



# โครงการ การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

**ชื่อโครงการ** ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มไบโโกลด์ได้จากเจลาตินที่เติม  
สารสกัดดอกอัญชัน

**ชื่อบิสิต** นางสาวปนัดดา กิตินันท์ประกร เลขประจำตัว 5932539523  
นางสาวสุชญา โตคุณาลัย เลขประจำตัว 5932570923

**ภาควิชา** เทคโนโลยีทางอาหาร  
**ปีการศึกษา** 2562

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## รายงานการวิจัย

ภายใต้โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

เรื่อง

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มบริโกลไคได้จากเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

Antioxidant activity of gelatin edible film fortified with

Asian pigeonwings flower extract

โดย

นางสาวปนัดดา กิตินันท์ประกร

นางสาวสุชญา โตคุณาลัย

ประจำปีการศึกษา 2562

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มบิโพลีไดร์จากเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

โดย

นางสาวปนัดดา กิตินันท์ประกร

นางสาวสุชญา โตคุณาลัย

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประจำปีการศึกษา 2562

Antioxidant activity of gelatin edible film fortified with  
Asian pigeonwings flower extract

Panadda Kittinanprakorn

Suchaya Tokunalai

Project Advisor

Asst. Prof. Thanachan Mahawanich, Ph.D.

A Report Submitted in Partial Fulfillment of Requirements  
for the Degree of Bachelor of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2019

หัวข้อวิจัย	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มไบโโพลีเมอร์ได้จากเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน
โดย	นางสาวปนัดดา กิตินันท์ประกร นางสาวสุชญา โตคุณาลัย
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช
ปีการศึกษา	2562

---

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
อนุมัติให้รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์  
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร  
ประจำปีการศึกษา 2562



.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ชนิษฐา ธนานุวงศ์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร



.....  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช)

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

**หัวข้องานวิจัย**    ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มบรีโภาคได้จากเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน  
**โดย**                    นางสาวปนัดดา กิตินันท์ประกร  
                              นางสาวสุชญา โตคุณาลัย  
**สาขาวิชา**            เทคโนโลยีทางอาหาร  
**อาจารย์ที่ปรึกษา**   ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช  
**ปีการศึกษา**        2562

---

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาฟิล์มบรีโภาคได้จากเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน ที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และเพื่อศึกษาผลของการประยุกต์ฟิล์มดังกล่าวต่อเสถียรภาพเชิงออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์อาหาร งานวิจัยส่วนแรกเป็นการศึกษาผลของสารสกัดดอกอัญชันต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน ในงานวิจัยนี้ได้แปรความเข้มข้นของสารสกัดดอกอัญชันเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 5, 10 และ 15% โดยน้ำหนักของเจลาติน พบว่าการเติมสารสกัดดอกอัญชันไม่มีผลต่อความหนาของฟิล์ม ( $p > 0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าโดยทั่วไปฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีความต้านทานแรงดึงขาด การยืดตัวถึงจุดขาด สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ ความสามารถในการละลายน้ำ และโครงสร้างภาคตัดขวาง ไกล่เคียงกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมสารสกัด อย่างไรก็ตามการเติมสารสกัดดอกอัญชันมีผลอย่างมากต่อสมบัติเชิงแสง โดยทำให้ฟิล์มมีความโปร่งแสง รวมทั้งค่า CIE  $L^*$   $a^*$  และ  $b^*$  ที่ลดต่ำลง โดยสีของฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันที่มองด้วยตาเปล่าปรากฏเป็นสีน้ำเงินโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความเข้มข้นของสารสกัดสูงๆ (10 และ 15%) นอกจากนี้การเติมสารสกัดดอกอัญชันยังส่งผลให้ฟิล์มมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์โดยวิธี DPPH และ FRAP เพิ่มขึ้น งานวิจัยส่วนที่สองเป็นการศึกษาการประยุกต์ฟิล์มที่พัฒนาขึ้นกับผลิตภัณฑ์หมูสวรรค์ พบว่าตัวอย่างหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีการเปลี่ยนแปลงด้านปริมาณความชื้นและวอเตอร์แอคทิวิตีที่ไม่แตกต่างจากหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มตัวอย่างควบคุมมากนัก อย่างไรก็ตามฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในหมูสวรรค์อย่างชัดเจน ตัวอย่างหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีการเพิ่มขึ้นของค่า TBARs และค่าเพอร์ออกไซด์ในอัตราที่ช้ากว่าหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มตัวอย่างควบคุม โดยหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันเข้มข้น 15% มีการเพิ่มขึ้นของค่า TBARs และค่าเพอร์ออกไซด์ต่ำที่สุด

**Project Title** Antioxidant activity of gelatin edible film fortified with Asian pigeonwings flower extract

**Student** Panadda Kitinanprakorn  
Suchaya Tokunalai

**Study Program** Bachelor of Science in Food Technology

**Advisor** Assistant Professor Dr. Thanachan Mahawanich

**Academic Year** 2019

---

### ABSTRACT

The objectives of this study were to develop antioxidant gelatin-based edible films fortified with Asian pigeonwings flower extract and to evaluate the effect of application of such films on oxidative stability of a food product. The first part of this research was the study of the effect of Asian pigeonwings flower extract on properties of gelatin-based film. The flower extract was varied at three different levels: 5, 10, and 15% by weight of gelatin. It was found that extract addition did not affect film thickness ( $p>0.05$ ). In general, the films with flower extract were not different in terms of tensile strength, elongation at break, water vapor permeability, water solubility, and cross-sectional structure, as compared to the control film with no extract addition. Nevertheless, extract fortification did pose a remarkable effect on the film optical properties. Films with added extract exhibited reduced transparency as well as CIE  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ . The films with Asian pigeonwings flower extract appeared blue to the naked eyes, particularly at high extract concentrations (10 and 15%). Moreover, extract addition produced a film with increasing antioxidant activity as monitored using DPPH and FRAP assays. The second part of this study dealt with the investigation of application of the films to pork jerky. Pork jerky wrapped with the extract-added films were found to have similar moisture content and water activity to that wrapped with the control film. In spite of that, the films added with Asian pigeonwings flower extract clearly demonstrated the ability to retard lipid oxidation in pork jerky. Jerky wrapped with extract-added films revealed a slower increment in TBARs and peroxide values than that wrapped with the control film. Jerky wrapped with the film fortified with 15% Asian pigeonwings flower extract displayed the lowest increase in TBARs and peroxide values.

## กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้โดยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย ที่ได้สละเวลาอันมีค่าเพื่อให้คำปรึกษา คำแนะนำ ข้อคิด ตลอดจนความเอาใจใส่ดูแลและให้ความช่วยเหลืออย่างใกล้ชิดมาโดยตลอด รวมถึงตรวจแก้ไข รายงานวิจัยฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับ คำแนะนำด้านเทคนิคการทำและการวิเคราะห์ลักษณะภาคตัดขวางโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ขอบคุณพี่ น้อง และเพื่อนปริญญาตรี รวมทั้งรุ่นพี่ปริญญาโทภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารที่ให้ความช่วยเหลือและกำลังใจตลอดการวิจัย รวมถึงเจ้าหน้าที่ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านสำหรับการอำนวยความสะดวกและความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาในการวิจัย

ขอขอบคุณโครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนทุนวิจัย

ท้ายสุดนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ มารดา บิดา และครอบครัว ที่ให้กำลังใจ และความห่วงใยพร้อมทั้ง สนับสนุนในด้านทุนทรัพย์ให้แก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา



## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญรูป	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขต/กรอบแนวคิดของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	3
บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 फिल्मब्रिहोकाई	4
2.2 สารประกอบพินอลิก	5
2.3 สารแอนโทไซยานิน	6
2.4 อัญชัน	8
2.5 เจลาติน	9
2.6 อนุมูลิस्ระ	12
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	14
3.1 วัสดุดิบและสารเคมี	14
3.2 อุปกรณ์	14
3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	15
3.3.1 การศึกษาผลของสารสกัดดอกอัญชันต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน	15

	หน้า
3.3.2 การวิเคราะห์สมบัติของฟิล์ม	17
3.3.2.1 ความหนา	17
3.3.2.2 สมบัติเชิงกล	20
3.3.2.3 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ	20
3.3.2.4 ความสามารถในการละลายน้ำ (water solubility)	21
3.3.2.5 ความโปร่งแสง (transparency)	22
3.3.2.6 สี	22
3.3.2.7 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวาง	22
3.3.2.8 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน	23
3.3.3 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพในระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์หมูเจอร์กึ่งที่ห่อด้วยฟิล์ม เจลาตินที่มีการเติมและไม่เติมสารสกัดจากดอกอัญชัน	
3.3.3.1 ปริมาณความชื้น	23
3.3.3.2 วอเตอร์แอคทีวิตี	24
3.3.3.3 Thiobarbituric acid reactive substances (TBARs)	24
3.3.3.4 ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value; PV)	24
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	26
4.1 ผลของสารสกัดจากดอกอัญชันต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน	26
4.1.1 ความหนา	26
4.1.2 สมบัติเชิงกล	27
4.1.3 สภาพให้ซึมผ่านของไอน้ำ	29
4.1.4 ความสามารถในการละลายน้ำ	29
4.1.5 ความโปร่งแสง	30
4.1.6 สี	31
4.1.7 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวาง	32
4.1.8 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน	33

4.2 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพในระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์หมูเจอร์กี้ที่ห่อด้วยฟิล์มเจลลาตินที่มีการเติมและไม่เติมสารสกัดจากดอกอัญชัน	34
4.2.1 ปริมาณความชื้น	35
4.2.2 วอเตอร์แอคติวิตี	36
4.2.3 Thiobarbituric acid reactive substances (TBARs)	37
4.2.4 ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value; PV)	38
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	40
เอกสารอ้างอิง	41
ภาคผนวก	47
ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์	48
ก.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ferric reducing antioxidant power (FRAP) ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie and Strain (1996)	48
ก.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity ดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams et al. (1995)	50
ก.3 การวิเคราะห์ค่า TBARs ตามวิธีของ Witte et al. (1970)	51
ก.4 การสกัดไขมันสำหรับวัดค่าเปอร์ออกไซด์ตามวิธีของ Shahidi (2005)	52
ภาคผนวก ข ข้อมูลการวิจัย	55
ภาคผนวก ค โครงการวิจัย	59
ประวัติผู้วิจัย	69

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 โครงสร้างและชนิดแอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidins)	7
3.1 ปริมาณส่วนประกอบ (กรัม) ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฟิล์มเจลาติน 100 กรัม	16
4.1 ความหนาของฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	26
4.2 CIE L*, a*, b* ของฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	32
4.3 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	34
ข.1 ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	55
ข.2 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	55
ข.3 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	56
ข.4 ร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มเจลาตินที่ไม่มีการเติมและมีการเติมสารสกัดจากดอกอัญชัน	56
ข.5 ปริมาณความชื้นในระหว่างการเก็บรักษาของหุ้มสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลาตินที่มีเติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	57
ข.6 วอเตอร์แอกทิวิตีในระหว่างการเก็บรักษาของหุ้มสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลาตินที่มีเติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	57
ข.7 ค่า TBARs ในระหว่างการเก็บรักษาของหุ้มสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลาตินที่มีเติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	58
ข.8 ค่าเพอร์ออกไซด์ของตัวอย่างหุ้มสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลาตินที่มีเติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	58

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ตัวอย่างของกลุ่มพลาโวนอยด์	6
2.2 การเปลี่ยนสีของแอนโทโรไซยานิน	8
2.3 ดอกอัญชัน	9
2.4 โครงสร้างของเจลลาติน	10
2.5 กลไกการเกิดของเจลลาติน	11
3.1 ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มเจลลาตินตัวอย่างควบคุม	18
3.2 ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	19
4.1 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	27
4.2 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	28
4.3 สภาพให้ซึมผ่านได้ออน้ำ (water vapor permeability, WVP) ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	29
4.4 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	30
4.5 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	31
4.6 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน ถ่ายที่กำลังขยาย 1500 เท่า	33
4.7 ปริมาณความชื้นในระหว่างการเก็บรักษาของหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	35
4.8 วอเตอร์แอคติวิตีในระหว่างการเก็บรักษาของหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	36
4.9 ค่า TBARs ในระหว่างการเก็บรักษาของหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	37
4.10 ค่าเพอร์ออกไซด์ในระหว่างการเก็บรักษาของหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	39
ก.1 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP	49

ก.2 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity 51

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

บรรจุภัณฑ์ย่อยสลายได้และบรรจุภัณฑ์รีไซเคิลได้นับเป็นบรรจุภัณฑ์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันได้มีการนำพอลิเมอร์ธรรมชาติชนิดต่างๆ ได้แก่ พอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีน มาใช้เป็นวัตถุดิบผลิตบรรจุภัณฑ์ย่อยสลายได้และบรรจุภัณฑ์รีไซเคิลได้ เช่น แอลจีเนต เพกทิน คาราจีแนน สตาร์ช เคซีน เวย์โปรตีน และเจลาติน นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาบรรจุภัณฑ์ดังกล่าวเป็นบรรจุภัณฑ์แอทีฟโดยมีการเติมสารที่ทำหน้าที่ต่างๆ เช่น สารต้านจุลินทรีย์ และสารต้านออกซิเดชัน

โปรตีนจากพืชและสัตว์หลายชนิดมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตฟิล์มบรรจุภัณฑ์ ตัวอย่างเช่น เจลาติน เจลาตินเป็นโปรตีนอาหารชนิดหนึ่งที่มีการผลิตเชิงการค้า ผลิตจากคอลลาเจนซึ่งเป็นโปรตีนตามธรรมชาติที่ทำหน้าที่เชิงโครงสร้าง (structural protein) ในกระดูก หนัง และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของสัตว์ โดยนำคอลลาเจนมาผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสโดยใช้ความร้อนและกรดหรือด่าง สมบัติสำคัญประการหนึ่งของเจลาติน ได้แก่ ความสามารถในการเกิดเป็นเจล และสมบัติในการหลอมเหลวเนื่องจากความร้อน โดยพบว่าสมบัติดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับความยาวของสายโซ่ และปริมาณและชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบหลัก นอกจากนี้มีรายงานว่าอัตราส่วนของสายโซ่อัลฟาต่อสายโซ่เบต้าในเจลาตินมีผลโดยตรงต่อความสามารถในการเกิดเป็นเจลและความแข็งแรงของเจลที่ได้ (Cho and Rhee, 2004) เจลาตินหรือคอลลาเจนที่ยังคงสภาพธรรมชาติสามารถแสดงสมบัติการเกิดฟอง การเกิดอิมัลชัน และเป็นสารช่วยให้เปียก (wetting agent) ในอาหารและยา รวมถึงการประยุกต์ในด้านอื่นๆ

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน เป็นกลุ่มของสารประกอบที่มีความซับซ้อนแตกต่างกันไป สารประกอบฟีนอลิกมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยวงแหวนแอโรมาติกและมีหมู่ไฮดรอกซีอย่างน้อยหนึ่งหมู่ นอกจากนี้ยังรวมไปถึงอนุพันธ์ของสารดังกล่าวที่มีการแทนที่ด้วยหมู่ฟังก์ชันต่างๆ สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชตามธรรมชาติมักอยู่ในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ โดยน้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ กลูโคส นอกจากนี้ยังอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลิกด้วยกันเองหรือการรวมตัวกันของสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบอื่นๆ (เนตรนภา เมยกลาง และ เฉลิม เรื่องวิริยะชัย, 2557)

อัญชันสะสมแอนโทไซยานินไว้ในส่วนของกลีบดอก โดยเป็นสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด สารประกอบฟีนอลิกที่มีรายงานว่ามีมากในกลีบดอกอัญชันสีน้ำเงิน ได้แก่ เทอนาทิน (ternatin) ซึ่งเป็นกลุ่มของ สารประกอบพอลิเอซิลเลตเท็ดเดลฟิโนดิโนกลูโคไซด์ (polyacylated delphinidin glucoside) ประกอบด้วยสาร ประมาณ 15 ชนิด ซึ่งอยู่ในกลุ่มแอนโทไซยานิน ดอกอัญชันสีม่วง สีน้ำเงิน และสีขาว มีแอนโทไซยานินในปริมาณ ที่ต่างกัน แต่ชนิดของสารสำคัญไม่แตกต่างกัน แอนโทไซยานินเป็นกลุ่มของสารที่มีหมู่ฟลาโวลีเนียม (flavylium) ซึ่ง อาจเป็นอนุพันธ์ต่างๆ และอาจมีหรือไม่มีประจุบวกก็ได้ ความแตกต่างที่สำคัญของแอนโทไซยานินแต่ละชนิดอยู่ที่ หมู่ไกลโคไซด์และชนิดของกรดอินทรีย์ของหมู่ไกลโคไซด์ ซึ่งความแตกต่างของโครงสร้างทางเคมีทำให้มีแอนโทไซ ยานินหลากหลายชนิดในธรรมชาติ

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากเป็นตัวให้โปรตอน (proton donor) ที่ดี และอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกมีความเสถียรสูงเนื่องจากความสามารถในการเคลื่อนย้าย ของอิเล็กตรอนหรือการเกิดเรโซแนนซ์ภายในโครงสร้าง แอนโทไซยานินเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพ โดยมีรายงานว่าแอนโทไซยานินมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าโธรส็อกซ์ถึง 2-3.5 เท่า (Wang and Goodman, 1999; Kuskoski et al., 2004) ที่ผ่านมามีการนำแอนโทไซยานินมาเติมในฟิล์มบรรจุภัณฑ์ อย่างไรก็ตาม งานวิจัยส่วนใหญ่มุ่งเน้นการใช้ประโยชน์จากแอนโทไซยานินในแง่การเป็นอินดิเคเตอร์สำหรับพีเอช (Golasz et al., 2013; Choi et al., 2017; Prietto et al., 2017) งานวิจัยที่ศึกษาการเป็นสารต้านออกซิเดชันของแอนโทไซ ยานินในฟิล์มบรรจุภัณฑ์ยังมีค่อนข้างจำกัด โครงการนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาฟิล์มเอกทิฟที่มีฤทธิ์ต้าน ออกซิเดชันจากเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันซึ่งมีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบ

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาฟิล์มบริโภคได้ (edible film) จากเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน
2. เพื่อศึกษาผลของการประยุกต์ฟิล์มดังกล่าวต่อเสถียรภาพเชิงออกซิเดชัน (oxidative stability) ของ ผลิตภัณฑ์อาหาร

## 1.3 ขอบเขต/กรอบแนวคิดของการวิจัย

ศึกษาผลของการเติมสารสกัดดอกอัญชันต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน แปรความเข้มข้นของสารสกัดดอก อัญชันเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 5, 10 และ 15% โดยน้ำหนักของเจลาติน และศึกษาผลของการประยุกต์ฟิล์มดังกล่าว ต่อเสถียรภาพเชิงออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์หมูสรวรรค์



#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ผลิตภัณฑต้นแบบ (prototype) ของฟิล์มบรรจุภัณฑ์แอกทีฟที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ผลิตจากเจลาตินและสารสกัดดอกอัญชัน
2. ได้ข้อมูลทางเทคนิคของการเตรียมฟิล์มแอกทีฟและการประยุกต์ฟิล์มดังกล่าวกับผลิตภัณฑ์อาหาร

## บทที่ 2

### วารสารปริทัศน์

#### 2.1 फिल्मब्रिโकोट

##### 2.1.1 คำจำกัดความ

ฟิล์มและสารเคลือบบริโภคได้ (edible film and coating) หมายถึง วัสดุแผ่นบางที่รับประทานได้และสามารถนำมาใช้กับอาหารโดยเคลือบผิวของอาหารโดยตรงหรือเตรียมแผ่นฟิล์มขึ้นมาก่อนแล้วจึงนำมาใช้กับอาหาร โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อป้องกันหรือชะลอการผ่านเข้าออกของแก๊ส ไอน้ำ ไขมัน เกลือ สารละลาย จุลินทรีย์ หรือสารอื่นๆ ฟิล์มที่เตรียมขึ้นอาจใช้สารชนิดเดียวหรือหลายชนิดรวมกัน โดยนำลักษณะที่เป็นที่ต้องการของสารแต่ละชนิดมาใช้ประโยชน์ (Guilbert, 1986)

##### 2.1.2 ชนิดของฟิล์มบริโภคได้

ฟิล์มบริโภคได้แบ่งเป็น 3 ชนิดหลักตามชนิดของพอลิเมอร์ที่นำมาใช้เป็นฐานของฟิล์ม ได้แก่ ฟิล์มโปรตีน ฟิล์มลิพิด และฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์

สำหรับฟิล์มโปรตีน ปัจจุบันมีความสนใจในการพัฒนาฟิล์มบริโภคได้จากโปรตีนมากขึ้น เนื่องจากเป็นฟิล์มที่มีความแข็งแรงเชิงกลและมีสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของแก๊สที่ดี นอกจากนี้โปรตีนยังมีความสำคัญทางโภชนาการสูงด้วย ได้มีการนำโปรตีนหลากหลายชนิดมาพัฒนาเป็นฟิล์มบริโภคได้ เช่น โปรตีนถั่วเหลือง โปรตีนข้าวสาลี โปรตีนข้าวโพด (เซอี) โปรตีนถั่วป่าน โปรตีนถั่วพี โปรตีนนม (เคซีนและเวย์โปรตีน) โปรตีนไข่ขาว ไมโอไฟบริลลาร์โปรตีน ซีรัมพลาสมาโปรตีน เคราติน โปรตีนรังไหม (ไฟโบรอินและเซรีซิน) รวมถึงคอลลาเจนและเจลาติน

สำหรับลิพิด ไม่นิยมขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มแต่จะใช้เป็นสารเคลือบโดยมีวัตถุประสงค์ที่จะให้ผลอย่างอื่นด้วย เช่น ลดการเสียดสีของผิวผลไม้ระหว่างการขนส่ง และป้องกันการเกิดสีน้ำตาล ลิพิดหลายชนิดสามารถนำมาใช้เป็นสารเคลือบได้ รวมทั้งแอสเซทิลเลตเท็ดโมโนกลีเซอไรด์ (acetylated monoglyceride) แร็กซ์ธรรมชาติ (natural wax) และสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ตัวอย่างของสารเคลือบลิพิด ได้แก่ สารเคลือบจากแร็กซ์ที่บริโภคได้ ซึ่งมีสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของความชื้นได้ดีมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งไขพาราฟิน (paraffin wax) และไขผึ้ง (beeswax) นอกจากนี้สารเคลือบจากไขพาราฟินและไขคาร์นูบา (carnauba wax) ยังช่วยลดอัตราการแพร่ของแก๊สและไอน้ำเข้าสู่อาหารได้ดีจึงสามารถรักษาความเข้มข้นของวัตถุดิบที่ผิวของ

