รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การศึกษาการเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันในเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์แปรรูปจากไก่

Study on Lipid Oxidation in Chicken and Process Products from Chicken

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

2554

บทคัดย่อ

ในการศึกษาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ 2 วิธี ได้แก่ วิธีที่1 เทคนิคอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี และ วิธีที่ 2 เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่า วิธีที่1 จัดเป็นวิธีที่ทดลองง่ายสะดวก รวดเร็วตลอดจนมีความถูกต้องสูง โดยมี ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.24 นาโนโมล/มิลลิลิตร และ 0.81 นาโนโมล/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำเอาวิธีสเปกโทรสโกปี ไปหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในตัวอย่างไก่แปรรูป 3 วิธีคือต้ม นึ่ง และ ทอด พบว่า การทดลองด้วยวิธีดังกล่าวในการทดสอบหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้ในระดับดี และ มีความไวในการทดสอบสูง จากการศึกษาปัจจัยที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างเนื้อไก่ พบว่า ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์จะมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณขึ้นกับ ระยะเวลา ระดับอุณหภูมิที่ให้ความร้อน โดยเมื่อมีการให้ความร้อนในการแปรรูปเนื้อไก่ที่อุณหภูมิสูง ระยะเวลานานจะทำให้มาลอนไดอัลดีไฮด์มีปริมาณสูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า วิธีการแปรรูป ตลอดจน ส่วนของเนื้อไก่ ที่ได้รับการแปรรูปมีผลต่อปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วย ซึ่งพบว่า การแปรรูปให้เนื้อออกไก่สุกด้วยการนึ่งนั้น ทำให้เนื้อออกไก่มีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มากที่สุด เนื้อออกไก่ที่ผ่านการย่างมีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์น้อยที่สุด ซึ่งพบว่า การแปรรูปให้เนื้อออกไก่สุกด้วยการนึ่งนั้น ทำให้เนื้อออกไก่มีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มากที่สุด เนื้อออกไก่ที่ผ่านการย่างมีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์น้อยที่สุด ผลจากการนำส่วนเนื้อออกไก่, สะโพกไก่ น่องไก่ และปีกไก่ นำไปแปรรูปให้สุก โดยการต้มนาน 5 นาที ที่ อุณหภูมิ 100 $^{\circ}$C พบว่า ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ตรวจพบมีปริมาณแตกต่างกันโดยปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์พบมากที่สุดในเนื้อออกไก่ ผลการทดสอบหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์จากไก่ที่มีจำหน่ายทั่วไป ตามที่แหล่งจำหน่ายต่างๆกัน พบว่า สามารถตรวจพบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์ต่างๆแตกต่างกันด้วย แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณที่พบต่ำมาก ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

Abstract

The two methods for analysis malondialdehyde content such as Ultraviolet visible Spectrophotometry and Highperformance Liquid Chromatography were studied , and found that the first method which was the easy method for practice, high accuracy.The LOD and LOQ were 0.24 nmol/ml and 0.81 nmol/ml,respectively. Then, the spectroscopic method was applied to analyse malondialdehyde content in processed chicken samples from 3 ways of cooking such as boiling, steaming and frying.The result presented that the refered method gave the best result with high sensitivity. The factors that effect on malondialdehyde content in chicken were also studied, and showed that malondialdehyde content depended on heating time, heating temperature.The high malondialdehyde content in chicken which was cooked for a long time and heated at high temperature was detected. However,the way to cook and the part of chicken were also effect on malondialdehyde content too.The steaming breast chicken meat contained the highest malondialdehyde content and the roasted breast chicken contained the smallest malondialdehyde content. The result from cooking each part of chicken such as breast chicken meat ,drumstick chicken,thigh chicken meat by boiling 100 $^{\circ}$C for 5 min found that the breast chicken meat contained the highest malondialdehyde content. The analysis of malondialdehyde content in processed chicken sold in the market showed the variation of malondialdehyde content in each product. However, the malondialdehyde content which was found in ultratrace amount in those samples which was not harmful to the healthy of consumer.

ประกาศคุณูปการ

ผู้วิจัยขอขอบคุณฝ่ายวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตรที่ได้อนุมัติเงินทุนจากงบประมาณเงินรายได้คณะวิทยาศาสตร์ ประจำปี 2553 เป็นเงินทุนอุดหนุนการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้จนทำให้คณะผู้วิจัยมีปัจจัยหลักทางทุนทรัพย์ที่ทำให้สามารถดำเนินงานวิจัยสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือทางเคมี ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่จากศูนย์สำนักพิมพ์มศวทุกท่านที่เป็นสื่อกลางต่างๆในการจัดทำรายงานฉบับนี้

ผู้วิจัย

รศ.ดร.พรพิมล ม่วงไทย

พฤษภาคม 2554

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ……ก

ABSTRACT……ข

ประกาศคุณูปการ……ค

สารบัญ……ง

บัญชีตาราง……จ

บัญชีรูป ……ฉ

บัญชีรูปภาคผนวก ……ช

บทที่ 1…บทนำ……1

บทที่ 2…เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง……3

บทที่ 3…วิธีดำเนินการวิจัย……13

สารเคมีและตัวอย่าง……13

อุปกรณ์ เครื่องมือ……16

วิธีทดลอง……16

บทที่ 4…ผลการวิเคราะห์ข้อมูล……18

บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ……29

บรรณานุกรม……32

ภาคผนวก……37

ประวัติย่อหัวหน้าโครงการ……42

บัญชีตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณ malonaldehyde ในอาหารที่ปรุงแล้ว	6
2.	แสดงผลการทดสอบการหามาลอนไดอัลดีไฮด์ ในไอศกรีมและโยเกิร์ตจากประเทศไนจีเรีย	7
3	แสดงผลการวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในพลาสมามนุษย์	7
4	แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณ M_1G ในเซลล์ต่างๆ ของมนุษย์	10
5	ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในตัวอย่างเนื้อออกไก่แปรรูป	21
6	ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในเนื้อไก่ต้มที่ระยะเวลานานต่างๆกัน	22
7	ปริมาณ MDA ในเนื้อไก่ต้มที่อุณหภูมิต่างๆ	23
8.	ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในเนื้ออกไก่แปรรูปแบบต่างๆ	24
9	ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในเนื้อน่องไก่ที่ผ่านการแปรรูปแบบต่างๆ	25
10	ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในเนื้อไก่ส่วนต่างๆแปรรูปแบบต้ม	26
11	ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์จากไก่ที่มีจำหน่ายทั่วไป	27

บัญชีรูป

รูปที่		หน้า
1	โครงสร้าง Malondialdehyde (MDA)	4
2.	แสดงปฏิกิริยา lipid peroxidation เกิดมาลอนไดอัลดีไฮด์	8
3	แสดงผลของการทำลายสารพันธุกรรม (DNA) ในมนุษย์	9
4	แสดงผลผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นได้จากการทำลายสารประกอบพันธุกรรม จากผลของมาลอนไดอัลดีไฮด์	9
5	โครงสร้างของ lysine-lysine cross-links จากผลของมาลอนไดอัลดีไฮด์	11
6	โครงสร้างของ N^2,N^2-Malondialdehyde	11
7	สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์	18
8	กราฟมาตรฐานวิเคราะห์ปริมาณ มาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยเทคนิค วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี	19
9	โครมาโทแกรมของสารละลาย มาลอนไดอัลดีไฮด์มาตรฐานเข้มข้น 5 นาโนโมลาร์	19
10.	กราฟมาตรฐานวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ด้วยเทคนิค โครมาโทกราฟีของเหลว สมรรถนะสูง	20
11	ความสัมพันธ์ของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์กับระยะเวลาในการให้ความร้อน	22
12	ความสัมพันธ์ของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์กับอุณหภูมิในการให้ความร้อน	23
13	ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์กับวิธีการแปรรูปอกไก่และน่องไก่	23

บัญชีรูปภาคผนวก

รูปภาคผนวกที่		หน้า
1	ตัวอย่างเนื้อไก่ที่เตรียมนำมาสกัดสารมาลอนไดอัลดีไฮด์	38
2	ตัวอย่างเนื้อไก่ที่ผ่านการแปรรูปด้วยการต้มและทอดที่ระยะเวลานานต่างๆกัน	38
3	เตรียมตัวอย่างเนื้อไก่ก่อนสกัดสารมาลอนไดอัลดีไฮด์	39
4	ตัวอย่างเนื้อไก่ที่กำลังสกัดสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ในกรดซัลฟูริก	39
5	ตัวอย่างเนื้อไก่ที่กำลังสกัดสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวทำละลาย	40
6	สารละลายที่สกัดสารมาลอนไดอัลดีไฮด์จากเนื้อไก่	40
7	สารสกัดสารมาลอนไดอัลดีไฮด์จากเนื้อไก่ทำปฏิกิริยาเคมีกับTBA	41
8	สารมาลอนไดอัลดีไฮด์มาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ทำปฏิกิริยาเคมีกับTBA รีเอเจนท์	41

บทที่ 1

บทนำ

อาหารเป็นปัจจัยหนึ่งในการดำรงชีพของมนุษย์ ปัจจุบันมีอาหารมากมายซึ่งเกิดจากการแปรรูปวัตถุดิบต่างๆด้วยวิธีการแตกต่างกันไป จึงเป็นเหตุให้เกิดผลิตภัณฑ์อาหารแบบต่างๆหลากหลายชนิด สำหรับอาหารทั่วไปแล้วจะมีองค์ประกอบหลักๆ ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เกลือแร่ และวิตามิน ซึ่งได้จากวัตถุดิบที่นำมาประกอบเป็นอาหารเหล่านั้น ซึ่งปริมาณสารอาหารดังกล่าวแต่ละชนิดทำหน้าที่ของตัวเองและมีปริมาณแตกต่างกันออกไป นอกจากนี้วิธีการแปรรูปอาหารยังส่งผลต่อคุณค่าของสารอาหารต่างๆเหล่านั้นด้วย การเปลี่ยนแปลงกระบวนการแปรรูปอาหารยังอาจส่งผลให้มีการเกิดสารบางอย่างในอาหาร นอกจากนี้การเก็บรักษาอาหารก็อาจก่อให้เกิดสารที่ไม่พึงปรารถนาขึ้นได้ ในที่นี้ขอกล่าวถึงความสำคัญขององค์ประกอบหนึ่งในอาหาร คือ ไขมัน ไขมันเป็นส่วนที่ช่วยทำให้อาหารแปรรูปเกิดความนุ่มน่าบริโภค และยังมีส่วนช่วยให้เก็บถนอมวิตามีนที่ละลายได้ในไขมัน แต่อย่างไรก็ตามไขมันยังมีข้อเสียบางประการคือ สามารถถูกออกซิเดชันได้ง่าย ที่มีกลิ่นเหม็นหืน หรือการที่อาหารมีคลอเรสเตอรอลเพิ่มมากขึ้นจากการทอดก็จัดได้ว่าเป็นการเพิ่มไขมันในอาหาร ในที่นี้ปฏิกิริยาหนึ่งที่น่าสนใจ คือ การเกิดออกซิเดชั่นในอาหารขณะแปรรูป มีผลทำให้เกิดสารที่น่าสนใจ คือ มาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde) (MDA) เนื่องจากสารอัลดีไฮด์สามารถเกิดปฏิกิริยาต่างๆได้ เช่นการเกิด cross link เชื่อมกับโปรตีนในกล้ามเนื้อ ซึ่งมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เช่น กล้ามเนื้ออาจจะแข็งขึ้น และ เหนียวมากขึ้น (Addis,1986) ปฏิกิริยาที่สำคัญจากสารอัลดีไฮด์และอนุพันธ์ เช่น กลูเทอร์อัลดีไฮด์ (gluteraldehyde, GIA), มาลอนไดอัลดีไฮด์ สามารถเกิดปฏิกิริยากับ กรดอะมิโน ในโปรตีน หรือ DNA ซึ่งเป็นเหตุให้โครงร่างโปรตีน, DNA เปลี่ยนแปลงไป ทำให้หน้าที่ต่างๆเปลี่ยนไปด้วย (Gerrard and Brown, 2002) โดยการที่ มาลอนอัลดีไฮด์ปฏิกิริยากับโปรตีน จะเกิดการ cross link ทำให้โปรตีนรวมตัวกันเป็นก้อนและละลายได้น้อยลง การวัดปริมาณสารกลุ่มอัลดีไฮด์ จัดเป็นสารชี้บอกผลการเกิดการเสื่อมเสียในอาหารปลา (Shahidi, 1998) มาลอนไดอัลดีไฮด์ ถูกจัดได้ว่า เป็นสาร ก่อมะเร็ง ในหนู สาร มาลอนไดอัลดีไฮด์ พบมากในอาหารที่มีกลิ่นเหม็นหืน (Chaudhary et al., 1994) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจจะศึกษาการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยการวิเคราะห์ปริมาณ มาลอนไดอัลดีไฮด์ ในอาหารไก่แปรรูปด้วยวิธีต่างๆ เพื่อเป็นการประเมินความปลอดภัยของการบริโภคอาหาร ประเภทอาหารนั้นๆ

สำหรับประเทศไทย ยังไม่ค่อยได้ให้ความสำคัญต่อการศึกษาปริมาณสาร มาลอนไดอัลดีไฮด์ ในอาหารประเภทไก่ชนิดต่างๆ จึงไม่พบรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้อง ประชาชนยังขาดความรู้ความเข้าใจในการเกิดออกซิเดชันของไขมันในอาหาร งานวิจัยนี้ จึงมีจุดประสงค์ที่จะติดตามประเมินการเกิดออกซิเดชัน ในอาหารแปรรูปของไก่ เช่น ทอด และ อบ เพื่อเพิ่มประเมินถึงการปรับปรุงคุณค่าทางอาหาร ตลอดจนการเกิดสารพิษ

โครงการงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ ดังนี้

1. ศึกษาหาวิธีที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณ MDA ในเนื้อไก่ และ ผลิตภัณฑ์ไก่แปรรูปแบบต่างๆ โดยใช้เทคนิค
   1.1 อัลตราไวโอเลตวิสิเบลสเปกโตรโทรเมตรี
   1.2 โครมาโทกราฟีของของเหลวสมรรถนะสูง
2. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ MDA ในขณะแปรรูป ได้แก่
   2.1 อุณหภูมิ
   2.2 เวลา
   2.3 รูปแบบการแปรรูป
   2.4 ส่วนต่างๆของเนื้อไก่
3. วิเคราะห์หาปริมาณ MDA ในเนื้อไก่ จากส่วนต่างๆของเนื้อไก่ และผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อไก่ส่วนต่างๆ โดย การต้ม นึ่ง อบ ทอด และ ย่าง

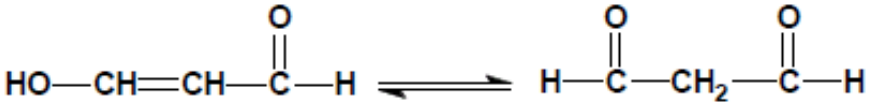
บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อาหารเป็นสิ่งสำคัญที่มนุษย์ต้องบริโภคเพื่อความอยู่รอด หรือเพื่อการเจริญเติบโตของร่างกาย โดยที่วัตถุดิบที่จะนำมาเป็นอาหารมีหลายชนิด ตั้งแต่ ส่วนต่างๆของพืช ธัญญาหาร ส่วนต่างๆ ของสัตว์ หรือผลิตภัณฑ์จากสัตว์และพืช โดยวัตถุดิบเหล่านั้นอาจใช้เป็นอาหารโดยตรงทันที ไม่ได้ผ่านการแปรรูปตามกระบวนการแปรรูปต่างๆ หรือ อาจจะต้องนำไปผ่านกระบวนการแปรรูป ทั้งนี้เพื่อนประโยชน์ต่างๆ เช่น การทำให้เกิดอาหารหลากหลายรูปแบบ การเก็บถนอมอาหารสด ฯลฯ ไม่ว่าจะเป็น พืช สัตว์ หรือธัญพืช ต่างก็มีองค์ประกอบหลักๆเป็นโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน บางชนิดยังอาจอุดมด้วยวิตามิน หรือ แร่ธาตุต่างๆ ตามองค์ประกอบเหล่านั้น ซึ่งอาจจะพบในปริมาณมากน้อยแตกต่างกันไป ตามชนิด ประเภทของพืช สัตว์ หรือ ธัญพืชเหล่านั้น เมื่อนำวัตถุดิบมารวมตัวกันเพื่อประกอบเป็นอาหารโดยการแปรรูป ก็อาจจะมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ กับองค์ประกอบในอาหารได้ ในที่นี้จะขอกล่าวถึง องค์ประกอบหนึ่งที่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในอาหาร คือ ไขมัน ไขมันเป็นสารอาหารชนิดหนึ่งที่มีทั้งคุณและโทษ โดยไขมันในอาหารจะทำให้อาหารมีความนุ่ม หอม ชวนน่าบริโภค และยังมีหน้าที่อื่นๆอีก ที่จะช่วยให้อาหารดูมีคุณภาพ แต่อย่างไรก็ตาม ไขมันเองก็สามารถเกิดการออกซิเดชันได้เหมือนกัน และมีผลทำให้เกิดความเหม็นหืน โดยเฉพาะอาหารประเภทที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบมากๆ จะเกิดการเหม็นหืนง่าย เมื่อเก็บรักษาในระยะเวลาหนึ่ง สำหรับการตรวจหาเรื่องความเสื่อมเสียของอาหาร โดยการตรวจสอบทางเคมี อาจทำโดยการตรวจสอบสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น โดยเฉพาะสารหนึ่งคือ มาลอนไดอัลดีไฮด์ (MDA) เป็นสารที่ใช้บ่งชี้การเกิดออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น เนื้อปลา ธัญญาพืช โปรตีน

มาลอนไดอัลดีไฮด์ เป็นผลิตภัณฑ์ขั้นที่สองที่เกิดจากกรดไขมันชนิด polyunsaturated fatty acid เกิดการออกซิเดชัน ซึ่งเป็นที่รู้จักกันตั้งแต่ปี 1960s โดยส่วนใหญ่มักจะพัฒนาวิธีในการหาปริมาณ มาลอนไดอัลดีไฮด์ ให้ใช้เป็นตัวชี้วัดถึงระดับการถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ อันเป็นสาเหตุของโรคต่างๆ นั่นเอง

สำหรับสาร มาลอนไดอัลดีไฮด์ นี้เป็นสารที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ สามตัว และมีอัลดีไฮด์ สองหมู่ มีสูตรโมเลกุล $C_3H_4O_2$ ดังโครงสร้างในรูปที่ 1



รูปที่ 1 โครงสร้าง Malondialdehyde (MDA)

ที่มา: Nair .V.et.al. (2008).

ชื่อ IUPAC คือ Malonaldehyde หรือ Malondialdehyde ในธรรมชาติจะพบ มาลอนไดอัลดีไฮด์ ได้ในใบต้นถั่ว ต้นฝ้าย และพบมากในอาหาร ที่มีกลิ่นเหม็นหืนสูง ยังพบได้ในพืช , เนื้อ ,ปลา , น้ำมันนปลา , เมล็ดถั่ว นอกจากนี้ยังพบ มาลอนไดอัลดีไฮด์ ในพลาสมาของมนุษย์ และเนื้อเยื่อมนุษย์ (Drapen et al, 1986)

สมบัติโดยทั่วไปทางเคมีและทางกายภาพของ MDA

(ก) รูปพรรณสัณฐาน(United States National Library of Medicine ,1997) ของแข็ง (แท่ง)

(ข) จุดหลอมเหลว 72–74°C หากอยู่ในรูปของเกลือโซเดียมจะมีจุดหลอมเหลวที่ 245°C (IARC ,1985)

(ค) การละลาย: MDA บริสุทธิ์ละลายน้ำได้ดี มีค่า pKa = 4.46 นอกจากนี้หากอยู่ในรูป ของเกลือโซเดียม ยังสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายมีขั้ว (EtOH, MeOH, H_2O) ในส่วนของตัวทำละลายอินทรีย์อย่าง CH_2Cl_2 จะละลายได้ปานกลาง แต่ในตัวทำละลาย ether จะไม่ละลาย (Nair V,et.al.,2008)

MDA สามารถดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลตได้ เมื่ออยู่ ในตัวทำละลายของกรด 0.1 N HCl ที่ความยาวคลื่นสูงสุด λ_{MAX} = 245 นาโนเมตร (ε = 12 800) ในตัวทำละลายเบส โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 N ที่ความยาวคลื่นสูงสุด λ_{MAX} = 267 nm (ε =29 400) และให้ค่าสเปกตรัม ^{1}H NMR (D_2O) δ 5.73 (t, 1H, *J* = 10.1 Hz), 9.08 (d, 2H, *J* = 10.1 Hz) และสำหรับสเปกตรัม ^{13}C NMR (D_2O) δ 110.3, 193.6: (Nair V,et.al.,2008)

มาลอนไดอัลดีไฮด์เป็นสารตั้งต้น (initiator) ในการเป็น carcinogen และเป็น mutagen ซึ่งเป็นผลต่อความปลอดภัยในอาหาร (Bird R P,et.al, 1982) อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่า สามารถตรวจพบ มาลอนไดอัลดีไฮด์ได้ในผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการแปรรูป ด้วยวิธีการใช้ไมโครเวฟ, การย่าง โดยขึ้นกับระยะเวลา และอุณหภูมิ จะมีผลต่อปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ นอกจากนี้มาลอนไดอัลดีไฮด์ เป็นสารที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา จึงสามารถเกิดปฏิกิริยาให้สารเชิงซ้อนได้กับกรดอะมิโน, โปรตีน ในอาหารได้ (Kwon et al.,

1965) ดังนั้น มาลอนไดอัลดีไฮด์ที่พบโดยทั่วไป จึงไม่ค่อยพบว่าเป็น มาลอนไดอัลดีไฮด์ในรูปอิสระในอาหาร (John, T et al., 1999)

สำหรับในอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ จะเกิดกระบวนการ Lipid Oxidation ตามขั้นตอนดังสมการ (Gray, 1978)

$$RH + O_2 \rightarrow R^{\bullet} + {}^{\bullet}OOH \quad (1)$$

ขั้นตอนการดำเนินไปของปฏิกิริยาแบบต่อเนื่อง

$$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet} \quad (2)$$

$$RH + ROO^{\bullet} \rightarrow ROOH + R^{\bullet} \quad (3)$$

$$ROOH \rightarrow RO^{\bullet} + {}^{\bullet}OH \quad (4)$$

ขั้นตอนสิ้นสุดของปฏิกิริยา

$$R^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow R\text{-}R \quad (5)$$

$$R^{\bullet} + ROO^{\bullet} \rightarrow ROOR \quad (6)$$

$$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \rightarrow ROOR + O_2 \quad (7)$$

จากสมการข้างต้นสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซค์ (ROOH) จัดเป็นสารสำคัญมากที่ทำให้เริ่มต้นการเกิดปฏิกิริยา ลูกโซ่ ทางกระบวนการออกซิเดชันไขมัน (Lipid Oxidation) แต่ท้ายที่สุดจะเกิดสารทุติยภูมิหลายชนิด เช่น เพนทานอล , เฮกซานอล, 4-hydroxyonenal และ ผลิตภัณฑ์ระดับ MDA (Pearson et al., 1982) (Raharjo and Sofos, 1993)ดังนั้น จะเป็นสารผลิตภัณฑ์ที่พบได้ในอาหาร ที่มีไขมันระดับหนึ่งตามอธิบายในสมการ แต่อย่างไรก็ตาม อาจจะถูกกระตุ้นให้เกิดได้มากขึ้น ขึ้นกับหลายปัจจัย ได้แก่ ความไม่อิ่มตัวของกรดไขมัน (Dahle et al., 1962 , Pryor et al., 1976), การมีโลหะ (Janero and Burghardt, 1989), ค่า pH, อุณหภูมิ และระยะเวลาการได้รับความร้อน (Pikul et al., 1984)

มาลอนไดอัลดีไฮด์สามารถปนเปื้อนได้ในอากาศหรือแหล่งน้ำ มักจะเป็นผลมาจากการปนเปื้อนจากการกระทำของมนุษย์ซึ่งเป็นมลพิษทางสิ่งแวดล้อมที่สำคัญ Romieu *et al.*(2006) ได้ทำการวิจัยถึง

ปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ที่ปนเปื้อนในอากาศที่จะมีแนวโน้มทำให้เด็กเป็นโรคหอบหืดได้ และพบว่า ปริมาณ มาลอนไดอัลดีไฮด์สัมพันธ์กับปริมาณของโอโซน ในอากาศบริเวณนั้นด้วย เหตุผลเนื่องจากความสามารถในการเป็น oxidative stress ได้ดีของโอโซน ทำให้สารตั้งต้นที่มีอยู่ในอากาศบริเวณนั้นเกิดถูกออกซิไดซ์เป็น มาลอนไดอัลดีไฮด์ได้ ดังนั้นปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ จึงสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดถึงมลพิษในอากาศบริเวณนั้นได้

สำหรับการตรวจพบมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่เจือปนในอาหารนั้นได้มีการทำการศึกษามานานแล้วไม่น้อยกว่า 20 ปี และมีรายงานการวิจัยอย่างต่อเนื่อง อย่างเช่น การตรวจวิเคราะห์หา มาลอนไดอัลดีไฮด์ในเนื้อปลา (Koning A M and Silk M H, 1963) น้ำมันปลา Rogerio, et al., 2009) (Aubourg, S.P, 1999) (Chaijan et al.,2006) ถั่วนัท (Holland D C,1971) น้ำส้มคั้น (Braddock R J and Petrus D R,1971) น้ำมันพืช (Arya S S and Ninnala N,1971) ไขมัน (Sedlocek B, 1964) น้ำมันปลา (Sinnhuber R O and Yu T C,1968) ถั่วเขียวแช่แข็ง (Chow L and Watts B M, 1969) นม(Downey W K, 1969) และไขมันนม (Patton S and Kurtz G W,1951) ผลิตภัณฑ์เนื้อ (Fernandez, et al., 1997) เนื้อหมูและหมูแช่เค็ม (Zipser et al., 1964) ผลิตภัณฑ์ไส้กรอก (De Las Heras et al., 2003) นมผงเลี้ยงทารก (Cesa, S, 2004) (Fernaille et al., 2001)

Raymond *et al.*(1993) ได้ทำการศึกษาการวัดปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างอาหารต่างๆที่ผ่านการปรุงแล้วโดยใช้เทคนิค "thiobarbituric reactive substances" (TBARS) ซึ่งเป็นเทคนิคมาตรฐานที่ใช้ทดสอบ มาลอนไดอัลดีไฮด์โดยผลการทดสอบที่ได้แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณ malonaldehyde ในอาหารที่ปรุงแล้ว

***Malonaldehyde levels in different types of meat*[1]**

Cut of meat	Treatment	
		μg/g
Sirloin steak[1]	Uncooked	13.7±2.7
	Broiled at 450° for 25 minutes	11.0±2.0
	Fat only	0.4±0.1
Ground sirloin	Uncooked	2.7±0.1
	Broiled at 450° until medium rare	3.9±0.2
	Cooked and refrigerated 1 day	5.6±0.4
Round steak[1]	Uncooked	7.2±1.0
	Cooked at 325° for 1.5 hours	3.7±0.2
	Cooked and refrigerated 1 day	5.4±0.2
Ground beef[1]	Uncooked	6.5±0.4
Rolled rump roast[1]	Uncooked	1.4±0.2
	Cooked 4 hours in water 250°	0.3±0.1
	Cooked and refrigerated 2 days	0.8±0.1
Round steak[1]	Uncooked	1.2±0.4
	Cooked, braised[2]	5.8±2.1
Veal[1]	Uncooked	13.9±4.0
	Cooked, braised	1.3±0.2
Sirloin tip roast[1]	Uncooked	9.4±3.1
	Cooked 2 hours at 325°	27.0±6.3

ที่มา: Raymond S, et.al.,1977

นอกจากนี้ Okafor *et al.*(2007) ได้ทำการศึกษาปริมาณของ มาลอนไดอัลดีไฮด์ที่พบในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทไอศกรีมและโยเกิร์ตจากประเทศไนจีเรียโดยใช้เทคนิค TBARS ทดสอบเช่นกัน พบว่าปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ อยู่ในช่วงระหว่าง 1.79 – 9.11 µg/ml ดังแสดงในตารางที่ 2.

ตารางที่ 2. แสดงผลการทดสอบการหามาลอนไดอัลดีไฮด์ ในไอศกรีมและโยเกิร์ตจากประเทศไนจีเรีย

Samples	Nitrite (µg/ml)	Nitrate (µg/ml)	N-nitrosamine (µg/ml)	Malondialdehyde (MDA) (µg/ml)
A	0.07±0.01[a]	4.9±0.51[e]	ND	3.90±0.71[h]
B	ND	0.93±0.02[c]	0.13±0.01[f]	3.68±0.53[h]
C	0.21±0.01[b]	2.83±0.21[d]	0.02±0.00[g]	3.58±0.83[h]
D	0.81±0.03[b]	0.40±0.02[c]	ND	4.95±0.65[i]
E	0.05±0.01	0.78±0.01[c]	0.06±0.01[g]	4.32±0.37[h]
F	0.41±0.02[b]	0.64±0.04[c]	0.12±0.00[f]	6.05±0.73[i]
G	0.25±0.02	0.91±0.05[c]	ND	3.00±0.44[h]
X	0.06±0.01[a]	1.92±0.10[a]	0.09±0.02[f]	5.16± 0.56[i]
Y	0.18±0.02[b]	ND	ND	1.79±0.13[i]
Z	0.20±0.01[b]	ND	ND	9.11±2.67[j]

ทั้งนี้เหตุผลที่มีการตรวจพบมาลอนไดอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์อาหารเกือบทุกชนิดนั้น เป็นผลมาจากปฏิกิริยาlipid peroxidation และ generation of malondialdehyde (Yahya MD.et.al,1996) อันเนื่องมาจากการได้รับความร้อนสูงจากการปรุงอาหาร ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่สุดสำหรับการเกิด และสารประกอบอื่นๆ ในอาหาร เมื่อมนุษย์บริโภคอาหารเหล่านั้นก็มีโอกาสได้รับสารนี้ จึงมีรายงานการตรวจพบมาลอนไดอัลดีไฮด์ในมนุษย์นั้น (IARC ,1985) เป็นผลมาจากเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายของปฏิกิริยา lipid peroxidation นอกจากนี้มาลอนไดอัลดีไฮด์ยังสามารถเกิดขึ้นได้เป็นผลิตผลข้างเคียงจากปฏิกิริยาสังเคราะห์ prostaglandin และ thromboxane ในร่างกายมนุษย์นั้นสามารถพบมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้ทั้งในเนื้อเยื่อ เกล็ดเลือด และซีรัม (Volpi et al.,1998) (Largillière et al.,2004)ดังแสดงในตารางที่ 3

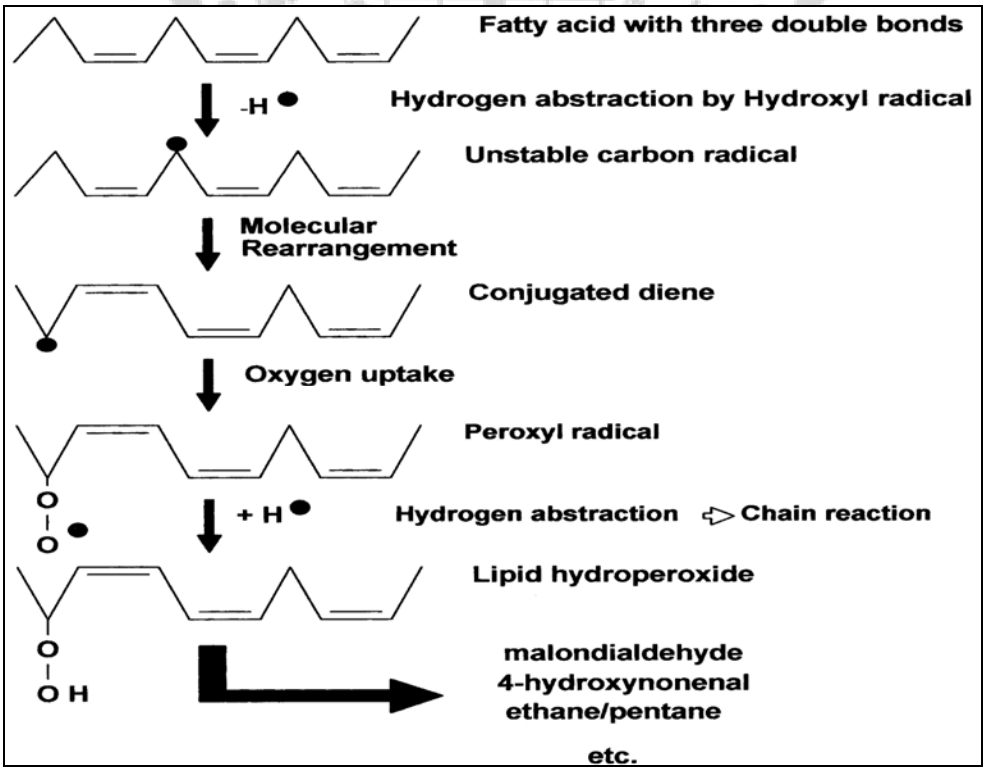
ตารางที่ 3 แสดงผลการวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในพลาสมามนุษย์

	Male	Female
Observations	15	10
Mean (nmol/ml plasma)	0.906	1.246
Median	0.697	1.067
Standard deviation	0.614	0.600
Standard error	0.159	0.190
Coefficient of variation	67.82	48.20
Significance (*t*-test)	Not significant	

ที่มา: Volpi et al.(1998)

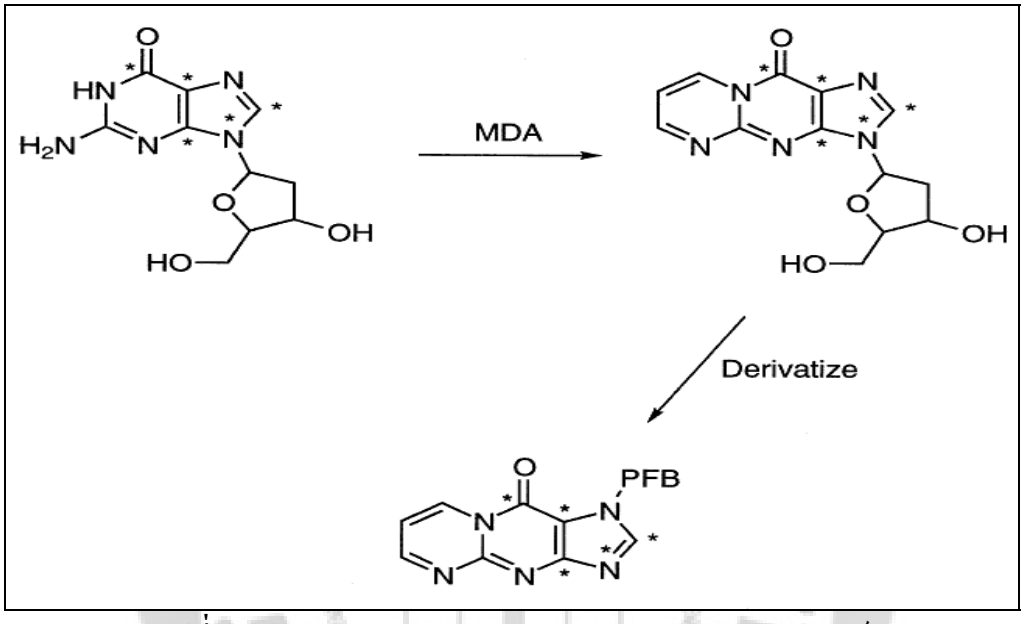
จากข้อมูลของ American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) (1997) ยังไม่มีการกำหนดถึงการควบคุมปริมาณขั้นต่ำของ ที่พบได้ในอากาศปกติ และนอกจากนี้ยังไม่มีหน่วยงานระหว่างประเทศใดที่จะออกข้อกำหนดควบคุมปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ที่พบในน้ำดื่มทั่วไป ยังไม่มีการศึกษาโดยตรงที่เกี่ยวกับผลของการได้รับปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ที่มีการเกิดเซลล์มะเร็งในมนุษย์ แต่ก็ยังมีงานวิจัยที่ระบุถึงแนวโน้มในการเกิดมะเร็งในมนุษย์จากผลของการได้รับมาลอนไดอัลดีไฮด์

Lawrence et al.(2002) ได้ทำการศึกษาผลของการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ซึ่งอาจให้ผลิตผลเป็น มาลอนไดอัลดีไฮด์แล้วส่งผลให้ไปเกิดการทำลายโครงสร้างของสารประกอบทางพันธุกรรม (DNA) โดยเมื่อกรดไขมันไม่อิ่มตัวเข้าสู่ร่างกายจะสามารถเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation จนได้ผลิตภัณฑ์เป็นมาลอนไดอัลดีไฮด์ โดยในขั้นตอนแรกนั้นกรดไขมันที่มีพันธะคู่หรือพันธะสามในสายโมเลกุล จะเกิดการสูญเสียไฮโดรเจนอะตอมโดยอนุมูล hydroxyl เกิดเป็นกรดไขมันที่ไม่เสถียรส่งผลให้โมเลกุลเกิดการจัดเรียงรูปร่างใหม่ ได้เป็นสารประกอบ conjugated diene และจากนั้นออกซิเจนอะตอมจะเข้ามาทำปฏิกิริยาต่อตรงตำแหน่งที่เป็นอนุมูลของสายกรดไขมันเกิดเป็นสารประกอบที่เรียกว่า peroxyl radical ตามรูปที่ 2 ต่อมาชั้นของ phospholipid membranes ภายในเยื่อหุ้มนิวเคลียสจะทำการรีดิวส์ peroxyl radical แล้วเกิดการจัดเรียงโครงสร้างใหม่จนในที่สุดจะได้ มาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ภายในเยื่อหุ้มนิวเคลียส



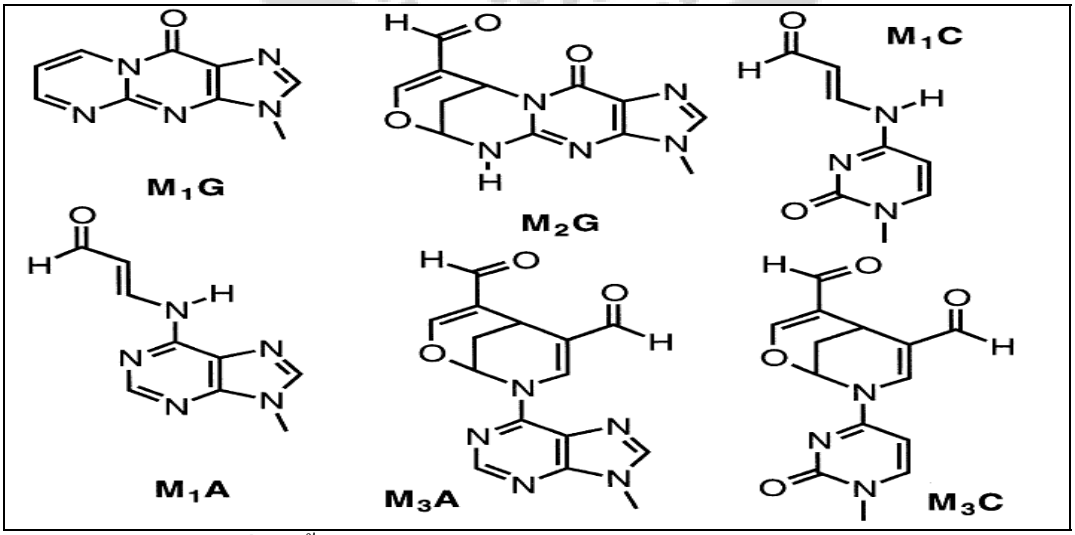
รูปที่ 2. แสดงปฏิกิริยา lipid peroxidation เกิดมาลอนไดอัลดีไฮด์

มาลอนไดอัลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นจะสามารถไปทำปฏิกิริยาต่อกับสารพันธุกรรมของมนุษย์ อย่างเช่น 2'-deoxyguanosine เกิดเป็นสารประกอบใหม่ที่เรียกว่า M_1G (3-(2-deoxy-β-D-*erythro* pentofuranosyl)pyrimido[1,2-α]purin-10(3H)) ตามรูปที่ 3



รูปที่ 3 แสดงผลของการทำลายสารพันธุกรรม (DNA) ในมนุษย์

ไม่เพียงแต่ 2-deoxyguanosine ที่สามารถถูกทำลายด้วยมาลอนไดอัลดีไฮด์ สารพันธุกรรมอื่นๆ ก็สามารถถูกทำลายจนเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างได้เช่นกัน ดังแสดงในรูปที่ 4



รูปที่ 4 แสดงผลผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นได้จากการทำลายสารประกอบพันธุกรรมจากผลของมาลอนไดอัลดีไฮด์

โดยสารประกอบ M_1G ที่เกิดขึ้นนี้จะไปสะสมตามอวัยวะส่วนไหนมากก็มีโอกาสทำให้เกิดเซลล์มะเร็งที่ดังกล่าวได้อย่างเช่น ตับ ปอด และเซลล์เม็ดเลือดขาว ดังนั้น Lawrence จึงติดตามสารประกอบ M_1G ที่เกิดขึ้นจากเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ ของมนุษย์โดยอาศัยการทำอนุพันธ์ระหว่างสารประกอบ M_1G กับสารประกอบ pentafluorobenzyl bromide จากนั้นจึงวิเคราะห์อนุพันธ์ที่เกิดขึ้นโดยอาศัยเครื่อง GC/EC NCI/MS โดยผลการทดสอบจะแสดงดังในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณ M_1G ในเซลล์ต่างๆ ของมนุษย์

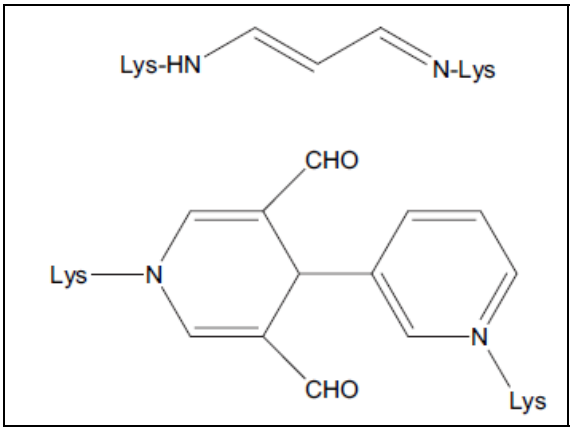
Levels of M_1G in human tissues

Tissue	Average[a]	Range	Technique	Reference
Liver	9 ($n = 6$)	5–12	GC/MS	[41]
White cells	0.6 ($n = 10$)	0.5–0.8	GC/MS	[42]
Pancreas	3.2 ($n = 27$)	< 0.1–5	GC/MS	[47]
White cells	2.6 ($n = 26$)	1–5	^{32}P	[48]
White cells[b]	0.9 ($n = 7$)	0.2–2.5	^{32}P	[39]
White cells[c]	11 ($n = 6$)	1.2–28	^{32}P	[39]
Breast[d]	0.2 ($n = 51$)	0.05–1.3	^{32}P	[40]
Breast[e]	0.08 ($n = 28$)	0.02–0.19	^{32}P	[40]
Breast	3 ($n = 7$)	0.7–5.6	^{32}P	[48]

[a]All levels represent number of adducts per 10^7 nucleotides.
[b]Women fed high monounsaturated fat diet.
[c]Women fed high polyunsaturated fat diet.
[d]Normal tissue from breast cancer patients.
[e]Normal breast tissue from non-cancer bearing women.

นอกจากนี้ยังพบว่าในแต่ละ 10^8 โดยเฉลี่ยของลำดับ nucleosides ของ DNA 1 mg จะพบสารประกอบ M_1G อยู่ 2-3 ตัวเสมอ ดังนั้นจึงเป็นผลให้รหัสของสายพันธุกรรมเปลี่ยนแปลงหรือถูกทำลายไปและด้วยเหตุผลนี้เองจึงเชื่อว่ามาลอนไดอัลดีไฮด์ มีส่วนสำคัญในการเกิดโรคมะเร็งในร่างกายมนุษย์

ไม่เพียงแต่จะเกิดอันตรายทางพันธุกรรมจากผลของการได้รับ มาลอนไดอัลดีไฮด์แล้ว การได้รับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในปริมาณมากยังสามารถเกิดผลกระทบโดยตรงต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิต โดยมาลอนไดอัลดีไฮด์ สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารประกอบจำพวก primary amines อย่าง N3-(2-propenal)lysine แล้วทำให้เกิดการ cross-links กับสารประกอบต่างๆ อย่างเช่น 1-amino-3-iminopropene และ pyridyledihydropyridine ดังแสดงในรูปที่ 5

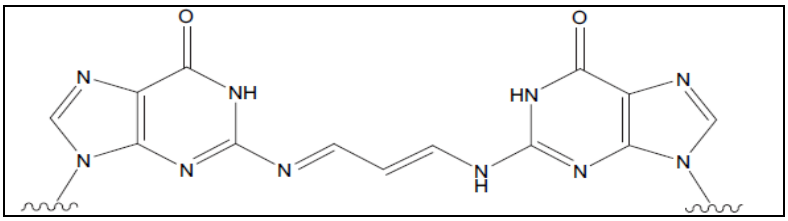


รูปที่ 5 โครงสร้างของ lysine-lysine cross-links จากผลของมาลอนไดอัลดีไฮด์

ที่มา: Uchida K. (2000)

ซึ่งจะพบมากใน apoprotein B-100 (apo-B) (Uchida .K..,2000)ที่ทำหน้าที่ลำเลียงไขมันไปยังอวัยวะหรือเนื้อเยื่อ ทำให้ apo-B ถูกเปลี่ยนแปลงไปไม่สามารถลำเลียงไขมันได้เกิดการสะสมของไขมันในเส้นเลือด จนเกิดเป็นภาวะหลอดเลือดแดงแข็งแบบ atherosclerosis ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary heart disease) โรคของหลอดเลือดแดงส่วนปลาย (peripheral arterial disease) โรคหลอดเลือดสมอง (cerebrovascular disease)

มาลอนไดอัลดีไฮด์ ยังสามารถทำเกิดการ cross-links กับสารจำพวก Niedernhofer และ colleagues (Palinski W,et.al.,1994) แล้วเกิดเป็นสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ที่เรียกว่า N^2,N^2-Malondialdehyde (โครงสร้างทั่วไปแสดงดังรูปที่ 6) ทำให้เกิดการสะสมและอุดตันบริเวณผนังเส้นเลือดจนเป็นสาเหตุของโรคหลอดเลือดและหัวใจ (Cardiovascular Diseases = CVD) ที่มีจำนวนผู้เสียชีวิตสูงในกลุ่มประเทศแถบยุโรปและสหรัฐอเมริกาซึ่งมีการบริโภคอาหารที่มีไขมันผสมในปริมาณสูง



รูปที่ 6 โครงสร้างของ N^2,N^2-Malondialdehyde

ที่มา: Palinski W,et.al.,1994

สำหรับรายงานการหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในอาหารที่พบได้มาก คือ การตรวจวิเคราะห์หามาลอนไดอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์เนื้อ (Fernandez, et al., 1997) ผลิตภัณฑ์เนื้อปลาและ น้ำมันปลาสายพันธุ์ต่างๆ (Rogerio, et al., 2009) (Aubourg, S.P, 1999) (Chaijan et al.,2006) เนื้อหมูและหมูแช่เค็ม (Zipser et al., 1964) ผลิตภัณฑ์ไส้กรอก (De Las Heras et al., 2003) นมผงเลี้ยงทารก (Cesa, S, 2004) (Fernaille et al., 2001) ส่วนการรายงานในเนื้อไก่ยังไม่พบ มีเพียงรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับไก่ คือ การวิเคราะห์ปริมาณ มาลอนไดอัลดีไฮด์ในตับไก่ (Squiers, E.J.,1990)

ในการวิจัยนี้มีจุดประสงค์จะศึกษาปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ในอาหารแปรรูป 5 แบบ คือ การทอด, ต้ม ,นึ่ง,อบ และย่าง โดยจะทำการแปรรูปเนื้อไก่ เนื่องจากปัจจุบันไก่เป็นอาหารโปรตีนที่ได้รับความนิยมแพร่หลายมาก และหาบริโภคได้ง่าย โดยมีผลิตภัณฑ์จากไก่จำหน่ายมากมายหลายประเภท โดยยังไม่มีรายงานวิจัยหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในผลิตภัณฑ์แปรรูปจากไก่ ทั้งที่เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีผู้บริโภคจำนวนมาก ซึ่งจะเป็นข้อมูลแก่ผู้บริโภคในการที่จะเลือกบริโภคอาหารแปรรูป ได้ดียิ่งขึ้น

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

สารเคมีและอุปกรณ์

1. 2-thiobarbituric acid : AR grade ของ Merck
2. สารละลายมาตรฐาน 1,1,3,3-tetraethoxypropane : AR grade ของ Fluka
3. สารละลาย 7.5% trichloroacetic acid : AR grade ของ Merck
4. H2SO4 : AR grade ของ Merck
5. propyl gallate: AR grade ของ Merck
6. DNPH: AR grade ของ Merck
7. EDTA: : AR grade ของ BDH
8. Acetic acid: : AR grade ของ Merck
9. Acetonitrile : Chromatographic grade ของ Merck
10. กระทะไฟฟ้า ตราToshiba
11. อุปกรณ์ย่างไฟฟ้า
12. เครื่องชั่งอย่างละเอียด จากบริษัท PRECISA รุ่น 220A
13. เครื่องอังไอน้ำ ยี่ห้อ Buchii
14. เยื่อกรอง polytetrafluoroethylene (PTFE) ขนาด 0.45 ไมครอน
15. เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ของบริษัท Shimadzu
16. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง จากบริษัท Hewlett-Packard รุ่น HP 1100
17. คอลัมน์ C18 (Bondclone 10 µm ขนาด 300 x 3.90 mm)

สารตัวอย่าง

1. เนื้ออกไก่สด จัดซื้อจากซุปเปอร์มาเก็ตในห้างโลตัส และ คาร์ฟูร์
2. ไก่ต้มน้ำปลา ซื้อจากตลาดนัดมศว
3. ไก่นึ่งทำข้าวมันไก่ ซื้อจากร้านค้าในโรงอาหารมศว

4. ไก่ทอด ซื้อจากร้านค้าข้างมศว ด้านประตูที่ติดต่อถนนเพชรบุรีตัดใหม่

5. ไก่ย่าง ซื้อจากตลาดนัดมศว

ตอนที่ 1 การศึกษาหาวิธีที่เหมาะสมในการตรวจวัดหรือวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์

การทดลองด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี และ โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

1.1การทดลองวิเคราะห์ปริมาณ มาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรีทำการทดลองตามวิธี MDA-TBA หรือ (TBA Test) (Vyncke, 1970)

วิธีทดลองดังนี้

1.1.1 ปิเปตสารละลาย 1,1,3,3-tetraethoxypropane ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 ml แล้วปรับปริมาตรด้วย 1% H_2SO_4 จนครบ เขย่าให้เข้ากันแล้วเก็บไม่ให้ถูกแสงเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะได้สารละลายสีเหลืองของมาลอนไดอัลดีไฮด์ เข้มข้น 100 µmol/ml

1.1.2 ปิเปตสารละลายมาลอนไดอัลดีไฮด์ เข้มข้น 100 µmol/ml มา 0.1 ml ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 ml แล้วปรับปริมาตรด้วย 1% H_2SO_4 จะได้สารละลายมาลอนไดอัลดีไฮด์ เข้มข้น 100 nmol/ml

1.1.3 เตรียมมาตรฐานสารละลาย มาลอนไดอัลดีไฮด์ในในช่วงเข้มข้น 20, 15, 10, 5, 0 nmol/ml โดยปิเปต สารละลายมาลอนไดอัลดีไฮด์ เข้มข้น 100 nmol/ml ปริมาตร 10, 7.5, 5, 2.5, 0 ml ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 ml ตามลำดับแล้วปรับปริมาตรด้วย 1% H_2SO_4 จะได้สารละลายมาตรฐานในช่วงความเข้มข้น 20, 15, 10, 5, 0 nmol/ml

1.1.4 นำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้แต่ละช่วงความเข้มข้นปิเปต 1 ml ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลาย 40 mM 2-thiobarbituric acid ลงไป 1 ml ทาในทุกช่วงความเข้มข้นและทำซ้ำ 3 ชุด จากนั้นจึงนำไปให้ความร้อนที่ 80 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

1.1.5 เมื่อครบกำหนด นำสารละลายอนุพันธ์ที่ได้ทิ้งไว้ในเย็นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที แล้วจึงนาไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่530นาโนเมตร นำค่าความสามารถในการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปพลอตกราฟมาตรฐานระหว่าง ค่าการดูดกลืนแสงกับค่าความเข้มข้นของสารละลาย มาลอนไดอัลดีไฮด์มาตรฐาน

1.1.6 นำสารละลายมาตรฐาน มาลอนไดอัลดีไฮด์เข้มข้น 5 µm มาเตรียมตามข้อ 1.1.1 ถึง 1.1.5นำค่า การดูดกลืนแสงที่วัดได้เทียบกับค่าการดูดกลืนจากกราฟมาตรฐาน และ วิเคราะห์หาปริมาณสาร มาลอนไดอัลดีไฮด์ที่คำนวนได้เทียบกับค่าจริง เพื่อเป็นการประเมินประสิทธิภาพวิธีการทดลอง

1.1.7 ทำการทดลองซ้ำข้อ 1.1.6 และ ประเมินหาค่า LOD, LOQ ของวิธีการทดลอง

1.2 การทดลองวิเคราะห์ปริมาณ MDA ด้วยวิธีการทางโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ทำการทดลองตามวิธี ของ Nurten, T. et al., 2006 มีแนววิธีทดลองดังนี้

1.2.1 เตรียมกราฟมาตรฐาน โดยการเตรียมสารละลาย มาตรฐาน MDA โดยการ ละลายสาร 1,1,3,3- tetraethoxypropane (TEP) 25 µl ในน้ำ จะได้สารละลายมาตรฐานเข้มข้นตั้งต้น 1 mM ต่อจากนั้นเตรียม working standard โดยการ ย่อย TEP สารละลายตั้งต้น 1 ml ด้วย 50 ml 1 % กรด H_2SO_4 และวางพักบ่มไว้2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จะได้สารละลาย MDA เข้มข้น 20 mmol/ml นำไปละลายใน 1 % กรด H_2SO_4 เพื่อเตรียมเป็นกราฟมาตรฐานที่มี MDA เข้มข้น 10.5, 2.5, 1.25 และ0.625 mmol/ml โดยมีปริมาตรสารละลาย MDA 0.250 ml นำไปผสมกับ สารละลาย DNPH เข้มข้น 5 mM ที่ละลายใน 2 M. HCL 25 µl แล้วนำไปบ่มไว้ 10 นาที นำสารละลายผสม 20 µl ฉีดเข้า HPLC โดย กรองผ่าน filter ที่มี ขนาด 0.2 µm

1.2.2. จากข้อ 1.2.1 ฉีดสารละลายมาตรฐาน MDA-DNPH เข้าคอลัมน์ ODS C18 (ขนาด 5 µm x 125 µl , 4 mm.) ชะด้วยตัวทำละลาย โมไบล์เฟส acetonitrile : H_2O อัตราส่วน 38 : 62 v/v ที่มี 0.2 % (v/v) กรด acetic acid โดยใช้สภาวะไอโซเครติก ควบคุมอัตราการไหล 1 ml/min ตรวจวัดด้วย uv-detector ที่ความยาวคลื่น 310 nm

1.2.3. นำสารละลาย มาลอนไดอัลดีไฮด์มาตรฐาน เข้มข้น 5 µm มาเตรียมตามข้อ 1.1.1 ถึง 1.1.5 นำค่า พื้นที่พีคที่วัดได้เทียบกับค่าพื้นที่พีคจากกราฟมาตรฐานในข้อ 1.2.2 และ วิเคราะห์หาปริมาณสาร MDA ที่คำนวณได้เทียบกับค่าจริง เพื่อเป็นการประเมินประสิทธิภาพวิธีการทดลอง

1.2.4 ทำการทดลองซ้ำข้อ 1.2.3 และ ประเมินหาค่า LOD, LOQ ของวิธีการทดลอง

ตอนที่ 2 การวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในตัวอย่างเนื้อไก่

2.1 การเตรียมตัวอย่าง (ดัดแปลงจาก Rogerio, M. et al., 2009)

นำตัวอย่าง เนื้อไก่บริเวณอกไก่ มาสับ หรือ บดให้ละเอียด ชั่งมา 15 g ใส่ในหลอดบีกเกอร์ขนาด 50 ml เติมสารละลาย TCA เข้มข้น 7.5% (w/v), 0.1% (w/v) EDTA, 0.1% (v/v) propyl gallate

ปริมาตรรวม 30 ml ผสมเข้าด้วยกันด้วยเครื่อง ปั่น นาน 1 นาที จึงนำตัวอย่างไปกรองผ่านกระดาษกรอง whatman#1 สารละลายใสที่ได้นำไป centrifuge ที่ 6000 rpm นาน 10 นาที

2.2 <u>การวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์</u>

นำสารละลาย filtrate จาก 1.3.1แบ่งเป็น 2 ส่วน โดยนำไปวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ด้วยวิธีสเปกโตรเมตรี ตามข้อ 1.1 โดยนำสารละลาย filtrateไปใช้ ทดลอง 5 ml และนำไปทดลองตามวิธีข้อ 1.2 20 μl แล้วนำค่า Absorbance จากที่ทดลองตาม 1.1 และ 1.2 ไปเทียบกราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณ หาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ขณะเดียวกัน ในการทดลองด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง จะเทียบกราฟมาตรฐานตามข้อ 1.2 และคำนวณหา มาลอนไดอัลดีไฮด์เช่นกัน

การแปรรูปผลิตภัณฑ์ไก่ จะนำเนื้อส่วนอก ต้ม,นึ่ง, อบ, ทอด แล้วจึงนำส่วนผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปไปทำการทดลอง เช่นข้างต้น ทำการทดลองเช่นเดียวกัน

ตอนที่3.การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ มาลอนไดอัลดีไฮด์

3.1 <u>ศึกษาผลของระยะเวลาที่ให้ความร้อน</u>

นำเนื้อไก่ส่วนอกไปให้ความร้อน โดยใช้เวลา นาน 5 นาที, 10, 20, 30 และ 60 นาที โดยการต้มในบีกเกอร์ที่อุณหภูมิ 100 °Cต่อจากนั้นนำไปทดลองตามข้อ 1.1 เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ MDA ในเนื้อไก่

3..2 <u>ศึกษาผลของอุณหภูมิในการให้ความร้อนแก่เนื้อไก่</u>

นำเนื้อไก่ส่วนอก 20 กรัม ไปต้มในบีกเกอร์ ที่อุณหภูมิ 50 °C, 80 °C และ 100 °C นาน 10 นาที ทำการทดลองตามข้อ 1.1

3.3 <u>ศึกษาปัจจัยรูปแบบการแปรรูป</u>

นำเนื้อไก่ส่วนอก น่องไก่ ไปทำให้สุกด้วยวิธีการต่างๆ ได้แก่ ต้ม, นึ่ง,ทอด, อบ แล้วนำแยกส่วนเนื้อของแต่ละชนิดอย่างละ 50 กรัม ไปทดลองต่อ ตามข้อ 1.1

3.4 <u>ศึกษาปัจจัยของส่วนต่างๆของเนื้อไก่</u>

นำส่วนเนื้ออกไก่, สะโพกไก่ และ น่องไก่ อย่างละ 100 กรัม นำไปแปรรูปให้สุก โดยการอบนาน 5 นาที ที่ อุณหภูมิ 100 °C แล้วนำผลิตภัณฑ์ไปทดลองต่อ ตามข้อ 1.1

ตอนที่ 4. การวิเคราะห์หาปริมาณ มาลอนไดอัลดีไฮด์ผลิตภัณฑ์แปรรูปไก่สำเร็จรูปที่มีจำหน่ายในตลาด

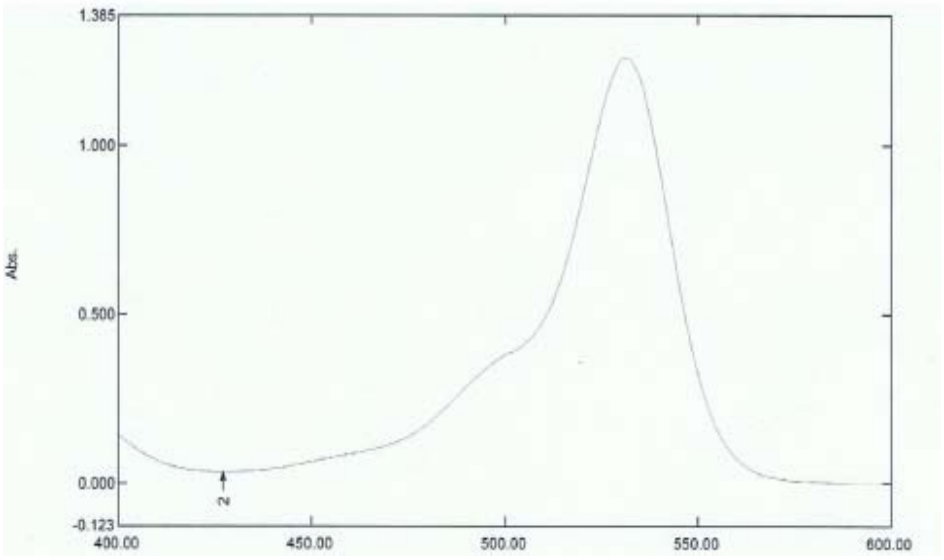
จัดซื้อ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไก่ที่มีจำหน่าย ได้แก่ ไก่ต้มน้ำปลา ไก่นึ่งทำข้าวมันไก่ ไก่ทอด ไก่ย่าง นำไปทดลองเช่นเดียวกับตอนที่2

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล

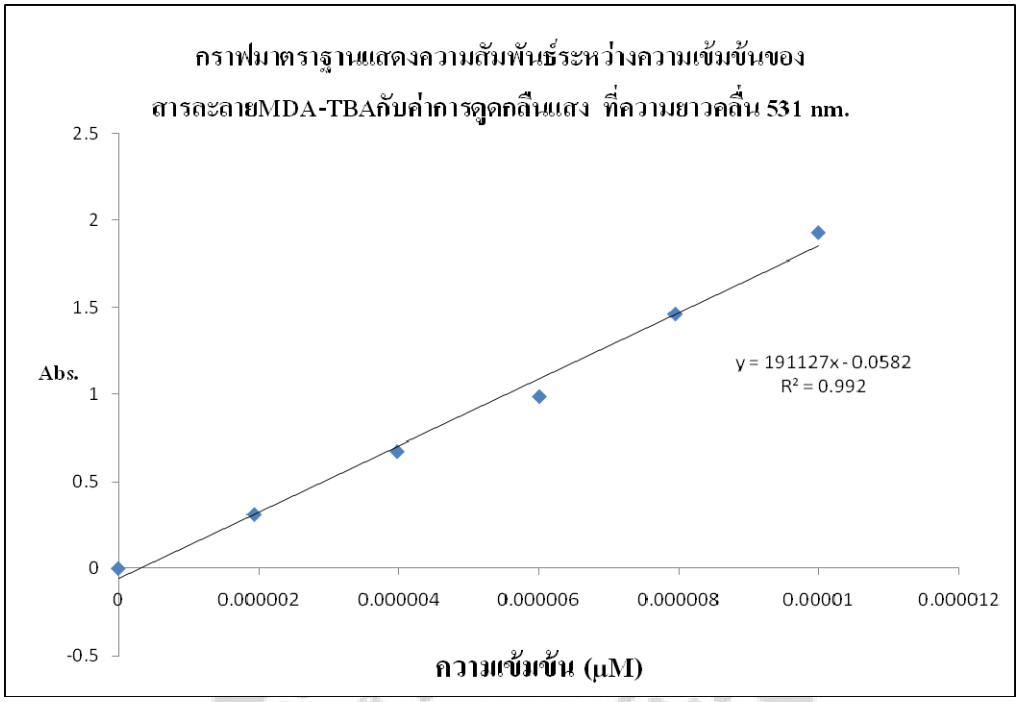
ตอนที่ 1 ผลการศึกษาหาวิธีที่เหมาะสมในการตรวจวัดหรือ วิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ โดยทำการทดลองด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี และ โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ผลการทดลองวิเคราะห์ปริมาณ มาลอนไดอัลดีไฮด์ ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรีทำการทดลองตามวิธี MDA-TBA หรือ (TBA Test) (Vyncke, 1970) จากการเตรียมกราฟมาตรฐานเพื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรมิเตอร์ ตัวอย่างสเปกตรัมการดูดกลืนแสงตามแสดงในรูปที่.7



รูปที่. 7 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์

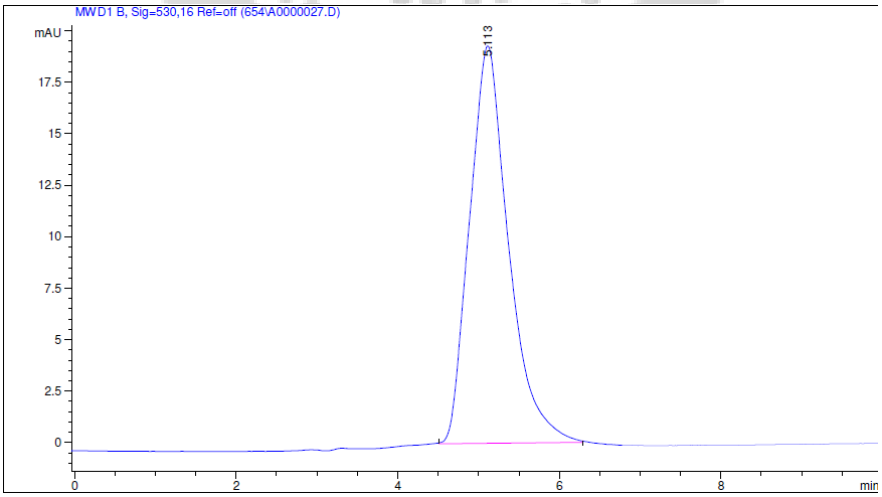
เมื่อบันทึก ค่าการดูดกลืนแสงของสาร มาลอนไดอัลดีไฮด์ มาตรฐาน พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของสาร แปรผันตามความเข้มข้นสารมาตรฐานที่พลอตกราฟจะได้กราฟเชิงเส้นตรง ที่มีสัมประสิทธิ์สัมพันธ์ มีค่า $r^2 = 0.99$ ตามแสดงในรูปที่.8



รูปที่ 8 กราฟมาตรฐานวิเคราะห์ปริมาณ มาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยเทคนิควิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี

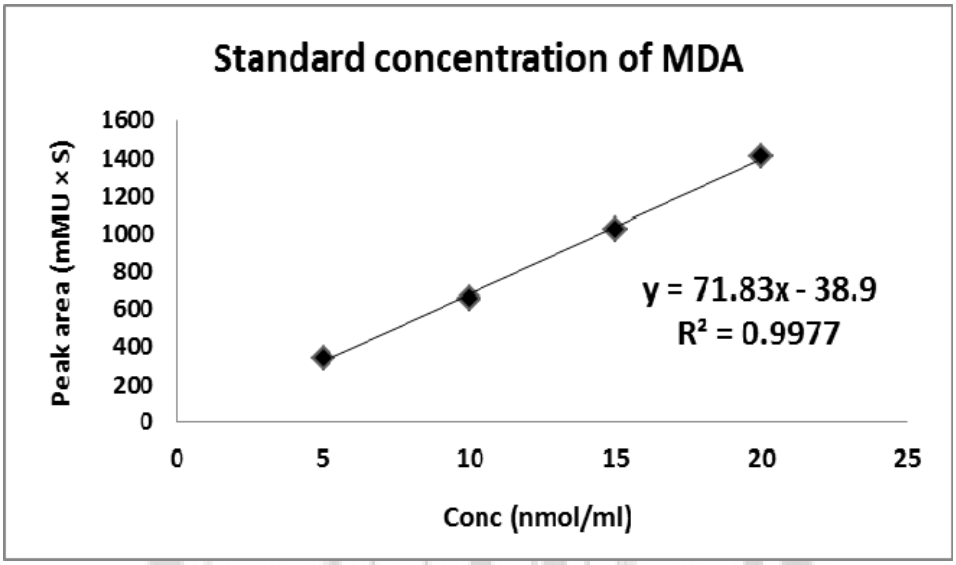
ผลการคำนวณหาค่า LOD และ LOQ พบว่า การทดลองด้วยสภาวะที่ใช้นี้มีค่า LOD เท่ากับ 0.24 นาโนโมล/มิลลิลิตร และ ค่า LOQ เท่ากับ 0.81 นาโนโมล/มิลลิลิตร

ผลการทดลองวิเคราะห์ปริมาณ MDA ด้วยวิธีการทางโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ที่ทำการทดลองตามวิธี ของ Nurten, T. et al., 2006 พบว่า ตัวอย่างโครมาโทแกรมที่บันทึกได้ ตามรูปที่9



รูปที่ 9 โครมาโทแกรมของสารละลาย มาลอนไดอัลดีไฮด์มาตรฐานเข้มข้น 5 นาโนโมลาร์

นำค่าพื้นที่พีคของสารมาตรฐานไปพลอตกราฟมาตรฐานระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของ สารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ตามรูปที่ 10. จะได้กราฟเชิงเส้นตรงที่มีสมการสหพันธ์ y=71.83x – 38.9 และ มีค่า r^2 = 0.9977



รูปที่ 10.กราฟมาตรฐานวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ผลการคำนวณหาค่า LOD และ LOQ พบว่า การทดลองด้วยสภาวะที่ใช้นี้มีค่า LOD เท่ากับ 0.93 นาโนโมล/มิลลิลิตร และ ค่า LOQ เท่ากับ 3.10 นาโนโมล/มิลลิลิตร

จากวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณของสารMDA มาตรฐาน ทั้ง 2 วิธีเปรียบเทียบกัน พบว่า วิธีที่ 1 ซึ่งทำการวิเคราะห์สารมาตรฐาน MDA ใช้เทคนิควิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี จัดเป็นวิธีที่ทดลองง่าย สะดวก รวดเร็วตลอดจนมีความถูกต้องสูงไม่ด้อยกว่า วิธีที่2 ซึ่งใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ทั้งนี้ค่าขีดจำกัดของทั้ง 2 วิธีการอยู่ในระดับนาโนโมลาร์ โดยวิธีแรกมีความไวสูงกว่า ดังนั้นจึงเป็นเหตุให้ผู้วิจัย เลือกวิเคราะห์ขั้นตอนต่อไปด้วยเทคนิคที่ 1 เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายในการวิจัยต่ำกว่าวิธีที่ 2 มาก

ตอนที่ 2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ MDA ในตัวอย่างเนื้อไก่

จากการจัดหาตัวอย่างไก่มาทดลองจริงซึ่งได้ทดลองในตอนนี้ใช้เนื้อส่วนอกไก่มาแปรรูปโดยการต้ม นึ่ง ทอด แล้วเตรียมตัวอย่าง เพื่อนำมาวิเคราะห์ตามวิธีที่ 1 ได้ผลตามตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในตัวอย่างเนื้อออกไก่แปรรูป

ตัวอย่าง	**ปริมาณ MDAเฉลี่ย** (นาโนกรัม/กรัม)
ไก่ดิบ	1.20×10^{-6}
ไก่ต้ม	1.29×10^{-6}
ไก่นึ่ง	5.53×10^{-6}
ไก่ทอด	4.77×10^{-6}

หมายเหตุ การทดลองแต่ละครั้งทดลอง 5 ซ้ำ

เมื่อได้นำเอาวิธีการตามข้อ 1 วิธีสเปกโทรสโกปี ไปใช้ทดสอบหาปริมาณ MDA ในตัวอย่างไก่แปรรูป 3 วิธีการ พบว่า สามารถเลือกใช้วิธีดังกล่าวในการทดสอบหาปริมาณ MDA ได้ในระดับดี และมีความไวในการทดสอบสูง โดยพบว่า ในเนื้อไก่ดิบที่ยังไม่แปรรูปจะมีปริมาณ MDA อยู่ในระดับต่ำมากๆ แต่เมื่อผ่านการแปรรูปโดยการปรุงสุกตามวิธีการต่างๆทั้ง ต้ม นึ่ง และ ทอด พบว่า สามารถตรวจพบปริมาณ MDA ได้มากขึ้น โดยในการนึ่งจะทำให้ เกิด MDA สูงที่สุด คือ 5.53×10^{-6} นาโนกรัม/กรัมส่วนการต้มจะมีผลให้เกิด MDA สูงขึ้นกว่าการที่ไม่ปรุงสุก เพียงเล็กน้อย

ตอนที่3 .ผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์

3.1 ผลของเวลาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในตัวอย่างเนื้อไก่

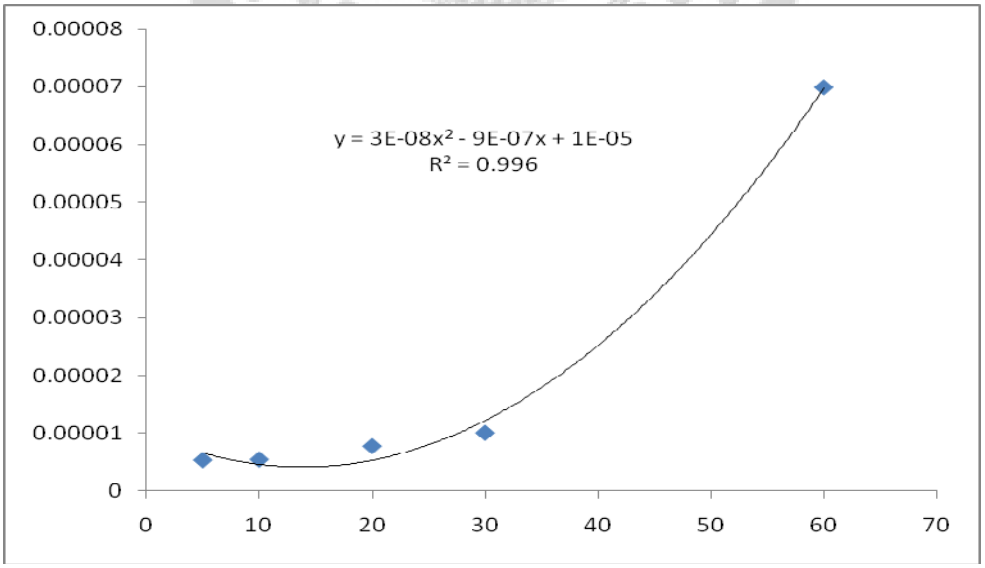
ตามที่ได้นำเนื้อออกไก่มาให้ความร้อนโดยการต้มในบีกเกอร์ที่อุณหภูมิ 100 °C ใช้เวลานานต่างๆกันตั้งแต่นาน 5 10 20 30 และ 60 นาที และทำการวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในเนื้อไก่ ตามวิธีการในตอนที่ 1 ได้ผลการทดลองตามตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในเนื้อไก่ต้มที่ระยะเวลานานต่างๆกัน

ระยะเวลาต้ม(นาที)	ปริมาณ MDA(นาโนกรัม/กรัม)
5	5.30×10^{-6}
10	5.37×10^{-6}
20	7.66×10^{-6}
30	1.00×10^{-5}
60	7.00×10^{-5}

หมายเหตุ การทดลองแต่ละครั้งทดลอง 5 ซ้ำ

จากผลการคำนวณค่าปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างเนื้ออกไก่ที่ผ่านการต้มเป็นระยะเวลานานต่างๆกัน พบว่า แนวโน้มปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์จะมีปริมาณสูงขึ้นตามระยะเวลาที่ให้ความร้อน โดยถ้านำไปให้ความร้อนนานมาก ก็จะมีปริมาณสูงมากขึ้นด้วย ถ้าพิจารณาการเปลี่ยนแปลงมาลอนไดอัลดีไฮด์ตามกราฟในรูปที่ 12 โดยการเปลี่ยนแปลงปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์จะสัมพันธ์กับระยะเวลาในการให้ความร้อนแบบพอลิโนเมียล โดยมีค่า $r^2 = 0.99$



รูปที่ 11 ความสัมพันธ์ของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์กับระยะเวลาในการให้ความร้อน

3.2 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในตัวอย่างเนื้อไก่

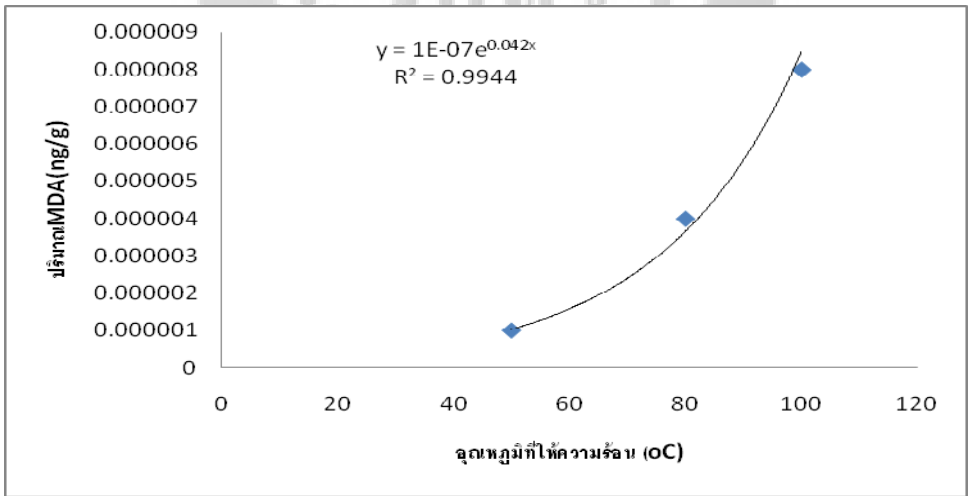
ผลจาการนำเนื้อไก่ส่วนอก 20 กรัม ไปต้มในบีกเกอร์ ที่อุณหภูมิ 50 °C, 80 °C และ 100 °C นาน 10 นาที ทำการทดลองตามข้อ 1.1 ได้ผลตามตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ปริมาณ MDA ในเนื้อไก่ต้มที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (°C)	ปริมาณ MDA(นาโนกรัม/กรัม)
50	1.13×10^{-6}
80	3.85×10^{-6}
100	7.28×10^{-6}

หมายเหตุ การทดลองแต่ละครั้งทดลอง 5 ซ้ำ

จากผลการคำนวณค่าปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างเนื้ออกไก่ที่ผ่านการต้มเป็นระยะเวลานานเท่ากัน แต่ใช้อุณหภูมิในการให้ความร้อนแตกต่างกัน พบว่า แนวโน้มปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์จะมีปริมาณสูงขึ้นตามอุณหภูมิที่ให้ความร้อน โดยถ้านำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงมากก็จะมีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์สูงมากขึ้นด้วย ถ้าพิจารณาการเปลี่ยนแปลงมาลอนไดอัลดีไฮด์ตามกราฟในรูปที่ 12



รูปที่ 12 ความสัมพันธ์ของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์กับอุณหภูมิในการให้ความร้อน

โดยการเปลี่ยนแปลงปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์จะสัมพันธ์กับอุณหภูมิในการให้ความร้อนแบบเอกซ์โพเนเนเชียล โดยมีค่า $r^2 = 0.99$

ผลจากการศึกษาปัจจัยแปรผันในตอนนี้ จะเห็นว่า ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ สามารถจะเพิ่มขึ้นได้เมื่อมีการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงมาก และ ขึ้นกับระยะเวลาที่ให้ความร้อนด้วย โดยการเปลี่ยนแปลงปริมาณที่ขึ้นกับทั้ง 2 ปัจจัย เป็นผลให้การแปรรูปไก่ต้องคำนึงถึงทั้งระดับความร้อน และ ระยะเวลาโดยปัจจัยทั้ง 2 มีผลอย่างมากที่จะทำให้ ปริมาณ มาลอนไดอัลดีไฮด์มีการเปลี่ยนแปลงในแนวทางเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตามปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ตรวจพบนี้ ก็จัดว่ามีในระดับต่ำมาก

3.3 ผลจากวิธีการแปรรูปที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในตัวอย่าง เนื้อไก่

ผลจากนำเนื้อไก่ส่วนอก อย่างละ 50 กรัม ไปทำให้สุกด้วยวิธีการต่างๆ ได้แก่ ต้ม, นึ่ง,ทอด, อบ แล้วนำไปทดลองต่อ ตามข้อ 1.1 ผลการตรวจสอบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ แสดงตามตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในเนื้ออกไก่แปรรูปแบบต่างๆ

วิธีการแปรรูป	**ปริมาณ MDA(นาโนกรัม/กรัม)**
ต้ม	5.27×10^{-6}
ทอด	4.04×10^{-6}
นึ่ง	7.34×10^{-6}
ย่าง	3.79×10^{-6}
อบ	3.94×10^{-6}

<u>หมายเหตุ</u> การทดลองแต่ละครั้งทดลอง 5 ซ้ำ

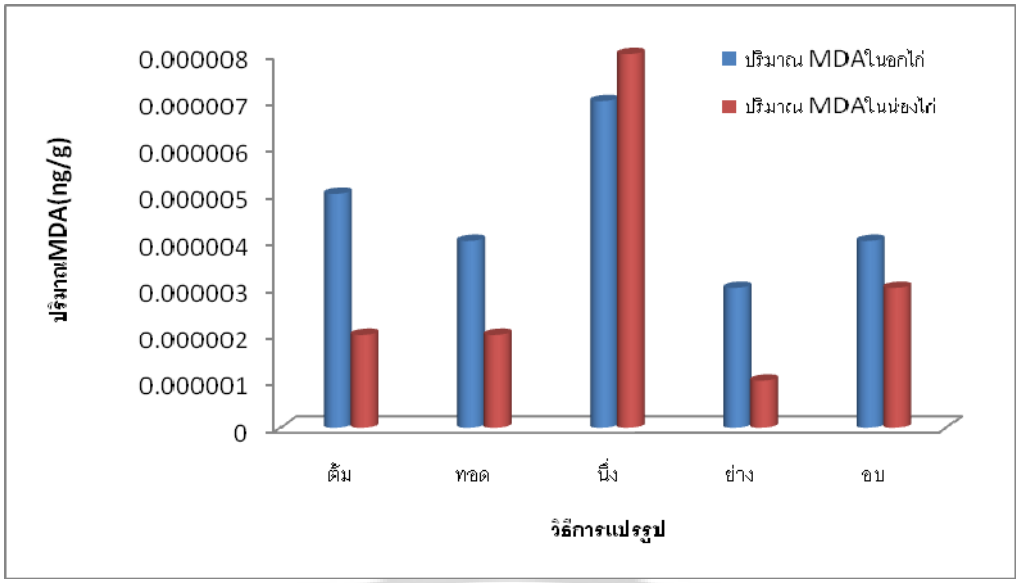
จากผลปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ตรวจสอบได้ในเนื้ออกไก่ที่ผ่านการปรุงทั้ง 5 วิธีการ พบว่าการแปรรูปให้เนื้ออกไก่สุกด้วยการนึ่งนั้น มีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มากที่สุด สอดคล้องกับผลการทดลองในตารางที่ 8 ในส่วนที่ตรวจสอบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์น้อยที่สุด คือ อกไก่ที่ผ่านการย่างซึ่งผลการทดลองในตอนนี้ อาจเป็นผลจากการย่างเป็นการที่ใช้ความร้อนช่วยทำให้สุก พร้อมทั้งเป็นการทำให้ไขมันที่มีในส่วนของเนื้ออกไก่ลดลง จึงทำให้เกิดการออกซิเดชันของไขมันได้น้อยกว่าการทำให้สุกด้วยการนึ่ง แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทดลองเปลี่ยนส่วนของไก่ โดยการนำน่องไก่ไปแปรรูปด้วยวิธีการต่างๆ ได้แก่ ต้ม, นึ่ง,ทอด, อบ และแยกแต่เนื้อ อย่างละ 50 กรัม แล้วนำไปทดลองต่อ ตามข้อ 1.1 ผลการตรวจสอบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ แสดงตามตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในเนื้อน่องไก่ที่ผ่านการแปรรูปแบบต่างๆ

วิธีการแปรรูป	**ปริมาณ MDA(นาโนกรัม/กรัม)**
ต้ม	1.86×10^{-6}
ทอด	1.85×10^{-6}
นึ่ง	8.74×10^{-6}
ย่าง	1.27×10^{-6}
อบ	1.78×10^{-6}

<u>หมายเหตุ</u> การทดลองแต่ละครั้งทดลอง 5 ซ้ำ

จากผลการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่เปลี่ยนแปลงตามวิธีการปรุงอาหาร ด้วย 5 วิธีการ ก็พบว่า ในน่องไก่ที่ผ่านการนึ่งตรวจพบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ตรวจพบมากที่สุด เช่นกัน สอดคล้องกับการแปรรูปเนื้ออกไก่ และการย่างก็ทำให้ตรวจพบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์น้อยที่สุด ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองในส่วนของไก่ ทั้ง 2 ส่วนตามรูปที่ 13



รูปที่ 13 ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์กับวิธีการแปรรูปอกไก่และน่องไก่

ดังนั้นแสดงว่า ไม่ว่าจะใช้ส่วนใดของไก่มาแปรรูปให้สุก ก็สามารถจะตรวจพบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้ โดยวิธีการแปรรูปจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้เช่นกัน

3.4 <u>ผลจากการศึกษาส่วนต่างๆของไก่ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในตัวอย่างอาหาร</u> จากการนำส่วนเนื้ออกไก่, สะโพกไก่ และ น่องไก่ อย่างละ 100 กรัม นำไปแปรรูปให้สุก โดยการต้มนาน 5 นาที ที่ อุณหภูมิ 100 °C แล้วนำผลิตภัณฑ์ไปทดลองต่อ ตามข้อ 1.1 แล้วทำการคำนวณหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ตามแสดงผลในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในเนื้อไก่ส่วนต่างๆแปรรูปแบบต้ม

ส่วนของไก่	**ปริมาณ MDA(นาโนกรัม/กรัม)**
เนื้ออกไก่	3.78×10^{-6}
น่องไก่	1.72×10^{-6}
ละโพกไก่	2.12×10^{-6}
ปีกไก่เต็ม	1.43×10^{-6}

<u>หมายเหตุ</u> การทดลองแต่ละครั้งทดลอง 5 ซ้ำ

จากผลการคำนวณหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในส่วนเนื้ออกไก่, สะโพกไก่ น่องไก่ และปีกไก่ พบว่า ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่พบมีปริมาณแตกต่างกันโดยปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์พบมากที่สุดในเนื้ออกไก่ และรองลงมาคือในส่วนสะโพกไก่ ทั้งนี้อาจเกี่ยวข้องกับปริมาณไขมันที่มีในส่วนต่างๆ ของไก่อาจมีแตกต่างกันจึงเกิดออกซิเดชันของไขมันได้แตกต่างกัน

ตอนที่ 4. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ใน ผลิตภัณฑ์แปรรูปไก่สำเร็จรูปที่มีจำหน่ายในตลาด

ผลจากการจัดซื้อ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไก่ที่มีจำหน่ายทั่วไป ได้แก่ ไก่ต้มน้ำปลา (ทั้งตัว) ไก่นึ่งทำข้าวมันไก่ (เนื้ออกไก่) ไก่ทอด(น่องไก่ และ ปีกไก่) ไก่ย่าง (ทั้งตัว น่องไก่ และ ปีกไก่) ไก่ตุ๋น (น่องไก่ และ ปีกไก่) และ ไก่อบ นำไปทดลองเช่นเดียวกับตอนที่ 2 โดยจัดซื้อจากหลายแหล่งที่จำหน่าย และเป็นผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากส่วนต่างๆของไก่ ผลจากการทดลองได้ผลตามแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์จากไก่ที่มีจำหน่ายทั่วไป

ประเภทผลิตภัณฑ์	**ปริมาณ MDA(นาโนกรัม/กรัม)**
ไก่ต้มน้ำปลา	6.27×10^{-6}
ไก่นึ่ง	8.00×10^{-6}
ไก่ทอด	5.65×10^{-6}
ไก่ย่าง	3.96×10^{-6}
ไก่ตุ๋น	1.43×10^{-6}
ไก่อบ	4.55×10^{-6}

หมายเหตุ การทดลองแต่ละครั้งทดลอง 5 ซ้ำ

ผลการทดสอบหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์จากไก่ที่มีจำหน่ายทั่วไป ตามที่แหล่งจำหน่ายต่างๆกัน พบว่า สามารถตรวจพบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์ต่างๆแตกต่างกันด้วย

โดย ไก่นึ่งจะตรวจพบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มากที่สุดเช่นเดียวกับการแปรรูปไก่ในห้องปฏิบัติการ แต่ในผลิตภัณฑ์ไก่ตุ๋น พบว่ามีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ต่ำที่สุด อาจเป็นเพราะการตุ๋นมีการใช้สารสมุนไพรอื่นๆมาร่วมในการตุ๋น ส่วนของไขมันอาจผสมปะปนไปอยู่ในส่วนของน้ำที่ต้น แต่การทดลอง ได้ตรวจสอบบแต่ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในเนื้อไก่ เท่านั้น

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปอภิปรายผล

ตอนที่ 1 การศึกษาหาวิธีที่เหมาะสมในการตรวจวัดหรือวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์โดยทำการทดลองด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี และ โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

จากวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์มาตรฐาน ทั้ง 2 วิธีเปรียบเทียบกัน พบว่า วิธีที่ 1 ซึ่งทำการวิเคราะห์สารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ ใช้เทคนิควิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี จัดเป็นวิธีที่ทดลองง่ายสะดวก รวดเร็วตลอดจนมีความถูกต้องสูงไม่ด้อยกว่า ซึ่งผลการคำนวณหาค่า LOD และ LOQ พบว่า การทดลองด้วยสภาวะที่ใช้นี้มีค่า LOD เท่ากับ 0.24 นาโนโมล/มิลลิลิตร และ ค่า LOQ เท่ากับ 0.81 นาโนโมล/มิลลิลิตร ส่วนการทดลองด้วยวิธีที่ 2 ซึ่งใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง จัดเป็นวิธีที่ให้ความถูกต้องสูง ทันสมัย ซึ่งผลการคำนวณหาค่า LOD และ LOQ พบว่า การทดลองด้วยสภาวะที่ใช้นี้มีค่า LOD เท่ากับ 0.39 นาโนโมล/มิลลิลิตร และ ค่า LOQ เท่ากับ 3.10 นาโนโมล/มิลลิลิตร

จากผลการเปรียบเทียบค่าขีดจำกัดของทั้ง 2 วิธีการอยู่ในระดับนาโนโมลาร์ โดยวิธีแรกมีความไวสูงกว่า ประกอบกับในการตรวจสอบตามผลการตรวจเอกสารที่เกี่ยวข้องพบว่า เทคนิคที่ 1 จัดเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมาก และเป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้ตรวจสอบทั่วไป ดังนั้นจึงเป็นเหตุให้ผู้วิจัยเลือกวิเคราะห์ขั้นตอนต่อไปด้วยเทคนิคที่ 1 เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายในการวิจัยต่ำกว่าวิธีที่ 2 มาก

ตอนที่ 2 การวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในตัวอย่างเนื้อไก่

เมื่อได้นำเอาวิธีการตามตอนที่ 1 ซึ่งเลือกวิธีสเปกโทรสโกปี ไปใช้ทดสอบหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในตัวอย่างไก่แปรรูป 3 วิธีการ พบว่า สามารถเลือกใช้วิธีดังกล่าวในการทดสอบหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้ในระดับดี และ มีความไวในการทดสอบสูง โดยพบว่า ในเนื้อไก่ดิบที่ยังไม่แปรรูปจะมีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ อยู่ในระดับต่ำมากๆ แต่เมื่อผ่านการแปรรูปโดยการปรุงสุกตามวิธีการต่างๆ ทั้ง ต้ม นึ่ง และ ทอด พบว่า สามารถตรวจพบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มากขึ้น โดยในการนึ่งจะทำให้

เกิด ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์สูงที่สุด คือ 5.53× 10^{-6} นาโนกรัม/กรัม ส่วนการต้มจะมีผลให้เกิดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ สูงขึ้นกว่าการที่ไม่ปรุงสุก เพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามการที่นำเนื้อไก่ไปแปรรูปให้สุกมีผลให้เกิดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์เปลี่ยนแปลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยการให้ความร้อนแก่อาหารประเภทเนื้อวัวส่วนต่างๆ ซึ่งทำให้มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้(Pikul et al., 1984)

ตอนที่3 .การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์

3.1 ผลของเวลาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างเนื้อไก่

จากการศึกษาปัจจัยเวลาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างเนื้ออกไก่ที่ผ่านการต้มเป็นระยะเวลานานต่างๆกัน พบว่า แนวโน้มปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์จะมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณสูงขึ้นตามระยะเวลาที่ให้ความร้อน โดยถ้านำไปให้ความร้อนเป็นระยะเวลานานมากก็จะมีปริมาณสูงมากขึ้น สอดคล้องกับรายงานผลของปัจจัยที่มีต่อปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ของ Pikul et al., 1984) โดยการเปลี่ยนแปลงปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์จะสัมพันธ์กับระยะเวลาในการให้ความร้อนแบบพอลินอเมียล

3.2 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างเนื้อไก่

จากการศึกษาปัจจัยด้านอุณหภูมิที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ นั้นพบว่าเมื่อมีการให้ความร้อนในการแปรรูปเนื้อไก่ที่อุณหภูมิสูงมาก ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ก็จะสูงขึ้นเช่นเดียวกับผลของปัจจัยระยะเวลา โดยการเปลี่ยนแปลงปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์จะสัมพันธ์กับอุณหภูมิในการให้ความร้อนแบบเอกซ์โพเนเนเชียล

3.3 **วิธีการแปรรูปที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างเนื้อไก่**

การแปรรูปให้เนื้ออกไก่สุกด้วยการนึ่งนั้น มีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มากที่สุด อกไก่ที่ผ่านการย่างมีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์น้อยที่สุด อาจเป็นผลจากการย่างเป็นการที่ใช้ความร้อนช่วยทำให้สุกพร้อมทั้งเป็นการทำให้ไขมันที่มีในส่วนของเนื้ออกไก่ลดลง จึงทำให้เกิดการออกซิเดชันของไขมันได้น้อยกว่าการทำให้สุกด้วยการนึ่ง แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทดลองเปลี่ยนส่วนของไก่ โดยการนำน่องไก่ไปแปรรูปด้วยวิธีการต่างๆ ได้แก่ ต้ม, นึ่ง,ทอด, อบ และแยกแต่เนื้อ นำไปทดลองต่อ ผลการตรวจสอบปริมาณมา

ลอนไดอัลดีไฮด์_พบว่า น่องไก่ที่ผ่านการนึ่งมีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มากที่สุด ในน่องไก่ที่ผ่านการย่างตรวจพบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์น้อยที่สุด ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองในส่วนของไก่ ทั้ง 2 ส่วน ดังนั้นแสดงว่า ไม่ว่าจะใช้ส่วนใดของไก่มาแปรรูปให้สุก ก็สามารถจะตรวจพบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ตรวจได้ โดยวิธีการแปรรูปจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้เช่นกัน

3.4 ผลจากการศึกษาส่วนต่างๆของไก่ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในตัวอย่างอาหาร

จากการนำส่วนเนื้ออกไก่, สะโพกไก่ น่องไก่ และปีกไก่ นำไปแปรรูปให้สุก โดยการต้มนาน 5 นาที ที่ อุณหภูมิ 100 °C แล้วนำผลิตภัณฑ์ไปทดลองหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ จากผลการคำนวณหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในส่วนเนื้ออกไก่, สะโพกไก่ น่องไก่ และ ปีกไก่ พบว่า ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ตรวจพบมีปริมาณแตกต่างกันโดยปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์พบมากที่สุดในเนื้ออกไก่ และรองลงมาคือในส่วนสะโพกไก่ ทั้งนี้อาจเกี่ยวข้องกับปริมาณไขมันที่มีในส่วนต่างๆของไก่อาจมีแตกต่างกันจึงเกิดออกซิเดชันของไขมันได้แตกต่างกัน

ตอนที่ 4. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ MDA ผลิตภัณฑ์แปรรูปไก่สำเร็จรูปที่มีจำหน่ายในตลาด

ผลจากการจัดซื้อ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไก่ที่มีจำหน่ายทั่วไป ได้แก่ ไก่ต้มน้ำปลา (ทั้งตัว) ไก่นึ่งทำข้าวมันไก่ (เนื้ออกไก่) ไก่ทอด(น่องไก่ และ ปีกไก่) ไก่ย่าง (ทั้งตัว น่องไก่ และ ปีกไก่) ไก่ตุ๋น (น่องไก่ และ ปีกไก่) และ ไก่อบ โดยจัดซื้อจากหลายแหล่งที่จำหน่าย และเป็นผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากส่วนต่างๆของไก่ ผลการทดสอบหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์จากไก่ที่มีจำหน่ายทั่วไปตามที่แหล่งจำหน่ายต่างๆกัน พบว่า สามารถตรวจพบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์ต่างๆแตกต่างกันด้วย โดยไก่นึ่งจะตรวจพบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มากที่สุดเช่นเดียวกับการแปรรูปไก่ในห้องปฏิบัติการ แต่ในผลิตภัณฑ์ไก่ตุ๋นพบว่ามีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ต่ำที่สุด อาจเป็นเพราะการตุ๋นมีการใช้สารสมุนไพรอื่นๆมาร่วมในการตุ๋น ส่วนของไขมันอาจผสมปะปนไปอยู่ในส่วนของน้ำที่ตุ๋น แต่การทดลอง ได้ตรวจสอบแต่ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในเนื้อไก่ เท่านั้น

บรรณานุกรม

Addis, P.B. (1996). Occurrence of lipid oxidation products in foods. *Food and Chemical Toxicology*.24. pp. 1021-1030.

Agarwal R, Chase SD. Rapid, (2002)fluorimetric-liquid chromatographic determination of malondialdehyde in biological samples. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 775;121-126.

Arya S and Ninnala N,(1971) Determination of free malonaldehyde in vegetable oils. *J. Food Sci. Technol,* 8;144-180.

Aubourg, S.P. (1999). Lipid damage damage detection during the frozen storage of an underutilized fish species-denaturation of fish proteins during frozen storage: Role of formaldehyde. *Food research International*. 32(6) pp. 497-502.

Bird R P, Draper H H andBasrur P K. (1982)Effect of malonaldehyde and acetaldehyde on cultured mammalian cells. Production of micronuclei and chromosomal aberrations. *Mutat. Res*, 101;237–246.

Braddock R J and Petrus D R,(1971) Malonaldehyde in aqueous orange juice essences. J. Food Sci, 36;1095-1097.

Cesa, S. (2004). Malonaldehyde contents in infant milk formulas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52. pp. 2119-2112.

Chaijan, M., Benjakul, S., Visessanguan, W., and Faustman, C. (2006). Changes of lipids in sardine (Sardinella gibbosa) muscle during ice storage. *Food Chemistry*. 99. pp.83-91.

Chaudhary, A.K., Nokubo, M., Reddy, G.R., Yeol a,S.N, Morow, J.D., Blair, I.A. and Marnett, L.H. (1994). Detection of endogenous malondialdehyde-deoxyguanosine adducts in human livers. *Science.*265. pp. 1580-1584.

Chen, T.C. and Waimaleongora-Ek. (1981). Effect of pH on TBA values of ground raw poultry meat. Journal of Food Science. 46. pp. 1946-1947.

Chow L and Watts B M, (1969); Origin of off-odors in frozen green beans. *Food Techno.* 23;973-974

Dahle, L.K., Hill, E.G. and Holman, R.T. (1962). The thiobarbituric acid reaction and the autooxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters. Arch. Biochem Biophys. 98.

pp. 253-261.

De las Heras, A., Schoch, A., Gibis, M. and Fischer, A. (2003). Comparison of method for determining malondialdehyde in dry sausage by HPLC and the classic TBA test. *European Food Research and Technology*. 217. pp.180-184.

Drapen, H.H., Mcgirr, L.G. and Hadley, M. (1986). The metabolism of malondialdehyde, Lipids. 21.pp. 305-307.

Downey W K, (1969). Lipid oxidation as a source of off-flavor development during the storage of dairy products. *J. Soc. Dairy Tech*. vol, 22:154-162.

Fenaille, F., Mottier, P., Turesky, R.J., Ali, S. and Guy, P.A. (2001). Comparison of analytical techniques to quantify malondialdehyde in milk powders. Journal of Chromatography A. 921. pp. 237-345.

Fernandez, J. Perez-Alvarez, J.A. and Fernandez-Lopez, J.A. (1997).Thiobarbituric acid test for montoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*. 59. pp. 345-353

Geerard, A.J. and Brown, K.P. (2002). Protein cross-linking in food- Mechanisms, consequences, applications. *International Con Science*. 1245. pp.211-215.

Gray, J.I. (1978). Measurement of Lipid oxidation a review. *J. Am.Oil. Chem. Soc*. 55. pp. 539-546.

Holland D C,(1971) Determination of malonaldehyde as an index of rancidity in nut meats. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem*, 54;1024-1026.

IARC (1985) IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 36, Allyl Compounds, Aldehydes, Epoxides and Peroxides, Lyon;163–177.

Iqene, I.O. and Pcarson, A.M. (1979), Role of phospholipids and triglyceride in warmed-over flavor development in meat model systems. *J. Food- Sci*. 44. pp. 1285-1290.

Janero, D.R. and Burghardt, B. (1989). Thiobarbituric acid-reactive malondialdehyde formation during superoxide-dependent, iron-catalyzed lipid peroxidation: influence of peroxidation conditions. Lipids. 24. 125-131.

John Tsakuis, Stavros Lalas and Evangelos Evmorfopoulos. (1999). Determination of malondialdehyde in traditional fish products by HPLC *Analyst*. 124. pp. 842-845.

Largillière C and Serge B Mélancon. (2004)Free malondialdehyde determination in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Analytical Biochemistry*, 170;123-126.

Lawrence J Marnett. (2002)Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. Toxicology, 181-182 ;219-222.

Mendes, R., Cardoso, C. and Pestana, C. (2009). Measurement of malondialdehyde in fish: A comparison study between HPLC methods and the traditional spectrophotometric test. *Food Chemistry*. 112. pp.1038-1045.

Nair V, O'Neil C L, Wang P G, (2008).Malondialdehyde" Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York

Okafor P, N Nwosu, O Chukwu, J Agbayi, J and Maduagwu E. (2007)Occurrence of malondialdehyde and N- nitrosamines and their precursors in some Nigerian ice creams, yogurts, meat and fish species, *Afr. J. Biochem. Res*. 1;001-005.

Palinski W, Ord VA, Plump AS, Breslow JL, Steinberg D, Witztum JL. (1994)ApoE-deficient mice are a model of lipoprotein oxidation in atherogenesis. Demonstration of oxidation-specific epitopes in lesions and high titers of autoantibodies to malondialdehyde-lysine in serum. *Arterioscler Thromb*, 14;605-616.

Patton S and Kurtz G W,(1951) 2-Thiobarbituric acid as a reagent for detecting milk-fat oxidation. *J. Dairy Sci*, 34;669-674.

Pearson, A.M., Gray, J.I., Wolzak, A.M. and Horeustein, N.A. (1983). Safty implication of oxidized lipid in muscle foods. *Food Technology*, 37. pp. 121-129.

Pikul, J., Leszcynski, D.E., Niewiarowicz, A., and Kummerow, F.A. (1984). Lipid oxidation in chicken breast and leg meat after sequential treatments of frozen storage, cooking, refrigerated storage and reheating. Journal of Food Technology. 19. pp. 575.

Pryor, W.A., Stanley, J. and Blair, E. (1976). Autooxidation of polyunsaturated fatty acids: II. A suggested mechanism for the formulation of TBA reactive materials from prostaglandin like endoperoxides. *Lipids*. 11. pp. 370-379.

Raharjo, S. And Sofos, J.N. (1993). Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: A review. *Meat Sci.* 35. pp.145-169.

Raymond S, Barbara S, Charles W. (1977)Malonaldehyde content in food. *J. Nutr,* 107; 1404-1409.

Rogerio, M., Carlos, C. and Carla, P. (2009). Measurement of malondialdehyde in fish: A comparison study between HPLC methods and the traditional spectrophotometric test. *Food Chemistry*. 112. pp.1038-1045.

Sedlocek B, (1964)Rancidity of fats by ultraviolet spectrophotometry and other methods. Narung, 8;176-187.

Shahidi, F. (1998). Food Flavors: Formation, analysis and packaging influence, Amterdam, Elsevier.

Sinnhuber R O and Yu T C(1968).Characterization of the red pigment in the 2-thiobarbituric acid determination of oxidative rancidity. *Food Res*, 23;626-633.

Squires, E.J. (1990). High performance chromatographic analysis of the malondialdehyde content of chicken liver. *Poultry Science*. 69. pp. 1371-1376

Tsaknis, J., Lalas, S. and Evmorfopoulos, E. (1999). Determination of malondialdehyde in traditional fish products by HPLC. *The Analyst*. 124. pp. 843-845.

Uchida K. (2000)Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases. Free Radic Biol Med, 28;1685-1696.

United States National Library of Medicine (1997) Hazardous Substances Data Bank (HSDB),Bethesda, MD [Record No. 4353]

Volpi N and Tarugi P.(1998) Improvement in the high-performance liquid chromatography malondialdehyde level determination in normal human plasma. *Journal of Chromatography B,* 713 ;433-437.

Vyncke, W. (1970). Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic extracts of fish as a measure od oxidative rancidity. *FetteSeifen anstrichm*. 12. pp. 1084 -1087.

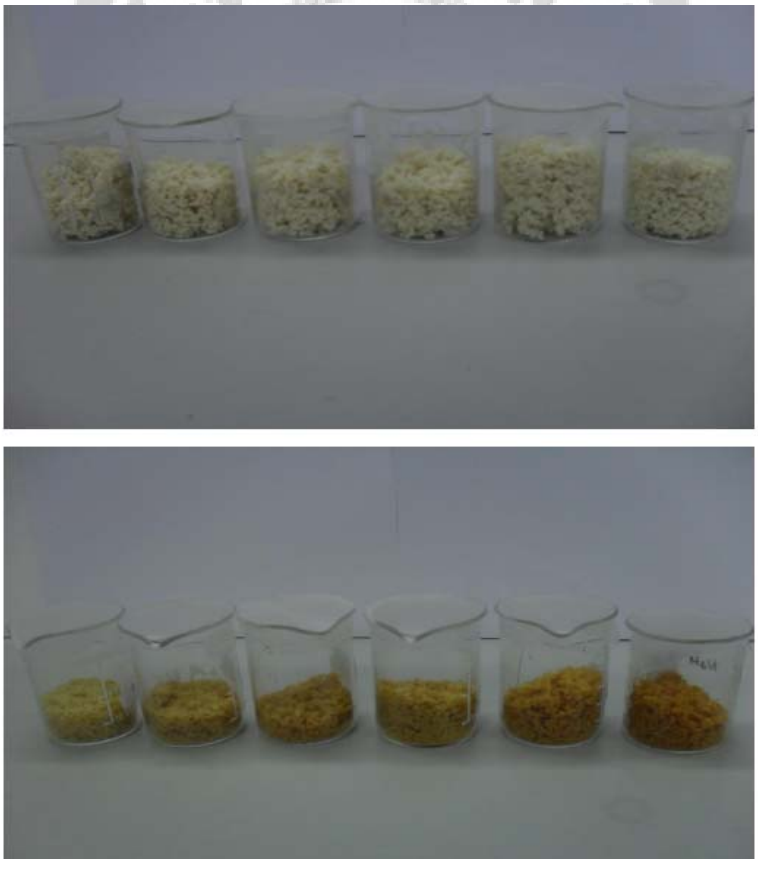
WHO (1993) Guidelines for Drinking Water Quality. 2nd Ed., Vol. 1. Recommendations, Geneva

Yahya MD, Pinnsa Jl, Meinke GC, Lung CC.(1996) Antibodies against Malondialdehyde (MDA) in MRL/ lpr / lpr Mice: Evidence for an Autoimmune Mechanism Involving Lipid Peroxidation, J. Autoimmunity. 9;3-9.

Zipser, M. W., Kwon, T.W., and Watts, B.M. (1964). Changes in cured and uncured frozen cooked pork. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 12. PP. 101- 109.

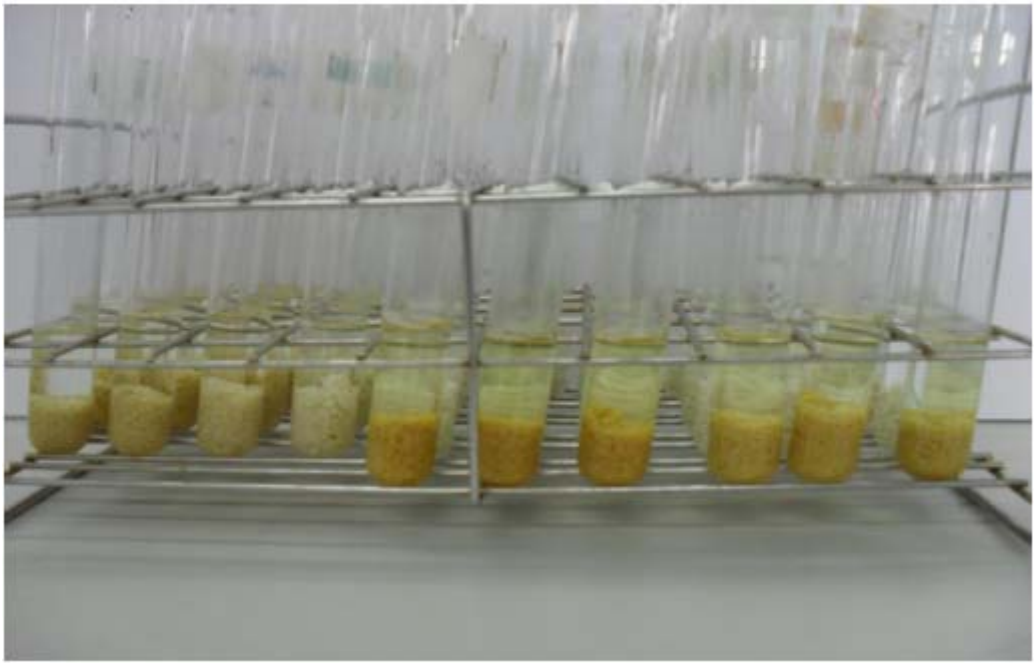
ภาคผนวก

รูปภาคผนวกที่ 1 ตัวอย่างเนื้อไก่ที่เตรียมนำมาสกัดสารมาลอนไดอัลดีไฮด์



รูปภาคผนวกที่ 2 ตัวอย่างเนื้อไก่ที่ผ่านการแปรรูปด้วยการต้มและทอดที่ระยะเวลานานต่างๆกัน

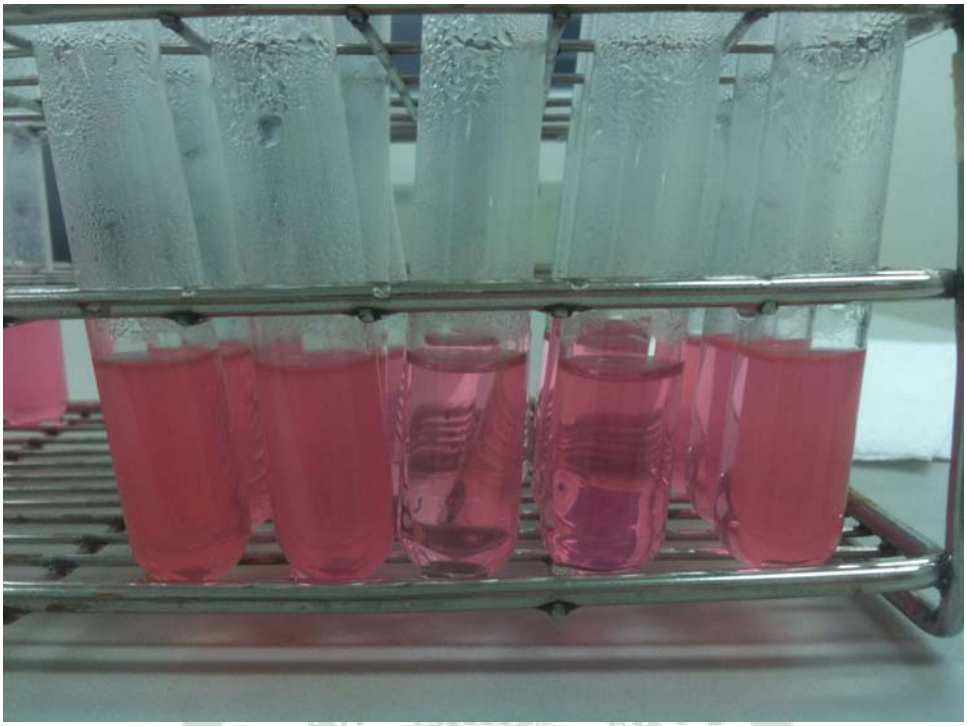
รูปภาคผนวกที่ 3 เตรียมตัวอย่างเนื้อไก่ก่อนสกัดสารมาลอนไดอัลดีไฮด์



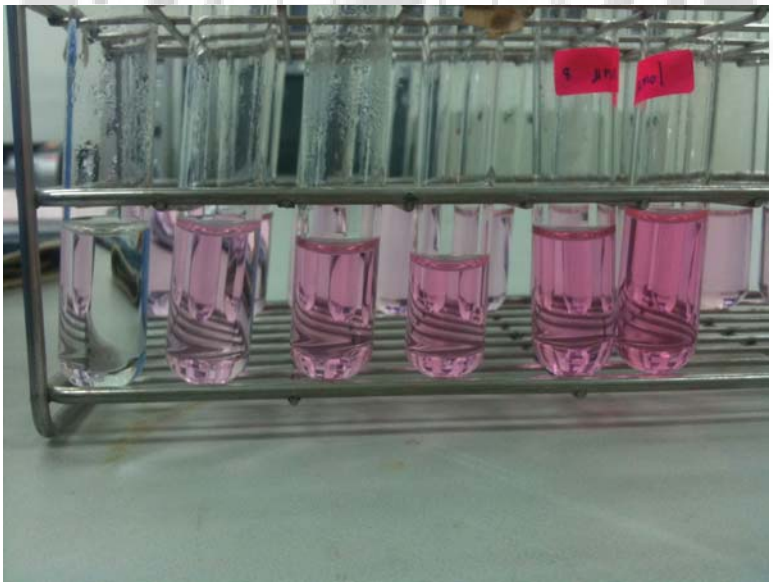
รูปภาคผนวกที่ 4 ตัวอย่างเนื้อไก่ที่กำลังสกัดสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ในกรดซัลฟูริก

รูปภาคผนวกที่ 5 ตัวอย่างเนื้อไก่ที่กำลังสกัดสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวทำละลาย

รูปภาคผนวกที่ 6 สารละลายที่สกัดสารมาลอนไดอัลดีไฮด์จากเนื้อไก่



รูปภาคผนวกที่ 7 สารสกัดสารมาลอนไดอัลดีไฮด์จากเนื้อไก่ทำปฏิกิริยาเคมีกับTBA รีเอเจนท์



รูปภาคผนวกที่ 8 สารมาลอนไดอัลดีไฮด์มาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆทำปฏิกิริยาเคมีกับTBA รีเอเจนท์

ประวัติย่อหัวหน้าโครงการ

หัวหน้าโครงการวิจัย

นาง พรพิมล ม่วงไทย

ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ระดับ 9

สังกัด ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร

โทรศัพท์ ทำงาน 02-6641000 ต่อ 8455 มือถือ 084-32855271

บ้าน 02-5520308

โทรสาร 02-2592097

E-mail pornpi @ swu.ac.th Pornpimolm @ yahoo.com

ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี วท.บ. (เคมี) เกียรตินิยม อันดับ 2 จาก มหาวิทยาลัยศิลปากร ปี 2522

ปริญญาโท วท.ม. (เคมีวิเคราะห์) จาก จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปี 2524

ปริญญาเอก ปร.ด. (วิทยาศาสตร์การอาหาร , เคมีวิเคราะห์อาหาร)จาก

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ปี 2546

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

สาขาเคมีวิเคราะห์ การวิเคราะห์อาหาร เช่น วิเคราะห์โลหะปนเปื้อนในอาหารและสิ่งแวดล้อม วิเคราะห์สารพิษประเภทสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ในตัวอย่าง พืชผัก วิเคราะห์สารบำรุงผิวในเครื่องสำอาง ศึกษาและวิเคราะห์ไขมัน น้ำตาล โปรตีน การเกิดสารสีน้ำตาล Maillard reaction มีความชำนาญในการควบคุมเครื่องมือวิเคราะห์ต่างๆได้แก่ เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลว

สมรรถนะสูง เครื่องมืออะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโทรมิเตอร์ เครื่องมืออุลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโทรมิเตอร์ เครื่องมือฟลูออเรสเซนต์สเปกโทรมิเตอร์ เครื่องมือวิเคราะห์โปรตีนดายบายดิง