

การวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในน้ำมันพืชด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole เพื่อศึกษาการชะลอการเกิดปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิด



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
กรกฎาคม 2559

การวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอิลดีไฮด์ในน้ำมันพืชด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole เพื่อศึกษาการชะลอการเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิด



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
กรกฎาคม 2559
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในน้ำมันพืชด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole เพื่อศึกษาการชะลอการเกิดปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิด



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
กรกฎาคม 2559

รลิตา วันเวช. (2559). การวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในน้ำมันพืชด้วยการเตรียมอนุพันธ์ กับ *N-methyl-2-phenylindole* เพื่อศึกษาการชะลอการเกิดปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันด้วย พืชสวนครัวบางชนิด. วิทยานิพนธ์ วท.ม. (เคมี) กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย.

ปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันเป็นสาเหตุหนึ่งของการเสื่อมคุณภาพและการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ ที่ส่งผลกระทบต่อ การเปลี่ยนแปลงในด้านรสชาติและกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหาร และนอกจากนี้ยังก่อให้เกิดสารพิษที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์ สารมาลอนไดอัลดีไฮด์เป็นผลิตภัณฑ์ขั้นที่สองที่เกิดจากปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันและเป็นสารตั้งต้นของสารก่อมะเร็งหรือสารก่อการกลายพันธุ์ ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการชะลอการเกิดปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิด ซึ่งได้แก่ กระเทียม และข่า ทั้งแบบสดและแบบแห้ง ในน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน ได้แก่ น้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลือง โดยการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในน้ำมันพืชด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N-methyl-2-phenylindole* โดยพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์ คือ ใช้ *N-methyl-2-phenylindole* ความเข้มข้น 6 มิลลิโมลาร์ ผสมกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ให้ความร้อนที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 40 นาที จากสภาวะดังกล่าวจะได้ช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) ในช่วง 0.001 จนถึง 0.040 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9998 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOQ) เท่ากับ 0.000137 และ 0.000479 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มีค่าความถูกต้อง (accuracy) ของค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 88.01 - 105.70% และค่าความแม่นยำ (precision) โดยมีค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ภายในวันเดียวกัน (intra-day precision) และระหว่างวัน (inter-day precision) เท่ากับ 0.60 จนถึง 1.33% และ 0.95 จนถึง 3.27% ตามลำดับ ผลจากการศึกษา พบว่า เมื่อใส่พืชสวนครัวสองชนิด ทั้งแบบสดและแบบแห้งลงในน้ำมันทั้งสองชนิด มีแนวโน้มที่ลดการเกิดปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันในน้ำมันได้ เมื่อเทียบกับน้ำมันควบคุม แสดงว่า กระเทียมและข่าซึ่งเป็นพืชสวนครัวสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการต้านการเกิดไลปิดออกซิเดชันในน้ำมันได้

DETERMINATION OF MALONDIALDEHYDE IN VEGETABLE OIL BY *N*-METHYL-2-PHENYLINDOLE DERIVATIVE FOR THE STUDY ON RETARDATION LIPIDOXIDATION REACTION RESULTING FROM SOME CUISINE PLANT



Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Master of Science Degree in Chemistry
at Srinakharinwirot University
July 2016

Rasita Wanwet. (2016). *Determination of malondialdehyde in vegetable oil by N-methyl-2-phenylindole derivative for the study on retardation lipidoxidation reaction resulting from some cuisine plant*. Master thesis., M.Sc. (Chemistry). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee: Associate Professor Dr.Pornpimol Muangthai.

Lipid oxidation is a major cause of both quality and nutrition deterioration in food, which directly effect off-flavors and the formation of potentially toxic compounds which are harmful to human health. Malondialdehyde (MDA) is well-known secondary product of lipid oxidation and may also be a mutagenic and carcinogenic substance. The objective of this research was to study the retardation of lipid oxidation reaction resulting from some cuisine plant such as fresh and dry garlic and galangal by determination of the malondialdehyde content in vegetable oil by the derivatization method with *N*-methyl-2-phenylindole. The results of the optimum condition study in determination of malondialdehyde was 6 mM of *N*-methyl-2-phenylindole, mixed with a concentrate of hydrochloric acid, heated at 45 °C for 40 minutes. The linearity range of standard malondialdehyde calibration curve was in the range of 0.001 - 0.040 µmol/mL. The correlation coefficient (R^2) was 0.9998. The limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were 0.000137 and 0.000479 µmol/mL, respectively. The percentage recovery was 88.01 - 105.70%, respectively. The relative standard deviation (RSD) for intra-day and inter-day were 0.60 - 1.33% and 0.95 - 3.27%, respectively. The results on the retardation of lipid oxidation after treatment with both cuisine plants tended to reduce the occurrence on lipid oxidation compared with the control oils. The results of present study indicated that garlic and galangal can retard the of lipid oxidation process.

ปริญญาานิพนธ์

เรื่อง

การวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในน้ำมันพืชด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole เพื่อศึกษาการชะลอการเกิดปฏิกิริยาไลปิโดออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิด

ของ

รลิตา วันเวช

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

.....รักษาการแทนคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.ปรินทร์ ชัยวิสุทธิทางกูร)

วันที่ เดือน พ.ศ. 2559

อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาานิพนธ์

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญาานิพนธ์

.....ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย)

.....ประธาน
(อาจารย์ ดร.ณิชนันท์ เทพสุภรังษิกุล)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย)

.....กรรมการ
(อาจารย์ ดร.สุจิตรา ศรีสังข์)

ประกาศคุณูปการ

ปริญญาโทฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี เนื่องจากผู้วิจัยได้รับคำแนะนำ ความอนุเคราะห์อย่างยิ่งจากคณาจารย์ในภาควิชาเคมีหลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ

รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย ประธานควบคุมปริญญาโท ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในการแก้ปัญหาทุกขั้นตอนอันเกิดจากการวิจัยและการเขียนปริญญาโท

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร.ณิชนันท์ เทพสุภรังษิกุล ที่ให้ความกรุณาในการเป็นประธานกรรมการในการสอบปากเปล่าปริญญาโท และอาจารย์ ดร.สุจิตรา ศรีสังข์ ที่ให้ความกรุณาในการเป็นกรรมการในการสอบปากเปล่าปริญญาโท ตลอดจนให้คำแนะนำและชี้แนะข้อบกพร่องต่างๆ เพื่อให้ปริญญาโทฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สุนิตย์ สุขสำราญ ประธานกรรมการบริหารหลักสูตร และคณาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ และให้ความเมตตาเอาใจใส่แก่ผู้วิจัยด้วยดีเสมอมา

ขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี ที่ให้คำแนะนำ และช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกแก่ผู้วิจัยตลอดการศึกษา ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาของทุกๆ ท่านเป็นอย่างยิ่ง ผู้วิจัยขอโน้มรำลึกถึงพระคุณบิดา มารดา และญาติสนิททุกท่านที่ได้อบรมเลี้ยงดู ให้กำลังใจและให้การสนับสนุนในด้านการศึกษาแก่ผู้วิจัย ขอขอบคุณอาจารย์ รวมถึงผู้มีพระคุณทุกๆ ท่านที่มีได้กล่าวรายนามไว้ ณ ที่นี้ด้วย ที่มีส่วนช่วยให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

รลิตา วันเวช

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
ภูมิหลัง.....	1
ความมุ่งหมายของการวิจัย.....	3
ความสำคัญของการวิจัย.....	4
ขอบเขตของการวิจัย.....	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
น้ำมันพืช.....	6
ปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชันในน้ำมันและมาลอนไดอัลดีไฮด์.....	10
อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ.....	16
พืชสวนครัว.....	21
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	23
3 วิธีดำเนินการวิจัย	
อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย.....	26
วิธีดำเนินการวิจัย.....	27
ตอนที่ 1 การศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชสวนครัวบางชนิด.....	27
ตอนที่ 2 การศึกษาวิธีการวิเคราะห์และประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ <i>N</i> -methyl- phenylindole โดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมตรี.....	29
ตอนที่ 3 ศึกษาการชะลอการเกิดปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัว บางชนิดในตัวอย่างน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว แตกต่างกัน.....	32
4 ผลการวิจัย	
ตอนที่ 1 ผลการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถ ในการต้านอนุมูลอิสระของพืชสวนครัวบางชนิด.....	34
การศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม.....	34
การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ.....	35

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 (ต่อ)	
ตอนที่ 2 ผลการศึกษาวิธีการวิเคราะห์และประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณ มาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ <i>N</i> -methyl-2-phenylindole โดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมตรี.....	36
การศึกษาปฏิกิริยาการเตรียมอนุพันธ์มาลอนไดอัลดีไฮด์.....	36
การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์...	37
การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์....	41
การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยวิธีการเตรียม อนุพันธ์กับ <i>N</i> -methyl-2-phenylindole และวิธี Thiobarbituric acid reactive substance assay.....	43
ตอนที่ 3 ผลการศึกษาการชะลอการเกิดปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัว บางชนิดในตัวอย่างน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน..	46
การศึกษาปริมาณของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชัน...	47
การศึกษาระยะเวลาในการชะลอปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชัน.....	50
การศึกษาประสิทธิภาพของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาไลปิด ออกซิเดชัน.....	53
5 สรุปผล อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	56
บรรณานุกรม.....	61
ภาคผนวก.....	66
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	84

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 ปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ.....	7
2 ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ.....	8
3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของตัวอย่างพืชสวนครัว.....	34
4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างพืชสวนครัว.....	35
5 เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์.....	45
6 ปริมาณของกรดไขมันของน้ำมันปาล์มและน้ำมันถั่วเหลือง.....	47



บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 ส่วนประกอบของไตรกลีเซอไรด์.....	7
2 ส่วนประกอบของผลปาล์ม.....	9
3 กลไกการเกิดปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันของกรดไขมันประเภทไม่อิ่มตัว.....	11
4 โครงสร้างของมาลอนไดอัลดีไฮด์.....	13
5 โครงสร้างของ M ₁ G M ₁ A และ M ₁ C.....	13
6 โครงสร้างของ N ² -oxopropenyl-guanosine.....	14
7 โครงสร้างของ N ² -N ² -malondialdehyde.....	14
8 หมวดหมู่ของสารพฤกษเคมีในพืช (phytochemical).....	19
9 โครงสร้างของ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH radical).....	20
10 โครงสร้างของอนุพันธ์ที่เกิดขึ้นระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์กับ N-methyl-2-phenylindole ภายใต้สภาวะกรดไฮโดรคลอริก.....	36
11 สเปกตรัมของอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์กับ N-methyl-2-phenylindole.....	37
12 ผลของความเข้มข้น N-methyl-2-phenylindole ในการเตรียมสารอนุพันธ์.....	38
13 ผลของความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกในการเตรียมสารอนุพันธ์.....	39
14 ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการเตรียมสารอนุพันธ์.....	39
15 ผลของระยะเวลาในการให้ความร้อนในการเตรียมสารอนุพันธ์.....	40
16 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์.....	41
17 สเปกตรัมที่มีการเติมสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์และไม่ได้เติมสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ของตัวอย่างน้ำมันปาล์ม.....	42
18 สเปกตรัมที่มีการเติมสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์และไม่ได้เติมสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ของตัวอย่างน้ำมันถั่วเหลือง.....	43
19 สเปกตรัมสารอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์กับกรดไทโอบาร์บิทูริก.....	44
20 ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ในน้ำมันปาล์มและน้ำมันถั่วเหลือง.....	46
21 ผลการศึกษาปริมาณของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันในน้ำมันปาล์ม.....	48
22 ผลการศึกษาปริมาณของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันในน้ำมันถั่วเหลือง.....	49
23 ผลการศึกษาระยะเวลาในการชะลอปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันในน้ำมันปาล์ม.....	51
24 ผลการศึกษาระยะเวลาในการชะลอปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันในน้ำมันถั่วเหลือง.....	52

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
25 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาไลปิโดออกซิเดชัน ในน้ำมันปาล์ม.....	54
26 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาไลปิโดออกซิเดชัน ในน้ำมันถั่วเหลือง.....	55
27 การไฮโดรไลซิสสารประกอบ 1,1,3,3-tetramethoxypropane.....	69
28 สีของสารละลายอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์กับ <i>N</i> -methyl-2-phenylindole..	70
29 สีของสารละลายอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์กับกรดไทโอบาร์บิทูริก.....	70
30 กระเทียม แบบสด.....	72
31 กระเทียม แบบแห้ง.....	72
32 ข่า แบบสด.....	73
33 ข่า แบบแห้ง.....	73
34 ผลการใส่กระเทียมแบบสดในน้ำมันปาล์ม.....	74
35 ผลการใส่กระเทียมแบบแห้งในน้ำมันปาล์ม.....	75
36 ผลการใส่ข่าแบบสดในน้ำมันปาล์ม.....	76
37 ผลการใส่ข่าแบบแห้งในน้ำมันปาล์ม.....	77
38 ผลการใส่กระเทียมแบบสดในน้ำมันถั่วเหลือง.....	78
39 ผลการใส่กระเทียมแบบแห้งในน้ำมันถั่วเหลือง.....	79
40 ผลการใส่ข่าแบบสดในน้ำมันถั่วเหลือง.....	80
41 ผลการใส่ข่าแบบแห้งในน้ำมันถั่วเหลือง.....	81
42 เครื่องชั่งอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง.....	82
43 เครื่องอัลตราโซนิก (ultrasonic bath).....	82
44 อ่างควบคุมอุณหภูมิในการให้ความร้อนในขั้นตอนการเตรียมสารอนุพันธ์.....	83
45 เครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์.....	83

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

การเปลี่ยนแปลงในด้านรสชาติและกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหารทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และยังเป็นสาเหตุให้เกิดการเสื่อมคุณภาพและสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ มักเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (lipid oxidation) ของกรดไขมันประเภทไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acids, PUFA) ที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในอาหาร (Hemalatha, G. 2007: 1076) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์น้ำมันที่ใช้ในการประกอบอาหาร (cooking oil) ภายในครัวเรือน ซึ่งเป็นไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ที่ประกอบไปด้วยกลีเซอรอล (glycerol) 1 โมเลกุล และกรดไขมัน 3 โมเลกุล (นิธิยารัตนาปนนท์. 2557: 81) นอกจากนี้น้ำมันยังเป็นแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็นซึ่งร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องได้รับจากอาหารที่เป็นแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็น (Rohman, A.; et al. 2011: 303) โดยในการประกอบอาหารไม่ว่าจะเป็นการผัดหรือการทอด ล้วนอาศัยการใช้ความร้อนทั้งสิ้นเพื่อทำให้อาหารนั้นสุกหรือเพิ่มลักษณะชวนรับประทานของอาหารบางประเภท จึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญและส่งผลกระทบต่อกรดไขมันประเภทไม่อิ่มตัวซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่าย (Rohman, A.; et al. 2011: 303 และ Cheung, S.C. 2007: 39) ทำให้เกิดกลิ่นหืน (rancidity) และการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำมัน ซึ่งเป็นผลมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยมีปัจจัยต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิ แสงชนิดของกรดไขมัน ออกซิเจน โลหะ และรังสี ทำให้เกิดการสลายตัวของกรดไขมันที่จำเป็นในผลิตภัณฑ์หรือการสลายตัวของวิตามินชนิดที่ละลายได้ในน้ำมัน เช่น วิตามินเอ ดี อี และเค เป็นต้น ส่งผลกระทบต่อคุณค่าทางโภชนาการของน้ำมันลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าอาจจะมีสารพิษหรือสารอันตรายเกิดขึ้นร่วมด้วย เช่น สารก่อมะเร็ง (carcinogen) หรือสารก่อการกลายพันธุ์ (mutagen) (ศิวาพร ศิวเวชช. 2546: 86) จากปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของน้ำมัน พบว่าผลิตภัณฑ์ปฐมภูมิ (primary product) ที่เกิดขึ้นเป็นสารอนุมูลอิสระที่ไม่เสถียร ได้แก่ เปอร์ออกซิล (peroxy radicals, ROO•) ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide, ROOH) ทำให้เกิดความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยา และดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้เสถียร ทำให้โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) (Bhattacharya, S. 2015: 18 และ Valko, M. 2007: 47) โดยในการช่วยชะลอหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสามารถทำได้ด้วยการใช้สารกันหืนหรือสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เพื่อหยุดหรือชะลอปฏิกิริยาลูกโซ่ดังกล่าว

สารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้คือ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) ซึ่งใช้กันอย่างแพร่หลายในหลายๆ ประเทศ เช่น บิวทิลไฮดรอกซีแอนนิโซล (butylated hydroxyanisole, BHA) และเทอเทียริบิวทิลไฮโดรควิโนน (tertiary butylhydroquinone, TBHQ) ซึ่ง

มีสภาพคงตัวกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (บุหรัน พันธุ์สุวรรณ. 2556: 278) แต่มีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและอาจก่อให้เกิดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็ง (Zhang, Y.; et al. 2010: 656) และจากการรายงานผลการศึกษาของสารต้านอนุมูลอิสระต่อสัตว์ทดลอง พบว่าการใช้สารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณที่มากและติดต่อกันเป็นเวลานานเป็นสาเหตุทำให้เกิดเนื้องอกและมะเร็ง (ชาติรี เอี่ยมพิน. 2550: 139) ดังนั้นเพื่อตระหนักถึงข้อจำกัดนี้ จึงมีการใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ ซึ่งมีความปลอดภัย โดยสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติส่วนใหญ่พบมากในพืชผัก สมุนไพร และผลไม้ เช่น แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ (anthraquinone glycoside) แอลคาลอยด์ (alkaloids) สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) (Beer; et al., 2002: 48-61. และ Pourmorad, F.; et al., 2006: 1142-1145) เป็นต้น ซึ่งแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่พบได้ทั่วไปในชีวิตประจำวันภายในครัวเรือน มีรากากูญ นิยมนำมาใช้เป็นส่วนประกอบหลักในการปรุงอาหาร และยังสามารถปลูกไว้ภายในบริเวณบ้านได้นั้นคือ พืชผักสวนครัว เช่น กระเทียม และข่า เป็นต้น โดยมีรายงานวิจัยพบว่าการนำสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติไปใช้ประโยชน์ในการลดหรือต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในด้านอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งกำลังได้รับความนิยมในการนำสารสำคัญจากพืชผักไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ดังเช่นในรายงานวิจัยของ Cheung S.C. และคณะ ในปี ค.ศ. 2007 (Cheung, S.C. 2007: 39-42) ที่ได้ทำการศึกษาผลการใช้ du-zhong (Cortex Eucommia ulmoides) และ ginseng (Panax ginseng C.A. Mayer) ซึ่งเป็นสมุนไพรของประเทศจีนในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันข้าวโพด โดยจากผลการทดลองพบว่า du-zhong และ ginseng เพิ่มปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันทำให้สามารถต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และยังสามารถยืดระยะเวลาในการใช้งานของน้ำมันได้ และจากรายงานวิจัยของ Zhang Y. ในปี 2010 (Zhang, Y.; et al. 2010: 656-662) ที่ทำการศึกษาการใช้ carnosic acid ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่สกัดจากใบของโรสแมรี่ (rosemary) เปรียบเทียบกับการใช้สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์คือ บิวทิลเลเตตไฮดรอกซิลโทลูอีน บิวทิลเลเตตไฮดรอกซิลแอนนิโซล และเทอเทียรีบิวทิลไฮโดรควิโนน ในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันทานตะวัน ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า carnosic acid มีความสามารถในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันทานตะวันได้ดีกว่าบิวทิลเลเตตไฮดรอกซิลโทลูอีน และบิวทิลเลเตตไฮดรอกซิลแอนนิโซล แต่น้อยกว่าเทอเทียรีบิวทิลไฮโดรควิโนน และจากรายงานวิจัยในปัจจุบัน ค.ศ. 2015 Nurwantoro V.P. และคณะ (Nurwantoro, V. P.; et al. 2015: 137-141) ได้ทำการศึกษาพบว่ากระเทียมมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง และสามารถต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในเนื้อวัวได้

โดยในการวิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทั้งทางชีววิทยาและอุตสาหกรรมอาหาร นิยมใช้ปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde, MDA) เป็นดัชนีชี้วัด (marker) (Fenaille, F.; et al. 2001: 237-245 และ Monnier, D.G.; et al. 1998: 1176) มาลอนไดอัลดีไฮด์เป็นผลิตภัณฑ์ขั้นที่สองที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว อีกทั้งยัง

เป็นสารตั้งต้น (initiator) ของสารก่อมะเร็งหรือสารก่อการกลายพันธุ์ (Fernandez, J. 1996: 345 และ Li, P. 2013: 224) ที่ส่งผลต่อความปลอดภัยของอาหาร วิธีที่นิยมใช้ในการตรวจวัดโดยทั่วไปคือ thiobarbituric acid reactive substance assay หรือ TBARs โดยเป็นการทำอนุพันธ์ระหว่างสารมาลอนไดอัลดีไฮด์กับกรดไทโอบาร์บิทูริก และเกิดผลิตภัณฑ์ที่มีสีแดง (red chromogen) ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร แต่พบว่าวิธีนี้มีข้อเสียคือ กรดไทโอบาร์บิทูริกสามารถทำปฏิกิริยากับไฮโดรเปอร์ออกไซด์ และสารประกอบแอลดีไฮด์อื่นได้ เช่น แอลคานอล (alkanals) แอลคีนอล (alkenals) และ 2, 4-ไดอีนอล (2, 4-dienals) เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสีเหลืองทำให้เกิดการรบกวน และได้ค่าที่เกินความเป็นจริง นอกจากนี้ยังพบว่าต้องใช้ความร้อนสูงในการทำอนุพันธ์ด้วย (Pilz, J. 2000: 316, Li, P. 2013: 224 และ Rimawi, F.A. 2015: 933) และจากการศึกษาของ Inoue, T. และคณะ พบว่าเอ็น-เมทิล-2-ฟีนิลอินโดล (*N*-methyl-2-phenylindole) สามารถทำปฏิกิริยากับสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้อย่างรวดเร็ว ไม่ทำปฏิกิริยากับแอลดีไฮด์ตัวอื่นภายใต้สภาวะกรดของไฮโดรคลอริกเข้มข้น และเกิดผลิตภัณฑ์ที่มีสีน้ำเงินดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 586 นาโนเมตร (Inoue, T.; Ando, K.; & Kikugawa, K. 1998: 597-600 และ Monnier, D.G.; et al. 1998: 1176-1183)

จากความสำคัญที่กล่าวมาข้างต้นพบว่า การนำพืชสวนครัวบางชนิดซึ่งมีสารสำคัญและมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ มาใช้ในการช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันในน้ำมันพืชนั้นยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน ซึ่งสารมาลอนไดอัลดีไฮด์เป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคมะเร็งและเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันประเภทที่ไม่อิ่มตัวซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในน้ำมันพืชด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole เพื่อศึกษาการชะลอการเกิดปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิด ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษานี้จะทำให้เห็นประโยชน์ในการใช้พืชสวนครัวบางชนิดช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันในน้ำมันพืชที่ใช้สำหรับปรุงอาหาร และยังเป็น การช่วยเพิ่มมูลค่าพืชสวนครัว นอกจากนี้ อาจทำให้ประโยชน์ในการชะลอการเกิดปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันกับอาหารอื่นที่มีไขมันสูงได้

ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชสวนครัวบางชนิด
2. เพื่อศึกษาวิธีการวิเคราะห์และประสิทธิภาพวิธีการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole โดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมตรี
3. เพื่อศึกษาศักยภาพของพืชสวนครัวบางชนิดในการชะลอปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชัน
4. เพื่อศึกษาการชะลอปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันในน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกันด้วยพืชสวนครัวบางชนิด

ความสำคัญของการวิจัย

1. ทราบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชสวนครัวบางชนิด
2. ทราบวิธีการวิเคราะห์และประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole โดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมตรี
3. ทราบศักยภาพของพืชสวนครัวบางชนิดในการชะลอปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชัน
4. ทราบการชะลอปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันในน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกันด้วยพืชสวนครัวบางชนิด

ขอบเขตของการวิจัย

1. ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา
 - 1.1 ตัวอย่างพืชสวนครัว เช่น กระเทียมและ/หรือข่า แบบสดและแบบแห้ง
 - 1.2 ตัวอย่างน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน ได้แก่ น้ำมันปาล์มและน้ำมันถั่วเหลือง
2. การศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชสวนครัวบางชนิด
 - 2.1 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay
 - 2.2 การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay
3. การศึกษาวิธีการวิเคราะห์และประสิทธิภาพวิธีการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole โดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมตรี
 - 3.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์
 - 3.1.1 ความเข้มข้นของ *N*-methyl-2-phenylindole ได้แก่ 2 4 6 8 และ 10 mM
 - 3.1.2 ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก ได้แก่ 20 40 60 80 และ 100% (v/v)
 - 3.1.3 อุณหภูมิในการเตรียมอนุพันธ์ ได้แก่ 25 35 45 55 และ 65 °C
 - 3.1.4 ระยะเวลาในการให้ความร้อน ได้แก่ 20 30 40 50 60 และ 90 นาที
 - 3.2 การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์
 - 3.2.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity)
 - 3.2.2 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (limit of detection, LOD)
 - 3.2.3 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (limit of quantitation, LOQ)
 - 3.2.4 ค่าความถูกต้อง (accuracy)
 - 3.2.5 ค่าความแม่นยำ (precision)

3.3 เปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยวิธีการเตรียมอนุพันธ์ กับ *N*-methyl-2-phenylindole และวิธี Thiobarbituric acid reactive substance assay

4. การศึกษาการชะลอปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิดในตัวอย่างน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน

การศึกษากการชะลอปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันในน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน ได้แก่ น้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลือง โดยทำการศึกษา ได้แก่ ปริมาณของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันในน้ำมันพืช ได้แก่ 2.5 5 10 และ 20 กรัมต่อน้ำมันพืช 50 กรัม ระยะเวลาและประสิทธิภาพของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชัน โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ตั้งแต่เริ่มต้น และติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ระยะเวลาต่างๆ ได้แก่ 7 15 21 30 45 และ 60 วัน ตามลำดับ



บทที่ 2

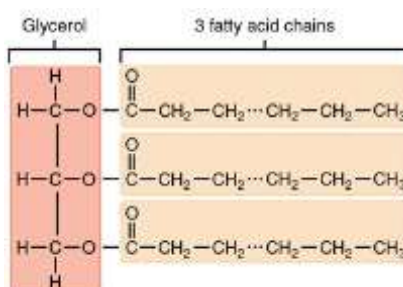
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยนี้เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในน้ำมันพืชด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N-methyl-2-phenylindole* เพื่อศึกษาการชะลอการเกิดปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิด โดยผู้วิจัยได้ทำการศึกษาค้นคว้าเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องและได้นำเสนอตามหัวข้อดังต่อไปนี้