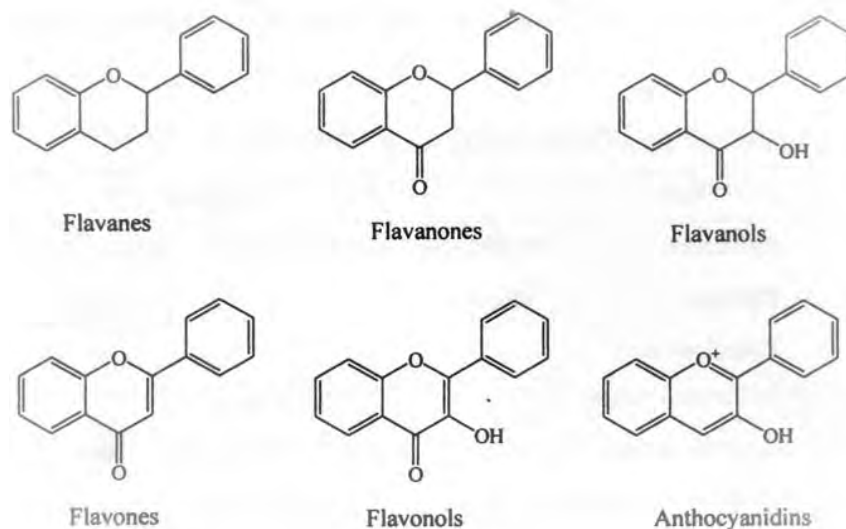
อาหารไว้ได้เป็นเวลานาน สารเคลือบลิปติดอีกชนิดหนึ่งคือสารลดแรงตึงผิว มีรายงานว่าสารเคลือบอาหารด้วยสารลดแรงตึงผิวสามารถลดค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ของผิวหน้าอาหารและลดอัตราการระเหยของน้ำซึ่งมีผลให้อาหารเสื่อมสภาพช้าลง โดยสารลดแรงตึงผิวที่ให้ผลดีที่สุด ได้แก่ แพตตีแอลกอฮอล์ซึ่งมีจำนวนคาร์บอน 16-18 อะตอม กลีเซอรอลโมโนพาล์มิเตต และกลีเซอรอลโมโนสเตียเรต (Kester and Fennena, 1986)

ในแง่ฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์ พอลิแซ็กคาไรด์หลายชนิดสามารถนำมาใช้ผลิตฟิล์มหรือสารเคลือบบริโภคได้ แต่เนื่องจากพอลิเมอร์เหล่านี้มีธรรมชาติที่ชอบน้ำ (hydrophilic) จึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ป้องกันการซึมผ่านของความชื้น อย่างไรก็ตามฟิล์มและสารเคลือบจากพอลิแซ็กคาไรด์บางชนิดที่มีลักษณะคล้ายเจลอาจช่วยชะลอการสูญเสียความชื้นของอาหารได้ในระหว่างการเก็บรักษาสั้นๆ นอกจากนี้ฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์บางชนิดยังอาจช่วยป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิปติดและองค์ประกอบอื่นๆ ในอาหารได้อีกด้วย ตัวอย่างของพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีการนำมาใช้ผลิตฟิล์ม ได้แก่ แอลจินเต เพกทิน สตาร์ช อนุพันธ์ของเซลลูโลส และไคโตซาน

## 2.2 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพ พบได้มากในธรรมชาติในพืชผักผลไม้ เช่น ในชาเขียว ชาดำ ซ็อกโกแลต และไวน์แดง ปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิดในธรรมชาติ ตั้งแต่โมเลกุลที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนอล โพรพานอยด์ และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึงโมเลกุลพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน สารกลุ่มฟีนอลิกตามธรรมชาติที่พบในแหล่งต่างๆ มีปริมาณที่แตกต่างกัน โดยปริมาณเฉลี่ยที่คนควรได้รับต่อวันอยู่ในช่วง 20 มิลลิกรัม ถึง 1 กรัม ซึ่งสูงกว่าปริมาณวิตามินอีที่ควรได้รับต่อวัน พอลิฟีนอลิกเป็นสารที่เป็นบทบาทสำคัญ เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ และมีสมบัติในการสลายลิ่มเลือด รวมทั้งเป็นสารต้านมะเร็ง และลดความดันโลหิต โครงสร้างทั่วไปของสารกลุ่มฟีนอลิกประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติกและมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซีอย่างน้อย 1 หมู่ ในที่นี้จะกล่าวถึงสารกลุ่มที่สำคัญ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์

สารกลุ่มฟลาโวนอยด์แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่ม ตามความแตกต่างของโครงสร้างโดยเฉพาะที่วงที่มีอะตอมออกซิเจนอยู่ในรูปแบบต่างๆ เช่น อีเทอร์ คีโตน รวมทั้งการมีหมู่ไฮดรอกซีแทนที่บนวงอะโรมาติกในโมเลกุล ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ฟลาเวน (flavan) ฟลาวานอล (flavanol) ฟลาวาโนน (flavanone) ฟลาโวนอน (flavonone) ฟลาโวน (flavone) และแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์บางชนิด



รูปที่ 2.1 ตัวอย่างของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์

ที่มา: โอภา วัชรคุปต์ และคณะ (2550)

## 2.3 แอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินเป็นสารสี (pigment) ที่พบในพืช ทั้งในดอกและผล ให้สีแดง ม่วง และน้ำเงิน ละลายน้ำได้ดี แอนโทไซยานินเป็นสารสีที่ได้รับความสนใจจากนักวิจัยเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จึงมีบทบาทในการป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ (cardiovascular disease) มะเร็ง และเบาหวาน นอกจากนี้แอนโทไซยานินยังมีสมบัติเป็นอินดิเคเตอร์ โดยในภาวะที่มีพีเอชต่ำกว่า 3 แอนโทไซยานินจะมีสีแดง ในภาวะที่ค่อนข้างเป็นกลางหรือมีพีเอชประมาณ 7-8 แอนโทไซยานินจะมีสีม่วง และในภาวะที่มีพีเอชสูงกว่า 11 แอนโทไซยานินจะมีสีน้ำเงิน (อรุษา เซวานลิขิต, 2554)

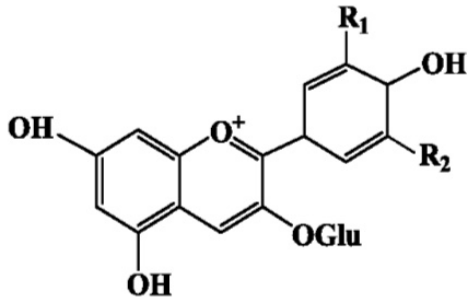
โครงสร้างของแอนโทไซยานิน ประกอบด้วยส่วนของอะไกลโคน (aglycone) น้ำตาล (sugar) และหมู่เอซิล (acyl group) มีการค้นพบแอนโทไซยานินมากกว่า 300 ชนิด และแต่ละชนิดมีสีสั่นและสมบัติแตกต่างกันไป แม้ว่าแอนโทไซยานินจะมีด้วยกันหลายชนิด แต่ทุกชนิดมีโครงสร้างหลักเป็นสารชนิดเดียวกันที่เรียกว่าแอนโทไซยานิดิน ซึ่งประกอบด้วยมีคาร์บอนจำนวน 15 อะตอม มีโครงสร้างแบบ C6-C3-C6 ซึ่งเป็นไกลโคไซด์ของ 2-phenyl benzopyrylium หรือ flavylum cation

แอนโทไซยานิดินมีประมาณ 20 ชนิด แต่มีอยู่ 6 ชนิดเท่านั้นที่พบในพืช ได้แก่ pelargonidin (18%), cyanidin (30%), delphinidin (22%) และ peonidin, petunidin, malvidin (ทั้งสามชนิดนี้มีปริมาณรวมกัน

20%) แอนโทไซยานิดินแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันที่จำนวนของหมู่ไฮดรอกซีในโมเลกุล ระดับการเกิดเมทิลเลชัน (degree of methylation) ของหมู่ไฮดรอกซี จำนวนและตำแหน่งของการเกิดไกลโคซิเลชัน (glycosylation) และจำนวนของกรดแอมโรติกหรือแอลิฟาติก (ตารางที่ 2.1)

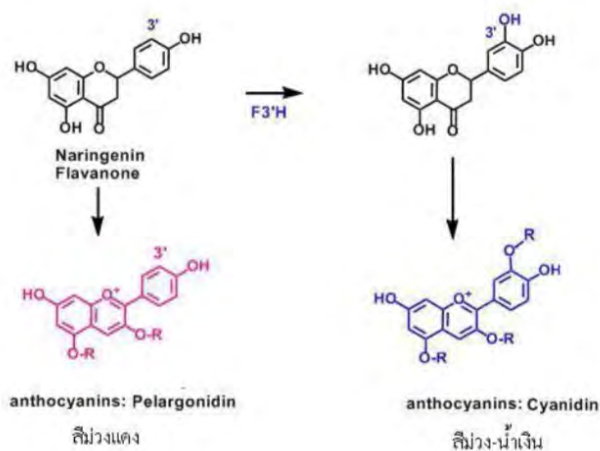
ตารางที่ 2.1 โครงสร้างและชนิดของแอนโทไซยานิดิน (ที่มา: อรุษา เซาวนลิขิต, 2554)

Anthocyanidins	ตำแหน่ง R <sub>1</sub>	ตำแหน่ง R <sub>2</sub>
Pelargonidin	-H	-H
Cyanidin	-H	-OH
Delphinidin	-OH	-OH
Peonidin	-OCH <sub>3</sub>	-H
Petunidin	-OCH <sub>3</sub>	-OH
Malvidin	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>



การแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซี (-OH) และหมู่เมทอกซี (-OCH<sub>3</sub>) ของ flavylum ring ทำให้เกิดสีของแอนโทไซยานิดิน กล่าวคือการเพิ่มจำนวนของหมู่ไฮดรอกซีทำให้เป็นเฉดสีน้ำเงิน ในขณะที่การเพิ่มจำนวนของหมู่เมทอกซีทำให้เป็นเฉดสีแดง (รูปที่ 2.2)

การเพิ่มจำนวนของหมู่ไฮดรอกซีทำให้ความสามารถในการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น และเนื่องจากการแทนที่ของกรดและเบสเกิดขึ้นได้ในหลายตำแหน่ง จึงทำให้จำนวนของแอนโทไซยานินมีมากกว่าแอนโทไซยานิดิน 15-20 เท่า สำหรับการเกิดไกลโคซิเลชัน หน่วยของน้ำตาลที่ต่อกับแอนโทไซยานิดิน ได้แก่ กลูโคส กาแลกโตส แรมโนส อะราบิโนส นอกจากนี้ยังพบไดแซ็กคาไรด์และไตรแซ็กคาไรด์ โดยแอนโทไซยานินที่พบมากที่สุด ได้แก่ 3-monoside, 3-biosides, 3,5-diglycosides และ 3,7-diglycosides (Sikorski, 2007)



รูปที่ 2.2 การเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานิน

ที่มา: Lazze et al. (2004)

## 2.4 อัญชัน

อัญชันมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clitoria ternatea* L. ชื่อวงศ์ LEGUMINOSAE-PAPILIONOIDEAE มีชื่อสามัญว่า blue pea, butterfly pea, Asian pigeonwings, แดงชัน (เชียงใหม่), เอื้องชัน (ภาคเหนือ) ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของอัญชันคือเป็นไม้ล้มลุกเลื้อยพัน ยาว 1-5 เมตร ใบประกอบแบบขนนก เรียงสลับ มีใบย่อย 3-9 ใบ รูปรีแกมขอบขนานหรือรูปรีแกมไข่กลับ กว้าง 1-3 เซนติเมตร ยาว 2-5 เซนติเมตร มีดอกเดี่ยว ออกที่ซอกใบ กลีบดอกเป็นรูปดอกถั่ว สีน้ำเงิน ม่วง หรือขาว ตรงกลางกลีบสีเหลืองหม่นขอบสีขาว ผลเป็นฝัก รูปดาบ โค้งเล็กน้อย ปลายเป็นจางงอย แตกเป็น 2 ฝา เมล็ดเป็นรูปไต จำนวน 6-10 เมล็ด

สำหรับการนำมาใช้ประโยชน์ มีการนำดอกอัญชันมาใช้เป็นสีแต่งอาหารและขนม สารสกัดน้ำของกลีบดอกอัญชันเป็นสีน้ำเงินของแอนโทไซยานิน สามารถใช้เป็นอินดิเคเตอร์ของพีเอช ในเชิงยาแผนโบราณรากของต้นอัญชันดอกสีขาวใช้เป็นยาขับปัสสาวะและยาระบาย ดอกอัญชันแสดงดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 ดอกอัญชัน

ที่มา: โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (2562)

## 2.5 เจลาติน

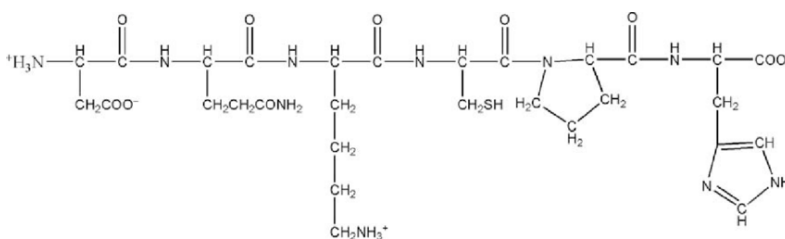
เจลาตินเป็นสารก่อเจลประเภทโปรตีน ผลิตโดยการไฮโดรไลส์คอลลาเจนซึ่งเป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อในหนัง เอ็น และกระดูก โดยการใช้กรดหรือด่าง และสกัดด้วยน้ำร้อน สำหรับวัตถุดิบที่นิยมนำมาใช้ในการผลิตเจลาตินในระดับอุตสาหกรรม มักใช้กระดูกและหนัง จากโค กระบือ และสุกร เนื่องจากให้เจลาตินที่มีคุณภาพดี ส่วนเจลาตินจากปลายังไม่มีการผลิตในระดับอุตสาหกรรมมากนัก เนื่องจากเจลาตินปลามีอุณหภูมิในการหลอมเหลวต่ำและมีความแข็งของเจล (Bloom strength) ที่ต่ำ (Karim and Rajeev, 2009)

เจลาตินแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ เจลาตินชนิดเอและบี (type-A and type-B gelatin) โดยแบ่งตามการปรับสภาพที่เหมาะสมกับวัตถุดิบแต่ละชนิดในการสกัดเจลาติน เจลาตินชนิดเอคือเจลาตินที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรด มีจุดไอโซอิเล็กทริกอยู่ในช่วงพีเอช 7-9 มีค่าความแข็งของเจลอยู่ในช่วง 50-300 กรัม วัตถุดิบที่มักเตรียมด้วยวิธีนี้ได้แก่หนังและกระดูกสุกร ส่วนเจลาตินชนิดบีคือเจลาตินที่ได้จากการปรับสภาพด้วยด่างมีจุดไอโซอิเล็กทริกอยู่ในช่วงพีเอช 4-5 มีค่าความแข็งของเจลอยู่ในช่วง 50-200 กรัม วัตถุดิบที่มักเตรียมโดยวิธีนี้ได้แก่หนังและกระดูกของโคและกระบือ (Cole, 2000)

### 2.5.1 โครงสร้างของเจลาติน

เจลาตินเป็นสายพอลิเมอร์ของโปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดต่างๆ มาต่อกันเป็นสายยาว ได้แก่ อะลานีน อาร์จินีน แอสพาร์ติกแอซิด ซิสเทอีน กลูตามิกแอซิด ไกลซีน ฮิสทิดีน ไฮดรอกซีไลซีน ไฮดรอกซีโพรลีน ไอโซลิวซีน ลิวซีน ไลซีน เมไทโอนีน ฟินิลอะลานีน โพรลีน ซีรีน ทรีโอนีน ทริโตนแฟน ไทโรซีน และวาเลีน โดยพบไกลซีนในปริมาณมากที่สุดประมาณ 33% ของกรดอะมิโนทั้งหมด รองลงมาได้แก่ โพรลีนในปริมาณ 12%

และไฮดรอกซีโพรลีนในปริมาณ 11% จากรายงานที่ผ่านมาเจลาตินหลายๆ ตัวอย่างมีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกัน กล่าวคือ มีองค์ประกอบของกรดอะมิโนโพรลีน ไฮดรอกซีโพรลีน และไกลซีน โดยในโมเลกุลประกอบด้วยชุดของกรดอะมิโนสามหน่วย (triplet) ของ glycine-X-Y ที่ซ้ำๆ กัน ซึ่ง X และ Y มักเป็นกรดอะมิโนโพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีน (รูปที่ 2.4) กรดอะมิโนแต่ละหน่วยย่อยเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเพปไทด์ประกอบเป็นสายพอลิเพปไทด์ สายพอลิเพปไทด์จะมีการบิดเป็นเกลียวโดยมีพันธะไฮโดรเจนเชื่อมอยู่ระหว่างกรดอะมิโน ทำให้เกิดเป็นโครงสร้างของเกลียวแอลฟา ( $\alpha$ -helix) (Hung et al., 2004) เจลาตินที่ผลิตจากคอลลาเจนจากแหล่งที่ต่างกันจะให้ความแข็งแรงของเจลที่ต่างกันด้วย ซึ่งความแข็งแรงของเจลจะสัมพันธ์กับปริมาณของกรดอะมิโนโพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีน (Harris, 1990) โดยที่โพรลีนทำให้โครงสร้างของเกลียวสามสาย (triple helix) มีความเสถียร ส่วนไฮดรอกซีโพรลีนทำให้โมเลกุลคอลลาเจนเสถียร เจลาตินที่มีปริมาณกรดอะมิโนโพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีนต่ำจะเสียสภาพที่อุณหภูมิต่ำกว่าเจลาตินที่มีกรดอะมิโนทั้งสองสูง สำหรับเจลาตินจากปลาพบว่าปริมาณกรดอะมิโนโพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีนและความเสถียรต่อความร้อนของเจลาตินสัมพันธ์กับอุณหภูมิของน้ำที่ปลาอาศัยอยู่ เจลาตินที่ได้จากปลาแต่ละชนิดจะมีปริมาณกรดอะมิโนโพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีนที่แตกต่างกัน (Cole, 2000)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของเจลาติน

ที่มา: Liu et al. (2011)

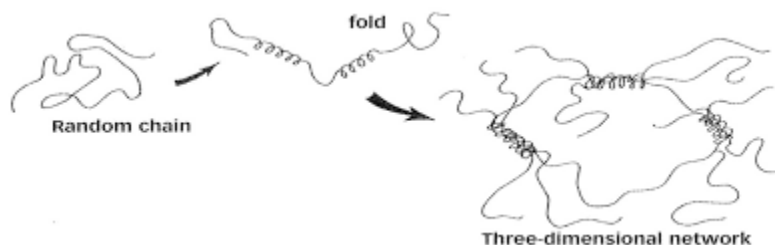
### 2.5.2 สมบัติของเจลาติน

เจลาตินเกรดดีควรจะไม่มีสีไปจนถึงมีสีอำพันสว่างหรือสีเหลืองจางๆ เมื่อทำให้เป็นสารละลาย เจลาตินเกรดต่ำจะให้สีไม่โปร่งใสไปจนถึงขุ่นหรือมีสีเหลืองส้ม ความขุ่นของเจลาตินมักเกิดเนื่องจากการกระบวนการผลิตที่ไม่ดีหรือการมีวัตถุเจือปนอื่นๆ เจลาตินละลายได้เพียงบางส่วนในน้ำเย็น การละลายเจลาตินต้องทำที่อุณหภูมิไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส ซึ่งหากสูงกว่านี้จะทำให้โครงสร้างของเจลาตินถูกทำลาย ส่งผลต่อคุณภาพของเจล อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการละลายของเจลาตินคืออุณหภูมิในช่วง 50-55 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการละลายประมาณ 20 นาที ที่ความเข้มข้นของเจลาตินเท่ากับ 6.67% (Schrieber and Gareis, 2007) ความหนืด



ของสารละลายเจลาตินขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่ใช้ เจลาตินมีความสามารถในการยึดติดจึงนำมาใช้เป็นกาวได้ (Cole, 2000)

กลไกการเกิดเจลของเจลาตินนั้น เริ่มแรกเมื่อให้ความร้อนแก่สารละลายเจลาตินจะเปลี่ยนเป็นสารละลายคอลลอยด์ (colloidal solution) หรือซอล (sol) โมเลกุลของเจลาตินจะคลายตัวออกอยู่ในรูปของเกลียวสุ่ม (random coil) แต่เมื่อทำให้อุณหภูมิต่ำลง โมเลกุลที่คลายตัวออกแล้วจะเกิดการม้วนพับ (folding) อย่างช้าๆ และเมื่ออุณหภูมิตกลงจนถึงจุดก่อเจล (gelation temperature) จะมีการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลมากขึ้น จึงเกิดการรวมตัวกันเป็นโครงสร้างร่างแหที่แข็งแรงขึ้นที่มีการเชื่อมต่อกันระหว่างโมเลกุลมากขึ้น ด้วยพันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาไอออนิก และอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก เกิดเป็นโครงร่างตาข่ายสามมิติ (รูปที่ 2.5) ซึ่งในระยนี้ทำให้พันธะและอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลเกิดขึ้นอย่างคงตัวและแข็งแรงมากขึ้น อันตรกิริยาหลักที่เกี่ยวข้องกับการเชื่อมต่อกันของโมเลกุลเจลาติน ได้แก่ พันธะไฮโดรเจน การเกิดเป็นเจลของเจลาตินจะเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของเจลาตินที่ใช้ เจลาตินจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่ความเข้มข้น 6.67% มีอุณหภูมิในการเกิดเจลอยู่ในช่วง 20-25 องศาเซลเซียส และเจลาตินปลาที่ความเข้มข้น 6.67% มีอุณหภูมิในการเกิดเจลอยู่ในช่วง 8-25 องศาเซลเซียส (Gomez et al., 2002) หลังจากเกิดเป็นเจลแล้วหากมีการให้ความร้อนแก่เจลอีกครั้ง จะเกิดการหลอมเหลวเป็นสารละลายหรือซอล การเปลี่ยนวิฤภาคระหว่างโซลและเจลนี้ เรียกว่า sol-gel transition (Schrieber and Gareis, 2007)



