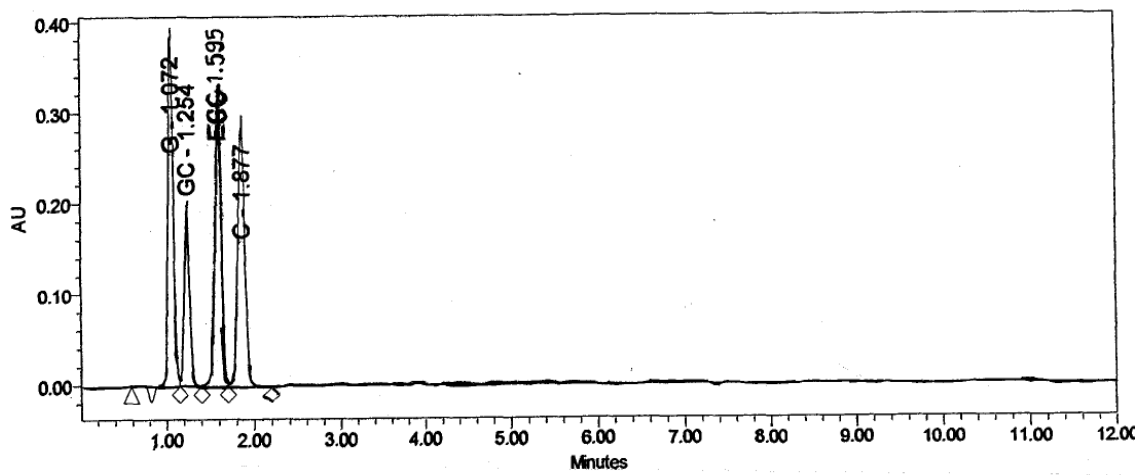
### การคำนวณ

$$\text{Caffeine or Catechins (g/100g db)} = \frac{C \times F \times V \times DF \times 100}{10000 \times W \times \%DM}$$

- C = ความเข้มข้น (µg/ml) ของสารเมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐาน
- F =  $RF_i / RF_{CF}$
- V = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง (ml)
- DF = dilution factor
- %DM = % dry matter
- W = น้ำหนักใบแห้ง (g)



Chromatogram of standards



รูปที่ ข.2 โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์สารสกัดจากใบมะกอกน้ำ

## ภาคผนวก ค

## วิธีวิเคราะห์หาองค์ประกอบกรดไขมันในน้ำมัน

ดัดแปลงจากวิธีของ Lepage และ Roy (1986)

## เครื่องมือ

เครื่อง Gas chromatography (GC-2010, SHIMADZU)

## วิธีการวิเคราะห์

1. การทำเมทิลเลชันและวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas chromatography
  - 1.1 ทำเมทิลเลชันโดยดูดตัวอย่างน้ำมัน 20 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีฝาเกลียว
  - 1.2 เติม menthanol:hexane (4:1) 2 มิลลิลิตร และค่อยๆ หยด Acetyl chloride 200  $\mu$ l (เขย่าระหว่างหยด) ปิดฝาให้แน่น
  - 1.3 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง
  - 1.4 เติม 6%  $K_2CO_3$  5 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่น เขย่าให้เข้ากัน
  - 1.5 ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ความเร็วรอบ 1000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 25 °C ให้เกิดการแยกชั้น
  - 1.6 ดูดส่วนบนที่เป็นชั้นของกรดไขมันที่ละลายอยู่ใน Hexane ใส่ไว้ในหลอดแก้วเก็บสาร
  - 1.7 ฉีดตัวอย่างปริมาตร 1 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง Gas chromatography เพื่อทดสอบหาสัดส่วนของกรดไขมันในตัวอย่าง
  - 1.8 ทดสอบตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

มีภาวะทดสอบ ดังต่อไปนี้

Injector : split (50:1)

Temperature : 250 °C

Capillary column : DB-23 ขนาด 30 m x 0.25 mm

Film thickness : 0.25  $\mu$ m

Initial temperature : 80 °C

Equilibration time : 0.5 นาที

Column oven temperature program :



Total program time : 42.00 นาที

Ramp1 : อัตรา 10 °C/min ถึง 180 °C คงไว้ 15 นาที

Ramp2 : อัตรา 4 °C/min

Final temperature : 200 °C คงไว้ 7 นาที

Detector : Flame Ionization Detector (FID)