1. น้ำมันพืช
2. ปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันในน้ำมันและมาลอนไดอัลดีไฮด์
3. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ
4. พืชสวนครัว
5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. น้ำมันพืช (vegetable oil)

น้ำมัน มีความสำคัญในการประกอบอาหารเพื่อให้อาหารนั้นสุกหรือเพิ่มลักษณะชวนรับประทานของอาหารบางประเภท และเป็นส่วนหนึ่งของสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกาย จัดอยู่ในหมวดอาหารประเภทของไขมัน นอกจากนี้น้ำมันยังเป็นแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็น ซึ่งร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องได้รับจากอาหารที่เป็นแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็น (Rohman, A.; et al. 2011: 303) โดยทั่วไปน้ำมันที่นิยมใช้คือ น้ำมันที่ได้จากพืชและน้ำมันที่ได้จากสัตว์ เช่น น้ำมันหมู แต่ผลจากการเพิ่มทางเลือกเพื่อตอบสนองต่อพฤติกรรมของผู้บริโภคที่เปลี่ยนแปลงไป ทำให้การผลิตน้ำมันจากพืชมีการพัฒนาไปอย่างรวดเร็ว โดยน้ำมันที่พบว่ามีจำหน่ายทั่วไป เช่น น้ำมันรำข้าว น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันงา น้ำมันจากเมล็ดฝ้าย น้ำมันปาล์ม น้ำมันจากดอกและเมล็ดทานตะวัน เป็นต้น น้ำมันพืชสกัดได้จากส่วนต่างๆ ของพืชน้ำมัน (oil crop) เช่น น้ำมันมะพร้าว น้ำมันถั่วลิสง น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันเมล็ดฝ้าย สกัดได้มาจากเมล็ด น้ำมันมะกอก และน้ำมันปาล์ม ซึ่งสกัดมาจากผล และยังมีพืชอีกหลายชนิดที่สามารถนำมาผลิตน้ำมันสำหรับบริโภคได้ เช่น ชา กาแฟ อะโวคาโด บราซิลนัตมาคาดาเมีย แต่ไม่เป็นที่แพร่หลายเนื่องจากมีราคาที่สูง (สุนิษฐา เศรษฐีธร. 2558: 1) น้ำมันพืชเป็นไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ที่ประกอบด้วยกลีเซอรอล (glycerol) 1 โมเลกุล และกรดไขมัน 3 โมเลกุล (นิธิยา รัตนานนท์. 2557: 81) โดยแสดงดังภาพประกอบ 1



ภาพประกอบ 1 ส่วนประกอบของไตรกลีเซอไรด์

ที่มา : Triacylglycerol: Structure & Function. n.d.: online

น้ำมันมีสถานะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ และเฮกเซน เป็นต้น น้ำมันพืชให้พลังงานสูง มีวิตามิน แต่ไม่มีคอเรสเตอรอล และส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวในปริมาณมาก โดยชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันพืชชนิดต่างๆ แสดงดังในตาราง 1 และ 2 ตามลำดับ

ตาราง 1 ปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันพืชชนิดต่างๆ

ชนิดของน้ำมัน	กรดไขมันอิ่มตัว (%)	กรดไขมันไม่อิ่มตัว (%)
น้ำมันคาโนลา	6	94
น้ำมันคำฝอย	10	90
น้ำมันดอกทานตะวัน	12	88
น้ำมันข้าวโพด	13	87
น้ำมันมะกอก	14	86
น้ำมันถั่วเหลือง	16	84
น้ำมันถั่วลิสง	17	83
น้ำมันรำข้าว	18	82
น้ำมันปาล์ม	50	50
น้ำมันปาล์มเคอเนล	86	14
น้ำมันมะพร้าว	92	8

ที่มา: ดัดแปลงจาก นัยนา บุญทวีวุฒัน. 2545

ตาราง 2 ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันพืชชนิดต่างๆ

กรดไขมัน	น้ำมัน	น้ำมัน	น้ำมัน	น้ำมัน	น้ำมันถั่ว
	มะพร้าว	รำข้าว	ปาล์ม	ปาล์ม	เหลือง
	(kernel)				
Caprylic C8:0	7.6	-	1.4	-	-
Capric C10:0	7.3	-	2.9	-	-
Lauric C12:0	48.2	-	50.9	0.1	-
Myristic C14:0	16.6	0.3	18.4	1.2	0.1
Myristoleic C14:1	-	-	-	-	-
Palmitic C16:0	8.0	17.6	8.7	46.8	10.5
Palmitoleic C16:1	1.0	-	-	3.8	-
Stearic C18:0	3.4	40.3	1.9	37.5	3.2
Oleic C18:1	5.0	2.1	14.6	10.0	22.3
Linoleic C18:2	2.5	32.1	1.2	-	54.5
Linolenic C18:3	-	1.4	-	-	8.3

ที่มา: นิธิยา รัตนานนท์. 2529

น้ำมันปรุงอาหารจากพืชสามารถจำแนกได้เป็น 3 ประเภท คือ

1. น้ำมันพืชอิ่มตัว (saturated vegetable oil) ประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวเป็นส่วนใหญ่ ทำให้มีลักษณะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิต่ำ เช่น น้ำมันมะพร้าว และน้ำมันปาล์ม เป็นต้น
2. น้ำมันพืชไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (monounsaturated vegetable oil) ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 1 พันธะ เช่น น้ำมันมะกอก ซึ่งมีกรดโอเลอิกสูงช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล
3. น้ำมันพืชไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated vegetable oil) ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่มากกว่า 1 พันธะ เช่น น้ำมันงา น้ำมันข้าวโพด น้ำมันรำข้าว น้ำมันเมล็ดทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลือง เป็นต้น

สำหรับน้ำมันพืชในประเทศไทยที่เป็นที่รู้จักและนิยมนำมาใช้ในการประกอบอาหารมากที่สุด ได้แก่ น้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลือง (สุวิษฐา เศรษฐีธร. 2558: 1-2)

น้ำมันปาล์ม (palm oil)

ปาล์ม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Elaeis guineensis* ผลปาล์มจะเกาะกันเป็นกลุ่มแน่น เรียกว่า ทะลาย ผลจะมีลักษณะรูปไข่ ยาวประมาณ 1-2 นิ้ว เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 นิ้ว ปริมาณน้ำมันจะเพิ่มตามความแก่จนสุก แต่ถ้าสุกเกินไปน้ำมันจะมีคุณภาพต่ำ โดยสังเกตผลสุกได้จากการเปลี่ยนสีจากสีม่วงเป็นสีแดงส้ม (รุ่งทิพย์ จุฑะมงคล. 2556: 25) ซึ่งแสดงส่วนประกอบของผลปาล์มดังภาพประกอบที่ 2 โดยในส่วนของผนังผลชั้นกลางมีน้ำมันประมาณ 45-55% เป็นแหล่งแคโรทีน ซึ่งเป็นสารสำคัญในการสร้างวิตามินเอ สำหรับกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ คือ กรดปาล์มิติก (palmitic acid) ซึ่งเป็นกรดไขมันอิ่มตัว แต่ยังมีกรดไขมันไม่อิ่มตัว ได้แก่ กรดโอเลอิก และกรดลิโนเลอิกด้วยเช่นกัน น้ำมันปาล์มอีกชนิดหนึ่งที่ได้จากการบีบอัดเมล็ด เรียกว่า น้ำมันแก่นปาล์ม (palm kernel oil) ซึ่งมีกรดลอริก (lauric acid) เป็นองค์ประกอบคล้ายน้ำมันมะพร้าว (พงศธรณ์ รุจิรา; วิชัย หฤทัยธนาสันต์; และหทัยรัตน์ ริมศิริ. 2540: 12) ซึ่งชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบแสดงดังในตาราง 1 และ 2 โดยน้ำมันปาล์มสำหรับบริโภคมี 3 ประเภท คือ น้ำมันปาล์มธรรมชาติ น้ำมันปาล์มผ่านกรรมวิธี และน้ำมันปาล์มโอสีอื่นผ่านกรรมวิธี



ภาพประกอบ 2 ส่วนประกอบของผลปาล์ม

ที่มา : ปานเทพ พัวพงษ์พันธ์. 2556

น้ำมันถั่วเหลือง (soybean oil)

น้ำมันถั่วเหลือง เป็นน้ำมันพืชที่มีการใช้มากที่สุดในโลกประมาณ 1 ส่วน 3 ของปริมาณน้ำมันพืชทั้งหมด ซึ่งได้จากเมล็ดถั่วเหลือง มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Glycine max* เป็นพืชที่อยู่ในตระกูลถั่ว ประกอบด้วยส่วนต่างๆ 3 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นเปลือก ส่วนที่เป็นเนื้อ (cotyledon) และส่วนที่งอกไปเป็นต้นอ่อน (hypocotyl) ซึ่งจะมีน้ำมันในปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งองค์ประกอบของน้ำมันถั่วเหลืองมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่ในปริมาณสูงกว่ากรดไขมันอิ่มตัว โดยเฉพาะกรดลิโนเลนิกซึ่งมีประมาณ 2-8% แสดงดังในตาราง 1 และ 2 เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายและมีกลิ่นเหม็นหืน

(Buck, D.F. 1981: 275) น้ำมันถั่วเหลืองมีลักษณะเป็นของเหลวใสสีเหลืองอ่อนที่อุณหภูมิห้อง โดยมีจุดแข็งตัวที่อุณหภูมิต่ำประมาณ 1 ถึง -12 องศาเซลเซียส มีค่าสปอร์นนิไฟต์ 190-195 มีค่าไอโอดีน (Iodine value) 129-137 ราคาถูก และไม่เป็นไขที่อุณหภูมิต่ำ (รุ่งทิพย์ จุฑะมงคล. 2556)

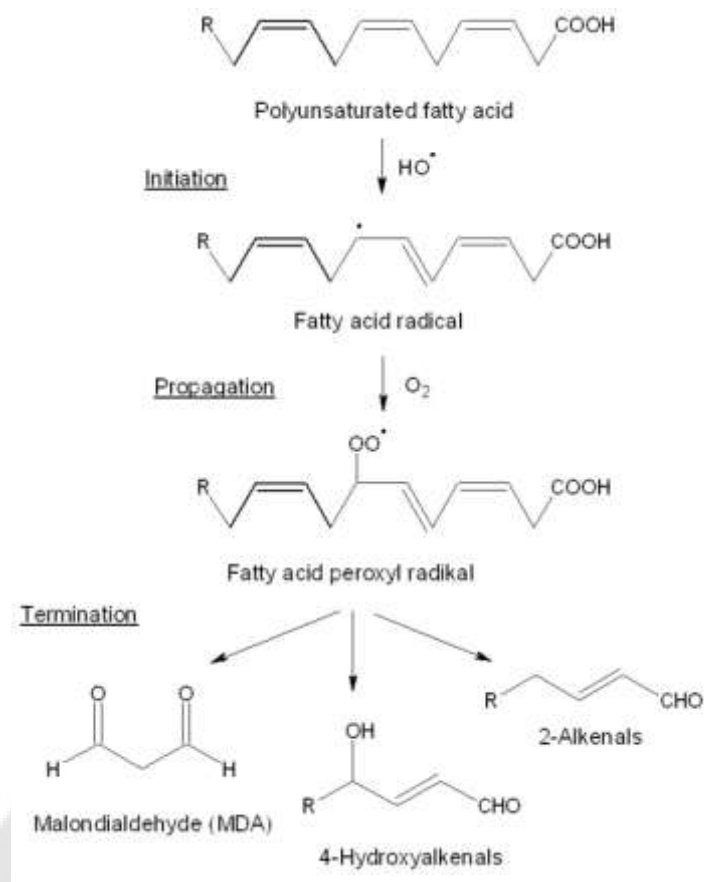
2. ปฏิกริยาลิปิดออกซิเดชันในน้ำมันและมาลอนไดอัลดีไฮด์

น้ำมันมีกรดไขมันประเภทไม่อิ่มตัวเป็นส่วนประกอบ เมื่อเก็บไว้ระยะเวลาหนึ่งจะเกิดกลิ่นเหม็นหืน (rancidity) หรือการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำมันที่ใช้ในการประกอบอาหารและการประกอบอาหารไม่ว่าจะเป็นกรดหรือการทอดล้วนอาศัยการใช้ความร้อน เพื่อทำให้อาหารนั้นสุกหรือเพื่อเพิ่มลักษณะชวนรับประทานของอาหารบางประเภท ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญและส่งผลกระทบต่อกรดไขมันประเภทไม่อิ่มตัวให้เกิดปฏิกริยาออกซิเดชันได้ง่าย เป็นสาเหตุให้เกิดการสลายตัวของกรดไขมันที่จำเป็นในผลิตภัณฑ์หรือเกิดการสลายตัวของวิตามินชนิดที่ละลายได้ในน้ำมัน เช่น วิตามินเอ ดี อี และเค เป็นต้น ทำให้คุณค่าทางโภชนาการของน้ำมันลดลง และส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยของน้ำมัน นอกจากนี้ยังพบว่าอาจจะมีสารพิษหรือสารอันตรายเกิดขึ้นร่วมด้วย เช่น สารก่อมะเร็ง (carcinogen) หรือสารก่อการกลายพันธุ์ (mutagen) (ศิวาพร ศิวเวช. 2546: 86)

ปฏิกริยาลิปิดออกซิเดชันในน้ำมัน

ปฏิกริยาลิปิดออกซิเดชัน เป็นปฏิกริยาทางเคมีระหว่างออกซิเจนกับพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acids, PUFA) ซึ่งเป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ที่อยู่ในน้ำมัน (Santos, F.A. 2014: 2) เกิดเป็นสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) และสลายตัวเป็นโมเลกุลเล็กๆ ที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นหืน ซึ่งเป็นปฏิกริยาที่สามารถเกิดขึ้นได้เองเรียกว่า ออโตออกซิเดชัน (autoxidation) (Hamilton R.J. 1994: 1-21) และเป็นไปอย่างต่อเนื่องเมื่อสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ (Santos, F.A. 2014: 1) โดยมีกลไกการเกิด 3 ขั้นตอน และแสดงกลไกการเกิดปฏิกริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชันของกรดไขมันประเภทไม่อิ่มตัวดังภาพประกอบ 3

1. ปฏิกริยาเริ่มต้น (initiation) เป็นขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระ
2. ปฏิกริยาต่อเนื่อง (propagation) เป็นปฏิกริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ
3. ปฏิกริยาสิ้นสุด (termination) เป็นปฏิกริยาสุดท้ายที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระ (non-radical product)

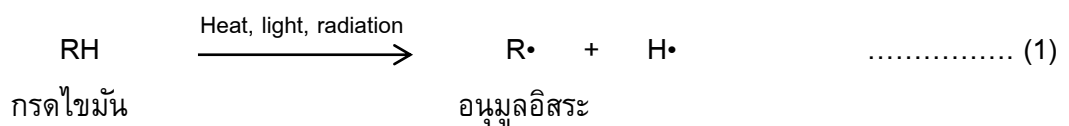


ภาพประกอบ 3 กลไกการเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันของกรดไขมันประเภทไม่อิ่มตัว

ที่มา : Mimica, N. (2012). The Effect of plant secondary metabolites on lipid peroxidation and eicosanoid pathway. p.194.

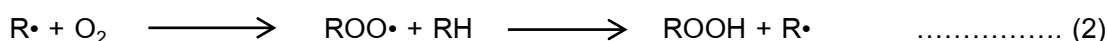
ปฏิกิริยาเริ่มต้น

ปฏิกิริยาเริ่มต้น เป็นขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระ (free radical, R•) ซึ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัว จะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ โดยมีความร้อน แสง รังสี และไอออนของโลหะเป็นตัวเร่ง ทำให้เกิดการสูญเสียไฮโดรเจนอะตอมที่ไฮโดรคาร์บอนตรงตำแหน่งพันธะคู่ เกิดเป็นอนุมูลอิสระที่ไม่เสถียร แสดงดังในสมการที่ 1



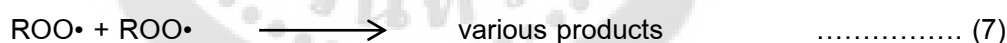
ปฏิกิริยาต่อเนื่อง

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นทำปฏิกิริยากับออกซิเจนทำให้เกิดอนุมูลอิสระในรูปเปอร์ออกซิล (peroxy radicals, ROO•) จากนั้นอนุมูลอิสระเปอร์ออกซิลจะไปดึงไฮโดรเจนอะตอมออกจากโมเลกุลของกรดไขมันโมเลกุลใหม่ ทำให้ได้ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide, ROOH) และเกิดอนุมูลอิสระขึ้นใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นใหม่จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนต่อเนื่องไปเรื่อยๆ แสดงดังในสมการที่ 2



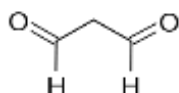
ปฏิกิริยาสิ้นสุด

เมื่ออนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นทำปฏิกิริยากัน แสดงดังในสมการที่ 3 - 7 เกิดเป็นสารประกอบใหม่และสลายตัวเป็นสารประกอบที่มีจำนวนคาร์บอนสั้นลง ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้บางชนิดทำให้เกิดกลิ่นเหม็นหืน ได้แก่ สารไฮโดรคาร์บอน เช่น อีเทน คีโตน และแอลดีไฮด์ โดยสารแอลดีไฮด์ที่น่าสนใจคือ มาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde, MDA) เป็นผลิตภัณฑ์ขั้นที่สองที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวและเป็นสารตั้งต้น (initiator) ของสารก่อมะเร็ง และสารก่อการกลายพันธุ์



มาลอนไดอัลดีไฮด์

การวิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันทั้งในทางชีววิทยาและอุตสาหกรรมอาหาร นิยมใช้ปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์เป็นดัชนีชี้วัด (marker) ของผลการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Fenaille, F. 2001: 237-245) ซึ่งมาลอนไดอัลดีไฮด์ เป็นผลิตภัณฑ์ในขั้นที่สองที่เกิดจากปฏิกิริยาไลปิดเปอร์ออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว แสดงดังภาพประกอบ 3 โดยสามารถเตรียมสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้ด้วยการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสสารประกอบ 1,1,3,3 -tetramethoxypropane, TMP และแสดงโครงสร้างทั่วไปของมาลอนไดอัลดีไฮด์ดังภาพประกอบ 4



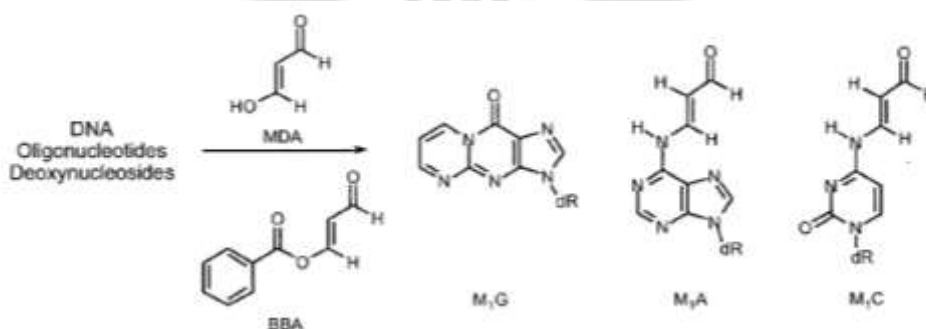
ภาพประกอบ 4 โครงสร้างของมาลอนไดอัลดีไฮด์

ที่มา : Martin, G. (2012). Recent advancements in the LC and GC-based analysis of malondialdehyde (MDA). p. 436.

ลักษณะทั่วไปของมาลอนไดอัลดีไฮด์ มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ 3 อะตอม มีชื่อ IUPAC คือ malondialdehyde สูตรโมเลกุลคือ $C_3H_4O_2$ มวลโมเลกุลเท่ากับ 72.06 g/mol จุดหลอมเหลวอยู่ในช่วง 72–74 องศาเซลเซียส ค่าความหนาแน่นเท่ากับ 0.991 g/mL (international agency for research on cancer, IARC. 1985: 1037) และสามารถดูดกลืนคลื่นแสงได้เล็กน้อยที่ความยาวคลื่น 245 นาโนเมตร

ความเป็นพิษและอันตรายของมาลอนไดอัลดีไฮด์

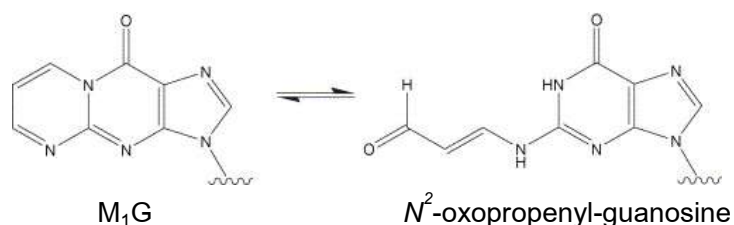
มาลอนไดอัลดีไฮด์เป็นสารตั้งต้นของสารก่อมะเร็งหรือสารก่อการกลายพันธุ์ที่ส่งผลต่อความปลอดภัยของอาหาร โดยจากรายงานผลการศึกษาในปี ค.ศ. 2003 ของ Laura J.N. (Laura, J.N. 2003: 31426–31433) พบว่าเมื่อมาลอนไดอัลดีไฮด์ทำปฏิกิริยากับสารพันธุกรรม (DNA) เช่น deoxyguanosine deoxyadenosine และ deoxycytidine และโปรตีน ทำให้เกิดสารประกอบ M_1G M_1A และ M_1C ตามลำดับ แสดงโครงสร้างดังในภาพประกอบ 5 ซึ่งเป็นสารก่อการกลายพันธุ์และนำไปสู่โรคหลอดเลือดตีบ (atherogenic)



ภาพประกอบ 5 โครงสร้างของ M_1G M_1A และ M_1C

ที่มา : Laura, J.N. (2003). Malondialdehyde, a Product of Lipid Peroxidation, Is Mutagenic in Human Cells. p. 31426–31433.

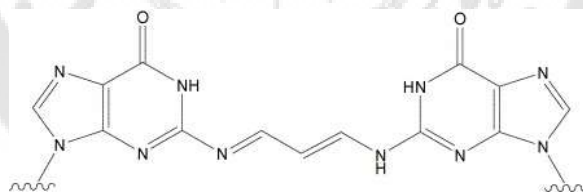
จากการศึกษาในปี ค.ศ. 2005 ของ Daniele, D.R. (Daniele, D.R. 2005: 316–328) พบว่าเมื่อทำปฏิกิริยากับ pyrimido-[1, 2- α] purin-10(3H)-one deoxyribose เช่น M_1dG M_1GdR และ M_1G จะเกิดเป็น N^2 -oxopropenyl-guanosine แสดงโครงสร้างดังภาพประกอบ 6



ภาพประกอบ 6 โครงสร้างของ N^2 -oxopropenyl-guanosine

ที่มา : Daniele, D.R. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. p. 316–328.

ซึ่งสาร N^2 -oxopropenyl-guanosine สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของแบคทีเรีย และเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม นอกจากนี้ยังพบว่ามาลอนไดอัลดีไฮด์สามารถเกิดการ cross-links เกิดเป็นสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ที่เรียกว่า N^2, N^2 -malondialdehyde แสดงโครงสร้างดังในภาพประกอบ 7 ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจ (cardiovascular diseases)



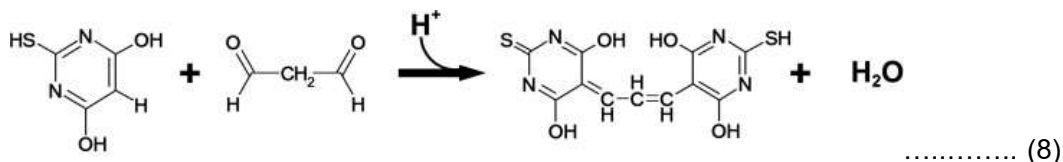
ภาพประกอบ 7 โครงสร้างของ N^2, N^2 -malondialdehyde

ที่มา : Daniele, D.R.(2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. p. 316–328.

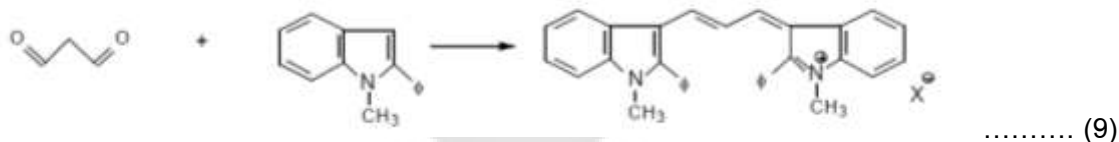
การวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์

เนื่องจากมาลอนไดอัลดีไฮด์เป็นสารโมเลกุลเล็กที่ไม่เสถียร มีความเข้มข้นสูง ละลายน้ำได้ดี และไม่มีหมู่โครโมฟอร์ (chromophore) อิเล็กโตรฟอร์ (electrophore) และฟลูออโรฟอร์ (fluorophore) ที่สามารถตรวจวัดได้ ดังนั้นในการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์สามารถทำได้ด้วยการเตรียมอนุพันธ์ (derivatization) กับสารอนุพันธ์ (derivatizing agent) โดยวิธีที่นิยมใช้ทั่วไป

ในการวิเคราะห์คือ Thiobarbituric acid reactive substance assay หรือ TBARS ซึ่งเป็นการทำอนุพันธ์ระหว่างสารมาลอนไดอัลดีไฮด์กับกรดไทโอบาร์บิทริก (thiobarbituric acid, TBA) เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสีแดง (red chromogen) และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร แสดงดังในสมการที่ 8 (Bastos, A.S.; et al. 2012: 141-146)



แต่เนื่องจากการศึกษาพบว่า กรดไทโอบาร์บิทริกสามารถทำปฏิกิริยากับไฮโดรเปอร์ออกไซด์ และสารประกอบแอลดีไฮด์อื่นได้ เช่น แอลคานอล (alkanals) แอลคีนอล (alkenals) และ 2, 4-ไดอินอล (2, 4-dienals) เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสีเหลือง ซึ่งดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร โดยมีเพียงไดอินอลที่เกิดผลิตภัณฑ์ที่มีสีแดง ทำให้เกิดการรบกวนและได้ค่าที่เกินความเป็นจริง นอกจากนี้ยังพบว่าต้องใช้ความร้อนสูงในการทำอนุพันธ์ด้วย (Pilz, J. 2000: 316, Li, P. 2013: 224 และ Rimawi, F.A. 2015: 933) และจากการทดลองในปี ค.ศ. 1998 Inoue, T. และคณะ (Inoue, T.; Ando, K.; & Kikugawa, K. 1998: 597-600 และ Monnier, D.G.; et al. 1998: 1176-1183) ได้พัฒนาการวิเคราะห์มาลอนไดอัลดีไฮด์โดยการทำอนุพันธ์กับเอ็น-เมทิล-2-ฟีนิลอินโดล (N-methyl-2-phenylindole, NMPI) เกิดอนุพันธ์ที่มีสีน้ำเงินของ carbocyanine dye ซึ่งดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 586 นาโนเมตร แสดงดังในสมการที่ 9



และจากการทดลองของ Inoue, T. และคณะ พบว่าการใช้ N-methyl-2-phenylindole ภายใต้สภาวะกรดของไฮโดรคลอริกเข้มข้น สามารถทำปฏิกิริยากับมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้อย่างรวดเร็ว และไม่ทำปฏิกิริยากับแอลดีไฮด์ตัวอื่นภายใต้สภาวะกรดของไฮโดรคลอริกเข้มข้น โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ N-methyl-2-phenylindole

3. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันในชั้นปฏิกิริยาเริ่มต้น และในชั้นปฏิกิริยาต่อเนื่อง จะมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น ได้แก่ เปอร์ออกซิล และไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งอนุมูลอิสระ (free radicals) หมายถึง อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนวงนอกสุด (outer orbital) เป็นจำนวนคี่ (unpaired electron) เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร ทำให้เกิดความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยา โดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้เกิดความเสถียร โดยโมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ ดังนั้นอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นใหม่จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) (Bhattacharya, S. 2015: 18 และ Valko, M. 2007: 47) เมื่ออนุมูลอิสระเหล่านี้เกิดปฏิกิริยากันจนได้เป็นสารโมเลกุลเล็กๆ ได้แก่ คีโตน แอลดีไฮด์ กรด แอลกอฮอล์ และไฮโดรคาร์บอนสายสั้น ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็น

โดยวิธีในการป้องกันหรือชะลอการเกิดกลิ่นเหม็นเหม็น ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือออกซิเดชันของน้ำมันให้เกิดช้าลงจึงสามารถทำได้ด้วยการหยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระโดยใช้สารกันเหม็นหรือสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระ หมายถึง สารที่ทำหน้าที่ป้องกันหรือชะลอไม่ให้อนุมูลอิสระก่อตัวขึ้นหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือออกซิเดชันของน้ำมัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะไปทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น เพื่อยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นแบบลูกโซ่และหยุดการก่อตัวใหม่ของอนุมูลอิสระ แสดงดังในสมการที่ 10 - 12



และอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระที่เหลือ ($\text{A}\cdot$) จะเปลี่ยนเป็นสารประกอบที่คงตัว แสดงดังในสมการที่ 13



จากสมการที่กล่าวมาข้างต้น จะเห็นว่าการใช้สารต้านอนุมูลอิสระสามารถช่วยป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในน้ำมันได้ ซึ่งแหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระมี 2 ประเภท ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants)

1. สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี เพื่อใช้ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและน้ำมัน ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มนี้ เช่น โพรพิลแกลเลต (propyl gallate, PG) บิวทิลเลเตดไฮดรอกซีแอนนิโซล (butylated hydroxyanisole, BHA) บิวทิลเลเตดไฮดรอกซีโทลูอีน (butylated hydroxytoluene, BHT) และเทอเทียรีบิวทิลไฮโดรควิโนน (tertiary butyl hydroquinone, TBHQ) เป็นต้น (Hakkim, F.L. 2007: 9109)

2. สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่พบได้จากแหล่งธรรมชาติ ทั้งในจุลชีพ สัตว์ พืชผักผลไม้ และสมุนไพร (Wang, H. 1997: 304) ซึ่งมีหลายชนิด เช่น วิตามินต่างๆ ได้แก่ วิตามินซีและอี เบต้าแคโรทีน และสารกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) เช่น แชนโทน (xanthone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งพบว่ามีมากในพืช

สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์มีประสิทธิภาพและมีความคงตัวสูงกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ มีข้อจำกัดของการใช้ โดยในปี ค.ศ. 1986 Ito N. พบว่าการใช้ BHT ในปริมาณที่มาก จะทำให้เกิดการเสียชีวิตของหนูบางสายพันธุ์ เนื่องจาก BHT จะทำให้วิตามินเคลดลง ซึ่งวิตามินเคช่วยในการแข็งตัวของเลือด (Ito, N.; et al. 1986: 1071-1092) โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cottrell S. ในปี ค.ศ.1994 ซึ่งพบว่าหนูทดลองที่ได้รับอาหารที่มี BHT ต้องการวิตามินเคเพิ่มขึ้นเพื่อช่วยในการแข็งตัวของเลือด (Cottrell S. 1994: 589-594) และการทดลองของ Iverson F. ในปี ค.ศ.1999 พบว่าการใช้ BHA ผสมในอาหารของหนูทดลองจะทำให้เกิดการขยายตัวผิดปกติของเนื้อเยื่อและทำให้เกิดเนื้องอกในช่องท้อง (Iverson F. 1999: 993-997)

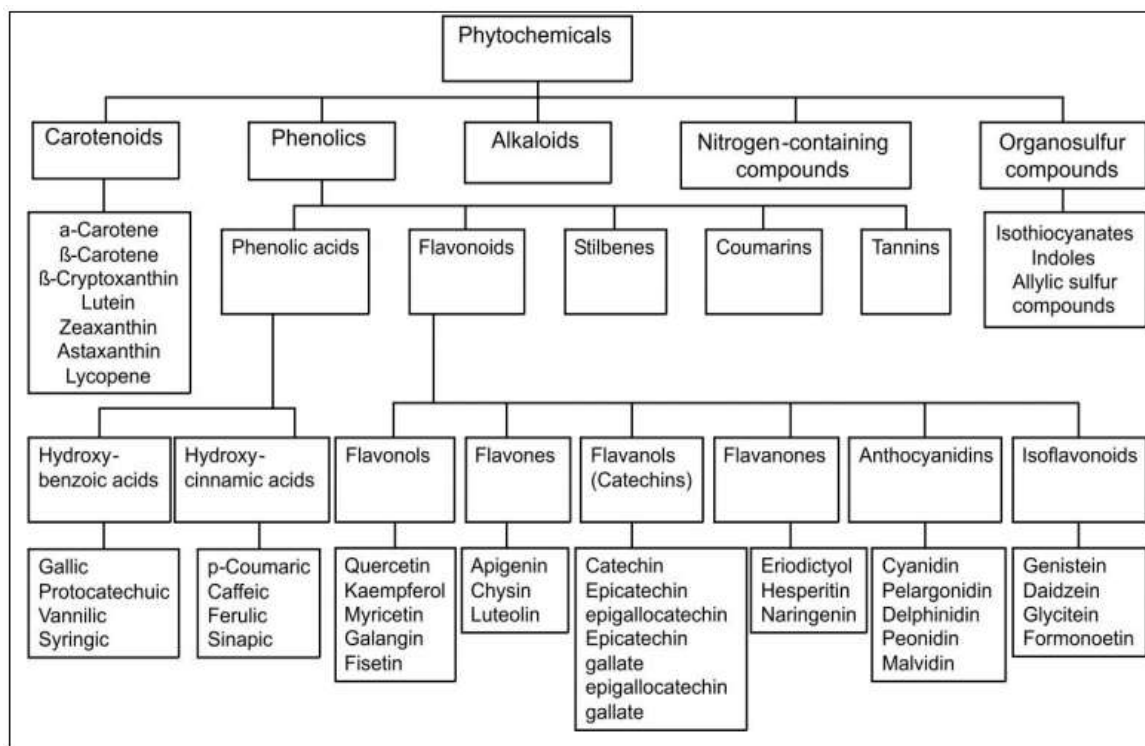
ดังนั้นจะเห็นว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีความน่าสนใจและมีการศึกษาเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากมีความปลอดภัยมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ และนอกจากนี้ยังพบว่ามีในเกือบทุกส่วนของพืช แต่จะมีชนิดและปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งสารที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในพืช ได้แก่ สารกลุ่มโพลีฟีนอล และสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Shao-huan, Z.; et al. 2009: 394) โดยนิยมศึกษาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เช่นในงานวิจัยของ Stankovic, M.S. ใน ค.ศ. 2011 (Stankovic, M.S. 2011: 63-72) ได้ทำการศึกษาหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพร *Marrubium peregrinum* L. โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay และวิธี DPPH assay ตามลำดับ ซึ่งจากการทดลองพบว่ามีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่ในช่วง 27.44-49.27 mg/g ของน้ำหนักตัวอย่างพืชสมุนไพร เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid equivalents) และพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีค่าอยู่ในช่วง 27.26-89.78% ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 1000 µg/mL และมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 187.41 µg/mL และในปีเดียวกัน Abdelhady, M.I.S.; Motaal, A.A.; และ Beerhues, L. (Abdelhady, M.I.S.; Motaal, A.A.; & Beerhues, L. 2011: 847-850) ได้ทำการศึกษาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu assay และวิธี DPPH assay ตามลำดับ ในตัวอย่างพืช callistemon ซึ่งเป็นไม้

พื้นเมืองของประเทศออสเตรเลีย 3 ชนิด โดยจากผลการทดลองพบว่ามีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมมีค่าอยู่ในช่วง 79.8 - 104.0 mg/g ของน้ำหนักตัวอย่างพืช เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก และมีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง 47.3 - 91.4% ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 1000 µg/mL

สารประกอบฟีนอลิกรวม

สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่พบได้มากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น ซึ่งในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิดในธรรมชาติ ตั้งแต่โมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึงโครงสร้างโพลีเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น

สารประกอบฟีนอลิก คือกลุ่มของสารที่ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) อย่างน้อยหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งหมู่ในโมเลกุลซึ่งต่อกับวงแหวนอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ซึ่งมีสารประกอบพื้นฐาน คือ สารฟีนอล (phenol) โดยประกอบด้วยวงแหวนเบนซีน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ ส่วนใหญ่สามารถละลายได้ในน้ำ สารประกอบฟีนอลิกมักพบอยู่รวมกับน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีหลายกลุ่ม โดยแสดงสารพิษทุกชนิดในพืชดังในภาพประกอบ 8 และมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีแตกต่างกัน ซึ่งกลุ่มใหญ่ที่พบจะเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ และสารกลุ่มกรดฟีนอลิก โดยหน้าที่ของสารประกอบฟีนอลิกเหล่านี้บางชนิดก็ทราบแน่ชัด เช่น ลิกนิน ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างให้ความแข็งแรงแก่ผนังเซลล์ของพืช สารในกลุ่มแอนโทไซยานิน (anthocyanin) เป็นสารที่ให้สีในดอกไม้ และสารในกลุ่มของฟลาโวนอยด์มีความสำคัญในการควบคุมการเจริญของพืชจำพวกถั่ว เป็นต้น (จันทิมา นามโชติ. 2555: 14-15)



ภาพประกอบ 8 หมวดหมู่ของสารพฤกษเคมีในพืช (phytochemical)

ที่มา: Classification of phytochemicals. n.d.: online

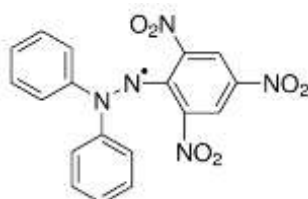
การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในพืช

1. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolic) วิธีที่นิยมใช้โดยทั่วไปคือ วิธี Folin-Ciocalteu assay ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย มีค่าใช้จ่ายน้อย และสะดวกรวดเร็ว โดยใช้หลักการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของโมลิบดีนัมไอออน (molybdenum ion) ซึ่งเป็นรีเอเจนต์ที่ประกอบด้วยโซเดียมทังสเตต (sodium tungstate) โซเดียมโบลิบเดต (sodium molybdate) กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) และโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) โดยไอออน Mo(VI) ซึ่งมีสีเหลืองจะเกิดการเปลี่ยนสีเมื่อได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระ เปลี่ยนเป็น Mo(V) ซึ่งมีสีน้ำเงิน โดยดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร และรายงานค่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมในรูปของมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักตัวอย่าง (gallic acid equivalent, mg GAE /g sample) (Tsai, T.H.; Tsai, P.J.; & Ho, S.C. 2005: 93-97)

2. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

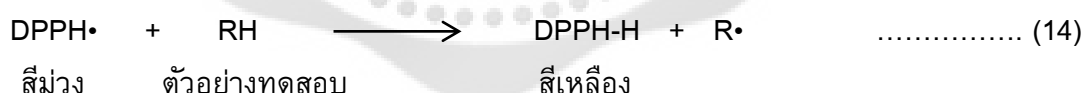
ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) มีหลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้ได้แก่ การวิเคราะห์ด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging assay, DPPH assay) ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย มีความสะดวกรวดเร็ว และใช้ได้กับตัวอย่างหลายชนิด (Mishra, K.; Ojiha, H.; & Chaudhury, N.K. 2012: 1036-1043) ซึ่งอนุมูล DPPH• แสดงโครงสร้างดังภาพประกอบ 9



ภาพประกอบ 9 โครงสร้างของ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH radical)

ที่มา: DPPH radical. n.d.: online

ซึ่ง DPPH radical เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว อยู่ในรูปอนุมูลไม่ต้องผ่านการทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดเป็นอนุมูล มีสีม่วง ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ (scavenging activity) ของสารตัวอย่าง และเมื่อได้รับไฮโดรเจนอะตอม จะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง แสดงดังในสมการที่ 14 (Mosquera, O.M.; et al. 2007: 631-634)



การรายงานความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเป็นค่า Inhibitory concentration 50% (IC_{50}) ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ 50% (Aruoma, O. 2003: 9-20) โดยหาได้จากการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารต้านอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารต้านอนุมูลอิสระที่ 50% (IC_{50}) หรือรายงานความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) โดยการนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารต้านอนุมูลอิสระ ดังสมการที่ 15

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{Control OD} - \text{Sample OD}) \times 100}{\text{Control OD}} \dots\dots\dots (15)$$

เมื่อกำหนดให้ Control OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีตัวอย่าง
Sample OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสาร DPPH ที่มีตัวอย่าง

4. พืชสวนครัว

ในงานวิจัยครั้งนี้สนใจศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในน้ำมันพืชด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole เพื่อศึกษาการชะลอการเกิดปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิด ได้แก่ กระเทียมและ/หรือข่า ซึ่งเป็นพืชสวนครัวที่พบได้ทั่วไปในครัวเรือน มีราคาถูก และนิยมนำมาใช้ในการประกอบอาหาร โดยพืชสวนครัว หมายถึง กลุ่มของพืชผักล้มลุกที่มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น และมักปลูกตามครัวเรือน

กระเทียม

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Allium sativum* Linn.

วงศ์ : Alliaceae

ชื่อสามัญ : Garlic

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : พืชล้มลุก สูง 40 - 80 เซนติเมตร มีลำต้นใต้ดินเป็นหัว ลักษณะกลมแบน แต่ละหัวประกอบด้วยกลีบ 6 - 10 กลีบ เปลือกนอกมีเยื่อสีขาวหรือม่วงอมชมพู หุ้มอยู่ 2 - 4 ชั้น ลอกออกได้ เนื้อในหัวมีสีขาวหรือเหลืองอ่อนๆ กลิ่นแรง ฉุน รสเผ็ดร้อน มีน้ำเหนียวเป็นยางในหัว ใบเดี่ยวเรียงซ้อนสลับ แบนเป็นแถบแคบ กว้าง 0.5 - 2.5 เซนติเมตร ยาว 30 - 60 เซนติเมตร ปลูกได้ทั้งทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (กระยาทิพย์ เรือนใจ. 2542: 110 และศรีรา คุปพิทยานันท์ และคณะ. 2549: 1)

สารสำคัญ : สารประกอบกำมะถัน (organosulfur) ได้แก่ allisatin, ajoene, methylajoene, dimethylajoene, allicin, methylallyl thiosulfonates, dimethyl thiosulfonates, diallyl sulfide, diallyl disulfide, diallyl trisulfide, di(1-propenyl) sulfide, alkenyl disulfide, alkenyl trisulfide, S-allyl cysteine, allyl methyl sulfide, thiocresone และสารในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ ได้แก่ quercetin, isoquercitrin, reynoutrin, isorhamnetin 3-O-β-D-glucopyranoside และ astragaloside (สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)

สรรพคุณ : ขับลมในกระเพาะอาหาร แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ รักษาแผลสด รักษาโรคผิวหนังที่เกี่ยวข้องกับเชื้อรา เช่น กลาก เกลื้อน ป้องกันโรคหลอดเลือดอุดตันและกล้ามเนื้อหัวใจหยุดทำงานเฉียบพลัน ช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเส้นเลือด ความดันโลหิตสูง ปริมาณน้ำตาลในเส้นเลือด

นอกจากนี้ยังสามารถป้องกันโรคหวัด วัณโรค คอติบ และปอดบวม (สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)

ช่า

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Alpinia galanga* (Linn.) Swartz.

วงศ์ : Zingiberaceae

ชื่อสามัญ : Galangal

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : พืชล้มลุกมีเหง้าใต้ดิน สีน้ำตาลอมแดง เลื้อยขนานกับผิวดิน มีอายุหลายปี มีข้อปล้องสั้น ก้านใบแผ่เป็นกาบหุ้มซ้อนกัน ดอกคล้ายลำต้น แตกกอ สูง 1.5 - 2.5 เมตร ใบเดี่ยว เรียงสลับ รอบลำต้น เหนือดิน ใบรูปใบหอก หรือรูปขอบขนานแกมใบหอก กว้าง 4 - 11 เซนติเมตร ยาว 25 - 45 เซนติเมตร กาบใบมีขน ปลายใบแหลม ฐานใบสอบแหลม ขอบใบเรียบ เป็นคลื่น เส้นกลางใบใหญ่ทางด้านท้องใบเป็นเส้นขนานชัด เส้นใบขนานกัน ก้านใบเป็นกาบหุ้ม ดอกช่อแยกแขนง ขนาดใหญ่ออกที่ปลายยอด ก้านดอกยาว 15 - 20 เซนติเมตร ตอนอ่อนมีสีเขียวปนเหลือง ดอกแก่สีขาวปนม่วงแดง ดอกย่อยจำนวนมากเรียงกันแน่น อยู่บนก้านช่อเดียวกัน ดอกย่อยคล้ายดอกกล้วยไม้มีขนาดเล็ก มีใบประดับย่อยเป็นแผ่นรูปไข่ กลีบดอกสีขาวแกมเขียว มี 3 กลีบ (อนุศักดิ์ ศรีศรกำพล. 2538: 1)

สารสำคัญ : น้ำมันระหอมเหย ประกอบด้วย eugenol, cineole, camphor, methyl cinnamate, pinene, galangin, chavicol, trans-p-coumaryl diacetate, coniferyl diacetate, quercetin, p-hydroxy-trans-cinnamaldehyde, kaemferol (สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล)

สรรพคุณ : รักษาโรคท้องเสีย วัณโรค ผื่นอง มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา ฆ่าแมลง ต้านเนื้องอกในหนู ขับพยาธิ ลดความดันโลหิต ลดไข้ รักษาแผลที่กระเพาะอาหารลดการหลั่งของกรด ต้านการอักเสบของตับ และกระตุ้นการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบ (ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)

5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี ค.ศ. 1958 รัสเซลและคณะ (Russell, O.S.; Yu, T.C.; & ChangYu, T. 1958: 626-634) ได้นำเสนอวิธีการวิเคราะห์ความเหม็นหืนที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้อนุพันธ์สีแดงของกรดไทโอบาร์บิทูริก กับผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์อาหาร และต่อมาในปี ค.ศ. 1976 คิโยชิ (Kiyoshi, Y. 1976: 212-216) ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์มาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างเลือด โดยตกตะกอนไขมันและโปรตีนภายใต้สภาวะกรดที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสและวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์โดยทำอนุพันธ์กับกรดไทโอบาร์บิทูริกแล้วตรวจวัดอนุพันธ์ที่เกิดขึ้นด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี ต่อมาวิธีการดังกล่าวนิยมใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ และเรียกวิธีการนี้ว่า thiobarbituric acid reaction substance หรือ TBARS

ในปี ค.ศ. 1988 อูมานะ และคณะ (Umano, K; Dennis, K.J.; & Shibamoto, T. 1988: 811-814) ได้ทำการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลนิกและกรดไขมันลิโนเลอิกในน้ำมันข้าวโพดและเนื้อวัว โดยทำอนุพันธ์กับเมทิลไฮดราซีน (methylhydrazine) ได้สารอนุพันธ์คือ 1-methyl-pyrazole และวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ตรวจวัดด้วยหัววัดไนโตรเจนฟอสฟอรัส ซึ่งจากผลการทดลองพบว่ามีปริมาณของสารมาลอนไดอัลดีไฮด์เมื่อผ่านการให้แสง (photoirradiation) เป็นเวลา 8 ชั่วโมง เท่ากับ 56.24 และ 25.01 $\mu\text{g/g}$ ในตัวอย่างน้ำมันข้าวโพดและเนื้อวัวตามลำดับ และพบว่าวิธีการเตรียมสารอนุพันธ์ก่อนทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีมีขั้นตอนในการเตรียมที่ยุ่งยากและซับซ้อน

ต่อมาในปี ค.ศ. 1998 ทีแซคนิส และคณะ (Tsaknis, J.; et al. 1998: 325-327) ได้ทำการศึกษาวิเคราะห์ความเหม็นหืนในน้ำมันที่ใช้สำหรับบริโภค โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณของสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ขั้นที่สองที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมัน โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งจากการทดลองพบว่ามีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในน้ำมันโอลีฟ น้ำมันข้าวโพด น้ำมันเมล็ดทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลือง เท่ากับ 2.9×10^{-6} , 5.6×10^{-6} , 5.9×10^{-6} และ 7.5×10^{-6} mol/L ตามลำดับ แต่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาสูง

และในปีเดียวกัน อิโนเอะ และคณะ (Inoue, T.; Ando, K.; & Kikugawa, K. 1998: 597-600) ได้พัฒนาการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์โดยการทำอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole ซึ่งจากการทดลองพบว่าเมื่อมาลอนไดอัลดีไฮด์ทำปฏิกิริยากับ *N*-methyl-2-phenylindole จะให้อนุพันธ์ที่มีสีน้ำเงินของ carbocyanine dye ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 586 นาโนเมตร โดยจะไม่ทำปฏิกิริยากับแอลดีไฮด์ตัวอื่นภายใต้สภาวะกรดของไฮโดรคลอริกเข้มข้นและสามารถทำปฏิกิริยากับมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้อย่างรวดเร็ว

ในปี ค.ศ. 2005 จันทรโชติ และเบอร์กโฮเฟอร์ (Juntachote, T. & Berghofer, E. 2005: 193-202) ได้ทำการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบโหระพาและช่จากผลการทดลองพบว่ามีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของใบโหระพา (*Ocimum*

sanctum Linn) และข่า (*Alpinia galanga*) เมื่อใช้วิธี DPPH radical scavenging assay ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีค่า IC_{50} เท่ากับ 20.6 และ 27.5 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ

ในปี ค.ศ. 2006 จันทรโชติ และคณะ (Juntachote, T.; et al. 2006: 446-456) ได้ทำการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของโหระพาและข่าในเนื้อหุ้มปรงสุก โดยทำการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-ciocalteu assay และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากข่าและใบโหระพามีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่ในช่วง 2288 - 4712 mg/ 100g ของตัวอย่าง และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยมีค่าอยู่ในช่วง 96.94 - 97.35% และยังพบว่ามีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในเนื้อหุ้มที่ผ่านการปรงเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นระยะเวลา 14 วัน

ในปี ค.ศ. 2007 เฉิง และคณะ (Cheung, S.C. 2007: 39-42) ได้ทำการศึกษาผลการใช้ du-zhong (*Cortex Eucommia ulmoides*) และ ginseng (*Panax ginseng* C.A. Mayer) ซึ่งเป็นสมุนไพรของประเทศจีนในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันข้าวโพด โดยจากผลการทดลองพบว่า du-zhong และ ginseng เพิ่มปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันทำให้สามารถต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และสามารถยืดระยะเวลาในการใช้งานของน้ำมันได้

ในปี ค.ศ. 2008 มายาชีว และตีวาฮาสติน (Mayachiew, P.; & Devahastin, S. 2008: 1153-1159) ได้ศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกุสเบอร์รี่ (*Phyllanthus emblica* Linn.) และข่า (*Alpinia galanga*) โดยใช้วิธี Folin-ciocalteu assay โดยผลจากการทดลองพบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 290.4 ± 0.7 และ 40.97 ± 0.2 mg GAE/g ของตัวอย่าง ตามลำดับ

ในปี ค.ศ. 2009 ดาส และซาฮา (Das, I.; & Saha, T. 2009: 459-471) ได้ทำการศึกษาพบว่าสารสกัดจากกระเทียมสามารถลดการเกิดเซลล์มะเร็งผิวหนังของหนูได้ และในปีเดียวกันยารา และคณะ (Yara, S.Q.; et al. 2009: 371-374) พบว่ากระเทียมประกอบไปด้วยสารโพลีฟีนอล และสารประกอบซัลเฟอร์ ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยทำการศึกษาในกระเทียมสดและผลิตภัณฑ์ของกระเทียมที่มีขายในท้องตลาด โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ DPPH assay ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า กระเทียมทอดมีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดและมีค่าลดลงเมื่อเก็บไว้นานขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าสัมพันธ์กับการลดลงของปริมาณสารโพลีฟีนอลด้วย

ในปี 2010 ฉาง และคณะ (Zhang, Y.; et al. 2010: 656-662) ได้ทำการศึกษาการใช้ carnosic acid ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่สกัดจากใบของโรสแมรี่ (*rosemary*) เปรียบเทียบกับการใช้สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ ได้แก่ บิวทิลเลเตตไฮดรอกซิลโทลูอีน บิวทิลเลเตตไฮดรอกซิลแอนิโซล และเทอเทียร์บิวทิลไฮโดรควิโนน ในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันทานตะวัน ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า carnosic acid มีความสามารถในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันทานตะวันได้ดีกว่าบิวทิลเลเตตไฮดรอกซิลโทลูอีน และบิวทิลเลเตตไฮดรอกซิลแอนิโซล แต่น้อยกว่าเทอเทียร์บิวทิลไฮโดรควิโนน

ในปี ค.ศ. 2015 ฮวัง และคณะ (Wang, X.; et al. 2015: 37-43) ได้ทำการแยกและวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดกระเทียมที่ทำการสกัดด้วยน้ำ โดยนำสารสกัดไปทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ก่อนที่จะทำการแยกสารสกัดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งจากการลองพบว่า มีค่า IC_{50} ของอนุพันธ์ tetrahydro- β -carboline เท่ากับ 1.063 - 2.072 $\mu\text{mol/mL}$ และเมื่อทำการแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงในสารสกัดกระเทียม พบว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระดังนี้ L-tryptophan, (3S)-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylic acid, (1S,3S)-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylic acid, (1R,3S)-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylic acid และ L-phenylalanine

ในปี ค.ศ. 2015 เพย เมงลี่ และคณะ (LI, F.M.; et al. 2015: 137-142) ได้ทำการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเทียมระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าสารสกัดกระเทียมมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้นานถึง 8 สัปดาห์ โดยทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ $839.96 \pm 31.38 \mu\text{g/g}$ ของน้ำหนักตัวอย่าง โดยทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-ciocalteu assay และจะมีค่าลดลงเมื่อผ่านไป 6 สัปดาห์

ในปี ค.ศ. 2015 นอวันโทโร และคณะ (Nurwantoro, V. P.; et al. 2015: 137-141) ได้ทำการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของกระเทียมในการป้องกันความเหม็นหืนของเนื้อวัว ซึ่งพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระเทียมด้วยน้ำมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 53.66% โดยทำการศึกษาปัจจัย ได้แก่ ปริมาณของกระเทียม (0, 3, 6, 9 และ 12 % w/w) ระยะเวลา (3, 6, 9 และ 12 วัน) ที่อุณหภูมิ 3 - 5 องศาเซลเซียส ประเมินผลโดยใช้ Thiobarbituric acid value, TBA ซึ่งกรดไทโอบาร์บิทริกจะทำปฏิกิริยากับมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่เป็นผลิตภัณฑ์แอลดีไฮด์ที่มีกลิ่นหืน ที่เกิดจากการสลายตัวของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในเนื้อวัว โดยจากผลการทดลองพบว่าค่า TBA เพิ่มขึ้นเมื่อเก็บเนื้อวัวไว้ที่อุณหภูมิ 3 - 5 องศาเซลเซียส และพบว่า มีค่าลดลงเมื่อใส่กระเทียมบดลงไปเนื้อวัว

สำหรับการศึกษาผลการนำพืชสวนครัวบางชนิดซึ่งมีสารสำคัญและมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ มาใช้ในการช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันพืชนั้นยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน ซึ่งสารมาลอนไดอัลดีไฮด์เป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคมะเร็งและเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในน้ำมันพืช ด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ N-methyl-2-phenylindole เพื่อศึกษาการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิด

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

1. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

- เครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (รุ่น UV-2401 PC) จากบริษัท Shimadzu
- เครื่องชั่งอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo รุ่น AB104-S) จากบริษัท Mettler Toledo
- เครื่องให้ความร้อน (hotplate) จากบริษัท Scientific Industries
- เครื่องเขย่า (vortex) รุ่น Vortex-genie 2 จากบริษัท Scientific Industries
- เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง (centrifuge) รุ่น Zentrifugen EBA 8S จากบริษัท Hettich
- เครื่องอัลตราโซนิก (ultrasonic bath) จากบริษัท Mettler electronic
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) จากบริษัท Memmert
- ไมโครปิเปตต์ขนาด 25 และ 1000 ไมโครลิตร จากบริษัท Gilson
- อินฟราเรดเทอร์โมมิเตอร์ รุ่น GM300 จากบริษัท Thermometers
- ตู้ดูดควัน จากบริษัท A.I.M. Project
- กระดาษกรอง เบอร์ 1 จากบริษัท Whatman

2. สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

- 1,1,3,3-เตตระเมทอกซีโพรเพน (1,1,3,3-tetramethoxypropane, TMP) จากบริษัท Sigma-Aldrich
- เอ็น-เมทิล-2-ฟีนิลอินโดล (N-methyl-2-phenylindole, NMPI) จากบริษัท Sigma-Aldrich
- 2,2-ไดฟีนิล-1-พิกริลไฮดราซิล (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH) จากบริษัท Sigma-Aldrich
- โฟลินซีโอแคลทูรีเอเจนต์ (Folin-Ciocalteu reagent, AR grade) จากบริษัท Sigma-Aldrich
- โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate, AR grade) จากบริษัท QRëC
- 2-ไทโอบาร์บิทริก (2-thiobarbituric acid, AR grade) จากบริษัท Sigma-Aldrich
- กรดแกลลิก (gallic acid, AR grade) จากบริษัท Sigma-Aldrich
- 37% กรดไฮโดรคลอริก (37% hydrochloric acid, AR grade) จากบริษัท Merck

- 1-บิวทานอล (1-butanol, AR grade) จากบริษัท Carlo Erba Reagents
- เมทานอล (methanol, AR grade) จากบริษัท Carlo Erba Reagents
- อะซิโตรไนไทรล์ (acetonitrile, AR grade) จากบริษัท ACI Labscan

3. ตัวอย่างที่ทดลอง

3.1 ตัวอย่างพืชสวนครัว ได้แก่ กระเทียม และ/หรือข่า แบบสดและแบบแห้ง จัดซื้อจากตลาดสดสะพานใหม่ในเขตกรุงเทพมหานคร

3.2 ตัวอย่างน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน ได้แก่ น้ำมันปาล์มและน้ำมันถั่วเหลือง จัดซื้อจากซูเปอร์มาร์เก็ตในเขตกรุงเทพมหานคร

วิธีดำเนินการวิจัย

ตอนที่ 1 การศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชสวนครัวบางชนิด

การศึกษวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชสวนครัวบางชนิด โดยการวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay และ DPPH radical scavenging assay ตามลำดับ

1.1 การศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยทำการทดลองดังนี้

ศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของพืชสวนครัว ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay ตามวิธีของ Stankovic, M.S. และคณะ (2011)

ซึ่งตัวอย่างพืชสวนครัวบดละเอียดมา 10.00XX กรัม ลงในบีกเกอร์ เติมน้ำเมทานอลปริมาตร 30 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ และแช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง นำไปกรองผ่านกระดาษกรองวอทแมน เบอร์ 1 จากนั้นนำสารละลายที่กรองได้ไประเหยตัวทำละลายและเตรียมสารละลายให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยเมทานอล และนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยทำการปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำเมทานอล 10% โพลินซีโอแคลทูรีเอเจนต์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ลงไปในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำเมทานอล 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า และนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 45 นาที และนำสารผสมที่ได้มาบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร และสร้างกราฟมาตรฐานของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ (n = 3) และคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเฉลี่ยในรูปมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง (mg GAE/ 100g sample)

1.2 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยทำการทดลองดังนี้

ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ดัดแปลงจากวิธีของ Stankovic, M.S. และคณะ (2011)

ซึ่งตัวอย่างพืชสวนครัวบดละเอียดมา 10.00XX กรัม ลงในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นปริมาตร 30 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ และแช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง นำไปกรองผ่านกระดาษกรองวอทแมน เบอร์ 1 จากนั้นนำสารละลายที่กรองได้ไประเหยตัวทำละลายและเตรียมสารละลายให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยเมทานอล และนำไปวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยทำการปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 2, 2-ไดฟีนิล-1-พิกริลไฮดราซิด ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองและผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มีอุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 30 นาที และนำสารผสมที่ได้มาบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน และนำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) ดังสมการที่ 16

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{Control OD} - \text{Sample OD})}{\text{Control OD}} \times 100 \quad \dots\dots\dots 16)$$

เมื่อกำหนดให้

Control OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีตัวอย่าง

Sample OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีตัวอย่าง

และนำค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารต้านอนุมูลอิสระไปสร้างกราฟหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ 50% (IC_{50}) โดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ของการยับยั้งของสารต้านอนุมูลอิสระที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ 50% (IC_{50})

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชสวนครัวชนิดละ 3 ซ้ำ ($n = 3$) คำนวณหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (\pm SD)

ตอนที่ 2 การศึกษาวิธีการวิเคราะห์และประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole โดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมตรี

ศึกษาวิธีการวิเคราะห์และประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ โดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมตรี ด้วยการเตรียมอนุพันธ์ระหว่างสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ กับ *N*-methyl-2-phenylindole ตามวิธีของ Inoue, T. และคณะ (1998) โดยทำการศึกษา ได้แก่ ความเข้มข้นของ *N*-methyl-2-phenylindole ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก อุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อน

2.1 การศึกษาปฏิบัติการเตรียมอนุพันธ์มาลอนไดอัลดีไฮด์

ปิเปตสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้น 0.030 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.80 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร เติมสารละลาย *N*-methyl-2-phenylindole เข้มข้น 8.60 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.60 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ปริมาตร 0.60 มิลลิลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าเป็นระยะเวลา 5 วินาที และนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 นาที นำสารละลายผสมที่ได้ไปบันทึกหาความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในช่วง 400 ถึง 800 นาโนเมตรด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

2.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์

2.2.1 การศึกษาความเข้มข้นของ *N*-methyl-2-phenylindole

ปิเปตสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้น 0.005 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.80 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร ศึกษาผลของความเข้มข้น *N*-methyl-2-phenylindole ในการเตรียมอนุพันธ์ โดยทำการศึกษาความเข้มข้นของ *N*-methyl-2-phenylindole ได้แก่ 2 4 6 8 และ 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.60 มิลลิลิตร และเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ปริมาตร 0.60 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าเป็นระยะเวลา 5 วินาที และนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 นาที นำสารละลายผสมที่ได้ไปบันทึกค่าการดูดกลืนแสง และทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง

2.2.2 การศึกษาความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก

ปิเปตสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์เข้มข้น 0.005 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.80 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลาย *N*-methyl-2-phenylindole ด้วยความเข้มข้นที่เหมาะสมตามวิธีในข้อ 2.2.1 ปริมาตร 2.60 มิลลิลิตร โดยทำการศึกษาความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการเตรียมอนุพันธ์ ได้แก่ 20 40 60 80 และ 100% (v/v)

ปริมาตร 0.60 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด โดยการเจือจางสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้นด้วยน้ำกลั่น และทำการทดลองต่อตามข้อ 2.2.1

2.2.3 การศึกษาอุณหภูมิในการเตรียมสารอนุพันธ์

ปิเปตสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์เข้มข้น 0.005 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.80 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลาย *N*-methyl-2-phenylindole ด้วยความเข้มข้นที่เหมาะสมตามวิธีในข้อ 2.2.1 ปริมาตร 2.60 มิลลิลิตร และเติมกรดไฮโดรคลอริก ที่เหมาะสมตามวิธีในข้อ 2.2.2 ปริมาตร 0.60 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าเป็นระยะเวลา 5 วินาที โดยทำการศึกษาอุณหภูมิในการให้ความร้อนด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ ได้แก่ 25 35 45 55 และ 65 องศาเซลเซียส และทำการทดลองต่อตามข้อ 2.2.1

2.2.4 การศึกษาระยะเวลาในการให้ความร้อน

ปิเปตสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์เข้มข้น 0.005 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.80 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลาย *N*-methyl-2-phenylindole ด้วยความเข้มข้นที่เหมาะสมตามวิธีในข้อ 2.2.1 ปริมาตร 2.60 มิลลิลิตร และเติมกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้นที่เหมาะสมตามวิธีในข้อ 2.2.2 ปริมาตร 0.60 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด และนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิที่เหมาะสมตามวิธีในข้อ 2.2.3 โดยทำการศึกษาระยะเวลาในการให้ความร้อน ได้แก่ 20 30 40 50 60 และ 90 นาที และทำการทดลองต่อตาม ข้อ 2.2.1

2.3 การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์

2.3.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 6 ความเข้มข้น ในช่วง 0.001 ถึง 0.040 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.80 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร เติมสารละลาย *N*-methyl-2-phenylindole ที่ความเข้มข้น 6 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.60 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ปริมาตร 0.60 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าเป็นระยะเวลา 5 วินาที นำไปให้ความร้อนด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 40 นาที นำสารละลายผสมที่ได้บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 586 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ และทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง

2.3.2 ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (limit of quantitation, LOQ)

ในการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ทำการศึกษาโดยใช้สารมาตรฐานของมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยทำการทดลองดังนี้

ปิเปตสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้น 0.0001 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ตามวิธีที่เหมาะสมในข้อ 2.2 ด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ทำการทดลอง 10 ครั้ง คำนวณค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และคำนวณหาค่า LOD และ LOQ ดังสมการที่ 17 และ 18 ตามลำดับ

$$\text{LOD} = 3\text{SD} \quad \dots\dots\dots 17)$$

$$\text{LOQ} = 10\text{SD} \quad \dots\dots\dots 18)$$

2.3.3 ศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (accuracy)

ในการศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทำการศึกษาโดยหรร้อยละกลับคืน (% recovery) โดยทำการทดลองดังนี้

ซึ่งตัวอย่างน้ำมันมา 1.00XX กรัม เติมสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ (spike sample) และเติมสารละลายบิวทานอลปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปทำการโซนิเคชัน (sonication) ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก เป็นระยะเวลา 10 นาที ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.80 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ตามวิธีที่เหมาะสมในข้อ 2.2 ด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ และนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่าร้อยละกลับคืน ดังสมการที่ 19

$$\text{ร้อยละการกลับคืน} = \frac{(C_{\text{added}} - C_{\text{in sample}}) \times 100}{C_{\text{added}}} \quad \dots\dots\dots 19)$$

เมื่อ $C_{\text{in sample}}$ คือ ความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์
 C_{added} คือ ความเข้มข้นที่เติมลงในตัวอย่าง

2.3.4 ศึกษาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (precision)

ในการศึกษาความแม่นยำภายในวันเดียวกัน (intra-day precision) และความแม่นยำระหว่างวัน (inter-day precision) โดยทำการทดลองดังนี้

ทำการทดลองโดยการปิเปตสารละลายมาตรฐานมาลงได้อัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ 3 ระดับ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารมาลงได้อัลดีไฮด์ตามวิธีที่เหมาะสมในข้อ 2.2 ด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ทำการทดลอง 10 ครั้ง จากนั้นคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ตามสมการที่ 20

Intra-day คือ การทำซ้ำภายในวันเดียวกัน โดยทำซ้ำ 10 ครั้ง

Inter-day คือ การทำซ้ำกันระหว่างวันเป็นจำนวน 5 วัน วันละ 3 ซ้ำ

$$\text{ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์} = \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100 \quad \dots\dots\dots 20)$$

2.4 เปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ปริมาณมาลงได้อัลดีไฮด์ด้วยวิธีการเตรียมอนุพันธ์กับ

N-methyl-2-phenylindole และวิธี Thiobarbituric acid reactive substance assay

การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ปริมาณมาลงได้อัลดีไฮด์ด้วยวิธีการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole ตามวิธีที่เหมาะสมในข้อ 2.2 เปรียบเทียบกับวิธี Thiobarbituric acid reactive substance assay ตามวิธีของ American Oil Chemists' Society, AOCS (1998)

ปิเปตสารละลายมาตรฐานมาลงได้อัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้น 0.030 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองและเติมสารละลายกรดไทโอบาร์บิทูริกที่ความเข้มข้น 0.2% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าเป็นระยะเวลา 5 วินาทีและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที นำสารละลายผสมที่ได้ไปบันทึกหาความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

ตอนที่ 3 การศึกษาการชะลอปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิดในตัวอย่างน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน

การศึกษาผลการใช้พืชสวนครัวบางชนิด ได้แก่ กระเทียม และหรือ/ซ้ำ แบบสดและแบบแห้ง ในการชะลอปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันในน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน ได้แก่ น้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลือง โดยทำการศึกษานี้ได้แก่ ปริมาณของพืชสวนครัว ระยะเวลา และประสิทธิภาพของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชัน

3.1 การศึกษาปริมาณของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชัน

นำพืชสวนครัวที่หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แต่ละชนิดปริมาณ 2.5 5 10 และ 20 กรัม ใส่ลงในน้ำมันพืชแต่ละชนิดปริมาณ 50 กรัม โดยทำการเตรียมตัวอย่างน้ำมันพืชตามวิธีของ Halvorsen, B.L. และ Blomhoff, R. (2011) โดยการนำน้ำมันพืชไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 230 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 20 นาที และตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ทำการชั่งน้ำมันพืชใส่ในขวดพลาสติกปริมาณ 50 กรัม เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง โดยน้ำมันพืชที่ไม่มีการใส่พืชสวนครัวลงไปเป็นน้ำมันพืชควบคุม จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ตามวิธีที่เหมาะสมในข้อ 2.2 ที่ระยะเวลาเริ่มต้น ทั้งนี้การเตรียมตัวอย่างน้ำมันเพื่อวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ตามวิธีของ American Oil Chemists' Society, AOCS (1998)

โดยการนำตัวอย่างน้ำมันพืชมา 1.00XX กรัม และเติมสารละลายบิวทานอลปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปทำการโซนิเคชัน (sonication) บนเครื่องอัลตราโซนิก เป็นระยะเวลานาน 10 นาที จากนั้นทำการบีบอัดสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.80 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร และนำไปวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ตามวิธีที่เหมาะสมในข้อ 2.2

3.2 การศึกษาระยะเวลาในการชะลอปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชัน

นำน้ำมันที่ใส่พืชสวนครัวในข้อ 3.1 ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 60 วัน โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ตามวิธีที่เหมาะสมในข้อ 2.2 โดยทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ระยะเวลา 7 15 21 30 45 และ 60 วัน ตามลำดับ

3.3 การศึกษาประสิทธิภาพของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชัน

นำน้ำมันที่ใส่พืชสวนครัวในข้อ 3.1 ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 60 วัน โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ตามวิธีที่เหมาะสมในข้อ 2.2 โดยทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ระยะเวลา 7 15 21 30 45 และ 60 วัน ตามลำดับ

บทที่ 4

ผลการทดลอง

สำหรับการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยเสนอลำดับผลการวิจัยตามลำดับดังนี้

1. ผลการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชสวนครัวบางชนิด
2. ผลการศึกษาวิเคราะห์และประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole โดยการใช้เทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมตรี
3. ผลการศึกษาเปรียบเทียบการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิดในตัวอย่างน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน

ตอนที่ 1 ผลการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชสวนครัว

1.1 การศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารในกลุ่มของโพลีฟีนอล และสารกลุ่มของฟลาโวนอยด์ (Shao-huan, Z.; et al. 2009: 394) พบได้มากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก และผลไม้ แต่จะมีชนิดและปริมาณที่แตกต่างกัน (Shao-huan, Z.; et al. 2009: 394) ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของพืชสวนครัวบางชนิดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay ตามวิธีของ Stankovic, M.S. และคณะ (2011) ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 3

ตาราง 3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของตัวอย่างพืชสวนครัว

ชนิดพืชสวนครัว	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม mg GAE/100g sample \pm SD
กระเทียม (สด)	62.47 \pm 2.014
กระเทียม (แห้ง)	403.13 \pm 4.385
ข่า (สด)	243.38 \pm 2.013
ข่า (แห้ง)	465.03 \pm 6.992

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมรวมเท่ากับ 62.47 ± 2.014 , 403.13 ± 4.385 , 243.38 ± 2.013 และ 465.03 ± 6.992 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมตัวอย่าง (mg GAE/100g sample) สำหรับตัวอย่างกระเทียม(สด) กระเทียม(แห้ง) ข่า(สด) และ ข่า(แห้ง) ตามลำดับ และนอกจากนี้ยังพบอีกว่ากระเทียมและข่าแบบแห้งจะมีปริมาณของ สารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าแบบสด ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pricina, L. และ Karklina, D. ในปี 2014 โดยศึกษาพบว่ากระเทียมแบบสดมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่ากระเทียมแบบแห้ง มีค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 225.25 ± 4.42 และ 475.95 ± 18.25 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมตัวอย่าง (mg GAE/ 100g sample) ตามลำดับ และผักอื่นๆ ที่ทำการศึกษา เช่น หัวหอม แครอท และฟักทอง เป็นต้น (Pricina, L. และ Karklina, D. 2014: 492-496) และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Capecka, E.; Mareczek, A. และ Leja, M. ในปี 2005 ที่ทำการศึกษารวมของสารประกอบฟีนอลิกรวมในพืชสมุนไพร เช่น สะระแหน่ และออริกาโน โดยจากผลการทดลองพบว่าแบบแห้งจะมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าแบบสด (Capecka, E.; Mareczek, A. และ Leja, M. 2005: 223-226)

1.2 การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชสวนครัวด้วยการตรวจสอบตามวิธี DPPH radical scavenging assay ดัดแปลงจากวิธีของ Stankovic, M.S. และคณะ (2011) ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย มีความสะดวกรวดเร็ว และใช้ได้กับตัวอย่างหลายชนิด (Mishra, K.; Ojha, H.; & Chaudhury, N.K. 2012: 1036-1043) ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 4

ตารางที่ 4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างพืชสวนครัว

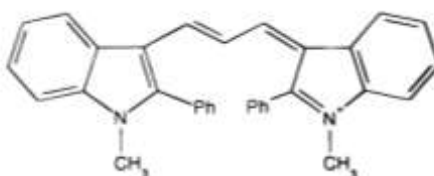
ชนิดพืชสวนครัว	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ	
	% Inhibition (mg/mL)	IC ₅₀ (mg/mL)
กระเทียม (สด)	15.74	3.78
กระเทียม (แห้ง)	69.92	2.16
ข่า (สด)	94.42	0.23
ข่า (แห้ง)	67.93	0.59
กรดแกลลิก	-	0.01

จากผลการทดลองในตาราง 4 พบว่ามีค่า %Inhibition เท่ากับ 15.74, 69.92, 94.42 และ 67.93% สำหรับตัวอย่างกระเทียม(สด) กระเทียม(แห้ง) ข่า(สด) และข่า(แห้ง) ตามลำดับ และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.78, 2.16, 0.23 และ 0.59 mg/mL สำหรับตัวอย่างกระเทียม(สด) กระเทียม(แห้ง) ข่า(สด) ข่า(แห้ง) ตามลำดับ และกรดแกลลิก มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.01 mg/mL

ตอนที่ 2 ผลการศึกษาวิธีการวิเคราะห์และประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole โดยการใช้เทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมตรี

2.1 การศึกษาปฏิกิริยาการเตรียมอนุพันธ์มาลอนไดอัลดีไฮด์

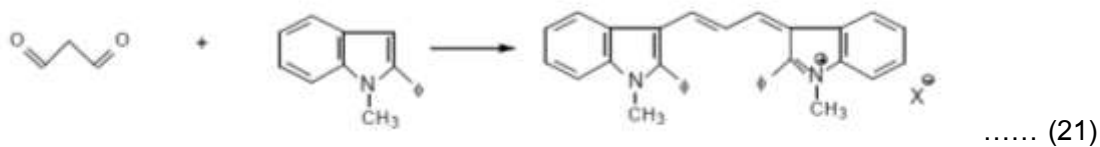
ในงานวิจัยนี้วิเคราะห์ปริมาณของสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์ระหว่างสารมาลอนไดอัลดีไฮด์กับ *N*-methyl-2-phenylindole โดยเมื่อทำปฏิกิริยาแล้วจะให้อนุพันธ์ที่มีสีน้ำเงิน มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 586 นาโนเมตร ($\lambda_{max} = 586$) (Inoue, T.; Ando, K.; & Kikugawa, K. 1998: 597-600 และ Monnier, D.G.; et al. 1998: 1176-1183) ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี แสดงภาพประกอบสีของสารละลายอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์กับ *N*-methyl-2-phenylindole ดังแสดงในภาคผนวก ก และจากการศึกษา 1H NMR และแมสสเปกโทรโฟโตเมตรีของ Monnier, D.G และคณะ (1998) พบว่าผลิตภัณฑ์หรือสารอนุพันธ์ที่เกิดขึ้นระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์และ *N*-methyl-2-phenylindole ภายใต้สภาวะกรดไฮโดรคลอริก มีโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 10 (Monnier, D.G.; et al. 1998: 1176-1183)



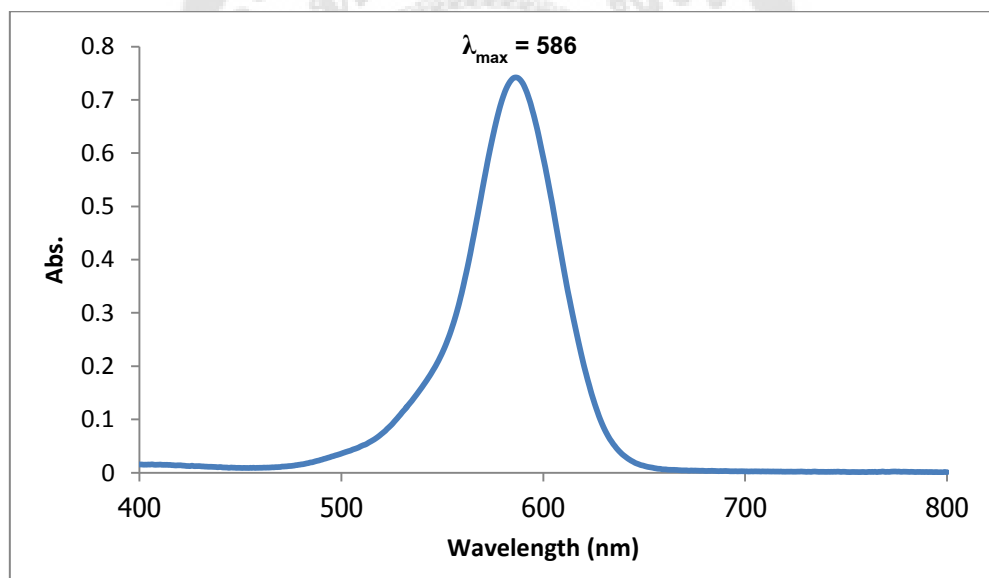
ภาพประกอบ 10 โครงสร้างของอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์กับ *N*-methyl-2-phenylindole

ที่มา : Monnier, D.G.; et al. (1998). Reaction of 1-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation. p.1176-1183.

และแสดงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างสารมาลอนไดอัลดีไฮด์กับ *N*-methyl-2-phenylindole แสดงดังในสมการที่ 21



โดยเมื่อนำสารละลายมาลอนไดอัลดีไฮด์ทำปฏิกิริยากับ *N*-methyl-2-phenylindole ซึ่งจะให้สารละลายอนุพันธ์ที่มีสีน้ำเงิน และนำไปบันทึกสเปกตรัมระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 ถึง 800 นาโนเมตรด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ พบว่าอนุพันธ์ที่ได้มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 586 นาโนเมตร และแสดงสเปกตรัมดังแสดงในภาพประกอบ 11



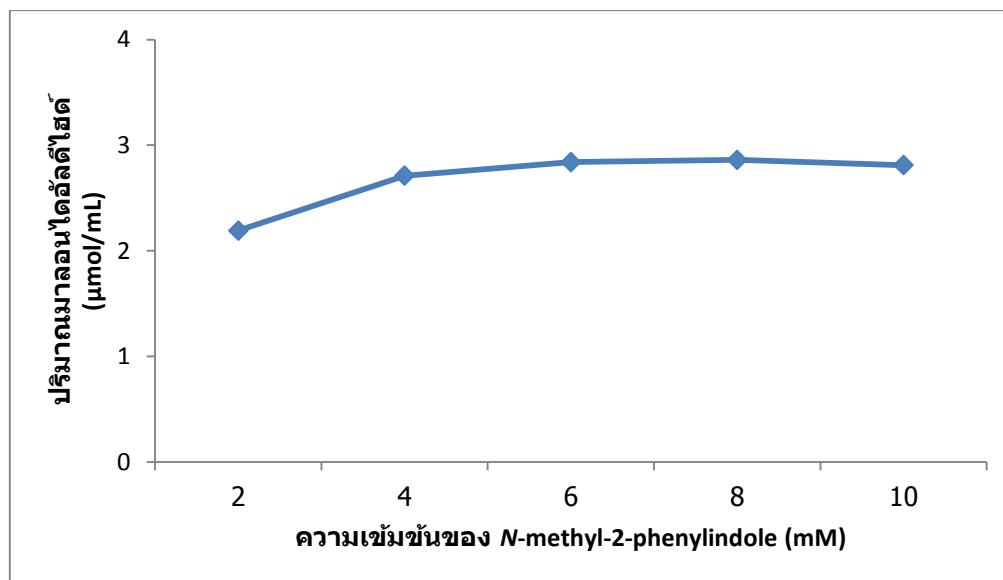
ภาพประกอบ 11 สเปกตรัมของอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์กับ *N*-methyl-2-phenylindole

2.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์

การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณของสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์ระหว่างสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์กับ *N*-methyl-2-phenylindole โดยทำการศึกษา ได้แก่ ความเข้มข้นของ *N*-methyl-2-phenylindole ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก อุณหภูมิ และระยะเวลาในการให้ความร้อน

2.2.1 การศึกษาความเข้มข้นของ *N*-methyl-2-phenylindole

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของความเข้มข้น *N*-methyl-2-phenylindole ที่ใช้เป็นรีเอเจนต์ในการเตรียมสารอนุพันธ์กับสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ โดยทำการทดลองในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 2 จนถึง 10 มิลลิโมลาร์ ผลการทดลองดังแสดงในภาพประกอบ 12

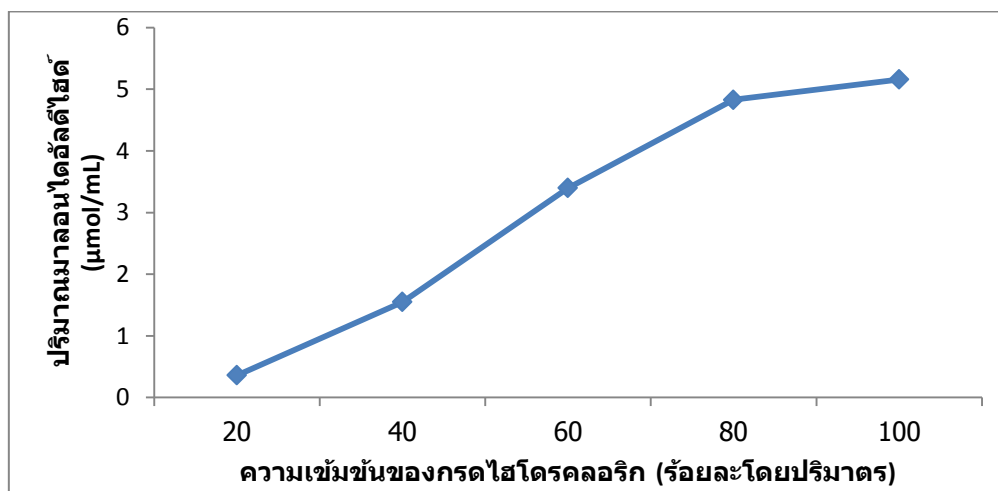


ภาพประกอบ 12 ผลของความเข้มข้น *N*-methyl-2-phenylindole ในการเตรียมสารอนุพันธ์

โดยผลจากการทดลองศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของความเข้มข้น *N*-methyl-2-phenylindole ต่อปริมาณของสารมาลอนไดอัลดีไฮด์พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ *N*-methyl-2-phenylindole จะทำให้ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วยจนถึงที่ความเข้มข้น 6 มิลลิโมลาร์ขึ้นไปปริมาณของสารมาลอนไดอัลดีไฮด์มีแนวโน้มคงที่จนถึงความเข้มข้นของ *N*-methyl-2-phenylindole ที่ 10 มิลลิโมลาร์ ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของ *N*-methyl-2-phenylindole ที่เหมาะสมในการเตรียมสารอนุพันธ์คือ ที่ความเข้มข้น 6 มิลลิโมลาร์

2.2.2 การศึกษาความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกในขั้นตอนการเตรียมสารอนุพันธ์ โดยทำการทดลองในช่วงความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 20 ถึง 100 (โดยปริมาตร) และทำการเจือจางสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นด้วยน้ำกลั่น โดยผลจากการทดลองศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกต่อปริมาณของสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ดังแสดงในภาพประกอบ 13

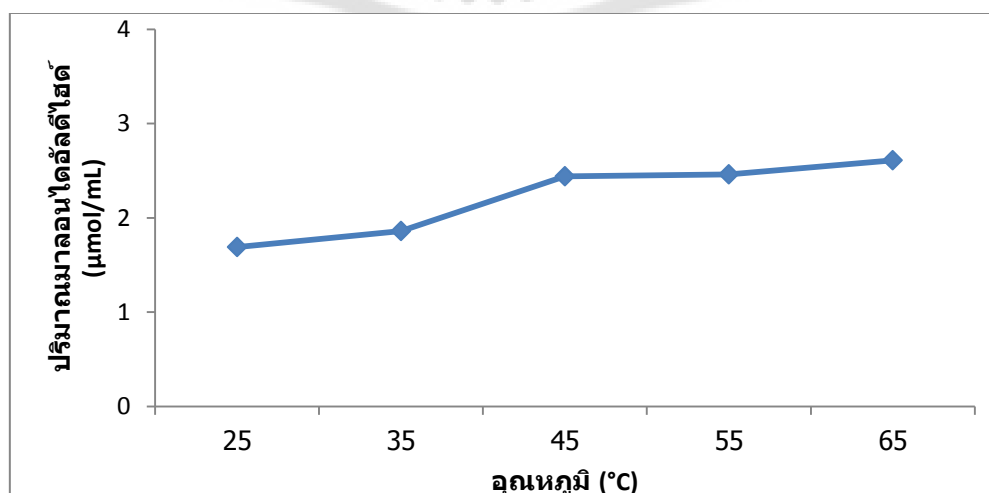


ภาพประกอบ 13 ผลของความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกในการเตรียมสารอนุพันธ์

จากภาพประกอบ 13 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกเพิ่มขึ้นจะทำให้ปริมาณมาลอนไดอิลดีไฮด์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย โดยพบว่าที่ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ร้อยละ 100 โดยปริมาตร หรือที่กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นจะมีปริมาณของสารมาลอนไดอิลดีไฮด์สูงสุด ดังนั้นความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่เหมาะสมในการเตรียมสารอนุพันธ์คือที่ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 100

2.2.3 การศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการเตรียมสารอนุพันธ์

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของอุณหภูมิที่ใช้ในการเตรียมสารอนุพันธ์ในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 25 จนถึง 65 องศาเซลเซียส โดยผลจากการทดลองดังแสดงในภาพประกอบ 14

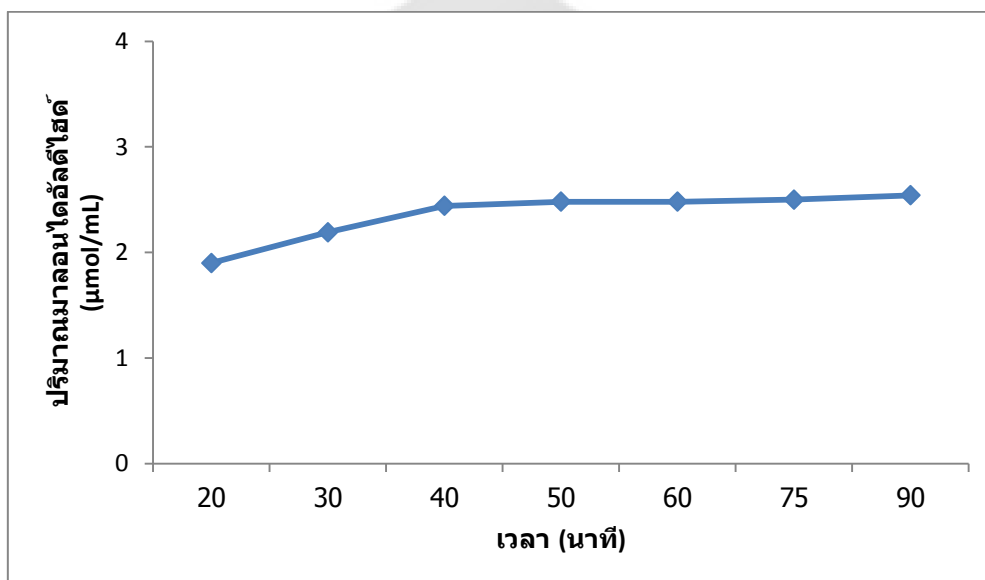


ภาพประกอบ 14 ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการเตรียมสารอนุพันธ์

จากภาพประกอบ 14 พบว่าปริมาณของสารมาลอนไดอัลดีไฮด์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจนถึงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสขึ้นไป ปริมาณของสารมาลอนไดอัลดีไฮด์มีแนวโน้มเริ่มคงที่จนถึงที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเตรียมสารอนุพันธ์คือ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

2.2.4 การศึกษาระยะเวลาในการให้ความร้อน

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของระยะเวลาในการให้ความร้อน ซึ่งทำการทดลองที่ระยะเวลาในการให้ความร้อนตั้งแต่ 20 จนถึง 90 นาที โดยผลจากการทดลองดังแสดงในภาพประกอบ 15



ภาพประกอบ 15 ผลของระยะเวลาในการให้ความร้อนในการเตรียมสารอนุพันธ์

จากภาพประกอบ 15 พบว่าปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาในการให้ความร้อนที่เพิ่มขึ้น จนถึงที่เวลา 40 นาทีขึ้นไป แนวโน้มของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์เริ่มคงที่จนถึงที่ระยะเวลา 90 นาที ดังนั้นระยะเวลาที่เหมาะสมในการให้ความร้อนในขั้นตอนการเตรียมสารอนุพันธ์คือ 40 นาที

และจากการทดลองที่กล่าวข้างต้น พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในขั้นตอนการเตรียมสารอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์และ *N*-methyl-2-phenylindole สามารถสรุปได้ดังนี้

1. ความเข้มข้นของ *N*-methyl-2-phenylindole ที่เหมาะสมคือ 6 มิลลิโมลาร์
2. ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่เหมาะสมคือร้อยละ 100 โดยปริมาตร
3. อุณหภูมิที่ใช้ในการเตรียมสารอนุพันธ์ที่เหมาะสมคือ 45 องศาเซลเซียส

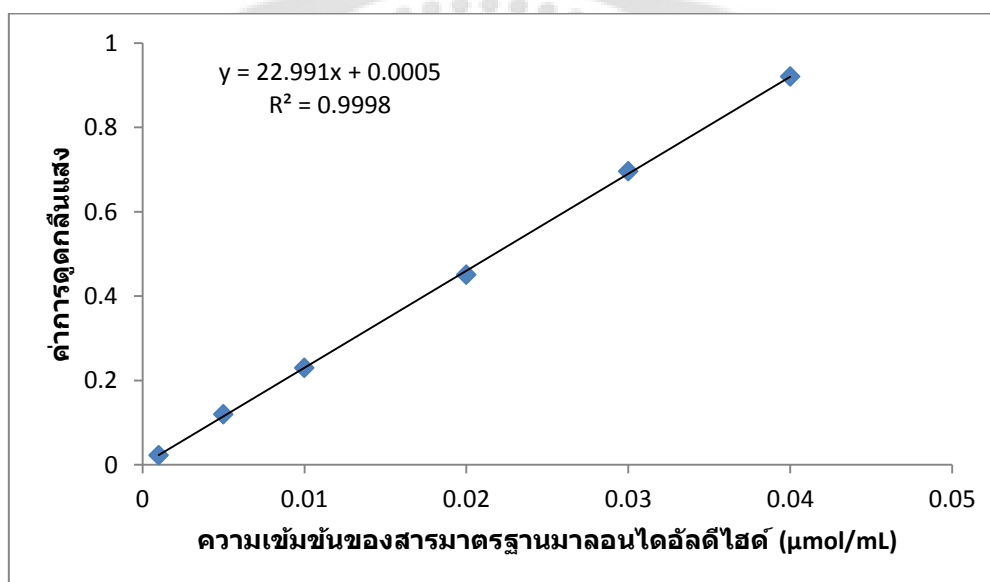
4. ระยะเวลาในการให้ความร้อนที่เหมาะสมคือ 40 นาที

2.3 การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์

2.3.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน

เมื่อทราบสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในขั้นตอนของการเตรียมสารอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์และ *N*-methyl-2-phenylindole จากนั้นทำการสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 6 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.001, 0.005, 0.010, 0.020, 0.030 และ 0.040 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร

โดยกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ ดังแสดงในภาพประกอบ 16



ภาพประกอบ 16 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์

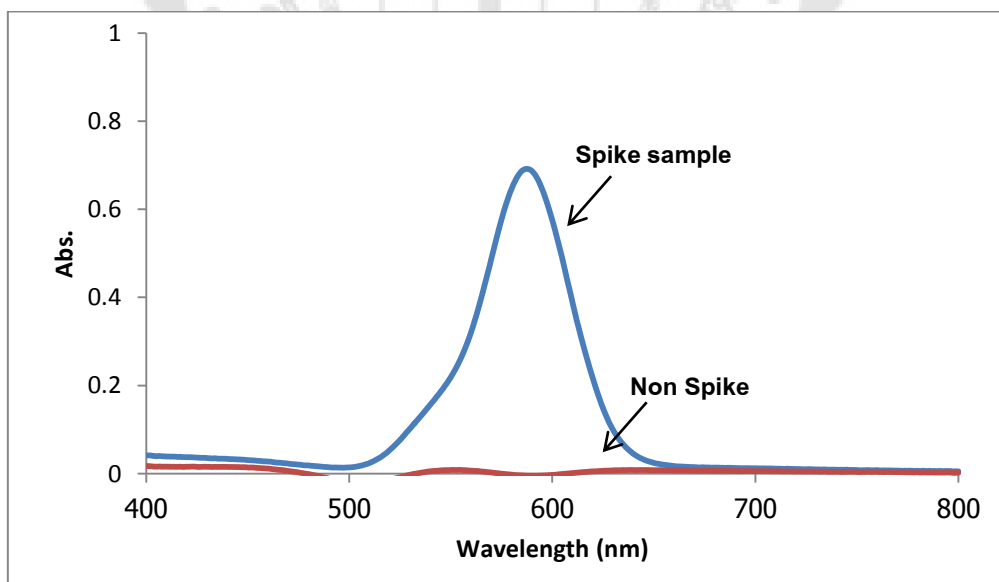
จากภาพประกอบ 16 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุด 586 นาโนเมตร พบว่าช่วงความเข้มข้นของสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์คือ 0.001 จนถึง 0.040 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร โดยจะให้ค่าสมการเส้นตรงเท่ากับ $Y = 22.991X + 0.0005$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9998

2.3.2 ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (limit of quantitation, LOQ)

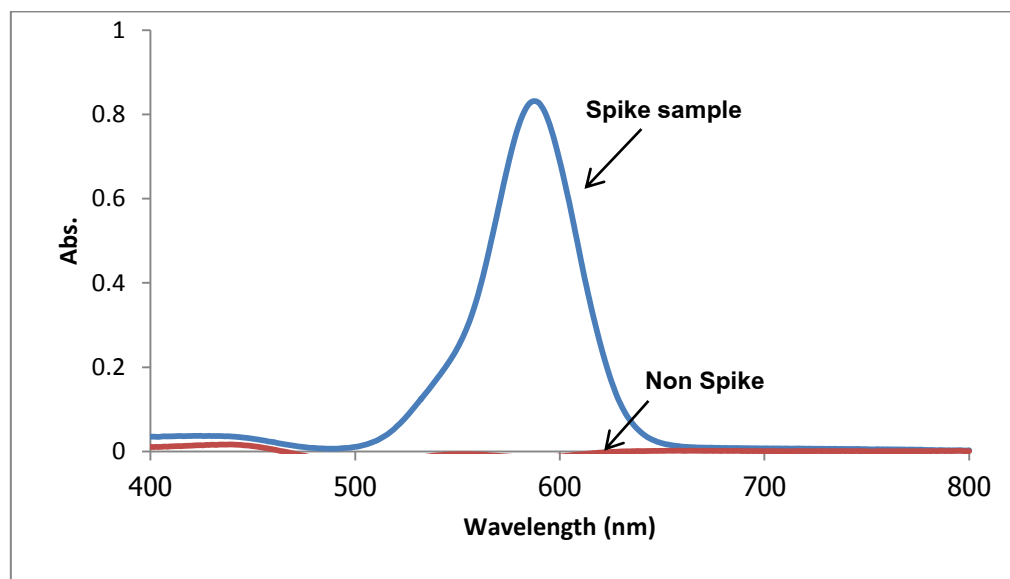
ในการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOQ) เมื่อทำการทดลองโดยใช้สารมาตรฐานของมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยทำการทดลองจำนวน 10 ครั้ง จากการทดลองพบว่าค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.000137 และ 0.000479 ไมโครโมลต่อมิลลิตร ตามลำดับ

2.3.3 ศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (accuracy)

ในการศึกษาความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์โดยทำการศึกษาร้อยละการกลับคืน (%recovery) โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำมันที่มีการเติมสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์เปรียบเทียบกับตัวอย่างน้ำมันที่ไม่ได้เติมสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ หรือที่เรียกว่าการ spike โดยจากผลการทดลองพบว่า การวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole ให้ค่าร้อยละการกลับคืนเฉลี่ยในช่วง 88.01 – 99.78% และ 88.45 – 105.70% สำหรับน้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลือง ตามลำดับ โดยแสดงสเปกตรัมที่มีการเติมสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์และไม่ได้เติมสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ของตัวอย่างน้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลือง ดังแสดงในภาพประกอบ 17 และ 18 ตามลำดับ



ภาพประกอบ 17 สเปกตรัมที่มีการเติมสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์และไม่ได้เติมสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ของตัวอย่างน้ำมันปาล์ม



ภาพประกอบ 18 สเปกตรัมที่มีการเติมสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์และไม่ได้เติมสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ของตัวอย่างน้ำมันถั่วเหลือง

2.3.4 ศึกษาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (precision)

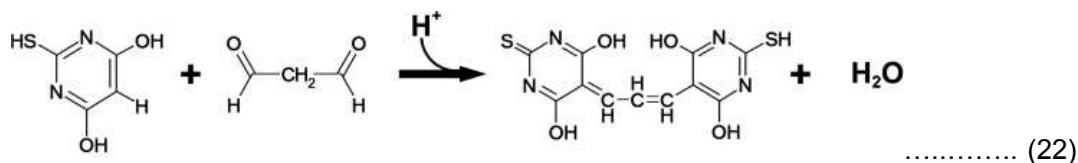
สำหรับการทดสอบความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ โดยทำการทดสอบความแม่นยำภายในวันเดียวกัน (intra-day precision) และการทดสอบความแม่นยำระหว่างวัน (inter-day precision) โดยจากการทดลองพบว่ามีค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ในช่วง 0.60 – 1.33% และ 0.95 – 3.27% สำหรับการทดสอบความแม่นยำภายในวันเดียวกัน และความแม่นยำระหว่างวัน ตามลำดับ

2.4 เปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยวิธีการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole และวิธี Thiobarbituric acid reactive substance assay

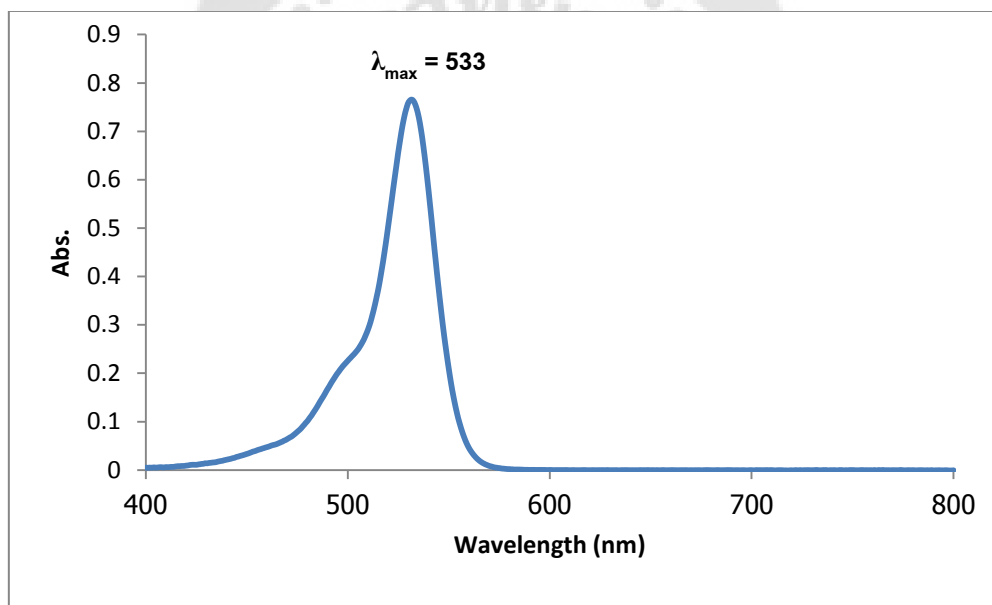
ในการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยวิธีการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole ตามวิธีที่เหมาะสมในข้อ 2.2 กับวิธี Thiobarbituric acid reactive substance assay ตามวิธีของ American Oil Chemists' Society, AOCS (1998)

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์ระหว่างสารมาลอนไดอัลดีไฮด์กับกรดไทโอบาร์บิทูริก เมื่อทำปฏิกิริยาแล้วจะให้อนุพันธ์ที่มีสีส้มแดง มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 533 นาโนเมตร ($\lambda_{\text{max}} = 533$) (Bastos, A.S.; et al. 2012: 141-146) ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี และแสดงภาพประกอบสีของสารละลายอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์กับกรดไทโอบาร์บิทูริก ดังแสดงใน

ภาคผนวก ก โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างสารมาลอนไดอัลดีไฮด์กับกรดไทโอบาร์บิทริก ดังแสดงในสมการที่ 22



โดยเมื่อนำสารละลายมาลอนไดอัลดีไฮด์ทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาร์บิทริก ซึ่งจะให้สารละลายอนุพันธ์ที่มีสีส้มแดง และนำไปบันทึกสเปกตรัมระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 ถึง 800 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ พบว่าอนุพันธ์ที่ได้มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 533 นาโนเมตร ดังแสดงในภาพประกอบ 19



ภาพประกอบ 19 สเปกตรัมสารอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์กับกรดไทโอบาร์บิทริก

และจากการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยวิธีการเตรียมสารอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole ตามวิธีที่เหมาะสมในข้อ 2.2 กับวิธี Thiobarbituric acid reactive substance assay ตามวิธีของ American Oil Chemists' Society, AOCS (1998) พบว่าให้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 5

ตาราง 5 เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์

พารามิเตอร์	วิธี <i>N-methyl-2-phenylindole</i>	วิธี TBARs
ช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity)	0.001 - 0.040 $\mu\text{mol/mL}$	0.001 - 0.030 $\mu\text{mol/mL}$
ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2)	0.9998	0.9954
ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD)	0.000137 $\mu\text{mol/mL}$	0.00152 $\mu\text{mol/mL}$
ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOQ)	0.000479 $\mu\text{mol/mL}$	0.00180 $\mu\text{mol/mL}$
ค่าความถูกต้อง (accuracy) %recovery	88.01 - 105.70 %	90.75 - 98.63 %
ค่าความแม่นยำ (precision) %RSD intra-day	0.60 - 1.33 %	0.83 - 1.05 %
%RSD inter-day	0.95 - 3.27 %	1.25 - 3.97 %

จากตาราง 5 ในการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยวิธีการเตรียมสารอนุพันธ์กับ *N-methyl-2-phenylindole* ตามวิธีที่เหมาะสมในข้อ 2.2 กับวิธี Thiobarbituric acid reactive substance assay ตามวิธีของ American Oil Chemists' Society, AOCS (1998) พบว่าทั้งสองวิธีมีช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOQ) ค่าความถูกต้อง (accuracy) และค่าความแม่นยำ (precision) ให้ค่าใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ทั้งสองวิธีให้ค่าไม่แตกต่างกัน

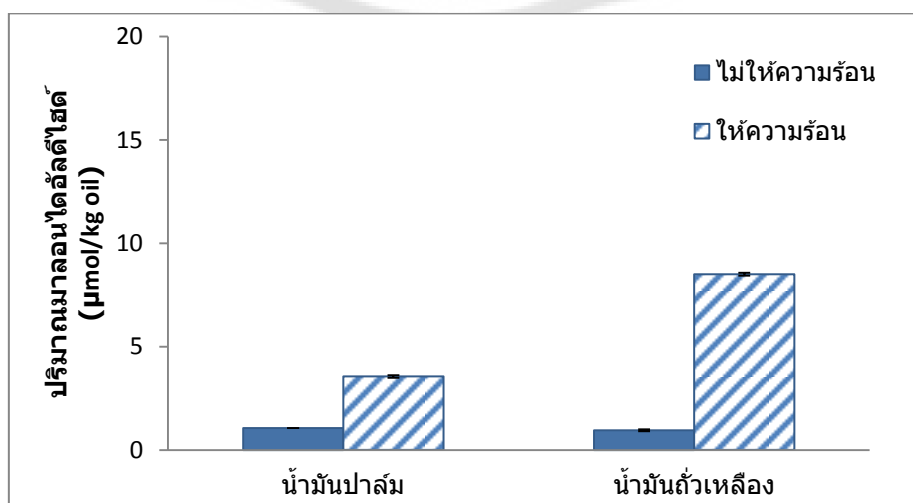
แต่จากการทดลองพบว่าวิธี Thiobarbituric acid reactive substance assay หรือวิธี TBARs ตามวิธีของ American Oil Chemists' Society, AOCS (1998) เมื่อทำการทดลองกับตัวอย่างน้ำมัน พบว่าจะเกิดการรบกวนจากผลิตภัณฑ์อื่นในตัวอย่างน้ำมัน และให้สารอนุพันธ์ที่มีสีเหลือง โดยกรดไทโอบาร์บิทริกจะสามารถทำปฏิกิริยากับไฮโดรเปอร์ออกไซด์ และสารประกอบแอลดีไฮด์อื่น เช่น alkanals alkenals และ 2, 4-dienals เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสีเหลืองทำให้เกิดการรบกวน (Pilz, J. 2000: 316, Li, P. 2013: 224 และ Rimawi, F.A. 2015: 933)

ตอนที่ 3 ผลการศึกษาการชะลอปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิดในตัวอย่างน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน

น้ำมันพืชเป็นแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็นซึ่งร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ แต่มีความสำคัญต่อร่างกายในการสร้างความสมดุล การเจริญเติบโต และซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของเซลล์ต่างๆ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องได้รับจากอาหารที่เป็นแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็น (Rohman, A.; et al. 2011: 303) นอกจากนี้ไขมันยังมีความสำคัญในการประกอบอาหารเพื่อให้อาหารนั้นสุกหรือเพิ่มลักษณะชวนรับประทานของอาหารบางประเภท โดยในการประกอบอาหารซึ่งไม่ว่าจะเป็นการผัดหรือการทอด ล้วนแล้วแต่อาศัยการใช้ความร้อนทั้งสิ้น จึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญและส่งผลต่อกรดไขมันประเภทไม่อิ่มตัวซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่าย (Rohman, A.; et al. 2011: 303 และ Cheung, S.C. 2007: 39)

โดยการศึกษาในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการชะลอปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิดได้แก่ กระเทียม และข่า ทั้งแบบสดและแบบแห้ง ในการชะลอปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันในตัวอย่างน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน ซึ่งได้แก่ น้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลือง จัดซื้อตัวอย่างพืชสวนครัวจากตลาดสดสะพานใหม่ในเขตกรุงเทพมหานคร และตัวอย่างน้ำมันพืชได้จัดซื้อจากซูเปอร์มาร์เก็ตในเขตกรุงเทพมหานคร โดยทำการศึกษา ได้แก่ ปริมาณของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันในตัวอย่างน้ำมันพืช และระยะเวลาในการชะลอปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชัน

ทั้งนี้ในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างน้ำมันพืช ได้ทำการเตรียมตัวอย่างน้ำมันตามวิธีของ Halvorsen, B.L. และ Blomhoff, R. (2011) จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ตามวิธีที่เหมาะสมในข้อ 2.2 พบว่าให้ผลการทดลองดังแสดงในภาพประกอบ 20



ภาพประกอบ 20 ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ในน้ำมันปาล์มและน้ำมันถั่วเหลือง

จากภาพประกอบ 20 จะเห็นว่าปริมาณของสารมาลอนไดอัลดีไฮด์เพิ่มขึ้นเมื่อผ่านการเตรียมตัวอย่างน้ำมันพืชตามวิธีของ Halvorsen, B.L. และ Blomhoff, R. (2011) ทั้งน้ำมันปาล์มและน้ำมันถั่วเหลือง โดยพบว่าน้ำมันถั่วเหลืองจะมีปริมาณของสารมาลอนไดอัลดีไฮด์สูงกว่าน้ำมันปาล์ม ทั้งนี้เนื่องจากน้ำมันถั่วเหลืองมีส่วนประกอบของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวในสัดส่วนที่มากกว่าน้ำมันปาล์ม ดังแสดงในตาราง 6 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Falade, A.O. และ Oboh, G. (2015) ซึ่งรายงานว่าอนุมูลอิสระมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยพบว่าปริมาณของสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ในน้ำมันที่มีการให้ความร้อนจะสูงกว่าน้ำมันที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน และสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ยังเป็นสาเหตุการเกิดภาวะความเครียดของเซลล์ และเป็นสาเหตุก่อโรค เช่น มะเร็ง เบาหวาน และไตวาย (Falade, A.O. และ Oboh, G. 2015:1-7)

ตาราง 6 ปริมาณของกรดไขมันของน้ำมันปาล์มและน้ำมันถั่วเหลือง

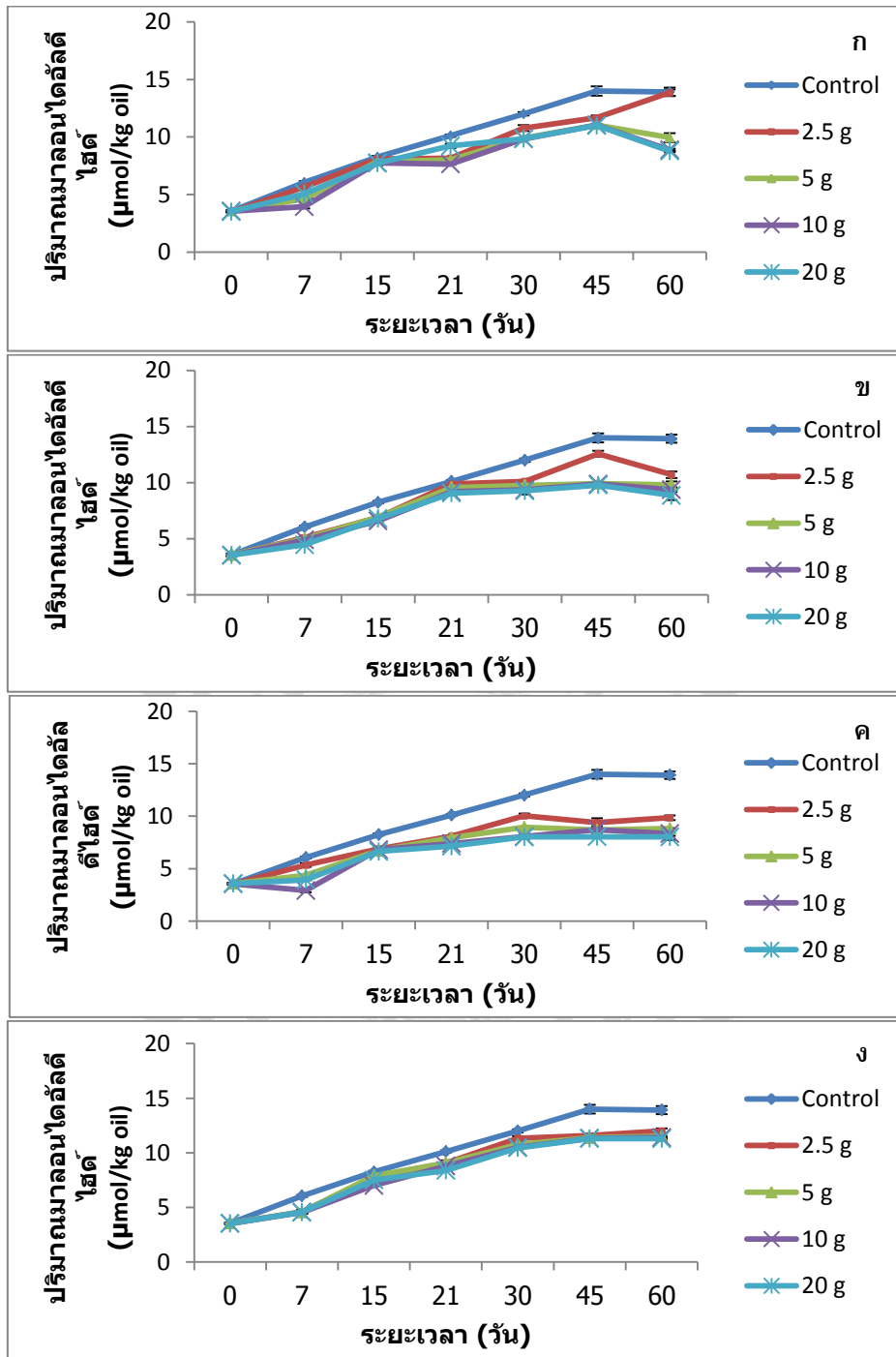
ชนิดน้ำมัน	กรดไขมันอิ่มตัว	กรดไขมันไม่อิ่มตัว
	(%)	(%)
น้ำมันถั่วเหลือง	16	84
น้ำมันปาล์ม	50	50

ที่มา: ดัดแปลงจาก นัยนา บุญทวีวัฒน์. 2545

3.1 การศึกษาปริมาณของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชัน

จากการศึกษาปริมาณของพืชสวนครัวบางชนิดได้แก่ กระเทียม และข่า ทั้งแบบสดและแบบแห้ง โดยการศึกษาปริมาณ ได้แก่ 2.5 5 10 และ 20 กรัมต่อน้ำมันพืช 50 กรัม ในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน ซึ่งได้แก่ น้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลือง โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole ตามวิธีที่เหมาะสมในข้อ 2.2 ตั้งแต่เริ่มต้นและติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ระยะเวลาต่างๆ ได้แก่ 7 15 21 30 45 และ 60 วัน ตามลำดับ

โดยแสดงผลการศึกษาปริมาณของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน ได้แก่ น้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลือง ดังแสดงในภาพประกอบ 21 และ 22 ตามลำดับ



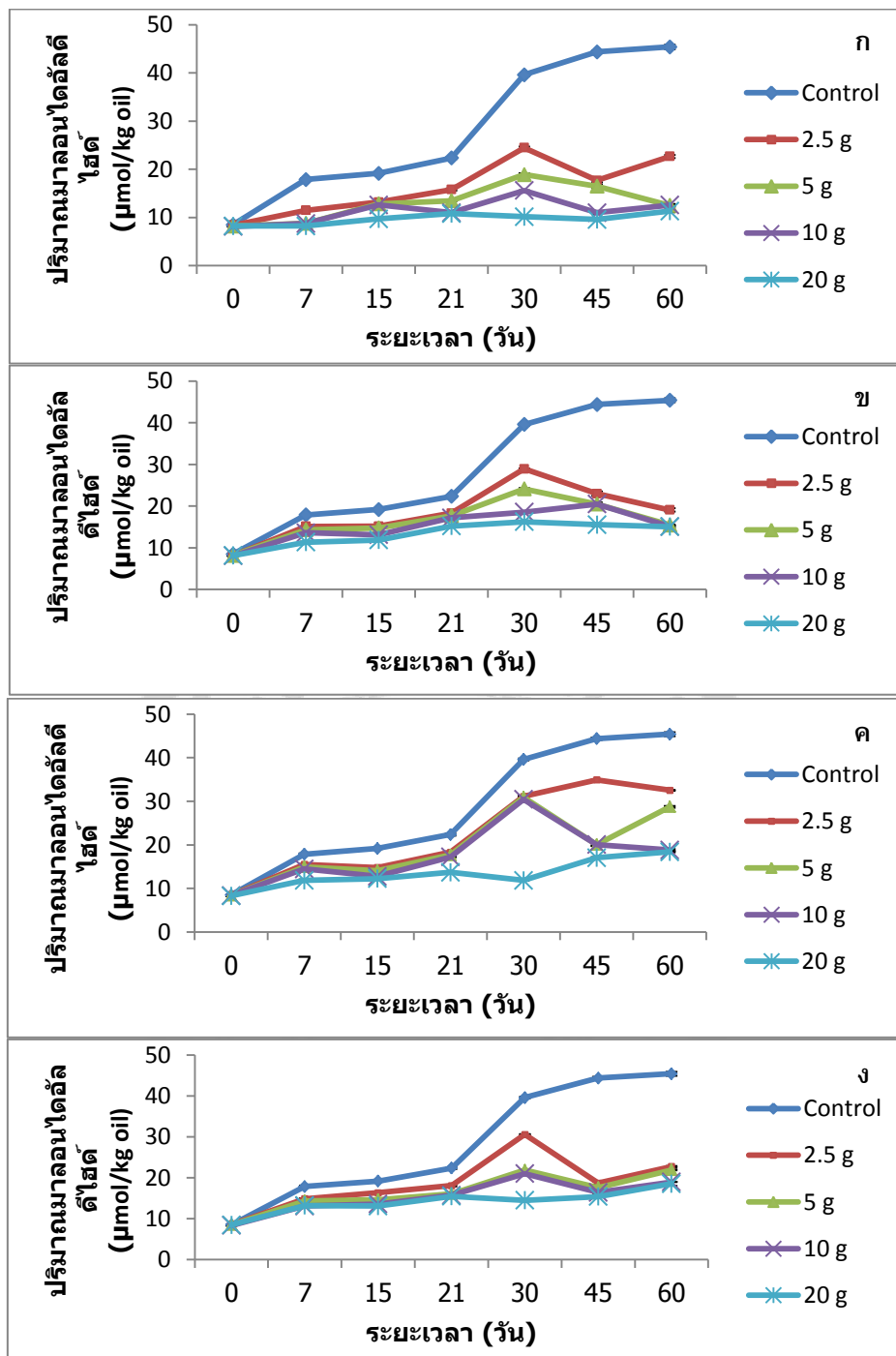
ภาพประกอบ 21 ผลการศึกษาปริมาณของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชัน
ในน้ำมันปาล์ม

ก แทน การชะลอปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันด้วยกระเทียมสด

ข แทน การชะลอปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันด้วยกระเทียมแห้ง

ค แทน การชะลอปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันด้วยข่าสด

ง แทน การชะลอปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันด้วยข่าแห้ง



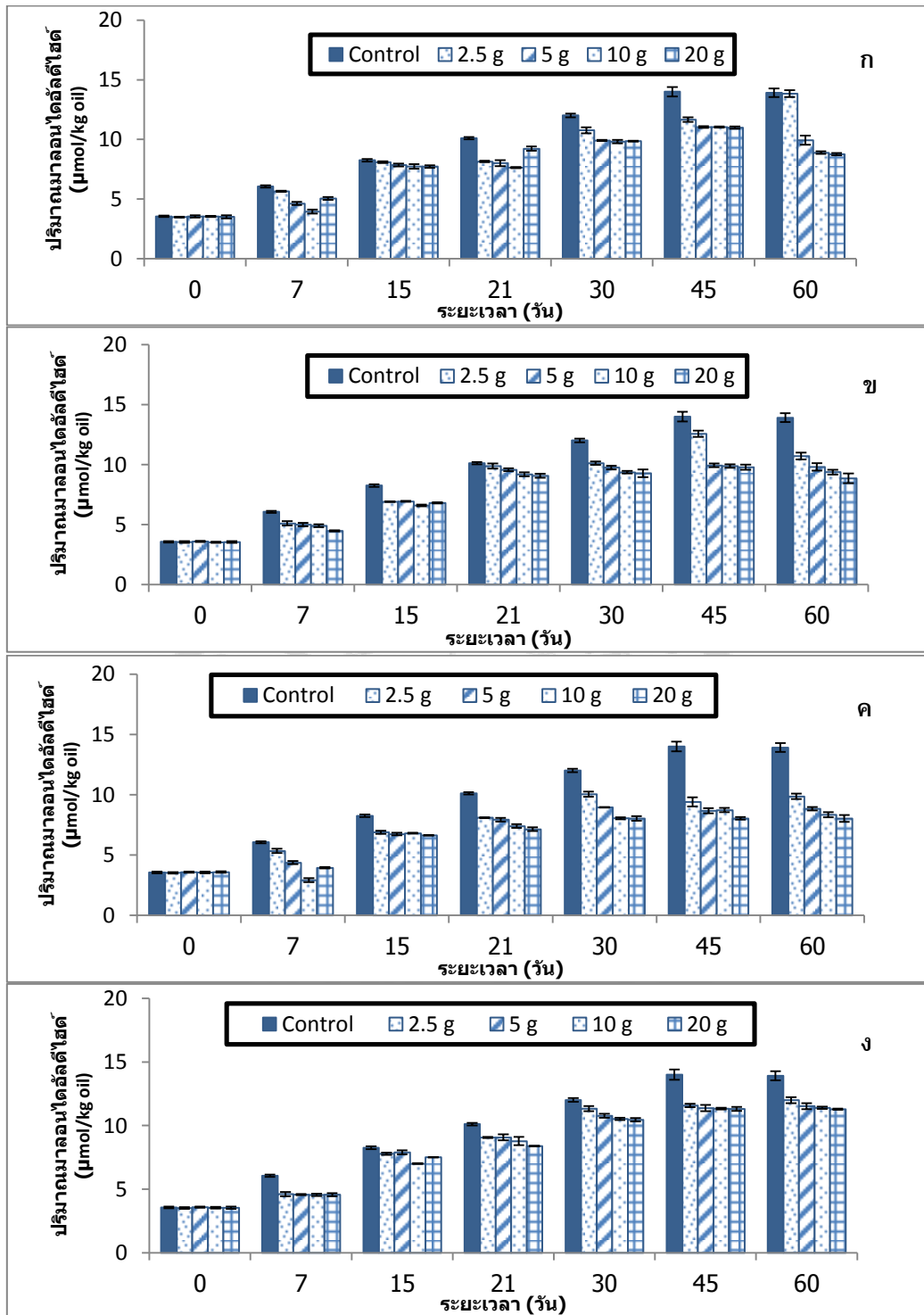
ภาพประกอบ 22 ผลการศึกษาปริมาณของฟีนอลในกระบวนการชะลอปฏิกิริยาการปิดออกซิเดชันในน้ำมันถั่วเหลือง

- ก แทน การชะลอปฏิกิริยาการปิดออกซิเดชันด้วยกระเทียมสด
- ข แทน การชะลอปฏิกิริยาการปิดออกซิเดชันด้วยกระเทียมแห้ง
- ค แทน การชะลอปฏิกิริยาการปิดออกซิเดชันด้วยชาสด
- ง แทน การชะลอปฏิกิริยาการปิดออกซิเดชันด้วยชาแห้ง

จากภาพประกอบ 21 และ 22 การศึกษาปริมาณของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลือง ตามลำดับ จะเห็นว่าปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มีแนวโน้มที่ลดลงตามปริมาณที่เพิ่มขึ้นของพืชสวนครัวบางชนิดที่ทำการทดลองทั้งแบบสดและแบบแห้ง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาณของพืชสวนครัวมีผลต่อการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันพืช ซึ่งพืชสวนครัวที่นำมาทำการทดลอง ได้แก่ กระเทียม และข่า นั้นประกอบไปด้วยกลุ่มสารสำคัญ เช่น สารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเป็นสารที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมาใช้ในการช่วยชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันพืช และสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Cheung S.C. และคณะ ในปี ค.ศ. 2007 (Cheung, S.C. 2007: 39-42) ที่ได้ทำการศึกษาผลการใช้ du-zhong (Cortex *Eucommia ulmoides*) และ ginseng (*Panax ginseng* C.A. Mayer) ซึ่งเป็นสมุนไพรของประเทศจีนในการศึกษาการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันข้าวโพด โดยจากผลการทดลองพบว่า du-zhong และ ginseng เพิ่มปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันทำให้สามารถต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และสามารถยืดระยะเวลาในการใช้งานของน้ำมันได้

3.2 การศึกษาระยะเวลาในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชัน

เนื่องจากระยะเวลาเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญและส่งผลต่อกรดไขมันประเภทไม่อิ่มตัว ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Rohman, A.; et al. 2011: 303 และ Cheung, S.C. 2007: 39) โดยเมื่อเก็บไว้ระยะเวลาหนึ่งจะก่อให้เกิดกลิ่นหืน (rancidity) เนื่องจากการสลายตัวของกรดไขมันประเภทไม่อิ่มตัวเป็นโมเลกุลเล็กๆ ที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นหืน และนอกจากนี้ยังพบว่าเกิดสารพิษหรือสารอันตรายร่วมด้วย เช่น สารก่อมะเร็ง (carcinogen) หรือสารก่อการกลายพันธุ์ (mutagen) (ศิวาพร ศิวเวชช. 2546: 86) โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาระยะเวลาในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิด ซึ่งได้แก่ กระเทียม และข่า ทั้งแบบสดและแบบแห้ง ในน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน ซึ่งได้แก่ น้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลือง โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์กับ *N-methyl-2-phenylindole* ตามวิธีที่เหมาะสมในข้อ 2.2 ตั้งแต่เริ่มต้นและติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ระยะเวลาต่างๆ ได้แก่ 7 15 21 30 45 และ 60 วัน ตามลำดับ โดยแสดงผลการศึกษาระยะเวลาในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน ได้แก่ น้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลือง ดังแสดงในภาพประกอบ 23 และ 24 ตามลำดับ



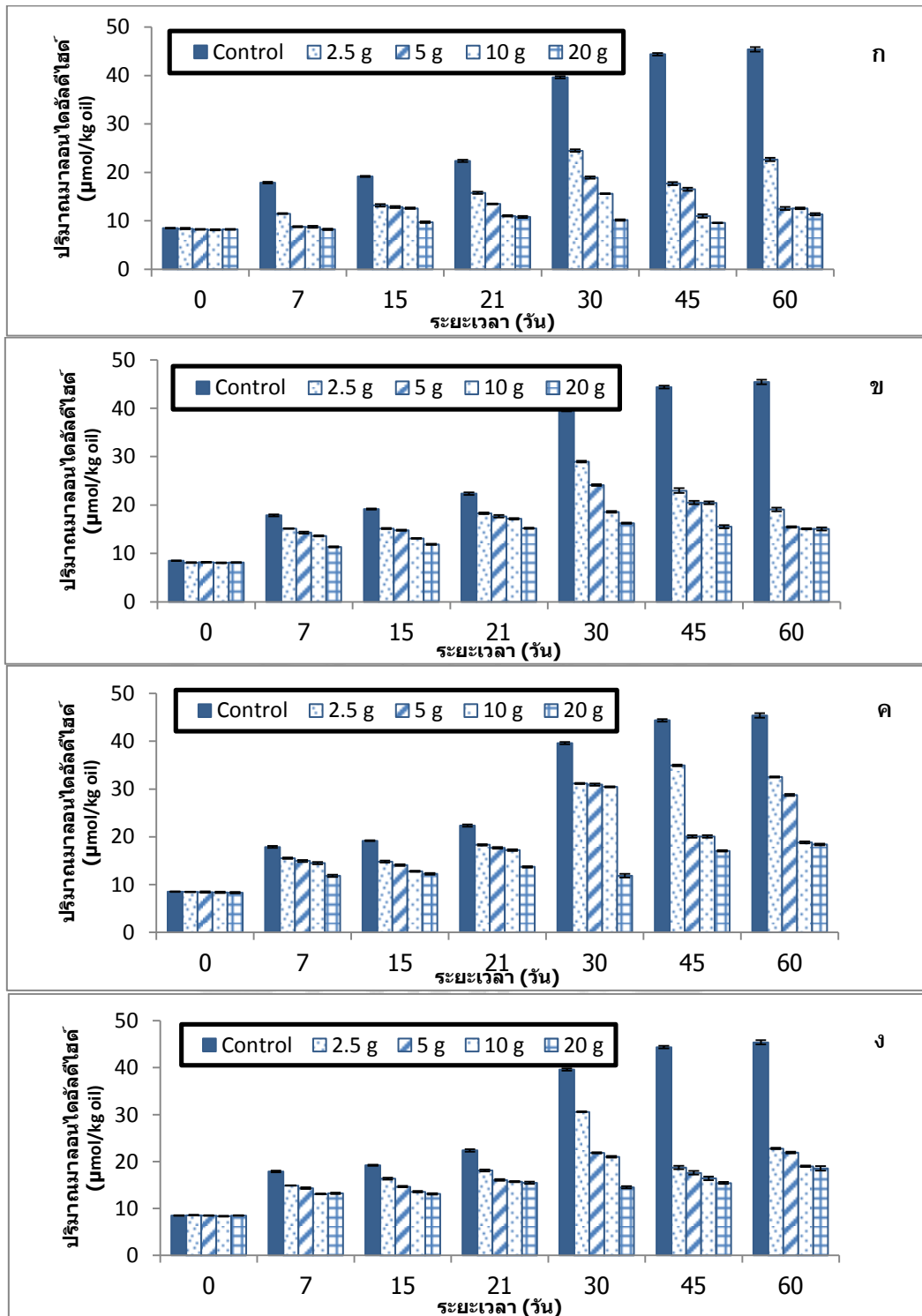
ภาพประกอบ 23 ผลการศึกษาระยะเวลาในการชะลอปฏิกิริยาไลปิโดออกซิเดชันในน้ำมันปาล์ม

ก แทน การชะลอปฏิกิริยาไลปิโดออกซิเดชันด้วยกระเทียมสด

ข แทน การชะลอปฏิกิริยาไลปิโดออกซิเดชันด้วยกระเทียมแห้ง

ค แทน การชะลอปฏิกิริยาไลปิโดออกซิเดชันด้วยข่าสด

ง แทน การชะลอปฏิกิริยาไลปิโดออกซิเดชันด้วยข่าแห้ง



ภาพประกอบ 24 ผลการศึกษาระยะเวลาในการชะลอปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันในน้ำมันถั่วเหลือง

ก แทน การชะลอปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันด้วยกระเทียมสด

ข แทน การชะลอปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันด้วยกระเทียมแห้ง

ค แทน การชะลอปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันด้วยชาสด

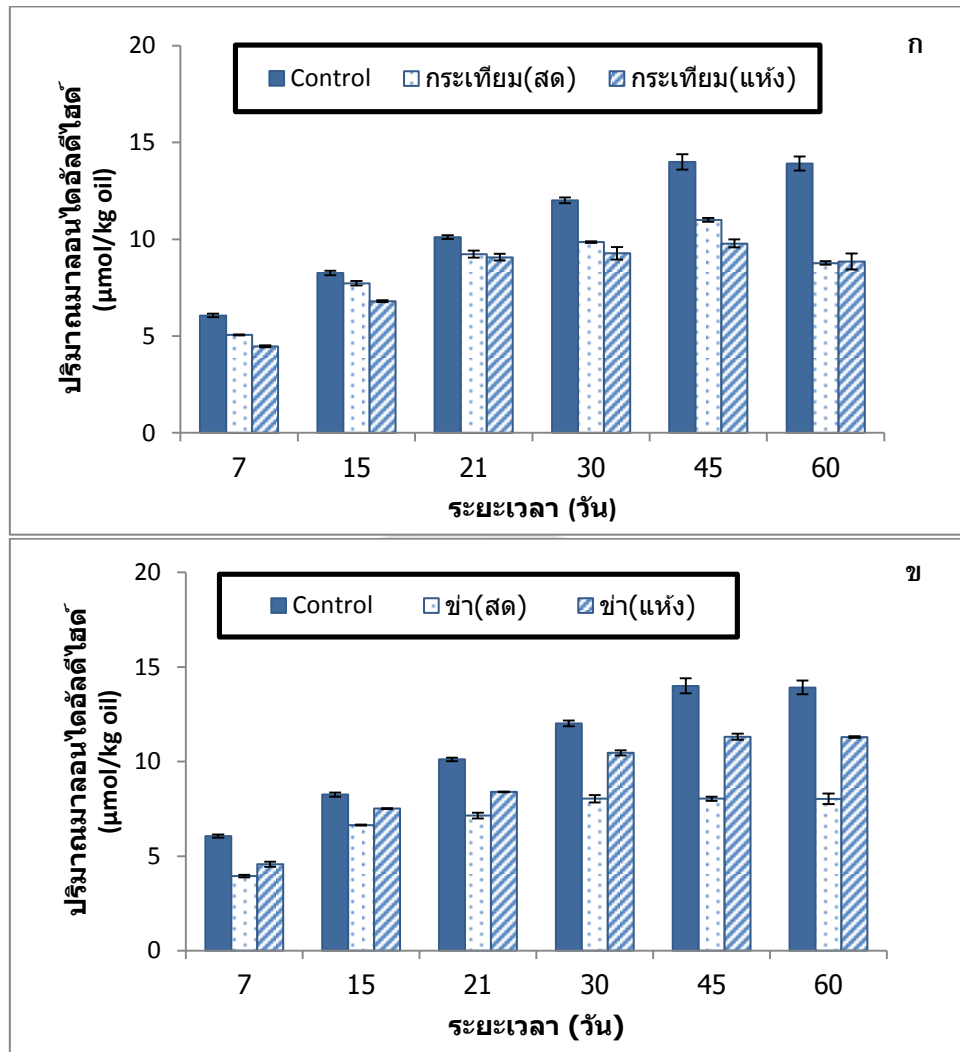
ง แทน การชะลอปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันด้วยซาแห้ง

จากภาพประกอบ 23 และ 24 ในการศึกษาการชะลอปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันในน้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลือง ตามลำดับ จะเห็นว่าน้ำมันพืชที่ไม่ได้มีการใส่พืชสวนครัวลงไป ซึ่งใช้เป็นน้ำมันพืชควบคุมในการทดลองพบว่ามีความโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันของน้ำมันพืช โดยมีปริมาณการเพิ่มขึ้นของสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ในน้ำมันถั่วเหลืองสูงกว่าในน้ำมันปาล์ม ทั้งนี้เนื่องจากน้ำมันถั่วเหลืองมีปริมาณของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่สูงกว่า จึงมีโอกาสในการเกิดปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันได้ง่ายกว่าน้ำมันปาล์ม

และนอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันพืชที่มีใส่กระเทียม และซา ทั้งแบบสดและแบบแห้งมีความโน้มของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันควบคุมในทุกระยะเวลาที่ทำการทดสอบทั้งในน้ำมันปาล์มและน้ำมันถั่วเหลือง โดยแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันของพืชสวนครัวที่ทำการศึกษา

3.3 การศึกษาประสิทธิภาพของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชัน

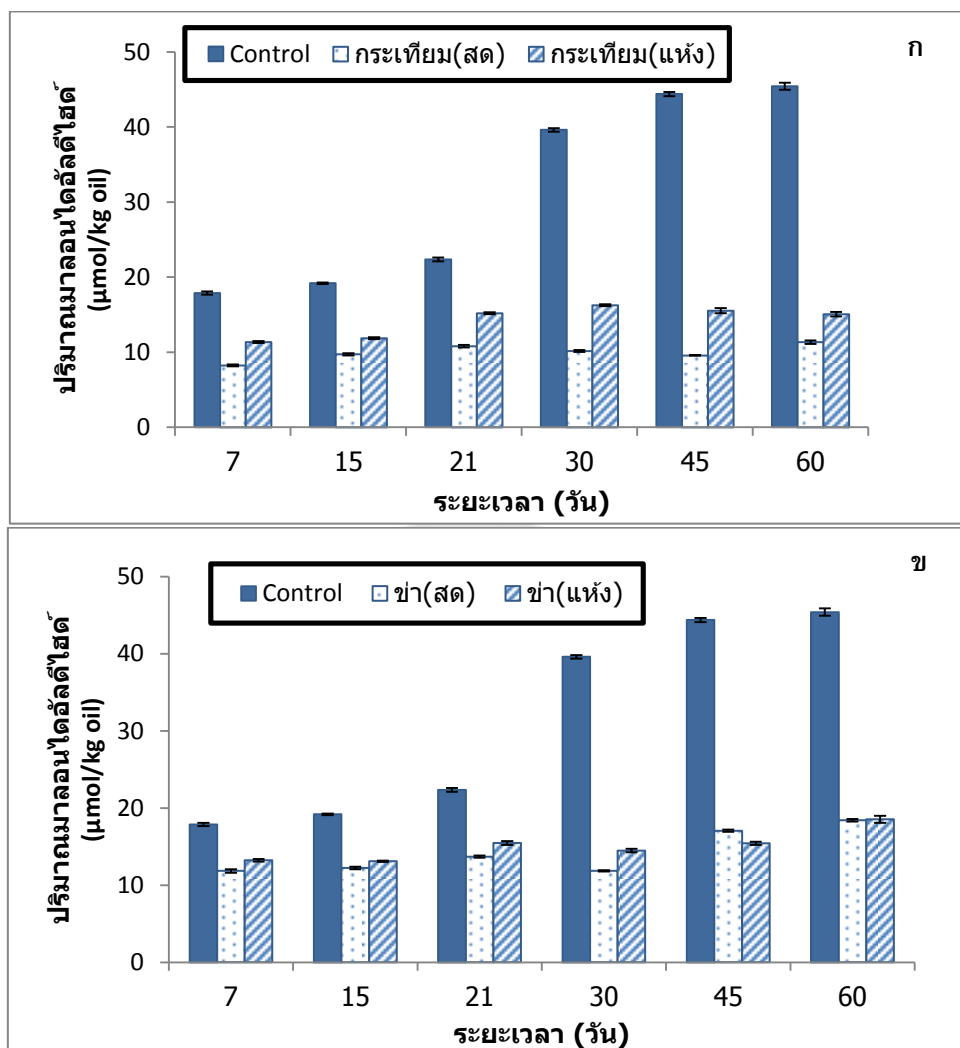
จากการศึกษาประสิทธิภาพของพืชสวนครัว ซึ่งได้แก่ กระเทียม และซา ทั้งแบบสดและแบบแห้ง ปริมาณ 20 กรัมต่อน้ำมันพืช 50 กรัม ในการชะลอปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันในน้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลืองที่ระยะเวลาต่างๆ ได้แก่ 7 15 21 30 45 และ 60 วัน ตามลำดับ แสดงผลการศึกษาประสิทธิภาพของพืชสวนครัวแบบสดและแบบแห้งในการชะลอปฏิกิริยาลิปดออกซิเดชันในน้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลือง ดังแสดงในภาพประกอบที่ 25 และ 26 ตามลำดับ



ภาพประกอบ 25 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชัน
ในน้ำมันปาล์ม

ก แทน การชะลอปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชันด้วยกระเทียม

ข แทน การชะลอปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชันด้วยข่า



ภาพประกอบ 26 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชันในน้ำมันถั่วเหลือง

ก แทน การชะลอปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชันด้วยกระเทียม

ข แทน การชะลอปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชันด้วยข่า

จากภาพประกอบ 25 และ 26 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชันในน้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลืองด้วยกระเทียมและข่า พบว่าการใส่กระเทียม และข่า แบบสดทั้งในน้ำมันปาล์มและน้ำมันถั่วเหลือง จะทำให้ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ มีแนวโน้มที่ลดลงต่ำกว่าเมื่อใส่กระเทียมและข่า แบบแห้ง ซึ่งกระเทียมและข่าประกอบไปด้วยกลุ่มสารสำคัญหลายชนิดที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นอกเหนือจากสารประกอบฟีนอลิก เช่น น้ำมันหอมระเหย ดังนั้นเมื่อทำให้แห้งสารสำคัญบางชนิดอาจมีการสลายตัวไป และจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากระเทียมและข่า แบบสดมีประสิทธิภาพในการชะลอปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชันมากกว่าแบบแห้ง

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

การศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในน้ำมันพืชด้วยการเตรียมสารอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole เพื่อศึกษาการชะลอการเกิดปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิด ซึ่งมีสารสำคัญและมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมาใช้ในการช่วยชะลอปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชันในน้ำมันพืช โดยสารมาลอนไดอัลดีไฮด์เป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคมะเร็ง และเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัว ซึ่งพบว่าเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมัน โดยทำการศึกษาลักษณะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมสารอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole และนำไปใช้ในการศึกษาการชะลอปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิดในน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน

สรุปผล อภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาวิจัย สรุปผลได้ดังนี้

1. จากการศึกษาระดับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชสวนครัวบางชนิด ซึ่งได้แก่ กระเทียม และข่า ทั้งแบบสดและแบบแห้ง ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay และวิธี DPPH radical scavenging assay ตามลำดับ พบว่าพืชสวนครัวที่ทำการศึกษาที่มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมในปริมาณที่สูงอยู่ในช่วง 62.47 ± 2.014 จนถึง 465.03 ± 6.992 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมตัวอย่าง และพบว่าพืชสวนครัวที่ทำการศึกษาแบบแห้งจะมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าแบบสด โดยให้ผลเช่นเดียวกันทั้งในกระเทียมและข่า ตามลำดับ นอกจากนี้พืชสวนครัวที่ทำการศึกษายังมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยพบว่ามีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง 15.74 จนถึง 94.42% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 0.23 จนถึง 3.78 mg/mL

2. งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในน้ำมันพืชด้วยการเตรียมอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์กับ *N*-methyl-2-phenylindole โดยมาลอนไดอัลดีไฮด์เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาไลโปออกซิเดชัน เป็นสารตั้งต้นของสารก่อมะเร็งหรือสารก่อการกลายพันธุ์ที่ส่งผลต่อความปลอดภัยของอาหาร และทำปฏิกิริยากับสารพันธุกรรมนำไปสู่สาเหตุของการเกิดโรค เช่น โรคหลอดเลือดตีบและหัวใจ เมื่อทำปฏิกิริยาแล้วจะให้สารอนุพันธ์ที่มีสีน้ำเงิน ซึ่งมีหมู่โครโมฟอร์ (chromophore) มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 586 นาโนเมตร

2.1 จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์กับ *N*-methyl-2-phenylindole พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ

- 2.1.1 ความเข้มข้นของ *N*-methyl-2-phenylindole ที่เหมาะสมคือ 6 มิลลิโมลาร์
- 2.1.2 ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่เหมาะสมคือ 100% โดยปริมาตร
- 2.1.3 อุณหภูมิในการเตรียมสารอนุพันธ์ที่เหมาะสมคือ 45 องศาเซลเซียส
- 2.1.4 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการให้ความร้อนคือ 40 นาที

2.2 จากการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมสารอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์กับ *N*-methyl-2-phenylindole พบว่าจะมีช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) ในช่วง 0.001 จนถึง 0.040 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9998 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOQ) เท่ากับ 0.000137 และ 0.000479 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่าความถูกต้อง (%recovery) อยู่ในช่วง 88.01 – 105.70% และค่าความแม่นยำ (precision) โดยมีค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ภายในวันเดียวกัน (intra-day precision) และระหว่างวัน (inter-day precision) เท่ากับ 0.60 จนถึง 1.33% และ 0.95 จนถึง 3.27% ตามลำดับ

2.3 จากการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์กับ *N*-methyl-2-phenylindole และวิธี Thiobarbituric acid reactive substance assay ตามวิธีของ American Oil Chemists' Society, AOCS (1998) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างประเภทไขมันและน้ำมัน

จากการวิเคราะห์ปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมอนุพันธ์ระหว่างสารมาลอนไดอัลดีไฮด์กับกรดไทโอบาร์บิทูริก เมื่อทำปฏิกิริยาแล้วจะให้อนุพันธ์ที่มีสีส้มแดง มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 533 นาโนเมตร และเมื่อเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ทั้งสองวิธีพบว่า ทั้งสองวิธีมีประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ไม่แตกต่างกัน

แต่จากการทดลองพบว่าวิธี Thiobarbituric acid reactive substance assay ตามวิธีของ American Oil Chemists' Society, AOCS (1998) เมื่อทำการทดลองกับตัวอย่างน้ำมัน พบว่าจะเกิดการรบกวนจากผลิตภัณฑ์อื่นในตัวอย่างน้ำมัน และให้สารอนุพันธ์ที่มีสีเหลือง โดยกรดไทโอบาร์บิทูริกจะสามารถทำปฏิกิริยากับไฮโดรเปอร์ออกไซด์ และสารประกอบแอลดีไฮด์อื่น เช่น alkanals alkenals และ 2, 4-dienals เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสีเหลืองทำให้เกิดการรบกวน

3. งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวบางชนิด ได้แก่ กระเทียมและข่า ทั้งแบบสดและแบบแห้ง ในน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน ได้แก่ น้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลือง โดยทำการเตรียมตัวอย่างน้ำมันตามวิธีของ Halvorsen, B.L. และ Blomhoff, R. (2011) และนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์

พบว่าปริมาณของสารมาลอนไดอัลดีไฮด์เพิ่มขึ้นเมื่อผ่านการเตรียมตัวอย่างน้ำมันพืชตามวิธีของ Halvorsen, B.L. และ Blomhoff, R. (2011) ทั้งน้ำมันปาล์มและน้ำมันถั่วเหลือง โดยพบว่าน้ำมันถั่วเหลืองจะมีปริมาณของสารมาลอนไดอัลดีไฮด์สูงกว่าน้ำมันปาล์ม ทั้งนี้เนื่องจากน้ำมันถั่วเหลืองมีส่วนประกอบของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวในสัดส่วนที่มากกว่าน้ำมันปาล์ม และอนุมูลมีมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เนื่องจากอนุมูลจะมีกระตุ้นให้กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเกิดการสลายตัวเป็นโมเลกุลเล็กๆ ดังนั้นน้ำมันที่มีการให้ความร้อนจะมีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์สูงกว่าน้ำมันที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ซึ่งสารมาลอนไดอัลดีไฮด์เป็นผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาออกซิเดชัน และยังเป็นสาเหตุของการเกิดภาวะความเครียดของเซลล์ และสาเหตุก่อโรค เช่น มะเร็ง เบาหวาน และไตวาย

3.1 จากการศึกษาปริมาณของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน โดยใส่พืชสวนครัวแต่ละชนิดทั้งทั้งแบบสดและแบบแห้งลงไปนน้ำมันพืช ได้แก่ 2.5 5 10 และ 20 กรัมต่อน้ำมันพืช 50 กรัม พบว่าจะทำให้ปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์มีแนวโน้มที่ลดลงตามปริมาณของพืชสวนครัวที่เพิ่มขึ้นทั้งในน้ำมันปาล์มและน้ำมันถั่วเหลือง

3.2 ในการศึกษาระยะเวลาในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยพืชสวนครัวในน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวแตกต่างกันที่ระยะเวลาต่างๆ ได้แก่ 7 15 21 30 45 และ 60 วัน ตามลำดับ พบว่าน้ำมันพืชที่ไม่ได้มีการใส่พืชสวนครัวลงไป ซึ่งใช้เป็นน้ำมันพืชควบคุมในการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระยะเวลาที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันพืช โดยน้ำมันถั่วเหลืองมีปริมาณการเพิ่มขึ้นของสารมาลอนไดอัลดีไฮด์สูงกว่าน้ำมันปาล์ม ทั้งนี้เนื่องจากน้ำมันถั่วเหลืองมีปริมาณของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่สูงกว่า จึงมีโอกาสในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายกว่าน้ำมันปาล์ม

และนอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันพืชที่มีใส่กระเทียม และข่า ทั้งแบบสดและแบบแห้งมีแนวโน้มของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันควบคุมในทุกระยะเวลาที่ทำการทดสอบทั้งในน้ำมันปาล์มและน้ำมันถั่วเหลือง โดยแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของพืชสวนครัวที่ทำการศึกษา

3.3 จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของพืชสวนครัวในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วเหลืองด้วยกระเทียมและข่า พบว่าการใส่กระเทียม และข่าแบบสดทั้งในน้ำมันปาล์มและน้ำมันถั่วเหลือง จะทำให้ปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์มีแนวโน้มที่ลดลงต่ำกว่าเมื่อใส่กระเทียมและข่า แบบแห้ง

ข้อเสนอแนะ

1. ในการเตรียมสารละลายมาลอนไดอัลดีไฮด์ ไม่ควรเก็บสารละลายมาตรฐานของสารประกอบมาลอนไดอัลดีไฮด์ไว้นานเกิน 1 สัปดาห์ เนื่องจากสารประกอบมาลอนไดอัลดีไฮด์มีความเสถียรต่ำ สามารถสลายตัวได้ง่าย และควรเก็บไว้ในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ควรเตรียมก่อนทำการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากเป็นสารอนุมูลอิสระ

3. การเตรียมสารละลายกรดไทโอบาร์บิทูริกในบิวทานอล ควรนำไปทำการโซนิเคชันด้วยเครื่องอัลตราโซนิกเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 30 นาที เพื่อช่วยเพิ่มความสามารถในการเตรียมเป็นสารละลาย

4. การวิเคราะห์ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยการเตรียมสารอนุพันธ์กับ *N*-methyl-2-phenylindole สามารถประยุกต์ใช้ได้กับตัวอย่างทางอาหารอื่นๆ ได้





บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- จันทิมา นามโชติ. (2555). *ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบกิ่งมะขวิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ*.
ปริญญาานิพนธ์ วท.ม. (วิทยาศาสตร์ศึกษา). กรุงเทพฯ. มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์
ในพระบรมราชูปถัมภ์. 6-15.
- ชาติรี เอี่ยมพิณ. (2550). *ผลของอุณหภูมิและเวลาต่อสมบัติการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของหัว
หอมใหญ่อบแห้ง*. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 38: 139-142.
- นิตยา รัตนาปนนท์. (2529). *วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน (วิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยีการอาหาร)*. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 128.
- นิตยา รัตนาปนนท์. (2557). *เคมีอาหาร (Food chemistry)*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.
487หน้า. 82-135.
- นัยนา บุญทวีวัฒน์; และเรวดี จงสุวัฒน์. (2545). *น้ำมันรำข้าว:ทางเลือกเพื่อสุขภาพของคนไทย*.
กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 64หน้า. 23.
- บุหรัน พันธุ์สุวรรณ. (2556). *อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ*.
วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 21: 275-286.
- ปานเทพ พัวพงษ์พันธ์. (2556). *ส่วนประกอบของปาล์ม*. สืบค้นเมื่อวันที่ 7 ตุลาคม 2558, จาก
<http://www.manager.co.th/AstvWeekend/ViewNews.aspx?NewsID=9560000128088>
- พงศธรณ์ รุจิรา; วิชัย หฤทัยธนาสันติ; และหทัยรัตน์ ริมศิริ. (2540). *การพัฒนาครีมบำรุงผิวจาก
น้ำมันปาล์มและว่านหางจระเข้*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 717หน้า. 12.
- รุ่งทิพย์ จุฑะมงคล. (2556). *เทคโนโลยีไขมันและน้ำมัน*. สงขลา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล
ศรีวิชัย. 329หน้า. 23.
- สุนิษฐา เศรษฐีธร. (2558). *รายงานตลาดอาหารในประเทศไทย (Thailand Food Market Report)*.
1-7.
- ศิวาพร ศิวเวชช. (2546). *วัตถุเจือปนในอาหาร (เล่ม 1)*. นครปฐม: โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและ
ฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (กำแพงแสน). 380หน้า. 85-
150.
- Abdelhady, M.I.S.; Motaal, A.A.; & Beerhues, L. (2011). *Total phenolic content and
antioxidant activity of standardized extracts from leaves and cell cultures of three
callistemon species*. Amer. J. Plant Sci. 2: 847-850.
- American oil chemists' society, AOCS. (1998). *Official method cd 19-90. 2-thiobarbituric
acid value. Direct method*. In official methods and recommended practices of the
american oil chemists' society, 5th ed. (D.Firestone, ed.). Champaign, Ill.

- Aruoma, O. (2003). *Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods*. *Mutat. Res.* 524: 9-20.
- Bastos, A.S.; et al. (2012). *Quantitation of malondialdehyde in gingival crevicular fluid by a high-performance liquid chromatography-based method*. *Anal. Biochem.* 423: 141–146.
- Beer, D., et al. (2002). *Phenolic compounds: A review of their possible role as in vivo antioxidants of wine*. *South African J. Enol. Vitic.* 23: 48-61.
- Bhattacharya, S. (2015). *Reactive oxygen species and cellular defense system. Free radicals in human health and disease*. Edited by V. Rani. 430p: 17-29. India: Springer.
- Buck, D.F. (1981). *Antioxidants in soya oil*. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 58: 275.
- Capecka, E.; Mareczek, A. & Leja, M. (2005). *Antioxidant activity of fresh and dry herds of some Lamiaceae species*. *Food Chem.* 93: 223-226.
- Cheung, S.C. (2007). *Antioxidant protection of edible oils*. *Plants Foods for Human Nutrition.* 62: 39-42.
- Classification of phytochemicals. (n.d.). Retrieved October 16, 2015, from <http://jn.nutrition.org/content/134/12/3479S/F1.large.jpg>
- Cottrell, S. (1994). *The dose-dependent effect of butylated hydroxytoluene on vitamin K-dependent blood coagulation in rats*. *Food Chem. Tox.* 32 : 589-594.
- Daniele, D.R. (2005). *A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress*. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 15: 316–328.
- Das, I.; & Saha, T. (2009). *Effect of garlic on lipid peroxidation and antioxidation enzymes in DMBA-induced skin carcinoma*. *Nutrition.* 25: 459–471.
- DPPH radical. (n.d.). Retrieved October 16, 2015, from <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/d9132?lang=en®ion=TH>
- Enayde-de-Almeida, M.; Jorge-Mancini, F.; & Nonete-Barbosa, G. (2005). *Characterization of antioxidant compounds in aqueous coriander extract (Coriandrum sativum L.)*. *LWT - Food Sci. Technol.* 38: 15-19.
- Falade, A.O.; & Oboh, G. (2015). *Thermal oxidation induces lipid peroxidation and changes in the physicochemical properties and β -carotene content of arachis oil*. *International journal of food science.* 2015: 1-7.
- Fenaille, F.; et al. (2001). *Comparison of analytical techniques to quantify malondialdehyde in milk powders*. *J. Chromatogr. A.* 921: 237–245.

- Fernandez, J. (1996). *Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat*. Food Chem. 59: 345-353.
- Hakkim, F.L. (2007). *Chemical composition and antioxidant property of holy basil (Ocimum sanctum L.) leaves, stems and inflorescence and their in vitro callus cultures*. J. Agric. Food Chem. 55: 9109-9117.
- Halvorsen, B.L.; & Blomhoff, R. (2011). *Determination of lipid oxidation products in vegetable oils and marine omega-3 supplements*. Food & Nutrition Research. 55: 1-12.
- Hemalatha, G. (2007). *Sesame lignans enhance the thermal stability of edible vegetable oils*. Food Chem. 105: 1076-1085.
- Hamilton, R.J. (1994). *The chemistry of rancidity in foods*. Edited by J.C. Allen. and R.J. Hamilton. 290p: 1-21. Springer.
- Inoue, T.; Ando, K.; & Kikugawa, K. (1998). *Specific determination of malonaldehyde by N-methyl-2-phenylindole or thiobarbituric acid*. J. Amer. Oil Chem. Soc. 75: 597-600.
- International agency for research on cancer, IARC. (1985). *Monographs, malondialdehyde*. 71: 1037.
- Ito, N.; et al. (1986). *Studies on antioxidants: their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogens*. Food Chem. Toxic. 24: 1071-1092.
- Iverson, F. (1999). *In vivo studies on butylated hydroxyanisole*. Food Chem. Toxic. 37: 993-997.
- Juntachote, T. & Berghofer, E. (2005). *Antioxidative properties and stability of ethanolic extracts of holy basil and galangal*. Food Chem. 92: 193-202.
- Juntachote, T.; et al. (2006). *The antioxidative properties of holy basil and galangal in cooked ground pork*. Meat Sci. 72: 446-456.
- Kiyoshi, Y. (1976). *A simple fluorometric assay for lipid peroxide in blood plasma*. Biochem Med. 15: 212-216.
- Laura, J.N. (2003). *Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells*. J. Biol. Chem. 278: 31426-31433.
- Li, F.M.; et al. (2015). *Changes in antioxidant capacity, levels of soluble sugar, total polyphenol, organosulfur compound and constituents in garlic clove during storage*. Ind. Crops Prod. 69: 137-142.
- Li, P.; et al. (2013). *Determination of malondialdehyde in biological fluids by high-performance liquid chromatography using rhodamine B hydrazide as the derivatization reagent*. Free Radical Biology and Medicine. 65: 224-231.

- Marnett, L.J.; et al. (1979). *Studies of the hydrolysis of ¹⁴C-labeled tetraethoxypropane to malondialdehyde*. Analytical Biochem. 99: 458-463.
- Marnett, L.J.; & Tuttle, M.A. (1980). *Comparison of the mutagenicities of malondialdehyde and the side products formed during its chemical synthesis*. 40: 276-282.
- Martin, G. (2012). *Recent advancements in the LC and GC-based analysis of malondialdehyde*. Chromatographia. 75: 433–440.
- Mayachiew, P.; & Devahastin, S. (2008). *Antimicrobial and antioxidant activities of indian gooseberry and galangal extracts*. LWT - Food Sci. Technol. 41: 1153–1159.
- Mimica, N.; et al. (2012). *The effect of plant secondary metabolites on lipid peroxidation and eicosanoid pathway*. Lipid peroxidation. Edited by A. Catala. 546p: 193-210. InTech.
- Mishra, K.; Ojha, H.; & Chaudhury, N.K. (2012). *Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH• assay: A critical review and results*. Food Chem. 130: 1036-1043.
- Monnier, D.G.; et al. (1998). *Reaction of 1-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation*. Chem. Res. Toxicol. 11: 1176-1183.
- Mosquera, O.M.; et al. (2007). *Antioxidant activity of twenty five plants from colombian biodiversity*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 102: 631-634.
- Nurwantoro, V. P.; et al. (2015). *Garlic antioxidant (Allium sativum L.) to prevent meat rancidity*. Procedia Food Sci. 3: 137–141.
- Pilz, J., Meineke, I., Gleiter, C.H. (2000). *Measurement of free and bound malondialdehyde in plasma by high-performance liquid chromatography as the 2, 4-dinitrophenylhydrazine derivative*. J. Chromatogr. B. 742: 315-325.
- Pourmorad, F.; Hosseinimehr, S.J.; & Shahabimajd, N. (2006). *Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants*. Afr. J. Biotech. 5: 1142-1145.
- Priecina, L. & Karklina, D. (2014). *Natural antioxidant changes in fresh and dried spices and vegetables*. World Acad. Sci. Eng. Technol. 8: 492-496.
- Rimawi, F.A. (2015). *Development and validation of a simple reversed-phase HPLC-UV method for determination of malondialdehyde in olive oil*. J. Am. Oil Chem. Soc. 92: 933-937.
- Rohman, A.; et al. (2011). *Monitoring the oxidative stability of virgin coconut oil during oven test using chemical indexes and FTIR spectroscopy*. International food research journal. 18: 303-310.

- Russell, O.S.; Yu, T.C.; & ChangYu, T. (1958). *Characterization of the red pigment formed in the thiobarbituric acid determination of oxidative rancidity*. Food Sci. 23: 626-634.
- Santos, F.A.; Camino Sanchez, F.J.; & Zafra Gomez, A. (2014). *Degradation markers in nutritional products. A review*. Austin J. Anal. Pharm. Chem. 1: 1-7.
- Shao-huan, Z.; et al. (2009). *Phenolics and antioxidant properties of bayberry (Myrica rubra Sieb. Et Zucc.) pomace*. Food Chem. 112: 394-399.
- Stankovic, M.S. (2011). *Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of Marrubium peregrinum L. extracts*. Kragujevac J. Sci. 33: 63-72.
- Triacylglycerol: Structure & Function. (n.d.). Retrieved October 7, 2015, from <http://study.com/cimages/multimages/16/triglycerides2.jpg>
- Tsai, T.H.; Tsai, P.J.; & Ho, S.C. (2005). *Antioxidant and anti-inflammatory activities of several commonly species*. Food Sci. 70: 93–97.
- Tsaknis, J.; et al. (1998). *Rapid high-performance liquid chromatographic method of determining malondialdehyde for evaluation of rancidity in edible oils*. Analyst. 123: 325–327.
- Umamo, K.; Dennis, K.J.; & Shibamoto, T. (1988). *Analysis of free malodialdehyde in photoirradiated corn oil and beef fat via a pyrazole derivative*. Lipids. 23: 811-814.
- Vaitukaityte, R.; et al. (2013). *Malondialdehyde levels in fresh and frozen turkey meat*. Vet. Med. Zoot. 62: 85-91.
- Valko, M. (2007). *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease*. Int. J. Biochem. Cell Biol. 39: 44–84.
- Wang, H.; et.al. (1997). *Oxygen radical absorbing capacity of anthrocyanins*. J. Agric. Food Chem. 45: 304-309.
- Wang, X.; et al. (2015). *Isolation, purification and identification of antioxidants in an aqueous aged garlic extract*. Food Chem. 187: 37-43.
- Wangensteen, H.; Samuelsen, A.B.; & Malterud, K.E. (2004). *Antioxidant activity in extracts from coriander*. Food Chem. 88: 293–297.
- Wrolstad, R.E.; et al. (2005). *Determination of TBA reactive substances in oils or lipid extracts: direct method*. Food Anal. Chem. 624: 551.
- Yara, S.Q.; et al. (2009). *Garlic (Allium sativum L.) and ready-to-eat garlic products: In vitro antioxidant activity*. Food Chem. 115: 371–374.
- Zhang, Y.; et al. (2010). *Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage*. Food Chem. 118: 656-662.



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน สารละลายต่าง ๆ และรูปสารละลายอหุพันธ์



1. สารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์

การเตรียมสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ตามวิธีของ Bostos, A.S. และคณะ (Bastos, A.S.; et al. 2012: 141-146) โดยทำการปิเปต 1,1,3,3-tetramethoxypropane (TMP) ปริมาตร 0.413 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1% โดยปริมาตร จนครบ 25 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้เก็บไว้ในที่มืดเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง จะได้สารละลายของมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลต่อ มิลลิลิตร เก็บสารละลายไว้ในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียสได้ 1 สัปดาห์

2. สารละลาย *N*-methyl-2-phenylindole

ชั่งสารมาตรฐาน *N*-methyl-2-phenylindole 0.1244 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยสารละลายอะซิโตนในไต้ลต่อเมทานอลในอัตราส่วน 3 ต่อ 1 ปริมาตรต่อปริมาตร จนครบ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย *N*-methyl-2-phenylindole ที่ความเข้มข้น 6 มิลลิโมลาร์

3. สารละลายกรดไทโอบาร์บิทูริก

ชั่งกรดไทโอบาร์บิทูริก 0.20XX กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 1-บิวทานอล ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปโซนิเคชันด้วยเครื่องอัลตราโซนิก เป็นระยะเวลานาน 30 นาที เพื่อให้กรดไทโอบาร์บิทูริกละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายกรดไทโอบาร์บิทูริกที่ความเข้มข้น 0.2% โดยปริมาตร

4. สารละลาย Folin-Ciocalteu reagent

ปิเปตสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร เก็บสารละลายไว้ในที่มืด จะได้สารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ที่ความเข้มข้น 10% โดยปริมาตร

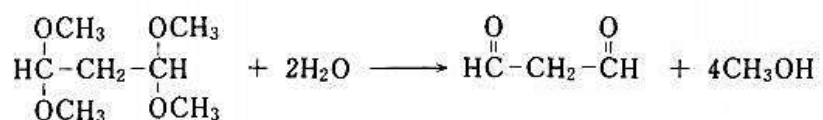
5. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

ชั่งสารโซเดียมคาร์บอเนต 7.50XX กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้น ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ ความเข้มข้น 7.5% โดยปริมาตร

6. สารละลาย 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

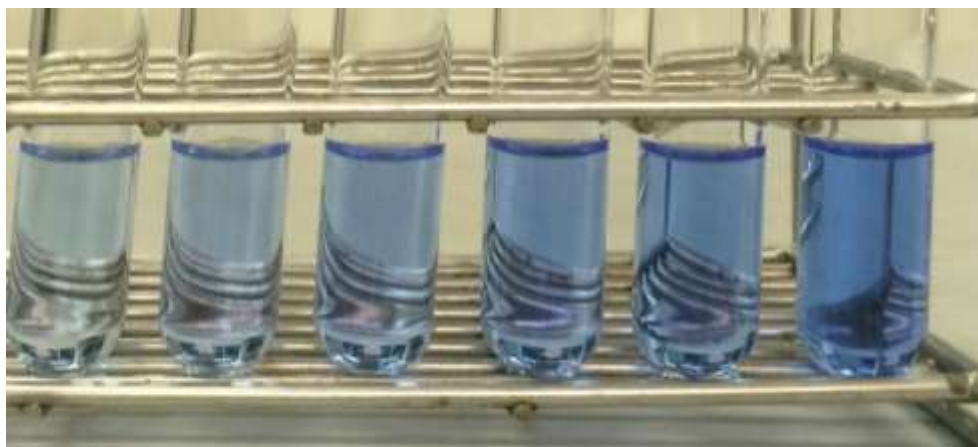
ชั่งสาร 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl 0.01XX กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นละลายและปรับปริมาตรด้วยเมทานอลจนครบ 25 มิลลิลิตร จากนั้นทำการปิเปตสารละลายที่ ได้มา 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยเมทานอลจนครบ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ที่ความเข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์

เนื่องจากสารมาลอนไดอัลดีไฮด์มีความเสถียรต่ำ จึงไม่มีสารมาตรฐานของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในรูปของมาลอนไดอัลดีไฮด์โดยตรง ดังนั้นในการเตรียมสารมาตรฐานของมาลอนไดอัลดีไฮด์จึงต้องทำการเตรียมจากสารประกอบ 1,1,3,3 - tetramethoxypropane (TMP) หรือ 1,1,3,3 - tetraethoxypropane (TEP) โดยการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Marnett, L.J. และ Tuttle, M.A. 1980: 276-282)



ภาพประกอบ 27 การไฮโดรไลซิสสารประกอบ 1,1,3,3-tetramethoxypropane

ที่มา: Marnett, L.J.; et al. (1979). Studies of the hydrolysis of ¹⁴C-labeled tetraethoxypropane to malodialdehyde. 99: 458-463.



ภาพประกอบ 28 สีของสารละลายอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์กับ *N*-methyl-2-phenylindole



ภาพประกอบ 29 สีของสารละลายอนุพันธ์ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์กับกรดไทโอบาร์บิทูริก

ภาคผนวก ข
รูปวัตตุดิบ เครื่องมือ และอุปกรณ์





ภาพประกอบ 30 กระเทียม แบบสด



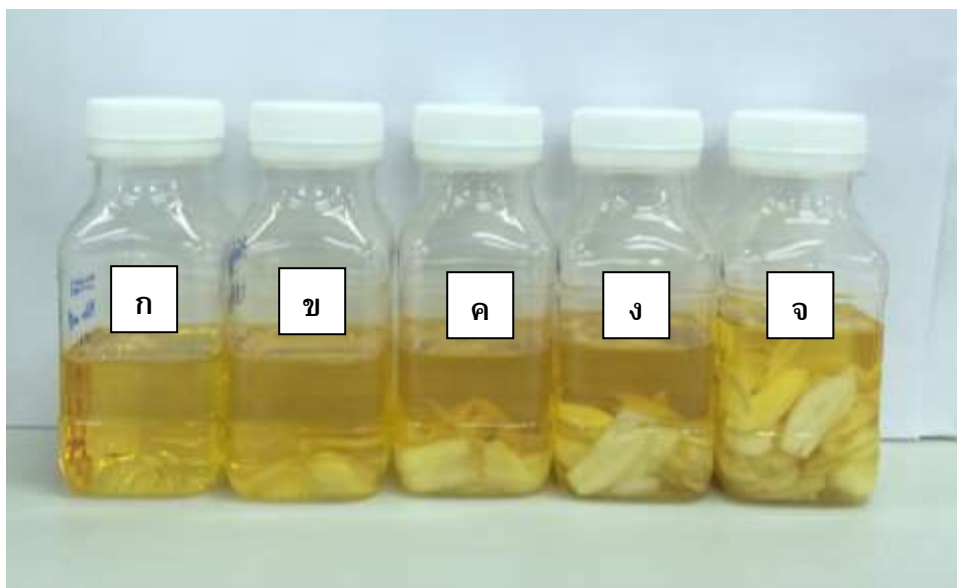
ภาพประกอบ 31 กระเทียม แบบแห้ง



ภาพประกอบ 32 ข่า แบบสด



ภาพประกอบ 33 ข่า แบบแห้ง



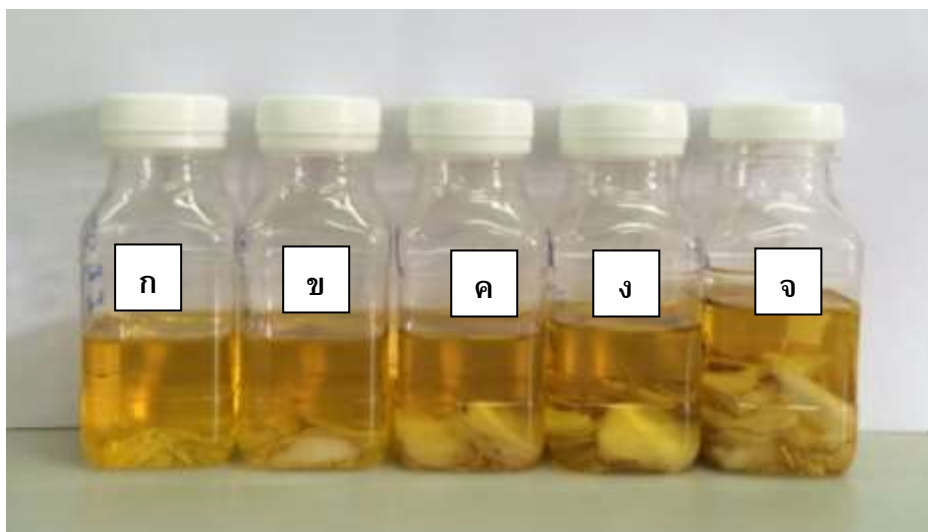
ภาพประกอบ 34 ผลการใส่กระเทียมแบบสดในน้ำมันปาล์ม

โดย ก แทน น้ำมันปาล์มควบคุม
ข แทน น้ำมันปาล์มที่ใส่กระเทียมแบบสดปริมาณ 2.5 กรัม
ค แทน น้ำมันปาล์มที่ใส่กระเทียมแบบสดปริมาณ 5 กรัม
ง แทน น้ำมันปาล์มที่ใส่กระเทียมแบบสดปริมาณ 10 กรัม
จ แทน น้ำมันปาล์มที่ใส่กระเทียมแบบสดปริมาณ 20 กรัม



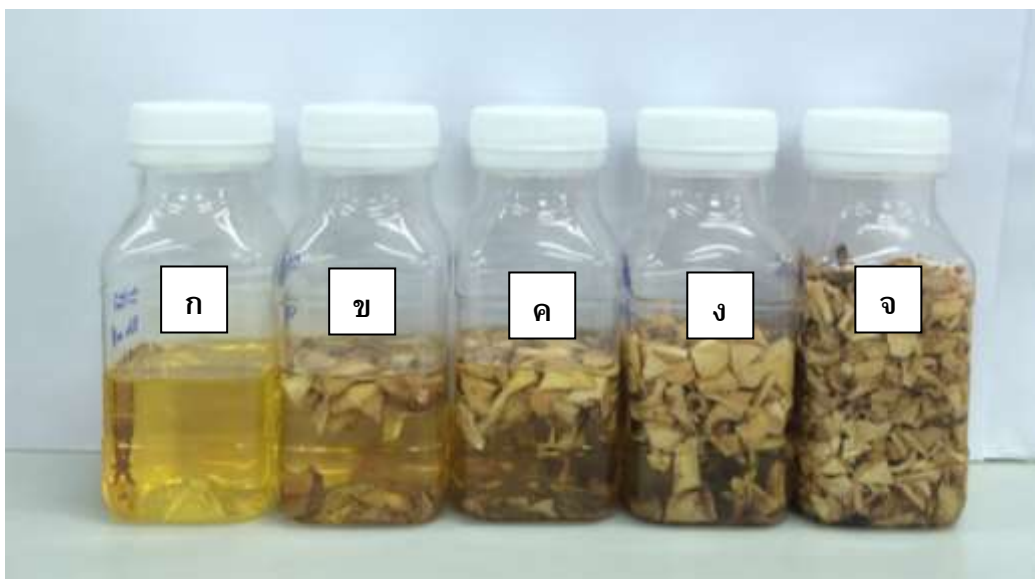
ภาพประกอบ 35 ผลการใส่กระเทียมแบบแห้งในน้ำมันปาล์ม

- โดย
- ก แทน น้ำมันปาล์มควบคุม
 - ข แทน น้ำมันปาล์มที่ใส่กระเทียมแบบแห้งปริมาณ 2.5 กรัม
 - ค แทน น้ำมันปาล์มที่ใส่กระเทียมแบบแห้งปริมาณ 5 กรัม
 - ง แทน น้ำมันปาล์มที่ใส่กระเทียมแบบแห้งปริมาณ 10 กรัม
 - จ แทน น้ำมันปาล์มที่ใส่กระเทียมแบบแห้งปริมาณ 20 กรัม



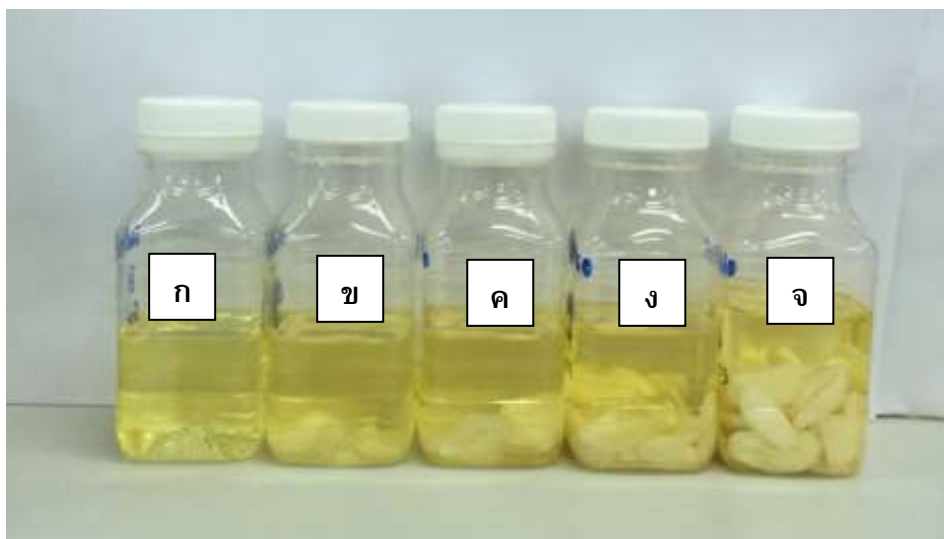
ภาพประกอบ 36 ผลการใส่ข่าแบบสดในน้ำมันปาล์ม

- โดย
- ก แทน น้ำมันปาล์มควบคุม
 - ข แทน น้ำมันปาล์มที่ใส่ข่าแบบสดปริมาณ 2.5 กรัม
 - ค แทน น้ำมันปาล์มที่ใส่ข่าแบบสดปริมาณ 5 กรัม
 - ง แทน น้ำมันปาล์มที่ใส่ข่าแบบสดปริมาณ 10 กรัม
 - จ แทน น้ำมันปาล์มที่ใส่ข่าแบบสดปริมาณ 20 กรัม



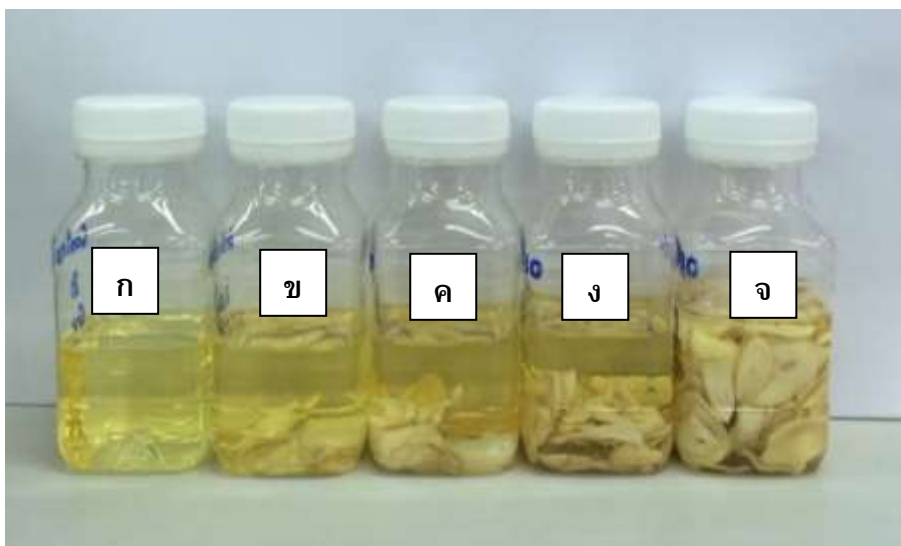
ภาพประกอบ 37 ผลการใส่ขี้แบบแห้งในน้ำมันปาล์ม

โดย ก แทน น้ำมันปาล์มควบคุม
ข แทน น้ำมันปาล์มที่ใส่ขี้แบบแห้งปริมาณ 2.5 กรัม
ค แทน น้ำมันปาล์มที่ใส่ขี้แบบแห้งปริมาณ 5 กรัม
ง แทน น้ำมันปาล์มที่ใส่ขี้แบบแห้งปริมาณ 10 กรัม
จ แทน น้ำมันปาล์มที่ใส่ขี้แบบแห้งปริมาณ 20 กรัม



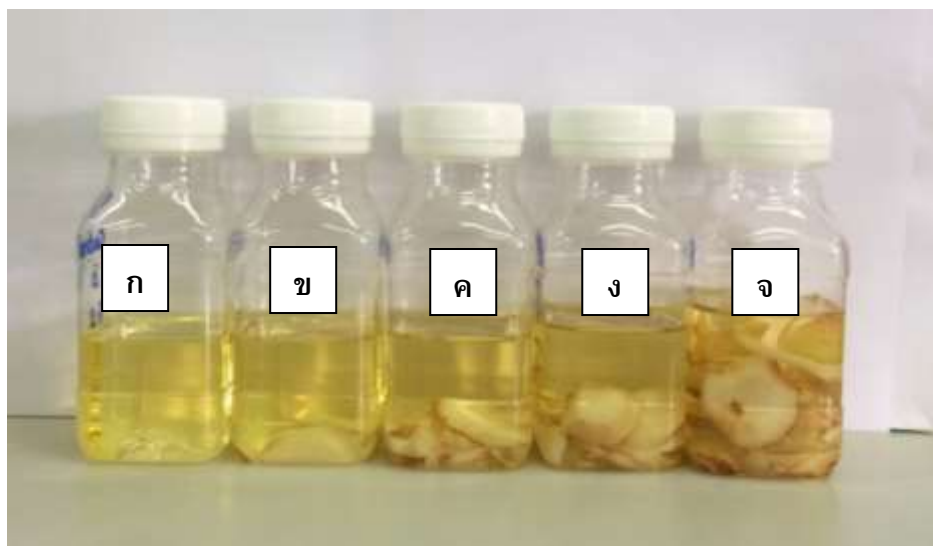
ภาพประกอบ 38 ผลการใส่กระเทียมแบบสดในน้ำมันถั่วเหลือง

- โดย
- ก แทน น้ำมันถั่วเหลืองควบคุม
 - ข แทน น้ำมันถั่วเหลืองที่ใส่กระเทียมแบบสดปริมาณ 2.5 กรัม
 - ค แทน น้ำมันถั่วเหลืองที่ใส่กระเทียมแบบสดปริมาณ 5 กรัม
 - ง แทน น้ำมันถั่วเหลืองที่ใส่กระเทียมแบบสดปริมาณ 10 กรัม
 - จ แทน น้ำมันถั่วเหลืองที่ใส่กระเทียมแบบสดปริมาณ 20 กรัม



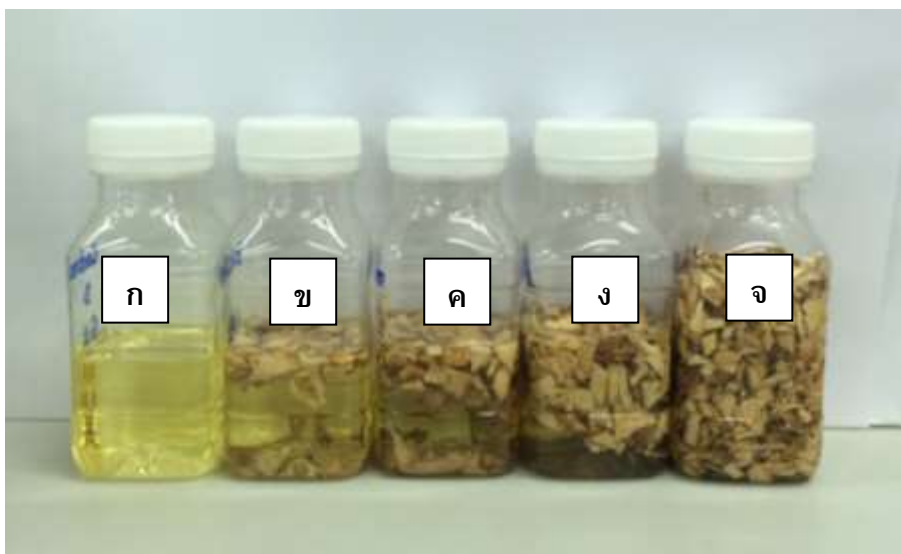
ภาพประกอบ 39 ผลการใส่กระเทียมแบบแห้งในน้ำมันถั่วเหลือง

- โดย
- ก แทน น้ำมันถั่วเหลืองควบคุม
 - ข แทน น้ำมันถั่วเหลืองที่ใส่กระเทียมแบบแห้งปริมาณ 2.5 กรัม
 - ค แทน น้ำมันถั่วเหลืองที่ใส่กระเทียมแบบแห้งปริมาณ 5 กรัม
 - ง แทน น้ำมันถั่วเหลืองที่ใส่กระเทียมแบบแห้งปริมาณ 10 กรัม
 - จ แทน น้ำมันถั่วเหลืองที่ใส่กระเทียมแบบแห้งปริมาณ 20 กรัม



ภาพประกอบ 40 ผลการใส่ชาแบบสดในน้ำมันงั่วเหลือง

- โดย
- ก แทน น้ำมันงั่วเหลืองควบคุม
 - ข แทน น้ำมันงั่วเหลืองที่ใส่ชาแบบสดปริมาณ 2.5 กรัม
 - ค แทน น้ำมันงั่วเหลืองที่ใส่ชาแบบสดปริมาณ 5 กรัม
 - ง แทน น้ำมันงั่วเหลืองที่ใส่ชาแบบสดปริมาณ 10 กรัม
 - จ แทน น้ำมันงั่วเหลืองที่ใส่ชาแบบสดปริมาณ 20 กรัม



ภาพประกอบ 41 ผลการใส่ข้าวแบบแห้งในน้ำมันถั่วเหลือง

โดย ก แทน น้ำมันถั่วเหลืองควบคุม
ข แทน น้ำมันถั่วเหลืองที่ใส่ข้าวแบบแห้งปริมาณ 2.5 กรัม
ค แทน น้ำมันถั่วเหลืองที่ใส่ข้าวแบบแห้งปริมาณ 5 กรัม
ง แทน น้ำมันถั่วเหลืองที่ใส่ข้าวแบบแห้งปริมาณ 10 กรัม
จ แทน น้ำมันถั่วเหลืองที่ใส่ข้าวแบบแห้งปริมาณ 20 กรัม



ภาพประกอบ 42 เครื่องชั่งอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง



ภาพประกอบ 43 เครื่องอัลตราโซนิก (ultrasonic bath)



ภาพประกอบ 44 อ่างควบคุมอุณหภูมิในการให้ความร้อนในขั้นตอนการเตรียมสารอนุพันธ์



ภาพประกอบ 45 เครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์



ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	นางสาวรสิตา วันเวช
วันเดือนปีเกิด	3 ตุลาคม พ.ศ. 2533
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 378/1 หมู่ 10 ตำบลหัวไทร อำเภอหัวไทร จังหวัดนครศรีธรรมราช 80170
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2552	จาก โรงเรียนเบญจมราชูทิศ นครศรีธรรมราช
พ.ศ. 2556	วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมี จาก มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพมหานคร
พ.ศ. 2559	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเคมี จาก มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพมหานคร

