

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

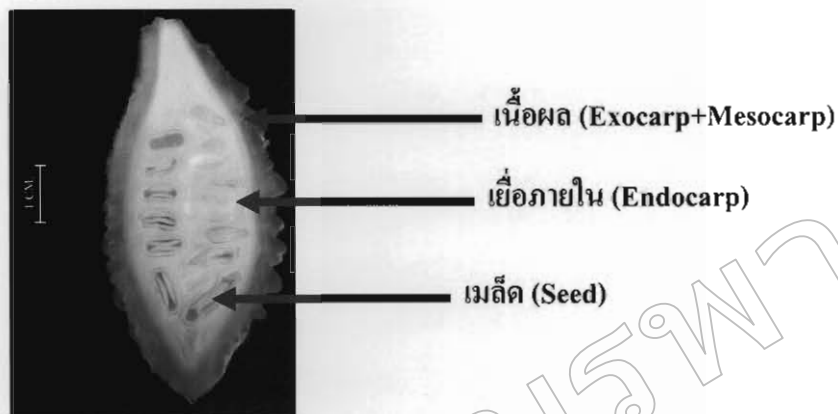
มะระ (*Momordica charantia* Linn.)

มะระเป็นพืชล้มลุกอยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae มีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา (45 สายพันธุ์) และทวีปเอเชีย (4-7 สายพันธุ์) (Robinson & Decker-Walters, 1997) ซึ่งแต่ละประเทศจึงมีชื่อเรียกมะระที่แตกต่างกัน เช่น Bitter Gourd, Bitter Cucumber และ Balsam Pear (ประเทศอังกฤษ) Paroka (ประเทศฝรั่งเศส) Pari และ Pare (ประเทศอินโดนีเซีย) และ Mreah (ประเทศกัมพูชา) เป็นต้น ในประเทศไทยนิยมปลูกมะระอยู่ 2 สายพันธุ์ คือ มะระจีน (Chinese Bitter Cucumber หรือ Bitter Melon) และมะระขี้นก (Thai Bitter Cucumber หรือ Bitter Ground) ลักษณะทั่วไปของต้นมะระ คือ เป็นพืชเถาเลื้อย อายุ 1 ปี มีมือเกาะยึดพวงลำต้นให้พันขึ้นค้าง ใบเดี่ยวรูปฝ่ามือ ดอกสีเหลืองมีกลีบดอก 5 กลีบ ดอกเป็นดอกไม่สมบูรณ์เพศ ดอกตัวผู้ และ ตัวเมียอยู่คนละต้น (ธวัช ลวะเปียรยะ, 2543; วิณา เชิดบุญชาติ และวชิรพงศ์ หวลบุตรตา, 2543; นิดดา หงษ์วิวัฒน์, ทวีทอง หงษ์วิวัฒน์ และสุภาพรรณ เข็มชัยภูมิ, 2548; สุชาติพ ภมรประวัติ, 2550)

ผลมะระขี้นก มีลักษณะปรากฏทั่วไปเป็นสีเขียวเข้ม (Exocarp+Mesocarp) รูปร่างคล้ายกระสวย ผิวขรุขระ มีความยาว 6-7.5 เซนติเมตร และมีรสชาติขม (ภาพที่ 2-1) (ปัทมา สุนทรสารทูล, 2541) ผลอ่อนของมะระขี้นกจะมีสีขาว ผลแก่มีสีเขียว และผลสุกมีสีแดงหรือ สีแดงอมส้ม ลักษณะปรากฏภายในของผลอ่อนจะประกอบด้วยเยื่อหุ้มเมล็ด (Endocarp) และ เมล็ดรูปไข่ (Seed) ซึ่งมีสีขาวนวล เปลือกของเมล็ดมีลักษณะอ่อนสามารถตัดได้ง่าย และภายในเมล็ดมีน้ำใส ๆ ลักษณะคล้ายวุ้น (ภาพที่ 2-2) สำหรับผลสุกจะมีส่วนเปลือกสีแดงหุ้มภายนอกเมล็ด ส่วนของเมล็ดมีเปลือกแข็งสีน้ำตาลตัดได้ยาก (ภาพที่ 2-3)



ภาพที่ 2-1 ลักษณะปรากฏของผลมะระขี้นก



ภาพที่ 2-2 ลักษณะปรากฏภายในผลอ่อนของมะระขี้นก



ภาพที่ 2-3 ลักษณะปรากฏภายในผลสุกของผลมะระขี้นก

มะระขี้นกเป็นผักพื้นบ้านที่มีคุณสมบัติเป็นพืชสมุนไพร (Medicinal Plant) เป็นพืชที่ปลูกง่ายให้ผลผลิตตลอดปี หรือ เจริญได้เองตามธรรมชาติ และสามารถนำมาบริโภคได้ทั้งยอดอ่อน ผลอ่อน และ ใบ (รัช ลวะเปารยะ, 2543) สำหรับคนไทยนิยมนำมะระขี้นกมาเป็นผักลวกจิ้ม น้ำพริก และใช้เป็นส่วนผสมในอาหารหลายประเภท เช่น แกงลาว (ยอดอ่อน และใบ) และแกงจืด (ผลอ่อน) เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากมะระขี้นกเป็นผักที่ให้รสชาติขมเป็นที่พึงพอใจของผู้บริโภค นอกจากนี้ ผลมะระขี้นกยังมีคุณค่าทางโภชนาการที่ดี (ตารางที่ 2-1) ซึ่งในปัจจุบันนิยมนำผลมะระขี้นกมาแปรรูปเป็นเครื่องดื่มสมุนไพร เพราะเคยมีรายงานที่เสนอว่า ผลมะระขี้นกมีสารโพลีเพปไทด์พี (Polypeptide-P) และ ชาร์แรนติน (Charantine) ซึ่งมีสมบัติในการลดระดับน้ำตาลในเลือด เหมาะสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน (ภัทรพร ตั้งสุขฤทัย, 2547) รวมทั้งมีรายงานการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่า ผลมะระขี้นกมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถกำจัดอนุมูลดีฟิฟิเอช (DPPH) และอนุมูลไฮดรอกซิล ($\cdot\text{OH}$) (Scartezzini & Speroni, 2000; Kubola & Siriamornpun, 2008) และ

ยังพบสารประกอบฟีนอลิกจำพวกกรดคลอโรจินิก (Chlorogenic acid) เมื่อวิเคราะห์โดยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (พีชฌัวร์ ไหมสุทธิสกุล, 2548) สำหรับผลมะระสุก พบสารประกอบซาโปนิน (Saponin) ที่ทำให้คลื่นไส้ อาเจียน ซึ่งไม่ควรนำผลมะระขึ้นกสุกมาบริโภค อย่างไรก็ตามเมล็ดของมะระขึ้นกยังเป็นที่สนใจของนักวิทยาศาสตร์จำนวนมาก เนื่องจากมีโปรตีนชนิด Momordica anti-HIV protein, 30 KDa หรือ MAP 30 (30 KDa) ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ด้านการติดเชื้อเอชไอวี (HIV-1 Infection) (ปัทมา สุนทรสารทูล, 2541)

ตารางที่ 2-1 องค์ประกอบทางเคมี (ส่วนที่บริโภคได้ 100 กรัม) ของผลมะระขึ้นก (กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2527)

ชนิดขององค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณที่พบ
ความชื้น (%)	94.2
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	2.2
โปรตีน (กรัม)	1.2
ไขมัน (กรัม)	0.4
ใยอาหาร (กรัม)	1.2
เถ้า (กรัม)	0.8
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	3
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	5
เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.2
ไนอะซิน (มิลลิกรัม)	0.4
วิตามินเอ (I.U.)	2,924
วิตามินบี1 (มิลลิกรัม)	0.09
วิตามินบี2 (มิลลิกรัม)	0.05
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	190

ประโยชน์ และสรรพคุณทางยาของผลมะระจีนก (อรุณี ฉัตรธนะกุล, 2535; ปัทมา สุนทรสารทูล, 2541; วิณา เชิดบุญชาติ และวชิรพงศ์ หวลบุตตา, 2543; Scartezzini & Speroni, 2000)

1 ผลอ่อน นิยมนำมาแปรรูปเป็นอาหารโดยการต้ม ลวก หรือตากแห้ง สำหรับเนื้อมะระตากแห้งสามารถแปรรูปต่อไปเป็นขามระระ หรือปั่นเนื้อมะระเพื่อนำส่วนของน้ำที่ได้มาดื่ม ก็ได้สรรพคุณทางยาจะใช้รักษาอาการคั่งน้ำมูกพิการ บำรุงน้ำดี รักษาลมเข้าข้อ และรักษาอาการปวดบวมที่เท้า ลดน้ำตาลในเลือด เนื่องจากสารสำคัญที่พบในผลมะระ ได้แก่ สารโพลีเปปไทด์พี และสารซาร์แรนดิน สามารถกระตุ้นการหลั่งของฮอร์โมนอินซูลิน รวมทั้งต้านเชื้อไวรัส และ ต้านมะเร็ง เป็นต้น

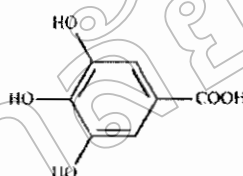
2 เมล็ด นิยมแปรรูปเป็นเมล็ดแห้ง เพื่อนำมาต้มน้ำดื่ม มีรสขาคิม ใช้ขับพยาธิตัวกลม สารสำคัญที่พบในเมล็ดมะระ ได้แก่ โปรตีนหลายชนิด เช่น มอมอร์ดิน (Momordin; 24 KDa) แอลฟา และเบต้า-มอมอร์ชาร์นิน (α, β -Momorcharin; 32, 29 KDa) (Lcung, Yeung, & Leung, 1987) มอมอร์ดิโคไซด์ เอ และ บี (momordicosides A และ B) (Zhu, Zhong, Luo, & Xiao, 1990) ฟีนอินซูลิน (p-Insulin; 11 KDa) และ MAP 30 (30 KDa) (กัญจน์ ศิลป์ประสิทธิ์, 2547; Lee-Huang, Huang, Chen, Huang, Bourinbaier, Huang, & Kung, 1995; Bourinbaier & Lee-Huang, 1995)

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compound)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารกลุ่มใหญ่ ที่สามารถพบได้ทั่วไปในพืชทุกชนิด และมีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดสี และรสชาติในผัก และผลไม้ รวมถึงเป็นส่วนที่สำคัญต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตจากพืช คล้ายกับเนื้อเยื่อของพืชที่มีกลไกการทำงานในการต้านภาวะที่เกิดจากการติดเชื้อจากแมลง และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค และภาวะเครียดที่เกิดจากสิ่งแวดล้อม เช่น รังสีอัลตราไวโอเล็ต อุณหภูมิ และมลพิษทางอากาศ (Friedman, 1997; Horax, Hettiarachchy, & Islam, 2005) โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิก คือ วงอะโรมาติก ที่เรียกว่า วงเบนซีน (Benzene Ring, C₆) และมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซิล (OH-Group) อย่างน้อย 1 หมู่จับที่วงแหวน จัดเป็นสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary Metabolites) โดยทั่วไปสารประกอบฟีนอลิกจะมีฤทธิ์เป็นกรด เนื่องจากความสามารถในการแตกตัวในธรรมชาติของหมู่ไฮดรอกซิล (โอภา วัชรกุลป์ และคณะ, 2549; อรสา สุริยาพันธ์, ม.ป.ป.) สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งส่วนใหญ่ละลายได้ในน้ำ หรือตัวทำละลายอินทรีย์ และในพืชแต่ละชนิดจะมีสารประกอบฟีนอลิกที่แตกต่างกัน ส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดฟีนอลิก (Phenolic acid) กรดเบนโซอิก (Benzoic acid) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) ฟีนิลโพรพานอยด์ (Phenylpropanoid)

แทนนิน (Tannin) ลิกแนน (Lignan) และลิกนิน (Lignin) (ศิวาพร ศิวเวชช, 2529; Horax et al., 2005)

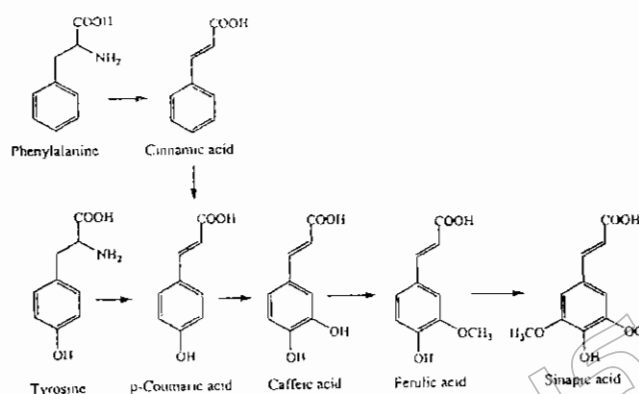
สารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วย 2 กลุ่มย่อย คือ กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (Hydroxybenzoic acid) และกรดไฮดรอกซีซินนามิก (Hydroxycinnamic acid) หรือ ฟีนิลโพรพานอยด์ (Phenylpropanoids) (อรสา สุริยาพันธ์, ม.ป.ป.) โครงสร้างหลักของ กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก คือ C_6-C_1 ชนิดที่พบได้ทั่วไปในผัก ผลไม้ คือ กรดเจนตัสติก (Gentistic acid) และกรดแกลลิก (Gallic acid) (Komutarin, 2003) แสดงดังภาพที่ 2-4



ภาพที่ 2-4 โครงสร้างทั่วไปของกรดแกลลิก (Wang & Mazza, 2002)

มีรายงานว่า กรดแกลลิกเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ และการต้านการเกิดมะเร็งที่ดี (Kawada, Ohno, Ri, Ikoma, Yuugetu, Asai, Watanabe, Yasuda, Akao, Takemura, Minatoguchi, Gotoh, Fujiwara, & Fukuda, 2001; Yilmaz & Toledo, 2004) โดยพบว่า กรดแกลลิกสามารถลดการมีชีวิตของเซลล์มะเร็งจากตับหนูที่ทำในหลอดทดลองเมื่อใช้ในความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC50) มีค่าการยับยั้งที่ 200 ไมโคร โมล และกรดแกลลิกมีฤทธิ์ทำงานร่วมกับยาต้านมะเร็ง เช่น คิสปาทิน (Cisplatin) ที่มีอิทธิพลต่อมะเร็งตับ (Kawada et al., 2001) กรดแกลลิกเป็นตัวกลางในการขัดขวางการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอในเซลล์ที่ความเข้มข้นต่ำ (Fan & Lou, 2004) และสามารถต้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง Caco-2 Human Colon (Caco-2 Cells) และเซลล์มะเร็งจากตับหนู WB-F344 (WB Cells) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Lee, Hur, Lee, & Lee, 2005)

ฟีนิลโพรพานอยด์เป็นสารสังเคราะห์ที่ได้จากกระบวนการทางชีวเคมีของกรดอะมิโน เช่น แอล-ฟีนิลอะลานีน (L-Phenylalanine) หรือแอล-ไทโรซีน (L-Tyrosine) ผ่านวิถีเพนโทส ฟอสเฟต (Pentose Phosphate Pathway) หรือวิถีชิคิเมท (Shikimate Pathway) หรือวิถีฟีนิลโพรพานอยด์ (Phenylpropanoid Pathway) แสดงดังภาพที่ 2-5

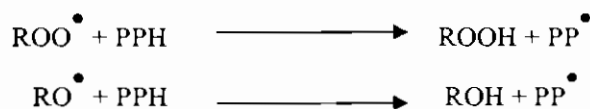


ภาพที่ 2-5 วิธีการสังเคราะห์สารกลุ่มฟีนอลโพรพานอยด์ในพืช (โอภา วัชรระคุปต์ และคณะ, 2549)

สารที่พบได้ทั่วไปใน ผัก ผลไม้ คือ กรดคลอโรจีนิก (Chlorogenic acid) มีการรายงานว่า กรดคลอโรจีนิกเป็นกรดที่มีความสำคัญต่อกระบวนการเผาผลาญอาหารของพืช (Huang, Smart, Wong, & Conney, 1988; Jiang, Kusama, Satoh, Takayama, Watanabe, & Sakagami, 2000) และช่วยในการยับยั้งเกิดเนื้องอกในหนูได้ 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้กรดคลอโรจีนิกในปริมาณ 10 ไมโครโมล ทำงานร่วมกับ 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) 5 นาโนโมล (Huang et al., 1988) รวมทั้งยังช่วยยับยั้งการเกิดเนื้องอกภายในช่องปากของมนุษย์ได้จากการทดลองในหลอดทดลอง (Jiang et al., 2000)

1. สมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิก (วิวัฒน์ หวังเจริญ, 2545)

สารประกอบฟีนอลิกมีสมบัติในการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนที่ดี เมื่อเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระจะเกิดเป็นอนุมูลฟีนอกซี (Phenoxy Radical) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีความเสถียร เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของตำแหน่งของอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว ในปัจจุบันนิยมใช้สารประกอบฟีนอลิกจากผัก และผลไม้ ในการป้องกันโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะ การลดความดันโลหิต มะเร็ง และการป่วยที่มีผลต่อหัวใจ และหลอดเลือด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Shahidi, 1997; Beecher, 1999; Rice-Evans, 1999; Wang & Mazza, 2002; Pongnikorn, Fongmoon, Kasinrerak, & Limtrakul, 2003; Fu, 2004; Fouad, 2005; Hsu, Sheu, Liaw, Wang, & Lin, 2005; Kim, Jun, Jeong, & Chung, 2005; Hounsoume, Hounsoume, Tomos, & Edwards-Jones, 2008) สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ และไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน และโมเลกุลอื่น ๆ โดยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้



เมื่อสารประกอบฟีนอลิกให้อะตอมไฮโดรเจนกับอนุมูลอิสระแล้ว อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกจะมีความเสถียร จึงไม่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไป ยิ่งไปกว่านั้น อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้อีก ทำให้สารประกอบฟีนอลิกเหล่านั้นสามารถลดจำนวนอนุมูลอิสระลงได้ถึง 2 เท่า ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้



อย่างไรก็ตามความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกยังขึ้นอยู่กับระบบด้วย ด้วยเหตุนี้การศึกษา หรือ เปรียบเทียบคุณสมบัติดังกล่าวจึงจำเป็นต้องระบุรายละเอียดของระบบให้ชัดเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งสภาวะที่เป็นเป้าหมายของระบบ นอกจากนี้ยังพบว่า ในภาวะที่มีสารประกอบฟีนอลิกความเข้มข้นสูง ค่าพีเอชสูง และมีเหล็กอยู่ด้วยนั้น เป็นตัวเริ่มต้นของกระบวนการออกซิเดชันได้

สารประกอบฟีนอลิกที่ถูกพบว่ามีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ที่นิยมใช้ใน ปัจจุบัน คือ วิตามินอี ส่วนสารประกอบฟีนอลิกอื่น ๆ ที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมาก คือ ฟลาโวนอยด์ (ได้แก่ ฟลาโวน ฟลาโวนอล ไอโซฟลาโวน คาเคชิน ฟลาโวนโนน และชาลโคน) (Gary, 1999) ซึ่งสามารถพบฟลาโวนอยด์ ได้ในเกือบทุกส่วนของพืช และพืชที่มีสีเขียวทั่วไป

2. ความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Doğan & Salman, 2007)

ความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระนั้นขึ้นกับปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่

- กลุ่มของไฮดรอกซิลในแต่ละตำแหน่งของสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีบทบาทต่อคุณสมบัติของการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกลุ่มของไฮดรอกซิล ที่มีผลต่อสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกด้วยเช่นกัน

- การใช้อุณหภูมิสูงในระหว่างการแปรรูป ส่งผลให้โมเลกุลเล็ก ๆ ของสารประกอบฟีนอลิก ระเหยกลายเป็นไอ และระเหยไปพร้อมกับไอน้ำ
- แสงแดดเป็นปัจจัยที่เร่งการสลายตัว หรือการเปลี่ยนแปลง โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก เช่น กลุ่มของไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 ในโมเลกุลของแอนโทไซยานินสามารถเรืองแสง และไวต่อการสลายตัวเมื่อโดนแสงแดด นอกจากนี้ความร้อนของแสงแดดยังเป็นปัจจัยเร่งให้เกิดการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกด้วย
- ในสถานะที่มีเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenoloxidase) อยู่สามารถเร่งการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดให้เร็วขึ้น ด้วยอัตราการเร่งปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน
- สารประกอบฟีนอลิกสามารถรวมตัวกับโมเลกุลอื่น ๆ เช่น โปรตีน โพลีแซคคาไรด์ อัลคาลอยด์ และแอนโทไซยานินได้ง่าย ทำให้เกิดมีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง และสูญเสียสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ การเกิดปฏิกิริยาเป็นแบบผันกลับได้หรือแบบผันกลับไม่ได้ ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ในขณะที่เกิดปฏิกิริยา เช่น ออกซิเจน ไอออนโลหะ เอนไซม์ และกรด ที่ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมดุลของปฏิกิริยา เช่น ทำให้สารประกอบในภาวะสมดุลรวมตัวกัน และตกตะกอนแยกออกมา หรือ เกิดพันธะโควาเลนต์รวมกันเป็นสารใหม่ ส่งผลให้ปฏิกิริยาไม่สามารถผันกลับได้

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

1. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้สารประกอบฟอลินซีโอแคลตู (Folin-Ciocalteu's method) (ประพันธ์ ปันศิริโรคม และวันทนี ช้างน้อย, 2545; อรสา สุริยาพันธ์, ม.ป.ป.)

สารประกอบฟีนอลิกเมื่อทำปฏิกิริยากับ Phosphomolybdic/Phosphotungstate acid complex ที่มีใน Folin-Ciocalteu's Reagent ในสถานะที่เป็นด่าง จะได้เป็นสารเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ที่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน จึงสามารถวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างได้

สารประกอบฟีนอลิกที่นิยมใช้เป็นสารอ้างอิงสำหรับวิธีนี้ ได้แก่ กรดแกลลิก กรดคลอโรจีนิก และกรดเฟอรูลิก ซึ่งการใช้กรดแกลลิกเป็นสารอ้างอิง หน่วยของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ต้องแสดงในเทอมของ GAE หรือ Gallic acid equivalent หรือมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg of Gallic acid/g of Extract; in GAE) แต่ถ้าใช้กรดคลอโรจีนิกเป็นสารอ้างอิง หน่วยของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ต้องแสดงในเทอม

ของ CAE หรือ Chlorogenic acid equivalent หรือมิลลิกรัมของกรดคลอโรจีนิกต่อกรัมของสารสกัด (mg of Chlorogenic acid/g of Extract; in CAE) (Horax et al., 2005)

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง

สูง (Larson, Tingstad, & Swadesh, 2001)

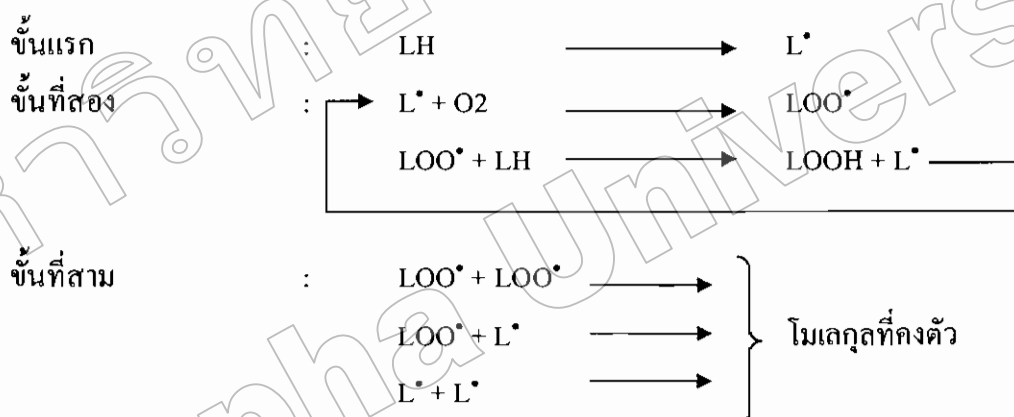
เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง เป็นเทคนิคสำหรับแยกสารประกอบที่ผสมในตัวอย่าง โดยกระบวนการแยกสารประกอบจะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (Stationary Phase) กับเฟสเคลื่อนที่ (Mobile Phase) สารจะถูกแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน โดยสารผสมที่อยู่ในตัวอย่างจะถูกแยกได้นั้นขึ้นกับความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับเฟสเคลื่อนที่ หรือเฟสอยู่กับที่ ซึ่งสารประกอบที่เข้ากันได้ดีกับเฟสเคลื่อนที่ จะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ได้เร็ว และสารนั้นจะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ดีกับเฟสอยู่กับที่ จะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ได้ช้า และถูกแยกออกมาทีหลัง โดยสารที่ถูกแยกออกมาได้จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัด (Detector) สัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค เรียกว่า โครมาโตแกรม โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง สามารถทดสอบได้ทั้งเชิงคุณภาพ และทดสอบเชิงปริมาณ โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

การแยกสารที่มีสมบัติเป็นของเหลว (Liquid Chromatography) แบบปิด เป็นการแยกสารผสมโดยผ่านคอลัมน์ที่มีลักษณะเป็นท่อสแตนเลส (Stainless Steel Column) ที่มีขนาดความยาว 15-50 เซนติเมตร และมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-4 มิลลิเมตร และสามารถทนต่อความดันสูงได้ ในการแยกจะใช้ความสามารถในการละลาย และการดูดซับที่แตกต่างกันของสารตัวอย่าง ที่ทำให้เคลื่อนที่ผ่านตัวดูดซับด้วยความเร็วต่างกัน เป็นผลทำให้สามารถแยกสารผสมออกจากกันได้ ข้อดีของเทคนิคนี้ คือ สามารถแยกสารผสมได้ในเวลาที่รวดเร็ว เป็นการแยกที่มีประสิทธิภาพ และมีความไวสูง โดยสารที่เป็นตัวนำจะมีขนาดที่ลดลง และสามารถทนต่อความดันสูงได้ โดยการใช้ความดันสูงเพื่อให้การไหลของตัวพาเร็วขึ้น

อย่างไรก็ตามขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด มีความสำคัญต่อปริมาณที่วิเคราะห์ได้เช่นกัน โดยทั่วไปนิยมใช้ เมทานอลที่ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวสกัดสารประกอบฟีนอลิกออกจากตัวอย่าง และการผสมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ในเมทานอลที่ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการสกัดที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิห้อง เช่น 60 องศาเซลเซียส พบว่า ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงขึ้น

อนุมูลอิสระ (Free Radical)

อนุมูลอิสระเป็นโมเลกุล หรืออะตอมที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว โคจรอยู่รอบวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูงอยู่ในออร์บิทัลหนึ่งตัว หรือหลายตัวต่อหนึ่งออร์บิทัล อนุมูลอิสระจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อมีการแตกตัวออกของพันธะระหว่างอะตอม เหลือแต่อิเล็กตรอนเดี่ยวบนออร์บิทัล และทำให้โมเลกุลอยู่ในสถานะไม่เสถียร และจะหาทางจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวอื่น หรือทำปฏิกิริยากับอะตอมของธาตุอื่นเสมอ ดังนั้นจึงทำปฏิกิริยากับ โมเลกุลที่อยู่รอบ ๆ โดยการให้ หรือรับอิเล็กตรอนกับโมเลกุลที่อยู่ข้างเคียง เพื่อให้เกิดความเสถียร โดยที่โมเลกุลที่สูญเสีย หรือรับอิเล็กตรอนไปนั้น จะกลายเป็นอนุมูลอิสระแทน และทำปฏิกิริยากับ โมเลกุลอื่นต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (Chain Reaction) (วัลลภ วิชะรังสรรค์ และปราณีต โอปะณะ ไสภิต, 2547) แต่ยกเว้นเฉพาะโมเลกุลที่ไม่เสถียรสองโมเลกุลมาเจอกันก็สามารถรวมกันเป็นโมเลกุลที่มีความเสถียร ได้ดังสมการต่อไปนี้ (นวลศรี รักอริยะธรรม และอัญชนาเจนวิติสุข, 2545; Shahidi, 1997)



อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสถานะที่เป็นกลางทางไฟฟ้า และในสถานะที่เป็นประจุไฟฟ้า ซึ่งมีลักษณะที่เป็นประจุบวก และประจุลบ โดยสัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูลอิสระ แสดงอิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล $A^\bullet$ อนุมูล $A^{\bullet-}$ และอนุมูล $A^{\bullet+}$ (โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง, จันทนา บุญชะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดดีสินทอง, 2549)

อนุมูลอิสระธรรมชาติที่สำคัญมาก คือ ออกซิเจนซึ่งมีปริมาณ 21 เปอร์เซ็นต์ในบรรยากาศ และอนุมูลไฮดรอกซิล ($OH^\bullet$) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญทางชีวภาพ เช่น ในเม็ดเลือดขาวใช้ทำลายสารแปลกปลอม และเชื้อโรค แต่หากอนุมูลอิสระมีปริมาณที่มากเกินไป อาจเป็นโทษต่อเซลล์ได้ เช่น ทำให้มีการอักเสบ และเซลล์ตาย หลังจากที่มีการติดเชื้อ เป็นต้น

(ไมตรี สุทธจิตต์, อุคมกันท์ ขาสสุวรรณ, ศิริวรรณ สุทธจิตต์, ปกฤษฎาณ์ แก้วสุริยะ และ ภักศิริ สินไชยกิจ, 2543)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นกลุ่มของสารที่ให้ผลกำจัด เมื่อให้ในปริมาณที่ต่ำกับ สารออกซิแดนท์ (Oxidants Oxidizable Substances) หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน อย่างมีนัยสำคัญ (วัลลภ วิชะรังสรรค์ และปราณีต โอปนะโสภิต, 2547) โดยทั่วไปร่างกายมนุษย์ สามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้ปริมาณหนึ่ง และใช้ทำลายโมเลกุลที่เป็นต้นเหตุการเกิดของ อนุมูลอิสระ เป็นการทำงานที่ต้องใช้เอนไซม์ หรือ ไม่ต้องใช้เอนไซม์ก็ได้ สำหรับนิยามทางเคมี สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารประกอบที่ป้องกัน หรือชะลอการเกิดกระบวนการออกซิเดชันได้

1. กลไกการต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถทำลายอนุมูลอิสระได้โดยกระบวนการให้ หรือ รับอิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ ที่ทำให้ปฏิกิริยาถูกชะงักลง โดยที่สารต้านอนุมูลอิสระต้องไม่ กลายเป็นอนุมูลอิสระเมื่อทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีความคงตัวทั้งในรูปอิเล็กตรอน กรบ และ อิเล็กตรอนขาด หรือเกิน กลไกการต้านอนุมูลอิสระแบ่งได้เป็นสองกลไกตามลักษณะ การออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ คือ ฤทธิ์ป้องกันอนุมูลอิสระ (Preventive Antioxidant Activity) และฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ (Free-Radical Scavenging Antioxidant Activity)

2. การกำจัดอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ (นวลศรี รักอริยะธรรม และอัญญา

เจนวิธิสุข, 2545)

โดยปกติแล้วอนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นตลอดเวลาโดยกระบวนการทางชีวเคมีของเซลล์ เนื่องจากในร่างกายของมนุษย์มีก๊าซออกซิเจนที่ได้จากกระบวนการหายใจ ทำให้ผนังเซลล์สัมผัส กับก๊าซออกซิเจนตลอด เมื่อกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่เป็นองค์ประกอบของไขมันบนผนังเซลล์ทำ ปฏิกิริยากับอนุพันธ์ของออกซิเจนจึงเกิดเป็นอนุมูลอิสระขึ้น แต่หากร่างกายมีอนุมูลอิสระมากขึ้น จนเกินความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถกำจัดได้ จึงจำเป็นต้องพึ่งสารต้าน อนุมูลอิสระจากภายนอกเข้าที่สามารถพบได้จากอาหารที่บริโภคเข้าไปมาช่วยในการกำจัด อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในอาหารมีหลายชนิดจนไม่สามารถระบุชี้ชัดลงไปได้ว่าสาร ต้านอนุมูลอิสระชนิดไหนดีที่สุดในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และมักต้องทำงานร่วมกัน

วิธีการวิเคราะห์ความสามารถรวมในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Total Antioxidant Capacity; TAC)

ในร่างกาย หรือเซลล์มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้หลายชนิด จึงต้องมีระบบป้องกัน และควบคุมไม่ให้มีอนุมูลอิสระมากเกินไปจนสมดุลที่จะทำให้เกิดอันตรายได้ ดังนั้นการหาความสามารถรวมในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จึงทำได้โดยการวิเคราะห์จากการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (Electron Transfer; ET หรือ SET) เช่น วิธี TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) (โอภา วัชรกุลป์ และคณะ, 2549)

วิธี TEAC เป็นวิธีการเปรียบเทียบสารต้านอนุมูลอิสระกับ Trolox (Trolox; 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) โดยใช้ปฏิกิริยาที่มีความสามารถในการส่งผ่านอิเล็กตรอนไปรีดิวซ์สารอื่น ดังนี้

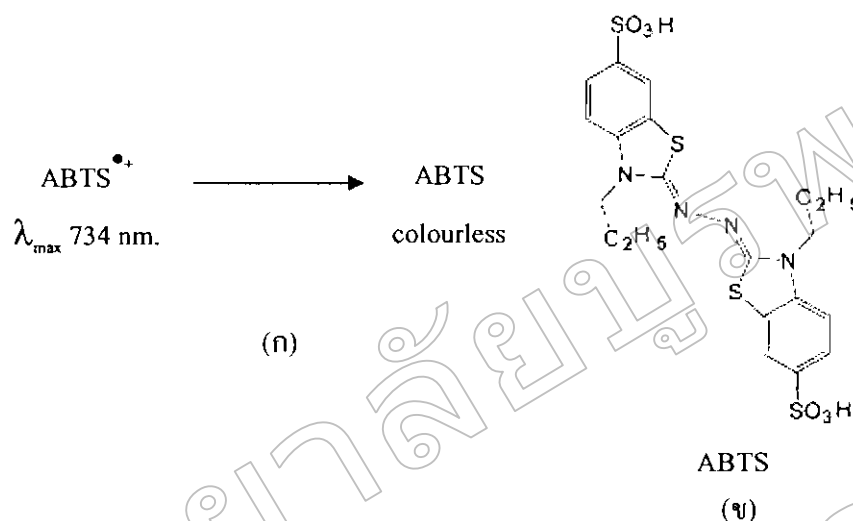
1. การใช้อนุมูล ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid))

การใช้อนุมูล ABTS เป็นวิธีการวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ที่มีความคงตัว อาศัยหลักการที่ว่า ABTS ถูกออกซิไดซ์โดยอนุมูลเปอร์ออกไซด์เกิดเป็นอนุมูลที่เป็นประจุบวก $ABTS^{\bullet+}$ และมีสี และเมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไปจะทำให้สารละลายมีสีที่ซีดลง ผลการวิเคราะห์สามารถคำนวณเป็นค่าที่สัมพันธ์กับสารกำจัดอนุมูลมาตรฐาน Trolox ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิตามินอีที่สามารถละลายน้ำได้ (Sánchez-Moreno, 2002)

วิธี TEAC เป็นวิธีที่พัฒนามาจากการใช้เมทิลโอโกลบินกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ทำปฏิกิริยากันจนเกิดเป็นอนุมูลเฟอร์ริลไมโอโกลบิน ทำปฏิกิริยากับ ABTS ให้เป็นอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ที่มีสี ที่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร และ 734 นาโนเมตร ภาพที่ 2-6 แสดงการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของ $ABTS^{\bullet+}$ จากค่าควบคุมที่ไม่ได้เติมสารที่ใช้ในการทดสอบ

ปัจจุบันมีการนำสารอื่น เช่น แมงกานีสไดออกไซด์ หรือโปตัสเซียมเปอร์ซัลเฟต มาใช้ในการทำให้เกิดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ และสามารถวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายได้ดีในลิปิด นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาวิธีการทำให้เกิด $ABTS^{\bullet+}$ โดยใช้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจากฮอสรัดิช ข้อดีของการใช้ ABTS ในการวิเคราะห์ คือ สามารถทำได้ง่าย เนื่องจากอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ สามารถทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระอย่างรวดเร็วภายในเวลา 30 นาที การวิเคราะห์ทำได้ในช่วงพีเอชที่กว้างทำให้สามารถศึกษาเกลือได้โดยละเอียด รวมถึงใช้วิเคราะห์หาความสามารถในการต้าน

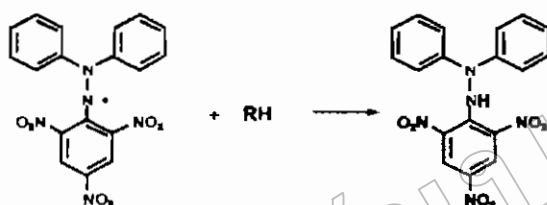
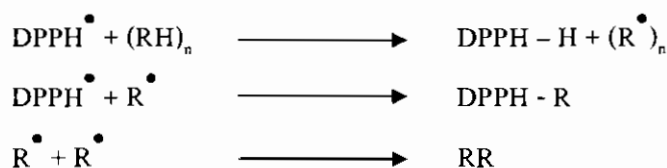
ออกซิเคชันของสารต่าง ๆ ได้ไม่ว่าสารนั้นจะเป็นสารที่ละลายได้ในน้ำ หรือสารที่ละลายได้ในลิปิด เนื่องจากอนุมูล $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ละลายได้ทั้งในน้ำ และในตัวทำละลายอินทรีย์



ภาพที่ 2-6 (ก) การวัดค่าการดูดกลืนแสงของ $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ที่ลดลงเมื่อวัดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร
 (ข) โครงสร้างของสาร ABTS (โอภา วัชรกุลป์ และคณะ, 2549)

2. การใช้อนุมูล DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

นิยมนำมาใช้ในการประเมินกิจกรรมของสารกำจัดอนุมูลอิสระที่ได้จากสารสกัดจากพืช และจุลินทรีย์ อนุมูล DPPH $^{\bullet}$ เป็นอนุมูลในโครเจนที่คงตัว มีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้ว โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลเหมือนกับอนุมูล $\text{ABTS}^{\bullet+}$ การวิเคราะห์ เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปของ DPPH (DPPH ดูดกลืนแสงได้ดีที่สุดที่ 517 นาโนเมตร) เมื่อทำปฏิกิริยากับสารที่มีสมบัติเป็นสารกำจัดอนุมูลอิสระ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH จะลดลง เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุลของสารต้านอนุมูลอิสระ และอนุมูลอิสระ โดยที่อนุมูลอิสระเมื่อได้รับไฮโดรเจนอะตอม (Hydrogen Atom) จะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของปฏิกิริยาจากสีม่วงเป็นสีเหลือง แสดงดังภาพที่ 2-7



ภาพที่ 2-7 การเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุมูล DPPH[•] กับสารกำจัดอนุมูลอิสระ (Prakash, 2001)

ปัจจุบันมีการใช้ DPPH[•] หาคความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ เรียกว่า Antiradical Efficiency (AE) โดยคำนวณจากสมการ

$$AE = 1/EC_{50} T_{EC_{50}}$$

โดยที่ : EC_{50} = ความเข้มข้นของสารทดสอบที่สามารถลดปริมาณ DPPH[•] เริ่มต้นลงได้ 50 %

$T_{EC_{50}}$ = เวลาที่ใช้ในการลดปริมาณอนุมูลอิสระให้ได้ EC_{50}

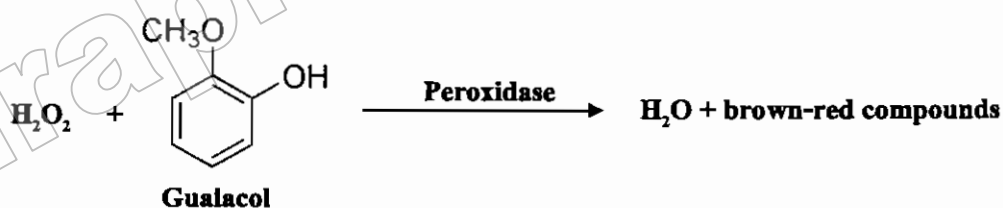
ข้อดีของการใช้ DPPH[•] คือ ใช้ได้ง่าย มีการใช้เครื่องมือโดยสามัญที่มีทั่วไป จึงนิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระของสารกำจัดอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ ยกเว้นเฉพาะสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีการดูดกลืนแสงในขอบเขตเดียวกัน แต่มีข้อเสีย คือ อนุมูล DPPH[•] มีความคงตัว ไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์ หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะ หรือจัดอันดับอนุมูลอิสระที่ความไวสูงได้ รวมถึงโครงสร้างทางเคมีของ DPPH[•] เป็นลักษณะที่อิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระถูกบดบังด้วยวงเบนซีน 3 วง และหมู่ไนโตรเจน ทำให้สารกำจัดอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์แรงแต่มีขนาดใหญ่บางชนิดไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยากำจัดอนุมูลอิสระ หรือเกิดปฏิกิริยาช้ากว่าความเป็นจริง ทั้ง ๆ ที่สารต้านอนุมูลอิสระนั้นมีฤทธิ์ที่ดีในการกำจัดอนุมูลเปอร์ออกไซด์ (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2549)

ผลของการให้ความร้อนต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

กระบวนการให้ความร้อนกับผลิตภัณฑ์อาหาร เป็นวิธีการปฏิบัติที่ใช้ในประกอบการปรุงอาหาร ที่จำเป็นต้องมีการควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งเป็นการช่วยให้อาหารปลอดภัย และมีรสชาติที่ดี ในการบริโภค กระบวนการให้ความร้อนกับผัก และผลไม้สดเป็นการทำลายเอนไซม์ที่มีอยู่ในผัก และผลไม้บางชนิดก่อนการแปรรูป หรือ เพื่อป้องกันการทำงานของเอนไซม์ในระหว่างการเก็บรักษา

เอนไซม์สำคัญที่ทำให้เกิดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการในผัก และผลไม้ คือ โพลีฟีนอลออกซิเดส (Polyphenol Oxidase) ไลพอกซิจีเนส (Lipoxygenase) โพลีกลแลกทูโรเนส (Polygalacturonase) และคลอโรฟิลเลส (Chlorophyllase) แต่เอนไซม์ที่พบว่าทนต่อความร้อนสูงในผักส่วนใหญ่มี 2 ชนิด คือ คตะเลส (Catalase) และเปอร์ออกซิเดส (Peroxidase) ถึงแม้ว่าเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด ไม่ทำให้อาหารเสียในระหว่างการเก็บรักษา แต่สามารถเป็นตัวบ่งชี้ความสมบูรณ์ในการลวกได้ (วิไล รังสาทอง, 2546) เนื่องจากเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเป็นเอนไซม์ที่ทนความร้อนสูงที่สุดจากเอนไซม์ทั้งหมดที่พบในผัก และผลไม้ ดังนั้นจึงนิยมใช้เป็นดัชนีในการตรวจสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ทั้งหมด (คณะกรรมการกลุ่มผลิตภัณฑ์วิชาการถนอมและการแปรรูปอาหาร, 2539)

เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสมีคุณสมบัติที่สำคัญ คือ สามารถเร่งปฏิกิริยาการออกซิเดชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยมีตัวรับอิเล็กตรอนเป็นสารประกอบอื่นที่ไม่ใช่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เช่น กัวไอคอล (Guaiacol) สมการแสดงดังภาพที่ 2-8



ภาพที่ 2-8 สมการการเกิดปฏิกิริยาการออกซิเดชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อกัวไอคอล (นันทิยา ปุคละนันท์, 2544)

จากสมการแสดงให้เห็นว่ากัวไอคอล (o-methoxyphenol) ถูกออกซิไดซ์โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ให้สีน้ำตาลแดง

วิธีการให้ความร้อนผลิตภัณฑ์อาหาร

ขั้นตอนการให้ความร้อนเป็นขั้นตอนหนึ่งที่ใช้ในการเตรียมวัตถุดิบก่อนเข้าสู่ขั้นตอนต่อไป โดยกระบวนการให้ความร้อนที่นิยมใช้สำหรับผลิตภัณฑ์อาหาร แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

1. การให้ความร้อนในระดับการบริโภค

1.1 การให้ความร้อนโดยการใช้ไอน้ำร้อน (Steam)

จากการรายงานของ ชนาธิป ลอยกุลนันท์ (2541) พบว่า การใช้ไอน้ำร้อนเพื่อยับยั้ง เอนไซม์เปอร็อกซิเดสกับข้าวโพดพันธุ์หวานพิเศษ และข้าวโพดข้าวเหนียวที่เวลา 8 นาที เป็นเวลาที่เหมาะสมที่สุดต่อการให้ความร้อน โดยใช้ไอน้ำร้อน และจากการรายงานของ Gliszczynska-Swigto, Ciska, Pawlak-Lemańska, Chmielewski, Borkowski and Tyrakowska (2006) พบว่า การให้ความร้อนโดยใช้ไอน้ำร้อนกับผลบล๊อคโคลีมีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีปริมาณเพิ่มขึ้นมากกว่าผลบล๊อคโคลีสด และไอน้ำร้อนไม่มีผลต่อวิตามินซีที่มีในบล๊อคโคลี

1.2 การให้ความร้อนโดยการลวก (Blanch)

การลวกทำได้โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ และเวลาที่ตั้งไว้ และทำให้เย็น โดยเร็ว ที่อุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในผัก และผลไม้ก่อนการแปรรูป แต่สามารถทำให้คุณค่าของอาหารเสียไปด้วยเช่นกัน จากการรายงานของ Chuah et al. (2008) พบว่า การให้ความร้อนพริก 7 สายพันธุ์ โดยการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที มีผลทำให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซี ลดลงกว่าตัวอย่างสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากการรายงานของ Gliszczynska-Swigto et al. (2006) พบว่า การให้ความร้อนโดยการลวกผลบล๊อคโคลีมีผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซีลดลงกว่าการให้ความร้อนโดยใช้ไอน้ำร้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เนื่องมาจากการให้ความร้อนโดยการลวกทำให้ผนังเซลล์ของผัก และผลไม้ แตกตัว และเกิดการเสียสภาพ ที่มีอยู่ภายในผัก และผลไม้ จึงถูกน้ำเป็นตัวกลางในการพาออกมา

1.3 การให้ความร้อนโดยการต้ม (Boil)

การต้มเป็นวิธีการที่ช่วยชะลอการเสื่อมเสีย และช่วยทำลาย หรือลดจำนวนแบคทีเรียของอาหารได้ นอกจากนี้การต้มยังช่วยทำลายสารพิษที่มีอยู่ หรือที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นได้อย่างดี ข้อเสียของการต้ม คือ ทำให้อาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงของสี รสชาติ และเนื้อสัมผัส รวมถึงเป็นการก่อให้เกิดการสูญเสียคุณค่าทางอาหารได้เช่นกัน จากการรายงานของ Chuah et al. (2008) พบว่า

การให้ความร้อนพริก (*Capsicum annum* L.) 7 สายพันธุ์ โดยใช้ไมโครเวฟ การผัด และการต้มด้วย น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับพริกสด พบว่าพริกที่เป็น ผลสด และที่ผ่านการให้ความร้อนเป็นเวลา 5 นาที มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่เมื่อผ่านความร้อนเป็นเวลา 30 นาที มีผลทำให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซี ลดลงกว่าตัวอย่างสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และ วิธีการให้ความร้อนโดยใช้ไมโครเวฟ และการทอด ที่ไม่มีการใช้น้ำร่วมด้วย เป็นวิธีการให้ความ ร้อนที่มีความเหมาะสมสำหรับพริกมากกว่าการต้มที่มีการใช้น้ำร่วมด้วย

2. การให้ความร้อนในระดับอุตสาหกรรม

2.1 การให้ความร้อนโดยการอบไอน้ำภายใต้ความดัน (Autoclave Sterilization)

การให้ความร้อนโดยการอบไอน้ำภายใต้ความดัน หมายถึง กรรมวิธีฆ่าเชื้อด้วยความ ร้อนไม่ต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส และใช้เวลาที่เหมาะสม เพื่อทำลายจุลินทรีย์รวมทั้งสปอร์ทุกชนิด ทำลายเอนไซม์ทุกชนิด และเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา คือเก็บได้นานอย่างน้อย 3 เดือนใน อุณหภูมิห้อง แต่สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง สี เปลี่ยนรสชาติ และเนื้อสัมผัสในอาหาร รวมถึง ก่อให้เกิดการสูญเสียคุณค่าทางอาหารได้เช่นกัน โดยเฉพาะวิตามินซีที่มีในผัก และ ผลไม้ จากการ รายงานของ Sun et al. (2007) พบว่า การให้ความร้อนด้วยวิธีการทำหน่อไม้ฝรั่งบรรจุกระป๋องที่ ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการอบไอน้ำภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 นาที และทำให้เย็นทันทีโดยการแช่ในน้ำเย็นเป็นเวลา 10 นาที มีสารต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าการให้ความ ร้อนโดยใช้ไมโครเวฟ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และหน่อไม้ฝรั่งบรรจุกระป๋องที่ผ่านการ ฆ่าเชื้อด้วยการอบไอน้ำภายใต้ความดันมีแรงตัด (Shearing Force) ต่ำกว่าหน่อไม้ฝรั่งที่ไม่ผ่านการ ให้ความร้อนถึง 8 เท่า และเนื้อสัมผัสของหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการแปรรูปมีความแตกต่างกันอย่างไม่มี นัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนการทดสอบรสชาติพบว่า หน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการให้ความร้อน โดยวิธีไมโครเวฟให้ค่าสี a^* ที่แสดงถึงค่าความเป็นสีแดงในระบบ (Commission International de l'Eclairage; CIE) เป็นลบ คือมีค่าความเป็นสีเขียว มากกว่าหน่อไม้ฝรั่งบรรจุกระป๋องที่ผ่านการฆ่า เชื้อด้วยสเตอริไลส์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

3. กระบวนการทำแห้ง

การทำแห้ง หรือ การกำจัดน้ำ (Drying) ที่มีอยู่ในอาหารมีความสำคัญ เนื่องจากเป็นวิธี ถนอมอาหารที่ทำให้เก็บรักษาอาหารได้นานขึ้น โดยปราศจากการเน่าเสีย สาเหตุที่ทำให้อาหารเก็บ ได้นานขึ้นเมื่ออาหารผ่านการทำแห้ง เนื่องจากการนำที่จุลินทรีย์ใช้ในการดำรงชีวิตมีไม่พอต่อ

กิจกรรมภายในเซลล์ ดังนั้นจึงชะลอการเจริญเติบโต การแบ่งเซลล์ และช่วยลดเอนไซม์ที่ไม่ต้องการที่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสารอาหารได้ วัตถุประสงค์ของการทำแห้ง คือ การยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร โดยการลดค่าออกซิเดชันแอคทีวิตี ซึ่งมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ และการทำงานของเอนไซม์ (วิไล รังสาตทอง, 2546; Keey, 1997)

3.1 การทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบถาด

เครื่องทำแห้งแบบถาดประกอบด้วย ถาดโลหะเดี่ยว ๆ ที่มีช่องตาข่าย หรือรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร อยู่ด้านล่างซึ่งใช้วางผลิตภัณฑ์อาหารที่อบอากาศร้อน โดยแรงลมร้อนไหลหมุนวนอยู่ในตู้ที่ความเร็วลมประมาณ 0.5 ถึง 5 เมตรต่อวินาทีต่อตารางเมตรของพื้นที่ผิวของถาด มีระบบท่อเพื่อนำลมร้อนขึ้นไปด้านบนผ่านแต่ละถาดเพื่อให้ลมร้อนกระจายอย่างสม่ำเสมอ มีการใช้พัดลมแผ่นครีบบังช่วยบังคับลมให้พัดวนวนกับผิวอาหารอบในถาด อากาศชั้นบางส่วนถูกปล่อยออกที่ปล่องระบายอากาศด้านบน แสดงดังภาพที่ 2-9



ภาพที่ 2-9 เครื่องอบแห้งแบบถาด

3.2 การทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบระเหิด

การทำแห้งแบบระเหิด (Freeze drying) เป็นการระเหยน้ำ หรือการระเหิดของแข็ง เพื่อลดน้ำหนัก และปริมาณของอาหารยังช่วยลดค่าใช้จ่าย และการขนส่ง รวมถึงช่วยเพิ่มความปลอดภัย และความสะดวกให้กับผู้บริโภค อย่างไรก็ตามความร้อนในการทำแห้งนั้น เป็นต้นเหตุทำให้เกิดการสูญเสียคุณภาพทางประสาทสัมผัส หรือคุณค่าทางโภชนาการ โดยกรรมวิธีอบแห้งแบบระเหิดให้ผลในการเก็บรักษาอาหารคล้ายคลึงกัน คือ การลดค่าออกซิเดชันแอคทีวิตี แต่ไม่ต้องให้ความร้อนแก่อาหาร จึงทำให้อาหารที่ได้มีคุณภาพทางประสาทสัมผัส และคุณค่าทางโภชนาการ

ดีกว่าอาหารแห้งทั่วไป แต่มีข้อเสีย คือ ใช้เวลานานในการกำจัดน้ำ ค่าใช้จ่ายสำหรับพลังงานในการทำให้เยือกแข็ง และค่าใช้จ่ายในการทำสุญญากาศย่อมมีราคาสูงมาก ดังนั้นการอบแห้งแบบระเหิดจึงเป็นกระบวนการที่ใช้ในอุตสาหกรรมการทำแห้งอาหารที่ต้องการรักษากลิ่น หรือลักษณะเนื้อสัมผัสที่ค่อนข้างเปราะบาง เช่น กาแฟ เห็ด เครื่องเทศ และสมุนไพร น้ำผลไม้ อาหารเสริม เนื้ออาหารทะเล ผัก และ ผลิตภัณฑ์ทางยา รวมทั้งใช้ในการเก็บรักษาหัวเชื้อจุลินทรีย์เป็นระยะเวลานานๆ เพื่อให้เป็นหัวเชื้อในการแปรรูปอาหาร โดยส่วนประกอบพื้นฐานของเครื่องทำแห้งแบบระเหิด ได้แก่ บั้มสุญญากาศ (Vacuum pump) ระบบคอนเดนเซอร์ที่ใช้ในการทำเยือกแข็ง (Ice condenser system) ภาชนะใส่ตัวอย่าง (sample chamber) ระบบท่อ และวาล์ว (tubing and valve system) (เอกคณัฏ กอกิมพงษ์, 2549) ดังแสดงในภาพที่ 2-10



ภาพที่ 2-10 ส่วนประกอบของเครื่องทำแห้งแบบระเหิด (เอกคณัฏ กอกิมพงษ์, 2549)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล (2548) ได้สรุปความสำคัญ และประโยชน์ของการสกัด และการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสมุนไพร และผักพื้นบ้านของไทยบางชนิดว่า จากการสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (เมทานอล, เอทานอล, อะซิโตน และเอทิลอะซิเตท) และเวลาในการสกัด (0.5, 1, 3, 4.5, 6, 24 และ 48 ชั่วโมง) มีผลต่อเปอร์เซ็นต์สารที่สกัดได้ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่วิเคราะห์ด้วยวิธีฟอลินชิโอแอลบู และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH ในใบของกระถิน ผักหวานบ้าน พุดมระขึ้นนก และโหระพา อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยชนิดของตัวทำละลาย และเวลาที่เหมาะสมในการสกัดของพืชแต่ละชนิด มีความสัมพันธ์กับชนิด และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีในพืช พิจารณาจากปริมาณ

สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Reverse Phase - High Performance Liquid Chromatography (RP - HPLC) ทั้งนี้ตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำกว่ามีความเหมาะสมในการสกัดพืชที่มีสารประกอบฟีนอลิกที่มีความขั้วน้อยกว่า และพืชที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าจะใช้เวลาในการสกัดสั้นกว่า เมื่อทำวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ (Correlation) ของเปอร์เซ็นต์สารที่สกัดได้ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าตัวแปรทั้งหมดมีความสัมพันธ์กันสูง ($r > 0.75$) ซึ่งความสัมพันธ์ของตัวแปรดังกล่าวในแต่ละชนิดของพืชมีค่าสูงกว่าความสัมพันธ์ที่พิจารณาในทุกชนิดของพืช เมื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สนใจด้วย RP - HPLC ในสารสกัดของใบพืชที่ศึกษาจากการสกัดที่ภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ สารสกัดกระถินด้วยเอทิลอะซิเตทที่เวลา 3 ชั่วโมง สารสกัดผักหวานบ้านด้วยเอทานอลที่เวลา 4.5 ชั่วโมง สารสกัดพลูด้วยเอทิลอะซิเตทที่เวลา 3 ชั่วโมง สารสกัดมะระขี้นกด้วยอะซิโตนที่เวลา 3 ชั่วโมง และสารสกัดโหระพาด้วยเมทานอลที่เวลา 4.5 ชั่วโมง พบกรดแกลลิกในกระถิน พบกรดเบนโซอิกในโหระพา พบกรดคาเฟอิกในกระถิน และโหระพา พบกรดคลอโรจินิกในกระถิน มะระขี้นก และโหระพา พบไมริเซดินในกระถิน และผักหวานบ้าน ไม่พบเคอร์เซติน และเคมพ์เฟอรอล ในสารสกัดพืชที่ศึกษา ดังนั้นการศึกษาถึงชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดของพืชจึงเป็นประโยชน์มาก เพื่อทำความเข้าใจถึงความเหมาะสมในกระบวนการสกัดที่ใช้ให้ได้สารประกอบฟีนอลิกที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง

อนุพงศ์ ศิริเมืองมูล, ฤดีวรรณ สุขใจ, นภาพร ศิริวัฒนาวงศ์ และวชิระ จิระรัตนรังษี (2549) ได้สรุปความสำคัญและประโยชน์ของการแปรรูปโดยใช้ความร้อนต่อคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมะเขือเทศ จากการเปรียบเทียบผลของการให้ความร้อนต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติของการต้านอนุมูลอิสระในน้ำมะเขือเทศที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และ ที่อุณหภูมิ 80 85 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที พบว่า ปริมาณแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และกรดแอสคอร์บิก มีปริมาณลดลงเมื่อให้ความร้อนสูงขึ้น ($p \leq 0.05$) ส่วนความสามารถในการรีดิวซ์ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS^{•+} ลดลงในระหว่างการเก็บรักษาทุก ๆ ตัวอย่าง

Fu (2004) ได้สรุปความสำคัญ และ ประโยชน์ของคุณสมบัติการจับกับอนุมูลอิสระ และการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งจากหัวหอมผง โดยการแปรรูปที่ใช้ความร้อนแตกต่างกันไว้ว่า จากการสกัดโดยเมทานอลที่ผ่านการทำแห้งหัวหอมผงโดยการอบแห้งแบบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส การอบแห้งแบบสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และการอบแห้งแบบระเหิดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พบว่าการทำแห้งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงเคอร์เซติน

และการต้านอนุมูลอิสระ โดยการอบแห้งหัวหอมด้วยการใช้ลมร้อนมีกิจกรรมการจับกับอนุมูลอิสระสูงสุด ทั้งการจับกับ DPPH และอนุมูลเปอร์ออกไซด์ สูงกว่าการอบแห้งหัวหอมแบบระเหิด และการอบแห้งแบบสภาวะสุญญากาศ จากการวิเคราะห์ HPLC พบว่าการอบแห้งหัวหอมแบบระเหิด และการอบแห้งแบบสภาวะสุญญากาศ มีไกลโคไซด์ของเคอร์เซตินมาก ในขณะที่การอบแห้งหัวหอมด้วยการใช้ลมร้อนมีอะไกลคอนเป็นตัวควบคุม โดยการเพิ่มจำนวนของเซลล์อย่างรวดเร็วของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว CME และ U937 มีการยับยั้งด้วยหัวหอมที่มีการอบแห้งด้วยการใช้ลมร้อน ในขณะที่การอบแห้งหัวหอมแบบระเหิด และการอบแห้งแบบสภาวะสุญญากาศ มีการยับยั้งได้น้อยลง โดยสำหรับเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว K562, P3HR-1 และ Raji มีการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ได้ต่ำจากการทำแห้งหัวหอมทั้ง 3 วิธี

Horax et al. (2005) ได้สรุปความสำคัญ และประโยชน์ของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และส่วนประกอบของกรดฟีนอลิกในมะระ (*Momordica charantia*) และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไว้ว่า จากการศึกษามะระ 4 สายพันธุ์ คือ India green (IG), India white (IW), China green (CG) และ China white (CW) พบว่า China white มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด คือ 6.07-8.90 มิลลิกรัมของ CAE ต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง เมื่อเปรียบเทียบกับ India green ที่มีค่าต่ำที่สุด คือ 4.64-6.84 มิลลิกรัมของ CAE ต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง และการทำแห้งโดยวิธีการใช้เตาอบ และการทำแห้งโดยการระเหิด พบว่าการทำแห้งโดยวิธีการใช้เตาอบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าการทำแห้งโดยการระเหิด คือ 5.39-8.94 และ 4.64-8.90 มิลลิกรัมของ CAE ต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ การทดสอบสารประกอบฟีนอลิกของเมล็ด เชื้อภายใน และเนื้อผล พบว่าเนื้อผลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด คือ 5.36-8.90 มิลลิกรัมของ CAE ต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ส่วนการทดสอบกรดฟีนอลิก พบว่าเนื้อผลมีจำนวน และปริมาณของกรดฟีนอลิกสูงที่สุด คือ Gallic acid, Gentistic acid, Catechin, Chlorogenic acid และ Epicatechin มีอัตราจาก 8.04-39.76, 16.99-32.39, 23.06-82.45, 4.55-15.83 และ 16.14-44.28 มิลลิกรัม/100 กรัมของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และการทดสอบกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าเนื้อผลมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงที่สุด คือ 81.7-86.5 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นมะระจึงเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยสารประกอบฟีนอลิก โดยเป็นแหล่งที่ดีของสารต้านอนุมูลอิสระจากการประยุกต์ใช้ในระบบอาหาร

Oboh (2005) ได้สรุปความสำคัญ และประโยชน์ของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และที่ผ่านการให้ความร้อน โดยการลวกเป็นเวลา 5 นาที ของผักใบเขียวแบบสด พบว่าการให้ความร้อน โดยการลวกทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากการวิเคราะห์วิตามินซีผักใบเขียวที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 0.1-0.3 กรัมต่อ 100 กรัม และการให้

ความร้อนโดยการลวกที่ 0.2-0.6 กรัมต่อ 100 กรัม พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระผักใบเขียวที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนมีเปอร์เซ็นต์การจับกับอนุมูลอิสระที่ 20.0-51.4 เปอร์เซ็นต์ และการให้ความร้อนโดยการลวกที่ 16.4-47.1 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Amin et al. (2006) ได้สรุปความสำคัญ และประโยชน์ของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณฟีนอลิก ของพืชตระกูลผักโขมแบบสด และที่ผ่านการให้ความร้อนโดยการลวกว่า กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดของพืชตระกูลผักโขม 4 ชนิด คือ “bayam putih” (*Amaranthus paniculatus*; BP), “bayam merah” (*Amaranthus gangeticus*; BM), “bayam itik” (*Amaranthus blitum*; BI) และ “bayam panjang” (*Amaranthus viridis*; BPG) ที่เวลาแตกต่างกัน 10 และ 15 นาที ของส่วนประกอบที่สามารถละลายน้ำได้ผักโขมสด พบว่า BI BM และ BPG มีปริมาณที่ใกล้เคียงกัน และ มีมากกว่า BP ในขณะที่กิจกรรมการจับกับอนุมูลอิสระมีใน $BI>BPG>BM>BP$ ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พบว่า BM และ BP มีค่าที่สูงกว่าตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ขณะที่ผักโขมแบบสดมีปริมาณกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าที่ผ่านการลวกที่เวลา 10 นาที ส่วนที่ผ่านการลวก 15 นาที มีปริมาณกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่ำที่สุด โดยการลวกที่ 15 นาที มีการสูญเสียของปริมาณกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Sun et al. (2007) ได้สรุปความสำคัญ และประโยชน์ของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่ง เมื่อผ่านการให้ความร้อนโดยไม่โครเวฟร่วมกับน้ำ และการให้ความร้อนการสเตอริไรส์ พบว่าการให้ความร้อนหน่อไม้ฝรั่ง โดยวิธีไมโครเวฟที่คลื่นความถี่ 915 เมกกะเฮิร์ตซ์ ร่วมกับน้ำ (Microwave-Circulated Water Combination; MCWC) การให้ความร้อนโดยการใช้น้ำร้อน และการให้ความร้อนโดยใช้ไอน้ำร้อนด้วยหม้อนึ่งความดัน ไม่ส่งผลต่อปริมาณรูตินของหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการแปรรูปในแต่ละวิธีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่พบว่าการใช้ความร้อนโดยใช้ไมโครเวฟเป็นวิธีการแปรรูปที่ดีที่สุดต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของหน่อไม้ฝรั่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนการทดสอบแรงดัดหน่อไม้ฝรั่ง พบว่าค่าแรงดัดที่ลดลงเป็น 8 เท่าภายหลังการให้ความร้อนโดยการสเตอริไรส์ และเนื้อสัมผัสของหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการแปรรูปมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) สำหรับการทดสอบค่าสี พบว่า ค่าสีที่ผ่านการให้ความร้อนโดยวิธีไมโครเวฟให้ค่าสี a^* เป็นลบ คือ มีค่าความเป็นสีเขียวที่ต่ำกว่าวิธีการให้ความร้อนโดยใช้น้ำร้อน และการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ ดังนั้นการให้ความร้อน

หน่อไม้ฝรั่งโดยการใช้น้ำโครเวฟ แสดงให้เห็นว่ามีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และค่าความเป็น
 สีเขียวที่ต่ำกว่าการแปรรูปโดยวิธีต่าง ๆ ดังที่กล่าว

Wu and Ng (2008) ได้สรุปความสำคัญ และประโยชน์ของสารต้านอนุมูลอิสระ และ
 กิจกรรมการจับกับอนุมูลอิสระของมะระในได้เห็นว่า การสกัดมะระโดยใช้น้ำกลั่นสามารถยับยั้ง
 อนุมูล DPPH ได้ดีที่สุด คือ $IC_{50} = 129.94$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับวิตามินอีที่
 ยับยั้งได้ $IC_{50} = 172.78$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกันกับกิจกรรมการจับกับเหล็ก พบว่าการ
 สกัดโดยใช้น้ำกลั่นสามารถจับกับเหล็ก ได้ดีที่สุด คือ $IC_{50} = 340.18$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อ
 ทดสอบความเข้มข้นของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่สกัดด้วยน้ำกลั่น คือ 62.0 มิลลิกรัมต่อกรัม พบว่า มี
 ค่าสูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอล คือ 44.0 มิลลิกรัมต่อกรัม แต่ต่ำกว่าในการทดสอบฟีนอลิก
 ทั้งหมด คือ การสกัดด้วยน้ำกลั่นมีปริมาณ 51.6 มิลลิกรัมต่อกรัม และการสกัดด้วยเอทานอลมี
 ปริมาณ 68.8 มิลลิกรัมต่อกรัม

Chuah et al. (2008) ได้สรุปผลของการให้ความร้อนของพริก (*Capsicum annum* L.)
 7 สายพันธุ์จากวิธีการแปรรูปที่แตกต่างกัน คือ การให้ความร้อนโดยใช้น้ำโครเวฟ การผัด และการ
 คั่วโดยใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ต่อกิจกรรมการจับกับอนุมูลอิสระ
 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณกรดแอสคอบิก และปริมาณแคโรทีนอยด์ เทียบกับ
 พริกสด พบว่าพริกที่เป็นผลสด และที่ผ่านการให้ความร้อนเป็นเวลา 5 นาที มีความแตกต่างกัน
 อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่เมื่อผ่านความร้อนเป็นเวลา 30 นาที มีผลทำให้ปริมาณ
 สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซี ลดลงกว่าตัวอย่างสดอย่างมีนัยสำคัญทาง
 สถิติ ($p < 0.05$) และพบว่าการให้ความร้อนโดยใช้น้ำโครเวฟ และการทอด ที่ไม่มีการใช้น้ำร่วมด้วย
 เป็นวิธีการให้ความร้อนที่มีความเหมาะสมอย่างมากสำหรับพริก โดยมีการยอมรับว่าสามารถเก็บ
 รักษาโมเลกุลของสารต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด

Kubola and Siriamornpun (2008) สรุปความสำคัญ และประโยชน์ของสารประกอบ
 ฟีนอลิก และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในส่วนของสารสกัดจากใบ ลำต้น และผลของมะระขี้นก
 (*Momordica charantia* L.) ที่ทำในห้องทดลองไว้ว่า การสกัดใบ ลำต้น และผลของมะระด้วยน้ำ
 เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ DPPH และกิจกรรมการจับกับอนุมูลไฮดรอกซิล การวิเคราะห์เบต้า-แคโรทีน-
 ลิโนเลอเทอ (β -Carotene-Linoleate Bleaching assay) การจับกับเหล็กต่อสารต้านอนุมูลอิสระ และ
 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด รวมถึงวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกโดยใช้เทคนิค HPLC
 พบว่าสารสกัดจากใบมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และการจับกับเหล็กสูงที่สุด ในขณะที่
 สารสกัดจากผลสีเขียวมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่จับกับอนุมูลไฮดรอกซิล เบต้า-แคโรทีน-
 ลิโนเลอเทอ และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดสูงที่สุด กรดแกลลิกมีความสามารถเป็น

สารประกอบฟีนอลิกเหนือกว่ากรดคาเฟอิก และคาเตชิน จากการศึกษาการสกัดมะระด้วยน้ำที่วิธีการด้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน พบว่าสารประกอบฟีนอลิกมีปริมาณที่สูงที่สุดเมื่อเทียบกับการจับกับเหล็ก ($R^2=0.948$)

Lin, Liu, and Mau (2008) ได้สรุปความสำคัญ และประโยชน์ของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระต่อความแตกต่างของวิธีการชงชาเขียวด้วยไอน้ำไว้ว่า สารสกัดที่เตรียมจากชาเขียวที่ผ่านการชงด้วยไอน้ำร้อน หรือเย็น ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน (2.6 และ 10 เปอร์เซ็นต์) มีการศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และอิทธิพลของการต้านอนุมูลอิสระ โดยให้ผลผลิต 17.49-28.27 เปอร์เซ็นต์ ต่อสารสกัดที่สกัดด้วยไอน้ำร้อน ซึ่งมีค่าสูงกว่าที่สกัดด้วยไอน้ำเย็นที่ให้ผลผลิต 11.72-14.70 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ EC_{50} พบว่ามีปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการรีดิวซ์มีค่า 2.19-3.10 และ 0.22-0.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่า EC_{50} ในการจับกับ DPPH และอนุมูลไฮดรอกซิลมีค่า 29.45-43.80 และ 2.88-3.22 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่า EC_{50} ในความสามารถการจับกับไอออนเหล็กมีค่า 6.45-13.51 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีค่า 221.71-330.22 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่คาเตชินทั้งหมดที่สกัดด้วยไอน้ำเย็น และไอน้ำร้อนมีค่า 135.05-193.14 และ 161.57-195.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยผลที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อนมีอิทธิพลอย่างมากต่อกิจกรรมการจับกับอนุมูลอิสระ และความสามารถในการรีดิวซ์ อย่างไรก็ตามการสกัดด้วยน้ำเย็นมีอิทธิพลอย่างมากต่อความสามารถในการจับกับอนุมูล DPPH และอนุมูลไฮดรอกซิล และความสามารถในการจับกับไอออนเหล็ก จึงแนะนำว่าวิธีการชงด้วยน้ำเย็นเป็นทางเลือกใหม่ในการทำชา

Wachtel-Galor et al. (2008) ได้สรุปผลของการให้ความร้อน โดยการลวก การใช้ไอน้ำ และไมโครเวฟ กับพืชตระกูลกะหล่ำ (*Brassica*) คือ บล็อกโคลี กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี และกวางตุ้ง (กะหล่ำปลีของจีน) ต่อคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารต้านอนุมูลอิสระมีปริมาณสูงที่สุดในการให้ความร้อนโดยการใช้ไอน้ำ รองลงมา คือ การลวก และต่ำที่สุด คือ การให้ความร้อนโดยใช้ไมโครเวฟ และมีการลดลงเมื่อให้ความร้อนโดยใช้ระยะเวลาสั้น โดยไม่คำนึงถึงวิธีการ สำหรับการให้ความร้อนโดยใช้น้ำของผักทั้งหมด พบว่ามีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าผักแบบสด ส่วนการให้ความร้อนโดยใช้น้ำเดือด และไมโครเวฟ พบว่าการใช้ไมโครเวฟมีการสูญเสียของสารต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการใช้น้ำเดือด และแนะนำว่าการให้ความร้อนโดยใช้น้ำร้อนเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการปรุงอาหารที่เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