Temperature : 300 °C

Makeup gas : N<sub>2</sub>/Air

Makeup flow : 30.0 mL/min

H<sub>2</sub> flow : 40.0 mL/min

Carrier gas : He

Total flow rate : 62.9 mL/min

## 2. การคำนวณ

$$\text{สัดส่วนของกรดไขมัน (\%)} = \frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟของกรดไขมันชนิดที่ต้องการหา} \times 100}{\text{พื้นที่ใต้กราฟทั้งหมด}}$$

## 3. การรายงานผล

รายงานผลเป็นร้อยละของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด โดยเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดสอบ 2  
ซ้ำ ดังตารางที่ ค.1

ตารางที่ ค.1 องค์ประกอบ (%) ของกรดไขมันของน้ำมันรำข้าว (RBO) และน้ำมันทานตะวันบีบเย็น (SFO)

กรดไขมัน	C14:0	C16:0	C18:0	C20:0	C22:0	C24:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:1
RBO	0.25	17.4	1.93	0.75	0.21	0.37	44.31	33.92	0.59	0.30
SFO	-	4.43	4.21	0.22	0.73	0.11	28.68	61.53	-	0.10

**กรดไขมันอิ่มตัว**

C14:0 Myristic acid

C16:0 Palmitic acid

C18:0 Stearic acid

C20:0 Arachidic acid

C22:0 Behenic acid

C24:0 Lignoceric acid

**กรดไขมันไม่อิ่มตัวตำแหน่งเดียว**

C18:1 Oleic acid

C20:1 Eicosenoic acid

**กรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง**

C18:2 Linoleic acid

C18:3 Linolenic acid

## ภาคผนวก ง

## วิธีการตรวจวัดสมบัติทางกายภาพ

## ง.1 การวัดค่าสี

## เครื่องมือ

เครื่องวัดค่าสี ( Minolta, CR-400)

## วิธีการวิเคราะห์

1. เลื่อนปุ่ม Power ไปที่ตำแหน่ง ON
2. กดปุ่ม Index Set  
ปรับแหล่งแสงเป็น ILLUMINANT D65 แล้วกดปุ่ม ENTER
3. กดปุ่ม Calibrate ตรวจสอบค่า Y x และ y ให้ตรงตามแผ่น CALIBRATE และแหล่งแสงที่ไว้ดังนี้  
 $Y = 93.8$                        $x = 0.3158$                        $y = 0.3328$
4. นำหัววัดวางบนแผ่น Calibrate สีขาว กดปุ่ม Measure Enter รอจนเกิดการ reflect แสง 3 ครั้ง
5. เมื่อ Calibrate เสร็จแล้ว กดปุ่ม Color Space เพื่อเลือกระบบสีที่ต้องการใช้ คือ ระบบ CIE L\* a\* b\*
6. ต่อหัววัดเข้ากับแท่นวางตัวอย่าง แล้วเติมตัวอย่าง นำสไลด์ลงไปบน sample cell ประมาณ 50 มิลลิเมตร ใส่ลงในช่องวางตัวอย่าง จากนั้นกดปุ่ม MEASURE ENTER
7. บันทึกค่า L\*, a\* และ b\* (วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ)

## ง.2 การวัดดัชนีเสถียรภาพของอิมัลชัน (ESI)

ตามวิธีของ Mirhosseini et al. (2008)

### วิธีการวิเคราะห์

1. ใช้กระบอกฉีดยาขนาด 30 มิลลิลิตร ดูดน้ำสลัดที่ผลิตไว้เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร
2. วัดความสูงของน้ำสลัดเริ่มต้น จากนั้นนำหลอดทดลองที่บรรจุน้ำสลัดแล้วเก็บไว้ที่ อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์
3. วัดความสูงของชั้นครีมหรือชั้นตะกอนที่เกิดขึ้น คำนวณค่า ESI (%) ตามสูตร

