วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 26 (ฉบับที่ 2) พฤษภาคม – สิงหาคมพ.ศ. 2564
BURAPHA SCIENCE JOURNAL Volume 26 (No.2) May – August 2021 บทความวิจัย

ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวเหนียวดำในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ

Antioxidant Efficiencyof Black Glutinous Rice (*Oryza sativa* L. (indica)) Extracts : Application in Lipid-Based Food Products

จิตรวดี ตั้งหิรัญรัตน์[1*],ขวัญจิต อิสระสุข[1], ปิยนุช พรมภมร[1],นิสุฎา อิ่มเสถียร[2],
ณัฏฐรัตน์ ศรีบุรินทร์[2], นเรศ บางศิริ[3] และ กัลยาภรณ์ จันตรี[4]
Jittarawadee Tanghiranrat[1*], Khwunjit Itsarasook[1], Piyanuch Prompamorn[1], Nisuda Imsathian[2],
Nuttarut Sriburin[2], Naraet Bangsiri[3] and Kanlayaporn Chantree[4]

[1]หลักสูตรวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

[2]ศูนย์เครื่องมือปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

[3]โรงเรียนการเรือน มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

[4]หลักสูตรวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางและความงาม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี

[1] Department of Cosmetic Science, Faculty of Science and Technology, Suan Dusit University

[2] Scientific Equipment Center, Faculty of Science and Technology, Suan Dusit University

[3] School of Culinary Arts, Suan Dusit University

[4] Department of Cosmetic and Beauty Sciences, Faculty of Science and Technology, Kanchanaburi Rajabhat University

Received : 9 April 2020
Revised : 22 May 2020
Accepted : 15 September 2020

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยเอทานอล 70% และ 95% เพื่อนำมายับยั้งกลิ่นหืนในมายองเนส โดยศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณแอนโทไซยานินรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี DPPH ABTS^{+}และ FRAP ผลการทดลองพบว่าสารสกัดข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยเอทานอล 70% มีปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณแอนโทไซยานินรวม ค่าIC_{50} ต่อ DPPH$^{\bullet}$ค่า IC_{50}ต่อ ABTS$^{+\bullet}$และค่า FRAP value สูงสุด เท่ากับ97.20±0.08mg GAE/g crude extract 267.62±30.85mg cyanidin-3-glucoside/g crude extract 0.17±0.02 mg/ml 0.43±0.05mg/ml และ 7.82±0.20 mg TE/g crude extract ตามลำดับ ซึ่งปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ปริมาณแอนโธไซยานินรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอล 70% สูงกว่าสารสกัดจากเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)เมื่อนำสารสกัดมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์มายองเนสโดยทดสอบค่า Peroxide value (PV) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าสี และการวิเคราะห์จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ พบว่าผลิตภัณฑ์มายองเนสที่ใส่สารสกัดข้าวเหนียวดำ 0.20% สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์ได้ดีสุด มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ค่าสีมีค่า L* และค่า b* ลดลงแต่มีค่า a* เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (ปราศจากสารต้านออกซิเดชัน)และการวิเคราะห์จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการทดสอบ Total Plate Count, *Salmonella* spp., *Staphylococcusaureus, Escherichia coli*และ Yeast & Mold พบว่าผลิตภัณฑ์มายองเนสมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ <10 CFU/g ในการวิเคราะห์ Total Plate Count และ Yeast & Mold พบ *Escherichia coli*<3MPN/g และไม่พบ *Salmonella* spp. ในอาหาร 25 กรัม และไม่พบ *Staphylococcus aureus* ในอาหาร 1 กรัม เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนซึ่งแสดงให้เห็นถึงคุณภาพและความปลอดภัยสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารกันหืนจากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์อาหารได้

คำสำคัญ : สารสกัดข้าวเหนียวดำ ; ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ; ผลิตภัณฑ์มายองเนส

Abstract

This research aimed to study antioxidant activities of 70% and 95% ethanolic extracts of black glutinous rice for further application as rancidinhibitorin mayonnaise product. The total phenolic content, total anthocyanin content and antioxidant activities such as DPPH, $ABTS^{+}$, and FRAP assays were tested. The results showed that 70% ethanolic extract containedthe highest total phenolic and total anthocyanin contents (97.20±0.08 mg GAE/g crude extract, 267.62±30.85mg cyanidin-3-glucoside/g crude extract, respectively). ItsIC_{50} on $DPPH^{\bullet}$, IC_{50} on $ABTS^{+\bullet}$and FRAP value were 0.17±0.02 mg/ml, 0.43±0.05mg/ml, and 7.82±0.20 mg TE/g crude extract, respectively. According to total phenolic content, total anthocyanin content,and the antioxidant activity,70% ethanolic extract hadthese values higher than that of 95% ethanolic extract ($p \leq 0.05$). Therefore, the extract was further applied in mayonnaise products. After that, the peroxide value (PV), pH, color value and the microbial counts were evaluated. The results indicated that mayonnaise products containing 0.20% black glutinous rice extract strongly inhibited the lipid peroxidation. The pH compliedThai Industrial Standard. The L* and b* color decreased while a* color increased whencompared to the control (without antioxidant). For the microbial determination, yeast & mold hadless than 10 CFU/g, *Escherichia coli*< 3 MPN/g, *Salmonella* spp. was not detected in 25 g, and *Staphylococcus aureus* was not detected in 1 g of mayonnaise products which were according to Thai Community Product Standards. These results demonstrated the quality and safety of application as a natural antioxidant in food products.

Keywords : black glutinous rice extract ; antioxidant activities ; mayonnaise product

***Corresponding author. E-mail** : jittarawadee.19@gmail.com

บทนำ

อาหารที่มีองค์ประกอบของไขมันและน้ำมันสูงมักเกิดการเสื่อมเสียของอาหารได้ง่าย เช่น มายองเนส จะมีส่วนประกอบหลักที่สำคัญคือ น้ำมัน (ประมาณ 70-80%) ไข่แดง น้ำตาลทราย น้ำส้มสายชู และเครื่องเทศ ซึ่งผลิตภัณฑ์มายองเนสมีไขมันในปริมาณที่สูง จึงส่งผลให้ไวต่อการเสื่อมเสียและมีแนวโน้มเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันหรือน้ำมันนั้นจะมีผลกระทบต่อคุณภาพอาหารด้านลบ รวมถึงสุขภาพของผู้บริโภค ซึ่งการเปลี่ยนแปลงออกซิเดชันของไขมันนั้นจะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของกลิ่นรส และสีของผลิตภัณฑ์นอกจากนี้ยังลดความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และลดคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร ข้อควรระวังที่จะต้องดำเนินการเพื่อลดการเกิดออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบคือการใช้สารกันหืนสังเคราะห์ เช่น บิวทิวเลตเทต ไฮดรอกซีโทลูอีน (Butylated hydroxytoluene: BHT) บิวทิวเลตเทต ไฮดรอกซีอะนิโซล (Butylated hydroxyanisol: BHA) และเทอเทียรี บิวทิลไฮโดรควิโนน (Tertiary butylhydroquinone: TBHQ) เป็นต้น แต่เมื่อใช้สารดังกล่าวในปริมาณที่สูงและเป็นเวลานานจะส่งผลต่อความผิดปกติในเนื้อเยื่อของสัตว์ทดลองได้ (Noiduang*et al*.,2015) ดังนั้นสารออกฤทธิ์ในธรรมชาติจึงเป็นที่สนใจและมักถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อรักษาคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหาร เนื่องจากทุกวันนี้ผู้บริโภคให้ความสำคัญกับอาหารที่ได้จากธรรมชาติ รวมถึงสารกันหืนที่ได้จากธรรมชาติเช่นกัน ตัวอย่างเช่น แอนโทไซยานิน(Anthocyanin) ฟลาโวนอยด์(Flavonoid) ฟีนอลิก (Phenolic) และแอลฟ่า-โทโคฟีรอล (α-Tocopherol)ที่อยู่ในน้ำมันรำข้าว เป็นต้น (Guyton & Hall, 2006; Ozdemir*et al*., 2018)

ข้าวเหนียวดำ (*Oryza sativa* L. (indica)) เป็นพืชเศรษฐกิจที่นิยมปลูกมากในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ของประเทศไทย (Phengrat &Jearakongman, 2010) สายพันธุ์ข้าวเหนียวดำที่นิยมคือ พันธุ์ดอยสะเก็ด พันธุ์ดอยมูเซอ และพันธุ์อมก๋อย ซึ่งอุดมไปด้วยสารอาหารและแร่ธาตุที่สำคัญ อีกทั้งยังพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ แอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารให้รงควัตถุสีม่วง สีส้ม สีแดง และสีน้ำเงินโดยมีสารแอนโทไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ (C-3-G) เป็นสารที่พบมากในข้าวดำมีปริมาณ 64.21mg/100g (Kaaladee, 2011)งานวิจัยของ Pengkumsri *et al*. (2015) ได้สกัดข้าวสี 3 สายพันธุ์พบว่าข้าวดำเชียงใหม่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุดเท่ากับ 487.25 ± 24.36 mg of cyanidin equivalent/ g of extract และให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าพันธุ์ข้าวอื่น ๆ นอกจากนี้งานวิจัยของ Vichapong*et al*. (2010) ได้ศึกษาข้าวไทย 6 สายพันธุ์ โดยแบ่งเป็นข้าวไม่มีสี 3 สายพันธุ์ และข้าวมีสี 3 สายพันธุ์ สกัดด้วยตัวละลายชนิดเดียวกันพบว่า ข้าวมีสี 3 สายพันธุ์ให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าข้าวไม่มีสี 3 สายพันธุ์ จะเห็นว่าข้าวเหนียวดำมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีสารประกอบฟีนอลซึ่งมีผลดีต่อสุขภาพ เช่น รงควัตถุสีในเมล็ดข้าวช่วยยับยั้งการเกิดมะเร็ง และช่วยลดอาการเครียดได้ สารประกอบฟีนอลยังช่วยยับยั้งและบำบัดโรคมะเร็งได้ (Pereira-Caro *et al*., 2013)ดังเช่นงานวิจัยของ Sangkitikomol *et al*.(2010) ได้ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพประเภทแอนโทไซยานินจากสารสกัดข้าวเหนียวดำ พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินที่สูงจึงทำให้ลดการเกิดสารพิษและส่งเสริมสุขภาพโดยการลด oxidative stress และช่วยกำจัดไขมันชนิด LDL ได้เป็นอย่างดี การได้มาซึ่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าวเหนียวดำนั้นอาจได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ เช่น ตัวทำละลายเอทานอล ซึ่งมีงานวิจัยของJansom*et al*.(2016) ได้ศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากข้าวเหนียวดำโดยทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย 12 ชนิด พบว่าสารสกัดข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี นอกจากนี้งานวิจัยของ Thitipramote*et al.* (2016) ได้ศึกษาข้าวสี 3 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวหอมมะลิแดง ข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว และข้าวกล้องญี่ปุ่นโดยสกัดด้วยเอทานอล 70% พบว่า ข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัวมีปริมาณแอนโทไซยานินรวมสูงสุดเท่ากับ 17.784±0.172 mg/ml extract ส่งผลให้มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ดี เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Saenkod*et al*. (2013) ได้ศึกษาข้าวดำ ข้าวแดง และข้าวกล้องด้วยการสกัดด้วยน้ำ (อุณหภูมิ 25°C) น้ำร้อน (อุณหภูมิ 50°C) และเอทานอล 70% พบว่าข้าวดำที่สกัดด้วยเอทานอล 70% มีปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุดทำให้ฤทธิ์มีฤทธิ์

การต้านอนุมูลอิสระที่สูง ซึ่งส่งผลทำให้การยับยั้ง Lipid peroxidation มีค่าการยับยั้งที่ดี เป็นไปได้ว่าองค์ประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบดังเช่นงานวิจัยของ Moko *et al.* (2019)ได้ศึกษาการสกัดข้าวสีด้วยตัวทำละลายเอทานอลเพื่อเสริมในมายองเนส พบว่ามายองเนสที่ใส่สารสกัดข้าวสีมีค่าการยับยั้งออกซิเดชันที่ดีกว่ามายองเนสที่ใส่ BHT เท่ากับ 21.55±0.80 mmol/kgแสดงให้เห็นสารสกัดข้าวสีช่วยลดอัตราการเกิดอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ได้ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Zhang *et al.* (2013) ได้นำรำข้าวดำสกัดแอนโทไซยานินเพื่อยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในน้ำมันปลา พบว่าองค์ประกอบของแอนโทไซยานินสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในน้ำมันปลาได้สูงสุด ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสามารถประยุกต์ใช้เป็นสารกันหืนทางธรรมชาติได้

จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของตัวทำละลายเอทานอลที่มีคุณสมบัติในการปลดปล่อยสารสำคัญที่อยู่ในรูปของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีกว่าการสกัดด้วยทำละลายชนิดอื่น ๆ จึงส่งผลทำให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูง ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ เพื่อศึกษาการสกัดและความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เพื่อทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน และอายุการเก็บรักษาของสารสกัดข้าวเหนียวดำในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมผงข้าวเหนียวดำ

นำข้าวเหนียวดำที่ใช้ในการศึกษา คือสายพันธุ์ดอยสะเก็ดปริมาณ 1,000 g. มาทำให้แห้งโดยเครื่องอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50±2°C เป็นเวลา 20 min รอให้เย็นจากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นบดผงความเร็วสูง (Grinding Pin Mill Machine) จากนั้นนำมาวัดค่าความชื้นซึ่งอยู่ระหว่างร้อยละ 7-8 แล้วนำมาบรรจุใส่ถุงโพลิเอทิลีนด้วยเครื่องบรรจุแบบสุญญากาศเก็บไว้ในโถดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้อง (25±2°C) ตามวิธีของ Parnsakhorn &Noomhorm (2012) เพื่อนำวัตถุดิบมาใช้ในการวิเคราะห์ขั้นตอนถัดไป

2. การสกัดข้าวเหนียวดำ

ชั่งข้าวเหนียวดำ 50 g ใส่ในขวดรูปชมพู่แล้วเติมเอทานอลที่ความเข้มข้น70% และ 95%ตามลำดับ ปริมาตร 500 ml แล้วนำขวดรูปชมพู่ไปกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องด้วยเครื่อง Hotplate stirrer ที่ความเร็วรอบ 150 rpm เป็นเวลา 12h นำมากรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman No.1) ทำการระเหยโดยใช้เครื่อง Rotary Vacuum Evaporator ที่อุณหภูมิ 42±2°C เก็บสารสกัดหยาบในขวดรูปแพร์โดยการเติมตัวทำละลายเอทานอลแต่ละความเข้มข้น จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่เติมด้วยตัวละลายเอทานอลไประเหยโดยการให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 40±2°C จนสารละลายเอทานอลระเหยหมด จากนั้นเก็บสารสกัดหยาบไว้ในขวดสีชาที่มีฝาปิดสนิทที่อุณหภูมิ -18°C จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ ตามวิธีของ Tewaruth (2007)

3. ศึกษาองค์ประกอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดข้าวเหนียวดำ

3.1 ปริมาณฟีนอลิกรวม

วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin–Ciocalteu reagent ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Noridayu *et al.* (2011) โดยเตรียมสารสกัดความเข้มข้น10mg/ml แล้วปิเปตสารละลายของสารสกัดปริมาตร 0.1 ml และ Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 0.1 ml บ่มในที่มืดเป็นเวลา 6 min ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นผสมสารละลาย 7% (w/v) sodium carbonate ปริมาตร 1 ml หลังจากนั้นปิเปตลง 96 well pate บ่มไว้ในที่มืด 90min ที่อุณหภูมิห้องนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm คำนวณหาปริมาตรสารประกอบปริมาตรฟีนอลิกรวมในสารสกัดเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐาน (Calibration standard curve) ของ Gallic acid คำนวณในรูปมิลลิกรัมสมมูลของ Gallic acid (gallic acid equivalent; GAE)/g crude extract)

3.2 ปริมาณแอนโทไซยานิน

วิเคราะห์ด้วยวิธี pH differential method ตามวิธีของ Tananuwong&Tewaruth (2010) โดยใส่สารสกัดข้าวเหนียวดำ 2 หลอด หลอดละ 0.5 ml จากนั้นเติม Potassium chloride buffer pH 1 และ Sodium acetate buffer pH 4.5 อย่างละ 10 ml. ตั้งทิ้งไว้ 15 min ที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm และ 700 nm ปริมาณแอนโทไซยานินจะคำนวณออกมาในรูป cyanidin-3-glucoside ตามสมการ(1)

$$A_{diff} = [(A_{510}-A_{700})\ pH1.0] - [(A_{510}-A_{700})\ pH4.5] \quad (1)$$

เมื่อ A_{510} คือค่า absorbance 510 nm วัดจากค่า Potassium chloride buffer pH 1และ Sodium acetate buffer pH 4.5และ A_{700} คือค่า absorbance 700 nm วัดจากค่า Potassium chloride buffer pH 1และ Sodium acetate buffer pH 4.5ส่วน A_{diff} คือค่า absorbance ที่ได้จากการคำนวณ

นำค่า A_{diff} ไปคำนวณปริมาณแอนโทไซยานินที่อยู่ในรูป Monomeric anthocyanin pigment (mg cyanidin-3-glucoside/L) จากสมการ(2)

$$\text{Monomeric anthocyanin pigment (mg/L)} = [A_{diff} \times MW \times DF \times 1000]/\varepsilon e \quad (2)$$

เมื่อ MWคือ molecular weight of cyanidin-3-glucoside (449.2) ค่า DF คือ dilution factor (20) และค่า εe คือ Molar absorptivity of cyanidin-3-glucoside (26,900l/mol cm)แสดงผลในหน่วย µg total anthocyanins/g extract

3.3สมบัติฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

3.3.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPHด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ดัดแปลงจากวิธีของ Itsarasook *et al.* (2014) โดยใช้สารอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วง เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านออกซิเดชันที่ละลายด้วยเอทานอลจะทำให้สีม่วงจางลงจนเป็นสีเหลืองการเตรียมสารละลายดีพีพีเอช (DPPH reagent) โดยชั่งดีพีพีเอช 0.00197 gละลายในเอทานอล25 ml ทำการทดสอบกับสารละลายตัวอย่าง โดยผสมสารละลายตัวอย่าง 75 µl กับ สารละลายดีพีพีเอช 150 µl ใน 96 well plate ตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 min วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 nm โดยใช้BHT (Butylated hydroxytoluene) เป็นสารมาตรฐาน จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจากสมการ(3)

$$\%\ \text{Free radical scavenging activity} = [(A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank}] \times 100 \quad (3)$$

เมื่อ A_{sample}คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารผสมระหว่างสารละลาย DPPH กับสารตัวอย่าง และ A_{blank}คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH กับเอทานอล

จากนั้นคำนวณหาค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระได้50% (half maximal inhibition concentration, IC_{50}) จากกราฟระหว่างร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของสารตัวอย่าง

3.3.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี $ABTS^{+}$ดัดแปลงตามวิธีของ Suwannalert & Rattanachitthawat (2011)โดยเตรียมสารละลาย ABTS (2,2–azinobis–3–ethylbenzothiazoline–6–sulfonic acid) ความเข้มข้น 7 mM และสารละลาย Potassiumpersulfate ความเข้มข้น 2.4 mM ผสมสารละลาย ABTSกับสารละลาย Potassium

persulfate ในอัตราส่วน 1:0.5 ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 12 hr. หลังจากนั้นเจือจางสารละลาย ABTS วัดค่าดูดกลืนแสงให้อยู่ในช่วง 0.7±0.02 ที่ความยาวคลื่น 734 nm ทำการทดสอบสารตัวอย่างผสมสารสกัดข้าวเหนียวดำ 70 µl กับสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ 630 µl ในหลอด micro centrifuge หลังจากนั้นปิเปตลงใน 96 well plate ตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 min นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น734 nm โดยใช้BHT (Butylated hydroxytoluene) เป็นสารมาตรฐานจากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจากสมการ(4)

$$\% \text{ Free radical scavenging activity} = [(A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank}] \times 100 \quad (4)$$

เมื่อ A_{sample}คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารผสมระหว่างสารละลาย DPPH กับสารตัวอย่าง และ A_{blank}คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH กับเอทานอล

จากนั้นคำนวณหาค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (half maximal inhibition concentration, IC_{50}) จากกราฟระหว่างร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของสารตัวอย่าง

3.3.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) โดยผสมสารละลาย acetate buffer ความเข้มข้น 300 mM ปริมาตร 10 ml (pH 3.6 ปรับ pH โดยใช้ acetic acid) สารละลาย ferric chloride hexahydrate ความเข้มข้น 20 mM ปริมาตร 1.0 mlสารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 mM ใน 40 mM HCl ผสมในอัตราส่วน 10:1:1 ปริมาตร 190 µl ผสมเข้ากับสารสกัดข้าวเหนียวดำปริมาตร 10 µl ใน 96 well plate บ่มในตู้บ่ม (Incubator) ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 30 min วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nmโดยใช้ Trolox เป็นสารเปรียบเทียบมาตรฐานดัดแปลงมาจากวิธีของ Tananuwong & Tewaruth (2010)

4. ศึกษาปริมาณสารสกัดจากข้าวเหนียวดำเพื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ

4.1 การเตรียมผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ

ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์มายองเนสโดยศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน และคุณสมบัติทางเคมี และทางกายภาพซึ่งส่วนผสมของผลิตภัณฑ์มายองเนสแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนผสมและปริมาณสารสกัดข้าวเหนียวดำในผลิตภัณฑ์มายองเนส

ส่วนผสม(% w/w)	**สูตรที่** 1(% w/w)	**สูตรที่** 2(% w/w)	**สูตรที่** 3(% w/w)	**สูตรที่** 4(% w/w)
น้ำมันถั่วเหลือง	65	65	65	65
ไข่แดง	10	10	10	10
น้ำตาลทราย	16	16	16	16
น้ำส้มสายชูกลั่น ความเข้มข้น 5%	8	7.98	7.9	7.8
สารสกัดข้าวเหนียวดำ	-	-	0.10	0.20
Butylatedhydroxytoluene (BHT)	-	0.02	-	-
เกลือ	1	1	1	1
รวม	100	100	100	100

4.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี-กายภาพในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มายองเนส

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์มายองเนส จำนวน 4 สูตร ได้แก่ สูตรที่ไม่มีการเติมสารสกัดข้าวเหนียวดำ (สูตรที่ 1) สูตรที่มีการเติม 0.02% BHT (สูตรที่ 2) สูตรที่มีการเติมสารสกัดข้าวเหนียวดำ 0.10% (สูตรที่ 3) และสูตรที่มีการเติมสารสกัดข้าวเหนียวดำ0.20% (สูตรที่ 4)นำมาบรรจุใส่ในถุงพลาสติกชนิดโพลิโพรพิลีน (Polypropylene, PP) ด้วยเครื่องบรรจุแบบสุญญากาศนำไปเก็บตู้บ่ม (incubator) ที่อุณหภูมิ 30°C จากนั้นนำมาทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่า Peroxide value และวัดค่าสี L* a* b* โดยทำการตรวจสอบคุณภาพทุก ๆ 5 วัน เป็นเวลา 30 วัน ดัดแปลงวิธีวิเคราะห์ตามTananuwong & Tewaruth (2010)และ AOCS (1999)

4.3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านจุลินทรีย์

ผลิตภัณฑ์มายองเนส จำนวน 4 สูตร ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านเชื้อจุลินทรีย์ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มายองเนส มีดังนี้

4.3.1 การวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและจำนวนยีสต์และรา

มาทำการตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและจำนวนยีสต์และรา ตามวิธีของ BAM (2001)โดยชั่งตัวอย่างอย่างละ 25 g ใส่ในถุงพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติม Diluent (0.1% peptone water) ลงไปประมาณ 225 ml ผสมให้เข้ากัน เตรียม 0.1% peptone water ลงในหลอดทดลอง หลอดละ 9 ml ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างที่มีค่าการเจือจาง 10^{-1}ปริมาตร 1ml ทำการ dilution จนถึง 10^{-5} จากนั้นดูดสารละลายตัวอย่าง 0.1 ml และใช้เทคนิค Spread plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar และ Potato dextrose agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24-48 hr. สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agarเพื่อตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมด ขณะที่Potato dextrose agar ที่ใช้ในการทดสอบเชื้อราและยีสต์ ไปบ่มที่อุณหภูมิ 28-32°C เป็นเวลา 3-5 วันเมื่อครบกำหนดเวลานำมาทำการบันทึกผลนับจำนวนโคโลนีทั้งหมดที่พบในจานเพาะเชื้อและคำนวณค่าจุลินทรีย์รายงานเป็น CFU/g

4.3.2 การวิเคราะห์หาค่า MPNEscherichia coli

การตรวจวิเคราะห์หาค่า MPN *Escherichia coli*ตามวิธีของ BAM (2002) โดยชั่งตัวอย่างจำนวน 25g. เติมสารละลาย 0.85% Nacl ปริมาตร 225ml. ตีป่นอาหารโดยใช้ stomacher เป็นเวลา1 min.ทำการเจือจางตัวอย่างให้ได้ 1:100 และ 1:1000ปิเปตตัวอย่างอาหารครั้งละ 1ml. ที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ ใส่ในหลอด Lauryl sulfate tryptose broth : LSTB (พร้อมหลอดดักก๊าซ ที่ความเข้มข้น 1 เท่า) โดยใช้ระดับความเจือจางละ 3 หลอดเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35±2°Cเป็นเวลา 24-48 hr. ตรวจดูการเจริญโดยสังเกตความขุ่นและการเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซและนับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวก คือ หลอดที่ขุ่นและเกิดก๊าซอย่างน้อย ¼ ของหลอดดักก๊าซStreak เชื้อจากหลอด EC broth ทุกหลอดที่ให้ผลบวกลงอาหาร EMB agar (Eosin methylene blue agar) เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37±2°Cเป็นเวลา 18-24hr.สังเกตลักษณะโคโลนีผิวหน้าเรียบแห้งสีน้ำตาลอมดำ อาจมีเงาโลหะ (metallic sheen) ปรากฏจากนั้นเขี่ยโคโลนีที่มีลักษณะดังกล่าวเลี้ยงบนอาหาร NA เป็นเวลา 24 hr. เพื่อนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางชีวเคมีโดยทดสอบ IMViC Test และย้อมแกรมเพื่อดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)โดย *E.coli*จะให้ผลการทดสอบ IMViC Test เป็น + + - - หรือ - + - - และติดสีแกรมลบ ท่อนสั้นไม่สร้างสปอร์ และหาค่า MPN ของ *E.coli*โดยนับจำนวนหลอดที่ให้ลักษณะโคโลนีของ *E.coli*ใน EMB agar และให้ผลทดสอบ IMViC Test เป็น + + - - หรือ - + - - และติดสีแกรมลบ ท่อนสั้น ไม่สร้างสปอร์นำตัวเลขที่ได้ไปเปิดตาราง MPN เพื่อหาค่า MPN ของ *E.coli* รายงานเป็น MPN/g

4.3.3 การตรวจวิเคราะห์หา Staphylococcus aureus

การตรวจวิเคราะห์ *S. aureus*ดัดแปลงตามวิธีของ BAM (2001)โดยชั่งตัวอย่างมา25g. เติมสารละลาย 0.1 % Peptone water ปริมาตร 225 ml. ตีป่นอาหารโดยใช้ stomacher เป็นเวลา 1 min ทำการเจือจางตัวอย่างให้ได้ 1:100

และ 1:1000จากนั้นดูดตัวอย่างที่แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 0.3, 0.3 และ 0.4ml. ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Baird-Parker Egg Yolk-Tellurite Medium ทำการ spread plate แล้วทิ้งไว้ประมาณ 5min. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±2°Cเป็นเวลา 48 hr. สังเกตลักษณะโคโลนีของ *S. aureus*บนอาหาร Baird-Parker Egg Yolk-TelluriteMedium ซึ่งจะมีสีเทา ดำ นูน กลม ขอบเรียบ มี Opaque zoneแล้วล้อมรอบด้วย Clear zone 2-3 mm.ทำการทดสอบ Coagulase test โดยนำโคโลนีที่สงสัยเลี้ยงในอาหารBHI 0.2ml. บ่มที่อุณหภูมิ 35±2 °Cเป็นเวลา 24 hr. นำมาเติม coagulase plasma อีก 0.5 ml. ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มต่ออีก 6-24 hr. หลังจากนั้นนำมาดูผลการแข็งตัวของ coagulase plasma จากนั้นคำนวณ และรายงาน *S. aureus* ต่อกรัมของตัวอย่างอาหาร

4.3.4 ตรวจวิเคราะห์หา Salmonella spp.

ตรวจวิเคราะห์หา *Salmonella* spp. ตามวิธีวิเคราะห์ISO 6579: 2002 (2004)โดยชั่งตัวอย่าง25 g. ใส่ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ ตีปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันใส่ลงในbuffer peptone waterปริมาตร225 ml. บ่มที่อุณหภูมิ 35°Cเป็นเวลา24 hr.ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1 ml.นำไปใส่ในหลอดอาหารเหลว Selenite cystine broth(SC) 10 ml. บ่มที่อุณหภูมิ35°Cเป็นเวลา 24 hr. และใช้ปิเปตดูดสารตัวอย่างปริมาตร0.1 ml.นำไปใส่ในหลอดอาหารเหลว Rappaport-vassiliadis(RV) ปริมาตร 10 ml. บ่มที่อุณหภูมิ 42°C เป็นเวลา 24 hr.ใช้loop แตะอาหารที่เพาะเชื้อมาstreak ลงในxylose lysine deoxycholate agar(XLD) หรือbismuth sulfite agar หรือSalmonella-Shigella agarบ่มที่อุณหภูมิ 35°Cเป็นเวลา 24 hr.Stabเชื้อในหลอดอาหารMILบ่มที่อุณหภูมิ 35°Cเป็นเวลา24 hr. streakเชื้อลงบนส่วนslant ของอาหาร Urea agar บ่มที่อุณหภูมิ 35°Cเป็นเวลา24 hr.รายงานผล พบ/ไม่พบ ต่อ 25 กรัมตัวอย่าง

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ แสดงผลในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS version 24.0 โดยทำการทดสอบแบบ One way analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามวิธีของ Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

ผลการวิจัย

1. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม แอนโทไซยานินรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากข้าวเหนียวดำ

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม แอนโทไซยานินรวม และการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS^{+}และวิธี FRAP ของสารสกัดจากข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 70% และ 95% แสดงผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม แอนโทไซยานินรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยความเข้มข้นเอทานอลแตกต่างกัน

ระดับความเข้มข้นของเอทานอล	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ		ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ		
	ฟีนอลิกรวม* (mg GAE/g crude extract)	แอนโทไซยานินรวม* (mg Cyanidin-3-glucoside/g crude extract)	IC_{50}* (mg/ml) DPPH$^{\bullet}$	IC_{50}* (mg/ml) $ABTS^{+\bullet}$	FRAP* (mg TE/g crude extract)
70%	97.20±0.08^{a}	267.62±30.85^{a}	0.17±0.02^{b}	0.43±0.05^{b}	78.20±0.2^{a}
95%	90.60±0.03^{b}	68.35±8.46^{b}	0.79±0.02^{a}	1.060±0.002^{a}	40.90±0.3^{b}
BHT			0.15±0.013^{c}	0.10±0.004^{c}	

*หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

$^{a-c}$ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม แอนโทไซยานินรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยความเข้มข้นเอทานอลแตกต่างกันพบว่าสารสกัดข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 97.20±0.08mg GAE/g crude extractปริมาณแอนโทไซยานินรวมเท่ากับ 267.62±30.85 mg Cyanidin-3-glucoside/g crude extract สูงกว่าสารสกัดข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยเอทานอล 95%อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)นอกจากนี้สารสกัดข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยเอทานอล 70% มีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) ด้วยวิธี DPPH และวิธี $ABTS^{+}$เท่ากับ 0.17±0.02และ 0.43±0.05mg/ml เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT พบว่าสารสกัดข้าวเหนียวดำยับยั้งการเกิดออกซิเดชันได้น้อยกว่าสารมาตรฐาน BHT อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องมาจากสารมาตรฐาน BHT เป็นสารสังเคราะห์บริสุทธิ์ ส่วนสารสกัดข้าวเหนียวดำมีองค์ประกอบทางเคมีที่หลากหลาย เช่น องค์ประกอบของสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแอนโทไซยานิน ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้เกิดจากการเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกัน (Synergistic effect)ส่งผลให้ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารบริสุทธิ์BHT ส่วนผลการทดสอบด้วยวิธี FRAP assay ของสารสกัดข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยเอทานอล 70% มีค่า FRAP เท่ากับ 78.20±0.2TE/g crude extractซึ่งสูงกว่าสารสกัดข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยเอทานอล 95% แสดงให้เห็นว่าสารสกัดข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยเอทานอล 70% มีคุณสมบัติการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระดีที่สุด

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดข้าวเหนียวดำ พบว่าสารสกัดข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ปริมาณฟีนอลิกรวม และแอนโทไซยานินรวมสูงสุด ส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันที่ดีกว่าสารสกัดส่วนอื่น ดังนั้นจึงนำมาประยุกต์ใช้สำหรับการผลิตมายองเนสในการทดลองต่อไป

2. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมายองเนสสูตรต่างๆในระหว่างการเก็บรักษา

ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์มายองเนสจำนวน 4 สูตร ได้แก่ สูตรที่ไม่มีการเติมสารสกัดข้าวเหนียวดำ (สูตรที่ 1) สูตรที่มีการเติม 0.02% BHT (สูตรที่ 2) สูตรที่มีการเติมสารสกัดข้าวเหนียวดำ 0.10% (สูตรที่ 3) และสูตรที่มีการเติมสารสกัดข้าวเหนียวดำ0.20% (สูตรที่ 4)แสดงดังภาพที่ 1

ภาพที่ 1 ผลิตภัณฑ์มายองเนสจำนวน 4สูตร

2.1 การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพด้วยการวัดค่าสี L a* และ b**

ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผลิตภัณฑ์มายองเนสจำนวน 4 สูตร ได้แก่ สูตรที่ไม่มีการเติมสารสกัดข้าวเหนียวดำ (สูตรที่ 1) สูตรที่มีการเติม 0.02% BHT (สูตรที่ 2) สูตรที่มีการเติมสารสกัดข้าวเหนียวดำ 0.10% (สูตรที่ 3) และสูตรที่มีการเติมสารสกัดข้าวเหนียวดำ0.20% (สูตรที่ 4) ด้วยการวัดค่าสี L* a* และ b* แสดงผลดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าสี L* a* b* ของของผลิตภัณฑ์มายองเนส จำนวน 4 สูตร

สูตรผลิตภัณฑ์มายองเนส	เวลา (วัน)	ค่าสี*		
		L*	a*	b*
สูตรที่ 1	0	44.29±0.34	1.68±0.07	20.61±0.12
	5	44.45±0.09	0.30±0.17	12.83±0.16
	10	45.13±0.09	0.19±0.19	12.34±0.37
	15	43.94±0.05	-0.15±0.20	10.75±0.17
	20	43.45±0.13	0.15±0.35	10.71±0.13
	25	43.48±0.07	-0.07±0.06	11.44±0.08
	30	44.27±0.19	0.25±0.05	11.18±0.15
สูตรที่ 2	0	47.65±0.22	0.97±0.04	19.14±0.21
	5	43.61±0.28	0.40±0.46	10.48±0.14
	10	40.03±0.47	1.09±0.04	9.61±0.45
	15	39.95±0.10	0.57±0.04	10.37±0.21
	20	39.19±0.15	0.37±0.02	10.99±0.46
	25	39.18±0.22	0.52±0.04	10.56±0.61
	30	40.08±0.57	0.94±0.28	9.26±0.30
สูตรที่ 3	0	38.82±0.32	3.81±0.13	14.17±0.18
	5	39.09±0.08	2.34±0.06	11.35±0.29
	10	38.53±0.11	3.23±0.04	11.10±0.29
	15	37.62±0.13	2.46±0.10	9.34±0.29
	20	38.29±0.21	1.90±0.12	9.81±0.22
	25	38.31±0.10	2.07±0.08	9.81±0.24
	30	37.88±0.22	2.39±0.25	7.47±0.65
สูตรที่ 4	0	37.64±0.29	5.40±0.25	12.59±0.29
	5	36.44±0.78	3.52±0.13	11.27±0.08
	10	37.30±0.13	3.78±0.06	11.58±0.16
	15	38.46±0.27	3.47±0.04	10.62±0.14
	20	38.12±0.22	2.92±0.14	10.01±0.17
	25	37.73±0.27	3.46±0.08	10.35±0.15
	30	38.67±0.56	3.59±0.10	10.32±0.32

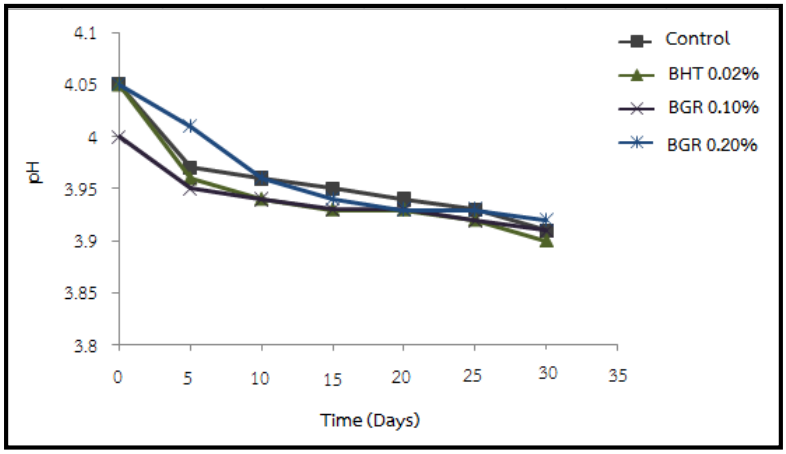
*หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์มายองเนส จำนวน 4 สูตร โดยศึกษาค่าสี L* a* b* เปรียบเทียบกับสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 จากผลการทดลองสามารถอธิบายได้ว่าผลิตภัณฑ์มายองเนสที่เติมสารสกัดข้าวเหนียวดำจะมีค่าความสว่าง L* และค่า b* ลดลงนั่นคือค่า L* ลดลงจาก 47.65 ไปเป็น 36.44 ส่วนค่า b* เป็นค่าที่ให้สีเหลือง

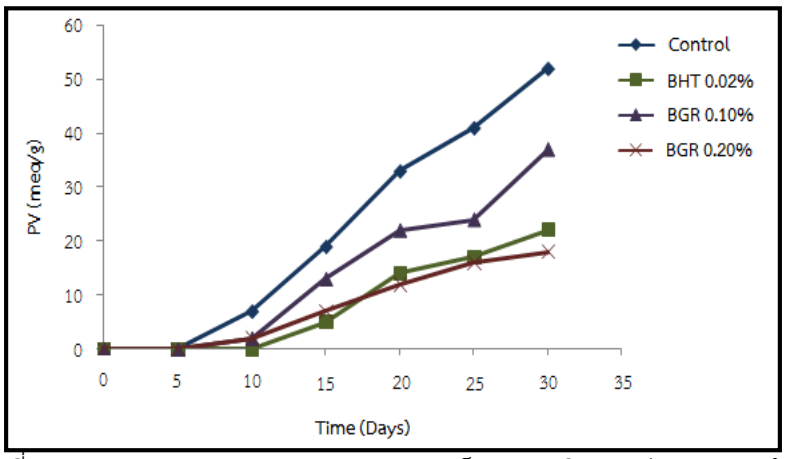
(+b*) ไปเป็นค่าที่ให้สีน้ำเงิน (-b*) โดยลดลงจาก 20.61 ไปเป็น 7.47 ส่วนค่า a* มีค่าเพิ่มขึ้นจาก -0.15 ไปเป็น 5.40 ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดข้าวเหนียวดำมีสีน้ำเงินเข้มเมื่อเพิ่มปริมาณการใช้ในผลิตภัณฑ์มายองเนสทำให้ค่า L* และค่า b* ลดลง ส่งผลให้ค่า a* เพิ่มขึ้น โดยสีของผลิตภัณฑ์ที่เปลี่ยนไปอาจเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดซึ่งเกิดขึ้นใน pH ต่ำจึงส่งผลให้สีของมายองเนสมีการเปลี่ยนแปลง แสดงให้เห็นว่าสารสกัดข้าวเหนียวดำ ระยะเวลาการเก็บรักษา และการเปลี่ยนแปลงของค่า pH อาจส่งผลต่อค่าสีในผลิตภัณฑ์

2.2 การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีด้วยการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และวิเคราะห์ค่า Peroxide value(PV)

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีด้วยการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)วิเคราะห์ค่าPV ซึ่งเป็นการวิเคราะห์หาปริมาณออกไซด์ที่อยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบโดยทำการวิเคราะห์ในผลิตภัณฑ์มายองเนสจำนวน 4 สูตร ซึ่งแสดงผลดังภาพที่ 2 และภาพที่ 3



ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มายองเนส จำนวน 4 สูตร



ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงค่า Peroxide value ระหว่างการการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มายองเนส จำนวน 4 สูตร

จากผลการทดลองภาพที่ 2 พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นของผลิตภัณฑ์มายองเนส จำนวน 4 สูตร มีค่าที่ใกล้เคียงกันระหว่าง 3.90-4.05 เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้นค่า pH มีค่าที่ลดลง ส่วนการวิเคราะห์ค่า Peroxide

value (PV) เป็นการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ จากภาพที่ 3 แสดงให้เห็นว่าค่า PV เริ่มต้นของผลิตภัณฑ์มายองเนส จำนวน 4 สูตรมีค่าเท่ากับ 0 meq/g และมีแนวโน้มที่สูงขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นโดยภายหลังการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มายองเนสสูตรที่4 มีค่า PV น้อยสุดเท่ากับ 18 meq/g เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่1 ซึ่งเป็นสูตรควบคุมและเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ 2 ซึ่งมีการเติม BHT 0.02% พบว่ามายองเนสสูตรที่ 4 มีค่าการยับยั้งเปอร์ออกไซด์ที่ดีกว่าแสดงให้เห็นว่าสารสกัดข้าวเหนียวดำมีความสามารถในการยับยั้งปริมาณเปอร์ออกไซด์ที่มีอยู่ในน้ำมันและมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ กล่าวคือถ้าปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีปริมาณที่สูงจะส่งผลให้มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีเช่นกัน

2.3 การเปลี่ยนแปลงด้านจุลชีววิทยา

การวิเคราะห์จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดของผลิตภัณฑ์มายองเนส จำนวน 4 สูตรที่ระยะการเก็บรักษาวันที่ 0 และวันที่ 30 โดยวิเคราะห์ Total Plate Count,Yeast & Mold, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*และ *Escherichia coli* แสดงดังตารางที่4

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดของผลิตภัณฑ์มายองเนส จำนวน 4 สูตร

สูตรผลิตภัณฑ์มายองเนส	วิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์	ผลการวิเคราะห์	
		0 วัน	30 วัน
สูตรที่1	Total Plate Count CFU/g	<10	<10
	Salmonella spp. /25g	ไม่พบ	ไม่พบ
	S. aureus /g	ไม่พบ	ไม่พบ
	*E. coli*MPN/g	<3	<3
	Yeast & MoldCFU/g	<10	<10
สูตรที่2	Total Plate CountCFU/g	<10	<10
	Salmonella spp. /25g	ไม่พบ	ไม่พบ
	S. aureus /g	ไม่พบ	ไม่พบ
	*E. coli*MPN/g	<3	<3
	Yeast & Mold CFU/g	<10	<10
สูตรที่3	Total Plate CountCFU/g	<10	<10
	Salmonella spp. /25g	ไม่พบ	ไม่พบ
	S. aureus /g	ไม่พบ	ไม่พบ
	*E. coli*MPN/g	<3	<3
	Yeast & Mold CFU/g	<10	<10
สูตรที่4	Total Plate Count CFU/g	<10	<10
	Salmonella spp. /25g	ไม่พบ	ไม่พบ
	S. aureus /g	ไม่พบ	ไม่พบ
	*E. coli*MPN/g	<3	<3
	Yeast & Mold CFU/g	<10	<10

จากตารางที่ 4 ผลการทดลองพบว่าผลิตภัณฑ์มายองเนส จำนวน 4 สูตรที่ระยะการเก็บรักษาวันที่ 0 และวันที่ 30 ผลการวิเคราะห์ Total Plate Count <10 CFU/g ไม่พบ *Salmonella* spp. ในอาหาร 25 กรัม และไม่พบ *Staphylococcus aureus* ในอาหาร 1 กรัม พบ *Escherichia coli*<3 MPN/g และYeast & Mold <10 CFU/g ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนโดยต้องมี Total Plate Count ต้องไม่เกิน $1x10^4$ CFU/g ต้องไม่พบ *Salmonella* spp. (ในอาหาร 25 กรัม) และ *Staphylococcus aureus* (ในอาหาร 1 กรัม) *Escherichia coli* ต้องน้อยกว่า 3 MPN/g และ Yeast & Mold ต้องไม่เกิน 100CFU/g แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์มายองเนสจำนวน 4 สูตร มีคุณภาพด้านเชื้อจุลินทรีย์เป็นไปตามมาตรฐานซึ่งแต่ละตัวอย่างมีคุณภาพด้านจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกัน

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการวิจัยได้นำข้าวเหนียวดำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 70% และ 95% วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม แอนโทไซยานินรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากตารางที่ 2 พบว่าสารสกัดข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยเอทานอล 70% มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณแอนโทไซยานินรวมสูงที่สุด เนื่องจากสารประกอบดังกล่าวเป็นสารที่มีขั้วจึงสามารถละลายได้ในตัวทำละลายมีขั้วได้ดี ซึ่งสารสกัดจากข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ที่มีองค์ประกอบเป็นน้ำ 30 ส่วนและเอทานอล 70 ส่วน ซึ่งมีความเป็นขั้วสูงกว่าตัวทำละลายอื่น ๆ จึงสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินรวมออกมาได้มากกว่าตัวทำละลายความเข้มข้นอื่น ๆ (Saenkod *et al*., 2013) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chooklin (2014) ได้ศึกษาการสกัดจากข้าวกล้องพบว่าอัตราส่วนปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้ส่งผลในการพาสารสำคัญของสารสกัดข้าวเหนียวดำพันธุ์ดอยสะเก็ดออกมา เมื่อความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ในการสกัดเพิ่มมากขึ้นจะส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกมีปริมาณที่ลดน้อยลง และเมื่อเอทานอลที่ความเข้มข้นมากกว่า 80% จะส่งผลให้ได้สารที่เป็นส่วนประกอบของลิพิดออกมามาก แสดงให้เห็นว่าอัตราส่วนความเข้มข้นของเอทานอล และน้ำที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณแอนโทไซยานินรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)ส่วนฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ABTS$^+$และ FRAPพบว่าสารสกัดข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 70% มีฤทธิ์การยับยั้งออกซิเดชันดีสุดโดยมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) น้อยที่สุด ซึ่งค่า IC_{50} ที่น้อยจะบ่งบอกถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่สูง(Tananuwong&Tewaruth, 2010) จากการทดลองข้างต้นจะเห็นว่าความเข้มข้นของเอทานอลมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 3 การวัดค่าสี L* a* b* ของผลิตภัณฑ์มายองเนส 4 สูตรพบว่าผลิตภัณฑ์มายองเนสที่เติมสารสกัดข้าวเหนียวดำ (สูตรที่ 3 และ 4) จะมีค่าความสว่าง L* และค่า b* ลดลงส่วนค่า a* มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดข้าวเหนียวดำมีสีน้ำเงินเข้มเมื่อเพิ่มปริมาณการใช้ในผลิตภัณฑ์มายองเนสทำให้ค่า L* และค่า b* ลดลงส่งผลให้ค่า a* เพิ่มขึ้น เนื่องมาจากสารสกัดข้าวเหนียวดำมีองค์ประกอบของแอนโทไซยานินซึ่งให้สีม่วง-สีแดงทำให้ค่า a* เพิ่มขึ้นจึงส่งผลต่อผลิตภัณฑ์ โดยสีของผลิตภัณฑ์ที่เปลี่ยนไปอาจเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดซึ่งเกิดขึ้นใน pH ต่ำซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Tananuwong &Tewaruth (2010) ได้ประยุกต์ใช้สารสกัดข้าวเหนียวดำในผลิตภัณฑ์มายองเนสเสริมน้ำมันปลาโดยทำการวัดค่าสี L* a* b* ทางการศึกษาพบว่าค่าความสว่าง (L*) และค่าสีเหลือง (b*) มีค่าลดลงเมื่อเพื่อระยะเวลาการเก็บของทุกอย่างในผลิตภัณฑ์มายองเนสในขณะที่ค่าสีแดง (a*) มีค่าเพิ่มขึ้น เป็นผลมาจากความเข้มของสีในผลิตภัณฑ์ ซึ่งค่าสีที่เปลี่ยนแปลงส่วนหนึ่งอาจเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดเนื่องจากไข่แดงมีน้ำตาลรีดิวซ์และกรดอะมิโนอิสระจำนวนเล็กน้อยและปฏิกิริยาเมลลาร์ดอาจเกิดขึ้นอย่างช้าในตัวอย่างที่มีสภาวะเป็นกรด เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Moko *et al.* (2019) ได้ศึกษาความคงตัวของออกซิเดชันของสารสกัดข้าวสีในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ ได้แก่ มายองเนส

โดยทำการวิเคราะห์ค่าสี L* a* b*ผลการศึกษาพบว่าค่า L* ของตัวอย่างมายองเนสเมื่อเก็บไว้ที่เป็นเวลา 30 วันมีค่าลดลงคือ 57.15± 3.53 (วันที่ 0) และลดลงเป็น 48.36± 2.58 (วันที่ 30) ส่วนค่า a* มีแนวโน้มที่เพิ่มของทุกตัวอย่างในผลิตภัณฑ์มายองเนสโดยมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะการเก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน และค่า b* อย่างมายองเนสมีค่าเพิ่มขึ้นในช่วงการเก็บรักษา 10-20 วัน และเริ่มลดลงเมื่อเข้าสู่วันที่ 30 ชี้ให้เห็นว่าค่า a* ที่เพิ่มขึ้นอาจเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดซึ่ง Reineccius (2006) ได้รายงานว่าการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่ได้เกิดจากเอนไซม์ในกระบวนการผลิตอาหารอาจเป็นผลมาจาก 1) ปฏิกิริยาเมลลาร์ด 2) ลิปิดเปอร์ออกไซด์ 3) คาราเมลไรส์เซชันและ 4) ออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิค โดยกลไกการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์เกิดเนื่องจากกระบวนการเกิดออกซิเดชันของไขมันเริ่มต้นด้วยการก่อตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่ไม่เสถียรสูงและการสลายตัวของผลิตภัณฑ์ออกซิเดชันที่หลากหลายเช่น ผลิตภัณฑ์ออกซิเดชันของไขมันเหล่านี้จะรวมตัวกันและส่งผลให้เกิด exopolymer สีน้ำตาล (Khayat &Schwall, 1983)

จากภาพที่ 2 การทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) พบว่าผลิตภัณฑ์มายองเนส 4 สูตร มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)เริ่มต้นใกล้เคียงกันระหว่าง 3.90-4.05ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมโดยต้องมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ไม่เกิน 4.10 (Thai Industrial Standards, 1997)และระยะเวลาการเก็บนานที่ขึ้นส่งผลให้ค่า pH ลดลงทำให้มีค่าความเป็นกรดที่สูงซึ่งบ่งบอกถึงการหืน อาจเนื่องจากการเกิดกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นในผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันสูง ซึ่งกรดไขมันอิสระเป็นสาเหตุสำคัญของการเสื่อมเสียอาหาร คือ การเกิดกลิ่นผิดปกติ หรือกลิ่นหืน และทำให้ค่าความเป็นกรด (acid value) ของน้ำมันสูงขึ้น (Noiduang*et al.*, 2015)ส่วนการวิเคราะห์ค่าPeroxide value (PV) เป็นการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเดชันของไขมันอีกวิธีหนึ่ง ซึ่งเปอร์ออกไซด์เป็นผลิตภัณฑ์ตัวแรกของการเกิดปฏิกิริยา Auto oxidation จากผลการทดลองพบว่าค่า PV เริ่มต้นของผลิตภัณฑ์มายองเนส จำนวน 4 สูตรมีค่าเท่ากับ 0 meq/g และมีแนวโน้มที่สูงขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นแสดงดังภาพที่ 3 ซึ่งช่วงแรกของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ค่า PV เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นค่า PV เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 15-30 ซึ่งภายหลังการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มายองเนสสูตร 4 มีค่า PV น้อยสุดเท่ากับ 18 meq/g เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่1 ซึ่งเป็นสูตรควบคุมและเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ 2 ซึ่งมีการเติม BHT 0.02% พบว่ามายองเนสสูตรที่ 4 มีค่าการยับยั้งเปอร์ออกไซด์ที่ดีกว่าแสดงให้เห็นว่าสารสกัดข้าวเหนียวดำมีความสามารถในการยับยั้งปริมาณเปอร์ออกไซด์ที่มีอยู่ในน้ำมันและมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ กล่าวคือถ้าปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีปริมาณที่สูงจะส่งผลให้มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีเช่นกันเช่นเดียวกับงานวิจัยLi *et al.* (2014) ได้ศึกษาเพิ่มสารสกัดจากข้าวโพดม่วงและบีทรูทในมายองเนสซึ่งชี้ให้เห็นว่าส่วนผสมของข้าวโพดม่วงและบีทรูทมีผลต่อความคงตัวออกซิเดชันในมายองเนสโดยมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและป้องกันการชะลอการเกิดออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์มายองเนส นอกจากนี้มีการกำหนดว่าผลิตภัณฑ์ประเภทน้ำมันหรือมีองค์ประกอบของน้ำมันปริมาณมากต้องมีค่า PV ไม่เกิน 50 meq/kg (Noiduang *et al.*, 2015)

ตารางที่ 4 เป็นการวิเคราะห์จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดของผลิตภัณฑ์มายองเนส จำนวน 4 สูตรที่ระยะการเก็บรักษาวันที่ 0 และวันที่ 30 ผลการวิเคราะห์ Total Plate Count <10 CFU/g ไม่พบ *Salmonella* spp. (ในอาหาร 25 กรัม) และ *Staphylococcus aureus* (ในอาหาร 1 กรัม) พบ *Escherichia coli* <3 MPN/g และ Yeast & Mold <10 CFU/g ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (Community product standards, 2004) แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์มายองเนสมีขั้นตอนการผลิตที่ถูกสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ดีในการประกอบอาหาร รวมถึงผลิตภัณฑ์มายองเนสมีความเป็นกรดสูง (pH<4.5) จึงส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด นอกจากนี้องค์ประกอบของสารแอนโทไซยานินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhao *et al.* (2009) การใช้สารสกัดแอนโทไซยานินจากข้าวโพดม่วงลูกผสมสามารถยับยั้งการเจริญของ *Salmonella enteridis*, *Staphylococcusaureus* และ *Candida albicans*ได้เช่นกัน เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Viskelis*et al.* (2009) ได้ศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเติบโตของ

เชื้อแบคทีเรียโดยการใช้สารสกัดแอนโทไซยานิน ได้แก่ American cranberry-berries ที่ไวต่อการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* ATCC 10876 และ *Micrococcus luteus*ATCC 9341 นอกจากนี้ งานวิจัยของSoontornkul*et al.*(2012) ได้รายงานว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ปริมาณข้าวเหนียวดำ 70 %เหมาะสมต่อการผลิตสารยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ดังนั้นสารสกัดจากข้าวเหนียวดำจึงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของสกัดสามารถออกฤทธิ์และเกิดกลไกในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยทั่วไปสารกลุ่มดังกล่าวมีส่วนในการทำลายชั้นเมมเบรน ของเชื้อจุลินทรีย์ทำให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีนภายในเซลล์ทำให้สารสกัดจากข้าวเหนียวดำสามารถมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้ และความเข้มข้นของตัวทำละลายมีผลต่อองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของน้ำมันที่สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดข้าวเหนียวดำ พบว่า ปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณแอนโทไซยานินรวมที่ความเข้มข้นของสารละลายเอทานอล70% ให้ค่าสูงสุด ส่งผลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH $ABTS^{+}$และ FRAP assay มีคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันดีที่สุด เมื่อนำสารสกัดมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์มายองเนสที่ใส่สารสกัดข้าวเหนียวดำ 0.20%สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน(PV value) ในผลิตภัณฑ์ได้ดีสุด มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มีค่า L* และค่า b* ลดลงแต่มีค่า a* เพิ่มขึ้น และผลิตภัณฑ์มีคุณภาพด้านจุลินทรีย์เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนซึ่งแสดงให้เห็นถึงคุณภาพและความปลอดภัยสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารกันหืนจากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์อาหารได้

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนงบประมาณแผ่นดินด้านการวิจัยปีงบประมาณ 2562ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

เอกสารอ้างอิง

AOCS. (1999). Official Method and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. 4th ed. Tirestone, D., Champaign, Illinois.

Bacteriological Analytical Manual Online. (2001). *Chapter 3: Aerobic Plate Count.* USFDA. 1 0 pp. Retrieved June 2, 2020, from http://www.cfsan.fda.gov

Bacteriological Analytical Manual Online. (2002). *Chapter 4: Enumeration of Escherichia coli and the coliform bacteria.* USFDA. 10 pp. Retrieved June 2, 2020, from http://www.cfsan.fda.gov

Chooklin, S. (2014). Extraction of brown rice extract and application in refined palm olein during accelerated storage.*Journal of International Food Research, 21*(1), 291-296.

Community product standards. (2004). Salad dressing. Community product standards Institute, Ministry of Indrustry. (in Thai)

Guyton, A.C. & Hall, J.E. (2006). Textbook of medical physiology. 11th ed. Philadelphia: WB Saunders Company.

Itsarasook, K., Ingkaninan, K. & Viyoch, J. (2014). Artocarpin-enriched extract reverses collagen metabolism in UV-exposed fibroblasts.*Biologia, 69*(7), 943-951.

International Organization for Standardization 6579:2002. (2004). *Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of Salmonella spp*. Retrieved June 2, 2020, from https://www.iso.org/standard/29315.html

Jansom, C., Skulkhu, E., Jansom, V., Lerdvuthisopon, N. & Bhamarapravati, K. (2016). Study on appropriate methods for extraction of antioxidant compounds from black glutinous rice. *Thammasat Medical Journal, 16*(4), 625-633. (in Thai)

Kaaladee, D. (2011). purple glutinous rice the neglected thai rice resources. Purple Rice Research Unit, Chiang Mai University. (in Thai)

Khayat, A. & Schwall D. (1983). Lipid oxidation in seafood. *Food Technology*, *37*, 130-140.

Li, CY., Kim, HW., Li, H., Lee, DC. & Rhee, HI. (2014) Antioxidative effect of purple corn extracts during storage of mayonnaise.*Food Chemistry, 152,* 592–596.

Moko, E.M., Ngangi, J. & Rahardiyan, D. (2019). Oxidative stability of crude extract of red variety rice bran from Minahasa, North Sulawesi on lipid-based food products. *Food Research, 3*(3), 249-257.

Noiduang, P., Tapaothong, N. & Masileerungsri, K. (2015). Use of dried aril of gac fruit powder as an antioxidant in mayonnaise product. *Journal of Food Technology Siam University*, *10*(1), 9-18. (in Thai)

Noridayu, A. R., Hii, Y. F., Faridah, A., Khozirah, S., & Lajis, N. (2011). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of *Pluchea indica* Less.*International Food Research Journal, 18*(3), 925-929.

Ozdemir, N., Kantekin-Erdogan, M. N., Tat, T. & Tekin, A. (2018). Effect of black cumin oil on the oxidative stability and sensory characteristics of mayonnaise. *Journal of Food Science and Technology, 55,* 1562-1568.

Parnsakhorn, S. & Noomhorm, A. (2012). Effects of storage temperature and chemical properties of brown rice, parboiled brown rice and parboiled paddy.*Thai Journal of Agricultural Science,45*(4), 221-231.(in Thai)

Pengkumsri, N., Chaiyasut, C., Saenjum, C., Sirilun, S., Peerajan, S., Suwannalert, P., Sirisattha, S. & Sivamaruthi, B.S. (2015). Physicochemical and antioxidative properties of black, brown and red rice varieties of northern Thailand. *Food Science and Technology,35*(2), 331-338.

Pereira-Caro, G., Watanabe, S., Crozier, A., Fujimura, T., & Yokota, T. (2013). Phytochemical profile of Japanese black-purple rice.*Food Chemistry,141*, 2821-2827.

Phengrat, J. & Jearakongman, S. (2010). Black glutinous rice :various benefits, composite thinking, enhancing thai economic opportunities. Bureau of Rice Research and Development. (in Thai)

Reineccius, G. (2006). Changes in food flavor due to processing, in flavor chemistry and technology. Boca Raton: Taylor and Francis Group.

Sangkitikomol, W., Tencomnao,T.& Rocejanasaroj, A. (2010). Effects of Thai black sticky rice extract on oxidative stress and lipid metabolism gene expression in HepG2 cells.*Genetics and Molecular Research,9*(4), 2086-2095.

Saenkod, C., Liu, Z., Huang, J. & Gong, Y. (2013). Anti-oxidative biochemical properties of extracts from some Chinese and Thai rice varieties.*African Journal of Food Science, 7*(9), 300-305.

Soontornkul, K., Vichitpan, S. &Vichitpan, K. (2012). Antibacterial activity of red rice wine production from black sticky rice with *Monascus purpureus* TISTR 3002. M.sc. thesis in Biotechnology, Faculty of Technology, Khon Kaen University. (in Thai)

Suwannalert, P., & Rattanachitthawat, S. (2011). High levels of phytophenolics and antioxidant activities in *Oryza sativa*-unpolished thai rice strain of Leum Phua.*Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 10*(4), 431-436.

Tananuwong, K. & Tewaruth, W. (2010). Extraction and application of antioxidants from black glutinous rice.*Food Science and Technology,43,* 476-481.

Tewaruth, W. (2007). Antioxidant activity of black glutinous rice *Oryza sativa* L.extract. Ms. thesis in Food Science and Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University. (in Thai)

Thai Industrial Standards. (1997). Mayonnaise and salad Cream. Thai Industrial Standards Institute, Ministry of Industry. (in Thai)

Thitipramote, N., Pradmeeteekul, P., Nimkamnerd, J., Chaiwut, P., Pintathong, P. &Thitilerdecha, N. (2016). Bioactive compounds and antioxidant activities of red (Brown Red Jasmine) and black (Kam Leum Pua) native pigmented rice. *International Food Research Journal, 23(1),* 410-414.

Vichapong, J., Sookserm, M., Srijesdaruk, V. & Swatsitang, P. (2010). High performance liquid chromatographic analysis of phenolic compounds and their antioxidant activities in rice varieties.*Food Science and Technology,43*, 1325-1330.

Viskelis, P., Rubinskine, M., Jasutiene, I., Sarkinas, A., Daubaras, R. & Cesoniene, L. (2009). Anthocyanins, antioxidative, and antimicrobial properties of American cranberry (*VacciniumMacrocarpon Ait*) and their press cakes. *Journal of Food Science*, *74*, 157-161.

Zhang, X., Shen, Y., Prinyawiwatkul, W., King, J. M. & Xu, Z. (2013). Comparison of the activities of hydrophilic anthocyanins and lipophilic tocols in black rice bran against lipid oxidation.*Food Chemistry,141,* 111–116.

Zhao, X., Chao Zhang, C., Guigas, Y., Ma, M., Corrales, B. T. & Hub, X. (2009). Composition,antimicrobial activity, and antiproliferative capacity of anthocyanin extracts of purplecorn (*Zea mays* L.) from China. *European Food Research and Technology*, *228*, 759-765.