รูปที่ 2.5 กลไกการเกิดเจลของเจลาติน

ที่มา: Schrieber and Gareis (2007)

### 2.5.3 การนำเจลาตินไปใช้ประโยชน์

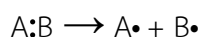
เจลาตินสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายทาง เช่น ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร มีการนำเจลาตินมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารชนิดต่างๆ เช่น ขนมหวาน ไอศกรีม โยเกิร์ต เพื่อเพิ่มความยืดหยุ่น ความข้นหนืด

และความคงตัวของผลิตภัณฑ์ ส่วนในด้านอุตสาหกรรมยา มีการนำเจลาตินมาใช้ในการเคลือบเม็ดยาและผลิตเป็นแคปซูล ทั้งชนิดแคปซูลแข็งและแคปซูลนิ่ม อุตสาหกรรมถ่ายภาพใช้เจลาตินในการเคลือบฟิล์ม มีรายงานว่าทั่วโลกมีการใช้เจลาตินสูงถึง 326,000 ตันต่อปี โดยเจลาตินที่ใช้ในอาหารมีประมาณ 30,000 ตันต่อปี และในอุตสาหกรรมยา 10,000 ตันต่อปี (GME, 2008)

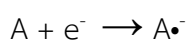
## 2.6 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือ อะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง สำหรับสัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูลอิสระแสดงด้วยจุดในตำแหน่งด้านขวาของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูลอิสระของอะตอม A แสดงด้วย  $A\cdot$  อนุมูลอิสระมีความว่องไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ โดยอนุมูลอิสระที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลอิสระที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ตัวอย่างของอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญทางชีวภาพ ได้แก่ อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ( $\cdot O_2^-$ ) อนุมูลไฮดรอกซี ( $\cdot OH$ ) อนุมูลอัลคอกซี ( $RO\cdot$ ) และอนุมูลเพอร์ไฮดรอกซี ( $HO_2\cdot$ ) อนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นอนุมูลที่มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาสูงมาก ขณะที่อนุมูลไนตริกออกไซด์ ( $\cdot NO$ ) อนุมูลวิตามินอี และอนุมูลวิตามินซี เป็นอนุมูลที่มีความว่องไวสูงรองลงมา การเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายกลไกที่แตกต่างกัน ดังนี้

การแตกออกของพันธะโควาเลนต์แบบโฮโมไลซิส



การเพิ่มอิเล็กตรอนหนึ่งตัวให้แก่อะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



การสูญเสียอิเล็กตรอนหนึ่งตัวจากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



นอกจากนี้ยังพบว่ามีการหลายชนิดที่ไม่ได้อยู่ในสถานะอนุมูลอิสระ แต่มีความเกี่ยวข้องหรือเป็นผลผลิตของอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีความคงตัวต่ำ สลายตัวได้ง่าย ได้แก่ ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) เพอร์ออกซีไนไตรท์ ( $ONOO^-$ )

อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระที่มีบทบาททางชีวภาพแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive nitrogen species, RNS) กลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive chlorine species, RCS) สารบางชนิดจัดอยู่ได้ใน 2 กลุ่ม เช่น เปอร์ออกซีไนไตรท์ (ONOO<sup>-</sup>)

สำหรับความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดโรค ทั้งเป็นต้นเหตุของการเกิดโรคและเป็นปัจจัยทำให้โรคมักมีการพัฒนาอย่างรวดเร็วและมีความรุนแรงยิ่งขึ้น โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวข้องกับความเสื่อม ความบกพร่องของเซลล์ประสาท ระบบสื่อประสาทในสมอง และภาวะขาดเลือดของอวัยวะที่สำคัญต่อการดำรงชีวิต ได้แก่ หัวใจ และสมอง นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ อนุมูลอิสระมีความว่องไวสูง ไม่คงตัว เนื่องจากมีอิเล็กตรอนเดี่ยวไร้คู่ จึงพยายามหาอิเล็กตรอนมาจับคู่ทำให้มีความคงตัวขึ้น เป้าหมายแรกที่อนุมูลอิสระทำให้เกิดความเสียหายและเป็นสาเหตุของการเกิดโรคคือชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกายที่ไวต่อการถูกออกซิไดส์ ได้แก่ ลิพิดที่เป็นองค์ประกอบของเมมเบรน โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์รีเซพเตอร์และสารสื่อประสาท และดีเอ็นเอ

ลิพิด โปรตีน และดีเอ็นเอ เป็นชีวโมเลกุลที่ถูกอนุมูลอิสระทำให้เกิดความเสียหาย ทั้งนี้เพราะชีวโมเลกุลเหล่านี้มีอิเล็กตรอนหรืออะตอมไฮโดรเจนที่หลุดออกได้ง่าย ทำให้อนุมูลอิสระเข้าไปทำปฏิกิริยาโดยเข้าไปจับคู่กับอิเล็กตรอนของชีวโมเลกุล ดึงอิเล็กตรอนหรืออะตอมไฮโดรเจนออกจากชีวโมเลกุลเหล่านั้น หรือกล่าวได้ว่าชีวโมเลกุลซึ่งได้แก่ ลิพิด โปรตีน และดีเอ็นเอ ถูกออกซิไดส์โดยอนุมูลอิสระ อุบัติการณ์เหล่านี้ทำให้สมบัติและการทำงานของชีวโมเลกุลเปลี่ยนไป เกิดความบกพร่องหรือถูกทำลาย อันเป็นเหตุของการเกิดโรค

## บทที่ 3

### วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

เจลาตินจากวัว ตราแม่กกาแรต, เกรดอาหาร (บริษัท คอนติเนนตัล ฟูด จำกัด, กรุงเทพฯ)

กลีเซอรอล, เกรดอาหาร (บริษัท สยามแอ็ปโซลูทเคมีคอล จำกัด, กรุงเทพฯ)

ผงสารสกัดดอกอัญชัน, เกรดอาหาร (บริษัท เคซี อินเทอร์เน็ต จำกัด, กรุงเทพฯ)

หมูสวรรค์ (ตลาดสามย่านใหม่, กรุงเทพฯ)

2-thiobarbituric acid, AR grade (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

Acetic acid, glacial, AR grade, QRëC™ (Quality Reagent Chemical, Pulau Pinang, Malaysia)

Chloroform, AR grade (Carlo Erba Reagents, Ronado, Italy)

Hydrochloric acid, AR grade, QRëC™ (Quality Reagent Chemical, Pulau Pinang, Malaysia)

Potassium dihydrogen phosphate, AR grade, QRëC™ (Quality Reagent Chemical, Pulau Pinang, Malaysia)

Potassium iodide, AR grade (Ajax Finechem, Taren Point, New South Wales, Australia)

Sodium thiosulfate, AR grade (Ajax Finechem, Taren Point, New South Wales, Australia)

Soluble starch, AR grade (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

Trichloroacetic acid, AR grade (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

#### 3.2 อุปกรณ์

Chroma meter, model CR-400 (Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan)

Digital thickness gauge, model 7301 (Mitutoyo, Tokyo, Japan)

Homogenizer, model X10/25 (Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany)

Laboratory hot air oven, model PRO/150 (Genlab Prime, Cheshire, UK)

Platform shaker, Innova<sup>®</sup>, model 2050 (New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA)

Scanning electron microscope, model JSM-66 10LV (JEOL, Tokyo, Japan)

Texture analyzer, model TA-X2i (Stable Micro Systems, Surrey, UK)

Ultrasonic bath, model 136H (Fisher Scientific, Schwerte, Germany)

Visible spectrophotometer, model GENESYS20 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)

Waring blender, model 8010BU (Conair Corporation, East Windsor, NJ, USA)

Water activity meter, AquaLab<sup>®</sup>, series 3TE (Decagon Devices, Pullman, WA, USA)

Water bath, model SW23 (Julabolabortechnik, Seelbach, Germany)

### 3.3 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.3.1 การศึกษาผลของสารสกัดดอกอัญชันต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน

งานวิจัยในขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาผลของความเข้มข้นสารสกัดดอกอัญชันต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน โดยเจลาตินที่ใช้เป็นเจลาตินจากวัวที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า ส่วนสารสกัดดอกอัญชันเป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่ผลิตโดยการสกัดดอกอัญชันด้วยน้ำก่อนนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอย แปรความเข้มข้นของสารสกัดดอกอัญชันเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 5, 10 และ 15% โดยน้ำหนักของเจลาติน ในการเตรียมฟิล์มใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์โดยใช้ที่ความเข้มข้น 30% โดยน้ำหนักของเจลาติน

ปริมาณส่วนประกอบที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฟิล์มแสดงดังตารางที่ 3.1 กำหนดให้ฟิล์มเจลาตินที่ไม่เติมสารสกัดดอกอัญชันเป็นตัวอย่างควบคุม วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การเตรียมตัวอย่างฟิล์มเจลาตินทำโดยดัดแปลงจากวิธีของ Yamauchi et al. (2009) สำหรับตัวอย่างควบคุมซึ่งได้แก่ฟิล์มเจลาตินที่ไม่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีขั้นตอนการเตรียมดังรูปที่ 3.1 เตรียมสารละลายฟิล์มโดยละลายเจลาตินผงปริมาณ 5.00 กรัม ในตัวทำละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{HCl}$  (พีเอช 3.6) ปริมาณ 93.50 กรัม ซึ่งมีกลีเซอรอล 1.50 กรัมผสมอยู่ด้วย จากนั้นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้โฮโมจีไนเซอร์

(รุ่น X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็วรอบ 22,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที นำสารละลายที่ได้ไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น SW23, Julabo Labortechnik, Seelbach, Germany) ที่ 40°C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน นำสารละลายฟิล์มที่ผ่านการให้ความร้อนแล้วมากำจัดฟองอากาศเป็นเวลา 10 นาที โดยใช้อ่างอัลตราโซนิก (รุ่น 136H, Fisher Scientific, Schwerte, Germany) นำสารละลายฟิล์มที่ได้มาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม โดยบีบอัดสารละลายฟิล์ม ปริมาตร 40 มิลลิลิตร บรรจุลงในแม่พิมพ์อะคริลิกขนาด 15 เซนติเมตร × 15 เซนติเมตร แล้วนำไปทำให้แห้งที่ อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ตู้อบลมร้อน (รุ่น PRO/150, Genlab Prime, Cheshire, UK) จากนั้น ลอกแผ่นฟิล์มออกและนำไปปรับสมดุล (equilibrate) ในภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 50% อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนนำตัวอย่างฟิล์มที่ได้มาวิเคราะห์สมบัติต่อไป

ตารางที่ 3.1 ปริมาณส่วนประกอบ (กรัม) ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฟิล์มเจลาติน 100 กรัม

ส่วนประกอบ	ความเข้มข้นของสารสกัดดอกอัญชันในตัวอย่างฟิล์ม (โดยน้ำหนักของเจลาติน)			
	0%	5%	10%	15%
	(ตัวอย่างควบคุม)			
<b>สารละลายเจลาติน</b>				
เจลาติน	5.00	5.00	5.00	5.00
กลีเซอรอล	1.50	1.50	1.50	1.50
ตัวทำละลาย*	93.50	53.25	53.00	52.75
<b>สารละลายผงสารสกัดดอกอัญชัน</b>				
<b>อัญชัน</b>				
ผงสารสกัดดอกอัญชัน	0	0.25	0.50	0.75
ตัวทำละลาย**	0	40.00	40.00	40.00

\* ตัวทำละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{HCl}$  (พีเอช 3.6) ส่วนที่ใช้ละลายเจลาติน

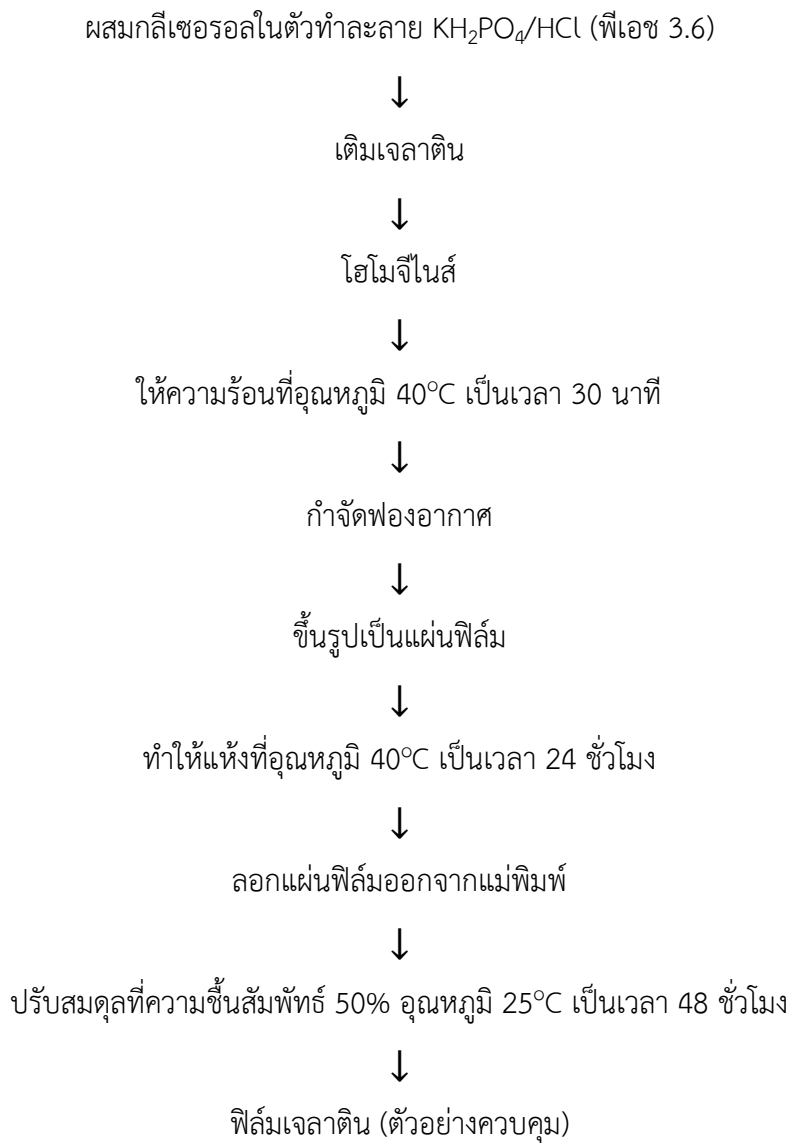
\*\* ตัวทำละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{HCl}$  (พีเอช 3.6) ส่วนที่ใช้ละลายผงสารสกัดดอกอัญชัน

สำหรับตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน มีขั้นตอนการเตรียมดังรูปที่ 3.2 เตรียมสารละลายฟิล์มโดยละลายเจลาตินผงปริมาณ 5.00 กรัม ในตัวทำละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{HCl}$  (พีเอช 3.6) (ปริมาณดังตารางที่ 3.1) ซึ่งมีกลีเซอรอล 1.50 กรัมผสมอยู่ด้วย จากนั้นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้ไฮโมจีไนเซอร์ (รุ่น X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็วรอบ 22,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที นำสารละลายที่ได้ไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น SW23, Julabo Labortechnik, Seelbach, Germany) ที่  $40^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 30 นาที เพื่อทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน จากนั้นทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ( $25^\circ\text{C}$ ) ระหว่างนี้เตรียมสารละลายผงสารสกัดดอกอัญชัน (ปริมาณดังตารางที่ 3.1) ในตัวทำละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{HCl}$  (พีเอช 3.6) ปริมาณ 40.00 กรัม จากนั้นผสมสารละลายเจลาตินและสารละลายผงสารสกัดดอกอัญชันเข้าด้วยกัน ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้ไฮโมจีไนเซอร์ (รุ่น X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็วรอบ 22,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที นำสารละลายฟิล์มมากำจัดฟองอากาศเป็นเวลา 10 นาที โดยใช้อ่างอัลตราโซนิก (รุ่น 136H, Fisher Scientific, Schwerte, Germany) นำสารละลายฟิล์มที่ได้มาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม โดยเปิดเตาละลายฟิล์มปริมาตร 40 มิลลิลิตร บรรจุลงในแม่พิมพ์อะคริลิกขนาด 15 เซนติเมตร  $\times$  15 เซนติเมตร แล้วนำไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ  $40^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ตู้อบลมร้อน (รุ่น PRO/150, Genlab Prime, Cheshire, UK) จากนั้นลอกแผ่นฟิล์มออกและนำไปปรับสมดุลในภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 50% อุณหภูมิ  $25^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนนำตัวอย่างฟิล์มที่ได้มาวิเคราะห์สมบัติต่อไป

การวิเคราะห์สมบัติของฟิล์มมีดังต่อไปนี้

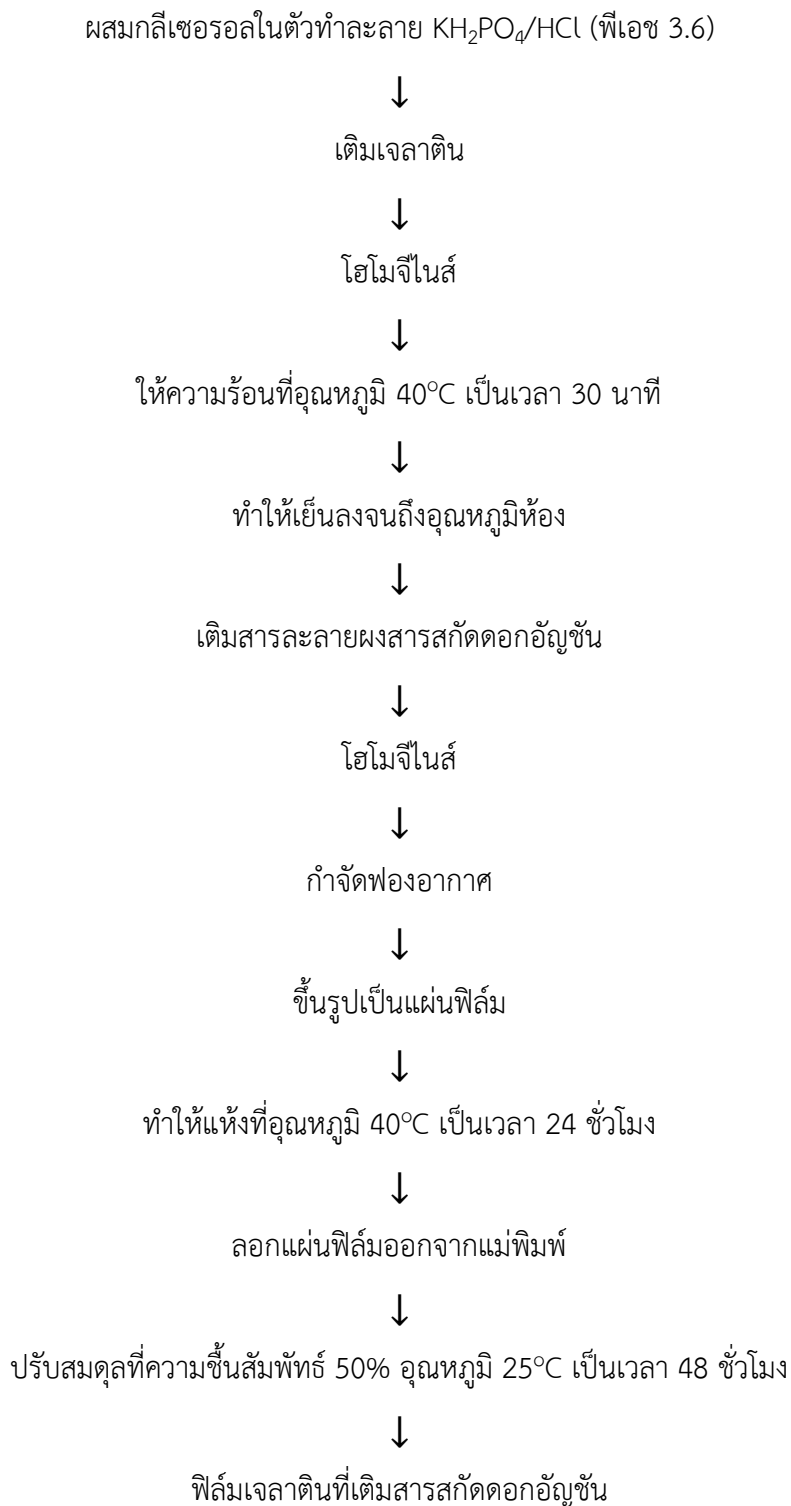
### 3.3.1.1 ความหนา

ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 3 เซนติเมตร  $\times$  10 เซนติเมตร วัดความหนาด้วยเครื่อง digital thickness gauge (รุ่น 7301, Mitutoyo, Tokyo, Japan) สุ่มวัดความหนาของตัวอย่างชิ้นละ 15 จุด นับเป็น 1 ซ้ำ



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มเจลาตินตัวอย่างควบคุม





รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

### 3.3.1.2 สมบัติเชิงกล

สมบัติเชิงกลของตัวอย่างฟิล์มวิเคราะห์โดยการทดสอบแรงดึง (tensile test) วัดความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength) และการยืดตัวถึงจุดขาด (elongation at break) ของตัวอย่างฟิล์มโดยใช้เครื่อง texture analyzer (รุ่น TA-X2i, Stable Micro Systems, Surrey, UK) ซึ่งติดตั้งด้วยโหลดเซลล์ขนาด 3 กิโลกรัม ใช้หัววัด tensile grips (A/TG) ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 3 เซนติเมตร × 8 เซนติเมตร ติดตั้งฟิล์มลงบนส่วนยึดจับ (grip) ทั้งสองด้าน โดยยึดจับด้านที่มีความกว้าง 3 เซนติเมตร กำหนดระยะห่างของส่วนยึดจับเท่ากับ 50 มิลลิเมตร และ trigger force เท่ากับ 10 กรัมแรง (g<sub>f</sub>) ดึงตัวอย่างฟิล์มด้วยความเร็ว 5.0 มิลลิเมตร/วินาที จนกระทั่งแผ่นฟิล์มขาดออกจากกัน ได้ผลการวัดในรูปของแรงที่ใช้ในการดึงขึ้นตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน (หน่วยเป็นกรัมแรง) และระยะทางที่สามารถดึงขึ้นตัวอย่างให้ยืดออกมาได้มากที่สุดก่อนที่จะขาดออกจากกัน (หน่วยเป็นมิลลิเมตร) คำนวณความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดโดยใช้สมการที่ (3.1) และ (3.2) ตามลำดับ

$$\text{ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล)} = (F \times 0.009807 \times 10^{-6})/w d \quad \dots(3.1)$$

เมื่อ  $F$  คือ แรงที่ใช้ในการดึงขึ้นตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน (กรัมแรง)

$w$  คือ ความกว้างของชิ้นตัวอย่าง (เมตร)

$d$  คือ ความหนาของชิ้นตัวอย่าง (เมตร)

$$\text{การยืดตัวถึงจุดขาด (\%)} = L_f \times 100/L_i \quad \dots(3.2)$$

เมื่อ  $L_f$  คือ ระยะทางที่สามารถดึงขึ้นตัวอย่างให้ยืดออกมาได้มากที่สุดก่อนที่จะขาดออกจากกัน (มิลลิเมตร)

$L_i$  คือ ความยาวของชิ้นตัวอย่างระหว่างส่วนยึดจับก่อนดึง (มิลลิเมตร)

### 3.3.1.3 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (water vapor permeability, WVP)

วิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐาน ASTM (1999) โดยนำซิลิกาเจลมาอบให้แห้งแล้วบรรจุลงในถ้วยตัวอย่าง (permeation cup) นำตัวอย่างฟิล์มขนาด 6 เซนติเมตร × 6 เซนติเมตร วางลงบนปากถ้วยและรัดด้วยยางวง จากนั้นพันพาราฟิล์มที่ครอบตำแหน่งของยางวงอีกชั้นหนึ่ง แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักที่ได้เป็นน้ำหนักเริ่มต้น จากนั้นนำถ้วยที่ติดตั้งฟิล์มตัวอย่างไปบรรจุในเดซิเคเตอร์ที่อิ่มตัวด้วยน้ำกลั่น เก็บรักษาไว้ที่

อุณหภูมิห้อง (25°C) ติดตามการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของถ้วยตัวอย่างจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ คำนวณสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำโดยใช้สมการที่ 3.3

$$\text{สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (g m/Pa h m}^2\text{)} = W L/A t (\Delta P) \quad \dots(3.3)$$

เมื่อ  $w$  คือ น้ำหนักของถ้วยตัวอย่าง (กรัม)

$L$  คือ ความหนาของแผ่นฟิล์ม (เมตร)

$A$  คือ พื้นที่หน้าตัดของแผ่นฟิล์มที่ไอน้ำผ่านได้ (ตารางเมตร)

$t$  คือ เวลาที่น้ำหนักของถ้วยตัวอย่างคงที่ (ชั่วโมง)

$\Delta P$  คือ ความแตกต่างของความดันไอน้ำระหว่างสองด้านของแผ่นฟิล์ม (พาสคาล)

#### 3.3.1.4 ความสามารถในการละลายน้ำ (water solubility)

วิเคราะห์ความสามารถในการละลายน้ำของตัวอย่างฟิล์มตามวิธีของ Jangchud and Chinnan (1999) ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 2 เซนติเมตร  $\times$  2 เซนติเมตร บันทึกน้ำหนักเริ่มต้นของตัวอย่างฟิล์ม บรรจุตัวอย่างฟิล์มที่ซึมน้ำหนักแล้วลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องเขย่า Innova<sup>®</sup> (รุ่น 2050, New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA) ที่อุณหภูมิห้อง (25°C) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองตัวอย่างผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 4 ที่อบแห้งและบันทึกน้ำหนักไว้แล้ว ชะด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำกระดาษกรองพร้อมตัวอย่างที่ค้างอยู่บนกระดาษกรองไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน (รุ่น PRO/150, Genlab Prime, Cheshire, UK) ที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง (25°C) แล้วนำมาชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณความสามารถในการละลายน้ำโดยใช้สมการที่ 3.4

$$\text{ความสามารถในการละลายน้ำ} = (W_i - W_f) \times 100/W_i \quad \dots(3.4)$$

เมื่อ  $W_i$  คือ น้ำหนักตัวอย่างฟิล์มเริ่มต้น (กรัม)

$W_f$  คือ น้ำหนักของตัวอย่างฟิล์มหลังอบแห้ง (กรัม)

### 3.3.1.5 ความโปร่งแสง (transparency)

วัดความโปร่งแสงของตัวอย่างฟิล์มในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน (%transmittance) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Tang et al. (2005) ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 1 เซนติเมตร × 4 เซนติเมตร ติดตั้งตัวอย่างฟิล์มลงบนพื้นผิวด้านในของด้านที่แสงส่องผ่านของคิวเวตต์แก้ว วัดร้อยละของแสงส่องผ่านด้วย visible spectrophotometer (รุ่น GENESYS20, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร โดยกำหนดให้ร้อยละของแสงที่ส่องผ่านคิวเวตต์เปล่า (แบล็ก) มีค่าเท่ากับ 100

### 3.3.1.6 สี

วัดค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  ในระบบ CIELAB ด้วย chroma meter (รุ่น CR-400, Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan) ภายใต้แหล่งกำเนิดแสง D65 มุมมอง  $10^\circ$  จากนั้นนำค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  ที่ได้มาคำนวณมุมสี (hue angle) และความเข้มสี (chroma) โดยใช้สมการที่ 3.5 และ 3.6 สุ่มวัดสีตัวอย่างละ 5 จุด นับเป็น 1 ซ้ำ

$$\text{มุมสี (องศา)} = \arctan (b^*/a^*) \quad \dots(3.5)$$

$$\text{ความเข้มสี} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad \dots(3.6)$$

### 3.3.1.7 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวาง

ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 5 เซนติเมตร × 5 เซนติเมตร เก็บไว้ในภาชนะปิดสนิทที่บรรจุซิลิกาเจลเป็นเวลา 7 วัน

ในการศึกษาลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวาง เตรียมตัวอย่างโดยตัดแต่งชิ้นฟิล์มให้มีขนาดเล็กกว่าแท่นติดตั้งตัวอย่าง แล้วจุ่มลงในไนโตรเจนเหลวเพื่อแช่แข็ง หักตัวอย่างฟิล์มแล้วทิ้งไว้ให้ตัวอย่างฟิล์มอ่อนตัวลง จากนั้นติดตั้งตัวอย่างลงบนแท่นติดตั้งตัวอย่างแล้วฉาบด้วยทอง ศึกษาลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (รุ่น JSM-6610LV, JEOL, Tokyo, Japan) ที่กำลังขยาย 1500 เท่า

### 3.3.1.8 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

สกัดสารประกอบฟีนอลิกจากตัวอย่างฟิล์มโดยนำตัวอย่างฟิล์ม 0.25 กรัม ปั่นผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ด้วย Waring® blender (model 8010BU, Conair Corporation, East Windsor, NJ, USA) จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปเขย่าอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องเขย่า Innova® (model 2050, New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำมากรอง แล้วนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie and Strain (1996) (ภาคผนวก ก.1) และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams et al. (1995) (ภาคผนวก ก.2)

### 3.3.2 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพในระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์หมูสวรรค์ที่ห่อด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

นำตัวอย่างฟิล์มที่พัฒนาในหัวข้อที่ 3.3.1 มาศึกษาการประยุกต์เพื่อการห่อหุ้มผลิตภัณฑ์อาหาร โดยผลิตภัณฑ์อาหารที่เลือกมาเป็นตัวอย่าง ได้แก่ หมูสวรรค์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า นำหมูสวรรค์มาตัดแต่งเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมผืนผ้าหน้าหนาขึ้นละ 10 กรัม ติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

สำหรับตัวอย่างฟิล์มเจลลาตินที่นำมาห่อหุ้มหมูสวรรค์ เตรียมแผ่นฟิล์มโดยตัดแต่งให้มีขนาด 6 เซนติเมตร × 6 เซนติเมตร แล้วจึงนำมาห่อหุ้มชิ้นหมูสวรรค์ โดยห่อในลักษณะบิดหัวท้าย (twist wrap) บรรจุชิ้นหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มแล้วลงในกล่องพลาสติกใสปิดสนิท เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25°C) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ โดยทุก 2 วัน สุ่มตัวอย่างหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มมาวิเคราะห์สมบัติดังต่อไปนี้ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

#### 3.3.2.1 ปริมาณความชื้น

วิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีของ AOAC (2000) โดยนำฟิล์มที่ห่อหุ้มชิ้นหมูสวรรค์ ออก นำตัวอย่างหมูสวรรค์มาบดให้ละเอียด ซึ่งตัวอย่างประมาณ 5 กรัม ให้ทราน้ำหนักที่แน่นอน บรรจุลงในจานอลูมิเนียมที่อบแห้งและทราน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำตัวอย่างเข้าอบในตู้อบลมร้อน (รุ่น PRO/150, Genlab Prime, Cheshire, UK) ที่ 105°C จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์และนำมาชั่งน้ำหนักหลังอบ คำนวณปริมาณความชื้นเป็นร้อยละโดยน้ำหนักเปียก

### 3.3.2.2 วอเตอร์แอกทิวิตี

วัดวอเตอร์แอกทิวิตีของหมูสวรรค์ที่อุณหภูมิ 25°C โดยใช้เครื่อง AquaLab® (รุ่น 3TE, Decagon Devices, Pullman, WA, USA)

### 3.3.2.3 Thiobarbituric acid reactive substances (TBARs)

ติดตามการเกิดออกซิเดชันของไขมันในหมูสวรรค์โดยวัดค่า TBARs ตามวิธีที่ของ Witte et al. (1970) (ภาคผนวก ก.3) โดยนำตัวอย่างหมูสวรรค์ที่บดแล้วปริมาณ 10 กรัม มาเติม trichloroacetic acid ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นปรับปริมาตรของผสมที่ได้ด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 50 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรอง จากนั้นบีบอัดส่วนที่กรองได้ปริมาณ 5 มิลลิลิตร แล้วเติม 2-thiobarbituric acid 5 มิลลิลิตร ให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 100°C เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งให้เย็น จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณค่า TBARs โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ malondialdehyde (MDA) และรายงานค่าในหน่วย mg malondialdehyde (MDA)/kg meat

### 3.3.2.4 ค่าเพอร์ออกไซด์ (peroxide value, PV)

สกัดไขมันจากตัวอย่างหมูสวรรค์ตามวิธีของ Shahidi (2005) (ภาคผนวก ก.4) และติดตามการเกิดออกซิเดชันของไขมันในหมูสวรรค์โดยวัดค่า PV ตามวิธีของ AOAC (1995) (ภาคผนวก ก.5) โดยชั่งน้ำมันที่สกัดได้จากหมูสวรรค์ปริมาณ 5 กรัม บรรจุลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมนสารละลายผสมของกรดแอสติก-คลอโรฟอร์ม (3:2) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร จากนั้นเติมนสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัว ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และเขย่าสารละลายที่ได้เป็นเวลา 1 นาที ในที่มืด เติมน้ำกลั่นทันที 30 มิลลิลิตร จากนั้นไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเข้มข้น 0.01 นอร์มัล จนกระทั่งได้สารละลายสีเหลืองอ่อน เติมนสารละลายสตาร์ชเข้มข้น 1% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วไทเทรตต่อจนสีน้ำเงินจางหายไป บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ในการไทเทรต จากนั้นทำแบลงก์ตามวิธีเดียวกันที่กล่าวมาข้างต้น แต่ไม่ใส่น้ำมันจากหมูสวรรค์ คำนวณ PV โดยใช้สมการ 3.7

$$PV \text{ (milliequivalents peroxide/1000 g sample)} = (S-B) \times N \times 1000/M \quad \dots(3.7)$$

เมื่อ S คือ ปริมาตรสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ในการไทเทรตแบลงก์ (มิลลิลิตร)

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต (นอร์มัล)

M คือ น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

### 3.3.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test (Cochran and Cox, 1957) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 ผลของสารสกัดดอกอัญชันต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน

งานวิจัยในขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดดอกอัญชันต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน โดยแปรความเข้มข้นของสารสกัดจากดอกอัญชันเป็น 3 ระดับได้แก่ 5, 10 และ 15% โดยน้ำหนักของเจลาติน ตัวอย่างควบคุมได้แก่ฟิล์มเจลาตินที่ไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน ได้ผลการวิเคราะห์สมบัติของตัวอย่างฟิล์มดังนี้

##### 4.1.1 ความหนา

ความหนาของตัวอย่างฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันแสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่าฟิล์มทุกตัวอย่างมีความหนาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.129-0.137 มิลลิเมตร Cuq et al. (1996) และ Galus et al. (2012) เสนอว่าปัจจัยที่มีผลต่อความหนาของฟิล์ม ได้แก่ ปริมาณของแข็งและภาวะที่ใช้ในการผลิตฟิล์ม เนื่องจากตัวอย่างฟิล์มที่ผลิตในงานวิจัยนี้มีปริมาณของแข็งที่ใกล้เคียงกันและผลิตภายใต้ภาวะเดียวกัน การเติมสารสกัดดอกอัญชันจึงไม่มีผลต่อความหนาของตัวอย่างฟิล์ม

ตารางที่ 4.1 ความหนาของฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (%)	ความหนา (มิลลิเมตร) <sup>ns</sup>
ตัวอย่างควบคุม	0	0.137 ± 0.032
ฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	5	0.131 ± 0.024
	10	0.129 ± 0.032
	15	0.130 ± 0.027

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>ns</sup> ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ )

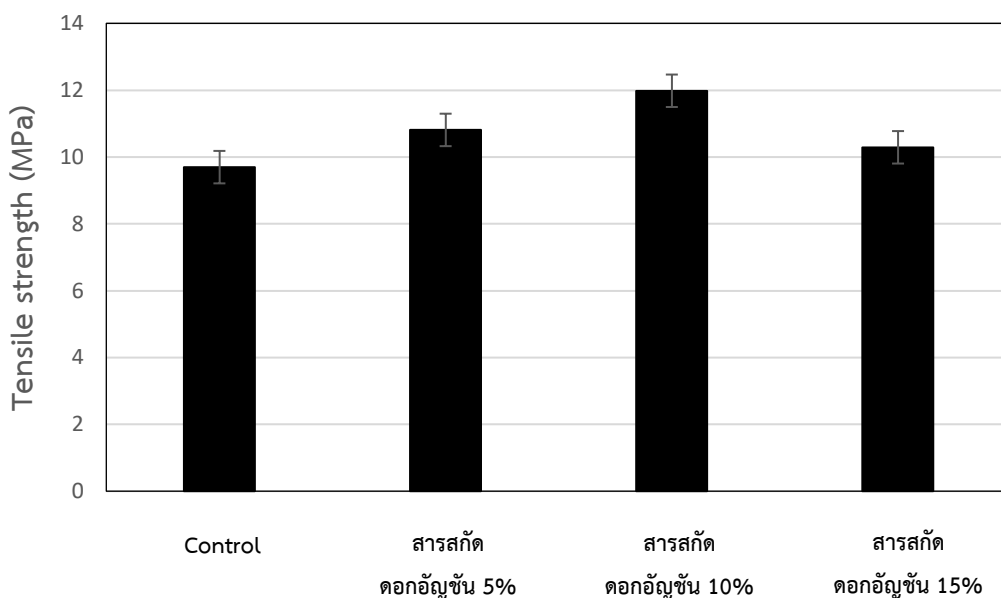
ความหนาเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อสมบัติด้านอื่นๆ ของฟิล์ม เช่น สมบัติเชิงกล ความโปร่งแสง และสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ เนื่องจากตัวอย่างฟิล์มที่ผลิตในงานวิจัยนี้มีความหนาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) ดังนั้นสมบัติด้านใดด้านหนึ่งที่อาจแตกต่างกันของตัวอย่างฟิล์มจึงไม่ได้เป็นผลมาจากความหนา



#### 4.1.2 สมบัติเชิงกล

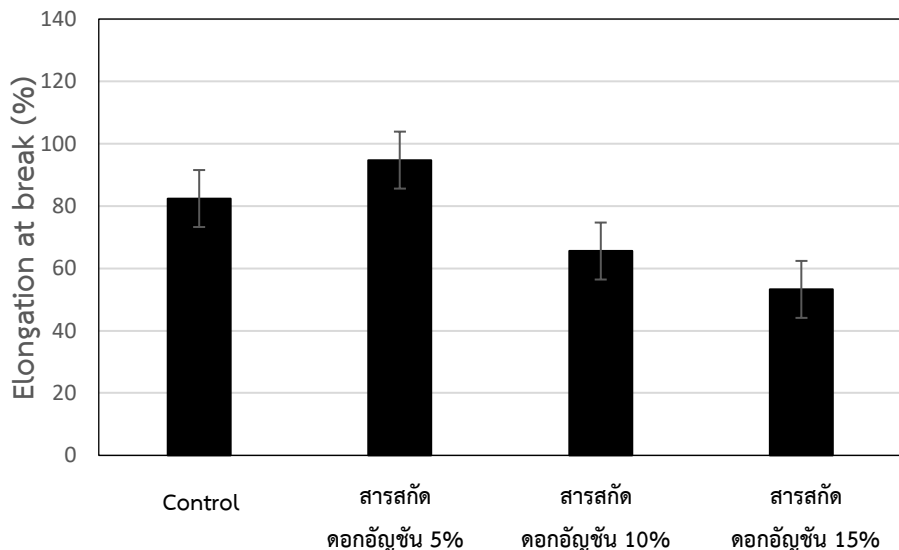
ในงานวิจัยนี้วิเคราะห์สมบัติเชิงกลของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันในรูปความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาด

ความต้านทานแรงดึงขาดของตัวอย่างฟิล์มแสดงดังรูปที่ 4.1 พบว่าฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าตัวอย่างควบคุม อย่างไรก็ตามค่าความต้านทานแรงดึงขาดของทุกตัวอย่างไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้พบว่าความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนถึงความเข้มข้นของสารสกัด 10% และเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มเป็น 15% ความต้านทานแรงดึงขาดกลับมีแนวโน้มลดลง



รูปที่ 4.1 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

รูปที่ 4.2 แสดงการยืดตัวถึงจุดขาดของตัวอย่างฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน พบว่าการยืดตัวถึงจุดขาดของทุกตัวอย่างมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้พบว่าการยืดตัวถึงจุดขาดของตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มสูงขึ้น



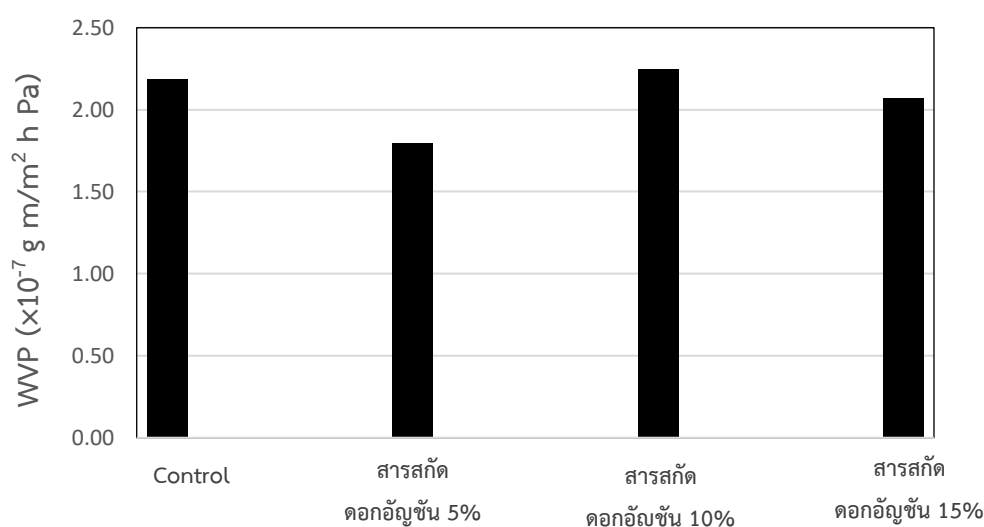
รูปที่ 4.2 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

สำหรับการจับกัน (binding) ของแอนโทไซยานินกับโปรตีนนั้นมีการรายงานที่น้อยมาก โดยมีเพียงรายงานการจับกันของแอนโทไซยานินกับซีรัมอัลบูมินของมนุษย์ (human serum albumin) ไกลอะตินของข้าวสาลี และโซเดียมเคซีเนต (Dangles and Fenger, 2018) แต่จากการตรวจสอบเอกสารยังไม่พบรายงานที่กล่าวถึงการทำให้เกิดการเชื่อมข้ามโปรตีนของแอนโทไซยานิน จึงเป็นไปได้ว่าแอนโทไซยานินไม่ทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีน การเติมสารสกัดดอกอัญชันจึงไม่ส่งผลต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์มเจลลาติน ซึ่งต่างจากสารประกอบฟีนอลิกอื่นที่มีรายงานถึงประสิทธิภาพในการเชื่อมข้ามโปรตีนและการช่วยปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน

สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลของสารประกอบฟีนอลิกต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีน Biao et al. (2019) ศึกษาสมบัติของฟิล์มแอททิพริโภาคใต้ที่ผลิตโดยเติมพอลิฟีนอลจากชาในแคลเซียมแอลจีเนตไฮโดรเจล จากงานวิจัยดังกล่าวพบว่าความเข้มข้นของพอลิฟีนอลมีผลต่อสมบัติของฟิล์ม โดยพอลิฟีนอลส่งผลต่อการจัดโครงสร้างและอันตรกิริยาของโปรตีนในการเกิดเป็นโครงสร้างเจล การจะเกิดเป็นโครงสร้างร่างแหของโปรตีนที่ดีได้ต้องมีปริมาณของพอลิฟีนอลที่เหมาะสมซึ่งจะทำให้ได้ฟิล์มที่มีความแข็งแรงและยืดหยุ่น หากปริมาณของพอลิฟีนอลมีมากเกินไปอาจส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาการเชื่อมข้ามที่มากเกินไปซึ่งจะทำให้ฟิล์มที่ได้มีความเปราะและแตกหักได้ง่าย

#### 4.1.3 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่างฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันแสดงดังรูปที่ 4.3 พบว่าสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีค่าไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ยกเว้นฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของเจลาติน ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจาก ข้อสันนิษฐานที่ว่าแอนโทไซยานินไม่ทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีน จึงไม่ส่งผลต่อโครงสร้างและการยอมให้ไอน้ำซึมผ่านของฟิล์ม อันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างพอลิเมอร์ที่เป็นฐานของฟิล์มสามารถส่งผลต่อโครงสร้างและการยอมให้ไอน้ำซึมผ่านของฟิล์มได้ ตัวอย่างเช่น Hong et al. (2009) ศึกษาผลของสารสกัดชาเขียวต่อสมบัติของฟิล์มคอมพอสิตของไฮโดรคอลลอยด์จากสาหร่ายเจลิเดียมและเจลาติน พบว่าการเติมสารสกัดชาเขียวส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำลดลง การยอมให้ไอน้ำซึมผ่านได้น้อยลงนี้เป็นผลมาจากอันตรกิริยาระหว่างพอลิเมอร์ที่เพิ่มขึ้นจากบทบาทของพอลิฟีนอลในสารสกัดชาเขียว

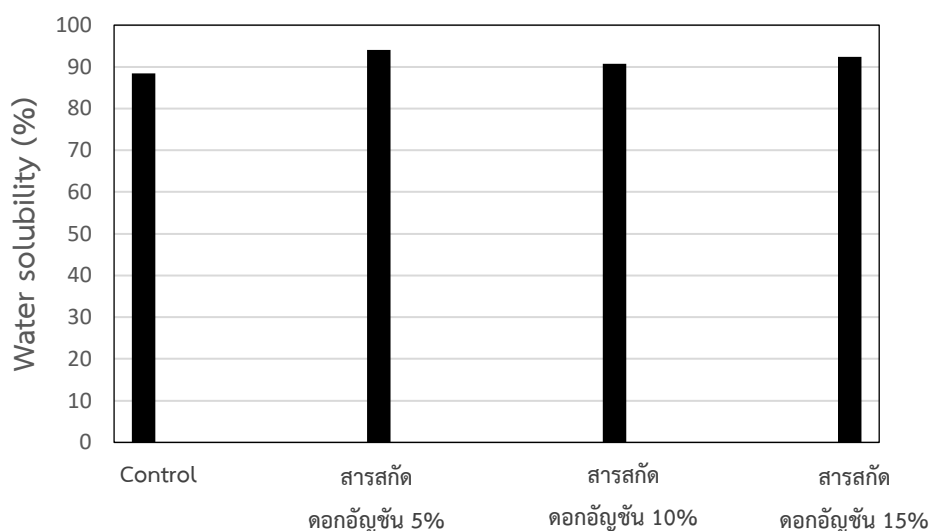


รูปที่ 4.3 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (water vapor permeability, WVP) ของฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

#### 4.1.4 ความสามารถในการละลายน้ำ

ความสามารถในการละลายน้ำของตัวอย่างฟิล์มแสดงดังรูปที่ 4.4 พบว่าความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ทั้งนี้ อาจเกิดจากสาเหตุที่ได้อภิปรายไปแล้ว กล่าวคือแอนโทไซยานินในสารสกัดดอกอัญชันไม่ทำให้เกิดการเชื่อมข้าม

ของโปรตีน โดยงานวิจัยก่อนหน้านี้นี้รายงานว่า การเชื่อมข้ามของโปรตีนอาจมีผลต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์ม ตัวอย่างเช่น Giménez et al. (2013) ศึกษาผลของการเติมสารสกัดชาเขียวในฟิล์มคอมพอสิตอะคาร์-เจลลาติน และรายงานว่า การเติมสารสกัดชาเขียวทำให้ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเพิ่มขึ้น 2 เท่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยก่อนหน้านี้นี้ Gómez-Estaca et al. (2009) รายงานในทำนองเดียวกันว่าฟิล์มเจลลาตินปลาที่เติมสารสกัดจากออริกาโนและโรสแมรี่มีความสามารถในการละลายน้ำเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า

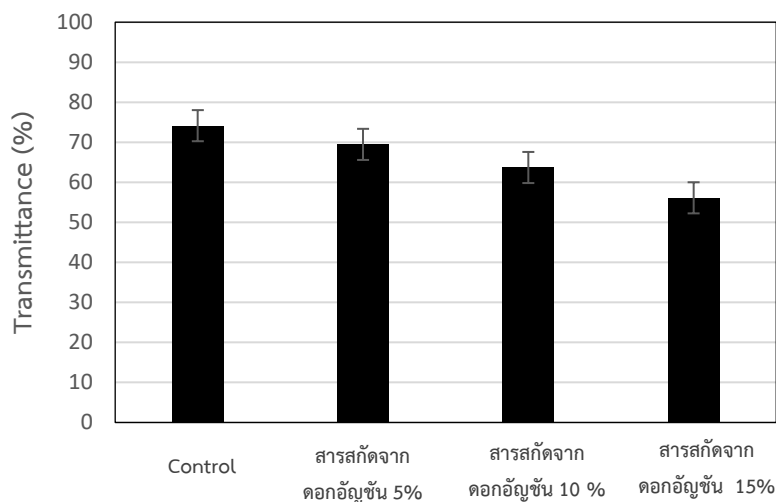


รูปที่ 4.4 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

#### 4.1.5 ความโปร่งแสง

รูปที่ 4.5 แสดงความโปร่งแสงของตัวอย่างฟิล์มในรูปร่างของแสงส่องผ่าน พบว่าโดยทั่วไปตัวอย่างที่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีร้อยละของแสงส่องผ่านต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม โดยร้อยละของแสงส่องผ่านมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดดอกอัญชันเพิ่มขึ้น Gonzalez et al. (2011) และ Tang et al. (2005) รายงานว่าชนิดของพืชที่ใช้เตรียมสารสกัดและสถานะออกซิเดชันไม่มีผลต่อความโปร่งแสงของฟิล์มมากนัก ความโปร่งแสงของฟิล์มที่ลดลงนี้อาจเนื่องมาจากสีของสารสกัดที่มีสีเข้มทำให้แสงส่องผ่านได้น้อยลง นอกจากนี้ยังอาจเนื่องมาจากผลิตภัณฑ์ที่มีสีของปฏิกิริยาระหว่างแอนโทไซยานินและสารประกอบฟีนอลิกอื่นในสารสกัดกับโปรตีน (Pierpoint, 1969)

สำหรับรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ Chambi and Grosso (2011) รายงานในทำนองเดียวกันว่าฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดจากเปลือกส้มมีความทึบแสงมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกส้มสูงขึ้น ผู้วิจัยอธิบายว่าสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกส้มจะไปทำอันตรกิริยากับเจลลาติน จึงทำให้ความทึบแสงของฟิล์มเพิ่มมากขึ้น



รูปที่ 4.5 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร่างของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

#### 4.1.6 สี

ค่าสีในระบบ CIELAB ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันแสดงในตารางที่ 4.2 พบว่าค่า  $L^*$  (ความสว่าง) มีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดดอกอัญชันเพิ่มขึ้น ในขณะที่  $-a^*$  (สีเขียว) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดดอกอัญชันเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม  $-a^*$  ของทุกตัวอย่างไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ส่วน  $b^*$  เปลี่ยนแปลงจากค่าที่เป็นบวก (สีเหลือง) ในตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่เติมสารสกัดอัญชัน 5% จนกระทั่งมีค่าเป็นลบ (สีน้ำเงิน) ในตัวอย่างที่เติมสารสกัดอัญชัน 10 และ 15% ซึ่งเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าก็พบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีสีน้ำเงินเข้มกว่าตัวอย่างควบคุม และความเข้มของสีน้ำเงินมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดดอกอัญชันเพิ่มขึ้น สีของฟิล์มโปรตีนที่เติมสารสกัดพืชเป็นผลจากปัจจัยหลายประการ ทั้งสีตามธรรมชาติของสารสกัดเอง สีของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาของสารประกอบในสารสกัดกับโปรตีน หรือรวมไปถึงสีของสารประกอบโมเลกุลใหญ่ที่เกิดจากพอลิเมอร์ไรเซชันของสารประกอบฟีนอลิก (Pierpoint, 1969)

ผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ ศุภณัฐ สละชีพ และคณะ (2018) ศึกษาผลของการเติมสารสกัดดอกอัญชันต่อสมบัติด้านสีของฟิล์มเจลาติน พบว่าค่า  $L^*$  (ความสว่าง) แปรผกผันกับปริมาณสารสกัด ส่วนค่า  $-b^*$  (สีน้ำเงิน) แปรตามปริมาณสารสกัด

ตารางที่ 4.2 CIE  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  ของฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (%)	$L^*$	$a^*$ <sup>ns</sup>	$b^*$
ตัวอย่างควบคุม	0	95.00 <sup>a</sup> ± 0.93	-0.50 ± 0.17	5.54 <sup>a</sup> ± 0.88
ฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	5	91.95 <sup>a</sup> ± 1.79	-0.96 ± 0.48	1.75 <sup>b</sup> ± 0.48
	10	88.27 <sup>a</sup> ± 2.29	-1.67 ± 0.30	-4.99 <sup>c</sup> ± 0.80
	15	85.33 <sup>b</sup> ± 2.02	-1.84 ± 0.40	-5.32 <sup>d</sup> ± 1.31

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

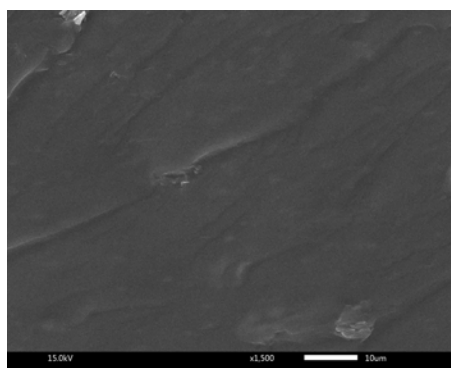
<sup>ns</sup> ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

#### 4.1.7 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวาง

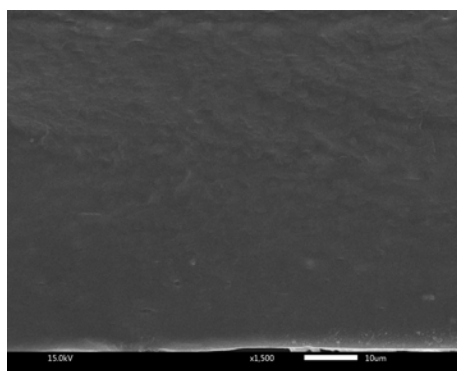
จากการศึกษาลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (รูปที่ 4.6) พบว่าฟิล์มทุกตัวอย่างมีโครงสร้างภาคตัดขวางที่แน่นและค่อนข้างสม่ำเสมอ ตัวอย่างที่เติมสารสกัดดอกอัญชันอาจมีโครงสร้างที่ดูสม่ำเสมอขึ้นลง ทั้งนี้อาจเนื่องจากการมีวัตถุเติมแต่ง (สารสกัด) ที่เพิ่มเข้าไปในปริมาณสูงในเมทริกซ์ของฟิล์ม



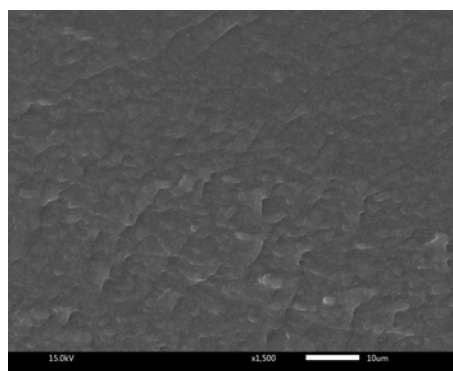
Control



สารสกัดดอกอัญชัน 5%



สารสกัดดอกอัญชัน 10%



สารสกัดดอกอัญชัน 15%

รูปที่ 4.6 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน ถ่ายที่กำลังขยาย 1500 เท่า

#### 4.1.8 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันแสดงดังตารางที่ 4.3 พบว่า ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มที่วิเคราะห์ด้วย DPPH radical scavenging activity assay และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ให้ผลที่สอดคล้องกัน กล่าวคือ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์โดย DPPH และ FRAP ของฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีค่าสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดดอกอัญชันเพิ่มขึ้น ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากดอกอัญชันประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญได้แก่แอนโทไซยานินซึ่งมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน (จตุพร ประทุมเทศ, 2562)

ตารางที่ 4.3ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (%)	FRAP (มิลลิโมลาร์, สมมูลของโทรลอกซ์)	DPPH (ไมโครโมลาร์, สมมูลของโทรลอกซ์)
ตัวอย่างควบคุม	0	0.063 <sup>d</sup> ± 0.020	10.09 <sup>d</sup> ± 0.19
ฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	5	0.069 <sup>c</sup> ± 0.020	26.10 <sup>c</sup> ± 0.2
	10	0.086 <sup>b</sup> ± 0.082	34.43 <sup>b</sup> ± 0.28
	15	0.100 <sup>a</sup> ± 0.032	48.14 <sup>a</sup> ± 0.18

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c... ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

ก่อนหน้านี้มีรายงานว่าส่วนต่างๆ ของอัญชันมีเมแทบอลิท์ทุติยภูมิอยู่หลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารในกลุ่มฟอลิฟีนอล เช่น แอนโทไซยานิน ที่พบในส่วนของดอก ยกเว้นดอกที่มีกลีบสีขาว (Terahara et al., 1996; Kazuma et al., 2003) แอนโทไซยานินเป็นสารสีที่ให้สีแดง น้ำเงิน หรือม่วง กับส่วนกลีบดอก ผล และลำต้น อีกทั้งยังมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Mlodzinska, 2009) นอกจากนี้อัญชันยังมีสารในกลุ่มฟีนอลิกอีกหลายชนิด ซึ่งมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเช่นกัน (Mukherjee et al., 2008) โดยสารประกอบฟีนอลิกในพืชมักจะเกิดขึ้นเพื่อตอบสนองต่อความเครียดทางสภาพแวดล้อมต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิต่ำ ความเข้มแสงสูง สภาพขาดธาตุอาหารในดิน (Lattanzio, 2013) สารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญในดอกอัญชันอีกชนิดหนึ่งได้แก่ เจนิสทีน (genistein) ซึ่งมีบทบาทในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเช่นกัน

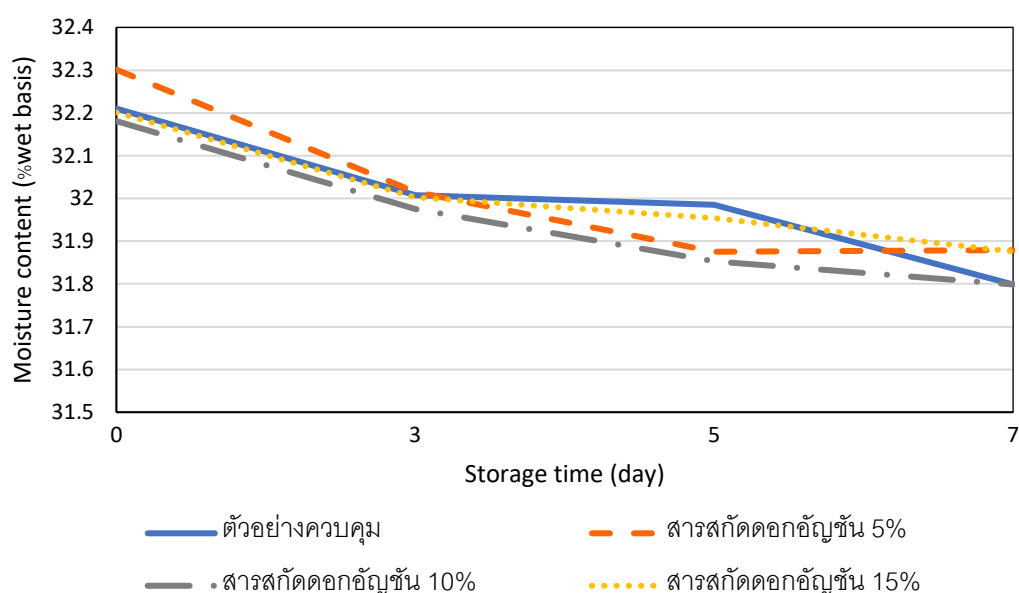
#### 4.2 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพในระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์หมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

การวิจัยในขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์หมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันเข้มข้น 5, 10 และ 15% โดยน้ำหนักของเจลลาตินเปรียบเทียบกับหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มตัวอย่างควบคุม ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ที่อุณหภูมิห้อง (25°C) โดยประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ณ วันที่ 0, 3, 5, และ 7 ของการเก็บรักษา ได้ผลการทดลองดังนี้



#### 4.2.1 ปริมาณความชื้น

รูปที่ 4.7 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณความชื้นในระหว่างการเก็บรักษาของหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันเปรียบเทียบกับหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มตัวอย่างควบคุม

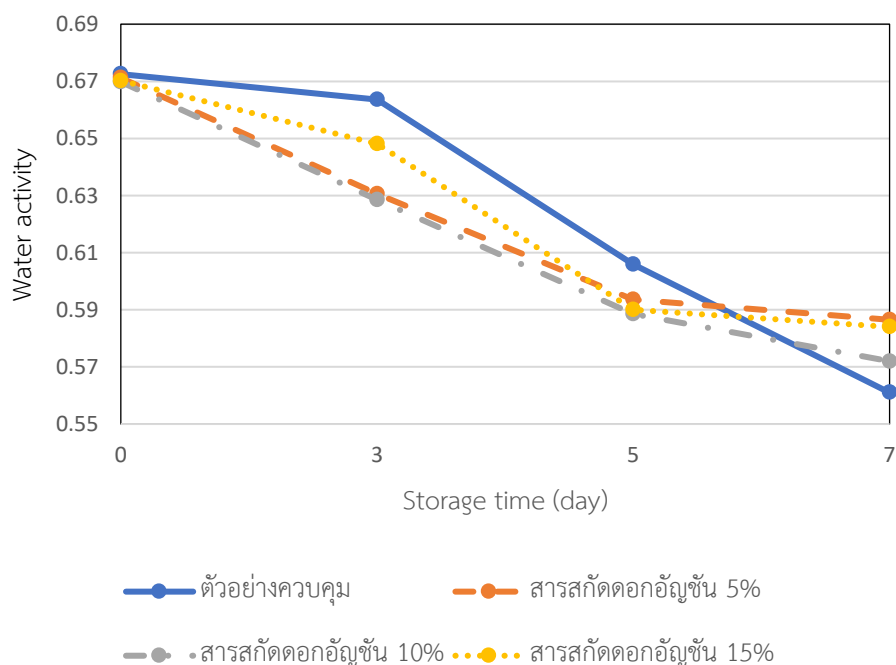


รูปที่ 4.7 ปริมาณความชื้นในระหว่างการเก็บรักษาของหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

จากรูปที่ 4.7 พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นหมูสวรรค์ทุกตัวอย่างมีปริมาณความชื้นลดลง เนื่องจากเคลื่อนย้ายของความชื้น (moisture migration) จากหมูสวรรค์ซึ่งมีวอเตอร์แอกทิวิตีสูงกว่าไปยังบรรยากาศรอบๆ ซึ่งมีวอเตอร์แอกทิวิตีต่ำกว่า โดยปริมาณความชื้นของหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มทุกตัวอย่างมีการเปลี่ยนแปลงที่ใกล้เคียงกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากฟิล์มเจลลาตินประกอบด้วยทั้งเจลลาตินและกลีเซอรอลที่มีสมบัติชอบน้ำ ฟิล์มที่ได้จึงป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ไม่ดัดนัก สอดคล้องกับผลการทดลองในหัวข้อ 4.1.3 ซึ่งพบว่าฟิล์มทุกตัวอย่างมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำที่ใกล้เคียงกัน

#### 4.2.2 วอเตอร์แอกทिवิตี

รูปที่ 4.8 แสดงการเปลี่ยนแปลงของวอเตอร์แอกทिवิตีในระหว่างการเก็บรักษาของหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

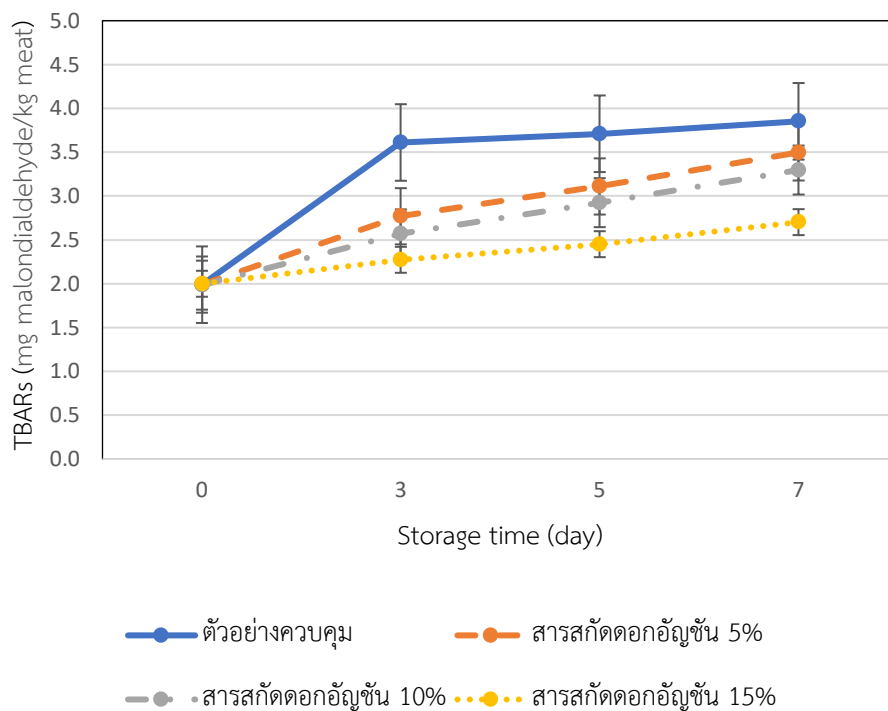


รูปที่ 4.8 วอเตอร์แอกทिवิตีในระหว่างการเก็บรักษาของหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

ตัวอย่างหมูสวรรค์มีค่าวอเตอร์แอกทिवิตีเริ่มต้นเท่ากับ 0.671 (วันที่ 0) จัดเป็นอาหารประเภทความชื้นปานกลาง (Vermeule et al., 2012) จากรูปที่ 4.8 พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น หมูสวรรค์ทุกตัวอย่างมีวอเตอร์แอกทिवิตีลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ซึ่งเป็นผลมาจากการสูญเสียความชื้นจากหมูสวรรค์ไปยังบรรยากาศรอบๆ ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณความชื้น (4.2.1) โดยวันที่ 0 วอเตอร์แอกทिवิตีของหมูสวรรค์ทุกตัวอย่างไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามในวันที่ 7 วอเตอร์แอกทिवิตีของตัวอย่างหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มตัวอย่างควบคุมมีค่าลดลงมากที่สุด ส่วนตัวอย่างหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีค่าใกล้เคียงกัน

### 4.2.3 TBARs

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโปรตีนเป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญของการเสื่อมเสียคุณภาพของเนื้อสัตว์ (Gallo et al., 2012) ผลิตภัณฑ์หมูพร้อมบริโภคที่แช่ตู้เย็นจะถูกออกซิไดส์ได้รวดเร็วกว่าเนื้อวัวและเนื้อแกะ เนื่องมาจากปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวของเนื้อหมูที่สูงกว่า (Botsoglou et al., 2014) การเปลี่ยนแปลงของ TBARs ของตัวอย่างหมูสวรรค์ระหว่างการเก็บรักษาแสดงในรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 ค่า TBARs ในระหว่างการเก็บรักษาของหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

จากรูปที่ 4.9 พบว่าหมูสวรรค์ทุกตัวอย่างมีค่า TBARs เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ ชิดชนก ศุขศรีไพศาล (2559) โดย Matsushita (1990) และ Kilcast and Subramaniam (2000) อธิบายว่าการที่ภายในบรรจุภัณฑ์มีออกซิเจนอยู่หรือวัสดุที่เป็นบรรจุภัณฑ์ยอมให้ออกซิเจนผ่านได้ ทำให้เกิดออกซิเดชันของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่ออยู่ในภาวะที่มีแสงซึ่งจะได้มาโลแนลดีไฮด์เป็นผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา จากงานวิจัยนี้พบว่าค่า TBARs เพิ่มขึ้นสูงที่สุดในตัวอย่างหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มตัวอย่างควบคุม ตามด้วยตัวอย่างหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันเข้มข้น 15, 10 และ 5% โดยน้ำหนักของเจลลาติน ตามลำดับ จึงแสดงให้เห็นว่า

ฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีประสิทธิภาพในการชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมัน ก่อนหน้านี้ได้มีงานวิจัยที่รายงานถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งออกซิเดชันของไขมันและการเสื่อมเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูของสารประกอบฟีนอลิกจากพืช (Thomas et al., 2016; Ferreira et al., 2017) ซึ่งเกิดจากความสามารถของสารประกอบฟีนอลิกในการจับอนุมูลออกซิเจนที่ว่องไว เช่น อนุมูลไฮดรอกซี และอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ (Dorman et al., 2000; Nomura, 2004) Li et al. (2014) รายงานว่าฟิล์มเจลลาตินปลาที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่ต่ำกว่า นอกจากนี้ Wu et al. (2013) ยังรายงานทำนองเดียวกันสำหรับฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดชาเขียว อย่างไรก็ตามค่า TBARs ที่เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นอาจเป็นผลจากรูปแบบของการห่อหุ้ม ซึ่งในงานวิจัยนี้ใช้การห่อในลักษณะปิดหุ้มท้าย จึงทำให้ยังคงมีช่องทางที่ออกซิเจนสามารถผ่านเข้าได้

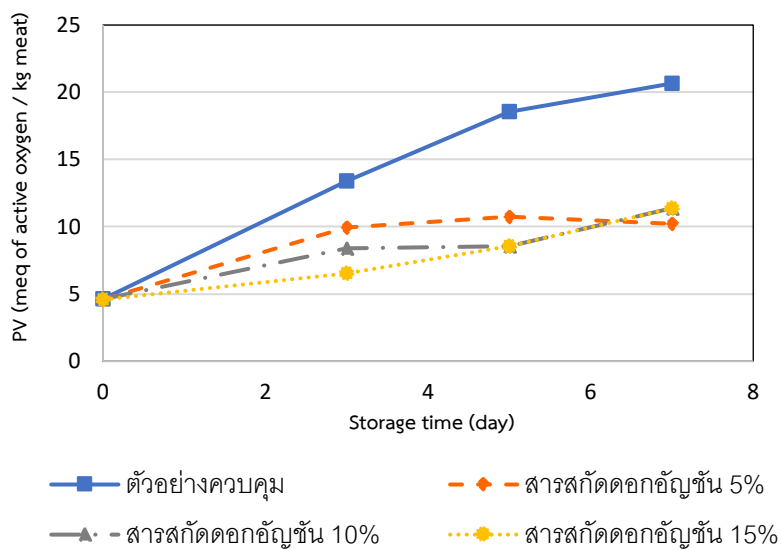
#### 4.2.4 ค่าเพอร์ออกไซด์ (PV)

ไฮโดรเพอร์ออกไซด์เป็นผลิตภัณฑ์ปฐมภูมิของปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ค่าเพอร์ออกไซด์สามารถใช้เป็นดัชนีของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารที่ประกอบด้วยไขมัน เช่น เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ (Juntachote et al., 2006) โดยตัวอย่างที่มีค่าเพอร์ออกไซด์ 20-40 มิลลีสมมูลของแอกทีฟออกซิเจน/กิโลกรัมของเนื้อ ขึ้นไปจะมีกลิ่นหืนที่สามารถรับรู้ได้ (Economou et al., 1991) ส่วน Evranuz (1993) และ Narasimhan et al. (1986) เสนอว่าค่าเพอร์ออกไซด์ 25 มิลลีสมมูลของแอกทีฟออกซิเจน/กิโลกรัมของเนื้อเป็นขีดจำกัดในการยอมรับของผลิตภัณฑ์ของอาหารที่มีไขมันสูง

รูปที่ 4.10 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าเพอร์ออกไซด์ของตัวอย่างหมูสวรรค์ในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าตัวอย่างควบคุมมีการเพิ่มขึ้นของค่าเพอร์ออกไซด์สูงสุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา รองลงมาคือตัวอย่างหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน 5, 10 และ 15% ตามลำดับ ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับประสิทธิภาพการยับยั้งออกซิเดชันของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันที่ศึกษาในหัวข้อ 4.1.8 และค่า TBARs ของตัวอย่างหมูสวรรค์ที่วิเคราะห์ในหัวข้อ 4.2.3 อย่างไรก็ตามค่าเพอร์ออกไซด์ของทุกตัวอย่าง ณ วันที่ 7 ของการเก็บรักษา ยังคงมีค่าต่ำกว่า 25 มิลลีสมมูลของแอกทีฟออกซิเจน/กิโลกรัมของเนื้อ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าหมูสวรรค์ทุกตัวอย่างยังไม่มียกกลิ่นหืนที่สามารถรับรู้ได้

ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Wanasundara and Shahidi (1998) ซึ่งรายงานถึงประสิทธิภาพของสารสกัดชาเขียวในการยับยั้งการก่อตัวของเพอร์ออกไซด์ในน้ำมัน ในอีกงานวิจัยหนึ่ง Juntachote et al. (2007) ประยุกต์ใช้ผงชาและสารสกัดชาในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ พบว่าเมื่อเก็บรักษาไว้เป็น

ระยะเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิแช่เย็น พบว่าค่าเปอร์ออกไซด์ของตัวอย่างควบคุมเพิ่มขึ้นเป็น 3 เท่า ในขณะที่ตัวอย่างที่เติมผงข่าและสารสกัดข่ามีการเพิ่มขึ้นของค่าเปอร์ออกไซด์เพียง 2 เท่า



รูปที่ 4.10 ค่าเปอร์ออกไซด์ในระหว่างการเก็บรักษาของหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลาตินที่เติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากงานวิจัยนี้พบว่า การเติมสารสกัดดอกอัญชันไม่มีผลสำคัญต่อความหนา สมบัติเชิงกล (ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาด) สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ ความสามารถในการละลายน้ำ และโครงสร้างของฟิล์มเจลลาติน อย่างไรก็ตาม การเติมสารสกัดดอกอัญชันมีผลต่อสมบัติเชิงแสง (ความโปร่งแสงและสี) และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ของฟิล์มเจลลาติน โดยฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีความโปร่งแสงลดลง มีสีน้ำเงินมากขึ้น และมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมากขึ้น

สำหรับการประยุกต์ฟิล์มที่พัฒนาได้เพื่อการยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์หมูสวรรค์ พบว่าในระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 7 วัน ฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันทำหน้าที่ใกล้เคียงกับฟิล์มตัวอย่างควบคุมในด้านการควบคุมปริมาณความชื้นและวอเตอร์แอกทิวิตี แต่ฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีสมบัติเด่นชัดในด้านการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีค่า TBARs และค่าเปอร์ออกไซด์ที่ต่ำกว่าหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มตัวอย่างควบคุม

## เอกสารอ้างอิง

- โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี.  
2562. อัญชัน [ออนไลน์]. แหล่งที่มา [http://www.rspg.or.th/plants\\_data/herbs/herbs\\_30\\_4.htm](http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_30_4.htm)  
[6 กันยายน 2562]
- ชิดชนก ศุขศรีไพศาล. 2559. การผลิตและเก็บรักษาทุ่นเชียงหมูลดไขมันพร้อมบริโภคนโดยใช้เทคโนโลยีเฮอร์เดิล.  
วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์  
และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- เฉลิมพร ทองพูน และ ปิยะวัฒน์ ไกรสร. 2558. การใช้สารสกัดจากดอกอัญชันเป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรต  
กรด-เบส. *Rajabhat Journal of Science, Humanities & Social Sciences* 16: 156-166.
- ณิชภัทร สมบูรณ์. 2556. สมบัติของเจลผสมระหว่างวุ้นกับเจลาตินปลา. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี  
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- เนตรนภา เมยกลาง และ เฉลิม เรื่องวิริยะชัย. 2557. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูล  
อิสระในเครื่องดื่มน้ำผลไม้. *วารสารวิจัย มช.* 14: 69-79.
- ปริญญช อินทร์รอด. 2551. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดจากต้นเร่วหอม  
และว่านสาวหลง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ศุภณัฐ สละชีพ, สุรเชษฐ์ เกตุแก้ว และ พรนภา เกษมศิริ. 2561. อิทธิพลการเสื่อมสภาพด้วยแสงของฟิล์มบ่งชี้พี  
เอชที่ประกอบด้วยเจลาตินและสารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน. *วารสารวิจัย มช.* 18: 1-11.
- สาโรจน์ รอดคีน. 2556. สมบัติของเจลาติน [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://agro-industry.mfu.ac.th/events/482> [6 กันยายน 2562]
- สุพรรณิกา กันธิมา. 2555. อิทธิพลของกลีเซอรอลและโปแตสเซียมซอร์เบตต่อสมบัติฟิล์มแป้งมันสำปะหลังที่ผ่าน  
รังสีอัลตราไวโอเล็ต. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย  
มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- อรุษา เขาวนลิขิต. 2554. การสกัดและวิธีการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน. *วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ  
(สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี)* 3: 26-36.

- AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*, 17<sup>th</sup> ed. Washington, D. C.: The Association of Analytical Chemists.
- ASTM. 1999. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia: The American Society for Testing and Materials.
- Benzie, I. F. and Strain, J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70-76.
- Botsoglou, E., Govaris, A., Ambrosiadis, I., Fletouris, D. and Botsoglou, N. 2014. Effect of olive leaf (*Olea europea L.*) extracts on protein and lipid oxidation of long-term frozen n-3 fatty acids-enriched pork patties. *Meat Science* 98: 150-157.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT* 28: 25-30.
- Chan, E. W. C., Lim, Y. Y., Wong, S. K., Lim, K. K., Tan, S. P., Lianto, F. S. and Yong, M. Y. 2009. Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. *Food Chemistry* 113: 166-172.
- Choi, I., Lee, J. Y., Lacroix, M. and Han, J. 2017. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food Chemistry* 218: 122-128.
- Cho, S. Y. and Rhee, C. 2004. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films made from fractionated soy proteins with ultrafiltration. *LWT* 37: 833-839.
- Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J. L. and Guilbert, S. 1997. Selected functional of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 622-626.
- Dangles, O. and Fenger, J. A. 2018. The chemical reactivity of anthocyanins and its consequences in food science and nutrition. *Molecules* DOI: 10.3390/molecules23081970.
- Dorman, H. J. D., Surai, P. and Deans, S. G. 2000. *In vitro* evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal* 15: 12-16.



- Dou, L., Li, B., Zhang, K., Chu, X. and Hou, H. 2018. Physical properties and antioxidant activity of gelatin-sodium alginate edible films with tea polyphenols. *International Journal of Biological Macromolecules* 118: 1377-1383.
- Economou, K. D., Oreopoulou, V. and Thomopoulos, C. D. 1991. Antioxidant activity of some plant extracts of the family labiatae. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 68: 109-113.
- Ferreira, A. S., Nunes, C., Castro, A., Ferreira, P. and Coimbra, M. A. 2014. Influence of grape pomace extract incorporation on chitosan films properties. *Carbohydrate Polymers* 113: 490-499.
- Ferreira, V. C. S., Morcuende, D., Hernández-López, S. H., Madruga, M. S., Silva, F. A. P. and Estévez, M. 2017. Antioxidant extracts from acorns (*Quercus ilex* L.) effectively protect ready-to-eat (RTE) chicken patties irrespective of packaging atmosphere. *Journal of Food Science* 82: 622-631.
- Gallo, M., Ferracane, R. and Naviglio, D. 2012. Antioxidant addition to prevent lipid and protein oxidation in chicken meat mixed with supercritical extracts of *Echinacea angustifolia*. *The Journal of Supercritical Fluids* 72: 198-204.
- Gimenez, B., Lopez de Lacey, A., Perez-Santin, E., Lopez-Caballero, M. E. and Montero, P. 2013. Release of active compounds from agar and agar-gelatin films with green tea extract. *Food Hydrocolloids* 30: 264-271.
- Golasz, L. B., da Silva, J. and da Silva, S. B. 2013. Film with anthocyanins as an indicator of chilled pork deterioration. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 33: 155-162.
- Gomez-Estaca, J., Gimenez, B., Montero, P. and Gomez-Guillen, M. C. 2009. Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. *Journal of Food Engineering* 92: 78-85.
- Gómez-Estaca, J., Montero, P., Fernández-Martín, F., Alemán, A. and Gómez-Guillén, M. C. 2009. Physical and chemical properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films with added aqueous oregano and rosemary extracts. *Food Hydrocolloids* 23: 1334-1341.

- Hernandez, E. 1994. Edible coatings for lipids and resins. In J. M. Krochta, E. A. Baldwin and M. O. Nisperos-Carriedo (eds.), *Edible Coating and Films to Improve Food Quality*, pp. 279-304. Lancaster: Technomic.
- Hong, Y. H., Lim, G. O. and Song, K. B. 2009. Physical properties of *Gelidium corneum*-gelatin blends films containing grapefruit seed extract or green tea extract and its application in the packaging of pork loins. *Journal of Food Science* 74: C6-C10.
- Inomata, Y., Terahara, N., Kitajima, J., Kokubugata, G. and Iwashina, T. 2013. Flavones and anthocyanins from the leaves and flowers of Japanese *Ajuga* species (Lamiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 51: 123-129.
- Jangchud, A. and Chinnan, M. S. 1999. Peanut protein film as affected by drying temperature and pH of film forming solution. *Journal of Food Science* 64: 153-157.
- Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S. and Bauer, F. 2006. The antioxidative properties of holy basil and galangal in cooked ground pork. *Meat Science* 72: 446-456.
- Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S. and Bauer, F. 2007. The effect of dried galangal powder and its ethanolic extracts on oxidative stability in cooked ground pork. *LWT* 40: 324-330.
- Kilcast, D. and Subramaniam, P. 2000. *The Stability and Shelf-Life of Food*. Cambridge: Woodhead Publishing.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Garcia-Parrilla, M. C. and Fett, R. 2004. Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. *Food Science and Technology (Campinas)* 24: 691-693.
- Li, J. H., Miao, J., Wu, J. L., Chen, S. F. and Zhang, Q. Q. 2014. Preparation and characterization of active gelatin-based films incorporated with natural antioxidants. *Food Hydrocolloids* 37: 166-173.
- Matsushita, S. 1990. Oxidation of food. In T. Kadoya (ed.), *Food Packaging*, pp. 25-44. San Diego: Academic Press.

- Mehmood, A., Ishaq, M., Zhao, L., Yaqoob, S., Safdar, B., Nadeem, M., Munir, M. and Wang, C. 2018. Impact of ultrasound and conventional extraction techniques on bioactive compounds and biological activities of blue butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L.). *Ultrasonics Sonochemistry* 51: 12-19.
- Nomura, R. 2004. *Healthy Effects of Bamboo Vinegar*. Tokyo: Nobunyou Publication.
- Norajit, K., Kim, K. M. and Ryu, G. H. 2010. Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract. *Journal of Food Engineering* 98: 377-384.
- Prietto, L., Mirapalhete, T. C., Pinto, V. Z., Hoffmann, J. F., Vanier, N. L., Lim, L. T., Dias, A. R. G. and Zavareze, E. R. 2017. pH-sensitive films containing anthocyanins extracted from black bean seed coat and red cabbage. *LWT* 80: 492-500.
- Rattaya, S., Benjakul, S. and Prodpran, T. 2018. Extraction, antioxidative, and antimicrobial activities of brown seaweed extracts, *Turbinaria ornata* and *Sargassum polycystum*, grown in Thailand. *International Aquatic Research* 7: 1-16.
- Sabina, G. 2018. Functional properties of soy protein isolate edible films as affected by rapeseed oil concentration. *Food Hydrocolloids* 85: 233-241.
- Shahidi, F. and Zhang, Y. 2005. Lipid oxidation: measurement methods. In F. Shahidi (ed.), *Bailey's Industrial Oil and Fat Product*. Hoboken: Wiley.
- Talon E., Trifkovic, K. T., Nedovic, V. A., Bugarski, B. M., Vargas, M., Chiralt, A. and Gonzalez-Martinez, C. 2017. Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme extracts. *Carbohydrate Polymers* 157: 1153-1161.
- Tang, C. H., Jiang, Y., Wen, Q. B. and Yang, X. Q. 2005. Effect of transglutaminase treatment on the properties of cast films of soy protein isolates. *Journal of Biotechnology* 120: 296-307.
- Thomas, R., Jebin, N., Saha, R. and Sarma, D. K. 2016. Antioxidant and antimicrobial effects of kordoi (*Averrhoa carambola*) fruit juice and bamboo (*Bambusa polymorpha*) shoot extract in pork nuggets. *Food Chemistry* 190: 41-49.

- Vermeulen, A., Daelman, J., Steenkiste, J. V. and Devlieghere, F. 2012. Screening of different stress factors and development of growth/no growth models for *Zygosaccharomyces rouxii* in modified Sabouraud medium, mimicking intermediate moisture foods (IMF). *Food Microbiology* 32: 389-39.
- Wanatabe, Y., Nakanashi, H., Goto, N., Otsuka, K., Kimura, T. and Adachi, S. 2010. Antioxidative properties of ascorbic acid and acyl ascorbates in ML/W emulsion. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 85: 1475-1480.
- Wang, W. and Goodman, M. T. 1999. Antioxidant property of dietary agents in a human LDL-oxidation *in vivo* model: interaction of protein binding activity. *Nutrition Research* 19: 191-202.
- Wu, J., Chen, S., Ge, S., Miao, J., Li, J. and Zhang, Q. 2013. Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids* 32: 42-51.
- Yuan, B., Cao, Y., Tang, Q., Yuan, Z., McClements, D. J. and Cao, C. 2019. Enhanced performance and functionality of active edible films by incorporating tea polyphenols into thin calcium alginate hydrogels. *Food Hydrocolloids* 97: 4-5.
- Zhao, L., Fan, H., Zhang, M., Chitrakar, B., Bhandari, B. and Wang, B. 2019. Edible flowers: review of flower processing and extraction of bioactive compounds by novel technologies. *Food Research International* 126: 1086-1093.

ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

### วิธีวิเคราะห์

ก.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ferric reducing antioxidant power (FRAP) ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie and Strain (1996)

#### รีเอเจนต์

สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมแอสซิเตต (พีเอช 3.6) เข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์

1. ชั่งโซเดียมแอสซิเตตปริมาณ 40.82 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 700 มิลลิลิตร
2. ปรับพีเอชของสารละลายด้วยเกลเซียมแอสติคให้มีค่าเท่ากับ 3.6
3. ปรับปริมาตรของสารละลายในข้อ 2 ให้ได้ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

หมายเหตุ สารละลายบัฟเฟอร์นี้ควรปรับพีเอชทุกครั้งเมื่อต้องการใช้

สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์เข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

ชั่งเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาณ 0.0324 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร

สารละลาย 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์

1. เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ โดยเจือจางกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 37% ปริมาตร 0.3316 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร

2. ละลาย TPTZ ปริมาณ 0.0312 กรัม ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกในข้อ 1 ประมาณ 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรสารละลายให้เป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

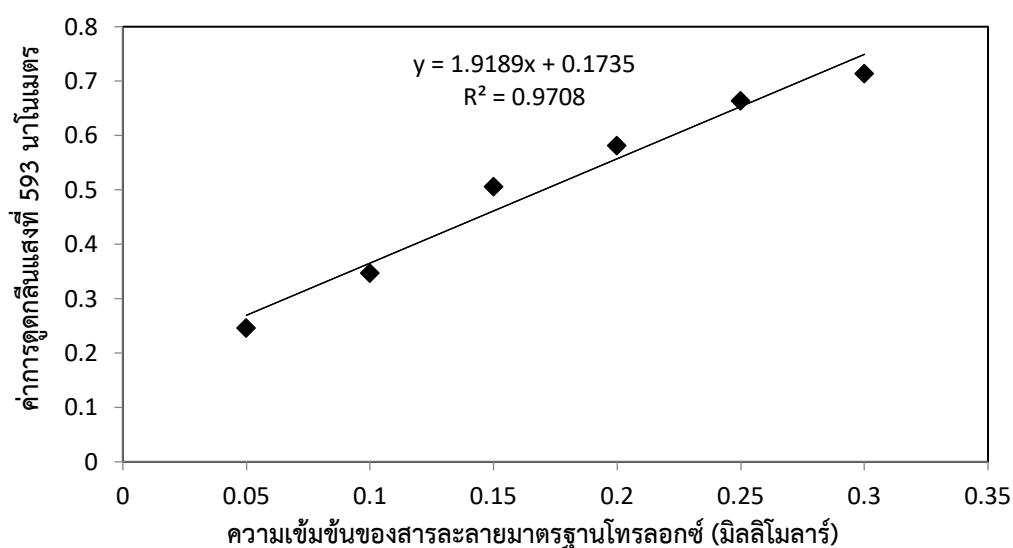
สารละลาย FRAP

ปิเปตต์สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมแอสซิเตตที่เตรียมไว้ข้างต้นปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย TPTZ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร

หมายเหตุ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ สารละลาย TPTZ และสารละลาย FRAP ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งเมื่อต้องการใช้

การเตรียมกราฟเทียบมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์ที่ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP

1. เตรียม stock solution ของโทรลอกซ์เข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ โดยละลายโทรลอกซ์ 0.025 กรัม ในเมทานอล 99.9% แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
2. เตรียม standard solution ของโทรลอกซ์เข้มข้น 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 และ 0.30 มิลลิโมลาร์ จาก stock solution ในข้อ 1
3. นำ standard solution ของโทรลอกซ์ไปวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP และสร้างกราฟเทียบมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นโทรลอกซ์และค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร (รูปที่ ก.1)



รูปที่ ก. 1 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป FRAP

1. ปิเปตต์สารละลาย FRAP ปริมาตร 2000 ไมโครลิตร บรรจุลงในหลอดทดลอง
2. นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
3. ปิเปตต์สารละลายตัวอย่างปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย FRAP ในหลอดทดลองแล้วเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
4. นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร
5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับกราฟเทียบมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์

ก.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity ดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams et al. (1995)

### รีเอเจนต์

#### สารละลาย DPPH

1. เตรียม stock solution ของ DPPH โดยละลาย DPPH ปริมาณ 12 มิลลิกรัม ในเมทานอล 99% แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร สารละลายนี้สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C ได้ไม่เกิน 5 วัน

2. เตรียม daily solution ของ DPPH จากสารละลาย stock solution ในข้อ 1 โดยปีเปตต์ stock solution มา 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยเมทานอล 99.9% จะได้สารละลาย DPPH เข้มข้น  $1.2 \times 10^{-4}$  โมลาร์ เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ขั้นต่อไป

#### การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป DPPH

1. ปีเปตต์ตัวอย่างมา 150 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH เข้มข้น  $1.2 \times 10^{-4}$  โมลาร์ ปริมาตร 950 ไมโครลิตร บรรจุลงในคิวเวตต์ ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที สำหรับการสร้างกราฟมาตรฐาน ทำเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง แต่ใช้ไทรลอกซ์เป็นสารละลายมาตรฐาน

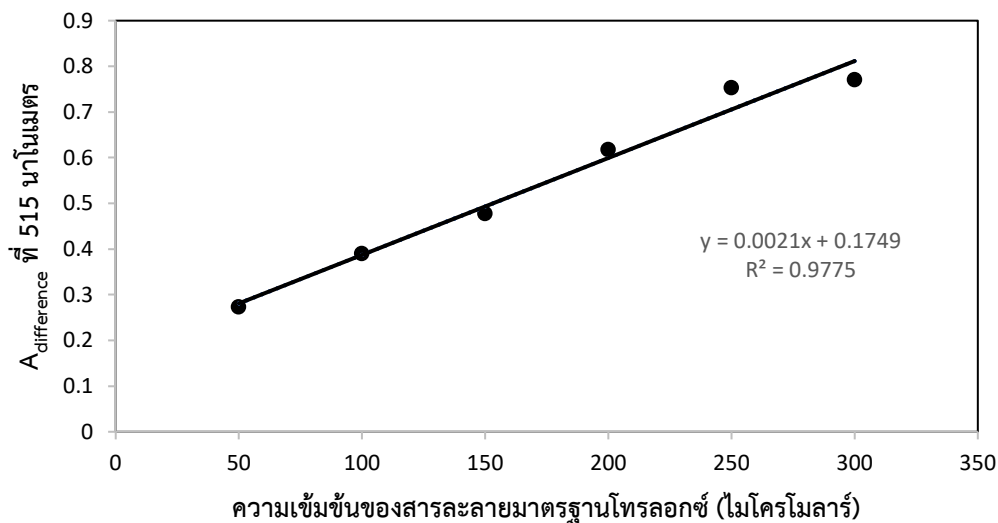
2. นำของผสมที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 515 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็นแบล็ก โดยสีของตัวอย่างจะเปลี่ยนจากสีม่วงไปเป็นสีเหลืองอ่อน

3. นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ( $A_{\text{initial}}$  ควรมีค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 1.1) มาลบออกด้วยค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง ( $A_{\text{final}}$ ) ได้เป็นผลต่างของการดูดกลืนแสง ( $A_{\text{difference}}$ ) ตามสมการ ก.1

$$A_{\text{difference}} = A_{\text{initial}} - A_{\text{final}} \quad \dots(\text{ก.1})$$

4. นำ  $A_{\text{difference}}$  ของตัวอย่างไปหาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยเทียบกับ  $A_{\text{difference}}$  ของกราฟเทียบมาตรฐานของไทรลอกซ์ (รูปที่ ก.2)





รูปที่ ก. 2 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

### ก.3 การวิเคราะห์ค่า TBARs ตามวิธีของ Witte et al. (1970)

#### รีเอเจนต์

สารละลาย Trichloroacetic acid เข้มข้น 10% (w/w)

สารละลาย 2-thiobarbituric acid

เตรียมสารละลายโดยชั่ง 2-thiobarbituric acid ปริมาณ 2.88 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร

สารละลาย malondialdehyde

เตรียมสารละลาย malondialdehyde เข้มข้น 4000 นาโนโมล/มิลลิลิตร โดยปิเปตต์ malondialdehyde ปริมาตร 10 ไมโครลิตร บรรจุลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ได้ถึงขีดด้วยน้ำกลั่น

#### การเตรียมกราฟเทียบมาตรฐานของ malondialdehyde

1. ปิเปตต์สารละลาย malondialdehyde เข้มข้น 4000 นาโนโมล/มิลลิลิตร ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 3.9 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย malondialdehyde เข้มข้น 100 นาโนโมล/มิลลิลิตร

2. ปิเปตต์สารละลายในข้อ 1 มา 100 ไมโครลิตรผสมกับน้ำกลั่น 3.9 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย malondialdehyde เข้มข้น 100 นาโนโมล/มิลลิลิตร
3. เตรียมสารละลายมาตรฐานของ malondialdehyde โดยนำสารละลาย malondialdehyde จากข้อ 2 มาเจือจางจนได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 6.25-50 นาโนโมล/มิลลิลิตร
4. เตรียมกราฟเทียบมาตรฐานโดยนำสารละลายมาตรฐาน malondialdehyde มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย 2-thiobarbituric acid วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร

#### การวิเคราะห์ TBARS

1. นำตัวอย่างหมูสรวรค์มาบดให้ละเอียด ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม เติมสารละลาย trichloroacetic acid ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน
2. ปรับปริมาตรสารละลายที่ได้ด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 50 มิลลิลิตร แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง
3. ปิเปตต์สารที่กรองได้ 5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 2-thiobarbituric acid ปริมาณ 5 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 100°C เป็นเวลา 10 นาที แล้วทิ้งให้เย็น
4. นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปหาความเข้มข้นของ malondialdehyde โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน รายงานความเข้มข้นของ malondialdehyde ในหน่วย mg malondialdehyde (MDA)/kg meat

#### **ก.4 การสกัดไขมันสำหรับวัดค่าเปอร์ออกไซด์ตามวิธีของ Shahidi (2005)**

##### สารเคมี

Methanol, absolute

Chloroform

Sodium sulfate, anhydrous

##### การสกัดไขมัน

1. ชั่งตัวอย่างหมูสรวรค์ประมาณ 50 กรัม (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน) ผสมกับเมทานอล 100 มิลลิลิตร แล้วปั่นผสมให้ละเอียด จากนั้นเติมคลอโรฟอร์ม 50 มิลลิลิตร แล้วปั่นผสมอีก 2 นาที
2. เติมคลอโรฟอร์มอีก 50 มิลลิลิตร แล้วปั่นผสมอีก 30 วินาที จากนั้นเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วปั่นผสมอีก 30 วินาที

3. นำตัวอย่างที่ได้ไปเหวี่ยงแยกที่ 3,300×g อุณหภูมิ 5°C
4. แยกเอาเฉพาะส่วนของเหลวนำไปบรรจุลงในกรวยแยก และพักไว้
5. เติมสารละลายผสมคลอโรฟอร์ม-เมทานอล (1:1, v/v) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในส่วนของแข็ง (pellet) ที่แยกได้จากการเหวี่ยงแยกในครั้งแรก แล้วนำสิ่งที่ได้ไปเหวี่ยงแยกอีกครั้งที่ 3,300×g อุณหภูมิ 5°C
6. แยกเอาส่วนของเหลว บรรจุลงในกรวยแยกพร้อมกับส่วนของเหลวในข้อ 4
7. กรองชั้นของคลอโรฟอร์ม (ชั้นล่าง) ผ่านชั้นของโซเดียมซัลเฟตที่มีความหนา 2.5 เซนติเมตร บนกระดาษกรอง
8. ชะบนกระดาษกรองด้วยสารละลายผสมคลอโรฟอร์ม-เมทานอล (1:1, v/v) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เพื่อชะไขมันที่อาจติดอยู่บนกระดาษกรอง บรรจุของเหลวที่กรองได้ลงในขวดก้นกลม
9. นำส่วนของเหลวที่ได้ไประเหยคลอโรฟอร์มและเมทานอลออกภายใต้ภาวะสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 40°C
10. นำสิ่งที่เหลือหลังการระเหยเข้าสู่อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105°C
11. นำออกมาทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วนำไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอนเพื่อหาปริมาณไขมันในตัวอย่าง

#### ก.5 การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ตามวิธีของ AOAC (1995)

##### รีเอเจนต์

*สารละลายผสมกรดแอสซิติค-คลอโรฟอร์ม*

ผสมกรดแอสซิติคเกลเชื่อมกับคลอโรฟอร์มในอัตราส่วน 3:2

*สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) อิมัตัว*

ละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ในน้ำกลั่นจนกระทั่งได้สารละลายอิมัตัว เก็บสารละลายที่ได้ในขวดสีชา

*สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต ( $Na_2S_2O_3$ )*

ละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตปริมาณ 24 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร

*น้ำแป้งเข้มข้น 1% (w/v)*

ชั่ง soluble starch ปริมาณ 1 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากันและนำไปให้ความร้อนจนกระทั่งสารละลายที่ใส ทิ้งไว้ให้เย็น

การเทียบมาตรฐาน (standardization) สารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต

1. นำโพแทสเซียมไดโครเมต ( $K_2Cr_2O_7$ ) ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์

2. ชั่งโพแทสเซียมไดโครเมตให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนในช่วง 0.10-0.12 กรัม บรรจุลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 150 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิมตัวปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
4. เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 นอร์มัล ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที
5. ไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต เขย่าตลอดเวลา จนกระทั่งสีเหลืองของสารละลายจางไปเกือบหมด แล้วจึงเติมน้ำแ่่ง 1 มิลลิลิตร เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์ จะได้สารละลายสีน้ำเงิน ไทเทรตต่อซ้ำๆ จนกระทั่งสีน้ำเงินจางหายไป
6. คำนวณความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตจากสมการ ก.2

ความเข้มข้นของ  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (นอร์มัล) =

$$20.394 \times \text{น้ำหนักของ } \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \text{ (กรัม) / ปริมาตรของสารละลาย } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ ที่ใช้ไทเทรต (มิลลิลิตร)} \quad \dots \text{ (ก.2)}$$

#### การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมันที่สกัดได้ปริมาณ 5 กรัม (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ทศนิยม 3 ตำแหน่ง) บรรจุลงใน Erlenmeyer flask ที่มีจุกปิดขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายผสมกรดแอสติก-คลอโรฟอร์มปริมาตร 30 มิลลิลิตร เขย่าเพื่อให้ไขมันละลาย
3. เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิมตัวปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร
4. เติมน้ำแ่่งเข้มข้น 1% ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แล้วเขย่า สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน
5. นำสารละลายที่ได้ไปไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต จนถึงจุดยุติ (สารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นไม่มีสี) บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ในการไทเทรต คำนวณค่าเปอร์ออกไซด์ตามสมการ ก.3

$$\text{ค่าเปอร์ออกไซด์ (มิลลิมมอลของแอกทีฟออกซิเจน/กิโลกรัม)} = [(S-B) \times N \times 1000] / \text{น้ำหนักน้ำมัน (กรัม)} \quad \dots \text{ (ก.3)}$$

เมื่อ S คือ ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ในการไทเทรตแบล้งก์ (มิลลิลิตร)

N คือ ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต (นอร์มัล)

หมายเหตุ สำหรับแบล้งก์ใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่างน้ำมันและดำเนินการทดลองเช่นเดียวกันในข้อ 1-5 โดยในการไทเทรตแบล้งก์ไม่ควรใช้สารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตเกิน 0.1 มิลลิลิตร

## ภาคผนวก ข

## ข้อมูลการวิจัย

ตารางที่ ข.1 ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (%)	ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล) <sup>ns</sup>	การยืดตัวถึงจุดขาด (%) <sup>ns</sup>
ตัวอย่างควบคุม	0	9.63 ± 2.40	82.4 ± 10.11
ฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	5	11.97 ± 1.33	94.74 ± 11.32
อัญชัน	10	12.47 ± 1.56	65.57 ± 9.76
	15	10.29 ± 2.82	53.26 ± 8.57

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>ns</sup> ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

ตารางที่ ข.2 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (%)	สภาพการซึมผ่านได้ของไอน้ำ ( $\times 10^{-7}$ g m/m <sup>2</sup> h Pa)
ตัวอย่างควบคุม	0	2.18 <sup>a</sup> ± 0.01
ฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	5	1.80 <sup>b</sup> ± 0.01
	10	2.25 <sup>a</sup> ± 0.01
	15	2.07 <sup>a</sup> ± 0.01

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>a, b</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.3 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (%)	ความสามารถในการละลายน้ำ (%) <sup>ns</sup>
ตัวอย่างควบคุม	0	88.40 ± 0.56
ฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	5	94.03 ± 0.93
	10	90.78 ± 0.83
	15	92.41 ± 0.85

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>ns</sup> ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

ตารางที่ ข.4 ร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มเจลาตินที่ไม่มีการเติมและมีการเติมสารสกัดจากดอกอัญชัน

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (%)	ค่าแสงส่องผ่าน (%)
ตัวอย่างควบคุม	0	74.15 <sup>a</sup> ± 0.01
ฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน	5	69.48 <sup>b</sup> ± 0.03
	10	63.70 <sup>c</sup> ± 0.01
	15	56.13 <sup>d</sup> ± 0.01

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตารางที่ ข.5 ปริมาณความชื้นในระหว่างการเก็บรักษาของหมุสวรรณที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)	ปริมาณความชื้น (% โดยน้ำหนักเปียก)			
	ตัวอย่างควบคุม	สารสกัดจากดอกอัญชัน 5%	สารสกัดจากดอกอัญชัน 10%	สารสกัดจากดอกอัญชัน 15%
0 <sup>ns</sup>	32.2101 ± 0.007	32.3012 ± 0.014	32.1808 ± 0.007	32.2011 ± 0.0212
3 <sup>ns</sup>	32.0078 ± 0.001	32.0154 ± 0.021	31.9748 ± 0.021	32.0023 ± 0.057
5	31.9856 <sup>a</sup> ± 0.021	31.8754 <sup>b</sup> ± 0.014	31.8534 <sup>b</sup> ± 0.028	31.9543 <sup>a</sup> ± 0.001
7	31.7988 <sup>a</sup> ± 0.004	31.8788 <sup>b</sup> ± 0.035	31.7988 <sup>a</sup> ± 0.014	31.8757 <sup>b</sup> ± 0.006

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b ค่าเฉลี่ยในแถวแนวนอนเดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

<sup>ns</sup> ค่าเฉลี่ยในแถวแนวนอนเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

ตารางที่ ข.6 วอเตอร์แอกทิวิตีในระหว่างการเก็บรักษาของหมุสวรรณที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)	วอเตอร์แอกทิวิตี			
	ตัวอย่างควบคุม	สารสกัดจากดอกอัญชัน 5%	สารสกัดจากดอกอัญชัน 10%	สารสกัดจากดอกอัญชัน 15%
0 <sup>ns</sup>	0.673 ± 0.002	0.671 ± 0.001	0.670 ± 0.001	0.670 ± 0.001
3	0.664 <sup>a</sup> ± 0.018	0.631 <sup>b</sup> ± 0.001	0.629 <sup>b</sup> ± 0.011	0.648 <sup>a</sup> ± 0.004
5	0.606 <sup>a</sup> ± 0.002	0.594 <sup>ab</sup> ± 0.004	0.589 <sup>b</sup> ± 0.002	0.590 <sup>b</sup> ± 0.001
7	0.561 <sup>a</sup> ± 0.007	0.587 <sup>b</sup> ± 0.008	0.572 <sup>c</sup> ± 0.004	0.584 <sup>b</sup> ± 0.006

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c ค่าเฉลี่ยในแถวแนวนอนเดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

<sup>ns</sup> ค่าเฉลี่ยในแถวแนวนอนเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

ตารางที่ ข.7 ค่า TBARs ในระหว่างการเก็บรักษาของหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)	ค่า TBARs (mg malondialdehyde/kg meat)			
	ตัวอย่างควบคุม	สารสกัดจากดอกอัญชัน 5%	สารสกัดจากดอกอัญชัน 10%	สารสกัดจากดอกอัญชัน 15%
0 <sup>ns</sup>	1.988 ± 0.002	1.990 ± 0.042	1.984 ± 0.180	2.000 ± 0.018
3	3.611 <sup>a</sup> ± 0.030	2.769 <sup>b</sup> ± 0.623	2.568 <sup>bc</sup> ± 0.447	2.273 <sup>c</sup> ± 0.215
5	3.711 <sup>a</sup> ± 0.002	3.110 <sup>b</sup> ± 0.016	2.925 <sup>c</sup> ± 0.036	2.451 <sup>d</sup> ± 0.027
7	3.852 <sup>a</sup> ± 0.041	3.450 <sup>b</sup> ± 0.054	3.297 <sup>c</sup> ± 0.180	2.702 <sup>c</sup> ± 0.014

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

<sup>ns</sup> ค่าเฉลี่ยในแถวแนวนอนเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

ตารางที่ ข.8 ค่าเพอร์ออกไซด์ในระหว่างการเก็บรักษาของหมูสวรรค์ที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเจลลาตินที่เติมและไม่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)	ค่าเพอร์ออกไซด์ (meq of active oxygen/kg)			
	ตัวอย่างควบคุม	สารสกัดจากดอกอัญชัน 5%	สารสกัดจากดอกอัญชัน 10%	สารสกัดจากดอกอัญชัน 15%
0 <sup>ns</sup>	4.621 ± 0.234	4.593 ± 0.235	4.615 ± 0.112	4.583 ± 0.262
3	13.397 <sup>a</sup> ± 0.235	9.958 <sup>b</sup> ± 0.544	8.383 <sup>c</sup> ± 0.234	6.540 <sup>d</sup> ± 0.150
5	18.563 <sup>a</sup> ± 0.211	10.745 <sup>b</sup> ± 0.153	8.562 <sup>c</sup> ± 0.070	8.549 <sup>c</sup> ± 0.120
7	20.656 <sup>a</sup> ± 0.156	10.235 <sup>b</sup> ± 0.120	11.378 <sup>c</sup> ± 0.070	11.370 <sup>c</sup> ± 0.043

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

<sup>ns</sup> ค่าเฉลี่ยในแถวแนวนอนเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )



ภาคผนวก ค  
โครงการวิจัย

รายละเอียดโครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ประจำปีการศึกษา 2562

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มบริโอคได้จากเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

(Antioxidant activity of gelatin edible film fortified with Asian pigeonwings flower extract)

รายชื่อนิสิตผู้เข้าร่วมโครงการ นางสาว ปนัดดา กิตินันท์ประกร 5932539523

นางสาว สุขญา โตคุณาลัย 5932570923

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช

### 1. มุมเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ

ประเทศไทยมีปริมาณขยะสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องทุกปี ส่งผลให้เกิดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกันหลายแง่มุม ไม่ว่าจะเป็นการจัดการขยะที่ไม่ได้มาตรฐานก่อให้เกิดมลพิษและไม่เกิดการนำกลับมาใช้ซ้ำอีกทั้งการใช้บรรจุภัณฑ์ที่ย่อยสลายได้ยากทำให้สิ่งมีชีวิตในธรรมชาติมีความยากลำบากในการย่อยและมีเพียงส่วนน้อยของพลาสติกที่ผลิตขึ้นมาถูกนำกลับมาใช้ใหม่ ส่วนใหญ่ของขยะที่ผลิตขึ้นมักถูกส่งไปฝังกลบหรือเผาซึ่งก่อให้เกิดสารประกอบที่เป็นพิษปนเปื้อนออกไปในชั้นบรรยากาศและอาจก่อให้เกิดการตกค้างสะสมในระบบนิเวศโดยรอบบริเวณที่มีการเผาอีกด้วย จากปัญหาดังกล่าวผู้ผลิตและผู้บริโภคส่วนใหญ่จึงเล็งเห็นถึงความสำคัญของการใช้วัสดุบรรจุภัณฑ์ที่สามารถย่อยสลายได้หรือบริโภคได้เพิ่มมากขึ้น ในปัจจุบันมีพอลิเมอร์ชีวภาพหลายชนิดที่สามารถนำมาประยุกต์และพัฒนาเป็นวัสดุบรรจุภัณฑ์ต่างๆได้ วัสดุบรรจุภัณฑ์เหล่านี้นอกจากจะใช้ในแง่การเป็นบรรจุภัณฑ์แพสซีฟ (passive packaging) แล้ว ยังสามารถนำมาพัฒนาเป็นบรรจุภัณฑ์แอกทีฟ (active packaging) ที่นอกเหนือจากการทำหน้าที่ปกป้องผลิตภัณฑ์ภายในแล้วยังทำหน้าที่อื่นด้วย เช่น การควบคุมสภาพบรรยากาศภายใน การยับยั้งจุลินทรีย์ และการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน เพื่อพัฒนาและส่งเสริมการใช้บรรจุภัณฑ์บริโภคได้ โครงการนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาฟิล์ม แอกทีฟที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากโปรตีนถั่วพีที่เติมสารสกัดดอกอัญชัน

## 2. ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการ

บรรจุภัณฑ์ย่อยสลายได้และบรรจุภัณฑ์บริโภคได้นับเป็นบรรจุภัณฑ์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันได้มีการนำพอลิเมอร์ธรรมชาติชนิดต่างๆ ได้แก่ พอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีน มาใช้เป็นวัตถุดิบผลิตบรรจุภัณฑ์ย่อยสลายได้และบรรจุภัณฑ์บริโภคได้ เช่น แอลจิเนต เพกทิน คาราจีแนน สตาร์ช เจลาติน เคซีน เวย์โปรตีน และโปรตีนถั่วเหลือง นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาบรรจุภัณฑ์ดังกล่าวเป็นบรรจุภัณฑ์แอททีฟโดย มีการเติมสารที่ทำหน้าที่ต่างๆ เช่น สารต้านจุลินทรีย์ และสารต้านออกซิเดชัน

เจลาติน เป็นโปรตีนที่ได้จากการย่อยและสกัดจากคอลลาเจนที่มีอยู่ในกระดูก หนัง สัตว์ และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของสัตว์ เช่น ควาย หมู วัว โดยใช้ความร้อน และ กรด หรือ ด่าง เพื่อย่อยให้คอลลาเจน มีขนาดโมเลกุลเล็กลงเปลี่ยนเป็นเจลาตินที่มีลักษณะเป็นแผ่นสีเหลือง หรือ ผงสีเหลืองอ่อน ละลายได้ในน้ำร้อน และ กรดอะซิติก ไม่ละลายในอีเธอร์ คลอโรฟอร์ม และเอทานอล 98 % เมื่อนำเจลาตินไปแช่ในน้ำเย็นจะพองตัวและอุ้มน้ำได้ 5-10 เท่าของน้ำหนักเดิม (วินิต และคณะ, 2546) ในด้านคุณค่าทางโภชนาการของเจลาตินมีปริมาณแคลอรีต่ำเพียง 3.5 kcal/g (ภูริวัฒน์, 2550)

เจลาติน (Gelatin) เป็นสารธรรมชาติที่ได้จากปฏิกิริยาการย่อยสลายโดยการใช้ น้ำ (hydrolysis) จากโปรตีนคอลลาเจน โดยโปรตีนคอลลาเจนได้จากส่วนต่างๆของสัตว์ที่เรารับประทานเข้าไป เช่น ผิวน้ำ กระดูก และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันต่างๆ เมื่อร่างกายได้รับสารดังกล่าว จะมีผลทำให้ เล็บแข็งแรง ไม่แตก เปราะหักง่าย ผมดำ ผิวพรรณ ชุ่มชื้น ไม่เหี่ยวแห้ง เกินวัย เพื่อเป็น "จุดขายเฉพาะ" อีกทั้งช่วยด้านการคงรูปกลุ่มผู้ประกอบการจึงมีการนำเจลาตินมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ ต่างๆทั้ง นมเปรี้ยว มูส เยลลี่ ขนมคบเคี้ยวอื่นๆ แต่แหล่งวัตถุดิบที่นำมาสกัดจะมาจาก วัวหรือสุกร และจากที่ประเทศไทยมีอุตสาหกรรมจากสัตว์น้ำ ซึ่งแต่ละปีทำรายได้ให้กับประเทศเป็นจำนวนมาก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นกลุ่มของสารประกอบที่มีความซับซ้อนแตกต่างกันไป สารประกอบฟีนอลิกมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยวงแหวนแอโรมาติกและมีหมู่ไฮดรอกซีอย่างน้อยหนึ่งหมู่ นอกจากนี้ยังรวมไปถึงอนุพันธ์ของสารดังกล่าวที่มีการแทนที่ด้วยหมู่ฟังก์ชันต่างๆ สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชตามธรรมชาติมักอยู่ในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ โดยน้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ กลูโคส นอกจากนี้ยังอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลิกด้วยกันเองหรือการรวมตัวกันของสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบอื่นๆ (เนตรนภา เมยกลาง และ เฉลิม เรื่องวีริยะชัย, 2557)

อัญชันสะสมแอนโทไซยานินไว้ในส่วนของกลีบดอก โดยเป็นสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด สารประกอบฟีนอลิกที่มีรายงานพบมากในกลีบดอกอัญชันสีน้ำเงิน ได้แก่ เทอนาทิน (ternatin) ซึ่งเป็นกลุ่มของ สารประกอบพอลิเอซิลเลตเท็ดเคลฟินีดินกลูโคไซด์ (polyacylated delphinidin glucoside) ประกอบด้วย สารประมาณ 15 ชนิด ซึ่งอยู่ในกลุ่มแอนโทไซยานิน ดอกอัญชันสีม่วง สีน้ำเงิน และสีขาว มีแอนโทไซยานินใน ปริมาณที่ต่างกัน แต่ชนิดของสารสำคัญไม่แตกต่างกัน แอนโทไซยานินเป็นกลุ่มของสารที่มีหมู่ฟลาเวียม (flavylium) ซึ่งอาจเป็นอนุพันธ์ต่างๆ และอาจมีหรือไม่มีประจุบวกก็ได้ ความแตกต่างที่สำคัญของแอนโทไซยานิน แต่ละชนิดอยู่ที่หมู่ไกลโคไซด์และชนิดของกรดอินทรีย์ของหมู่ไกลโคไซด์ ซึ่งความแตกต่างของโครงสร้างทางเคมีทำ ให้มีแอนโทไซยานินหลากหลายชนิดในธรรมชาติ

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากเป็นตัวให้โปรตอน (proton donor) ที่ดี และอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกมีความเสถียรสูงเนื่องจากความสามารถในการเคลื่อนย้าย ของอิเล็กตรอนหรือการเกิดเรโซแนนซ์ภายในโครงสร้าง แอนโทไซยานินเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพ โดยมีรายงานว่าแอนโทไซยานินมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าโทรล็อกซ์ถึง 2-3.5 เท่า (Wang and Goodman, 1999; Kuskoski et al., 2004) ที่ผ่านมามีการนำแอนโทไซยานินมาเติมในฟิล์มบรรจุภัณฑ์ อย่างไรก็ตาม งานวิจัยส่วนใหญ่มุ่งเน้นการใช้ประโยชน์จากแอนโทไซยานินในแง่การเป็นอินดิเคเตอร์สำหรับพีเอช (Golasz et al., 2013; Choi et al., 2017; Prietto et al., 2017) งานวิจัยที่ศึกษาการเป็นสารต้านออกซิเดชันของ แอนโทไซยานินในฟิล์มบรรจุภัณฑ์ยังมีค่อนข้างจำกัด โครงการนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาฟิล์มแอคทีฟที่มีฤทธิ์ ต้านออกซิเดชันจากโปรตีนถั่วพีที่เติมสารสกัดดอกอัญชันซึ่งมีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบ

### 3. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการพัฒนาฟิล์มย่อยสลายได้และฟิล์มบิโภาคได้ที่เติมสารสกัดฟีนอลิกเพื่อทำหน้าที่ เป็นสารต้านออกซิเดชัน เช่น Matta et al. (2019) ผลิตฟิล์มบิโภาคได้จากเมทิลเซลลูโลสที่เติมสารสกัดแอปเปิล เชี่ยว โดยแปรความเข้มข้นของสารสกัดแอปเปิลเชียวในช่วง 10-25% โดยปริมาตร พบว่าการเติมสารสกัดฟีนอลิก จากแอปเปิลเชียวทำให้ฟิล์มเมทิลเซลลูโลสมีสมบัติต้านออกซิเดชัน โดยความเข้มข้นของสารสกัดฟีนอลิกที่ แตกต่างกันส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มีสมบัติต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน

Dou et al. (2018) ศึกษาผลของการเติมสารสกัดพอลิฟีนอลจากใบชาในฟิล์มคอมพอลิเมอร์เจลาติน-โซเดียม แอลจีเนต พบว่าการเติมสารสกัดพอลิฟีนอลจากใบชาที่ความเข้มข้น 0.4-2.0% โดยน้ำหนัก ส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มี ความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน โดยที่การเติมสารสกัดจากใบชาในความเข้มข้นสูงที่สุดส่งผลให้ ฟิล์มที่ได้มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันมากที่สุด

Stoll et al. (2017) ผลิตฟิล์มแวกที่ฟจากสตาร์ชมันสำปะหลังที่เติมไมโครแคปซูลของสารสกัดกากองุ่น ซึ่งมีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบ ผู้วิจัยได้นำฟิล์มที่ได้มาผลิตเป็นแพคเกจบรรจุน้ำมันมะกอกบริสุทธิ์ (extra-virgin olive oil) และติดตามการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันมะกอก พบว่าน้ำมันมะกอกที่บรรจุในแพคเกจที่ผลิตจากฟิล์มแวกที่ฟที่พัฒนาได้มีค่าเปอร์ออกไซด์เท่ากับ 13.6 มิลลิสมมูลของออกซิเจน/กิโลกรัม ณ วันที่ 8 ของการเก็บรักษาที่ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งมีความคงตัวของออกซิเดชันมากกว่าน้ำมันมะกอกที่บรรจุในแพคเกจที่ผลิตจากฟิล์มพอลิโพรพิลีนที่มีค่าเปอร์ออกไซด์สูงถึง 326.5 มิลลิสมมูลของออกซิเจน/กิโลกรัม ณ วันที่ 4 ของการเก็บรักษา

ในแง่การสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน Fuleki and Francis (1968) สกัดแอนโทไซยานินจาก ดอกอัญชันโดยใช้วิธีพีเอชดีเฟอเรนเชียล พบว่าภาวะที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด คือ การใช้สารละลายไฮโดรคลอริก (พีเอช 4.5) เป็นตัวทำละลาย โดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อดอกอัญชันแห้งเท่ากับ 120:3 ใช้เวลาในการสกัด 73 นาที และมีการเขย่าในระหว่างสกัด โดยผลได้ (yield) ของแอนโทไซยานินมีค่าเท่ากับ 12.45 มิลลิกรัมแอนโทไซยานิน/กรัมดอกอัญชัน

#### 4. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อพัฒนาฟิล์มบรรจุภัณฑ์ได้จากเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน
2. เพื่อศึกษาผลของการประยุกต์ฟิล์มดังกล่าวต่อเสถียรภาพเชิงออกซิเดชัน (oxidative stability) ของผลิตภัณฑ์อาหาร

#### 5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ผลิตภัณฑ์ต้นแบบ (prototype) ของฟิล์มบรรจุภัณฑ์แวกที่ฟที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ผลิตจากจากเจลาตินและสารสกัดดอกอัญชัน
2. ได้ข้อมูลเทคนิคการเตรียมฟิล์มแวกที่ฟและการประยุกต์ฟิล์มดังกล่าวกับผลิตภัณฑ์อาหาร

## 6. ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย

ใช้ระยะเวลาในการดำเนินการประมาณ 1 ปี โดยเริ่มดำเนินงานในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2562 และคาดว่าจะแล้วเสร็จในเดือนเมษายน พ.ศ. 2563

ขั้นตอนการดำเนินงาน	2562					2563			
	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.
1. ศึกษา ค้นคว้า รวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยจากแหล่งข้อมูลต่างๆ									
2. ศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูล วางแผนและออกแบบการทดลอง รวมทั้งจัดหาอุปกรณ์ เครื่องมือสารเคมี และวัสดุดิบ									
3. ดำเนินการทดลอง และรวบรวมผลการทดลอง									
4. วิเคราะห์ผลการทดลอง เพื่อสรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง									
5. จัดทำรายงานและนำเสนอผลการวิจัย									

## 7. รายละเอียดขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

1. ศึกษา ค้นคว้า รวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยจากแหล่งข้อมูลต่างๆ เพื่อใช้เป็นข้อมูลและแนวทางสำหรับการออกแบบและวางแผนการทดลอง

2. ศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูล เพื่อวางแผนและออกแบบการทดลองจัดหาและเตรียมอุปกรณ์ เครื่องมือสารเคมี และวัสดุดิบสำหรับการทดลอง

3. ดำเนินการทดลองและรวบรวมผลการทดลอง

### 3.1 การศึกษาผลของการเติมสารสกัดดอกอัญชันต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน

สำหรับการศึกษาผลของการเติมสารสกัดดอกอัญชันต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน แปรความเข้มข้นของแอนโทไซยานินจากสารสกัดดอกอัญชันเป็น 3 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 5, 10 และ 15 โดยน้ำหนักของเจลาติน เตรียมตัวอย่างฟิล์มเจลาตินโดยดัดแปลงจากวิธีของ Yamauchi et al. (2009) สำหรับตัวอย่างควบคุมซึ่งได้แก่ฟิล์มเจลาตินที่ไม่เติมสารสกัดดอกอัญชันมีการเตรียมสารละลายฟิล์มโดยละลาย เจลาตินผง ปริมาณ 5.00 กรัม ในสารละลายบัฟเฟอร์  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{HCl}$  (พีเอช 3.6) ปริมาณ 93.50 กรัม ซึ่งมี กลีเซอรอล 1.50 กรัม ผสมอยู่ด้วย จากนั้นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้โฮโมจีไนเซอร์ (รุ่น X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็วรอบ 22,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที นำสารละลายที่ได้ไปให้ความร้อนใน

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น SW23, Julabo Labortechnik, Seelbach, Germany) ที่ 40°C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน นำสารละลายฟิล์มที่ผ่านการให้ความร้อนแล้วมากำจัดฟองอากาศเป็นเวลา 10 นาที โดยใช้อ่างอัลตราโซนิก (รุ่น 136H, Fisher Scientific, Schwerte, Germany) นำสารละลายฟิล์มที่ได้มาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม โดยบีบอัดสารละลายฟิล์มปริมาตร 40 มิลลิลิตร บรรจุลงในแม่พิมพ์อะคริลิกขนาด 15 เซนติเมตร x 15 เซนติเมตร แล้วนำไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ตู้อบลมร้อน (รุ่น 5200, Kubota, Fujioka, Japan) จากนั้นลอกแผ่นฟิล์มออกและนำไปปรับสมดุล (equilibrate) ในภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 50% อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนนำตัวอย่างฟิล์มที่ได้มาวิเคราะห์สมบัติต่อไป

สำหรับตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดดอกอัญชันจะเตรียมสารละลายฟิล์มโดยละลายเจลาติน ผงปริมาณ 5.00 กรัม ในสารละลายบัฟเฟอร์  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{HCl}$  (พีเอช 3.6) ซึ่งมีกลีเซอรอล 1.50 กรัม ผสมอยู่ด้วย จากนั้นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้โฮโมจีไนเซอร์ (รุ่น X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็วรอบ 22,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที นำสารละลายที่ได้ไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น SW23, Julabo Labortechnik, Seelbach, Germany) ที่ 40°C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน จากนั้นทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง (25°C) ระหว่างนี้เตรียมสารละลายสารสกัดดอกอัญชันในตัวสารละลายบัฟเฟอร์  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{HCl}$  (พีเอช 3.6) ปริมาณ 40.00 กรัม จากนั้นผสมสารละลายเจลาตินและสารละลายสารสกัดดอกอัญชันเข้าด้วยกัน ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้โฮโมจีไนเซอร์ (รุ่น X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็วรอบ 22,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที นำสารละลายฟิล์มมากำจัดฟองอากาศเป็นเวลา 10 นาที โดยใช้อ่าง อัลตราโซนิก (รุ่น 136H, Fisher Scientific, Schwerte, Germany) นำสารละลายฟิล์มที่ได้มาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม โดยบีบอัดสารละลายฟิล์มปริมาตร 40 มิลลิลิตร บรรจุลงในแม่พิมพ์อะคริลิกขนาด 15 เซนติเมตร x 15 เซนติเมตร แล้วนำไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ตู้อบลมร้อน (รุ่น 5200, Kubota, Fujioka, Japan) จากนั้นลอกแผ่นฟิล์มออกและนำไปปรับสมดุลในภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 50% อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนนำตัวอย่างฟิล์มที่ได้มาวิเคราะห์สมบัติต่อไป

(1) ความหนา วัดโดยใช้ไมโครมิเตอร์

(2) สมบัติเชิงกล วัดความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength) และการยืดตัวถึงจุด

ขาด (elongation at break) โดยใช้เครื่อง Texture Analyzer

(3) ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant activity) วิเคราะห์โดย DPPH radical scavenging assay (Brand-Williams et al., 1995) และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay (Benzie and Strain, 1996)

(4) ความโปร่งแสง วัดในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน (%transmittance) ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร

(5) สี วัดค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  ในระบบ CIELAB โดยใช้ chroma meter

(6) สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (water vapor permeability) วิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐาน ASTM (ASTM, 1999)

(7) ความสามารถในการละลายน้ำ วิเคราะห์ตามวิธีของ Perez-Gago and Krochta (2001)

(8) โครงสร้างของฟิล์ม ศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Fisher's Least-Significant Difference

3.2 การศึกษาการประยุกต์ฟิล์มบริโภคได้จากเจลาตินที่เติมสารสกัดดอกอัญชันต่อเสถียรภาพเชิงออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์หมูเจอร์กี้

นำตัวอย่างฟิล์มมาใช้ห่อหุ้มผลิตภัณฑ์อาหารโดยผลิตภัณฑ์อาหารที่เลือกเป็นตัวได้แก่ หมูเจอร์กีน้ำหนัก 10 กรัม ติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหมูเจอร์กี้ ที่ห่อด้วยฟิล์มเจลาตินที่มีการเติมและไม่เติมสารสกัดจากดอกอัญชัน

สำหรับฟิล์มเจลาตินที่มีการเติมและไม่เติมสารสกัดจากดอกอัญชันที่นำมาห่อหมูเจอร์กี้ตัดฟิล์มให้มีขนาด 6x6 ซม. แล้วจึงนำมาห่อชิ้นหมูเจอร์กี้ โดยห่อในลักษณะบิดหัวท้าย (twist wrap) บรรจุชิ้นหมูเจอร์กี้ที่ถูกห่อหุ้มด้วยฟิล์มลงในกล่องพลาสติก เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25°C) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ทุกๆ 2 วัน สุ่มตัวอย่างหมูเจอร์กี้ที่ถูกห่อหุ้มด้วยฟิล์มมาวิเคราะห์สมบัติในข้อ 1-4 วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 3 ซ้ำ

(1) ความชื้น วิเคราะห์โดย air oven method ตามวิธีของ AOAC (2000)

(2) วอเตอร์แอกทิวิตี วัดโดยใช้ Aqualab water activity meter

(3) ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value) วิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (2000)

(4) Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) วิเคราะห์ตามวิธีของ Hodges et al. (1999)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Fisher's Least-Significant Difference

## 8. งบประมาณ

### 8.1 ค่าใช้สอย

ค่าสำเนาเอกสารและสิ่งพิมพ์	200 บาท
ค่าวิเคราะห์ตัวอย่าง	5000 บาท

### 8.2 ค่าวัสดุ

เครื่องแก้วและอุปกรณ์	2000 บาท
เจลาติน	1000 บาท
กลีเซอรอล	200 บาท
สารสกัดจากดอกอัญชัน	500 บาท
วัตถุดิบสำหรับผลิตหมูเจอร์กี้	2000 บาท
สารเคมีสำหรับวิเคราะห์	8000 บาท
รวม	18900 บาท

## เอกสารอ้างอิง

เนตรนภา เมยกลาง และ เฉลิม เรืองวิริยะชัย. 2557. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำผลไม้. *วารสารวิจัย มข.* 14: 69-79.

วรรณา ชันธชัย. 2555. การพัฒนาฟิล์มและสารเคลือบรับประทานได้จากแป้งข้าวเจ้ามาประยุกต์ใช้ในทอพีผลไม้. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหาร คณะ เทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ.

สุภารัตน์ แสงเนตร. 2555. ผลของสารสกัดฟีนอลิกจากใบหม่อน *Morus alba* L. ต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.



- AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*, 17<sup>th</sup> ed. Washington, D. C.: The Association of Analytical Chemists.
- ASTM. 1999. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia, PA: The American Society for Testing and Materials.
- Benzie, I. F. and Strain, J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70-76.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT* 28: 25-30.
- Choi, I., Lee, J. Y., Lacroix, M. and Han, J. 2017. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food Chemistry* 218: 122-128.
- Dou, L., Li, B., Zhang, K., Chu, X. and Hou, H. 2018. Physical properties and antioxidant activity of gelatin-sodium alginate edible films with tea polyphenols. *International Journal of Biological Macromolecules* 118: 1377-1383.
- Golasz, L. B., da Silva, J. and da Silva, S. B. 2013. Film with anthocyanins as an indicator of chilled pork deterioration. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 33: 155-162.
- Hodges, D. M., DeLong, J. M., Forney, C. F. and Prange, R. K. 1999. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta* 207: 604-611.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Garcia-Parrilla, M. C. and Fett, R. 2004. Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. *Food Science and Technology (Campinas)* 24: 691-693.
- Matta, E., Tavera-Quiroz, M. and Bertola, N. 2019. Active edible films of methycellulose with extracts of green apple (Granny Smith) skin. *International Journal of Biological Macromolecules* 124: 1292-1298.

- Perez-Gago, M. B. and Krochta, J. M. 2001. Denaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. *Food Engineering and Physical Properties* 66: 705-710.
- Prietto, L., Mirapalhete, T. C., Pinto, V. Z., Hoffmann, J. F., Vanier, N. L., Lim, L. T., Dias, A. R. G. and Zavareze, E. R. 2017. pH-sensitive films containing anthocyanins extracted from black bean seed coat and red cabbage. *LWT* 80: 492-500.
- Stoll, L., da Silva, A. M., Iahnke, A. O. S., Costa, T. M. H., Fiôres, S. H. and Rios, A. O. 2017. Active biodegradable film with encapsulated anthocyanins: effect on quality attributes of extra-virgin olive oil during storage. *Journal of Food Processing and Preservation* <https://doi.org/10.1111/jfpp.13218>.
- Wang, W. and Goodman, M. T. 1999. Antioxidant property of dietary agents in a human LDL-oxidation *in vivo* model: interaction of protein binding activity. *Nutrition Research* 19:191-202.

## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวปนัดดา กิตินันท์ประกร
ตำแหน่ง	หัวหน้าโครงการ
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา	2562
ผลงานและรางวัลทางวิชาการ	
	รางวัลเรียนดี ปีการศึกษา 2560
	รางวัลเรียนดี ปีการศึกษา 2561
โทรศัพท์	091-7063799
E-mail	bebean_nut@hotmail.co.th



## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวสุชญา โตคุณาลัย
ตำแหน่ง	ผู้วิจัยร่วม
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา	2562
โทรศัพท์	094-9935147
E-mail	nookiescy@gmail.com