$$ESI (\%) = \frac{(HE - (HS + HC))}{HE} \times 100$$

HE

HE คือ ความสูงของอิมัลชันเริ่มต้น

HS คือ ความสูงของชั้นตะกอน

HC คือ ความสูงของชั้นครีม

### ง.3 การวัดค่า firmness และ ค่า index of viscosity ของน้ำสลัด

เครื่องมือ

Texture Analyzer รุ่น TA-XT plus

วิธีการวิเคราะห์

1. เปิดคอมพิวเตอร์ และ กดปุ่ม power ด้านหลังเครื่อง ต่อแท่งหัววัดที่ประกอบด้วย compression disc เส้นผ่านศูนย์กลาง 45 มิลลิเมตร และแท่นรองรับตัวอย่าง เข้ากับเครื่อง และฐานของตัวเครื่อง
2. Calibrate Force และ Calibrate Height ที่ภาวะดังนี้
  - Return Distance (mm): 80
  - Return Speed (mm/sec): 10
  - Contact Force (g): 10
3. เลือก sample project ที่ชื่อว่า Mayonnaise back extrusion – MAY2\_BEC.PRJ โดยมี T.A settings เป็น
  - Test Mode: Compression
  - Pre-Test Speed: 1.0 mm/sec
  - Test Speed: 2.0 mm/sec
  - Post-Test Speed: 10.0 mm/sec
  - Target Mode: Distance
  - Force: 100g
  - Distance: 30 mm
  - Strain: 10.0 %
  - Trigger Type Auto (Force)
  - Trigger Force: 5.0 g
4. บรรจุน้ำสลัดใน back extrusion cell (เส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร และสูง 75 มิลลิเมตร) ที่ระดับความสูงประมาณ 50 มิลลิเมตร หลังจากนั้นวาง back extrusion cell ลงบนแท่นรองรับที่ต่อกับฐานของตัวเครื่อง
5. เลือก run a test บันทึกค่า firmness และ index of viscosity

#### ง.4 โครงสร้างจุลภาค

##### เครื่องมือ

กล้องจุลทรรศน์ OLYMPUS รุ่น BX51 ติดกล้อง Panasonic รุ่น wv-CP240/G

##### วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งน้ำหนักน้ำสไลด์ 0.5 กรัม ลงในปิកเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร ลงในปิกเกอร์ ได้อัตราส่วนมาของเนสต่อน้ำกลั่น เท่ากับ 1:500
2. หยดสารละลายมาของเนส ลงบน slide แล้วหยดสารละลาย 1% methylene blue ลงไป หลังจากนั้นปิดด้วย cover slip
3. ต่อสาย adaptor เข้ากับกล้อง และ computer
4. ส่องหยดน้ำมันโดยใช้กำลังขยาย 40 เท่า ใช้ diaphragm Ph3 และปรับแสงให้อยู่ที่หมายเลข 7
5. บันทึกรูปโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

## ภาคผนวก จ

## วิธีการตรวจสอบสมบัติทางจุลชีววิทยา

## จ.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

ตามวิธีของ Bacteriological Analytical Manual (2001) Chapter ที่ 3

## อุปกรณ์

1. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ
2. ตู้อบฆ่าเชื้อ
3. ตู้ปัมเชื้อ
4. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
5. เครื่องตีตัวอย่าง
6. เครื่องนับจำนวนโคโลนี
7. เครื่องเขย่า (Mixer)
8. เครื่อง Laminar Flow

## อาหารเลี้ยงเชื้อและสารทดสอบ

1. Butterfield phosphate – buffered dilution water (R11)
2. Plate Count Ager (M124)

## วิธีการวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างอาหาร  $50.0 \pm 0.1$  กรัม ใส่ในถุงใส่ตัวอย่าง เต็ม Butterfield phosphate buffered dilution water (BF) 450 มิลลิลิตร ตีปั่นให้ตัวอย่างกระจายทั่ว โดยใช้เครื่องตีตัวอย่างเป็นเวลา 1 นาที สารละลายตัวอย่างที่ได้ถือว่ามีค่าความเจือจาง  $10^{-1}$  (ตัวอย่างถูกเจือจาง 10 เท่า) เตรียมสารละลายตัวอย่างให้มีความเจือจางเพิ่มขึ้น 100, 1,000 และ 10,000 เท่า (นั่นคือตัวอย่าง มีความเข้มข้น  $10^{-2}$   $10^{-3}$  และ  $10^{-4}$  ตามลำดับ) หรือระดับความเจือจางที่เหมาะสมโดยปิเปตตัวอย่างที่ความเจือจาง  $10^{-2}$  จำนวน 10 มิลลิลิตรใส่ขวดที่มี BF 90 มิลลิลิตร จะได้ความเจือจาง  $10^{-2}$  จากนั้นเขย่า

ให้เชื้อกระจายทั่วกันทั้งขวด เขย่า 25 ครั้ง เปิดวงกลมเส้นรอบวง 30 เซนติเมตร  
ภายในเวลา 7 วินาที

## 2. การทดสอบ

ปีเปตตัวอย่างความเข้มข้นละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในเพลท ความเข้มข้นละ 2 เพลท เท  
อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Ager (PCA) ที่มีอุณหภูมิประมาณ  $45 \pm 1$  °C จำนวน  
12 – 15 มิลลิลิตร ต่อเพลท โดยทำใน Laminar Flow วนเพลทเพื่อให้ตัวอย่าง  
กระจายทั่วเพลทโดยวนไปทางด้านขวา ด้านซ้าย ไปข้างหน้าและข้างหลัง ทิศทางละ  
5 ครั้ง ระยะเวลาตั้งแต่ถ่ายตัวอย่างจนกระทั่งเทเพลทด้วย PCA ไม่ควรเกิน 15 นาที  
ตั้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวที่อุณหภูมิห้องกลับเพลทให้อาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ด้านบน  
นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ  $35 \pm 1$  °C นาน  $48 \pm 2$  ชั่วโมง

## 3. การนับจำนวนโคโลนีและรายงานผล

3.1 นำเพลทออกจากตู้บ่มเชื้อเมื่อครบกำหนดเวลา นับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่  
เจริญบนเพลท โดยเลือกเพลทที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 25 – 250 โคโลนี  
บันทึกจำนวนโคโลนีที่นับได้ทั้งหมด และ dilution ที่นับ บันทึกผลลงใน  
แบบฟอร์ม BACTERIOLOGICAL ANALYSIS : เชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด  
(TVC) คำนวณและรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (CFU/g)  
วิธีคำนวณดังรายละเอียดข้อ 4

3.2 ในกรณีที่ทุกเพลทมีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 25 โคโลนี ให้นับโคโลนีที่เจริญบน  
เพลทที่มีระดับการเจือจางน้อยที่สุดแล้ว บันทึกโคโลนี และรายงานผลเป็น  
<25 คูณระดับการเจือจางน้อยที่สุดที่ทำ

3.3 กรณีที่ทุกเพลทมีจำนวนโคโลนีเกินกว่า 250 โคโลนีในทุก dilution ให้บันทึก  
เป็น too numerous to count (TNTC) แต่ถ้าพอจะนับได้ ให้นำ dilution ที่  
เจือจางมากที่สุดที่พอจะนับได้มานับ โดยแบ่งเพลทออกเป็นหลายส่วน เลือก  
นับโคโลนีจาก 1 ส่วน จากนั้นคูณด้วยจำนวนส่วนที่แบ่งได้เป็นจำนวนโคโลนี  
ทั้งหมดบนเพลทนั้น และบันทึกจำนวนโคโลนี การรายงานให้นำจำนวน



โคโลนีที่นับได้คุณระดับการเจือจางน้อยที่สุดและให้นำตัวอย่างที่ตัดสำรองไว้ มาทำซ้ำเพื่อยืนยันผลอีกครั้งหนึ่งโดยเพิ่มระดับการเจือจางให้เหมาะสม

3.4 กรณีที่ไม่มีการเจริญของเชื้อบนเพลทในทุก dilution ให้รายงานเป็น <25 คุณ จำนวน dilution ต่ำสุดที่ทำ

3.5 กรณีที่การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์มีลักษณะ Spread ซึ่งมี 3 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะแรกโคโลนีอยู่ติดกันเป็นสายไม่สามารถแยกนับเป็นโคโลนีได้ ลักษณะที่ 2 เป็นฟิล์มบางๆ เจริญอยู่ระหว่างวุ้นและก้นเพลท ลักษณะที่ 3 เป็นแผ่นฟิล์มเจริญที่ขอบหรือผิวหน้าวุ้น ถ้าพบว่าการ Spread เกิดขึ้นมาก (ไม่ว่าจะเป็นการ Spread ลักษณะใดก็ตาม) จนทำให้เกิดกรณีดังนี้

3.5.1 การ Spread นั้นครอบคลุมพื้นที่มากกว่า 50 % ของพื้นที่เพลท (ซึ่งรวมถึงพื้นที่ทั้งหมดที่ไม่ปรากฏการเจริญของเชื้อด้วย)

3.5.2 พื้นที่ที่ไม่ปรากฏการเจริญของเชื้อ (เชื้อถูกยับยั้งการเจริญ) มีมากกว่า 25 % ของพื้นที่เพลทให้รายงานว่าเป็น spreader ถ้าจำเป็นต้องนับโคโลนีที่เจริญบนเพลทที่มีการ spread โดยการที่ spread นั้นไม่ได้ทำให้เกิดกรณี 3.5.1 หรือ 3.5.2 ดังกล่าวข้างต้น ให้นับแต่ละลักษณะของการ spread ทั้ง 3 เป็น 1 แหล่งสำหรับการ spread ลักษณะที่ 1 ถ้าพบเพียงหนึ่งสาย ให้นับสายนั้นเป็นหนึ่งโคโลนี ถ้าพบว่แต่ละสายเกิดขึ้นจากแหล่งกำเนิดแยกจากกัน ให้นับแต่ละแหล่งกำเนิดเป็นหนึ่งโคโลนีโดยห้ามนับแต่ละโคโลนีในสายเป็นหนึ่งโคโลนี สำหรับการ spread ลักษณะที่ 2 และ 3 โคโลนีมักจะแยกเป็นแต่ละโคโลนีอยู่แล้ว ซึ่งสามารถนับได้ตามปกติ นำผลการนับโคโลนีที่มีการ spread และโคโลนีปกติมารวมกันเพื่อคำนวณปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด

3.6 หลังจากบ่มตามระยะเวลาที่กำหนด ถ้าไม่สามารถนับจำนวนโคโลนีได้ ภายในเวลาที่กำหนด ควรเก็บเพลทไว้ในตู้เย็น (อุณหภูมิ 1 – 4 °C) แต่ไม่ควรเกิน 24 ชั่วโมง ในการรายงานผลของตัวอย่าง จะต้องตรวจสอบผลการ ทำ Control ควบคู่กันไปด้วย

#### 4. การคำนวณ

4.1 กรณีทั่วไป พบโคโลนีบนเพลท ในช่วง 25 – 250 โคโลนี เลือกระดับการเจือจางติดกันเพียง 2 ระดับ

$$TVC = \frac{\Sigma c}{[(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2) \times d]}$$

$\Sigma C$  คือ ผลรวมจำนวนโคโลนีทั้งหมดจากทุกเพลทที่สามารถนับจำนวนได้

$n_1$  คือ จำนวนเพลทที่สามารถนับโคโลนีได้เมื่อใช้สารละลายตัวอย่างที่มีการเจือจางน้อย

$n_2$  คือ จำนวนเพลทที่สามารถนับโคโลนีได้เมื่อใช้สารละลายตัวอย่างที่มีการเจือจางมากขึ้น

$d$  คือ ระดับการเจือจางของสารละลายตัวแรก ( $n_1$ )

4.2 กรณีที่พบโคโลนีบนเพลท ในช่วง 25 – 250 โคโลนี เพียง 1 ระดับการเจือจาง ให้คำนวณตามสูตร

$$TVC = \frac{\Sigma c}{n \times d}$$

$\Sigma C$  คือ ผลรวมจำนวนโคโลนีทั้งหมดจากที่สามารถนับจำนวนได้

$n$  คือ จำนวนเพลทที่นับจำนวนโคโลนีได้

$d$  คือ ระดับการเจือจางของสารละลายที่นับจำนวนโคโลนีได้ ( $n$ )

## จ.2 ยีสต์และรา

ตามวิธีของ Bacteriological Analytical Manual (2001 Chapter) ที่ 18

### อุปกรณ์

1. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ
2. ตู้อบฆ่าเชื้อ
3. ตู้ป่นเชื้อ
4. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
5. เครื่องตีตัวอย่าง
6. เครื่องนับจำนวนโคโลนี
7. นาฬิกาจับเวลา

### อาหารเลี้ยงเชื้อและสารทดสอบ

1. 0.1% Peptone Water (PW) R 56
2. Dichloran Rose Bengal Chloramphenical Ager (DRBC) M 183

### วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง  $50.0 \pm 0.1$  กรัม ใส่ในถุง stomacher เติม 0.1% Peptone Water (PW) 450 มิลลิลิตร ตีให้ตัวอย่างกระจายทั่วสารละลายด้วยเครื่องตีตัวอย่างเป็นเวลา 2 นาที สารละลายตัวอย่างที่ได้ถือว่ามีระดับความเจือจาง  $10^{-1}$  (ตัวอย่างถูกเจือจาง 10 เท่า) เตรียมสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเจือจางเพิ่มขึ้น 100 ถึง 1,000,000 เท่า (นั่นคือตัวอย่างมีระดับความเจือจาง  $10^{-2}$  –  $10^{-6}$  ตามลำดับ) หรือระดับความเจือจางที่เหมาะสม โดยปิเปตตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 10 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่มี PW 9 มิลลิลิตรจะได้ระดับความเจือจาง  $10^{-2}$  นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าให้เชื้อกระจายทั่วกันทั้งหลอด ส่วนที่ระดับความเจือจาง  $10^{-3}$  –  $10^{-6}$  ก็เตรียมได้ในลักษณะเดียวกัน

## 2. การทดสอบ

ปีเปตสารละลายตัวอย่างในแต่ละระดับความเจือจาง ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ DRBC (ซึ่งเทใส่เพลทและวางไว้ให้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 คืน รวมทั้งทำให้ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้งแล้ว) เพลทละ 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นเกลี่ยให้สารละลายตัวอย่างกระจายทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้แท่งแก้วทิงไว้จนกระทั่งสารละลายตัวอย่างซึมผ่านอาหารเลี้ยงเชื้อ (ประมาณ 10 นาที) ทำ 3 ซ้ำ ในแต่ละระดับความเจือจาง นำเพลทที่วางซ้อนกันไม่เกิน 3 เพลท ไปบ่มที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  โดยไม่ต้องกลับเพลทนาน 5 วัน ถ้าไม่มีโคโลนีขึ้นบนเพลท ให้นำไปบ่มต่ออีก  $48 \pm 2$  ชั่วโมง จึงนำมานับจำนวน โคโลนี ระยะเวลาในการทำการเจือจางตั้งแต่ระดับความเจือจางแรกจนถึงระดับความเจือจางสุดท้ายต้องทำโดยใช้เวลาไม่เกิน 20 นาที ในแต่ละตัวอย่าง

## 3. การนับจำนวนโคโลนีและรายงานผล

- 5.1 นำเพลทออกจากตู้บ่มเชื้อเมื่อครบตามเวลาที่กำหนด จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่เจริญบนเพลท โดยเลือกเพลท ที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 10 – 150 โคโลนี บันทึกจำนวนโคโลนีและระดับความเจือจางที่นับได้ทั้งหมด ลงในแบบฟอร์ม BACTERIOLOGICAL ANALYSIS : Yeasts/Molds คำนวณและรายงานผลในหน่วย CFU/g ตัวอย่าง วิธีคำนวณดังรายละเอียดในข้อ 4
- 5.2 ในกรณีที่ทุกเพลทมีจำนวนโคโลนี  $< 10$  โคโลนี ให้บันทึกจำนวนโคโลนีของเพลทที่มีระดับการเจือจางน้อยที่สุด แล้วนำมาคำนวณและรายงานผลเป็น ESPC/g (estimated standard plate counts/g)
- 5.3 กรณีที่ทุกเพลทมีจำนวนโคโลนีมากเกินไปกว่า 150 โคโลนีในทุก dilution ให้บันทึกเป็น too numerous to count (TNTC)
- 5.4 กรณีที่ไม่มีโคโลนีเจริญบนเพลทเลยในทุกระดับความเจือจาง ให้รายงานผลเป็น  $< 10 \times$  ระดับความเจือจางน้อยที่สุดที่ทำ ในหน่วย CFU/g ตัวอย่าง

6. การคำนวณให้อยู่ในหน่วย CFU/g

กรณีที่นับโคโลนีได้ในช่วง 10 – 150 โคโลนี

$$MYC = \frac{\sum c}{3 \times d} \times 10$$

MYC คือ จำนวนราและยีสต์ที่นับได้ (Mold and Yeast Count)

$\sum c$  คือ ผลรวมจำนวนโคโลนีทั้งหมดจากทั้งหมดที่สามารถนับจำนวนได้

d คือ ระดับการเจือจางของสารละลายที่นับจำนวนโคโลนีได้

## ภาคผนวก จ

## แบบทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสวิธีฮีโดนิคสเกล (7 คะแนน)

## 7-POINT HEDONIC SCALE

ชื่อ \_\_\_\_\_

วันที่ \_\_\_\_\_

ตัวอย่าง: น้ำสลัด

คำแนะนำ: กรุณาทดสอบตัวอย่าง แล้วใส่ระดับความชอบในแต่ละปัจจัยของตัวอย่างที่ตรงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด และกรุณาบ้วนปากทุกครั้งก่อนชิมตัวอย่างถัดไป

ระดับความชอบ:

7 = ชอบมาก

3 = ไม่ชอบเล็กน้อย

6 = ชอบปานกลาง

2 = ไม่ชอบปานกลาง

5 = ชอบเล็กน้อย

1 = ไม่ชอบมาก

4 = เฉยๆ

รหัส ตัวอย่าง	คุณลักษณะ					
	ลักษณะ ปรากฏ	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบ โดยรวม

ชื่อเสนอแนะ

.....  
 .....

😊ชอบพระคุณค่ะ😊

## ภาคผนวก ช

การคำนวณสัดส่วนกรดไขมันของน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันรำข้าวและน้ำมันทานตะวันบีบเย็นที่ใช้ในการทดลอง

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันของน้ำมันรำข้าวและน้ำมันทานตะวันบีบเย็น จะได้ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัว (SFA): กรดไขมันไม่อิ่มตัวตำแหน่งเดียว (MUFA): กรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (PUFA) ดังนี้

น้ำมันรำข้าว SFA: MUFA: PUFA = 20.70:44.31:34.51

น้ำมันทานตะวันบีบเย็น SFA: MUFA: PUFA = 9.70:28.78:61.53

ดังนั้น ปริมาณกรดไขมันของน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันรำข้าวและน้ำมันทานตะวันบีบเย็น ในอัตราส่วนต่างๆ มีดังนี้

- 1) น้ำมันรำข้าวต่อน้ำมันทานตะวันบีบเย็น อัตราส่วน 1:1 (v/v)

$$\begin{aligned} \text{SFA:MUFA:PUFA} &= \frac{20.70(1)+9.70(1)}{2} : \frac{44.31(1)+28.78(1)}{2} : \frac{34.51(1)+61.53(1)}{2} \\ &= 1:2.5:3.2 \end{aligned}$$

- 2) น้ำมันรำข้าวต่อน้ำมันทานตะวันบีบเย็น อัตราส่วน 2:1 (v/v)

$$\begin{aligned} \text{SFA:MUFA:PUFA} &= \frac{20.70(2)+9.70(1)}{3} : \frac{44.31(2)+28.78(1)}{3} : \frac{34.51(2)+61.53(1)}{3} \\ &= 1:2.3:2.6 \end{aligned}$$

- 3) น้ำมันรำข้าวต่อน้ำมันทานตะวันบีบเย็น อัตราส่วน 3:1 (v/v)

$$\begin{aligned} \text{SFA:MUFA:PUFA} &= \frac{20.70(3)+9.70(1)}{4} : \frac{44.31(3)+28.78(1)}{4} : \frac{34.51(3)+61.53(1)}{4} \\ &= 1:2.2:2.3 \end{aligned}$$

- 4) น้ำมันรำข้าวต่อน้ำมันทานตะวันบีบเย็น อัตราส่วน 4:1 (v/v)

$$\begin{aligned} \text{SFA:MUFA:PUFA} &= \frac{20.70(4)+9.70(1)}{5} : \frac{44.31(4)+28.78(1)}{5} : \frac{34.51(4)+61.53(1)}{5} \\ &= 1:2.2:2.2 \end{aligned}$$

### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวมาลีรี มโนมัยวจี เกิดวันที่ 4 มีนาคม 2531 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย ยมหิดล เมื่อปีการศึกษา 2552 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2553

#### ผลงานวิจัย

เสนอผลงานวิจัยแบบโปสเตอร์ เรื่อง THE VERY HIGH ANTIRADICAL EFFICIENCY OF OPTIMUM EXTRACTION CONDITION OF SPANISH PLUM LEAVES *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. ในการประชุมทางวิชาการ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 38 (วทท 38) ระหว่างวันที่ 17-19 ตุลาคม 2555 ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติเอ็มเพรส จังหวัดเชียงใหม่

เสนอผลงานวิจัยแบบบรรยาย เรื่อง EXTRACTION CONDITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SPANISH PLUM LEAVES EXTRACT ใน The 1<sup>st</sup> International Joint Symposium Thai-Japan ระหว่างวันที่ 5-6 มกราคม 2556 ณ ศูนย์ฝึกอบรมและสัมมนา สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี