รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตสาหร่ายพวงองุ่นพร้อมบริโภคในรีทอร์ตเพาซ์
Development of ready-to-eat Green Caviar in retort pouch

ผศ.ดร.ธีรารัตน์ อิทธิโสภณกุล หัวหน้าโครงการวิจัย

ผศ.ดร.วิชมณี ยืนยงพุทธกาล ผู้ร่วมวิจัย

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้

(เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562

มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 58885
สัญญาเลขที่ 11.4/2562

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตสาหร่ายพวงองุ่นพร้อมบริโภคในรีทอร์ตเพาซ์
Development of ready-to-eat Green Caviar in retort pouch

ผศ.ดร.ธีรารัตน์ อิทธิโสภณกุล[1] หัวหน้าโครงการวิจัย
ผศ.ดร.วิชมณี ยืนยงพุทธกาล[2] ผู้ร่วมวิจัย

[1]คณะเทคโนโลยีและนวัตกรรมผลิตภัณฑ์การเกษตร มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

[2]ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

กันยายน 2562

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 11.4/2562 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

Acknowledgement

This work was financially supported by the Research Grant of Burapha University through National Research Council of Thailand (Grant no. 11.4/2562)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการผลิตสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีอายุการเก็บนานที่อุณหภูมิห้องและปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค ทำการศึกษาค่า F_o เพื่อกำหนดอุณหภูมิการให้ความร้อนและเวลาที่เหมาะสม จากนั้นทำการศึกษา คุณภาพของสาหร่ายพวงองุ่นที่ผ่านการให้ความร้อน และระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือนที่อุณหภูมิห้อง โดยทำการตรวจสอบคุณภาพสาหร่ายพวงองุ่นในด้านจุลินทรีย์ คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ สารต้านอนุมูลอิสระ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและคุณค่าสารอาหาร ผ ลการวิจัยพบว่าผลิตภัณฑ์สาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือเมื่อผ่านการให้ความร้อนที่ 115 และ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทำให้ผลิตภัณฑ์มีค่า Fo ตามเกณฑ์กฎหมายกำหนด และผลิตภัณฑ์ปลอดเชื้อ อย่างไรก็ตามการใช้อุ ณหภูมิที่สูง (121 องศาเซลเซียส) ส่งผลต่อคุณภาพของสาหร่ายพวงองุ่น โดยความแตกต่างของคุณภาพเมื่อเทียบกับสาหร่ ายสด จะมีมากกว่าการใช้อุณหภูมิฆ่าเชื้อที่ต่ำกว่า สำหรับน้ำเกลือที่ใช้ในการบรรจุสาหร่ายพวงองุ่นพบว่า การปรับ pH ให้ต่ำกว่า 4.6 ส่งผลต่อการเปลี่ยนสีและเนื้อสั มผัส โดยส่งผลให้สาหร่ายมีสีเขียว สดเปลี่ยนไปเป็นสีเขียว น้ำตาล และเนื้อนิ่ม ดังนั้นการปรับ pH น้ำเกลือจึงเป็นสิ่งไม่จำเป็น ในด้านคุณภาพของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าสาหร่ายที่ผ่านการให้ความร้อนทั้งสองอุณหภูมิก ารฆ่าเชื้อมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพเล็กน้อย ทั้งด้านสี เนื้อสัมผัส สารประกอบฟีนอลิก คลอโรฟิลล์ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และคุณค่าทางโภชนาการ ทั้งนี้สาหร่ ายที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 115 องศาเซลเซียสจะคงความเขียวสดได้ดีกว่ า และเนื้อสัมผัสใกล้เคียงกับสาหร่ ายสด ด้านคุณภาพจุลินทรีย์ไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา

Keywords: สาหร่ายพวงองุ่น, รีทอร์ทเพาซ์, น้ำเกลือ, การแปรรูปแบบใช้ความร้อน

Abstract

Green Caviar or Sea Grapes – a green seaweed containing in brine solution, packed in retort pouches was processed to commercial stertility in a laboratory-scale water stream retort. Process lethality was determined by temperature measurements and Green caviar properties after processing were investigated. The quality of product during 3 months strorage at room temperature was evaluated by microbiological test, analysis of physicochemical properties, antioxidant compounds, antioxidant activity and nutritional contents. Results showed that product was commercially sterile after the heat treatment both at 115 and 121 $^{\circ}$C, for 20 minutes. Heat-treated product at higher temperature (121 $^{\circ}$C) received lower acceptance in term of qualities such as color and texture. Acidity of brine solution also affected dark green color and soft texture of Green caviar, then the acidity adjustment of brine solution was not necessary. Investigation of Green caviar products properties after heat treatment during storage time of 3 months at room temperature revealed that sample prepared by heat treatment at 115°C showed no significant difference qualities change in color, texture, phenolic compounds, antioxidant activity, nutritional value and microbiogical test. Athough the pH of brine solution was decline during storage time. The conclusion is that it should be possible to produce shelf-stable Green Caviar in brine solution with a good quality. It is recommended that pouches with Green Caviar in brine solution are heat-treated to a process lethatlity (F_o) of 20 minutes, as this would guarantee consumer safety and product stability was remained consistency during 3months storage at room temperature.

Keywords: Green Caviar, Sea grapes, retort pouch, brine solution, thermal processing

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
Abstract	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	จ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม	4
บทที่ 3 วัตถุดิบ และวิธีการทดลอง	13
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	21
สรุปผลการทดลอง	37
เอกสารอ้างอิง	38
ภาคผนวก	41

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 แสดงคุณค่าทางอาหารของสาหร่าย *C. lentillifera*	4
ตารางที่ 4.1 ค่า F_0 ของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์เมื่อผ่านการให้ความร้อนด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ	21
ตารางที่ 4.2 ค่าคุณภาพด้านสี เนื้อสัมผัส และความเป็นกรดด่าง ของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์หลังผ่านการให้ความร้อน	22
ตารางที่ 4.3 ค่าคุณภาพด้านจุลินทรีย์ ของสาหร่าย พวงองุ่นในน้ำเกลือ บรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ก่อนและหลังผ่านการให้ความร้อน	25
ตารางที่ 4.4 คะแนนทดสอบประสาทสัมผัสของสาหร่ายพวงองุ่น	25
ตารางที่ 4.5 คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายพวงองุ่นสด และสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์	35
ตารางที่ 4.6 คุณภาพทางจุลินทรีย์ของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์	35
ตารางผนวกที่ ก.1 การเจือจางสารมาตรฐานกรดแกลลิก	41
ตารางผนวกที่ ก.2 การเจือจางสารมาตรฐาน Trolox	42

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 4.1 ตัวอย่างสีและลักษณะของสาหร่ายพวงองุ่นสด 22

รูปที่ 4.2 ตัวอย่างสีและลักษณะของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121°C เป็นเวลา 20 นาที โดย ซ้าย: ไม่ปรับกรด (pH 7.72) และ ขวา: ปรับกรด (pH 4.37) 23

รูปที่ 4.3 ตัวอย่างสีและลักษณะของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 115°C เป็นเวลา 20 นาที โดย ซ้าย: ไม่ปรับกรด (pH 7.72) และ ขวา: ปรับกรด (pH 4.37) 23

รูปที่ 4.4 ตัวอย่างสีและลักษณะของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือไม่ปรับกรดที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 115°C เป็นเวลา 20 นาที ที่ผ่านการล้าง และคืนตัวโดยแช่ในน้ำเย็น 24

รูปที่ 4.5 ตัวอย่างสีและลักษณะของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือไม่ปรับกรด (ซ้าย) และปรับกรด (ขวา) ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121°C เป็นเวลา 20 นาที ที่ผ่านการล้าง และคืนตัวโดยแช่ในน้ำเย็น 24

รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพค่าสี (L*, a*, b*) ของสาหร่ายพวงองุ่นบรรจุในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อน และเก็บเป็นเวลา 3 เดือน; รูป A: 121°C, B:115 °C 27

รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพค่าเนื้อสัมผัสของสาหร่ายพวงองุ่นบรรจุในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อน และเก็บเป็นเวลา 3 เดือน 28

รูปที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพค่า pH ของน้ำเกลือที่ในสาหร่ายบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อน และเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน 29

รูปที่ 4.9 ลักษณะปรากฏสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 115 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน 30

รูปที่ 4.10 ลักษณะปรากฏสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน 31

รูปที่ 4.11 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อน และเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน 32

รูปที่ 4.12 ปริมาณคลอโรฟิลล์ชนิดเอและบีของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อน และเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน 33

รูปที่ 4.13 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อน และเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน 34

รูปภาพผนวกที่ ก.1 กราฟมาตรฐาน Gallic acid equivalent 42

รูปภาพผนวกที่ ก.2 กราฟมาตรฐาน Trolox equivalent 43

บทที่ 1 บทนำ

สาหร่ายพวงองุ่น เป็นสาหร่ายทะเลสีเขียว (green algae) มีชื่อสามัญว่า Sea Grapes หรือ Green Caviar ลักษณะเป็นเม็ดกลมและเป็นช่อคล้ายพวงองุ่นหรือคล้ายไข่ปลาคาร์เวียร์ สีเขียวสด มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิดและมีไขมันต่ำ นอกจากนี้สาหร่ายพวงองุ่นยังมีชื่อเรียกว่า Lelato, Ararusip, Lato ชาวญี่ปุ่นเรียกสาหร่ายชนิดนี้ว่า umibudo มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Caulerpa lentillifera J. Agardh* อยู่ในตระกูล Caulerpaceae สาหร่ายพวงองุ่นมีการกระจายอยู่ในทะเลเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน พบได้มากในประเทศอินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ไทย เวีย ดนาม จีนและญี่ปุ่น นอกจากนี้ยังแพร่กระจายไปยังเขตร้อน ได้แก่ เคนยา มาดากัสการ์ มอริเชียส โมแซมบิก โซมาเลีย แอฟริกาใต้ แทนซาเนียและปาปัวนิวกินี เป็นต้น สามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสารอาหารที่สมบูรณ์และมีแสงแดดเพียงพอ (Hui et al, 2014) สาหร่ายพวงองุ่นมีป ระโยชน์หลายอย่าง ได้แก่ เป็นอาหารเพื่อบริโภค ผลิตเครื่องสำอาง ปุ๋ยในการเกษตรและเป็นสารเติมแต่งในอาหารสัตว์ ในอดีตสาหร่ายพวงองุ่นยังไม่ถูกขึ้นทะเบียนเป็นอาหารเนื่องจากมีข้อมูลไม่เพียงพอ แต่ในปีพ .ศ. 2555 มีผู้คนหันมาสนใจปลูกสาหร่ายพวงองุ่นมากขึ้นถึง 9 ล้านตัน โดยมีจุดประสงค์เพื่อนำมาบริโภคโดยตรง ซึ่งสาหร่ายพวงองุ่นเป็นที่นิยมบริโภคในภูมิภาคอินโดแปซิฟิก ในปัจจุบันมีแนวโน้มที่ผู้คนจะหันมากินสาหร่ายพวงองุ่นเพิ่มขึ้นถึง 123 ตัน

ในประเทศไทยสาหร่ายพวงองุ่นมีการเพาะเลี้ยงเป็นเชิงพาณิชย์ สาหร่ายชนิดนี้เป็นที่ได้รับความนิยมในกลุ่มผู้บริโภครักสุขภาพในปัจจุบัน เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยมีเถ้าสูง (22.20%) ซึ่งแสดงถึงเป็นแหล่งของแร่ธาตุต่างๆ เช่น แมกนีเซียม แคลเซียม สังกะสี รองมาคือโปรตีน ไฟเบอร์และลิปิดโดยเป็นกรดไขมันจำเป็นชนิด ω-3 และ ω-6 และมีสารต้านอนุมูลอิ สระกลุ่มคลอโรฟิลล์ เบต้า- แคโรทีน และสารประกอบฟีนอลิก (Nguyen, 2011) อย่างไรก็ตามด้วยอายุการเก็บของสาหร่ายที่สั้น การแปรรูปเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาโดยยังคงคุณค่าโภชนาการ และเข้าถึงถึงผู้บริโภคได้อย่างสะดวกจะตอบโจทย์ความต้องการของสังคมปัจจุบันที่มีรูปแบบการดำเนินชีวิตที่เร่งรีบและบริโภคอาหารสำเร็จรูปกันมากขึ้น ผลิตภัณฑ์สาหร่ายพวงองุ่นดองที่มีการจำหน่ายอยู่ทั่วไปส่วนใหญ่บรรจุในขวดพลาสติก ซึ่งบริโภคค่อนข้างลำบาก และมีโอกาสทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ง่ายหากทานไม่หมดในครั้งเดียว ดังนั้นการวิจัยพัฒนาผลิตภัณฑ์สาหร่ายพ วงองุ่นพร้อมบริโภคในรีทอร์ตเพาช์จะเพิ่มความสะดวกสบายในการบริโภค เพราะบรรจุภัณฑ์ชนิดนี้สามารถฉีกซองตามรอยปรุได้ตลอดแนวความกว้างของซอง ทำให้เทออกจากซองได้ง่าย อีกทั้งวัสดุรีทอร์ตเพาช์มีน้ำหนักเบา ช่วยลดภาระค่าใช้จ่ายในการขนส่ง

บรรจุภัณฑ์รีทอร์ทเพาซ์เป็นบรร จุภัณฑ์ที่เริ่มเข้ามาแทนที่กระป๋อง และขวดเนื่องจากสามารถทนกระบวนการฆ่าเชื้อและความดันสูงได้เช่นเดียวกับกระป๋อง จากการศึกษาพบว่ามีอาหารไทยหลายชนิดที่ใช้กระบวนการฆ่าเชื้อเพื่อยืดอายุการเก็บอาหาร เช่น ห่อหมกพร้อมบริโภคใน รีทอร์ตเพาซ์ ฆ่าเชื้อที่ 116 องศาเซลเซี ยส นาน 45 นาที ค่า F_0 เท่ากับ 8.71 นาที สามารถเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้องได้นานอย่างน้อย 6 สัปดาห์ (ดนุพล, 2549) น้ำข้าวยำบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ ทำการฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้นาน 8 สัปดาห์ (วรพร, 2554) น้ำพริกพร้อมบริโภคบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ที่บริโภคได้ครั้งเดียว (1 มื้อ) ฆ่าเชื้อที่ 100 องศาเซลเซียสนาน 30 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 สัปดาห์ Herman (2012) ได้พัฒนาผลิตภัณฑ์ แกงเผ็ดไก่ในรีทอร์ทเพาซ์ และพบว่าที่ค่า F_0 เท่ากับ 10 นาที ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ จะเห็นได้ว่าอาหารแต่ละประเภทจะใช้อุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อที่แตกต่างกัน ตามมาตรฐานอาหารในภาชนะบรรจุปิดสนิทของประเทศไทย กำหนดการฆ่าเชื้ออาหารที่มีค่าความเป็นกรดด่างมากกว่า 4.6 อาหารนั้นต้องผ่านการสเตอริไลเซชัน และถ้า pH อาหารน้อยกว่า 4.6 สามารถใช้การพาสเจอไรซ์เซชันได้

ในหลายจังหวัดของประเทศไทย เช่น เพชรบุรี ชลบุรี จันทบุรี มีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่นและมีการจำหน่ายในรูปแบบขายเองผ่านงานแฟร์ หรือส่งร้านอาหารและขายส่งพ่อค้าแม่ค้าทั่วไป โดยทุกรูปแบบของการขายเป็นสาหร่ายสดเป็นห ลัก และพบปัญหาการเสื่อมเสียของสาหร่ายระหว่างกระบวนการขนส่งและจำหน่าย การพัฒนาสาหร่ายพวงองุ่นพร้อมบริโภคที่มีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้นในรูปแบบที่สะดวกในการบริโภค สินค้ามีความดึงดูดน่าสนใจ และที่สำคัญคือต้องปลอดภัยและมีคุณค่าสารอาหารจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหาข้างต้น มีรายงานวิจัยที่เกี่ยวกับสาหร่ายพวงองุ่น ได้แก่ การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายพวงองุ่น (Van et al, 2011) คุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติทางชีวภาพของสาหร่ายสีเขียวสกุล *Caulerpa lentilliferac และ Caulerpa racemosa* (Nicholas et al, 2013) ผลของอุณหภูมิของการฉายรังสีต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายพวงองุ่น (Hui et al, 2014) และศึกษาด้านคุณค่าทางโภชนาการรวมถึงการปลูกสาหร่ายพวงอุ่นในภูมิภาคอินโดแปซิฟิก (Clara et al, 2017) เป็นต้น

ดังนั้นงานวิจัยนี้คณะผู้วิจัยมีแนวคิดพัฒนาสาหร่ายพวงองุ่นพร้อมบริโภคในรีทอร์ตเพาซ์ โดยศึกษาสภาวะการฆ่าเชื้อที่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ตามมาตรฐานกำหนด ศึกษาอายุการเก็บ ปริมาณสารอาหารและสารสำคัญต่างๆ การยอมรับของผู้บริโภค ทั้งนี้คาดหวังว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้ซึ่งใช้บรรจุภัณฑ์ที่มีน้ำหนักเบาจะช่วยลดค่าใช้จ่ายในการขนส่งและการจัดเก็บ บรรจุภัณฑ์มีรูปลักษณ์ที่น่าสนใจและดึงดูดใจผู้ซื้อ และมีความปลอดภัยต่อการบริโภค ก็จะทำให้สินค้ามีความน่าเชื่อถือเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศ อีกทั้งยังเป็นการส่งเสริมกลุ่มผู้เพาะเลี้ยงสา หร่าย

พวงองุ่นให้มีรายได้เพิ่มมากขึ้น ผลงานวิจัยในครั้งนี้หวังว่าสาหร่ายพวงองุ่นสามารถมีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้นและยังคงมีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพที่ดี

1. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.1 เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์สาหร่ายพวงองุ่นพร้อมบริโภคบรรจุในรีทอร์ตเพาซ์

1.2 สร้างคุณค่าเพิ่มให้กับสาหร่ายพวงองุ่น โดยการแปรรูปให้มีความปลอดภัยและใช้กระบวนการแปรรูปที่ช่วยรักษาสารอาหารของสาหร่ายพวงองุ่นได้

1.3 สร้างองค์ความรู้เพื่อต่อยอดและพัฒนาเทคโนโลยีในการพัฒนาผลิตภัณฑ์นวัตกรรมอาหารของประเทศไทยให้มีความหลากหลายและเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค

ขอบเขตของโครงการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ต้องการศึกษาการผลิตสาหร่ายพวงองุ่นพร้อมบริโภคบรรจุในรีทอร์ตเพาซ์ โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อความคงตัวของสารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่ายพวงองุ่น และสภาวะการฆ่าเชื้อ จากนั้นศึกษาคุณภาพโดยตรวจสอบคุณภาพด้านกายภาพ เคมีและ จุลชีววิทยาและการทดสอบทางประสาทสัมผัส ด้านอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน ในระหว่างการเก็บรักษาทำการสุ่มตัวอย่างทุก 1 เดือนเพื่อวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ข้อมูลแนวทางการเพิ่มมูลค่าของสาหร่ายพวงองุ่นและการขยายการผลิตสู่เชิงพาณิชย์ โดยได้ผลิตภัณฑ์สาหร่ายพวงองุ่นที่มีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น และผลิตภัณฑ์ยังคงมีสารสำคัญ คุณค่าโภชนาการและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ส่วนผู้เพาะปลูกสาหร่ายมีช่องทางการเพิ่มรายได้จากการทำตลาดได้มากขึ้น

บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม

2.1 สาหร่ายพวงองุ่น

สาหร่ายพวงองุ่น เป็นสาหร่ายทะเลสีเขียว (green algae) หรือมีชื่อสามัญว่า Sea Grapes หรือ Green Caviar มีเม็ดกลมและเป็นช่อคล้ายพวงองุ่น หรือคล้ายไข่ปลาคาร์เวียร์ นอกจากนี้ยังมีชื่อเรียกว่า Lelato, Ararusip, Lato ชาวญี่ปุ่นเรียกสาหร่ายชนิดนี้ว่า umibudo มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Caulerpa lentillifera J. Agardh* เป็นสาหร่ายที่มีการแพร่กระจายอยู่ในเขต tropical และ subtropical พบได้ในประเทศอินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ไทย เวียดนามและญี่ปุ่น นอกจากนี้ยังแพร่กระจาย ไปเขตร้อน ได้แก่ เคนยา มาดากัสการ์ มอริเชียส โมแซมบิก โซมาเลีย อาฟริกาใต้ แทนซาเนียและปาปัวนิวกินี เจริญเติบโตได้ดีในน้ำ ที่มีสารอาหาร สมบูรณ์และมีแสงแดด ในประเทศไทยมีหน่วยงานวิจัยเพาะเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่นเชิงพาณิชย์อยู่ในจังหวัดเพชรบุรี โดยมีราคาจำหน่ายกิโลกรัมละ 300-700 บาทขึ้นกับเกรดของวัตถุดิบ สาหร่ายพวงองุ่นเป็นสาหร่ายที่รับประทานได้ อุดมด้วยแร่ธาตุและวิตามินหลายชนิด ทั้งกรดไขมัน PUFA วิตามินบี 2 วิตามินอี และแร่ ธาตุ ดังตารางที่ 2.1 นอกจากนี้สาหร่าย *C. lentillifera* ยังมีกรดอะมิโน จำเป็นเกือบ 40% ของกรดอะมิโนรวม ซึ่งใกล้เคียงกับในไข่และโปรตีนถั่วเหลือง และมีกรดอะมิโนชนิด aspartic และ glutamic สูงประมาณ 25% ของ ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดทำให้สาหร่ายมีกลิ่นและรสเฉพาะตัว

ตารางที่ 2.1 แสดงคุณค่าทางอาหารของสาหร่าย *C. lentillifera* (Ratana-arporn and Chirapart, 2006)

องค์ประกอบทางเคมี	**มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง**
โปรตีน	12.49
ไขมัน	0.86
เยื่อใย	3.17
เถ้า	24.2
คาร์โบไฮเดรต	59.27
ความชื้น	25.31
แร่ธาตุ	**มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง**
ฟอสฟอรัส	1030
โพแทสเซียม	970
แคลเซียม	780
แมกนีเซียม	630
สังกะสี	2.6
แมงกานีส	7.9
เหล็ก	9.3

	ไมโครกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง
ทองแดง	2200
ไอโอดีน	1424
วิตามิน	**มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง**
E	2.22
C	1.00
Thiamin	0.05
Riboflavin	0.02
Niacin	1.09

2.2 อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radical) คืออะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวหรืออิเล็กตรอนที่ไม่ได้เกี่ยวของกับการเกิดพันธะอย่างน้อย 1 อิเล็กตรอน เกิดขึ้นได้เมื่อพันธะระหว่างอะตอมแตกออก อนุมูลอิสระนั้นไม่เสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลข้างเคียงเพื่อทำให้ตัวเองเสถียรขึ้น ผลที่ตามมาคือโมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ ซึ่งจะเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยความสามารถในการออกซิไดซ์ของสารชีวโมเลกุลในร่างกายสามารถบอกระดับความเป็นพิษของอนุมูลอิสระได้ สารที่มีความสามารถในการออกซิได ซ์ของสารชีวโมเลกุลในร่างกายเรียกว่า Reactive species (RS) ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะอยู่ในรูปของ reactive oxygen species (ROS) และยังพบในรูปของ reactive chlorine species และ reactive nitrogen species โดย ROS นั้นเกิดจากการเผาผลาญอาหาร กระบวนการสร้างพลังงาน การหายใ จระดับเซลล์ รวมไปถึงเกิดขึ้นในกลไกการป้องกันตัวเองของร่างกายจากเชื้อจุลชีพต่างๆ หากร่างกายมีกระบวนการดังกล่าวที่มากเกินไปหรือการที่ร่างกายขาดสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้มีการสะสมของ ROS มากขึ้นและทำให้เกิด 4 ภาวะ oxidative stress ขึ้นได้ ภาวะ oxidative stress นั้นหากเกิดขึ้นในระยะเวลาสั้นๆเพียงชั่วขณะนั้นจะไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพมากนัก แต่หากเกิดภาวะดังกล่าวเป็นเวลานานจะทำให้มีความเสี่ยงที่จะมีผลไป ทำลายเนื้อเยื่อต่างๆ เยื่อหุ้มเซลล์ รวมถึง DNA และจะนำไปสู่โรคในหลายระบบและนำไปสู่ความเสื่อมของอวัยวะต่างๆ (ขวัญใจ, 2552)

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือสารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นด้วยเหตุที่ ROS เกิดขึ้นมาจากกระบวนการต่างๆในการดำรงชีวิต ดังนั้นร่างกายจึงต้องสร้างสารต้านอนุมูล อิสระขึ้นมาเพื่อกำจัดและลดความรุนแรงของ ROS ที่เกิดขึ้นด้วย โดยปกติแล้วการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายนั้นมีอย่างเพียงพอต่อการเกิดอนุมูลอิสระขึ้นภายในร่างกาย แต่หากมีสภาวะผิดปกติในร่างกาย เช่นความเครียด การนอนดึกติดต่อกันนานๆ หรือสภาวะโรคต่างๆ ก็

อาจจะทำให้การสร้างอนุมูลอิสระ เพิ่มขึ้นจนเสียสมดุลระหว่างสารต้านอนุ มูลอิสระและอนุมูลอิสระ เกิดเป็นภาวะ oxidative stress อนุมูลอิสระที่ไม่ได้ถูกกำจัดจะไปทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อทำให้เป็นต้นเหตุของการเกิดโรคต่างๆได้ จะเห็นได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายนั้นมีความสำคัญในการป้องกันการเกิดโรคและความเสื่อมของร่างกายเป็นอย่างมา ก นอกจากการไปจับกับอนุมูลอิสระแล้ว สารต้านอนุมูลอิสระควรจะต้องมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้ร่วมด้วย ป้องกันการเกิดขึ้นของ ROS ได้ สามารถจับกับ ROS ที่เกิดขึ้นก่อนที่ ROS นั้นจะไปทำอันตรายเนื้อเยื่อต่างๆ ต้องไม่เพิ่มความแรงของอนุมูลอิสระหรือไม่เปลี่ยน ROS ที่มีความแรงต่ำไปเป็น ROS ที่มีความแรงสูงเช่นไม่เปลี่ยนจาก super oxide ไปเป็น hydroxyl radical เป็นต้น ทำให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของ antioxidant enzyme หรือสารต้านอนุมูลอิสระตัว อื่นๆ และเพิ่มการแสดงออกของยีนที่ใช้สร้าง antioxidant enzyme และช่วยในการฟื้นฟู ความเสียหายของ เซลล์หรือเนื้อเยื่อจากการถูกทำ ลายด้วยอนุมูลอิสระ (โอชาและคณะ, 2550)

2.2.1 การแบ่งประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดจะมีความแรงที่แตกต่างกัน โดยเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ในหลอดทดลอง แล้วพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความแรงสูง ที่สุดคือสารในกลุ่ม endogenous antioxidant ซึ่งนอกจากจะมีความแข็งแรงสูงแล้วยังสามารถนำไปใช้เพื่อการเปลี่ยนแปลงสารให้เป็นไปตามที่ร่างกายต้องการได้อีกด้วย หรือเรียกอีกอย่างว่า primary antioxidant สารต้านอนุมูลอิสระอีกประเภทหนึ่งมีความแรงรองลงมา โดยสารเหล่านี้ จะพบได้ในเนื้อเยื่อต่างๆ อย่างไรก็ตามสารเหล่านี้ไม่สามารถสร้างขึ้นได้หากในร่างกายเกิดภาวะ oxidative stress ไปแล้ว กลุ่มต่อมาจัดเป็นสารในกลุ่มวิตามิน กรดอะมิโนบางชนิด และ โคเอนไซม์ และกลุ่มสุดท้ายซึ่งมีมากที่สุดประกอบไปด้วยสารทุติยภูมิเช่น ฟลาโวนอยด์ , โพลีฟีนอล และ แคโรทีนอยด์ เป็นต้น โดย 2 กลุ่มสุดท้ายจะเรียกว่า secondary antioxidant (อธิป, 2562)

1) สารต้านออกซิเดชั่นปฐมภูมิ (primary antioxidant)

สารต้านออกซิเดชั่นประเภทนี้สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระโดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเ ล็กตรอนกับอนุมูลอิสระและทำให้ผ ลิตภัณฑ์เกิดความคงตัว สารต้านออกซิเดชั่นกลุ่มนี้ ได้แก่ สารประกอบที่มีหมู่ฟีนอลในโมเลกุล เช่น BHA, BHT, TBHQ, tocopherol และกลุ่ม polyhydroxy phenolic เช่น gallate

2) สารต้านออกซิเดชั่นทุติยภูมิ (secondary antioxidant) และสารต้านออกซิ เดชั่นที่เสริมฤทธิ์กัน (synergistic antioxidant)

สารต้านออกซิเดชั่นทุติยภูมิมีหน้าที่สลายลิพิดเปอร์ออกไซด์ได้เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่มีความคงตัว ส่วน การเสริมฤทธิกัน เป็นการที่ สารนั้นไปเพิ่มหรือเสริมกิจกรรมของการต้านออกซิเดชั่นนอกเหนือจากกิจกรรมการต้านออกซิ เดชั่นของตัวมันเอง ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ๆ คือ ตัวจับออกซิเจนหรือสารรีดิวซ์เช่น กรดแอสคอร์บิก แอสคอร์บิลปาลมิเตท ซัลไฟต์อีริทรอเบท เป็นต้น ตัวจับโลหะเช่น กรดซิตริก โพลฟอสเฟตและกรดแอธิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติก เป็นต้น สารที่เสริมฤทธิ์กันมีกลไกการทำงานหลายอย่าง เช่น ให้ไฮโดรเจนกับอนุมูลฟีนอกซิล โดยการเปลี่ยนรูปสารต้านออกซิเดชั่นปฐมภูมิ ดังนั้นสามารถใช้สารประกอบฟีนอลิกได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆ เมื่อมีการเติมสารเสริมฤทธิ์เข้าไปในผลิตภัณฑ์ด้วย โดยสารเสริมฤทธิ์ที่มีสภาพเป็นกรดปานกลางนั้นจะช่วยให้สารต้านออกซิเดชั่นปฐมภูมิมีความคงตัวมากขึ้น (ขวัญใจ, 2552)

2.2.2 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) หรือสารประกอบฟีนอล เป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ธัญพืช เป็นต้น ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเ ติบโตของพืชนั้นๆ สารประกอบฟีนอลิ กดีต่อสุขภ าพคือ มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และสามารถละลายได้ในน้ำ สารประกอบฟีนอลิ ก มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซิน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่ สารประกอบฟีนอลพื้ นฐาน คือ สารฟีนอล (phenol) ในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่ มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignin) กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoid) สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปขอ งสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) โดยน้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิ ก คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) และพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลิ กด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลิ กกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น

2.2.3 คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll)

คลอโรฟิลล์ รงควัตถุที่มีขนาดเล็กมากและเป็นสารประกอบที่มีสีเขียว สามารถพบได้ในส่วนที่มีสีเขียวของพืช ในสาหร่ายทุกชนิด และในแบคทีเรียบางชนิด คลอโรฟิลล์เป็นสารสีที่สำคัญตัวหนึ่งที่สามารถดูดกลืนพลังงานแสงเพื่อนำมาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (photosynthesis) เพื่อ

เปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ให้กลายเป็นออกซิเจน และกลูโคส ซึ่งเกิดในส่วนที่เรียกว่า คลอโรพลาสของเซลล์พืช โดยโมเลกุลของคลอโรฟิลล์จะติดอยู่กับผนังไทลาคอยด์ของคลอโรฟิลล์ สามารถแบ่งชนิดของคลอโรฟิลล์ได้เป็น 4 ชนิด มีวงแหวนไพรอล 4 วง แต่คลอโรฟิลล์แต่ละชนิดจะมีลักษณะโมเลกุลของโซ่ข้างที่แตกต่างกันไป ได้แก่

1. คลอโรฟิลล์เอ มีสีเขียวแกมน้ำเงินโดยสามารถพบได้ทั่วไปในพืชชั้นสูงทุกชนิดที่สังเคราะห์แสงได้
2. คลอโรฟิลล์บี มีสีเขียวแกมเหลืองพบได้ในพืชชั้นสูงและสาหร่ายสีเขียว
3. คลอโรฟิลล์ซี ไม่พบในพืชชั้นสูง แต่จะพบได้ในสาหร่ายชนิดต่างๆ เช่น สาหร่ายสีน้ำตาลและสีทอง
4. คลอโรฟิลล์ดี ไม่พบในพืชชั้นสูงเช่นกัน แต่จะพบได้ในสาหร่ายสีแดง รวมทั้งแบคทีเรียที่สังเคราะห์แสงได้

คลอโรฟิลล์เป็นสารประกอบออกฤทธิทางชีวภาพที่มีประโยชน์ พบได้ในผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในชีวิตประจำวัน ไม่เพียงแต่ใช้ในด้านเภสัชกรรมหรือผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง แต่ยังใช้เป็นสีผสมอาหารที่ได้จากธรรมชาติอีกด้วย อีกทั้งยังมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ การนำคลอโรฟิลล์มาเป็นอาหารเสริมจะอยู่ในรูปของคลอโรฟิลล์ลิน ซึ่งจัดเป็นอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์ โดยมีทองแดงเข้าไปแทนที่แมกนีเซียมในโครงสร้างเพื่อทำให้สามารถละลายน้ำได้และสามารถป้องกันไม่ให้สารก่อมะเร็งอย่างอะฟลาท็อกซินมาทำลายดีเอ็นเอได้ (ขวัญชนก, 2014)

2.3 มาตรฐานอาหารในภาชนะที่ปิดสนิท

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 355 พ.ศ.2556 กำหนดอาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท หมายถึง อาหารที่ผ่านกรรมวิธีที่ใช้ทำลายหรือยับยั้งการขยายพันธุ์ของจุลินทรีย์ด้วยความร้อนภายหลังหรือก่อนการบรรจุหรือปิดผนึก ซึ่งเก็บรักษาไว้ในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทที่เป็นโลหะหรือวัตถุอื่นที่คงรูปที่สามารถป้องกันมิให้อากาศภายนอกเข้าไปในภาชนะบรรจุได้ และสามารถเก็บรักษาไว้ได้ในอุณหภูมิปกติ หรือ อาหารในภาชนะบรรจุชนิดลามิเนต (laminate) ฉาบ เคลือบ อัดหรือติดด้วยโลหะหรือสิ่งอื่นใด ซึ่งสามารถป้องกันมิให้ความชื้นหรืออากาศผ่านซึมเข้าภายในภาชนะบรรจุได้ในภาวะปกติ และสามารถเก็บรักษาไว้ได้ในอุณหภูมิปกติ โดยอาหารในภาชนะบรรจุปิดสนิท ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังนี้

1) ไม่มีสี กลิ่น รส ที่ผิดไปจากปกติของอาหารนั้น

2) จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค โดยในอาหารสำเร็จรูปพร้อมบริโภค ไม่พบแซลโมเนลลา ใน 25 กรัม และไม่พบสแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส 0.1 ใน 1 กรัม (cfu/g)
3) ไม่มีสารพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ
4) สารปนเปื้อนในอาหารในภาชนะบรรจุที่ไม่เป็นโลหะ
   - ตะกั่ว ไม่เกิน 1 มก./กก. เว้นแต่อาหารที่มีตะกั่วปนเปื้อนตามธรรมชาติในปริมาณสูงให้มีได้ตามที่ได้รับเห็นชอบจากสำนักงานกรรมการอาหารและยา
   - สารหนู ไม่เกิน 2 มก./กก
   - ปรอท ไม่เกิน 0.5 มก./กก.สำหรับอาหารทะเลและไม่เกิน 0.02 มก./กก สำหรับอาหารอื่น
5) อาหารที่ผ่านกรรมวิธีให้ความร้อนภายหลังการบรรจุแล้วต้องไม่มีวัตถุกันเสีย
6) อาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ (pH > 4.6) และค่า a_w > 0.85 ต้องไม่มีจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิปกติ
7) อาหารที่มีความเป็นกรดด่าง < 4.6 ตรวจพบจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้คือ ไม่เกิน 1000 ต่ออาหาร 1 กรัม ตรวจพบยีสต์และราไม่เกิน 100 ต่ออาหาร 1 กรัม และไม่พบแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์ม หรือชนิดโคลิฟอร์มน้อยกว่า 3 ต่ออาหาร 1 กรัมโดยวิธี MPN
8) ผู้ผลิตอาหารชนิดที่มีความเป็นกรดต่ำ (pH > 4.6) และค่า a_w > 0.85 ต้องดำเนินการอย่างใดอย่างหนึ่งดังต่อไปนี้

8.1) ฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาที่กำหนด (scheduled process) โดยให้ค่า Fo (sterilizing value) ไม่ต่ำกว่า 3 นาที ซึ่งเพียงพอในการทำลายสปอร์ของเชื้อคลอสทริเดียมโบทูลินั่ม ทั้งนี้อุณหภูมิและเวล าที่กำหนดจะต้องมีการศึกษาทดสอบการกระจายความร้อนหรืออุณหภูมิภายในเครื่องฆ่าเชื้อและอัตราการแทรกผ่านความร้อนที่สภาวะเดียวกับผลิตภัณฑ์จริง ซึ่งศึกษาโดยผู้กำหนดกระบวนการฆ่าเชื้อ (process authority)

8.2) เติมกรดเพื่อปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างของอาหาร ไม่เกิน 4.6

2.4 บรรจุภัณฑ์ชนิดอ่อนตัว (retort pouch) (สถาบันอาหาร, 2547)

บรรจุภัณฑ์ชนิดอ่อนตัวประกอบด้วยวัสดุ เช่น พลาสติก อะลูมีเนียม วัสดุเชื่อมประสานตั้งแต่ 2 ชั้นขึ้นไป เพื่อใช้ในการบรรจุอาหารวัสดุเหล่านี้มีคุณสมบัติสามารถทนความร้อนและความดันในระหว่างการฆ่าเชื้อได้เช่นเดียวกับกระป๋อง อีกทั้งสามารถเก็บรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้นานตั้งแต่ 6 เดือน จนถึง 2 ปี ณ อุณหภูมิห้อง

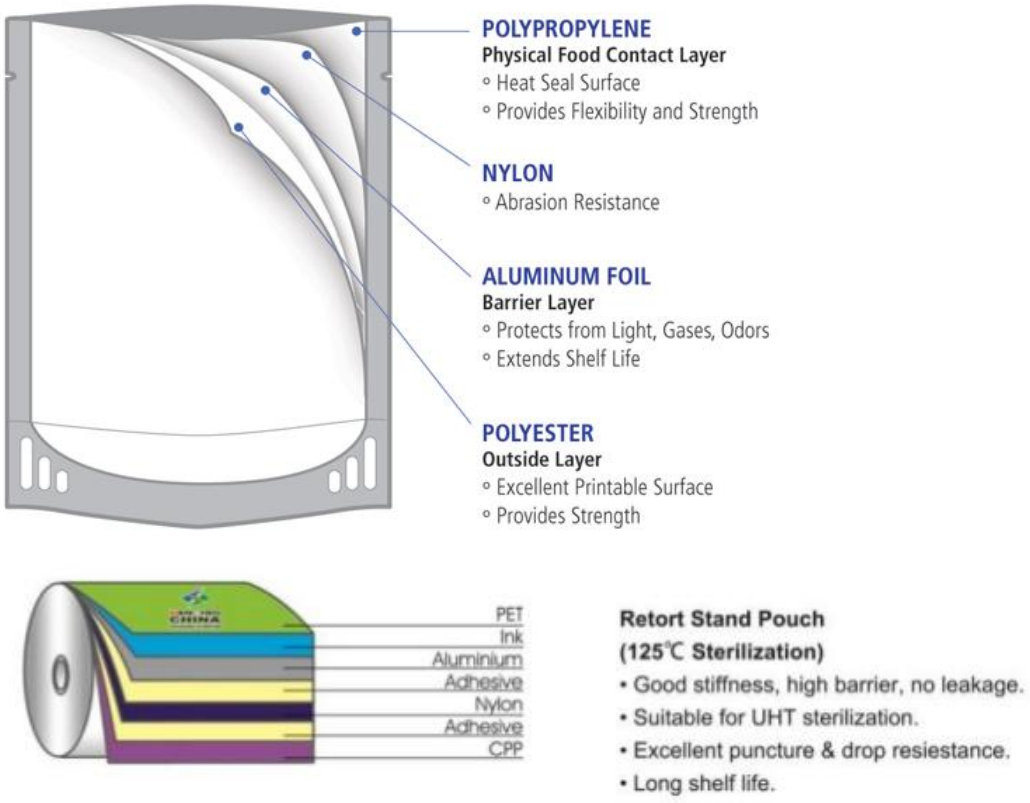
2.4.1 วัสดุและรูปแบบ

บรรจุภัณฑ์อ่อนตัว ชนิด retort pouch ที่ใช้สำหรับ บรรจุอาหารและผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันสูงเป็นพลาสติกหลายชนิดมาประ กอบกันด้วยการเชื่อมประสานกันด้วยกาวหรือเป็นแผ่นฟิล์มรีดร่วมกัน โครงสร้างหลักของ retort pouch ประกอบด้วย ชั้นของฟิล์มพลาสติกฟอยล์หรือวัสดุที่มีคุณสมบัติป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจน แสงสว่าง ความชื้น และชั้นปิดผนึก (sealant) จากโครงสร้างเหล่านี้นอกจากจะ ทำให้มีสมบัติในการปก ป้องคุ้มครองสินค้าและยืดอายุการเก็บแล้ว retort pouch ยังสะดวกต่อการใช้งานเพิ่มคุณค่าของสินค้าในด้านการช่วยลดเวลาการปรุงอาหาร ลดการใช้วัสดุบรรจุภัณฑ์ อย่างไรก็ตามมีข้อควรระวังในการใช้ retort pouch โดยเฉพาะการรั่วอันเนื่องจากการปิดผนึกที่ไม่ส มบรูณ์ซึ่งเป็นสาเหตุ ทำให้เกิดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นจึงต้องมีการป้องกันหรือตรวจสอบให้มั่นใจก่อนการลำเลียงขนส่ง

ถุงฆ่าเชื้อด้วยความร้อนมีทั้งประเภททึบใส ซึ่งมีโครงสร้างทั่วไปเป็นพลาสติก 3 ชั้น เชื่อมประสานกันชั้นนอกจะเป็นชั้นที่เหนียวทนต่อ การขีดข่วน ชั้นกลางเป็นชั้นที่ปูองกันการซึมผ่านของออกซิเจนและชั้นในเป็นชั้นที่มีสมบัติที่ปิดผนึกด้วยความร้อนได้และสามารถสัมผัสอาหารได้โดยปลอดภัย วัสดุที่ใช้ทำ retort pouch โดยทั่วไปมักประกอบด้วย polyester (PET)/aluminium foil/modified polyolein หรือ modified polyamide (nylon 6) หรือ cast polypropylene โดยพลาสติกแต่ละชั้นจะเชื่อมติดกันด้วยกาวที่ทนต่อสภาวะความดันของหม้อฆ่าเชื้อได้ดี กาวที่ใช้เป็นพวก polyester isocyanate (toluene diisocyanate) การจะใช้วัสดุชนิดใดนั้นขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของอาหารที่บรรจุ เช่น ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ ควรใช้โพลีเอสเทอร์ป้องกันการซึมผ่านของไขมัน เป็นต้น

ตัวอย่างโครงสร้าง retort pouch ที่ใช้กัน ได้แก่

- 3 ชั้น : polyester/aluminium foil/modified polyolefin
- 3 ชั้น : polyester/aluminium foil/cast polypropylene
- 2 ชั้น : modified polyamide/cast polypropylene
- 4 ชั้น: polyester/aluminium foil/modified polyamide/cast polypropylene



รูปแบบของ retort pouch อาจเป็นซองสี่เหลี่ยมแบน ปิดผนึกทั้ง 4 ด้าน มีความหนาของตะเข็บ 3/8 นิ้วขึ้นไป หรือเป็นแบบมีส่วนขยายที่ก้นถุง (gusset) เพื่อให้ตั้งได้ นอกจากนั้นยังมีการพัฒนาเป็นลักษณะของถาดหรือถ้วยขนาดบรรจุมีน้ำหนักตั้งแต่ 80 ถึง 2,000 กรัมหรือมิลลิลิตร

2.4.2 ข้อดีข้อเสียของ retort pouch

ข้อดีของ retort pouch

1) เหมาะสำหรับอาหารที่เป็นของเหลว ชิ้นส่วนอ่อนนุ่ม

2) ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อสั้นกว่าเวลาในการฆ่าเชื้อกระป๋องถึง 3 เท่า ในภาชนะบรรจุขนาดเดียวกัน ทำให้อาหรคงคุณค่าโภชนาการไว้ได้มากกว่า

3) ประหยัดพลังงานในการผลิต

4) ลดเนื้อที่ในการเก็บรักษา

5) ไม่มีปัญหาในการสึกกร่อน

6) อายุการเก็บรักษาเทียบเท่าอาหารกระป๋อง

7) น้ำหนักเบาง่ายต่อการขนส่ง และการกำจัดทิ้ง

8) สะดวกในการบริโภค เปิดง่าย และปลอดภัย

9) ประหยัดวัสดุที่ใช้ผลิตบรรจุภัณฑ์

10) สะดวกในการพิมพ์ลวดลาย ฉลากให้สวยงาม

11) เหมาะกับการส่งเสริมตลาดในรูป multipacks

ข้อเสียของ retort pouch

1) การลงทุนเบื้องต้นสูง เครื่องมือมีราคาแพงมาก อัตราการผลิตของถุงค่อนข้างต่ำกว่าการผลิตกระป๋อง

2) การผลิตยุ่งยากและต้องควบคุมอย่างดี

3) มีอัตราการสูญเสียสูงกว่า เนื่องจากการแตก การกระแทกระหว่างการขนถ่ายและขนส่ง

2.5 การผลิตอาหารบรรจุในรีทอร์ตเพาซ์

การศึกษาข้อมูลด้า นการผลิตอาหารไทยและต่างประเทศบรรจุในรีทอร์ตเพาซ์ พบว่า มีการวิจัยและพัฒนาเป็นจำนวนมาก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอาหารในรูปแบบบรรจุภัณฑ์ประเภทนี้กำลังได้รับความสนใจสูง โดยมีรายละเอียดดังนี้

ดนุพล (2549) ผลิตห่อหมกพร้อมบริโภคในบรรจุภัณฑ์อ่อนตัว ฆ่าเชื้อที่ 116 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที ค่า F_0 เท่ากับ 8.71 นาที สามารถเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้องได้นาน 6 สัปดาห์

วรพร (2554) ผลิตน้ำข้าวยำบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ ฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที สามารถเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้องได้นาน 8 สัปดาห์

พฤกษา (2559) ผลิตปลาทูต้มเค็มในบรรจุภัณฑ์รีทอร์ตเพาซ์ ฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 30, 40, 50นาที มีค่า F_0 เท่ากับ 7.7, 8.8 และ 12.1 นาที ตามลำดับ เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 วันตรวจไม่พบจุลินทรีย์ทั้งหมดในทุกระดับการฆ่าเชื้อ และได้รับการยอมรับความชอบทุกด้านจากผู้ทดสอบ

สิทธิบัตรเลขที่ CN106071700A พัฒนาข้าวพร้อมบริโภคซอสถั่วเหลือง โดยนำข้าวและส่วนผสมต่างๆ มาผัดก่อนนำไปบรรจุลงซองรีทอร์ทเพาซ์ก่อนนำไปฆ่าเชื้อที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 นาที

สิทธิบัตรเลขที่ US20070134401A1 พัฒนาโจ๊กถั่วแดง โดยทำการต้มถั่วแดงและส่วนผสมอื่นๆ ให้สุก ก่อนนำไปบรรจุในถุงรีทอร์ตเพาซ์ นำไปสเตอลิไลซ์ที่ 110-125° C เป็นเวลา 25-35 นาที

Clark et al. (2002) เตรียมลูกแพร์ในน้ำเชื่อมหั่นชิ้นบรรจุในรีทอร์ตเพาซ์ โดยน้ำลูกแพร์มาเติมน้ำตาล วิตามินซีและกรดซิตริกเพื่อปรับบริกซ์และ pH ก่อนบรรจุและปิดสนิท นำไปสเตอริไลซ์ในรีทอร์ทตามกระบวนการที่กำหนด

Potter, Tung and Kitson (1982) พบว่าแพร์หั่นชิ้นที่บรรจุและผ่านการฆ่าเชื้อในรีทอร์ตเพาซ์ให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ดีกว่าแพร์หั่นชิ้นที่ฆ่าเชื้อในกระป๋อง

บทที่ 3 วัตถุดิบ และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

- สาหร่ายพวงองุ่น จัดหาโดยซื้อจากโชคมนัสฟาร์ม จังหวัดเพชรบุรี
- เกลือ ตราปรุงทิพย์
- น้ำสะอาด

3.1.2 สารเคมี

- Methanol (Analytical grade, Dae Jung, Dae Jung chemicals & metals Co., Ltd, Korea)

- Hydrochloric acid (Analytical grade, Univar, Ajax Finechem Pty Ltd, New Zealand)

- Petroleum ether (Analytical grade, J.T. Baker, U.S.A.)

- Acetic acid (Analytical grade, J.T. Baker, China)

- Acetone (Analytical grade, Burdick&Jackson, SK. Chemicals, Korea)

- DPPH (Sigma-Aldrich, U.S.A.)

- Ethanol (commercial grade)

- Folin-ciocalteu (Analytical grade, Carlo Erba Reagenti, Saudi Arabia)

- Gallic acid (Analytical grade, Fluka, Spain)

- Hydrochloric acid (Analytical grade, Univar, Ajax Finechem Pty Ltd, New Zealand)

- Potassium chloride (Analytical grade, Qrec, New Zealand)

- Sodium acetate (Analytical grade, Carlo Erba Reagenti, Saudi Arabia)

- Sodium carbonate (Analytical grade, Univar, Ajax Finechem Pty Ltd, New Zealand)

- Sodium hydroxide (Analytical grade, Univar, Ajax Finechem Pty Ltd, New Zealand)

- Trolox (Sigma-Aldrich, U.S.A.)

3.1.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

- Autopipette (Pipet-Lite XLS, Rainin, Mettler Toledo, Switzerland)

- เครื่องกวนสารละลายพร้อมเตาให้ความร้อน (MSH-20D, Daihan Scientific Co.,Ltd., Korea)

- เครื่องเขย่า (Hotech 902, Gallenkamp, บริษัท ไทยโพลี่เมดิค จำกัด, ประเทศไทย)

- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (ML204/01, Mettler Toledo, Switzerland)

- เครื่องชั่งทศยินม 2 ตำแหน่ง (Zepper)

- เครื่องชั่งวิเคราะห์ความละเอียด 5 ตำแหน่ง (MS105DU, Mettler Toledo, Switzerland)

- เครื่องเซนตริฟิวส์ รุ่น D-37520 osterrode ยี่ห้อ ThermoFisher Sciencetific, Germany

- เครื่องวัด pH (Five Easy plus, Mettler Toledo, Switzerland)

- เครื่องวัดค่าสี (Color Difference Meter รุ่น ColorFlex E2, บริษัท Hunter Lab, USA)

- เครื่องวิเคราะห์การดูดกลืนแสงในไมโครเพลท (Multiskan Go, Thermo scientific, N.Y.R.Limited partnership, United Kingdom)

- เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (TA-XT plus, United Kingdom)

- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (M-LAB, Metrology Technical Co., Ltd, ประเทศไทย)

- อุปกรณ์เครื่องแก้ว

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างสาหร่ายพวงองุ่น

นำสาหร่ายพวง องุ่นมาล้างน้ำเปล่าให้สะอาด จนสาหร่าย พวงองุ่น หมดกลิ่นคาว วางผึ่งบนตะแกรงให้สะเด็ดน้ำ ก่อนนำไปทำการทดลอง

3.2.2 การหาสภาวะการฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์

นำสาหร่ายพวงองุ่นที่ล้างทำความสะอาดแล้วมา บรรจุใส่ถุงรีทอร์ทเพาซ์จำน วน 100 กรัม จากนั้นเตรียมน้ำเกลือความเข้มข้น 10% ที่ pH 2 ระดับ คือ pH > 4.6 และ pH < 4.6 นำไปต้มให้เดือด จากนั้นเติมในถุงที่บรรจุสาหร่าย ปริมาณ 200 มิลลิลิตร โดยบรรจุน้ำเกลือขณะร้อน จากนั้น ปิด

ปากถุงให้เรียบร้อย นำไป ฆ่าเชื้อในหม้อแรงดันสูงเป็นเวลา ที่อุณหภูมิ 115 และ 121 องศาเซลเซียส เพื่อหาค่า F_0 ของผลิตภัณฑ์

3.2.3 การศึกษาอายุการเก็บผลิตภัณฑ์สาหร่ายพวงองุ่นบรรจุในถุงรีทอร์ทเพาซ์

นำสาหร่ายพวงองุ่นที่ล้างทำความสะอาดแล้วมา บรรจุใส่ถุงรีทอร์ทเพาซ์จำนวน 100 กรัม จากนั้นเตรียมน้ำเกลือความเข้มข้น 10% โดยไม่ต้องปรับ pH (pH ประมาณ 6-7) เติมขณะร้อน ปริมาณ 200 มิลลิลิตร ก่อนนำไปฆ่าเชื้อที่ 115°C และ 121 °C เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำมาเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 เดือน และทำการตรวจค่าคุณภาพสาหร่ายทุกๆ 2 สัปดาห์

3.2.4 การศึกษาคุณภาพของสาหร่ายพวงองุ่น

ในการวิเคราะห์คุณภาพ สาหร่ายพวงองุ่น หลังจากสุ่มตัวอย่างที่ระยะเวลาต่างๆ ออกมาแล้ว ให้นำสาหร่ายมาล้างด้วยน้ำสะอาดหลายๆครั้ง จนเหลือความเค็มน้อยที่สุด จากนั้นแช่ในน้ำเย็นจัด เพื่อให้สาหร่ายมีการคืนสภาพของเม็ด ก่อนนำไปวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้

3.2.4.1 การวิเคราะห์ค่าสี

วัดสีของสาหร่ายพวงองุ่นโดยใช้เครื่อง Hunter colorimeter รุ่น colorFlex EZ ซึ่งจะแสดง 3 ค่า คือ L* a* และ b* โดย L* คือ ค่าความสว่าง ถ้าค่า L* มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึงวัตถุมีสีทึบ ถ้าค่า L* มีค่าเข้าใกล้ 100 หมายถึงวัตถุมีสีสว่าง ส่วน a* คือ ค่าที่แสดงถึงสีแดงและสี เขียว ถ้าค่า a* เป็นบวก (+) วัตถุมีสีออกแดง แต่ถ้าค่า a* เป็นลบ (-) วัตถุมีสีออกเขียว และ b* คือ ค่าที่แสดงถึงสีเหลืองและสีน้าเงิน ถ้าค่า b* เป็นบวก (+) วัตถุมีสีออกเหลือง แต่ถ้าค่า b* เป็นลบ (-) วัตถุมีสีออกน้ำเงิน

3.2.4.2 การวิเคราะห์ค่าเนื้อสัมผัส

วิเคราะห์เนื้อสัมผัสโดยใช้เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analyzer) ทำการวัดความแน่นเนื้อ (firmness) โดยวางสาหร่ายพวงองุ่นเส้นขนาดเท่าๆกัน จำนวน 3 เส้นเรียงกัน ทำการกดด้วยหัวกดที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางยาว 10 เซนติเมตร ความเร็วของหัวกด (test speed) 30 มิลลิเมตรต่อนาที กดลงไปเป็นระยะทาง 10 มิลลิเมตร (ร้อยละ 70 ของความสูงของตัวอย่าง) ทำการวัดค่า อย่างน้อย 5 ซ้ำ

3.2.4.3 การวิเคราะห์ค่า pH

นำน้ำเกลือภายในถุงรีทอร์ทเพาซ์ไปวัดค่าความเป็นกรดด่างด้วยเครื่องวัด pH

3.2.4.3 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

การเตรียมตัวอย่าง : นำสาหร่ายพวงองุ่น ที่ล้างสะอาดแล้ว จำนวน 100 กรัมมาบดจนสารภายในแตกออกมา จากนั้นเติมเมทานอลปริมาณ 200 มิลลิลิตรลงไป นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และแยกส่วนใสออกจากตะกอน นำส่วนใสที่ได้บรรจุใส่ขวดสีชาเพื่อป้องกันแสง และเก็บที่อุณหภูมิ 4°C ตลอดการวิเคราะห์

- **การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic) โดยวิธี Folin- ciocalteu**
  (ดัดแปลงจาก Singleton และ Rossi, 1965)

ปิเปตสารสกัด ปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 0.2 มิลลิลิตร และ Folin-Ciocalteu 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที เติมสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 2% 1 มิลลิลิตรปิเปตสารผสมลงในไมโครเพลท 300 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตรนำไปวัดด้วยเครื่อง Microplate reader (UV-Vis) รุ่น MULTISKAN GO โดยใช้น้ำกลั่นเป็น Blank แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ gallic acid (0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ppm) และคำนวณความเข้มข้นในรูปของมิลลิกรัม gallic acid equivalent (GAE) ต่อกรัมตัวอย่าง

- **การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH**

นำสารสกัดมาทดสอบความสามารถในการลดปริมาณสารอนุมูลอิสระชนิด 1,1-diphenl-2-picrylhydrazyl (DPPH) โดยนำสารสกัด 200 ไมโครลิตร ผสมกับ DPPH solution (5.9 มิลลิกรัม DPPH ละลายใน absolute methanol 100 มิลลิลิตร) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นปิเปตสารผสมลงในไมโครเพลท 300 ไมโครลิตร นำมาวัดค่าความสามารถในการดูดกลืนแสงของสาร DPPH ที่เหลือ ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร นำไปวัดด้วยเครื่อง Microplate reader (UV-Vis) รุ่น MULTISKAN GO โดยใช้เมทานอลเป็น Blank แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Trolox และคำนวณความเข้มข้นในรูปของมิลลิกรัม trolox ต่อกรัมตัวอย่าง การเตรียมสารมาตรฐานทำโดยชั่ง Trolox 0.25 มิลลิกรัม นำมาละลายในเมทานอลแล้วปรับปริมาตรให้เท่ากับ 10 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้สารมาตรฐาน Trolox ที่มีความเข้มข้น 25 ppm จากนั้นนำมาเจือจางให้เป็นสารละลายที่มีความเข้มข้น 5 10 15 และ 20 ppm ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร

- **การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบี (Chlorophyll a & b content)**

นำตัวอย่าง 300 ไมโครลิตรใส่ลงถาดไมโครเพลท จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 645 และ 663 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้มาแทนที่ในสมการ

Chlorophyll a = [(12.7*E) -(2.69*F)] *V/1000*G

Chlorophyll b = [(22.9*F) -(4.68*E)] *V/1000*G

E = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 663 นาโนเมตร

F = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 645 นาโนเมตร

V = ปริมาณตัวอย่าง (µL)

G = น้ำหนักตัวอย่าง (g)

3.2.4.5 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่น

- **การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน**

1. อบ extraction cup สำหรับหาปริมาณไขมัน ซึ่งมีขนาดบรรจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 105 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งติดกัน 2 ครั้งไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

2. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักประมาณ 2 กรัม ห่อให้มิดชิด แล้วใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยสำลีเพื่อให้สารตัวทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ

3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในซอคเลต เติมสารตัวทำละลาย ปิโตรเลียมอีเทอร์ลงใน extraction cup ประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตาให้ความร้อน

4. ทำการสกัดจนครบ 10 syphon โดยปรับเตาให้ความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที

5. เมื่อครบ 10 syphon นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอคเลต และนำไประเหยปิโตรเลียมอีเทอร์บนอ่างไอน้ำร้อน

6. นำ extraction cup ไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนแห้ง ใช้เวลาประมาณ 30 นาที นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของ extraction cup ลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก ทำ ซ้ำเช่นเดิมจนกระทั่งผลต่างของน้ำหนัก 2 ครั้ง ติดต่อกัน ไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

7. คำนวณหาปริมาณไขมันจากสูตร ปริมาณไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก) = (W_2 x 100) / W_1 โดยW_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม) และ W_2 คือ น้ำหนักไขมันหลังอบ (กรัม)

- **การวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธี Kjeldahl Method**

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 2 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน

2. เติมตัวเร่ง (catalyst) ระหว่าง $CuSo_4$ กับ K_2SO_4 ($CuSo_4$ 0.5 กรัม และ K_2SO_4 5 กรัม)

3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร (ค่อย ๆ ไหลตามข้างขวด) เขย่าเบา ๆ จนไม่จนกันเป็นก้อน ปิดปากขวดด้วยกระเปราะแก้วกลม

4. ย่อยบนอุปกรณ์ให้ความร้อนจนได้สารละลายสีเขียวใส

5. ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น

6. จัดอุปกรณ์กลั่น โดยเตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมอินดิเคเตอร์ 2 หยด จากนั้นนำไปไว้ในเครื่องกลั่น เพื่อรองรับแอมโมเนีย

7. นำหลอดย่อยโปรตีนที่มีสีเขียนใสส่เครื่องกลั่น และทำการกลั่น

9. ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้น 0.1 M สังเกตสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีใสเป็นสีชมพูอ่อน จนปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้

10. ทำ blank โดยใส่สารเคมีและขั้นตอนการวิเคราะห์เช่นเดียวกับตัวอย่าง แต่ไม่ใส่ตัวอย่าง

11. คำนวณปริมาณโปรตีนได้จากสูตร

$$\text{ปริมาณโปรตีน(ร้อยละ)} = \frac{14.007\ N \times (A-B) \times F}{W}$$

โดย A = ปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับตัวอย่าง

B = ปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับ blank

W = น้ำหนักตัวอย่าง

N = ความเข้มข้นของกรดไอโดรคลอริก (นอร์มอล)

F = แฟกเตอร์เท่ากับ 6.25

- **การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า**

1. เผาครูซิเบิลเพื่อหาน้ำหนักที่แน่นอน

2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ใส่ครูซิเบิล นำไปเผาบนเตาไฟฟ้าจนหมดควัน

3. นำไปเผาต่อในเครื่องเผาอุณหภูมิ สูง (Muffle furnace) ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ข้ามคืนจนกระทั่งได้เถ้าสีขาวหรือสีเทา

4. นำมาใส่ในเดซิเคเตอร์ ทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วนำไปชั่ง เผาตัวอย่างซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนกว่าน้ำหนักต่างกันไม่เกิน 1 มิลลิกรัม

5. คำนวณหาปริมาณเถ้าได้จากสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้า(ร้อยละของน้ำหนัก)} = \frac{(W_2-W_1) \times 100}{(W_1-W)}$$

โดย W = น้ำหนักของครูซิเบิล (กรัม)

W_1 = น้ำหนักของครูซิเบิลและตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)

W_2 = น้ำหนักของครูซิเบิลและตัวอย่างหลังเผาจนน้ำหนักคงที่ (กรัม)

- **การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยอาหาร (Dietary Fiber)**

ชั่งตัวอย่างหนัก 0.5 ± 0.005 กรัม (2 ซ้ำ) ใส่บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6 ปริมาตร 25 ml ในแต่ละซ้ำ เติมเอนไซม์ α-amylase ที่ทนความร้อน 50 µL กวนด้วยความเร็วที่ต่ำ ปิดฝาบีกเกอร์ด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ และบ่มในน้ำที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 15 นาที นำบีกเกอร์ออกจากอ่างบ่มและลดอุณหภูมิลงถึง 60 องศาเซลเซียส เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.275 N ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์โปรตีเอส 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละบีกเกอร์ ปิดด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์และบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 30 นาที นำบีกเกอร์ออกจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ เติม 0.325 N HCl ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เพื่อปรับ pH ให้เป็น 4.5 (4.1-4.6) เติมเอนไซม์ amyloglucosidase 50 ไมโครลิตร ปิดด้วยอะลูนิเนียมฟอยล์และบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 30 นาที จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้มา centrifuge 10000 rpm 10 นาที นำส่วนของแข็งนำมาล้างต่อด้วย 95% ethanol ปริมาตร 10 มิลลิลิตร centrifuge และนำส่วนของแข็งมาล้างต่อด้วย acetone ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำตัวอย่างมา centrifuge เพื่อแยกเอาส่วนของแข็งที่ได้มาอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ให้ได้น้ำหนักคงที่ และคำนวณปริมาณ Total dietary fiber (%) ได้จากสูตร ดังนี้

$$\text{Total dietary fiber (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักสุดท้ายหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

3.2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลคุณลักษณะทางภาพเคมีของสาหร่ายพวงองุ่น จะวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) โดยทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่ม

โดยตลอด (Completely randomized design: CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan’s New Multiple Rang Test (DMRT) และ t-test

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

ตอนที่ 1 การศึกษาผลของสภาวะการให้ความร้อนสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ต่อคุณภาพสาหร่าย

4.1 การศึกษาผลของสภาวะการให้ความร้อนเพื่อให้ผลิตภัณฑ์ปลอดเชื้อ

ในการหาสภาวะที่ เหมาะสมสำหรับการผลิตสาหร่ายพวงองุ่นบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ ได้ทำการเตรียมน้ำเกลือ 10% และปรับ pH เป็น 2 ระดับ (pH>4.6 และ pH<4.6) นำไปเข้าหม้อฆ่าเชื้อภายใต้แรงดัน ที่ 2 ระดับอุณหภูมิ คือ ที่ 121°C และที่เวลา 115°C เป็นเวลา 20 นาที พบว่าที่ทั้ง 2 สภาวะได้ค่า F_0 (sterilizing value) แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ค่า F_0 ของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์เมื่อผ่านการให้ความร้อนด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ

pH น้ำเกลือ	อุณหภูมิฆ่าเชื้อ (°C)	F_0 (นาที)
4.3	121	27.73
7.5	121	26.93
4.3	115	17.65
7.5	115	16.82

จากผลข้างต้นแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อเป็นไปตามเกณฑ์ตามที่กฎหมายกำหนด โดยกฎหมายกำหนดให้ค่า F_0 ไม่ต่ำกว่า 3 นาที ซึ่งเพียงพอในการทำลายสปอร์ของเชื้อคลอสทริเดียม โบทูลินั่ม สำหรับอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ (pH > 4.6)

4.2 การศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์สาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์

เมื่อนำสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อในข้อ 4.1 มาศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ในด้านเคมีกายภาพ และจุลินทรีย์ ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.2 และ 4.3 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 ค่าคุณภาพด้านสี เนื้อสัมผัส และความเป็นกรดด่าง ของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือ บรรจุถุงรีทอร์ทเพาช์หลังผ่านการให้ความร้อน

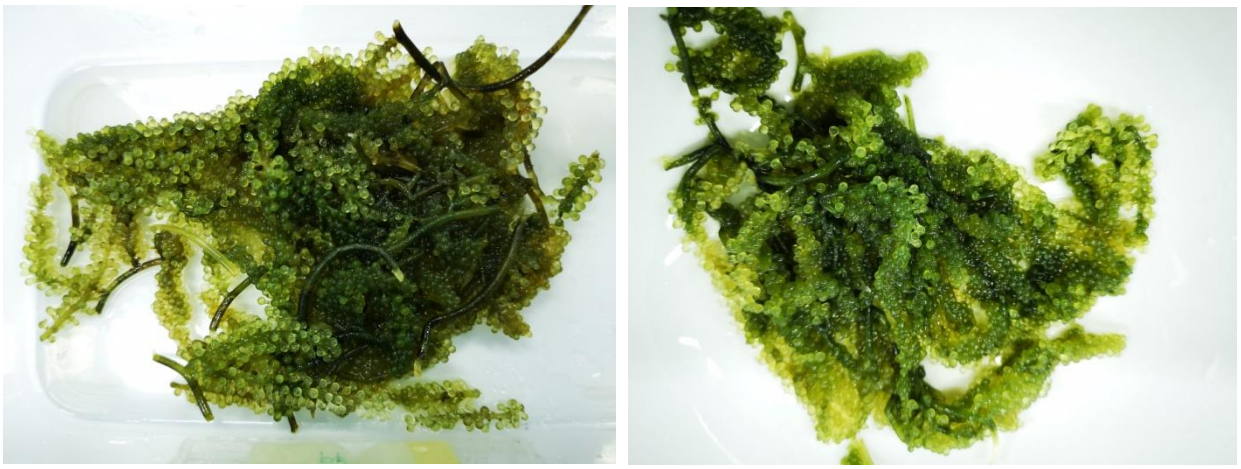
pH / Temp. (°C)	ค่าสี			Firmness (g)	pH
	L*	a*	b*		
4.37/121	20.03^{a}±0.25	0.66^{d}±0.15	10.00^{a}±0.65	53.82^{b}±6.96	4.74^{b}±0.08
7.72/121	17.02^{b}±0.43	5.08^{a}±0.32	9.71^{b}±0.62	58.75^{b}±5.15	6.53^{a}±0.11
4.37/115	19.50^{a}±1.50	1.07^{c}±0.21	9.83^{ab}±1.31	55.27^{b}±7.17	4.74^{b}±0.08
7.72/115	14.67^{c}±1.19	1.96^{b}±0.33	9.60^{b}±2.11	73.65^{a}±7.54	6.53^{a}±0.11

ค่าในตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการวัดค่า 3 ซ้ำ

$^{a-b}$ หมายถึง ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

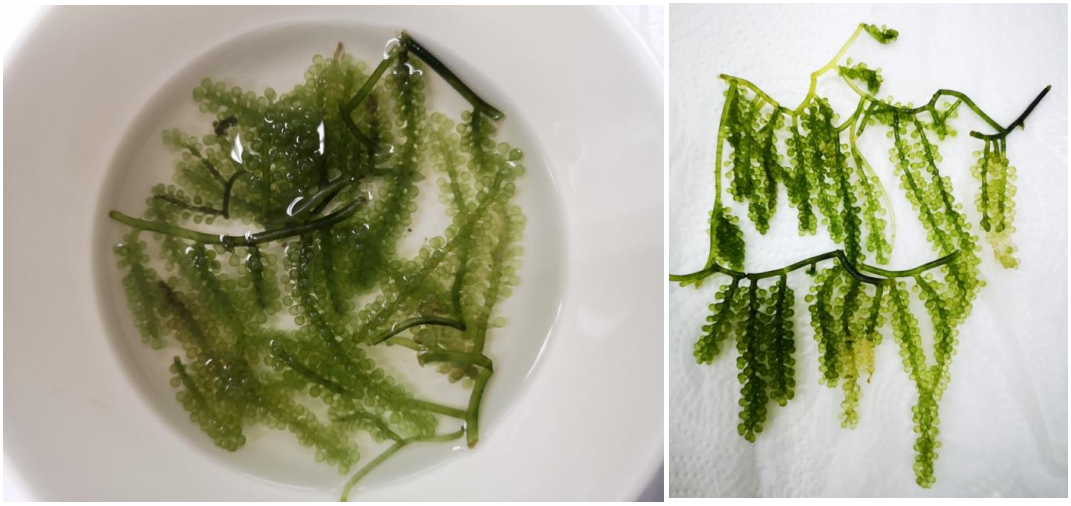
ตัวอย่างสาหร่ายพวงองุ่นสด (รูปที่ 4.1) มีลักณะเขียวสด มีความเต่งของเม็ดสาหร่าย เมื่อนำไปบรรจุในน้ำเกลือความเข้มข้น 10% และนำมาผ่านก ารให้ความร้อนสีและลักษณะของเนื้อสัมผัสจะเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน โดยตัวอย่างที่ปรับกรด (pH 4.37) สีจะเปลี่ยนจากเขียวเป็นสีเขียว ออกน้ำตาล เม็ดสาหร่ายมีความเหี่ยวลีบลง (รูปที่ 4.2-4.3) และเมื่อนำมาล้างน้ำเกลือและแช่ในน้ำเย็นก่อนการบริโภค เม็ดสาหร่ายจะคืนตัวกลั บมาเต่งคล้ายกับสภาพสด รูปที่ 4.4-4.5) เมื่อทำวัดค่าคุณภาพด้านสี สามารถแสดงค่าในรูปของความสว่าง (L*) ความเป็นสีแดง/เขียว (a*) และความเป็นสีเหลือง/น้ำเงิน (b*) ซึ่งผลการทดลองพบว่าการปรับกรดของน้ำเกลือที่ใช้ในการแช่สาหร่ายมีผลให้สาหร่ายมีสีซีดลง (ค่า L* สูง) และมีสีออกไปทางสีเหลืองมากขึ้น (b*) ทั้งนี้เนื่องจากสารให้สีในสาหร่ายเป็นคลอโรฟิลล์ ซึ่งคุณสมบัติของคลอโรฟิลล์เมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกรด คลอโรฟิลล์ที่มีสีเขียวสดจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของฟีโอไฟติน (pheophytin) ซึ่งมีสีเขียวมะกอก นอกจากนี้ฟีโอไฟตินยังเกิ ดได้เมื่อสาหร่ายได้รับความร้อนเป็นเวลานานจากการแปรรูปด้วยความร้อน (Koca, et al, 2007; Richter Reis, 2017)

รูปที่ 4.1 ตัวอย่างสีและลักษณะของสาหร่ายพวงองุ่นสด

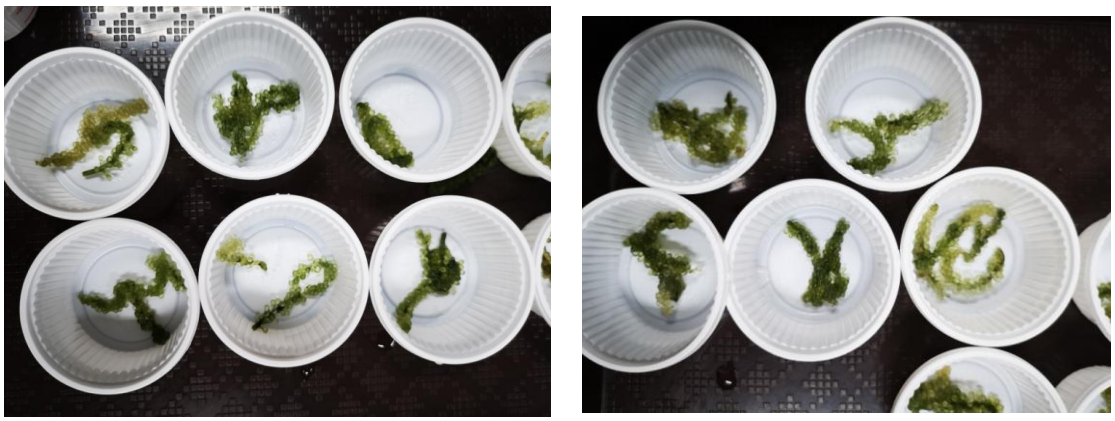


รูปที่ 4.2 ตัวอย่างสีและลักษณะของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121°C เป็นเวลา 20 นาที โดย ซ้าย: ไม่ปรับกรด (pH 7.72) และ ขวา: ปรับกรด (pH 4.37)

รูปที่ 4.3 ตัวอย่างสีและลักษณะของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 115°C เป็นเวลา 20 นาที โดย ซ้าย: ไม่ปรับกรด (pH 7.72) และ ขวา: ปรับกรด (pH 4.37)



รูปที่ 4.4 ตัวอย่างสีและลักษณะของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือไม่ปรับกรดที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 115°C เป็นเวลา 20 นาที ที่ผ่านการล้าง และคืนตัวโดยแช่ในน้ำเย็น



รูปที่ 4.5 ตัวอย่างสีและลักษณะของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือไม่ปรับกรด (ซ้าย) และปรับกรด (ขวา) ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121°C เป็นเวลา 20 นาที ที่ผ่านการล้าง และคืนตัวโดยแช่ในน้ำเย็น

สำหรับคุณภาพสาหร่ายพวงองุ่นด้านเนื้อสัมผัส (firmness) ดังตารางที่ 4.2 พบว่าสาหร่ายในน้ำเกลือที่ปรับกรดมีค่าความแน่นเนื้อต่ำ แสดงถึงเนื้อสัมผัสที่นิ่ม ส่วนสาหร่ายในน้ำ เกลือที่ไม่ได้ปรับกรดมีค่าความแน่นเนื้อที่มากกว่า เมื่อเปรียบเทียบด้านอุณหภูมิการฆ่าเชื้อจะเห็นได้ว่า การใช้อุณหภูมิต่ำในการฆ่าเชื้อ ทำให้สาหร่ายพวงองุ่นมีเนื้อสัมผัสที่ดีกว่าการใช้อุณหภูมิฆ่าเชื้อสูง ด้านค่า pH ของน้ำเกลือพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมเล็กน้อย

ตารางที่ 4.3 ค่าคุณภาพด้านจุลินทรีย์ของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ก่อนและหลังผ่านการให้ความร้อน

pH / Temp. (^{o}C)	Total plate count (CFU/g)	Yeast & Mold (CFU/g)	Coliforms (MPN/g)
4.37	10	Less than 10	Less than 3
7.72	20	Less than 10	Less than 3
4.37/121	Less than 10	Less than 10	Less than 3
7.72/121	Less than 10	Less than 10	Less than 3
4.37/115	Less than 10	Less than 10	Less than 3
7.72/115	Less than 10	Less than 10	Less than 3

คุณภาพด้านจุลินทรีย์ของสาหร่ายพวงองุ่นที่แช่ในน้ำเกลือ แต่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ทั้งที่ pH 4.37 และ pH 7.72 พบว่าปริมาณจุลิทรีย์ทั้งหมดมีค่าเกินที่มาตรฐานกฎหมายกำหนด ส่วนปริมาณยีสต์รา และคอลิฟอร์มผ่านเกณฑ์ เมื่อผ่านการให้ความร้อนทั้งที่อุณหภูมิ 115 และ 121 ^{o}C พบว่าสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือทั้ง 2 ระดับpH มีมาตรฐานด้านจุลินทรีย์ผ่านเกณฑ์ที่กฎหมายกำหนดไว้ทั้งหมด

ด้านคุณภาพทางประสาทสัมผัสของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือที่ปรับกรดและไม่ปรับกรด เมื่อนำตัวอย่างมาทดสอบเทียบลักษณะคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านต่างๆ เทียบกับสาหร่ายสดที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 คะแนนทดสอบประสาทสัมผัสของสาหร่ายพวงองุ่น

pH / Temp (^{o}C)	คะแนนการทดสอบโดยการเปรียบเทียบตัวอย่างทดสอบกับตัวอย่างสาหร่ายสด							
	ลักษณะปรากฏ		สี		รสชาติ		เนื้อสัมผัส	
	Difference from control	p*	Difference from control	p*	Difference from control	p*	Difference from control	p*
No heat	-0.1875	0.5520	-0.4063	0.3227	-0.5625	0.1307	-0.5938	0.1649
4.37/121	-2.8438	<0.0001	-2.0313	<0.0001	-3.000	<0.0001	-1.5938	0.0004
7.72/121	-2.6250	<0.0001	-2.1250	<0.0001	-3.1250	<0.0001	-2.4062	<.0001
4.37/115	-1.7435	<0.0001	-1.8343	<0.0001	-2.405	<0.0001	-1.1750	0.0006
7.72/115	-1.9202	<0.0001	-2.002	<0.0001	-2.710	<0.0001	-1.9294	<.0001

*p-value for Dunnett test at 5% significance

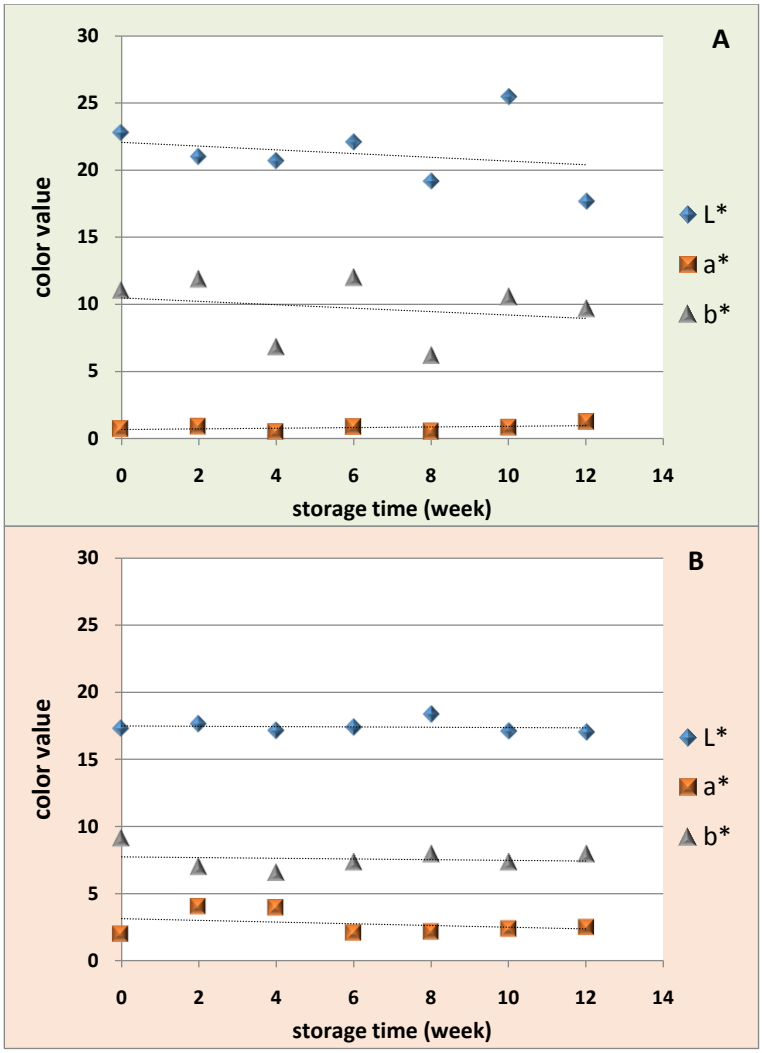
ผลการทดสอบในเบื้องต้นจากการประเมินโดยผู้ทดสอบ 30 คนพบว่าตัวอย่างสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือที่ผ่านการให้ความร้อน ทั้ง 2 อุณหภูมิและ ทั้งแบบที่ปรับกรดและไม่ปรับกรด มีค่าความแตกต่างในด้านของลักษณะปรากฏ สี รสชาติเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างสาหร่ายสด เล็กน้อย ส่วนด้านเนื้อสัมผัสของตัวอย่างสาหร่ายพวงองุ่นแบบปรับกรด (pH 4.37) ทั้ง 2 อุณหภูมิฆ่าเชื้อมีค่าไม่แตกต่างจากสาหร่าย สด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างสาหร่ายในน้ำเกลือแบบปรับกรดและไม่ปรับกรด จะเห็นได้ว่า ผู้ทดสอบมีแนวโน้มการให้คะแนนความแตกต่างของสาหร่ายแบบปรับกรดต่างจากสาหร่ายสดมากกว่าสาหร่ายแบบไม่ปรับกรด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิการให้ความร้อน จะพบว่าผู้บริโภคให้ความแตกต่างของตัวอย่างสาหร่ายพวงองุ่นที่ให้ความร้อนที่ 115 °C มีความต่างน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 121 °C โดยเทียบกับตัวอย่างสด ดังนั้นในการทดสอบอายุการเก็บรักษา ของผลิตภัณฑ์สาหร่ายพวงองุ่นบรรจุน้ำเกลือ ในถุงรีทอร์ทเพาซ์ในขั้นตอนต่อไป จะเลือกใช้สภาวะการให้ความร้อนที่ 115 °C และ 121 °C เป็นเวลา 20 นาที โดยไม่ปรับ pH ของน้ำเกลือ

ตอนที่ 2 การศึกษาคุณภาพสาหร่ายพวงองุ่นบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ระหว่างการเก็บรักษา

ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์สาหร่ายพวงองุ่นบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์นั้น ทำการเก็บผลิตภัณฑ์โดยวางที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 3 เดือน และทำการสุ่มตัวอย่างทุก 2 สัปดาห์เพื่อมาวิเคราะห์คุณภาพของสาหร่ายพวงองุ่นในด้านค่าสี ความเป็นกรดด่าง เนื้อสัมผัส ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ตลอดจนคุณค่าสารอาหารของสาหร่ายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน

4.3 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสาหร่ายพวงองุ่นในช่วงการเก็บรักษา

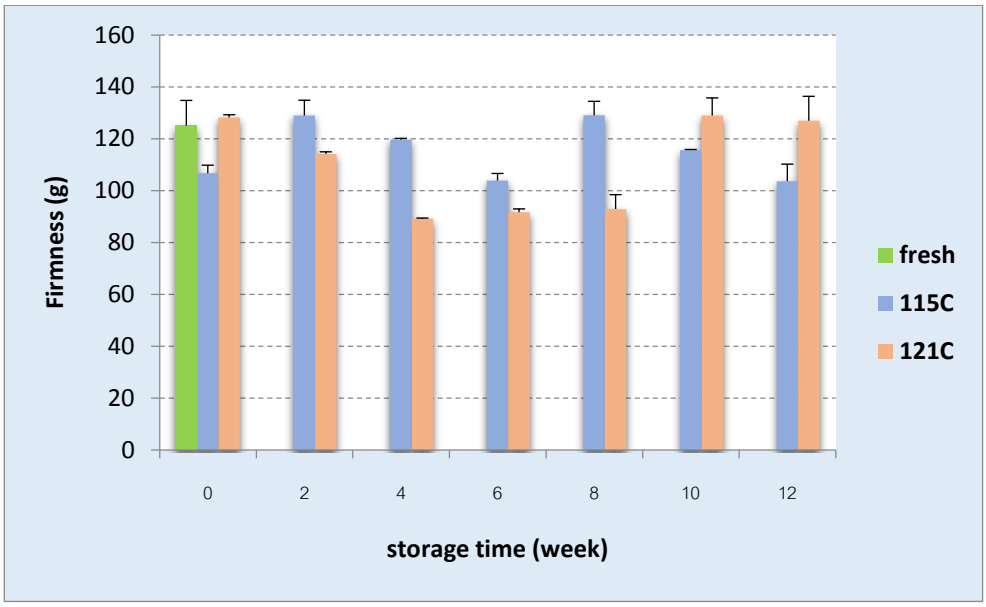
จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของสาหร่ายพวงองุ่นในถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115 และ 121 องศาเซลเซียส ในด้านค่าสี เนื้อสัมผัสและค่าความเป็นกรดด่างของน้ำเกลือที่ใช้บรรจุ แสดงผลดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพค่าสี (L*, a*, b*) ของสาหร่ายพวงองุ่นบรรจุในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อน และเก็บเป็นเวลา 3 เดือน; รูป A: 121°C, B:115 °C

ค่าสีของสาหร่ายพวงองุ่นบรรจุในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ ที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ หลังผ่านการฆ่าเชื้อที่สองอุณหภูมิ พบว่า ค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (a*) และค่าสีเหลือง (b*) มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 95% โดยสาหร่ายที่ผ่านฆ่าเชื้อที่อุ ณหภูมิสูงกว่า (รูป 4.6A) เมื่อเก็บเป็นเวลานานขึ้นมีแนวโน้มของค่าความสว่าง และค่าความเป็นสีเหลือง ลดลง ส่วนค่าความเป็นสีแดงมีแนวโน้มคงที่ เมื่อเปรียบเทียบกับสีของสาหร่ายที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส (รูป 4.6B) จะเห็นว่าค่าสีทั้ง L*, a* และ b* ค่อนข้างคงที่ในระหว่างการเก็บ แสดงให้เห็นว่าการใช้อุณหภูมิฆ่าเชื้อที่ไม่สูงมาก จะช่วยรักษาคุณภาพด้านสีของสาหร่ายพวงองุ่นไว้ได้ดี โดย สาหร่ายพวงองุ่นนั้นยังคงสีเขียวตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

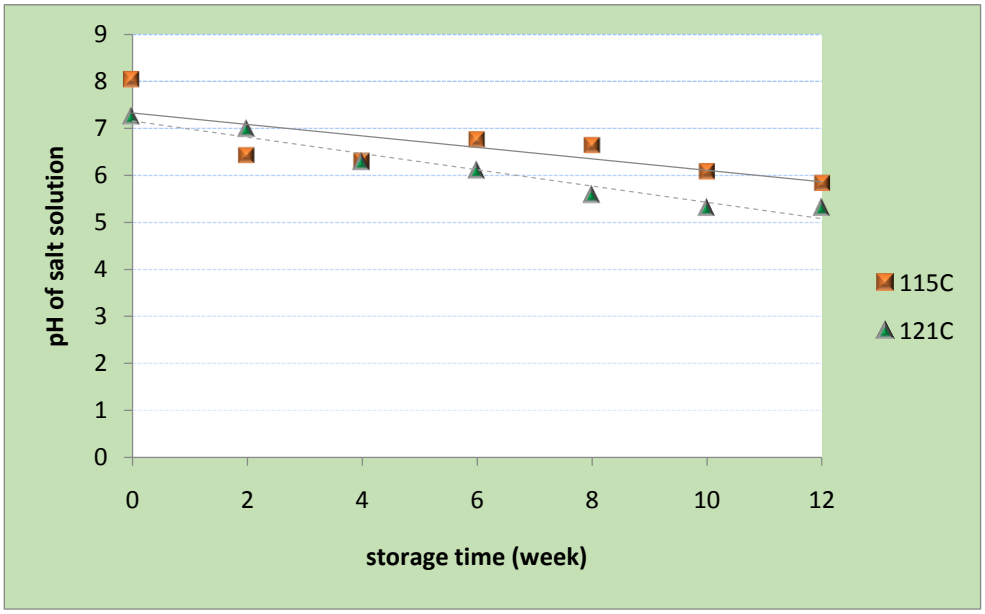
คุณภาพด้านเนื้อสัมผัสของ สาหร่ายพวงองุ่น ในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ท เพาซ์ เมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ แสดงดังรูปที่ 4.7 โดยพบว่า สาหร่ายที่ให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียสหลังการเก็บเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ สาหร่ายยังคงมีความแน่นเนื้อไม่ต่างจากสาหร่ายที่เก็บในสัปดาห์แรกๆ และไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญที่ 95% กับสัปดาห์อื่นๆ ในทำนองเดียวกันสาหร่ายพวงองุ่นบรรจุน้ำเกลือที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 115 องศาเซลเซียสก็มีค่าเนื้อสัมผัสไม่แตกต่างกันเมื่อเก็บเป็นระยะเวลานานขึ้น แสดงว่าสาหร่ายพวงองุ่นในถุงฟอยด์รีทอร์ทเพาซ์สามารถเก็บรักษาไว้ได้นานถึง 12 สัปดาห์โดยที่เนื้อสัมผัสไม่เปลี่ยนแปลงไป และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิที่ใช้ในการให้ความร้อนจะเห็นได้ว่าเนื้อสัมผัสของสาหร่ายพวงองุ่นที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส มีค่าความแน่นเนื้อต่ำกว่าสาหร่ายพวงองุ่นที่ผ่านให้ความร้อนที่ณภูมิอุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เนื่องจากการใช้อุณหภูมิที่สูงจะส่งผลต่อการทำลายผนังเซลล์ของสาหร่าย ทำให้เนื้อนิ่มลง และเมื่อเปรียบเทียบเนื้อสัมผัสของสาหร่ายที่ผ่านการให้ความร้อนทั้งสองอุณหภูมิกับเนื้อสัมผัสของสาหร่ายพวงองุ่นสดที่ ไม่ผ่านการให้ความร้อน จะเห็นว่าค่าเนื้ อสัมผัสของสาหร่ายที่ให้ความร้อนที่ 115 องศาเซลเซียส จะมีค่าเนื้อสัมผัสที่ใกล้เคียงกับสาหร่ายสดมากกว่าเช่นกัน



รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพค่าเนื้อสัมผัสของสาหร่ายพวงองุ่นบรรจุในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อน และเก็บเป็นเวลา 3 เดือน

คุณภาพด้านค่า pH ของน้ำเกลือที่ใช้บรรจุสาหร่ายพวงองุ่น ในถุงรีทอร์ทเพาซ์ หลังเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ แสดงดังรูปที่ 4.8 พบว่า ค่า pH ของน้ำเกลือมีแนวโน้มลดลงเมื่อเก็บรักษา

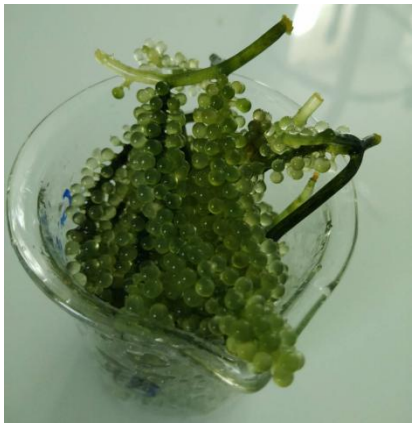
นานขึ้น โดยมีความแตกต่างกัน ทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 95% ทั้งนี้ในสัปดาห์ที่ 12 ของการเก็บค่า pH ของน้ำเกลือลดลงอยู่ที่ประมาณ 5-6 ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของน้ำเกลือนี้เป็นผลจากการถ่ายเทความเข้มข้นของน้ำเกลือกับของเหลวในพวงสาหร่ายตลอดเวลาการเก็บ ซึ่งค่า pH ที่ลดลงส่งผลต่อค่าสีของสาหร่ายพวงองุ่น โดยจะทำให้ความเป็นสีเขียวสดลดลง และสาห ร่ายมีสีออกไปทางสีเขียวแกมเหลืองมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับค่าสี (รูปที่ 4.6) ของสาหร่ายหลังผ่านการคืนตัวในน้ำเย็นจะเห็นได้ว่า สีของสาหร่ายมีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างน้อยเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 สัปดาห์



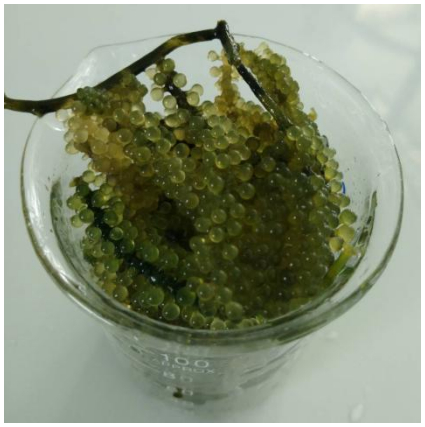
รูปที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพค่า pH ของน้ำเกลือที่ในสาหร่ายบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อน และเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน

ด้านลักษณะปรากฏของสาหร่ายพวงองุ่นบรรจุน้ำเกลือในถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ระดับ 115 และ 121 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน แสดงดังรูปที่ 4.9 และ 4.10 ตามลำดับ

ตัวอย่างสาหร่ายสด



week 2



week 4

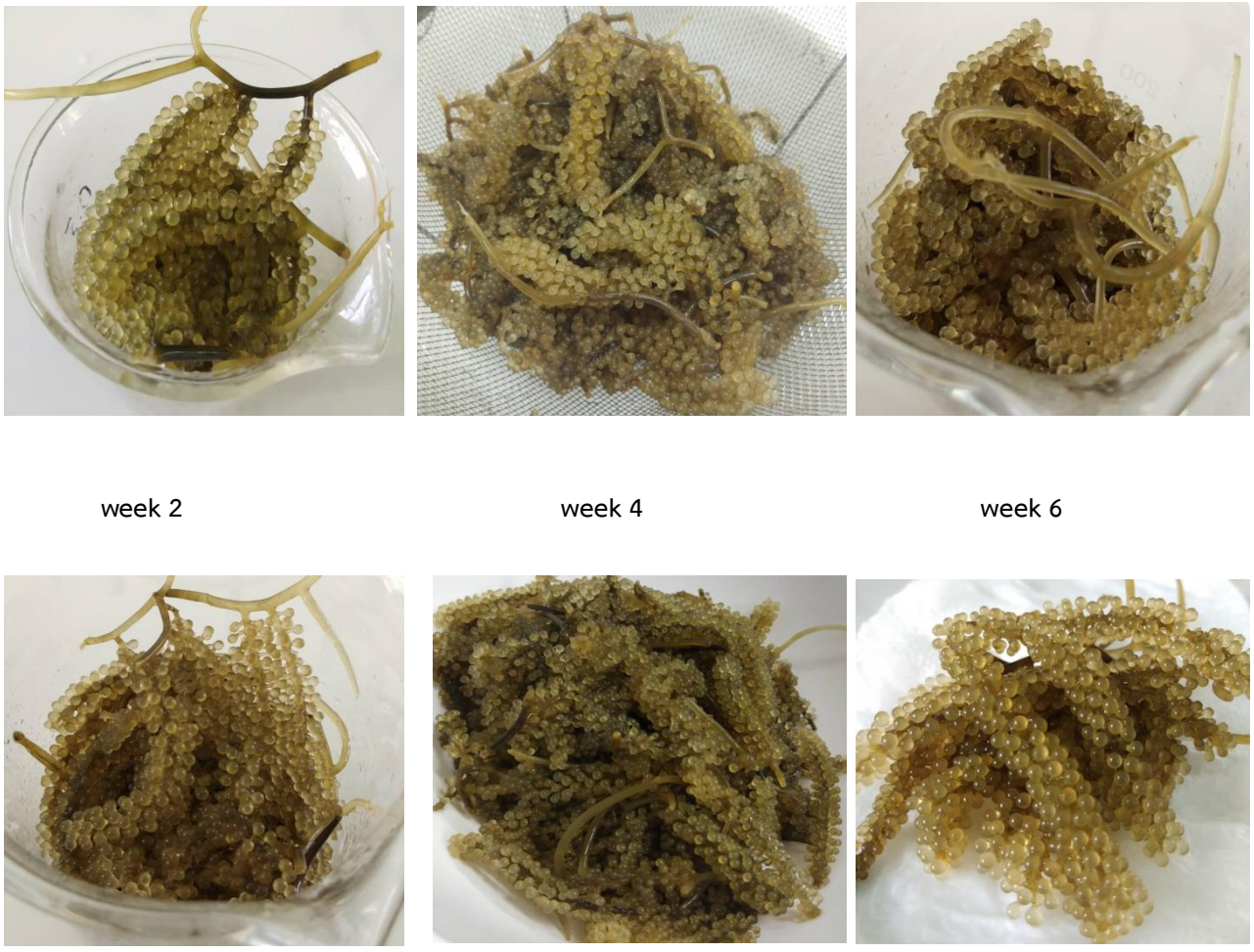
week 6

week 8

week 10

week 12

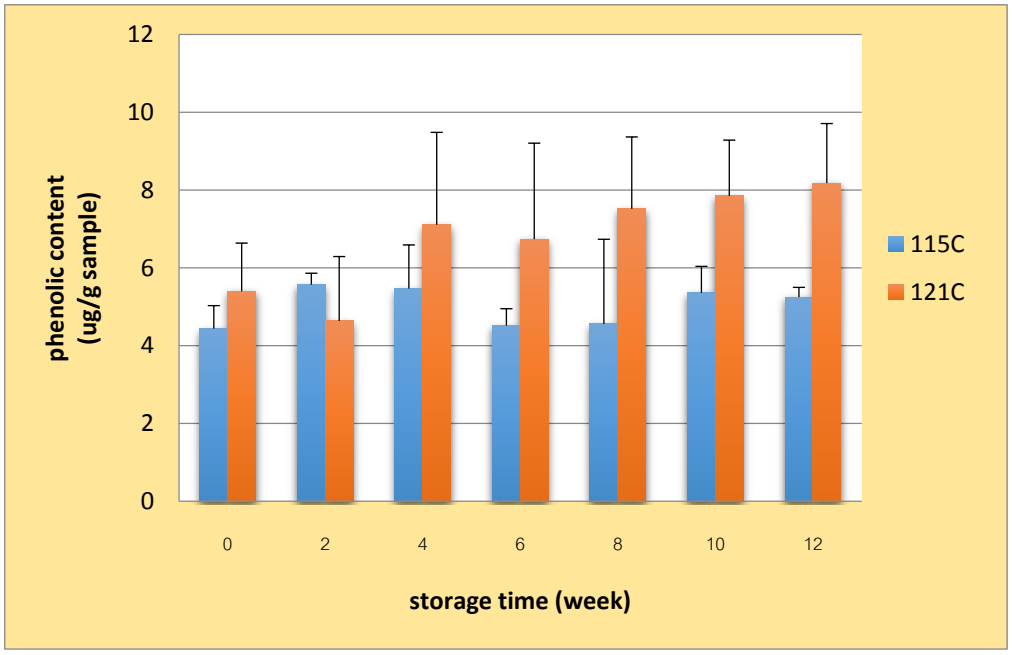
รูปที่ 4.9 ลักษณะปรากฏสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อน ที่ 115 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน



รูปที่ 4.10 ลักษณะปรากฏสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน

4.4 การศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายพวงองุ่นในช่วงการเก็บรักษา

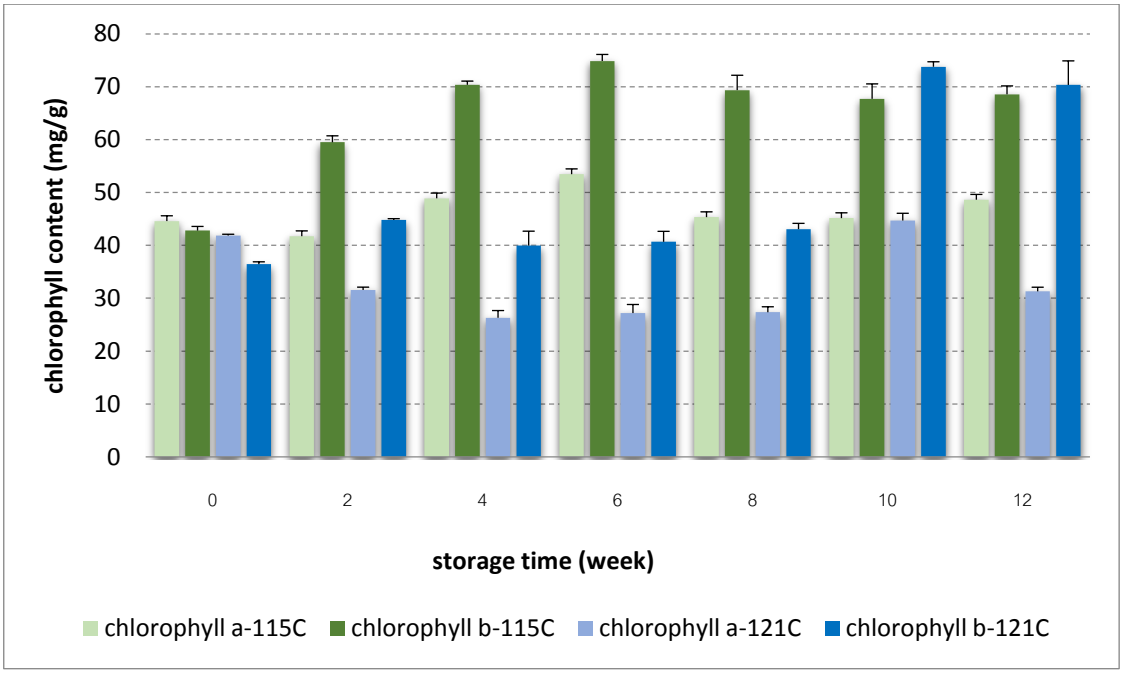
ในระห ว่างการเก็บรักษาสาหร่ายพวงองุ่นบรรจุน้ำเกลือในถุงรีทอร์ทเพาซ์เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทำการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก สารคลอโรฟิลล์เอและสารคลอโรฟิลล์บี ตลอดจนความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสร ะของสาหร่าย ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.11 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสาหร่ายพวงองุ่น



รูปที่ 4.11 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อน และเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดของสาหร่ายพวงองุ่น พบว่าสาหร่ายพวงองุ่นในถุงฟอยด์รีทอร์ทเพาซ์ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสมี แนวโน้มของ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิ กสูงกว่าที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อาจเนื่องจากความร้อนส่งผล ต่อเนื้อเซลล์ของสาหร่าย และส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกในรูปแบบ bound phenolic เปลี่ยนเป็นรูปแบบ free phenolic (Xu, et al 2007) นอกจากนี้ยังอาจเป็นผลความร้อนที่สูงส่งผลต่อการยับยั้งเอนไซม์ polyphenol oxidase ซึ่งมีผลต่อการเสื่ อมสลายของสารประกอบฟีนอลิก (Teles, et al. 2017) และ จากปัจจัยเรื่ องความแตกต่างของตัวอย่างสาหร่ายที่นำมาใช้ ในการทดลอง ซึ่งมีรายงานว่าปริมาณฟีนอลิกในสาหร่ายพวงองุ่นจะขึ้นอยู่กับช่วงเดือนที่สาหร่ายนั้นโต โดยในช่วงเดือนเมษายนและมิถุนายนสาหร่ายจะมีปริมาณฟีนอลิกสูงสุด (Wichachucherd et al., 2019) และเมื่อเปรียบเทียบ

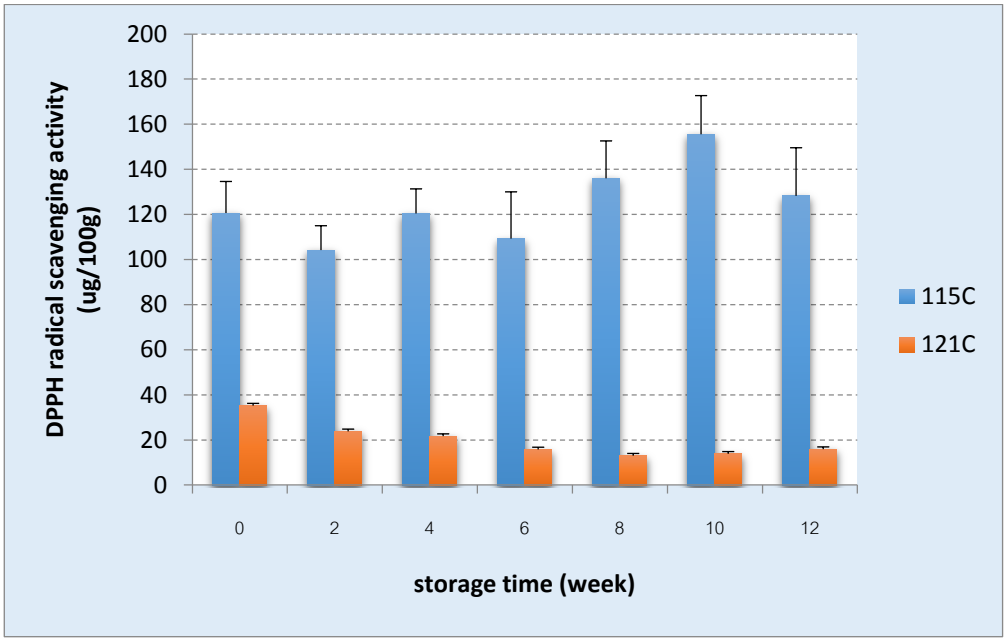
ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของ สาหร่ายพวงองุ่นบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ ที่เก็บเป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าปริมาณฟีนอลิกในสาหร่าย ที่ผ่านการให้ความร้อน ที่ 115 องศาเซลเซียส มีแนวโน้ม คงที่ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา ส่วนสาหร่ายที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121องศาเซลเซียส ถึงแม้จะมีแนวโน้มสูงขึ้น แต่เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติแล้วไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า ระยะเวลาการเก็บรักษาสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือที่ผ่านการให้ความร้อนที่ระดับสเตอริไลซ์ไม่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก



รูปที่ 4.12 ปริมาณคลอโรฟิลล์ชนิดเอและบีของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อน และเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบี พบว่าในสัปดาห์ที่ 10 สาหร่ายพวงองุ่นในถุงฟอยด์รีทอร์ทเพาซ์ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส มีปริมา ณคลอโรฟิลล์เอและบีมากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ คลอโรฟิลล์เอ 44.68 มิลลิกรัมต่อกรัม และคลอโรฟิลล์บี 79.76 มิลลิกรัมต่อกรัม ส่วนสาหร่ายพวงองุ่นในถุงใสรีทอร์ทเพาซ์ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียสที่เก็บรักษาเป็นเวลา 2 สัปดาห์มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 53.44 และ 74.86 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ จากผลการทดลอง (รูปที่ 4.12) จะเห็นได้ว่าแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์เอ และบี จะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ซึ่งมีรายงานว่าคลอโรฟิลล์เอนั้นถูกเปลี่ยนเป็น pheophytin a เมื่ออุณหภูมิการแปรรู ปสูงขึ้น และอัตราการเสื่อมสลายของคลอโรฟิลล์เอจะเร็วกว่าคลอโรฟิลล์บี ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองครั้งนี้ (Tan and Francis, 2006) เมื่อดูผลของ

ระยะเวลาการเก็บรักษาจะพบว่าเมื่อเก็บตัวอย่างนานขึ้น แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ เอ และบีมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย โดยปริมาณคลอโรฟิลล์บีจะพบสูงกว่าคลอโรฟิลล์เอ ซึ่งเป็นผลต่อเนื่องมาจากอุณหภูมิที่ใช้ในการแปรรูปดังที่อธิบายข้างต้น



รูปที่ 4.13 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการให้ความร้อน และเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน

การวิเคราะห์การเป็นสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH พบว่าสาหร่ายพวงองุ่นในถุงฟอยด์รีทอร์ทเพาซ์ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เมื่อระยะเวลาผ่านไปค่าความสามารถในการเป็นสารต้านอกซิเดชั่นจะ ลดลง ส่วนสาหร่ายที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ 115 องศาเซลเซียส พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 ถึง 4 ค่าความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชั่นมีแนวโน้มลดลง และเมื่อเข้าสัปดาห์ที่ 8 ถึง 12 ค่าความสามารถ ในการเป็นสารต้านออกซิเดชั่นจะเพิ่มขึ้น แต่ทั้งนี้ผลดังกล่าว ไม่มีความแตกต่างกันที่ ระดับนัยสำคัญ 95% เมื่อเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิการฆ่าเชื้อสาหร่ายพวงองุ่นจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าอุณหภูมิที่สูงส่งผลต่อการลดลงของความสามารถในการต้ านอนุมูลอิสระ ซึ่งผลดังกล่าวตรงกันข้ามกับค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น เหตุผลดังกล่าวอธิบายได้คือ ปริมาณฟีนอลิกนั้นไม่ได้เป็นค่าที่ สัมพันธ์กับค่า ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีรายงานวิจัยหลายคณะที่พบความสัมพันธ์ดังกล่ าว เช่น Balboa et al, 2013 ที่ทำการศึกษาในสาหร่ายสีน้ำตาล นอกจากนี้ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอาจเกิดได้จากสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มอื่ นๆ ที่ไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้ ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพียงอย่างเดียวจึงอาจไม่เหมาะสมในการบ่งบอกความสัมพันธ์กับค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายพวงองุ่น

4.5 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและคุณภาพทางจุลินทรีย์ของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์หลังเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน

จากการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและคุณภาพทางจุลินทรีย์ของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์หลังเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน เปรียบเทียบกั บสาหร่ายสด แสดงผลดังตารางที่ 4.5 และ 4.6 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.5 คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายพวงองุ่นสด และสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์

	สาหร่ายพวงองุ่นสด	**สาหร่ายพวงองุ่นผ่านการให้ความร้อน**
พลังงาน (kcal/100g)	**9**	**7**
ไขมันทั้งหมด (g/100g)	**0.04**	**0.03**
ไขมันอิ่มตัว (g/100g)	**0.03**	**0.02**
คอเลสเตอรอล (mg/100g)	**ไม่พบ**	**ไม่พบ**
โปรตีน (g/100g)	**0.43**	**0.62**
คาร์โบไฮเดรต (g/100g)	**1.80**	**1.10**
น้ำตาล (g/100g)	**ไม่พบ**	**ไม่พบ**
เถ้า (g/100g)	**2.2**	**1.1**
ความชื้น (g/100g)	**95.50**	**97.20**
เส้นใยอาหาร (g/100g)	**1.37**	**1.09**
วิตามิน บี1(mg/100g)	**ไม่พบ**	**0.10**
วิตามิน บี2(mg/100g)	**ไม่พบ**	**ไม่พบ**
วิตามิน เอ (ug/100g)	**ไม่พบ**	**ไม่พบ**
โซเดียม (mg/100g)	**637**	**339**
แคลเซียม (mg/100g)	**26**	**6**
เหล็ก (mg/100g)	**2.99**	**2.37**

ตารางที่ 4.6 คุณภาพทางจุลินทรีย์ของสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์

จุลินทรีย์	**ผลการตรวจสอบ**
Total plate count (CFU/g)	**Less than 10**
Yeast & mold (CFU/g)	**Less than 10**
Coliforms (MPN/g)	**Less than 3**

จากผลการทดลองพบว่าค่าพลังงานและสารอาหารต่างๆ (ตาราง 4.5) มีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ซึ่งอาจเป็นผลมาจากปัจจัยเรื่องกระบวนการแปรรูปหรือจากคุณภาพของสาหร่ายเริ่มต้น เนื่องจากสาหร่ ายที่ใช้ในการวิเคราะห์ระหว่างสาหร่ายสด และสาหร่ายที่นำไปแปรรูปนั้นจัดหามาได้ในช่วงระยะเวลาต่างกัน อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาผลโดยรวมจะเห็นว่าสาหร่ายพวงองุ่นเป็นแหล่งของเส้นใยอาหารที่ดี และมี แร่ธาตุเช่นแคลเซียมและเหล็ก นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าสาหร่ายพวงองุ่นสดจะมีปริมาณโซเดียมที่สูงกว่าสาหร่ายพวงองุ่นผ่านการให้ความร้ อนที่แช่ในน้ำเกลือ ทั้งนี้เนื่องจากในการวิเคราะห์ คุณค่าสารอาหารนั้น สาหร่าย ที่ผ่านการแช่น้ำเกลือมาจะทำการล้างด้วยน้ำสะอาดหลายรอบเพื่อกำจัดความเค็มของเกลือออก จึงส่งผลต่อปริมาณโซเดียมที่ต่ำกว่าสาหร่ายสด แต่ทั้งนี้ถือเป็นสิ่งที่ดี โดยการบริโภคโซเดียมในปริมาณที่ต่ำจะส่งผลต่อ ความเสี่ยงการเกิดโรคไต โรคความดันและโรคกลุ่ม NCDs ต่างๆ ได้น้อยลงด้วย

ในด้านคุณภาพทางจุลินทรีย์พบว่าสาหร่ายที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือนยังคงมีค่ามาตรฐานทางด้าน จุลินทรีย์เป็นไปตามกำหนด (ตาราง 4.6) ผลิตภัณฑ์จึงยังคงความปลอดภัยตลอดอายุการเก็บรักษา

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง

1. อุณหภูมิการให้ความร้อนเพื่อให้ผลิตภัณฑ์สาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ที่เหมาะสมคือ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยไม่ต้องปรับ pH ของน้ำเกลือก่อนการบรรจุ ทั้งนี้การใช้อุณหภูมิที่ 121 องศาเซลเซียส ถึงแม้จะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีความปลอดภัยด้านจุลินทรีย์ แต่อุณหภูมิที่สูงส่งผลต่อสีและเนื้อสัมผัสของสาหร่ายพวงองุ่นมากกว่าการใช้อุณหภูมิที่ 115 องศาเซลเซียส

2.ระยะเวลาการเก็บรักษาสาหร่าย พวงองุ่นในน้ำเกลือบรรจุถุงรีทอร์ทเพาซ์ เป็นเวลา 3 เดือนที่อุณหภูมิห้องส่งผลต่อคุณภาพสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำเกลือเพียงเล็กน้อย ทั้งด้านสี เนื้อสัมผัส สารประกอบฟีนอลิก คลอโรฟิลล์ สารต้านอนุมูลอิสระ และ คุณค่าโภชนาการ และผลิตภัณฑ์ยังสามารถเก็บที่อุณหภูมิห้องได้ตลอดเวลา 3 เดือนโดยไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย

เอกสารอ้างอิง

ดนุพล จิรวรรณพันธุ์. 2549. ห่อหมกปลาช่อนพร้อมบริโภคในบรรจุภัณฑ์ชนิดอ่อนตัว .วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิตคหกรรมศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

พฤกษา สวาทสุข. 2559. ผลของเวลาการให้ความร้อนต่อลักษณะทางกายภาพของปลาทูต้มเต็มในบรรจุภัณฑ์รีทอร์ทเพาช์. แก่นเกษตร 44(2), 257-264.

AOAC. (2000). Proximate Analysis. *In* Official Method of Analysis of Association of Official Analytical Chemists. Vol. II. 17th ed. chapter 32, p. 7. The Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, MD, USA.

Balboa, E.M., E. Conde, A. Moure, E. Falque and H. Dominguez. 2013. In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. Food Chemistry 138: 1764–1785.

Clark, S., Warner, H. Rodriguez, J.J., Olives, G.I., Sepulveda, D., Bruins, R., Barbosa-Canovas, G.V.B. 2002. Residual gas and storage conditions affect sensory quality of diced pears in flexible retortable pouches. Food Quality and Preference. 13, 153-162.

Choe E, Min DB. 2009. Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 8(4):345-58.

Clara de Gaillande, Claude Payri, Georges Remoissenet and Mayalen Zubia. 2017. Caulerpa consumption, nutritional value and farming in the Indo-Pacific region. J Appl Phycol.29:2249-2266

Cornelli U. Antioxidant Use in Nutraceuticals. Clinics in Dermatology. 2009;27(2):175-94.

CN106071700A. 2016. Ready-to-eat mixed rice with soybean paste and preparation method of ready-to-eat mixed rice with soybean paste.

Herman, D. 2012. Development of thermal process for Gaeng Phed Gai in retort pouches. Available: http://stud.epsilon.slu.se. Accessed Sep. 30, 2017.

Hui Guo, Jianting Yao, Zhongmin Sun and Delin Duan. 2014. Effect of temperature, irradiance on the growth of the green alga *Caulerpa lentillifera* (Bryopsidophyceae, Chlorophyta) Journal of Applied Phycology. 27(2).879-885.

oca, N., Karadeniz, F. and Burdurlu, H.S. 2007. Effect of pH on chlorophyll degradation and color loss in blanched green peas. Food Chemistry. 100(2):609-615.

Li H, Horke S, Förstermann U. 2013. Oxidative stress in vascular disease and its pharmacological prevention. Trends in Pharmacological Sciences. 34(6):313-9.

Lockwood B. 2007.Nutraceuticals: A Guide for Healthcare Professionals. Second ed. London:Pharmaceutical Press.

Mason P. Dietary Supplements. Fourth ed. London: Pharmaceutical Press; 2011.

Milas Stankovic. 2011.Total phenolic content, flavonoids concentation and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extract. Kragujevac J. Sci. 33: 63-72.

Nicholas, P., Neveux, N., Magnusson, M. and de Nys, R. 2013. Comparative Production and Nutritional value of "sea grapes" — the tropical green seaweeds Caulerpalentillifera and C. racemose. Journal of Applied Phycology. DOI 10.1007/s10811-013-0227-9.

Nimse SB, Pal D. 2015. Free Radicals, Natural Antioxidants, and Their Reaction Mechanisms. RSC Advances. 5(35):27986-8006.

Nguyen, N.T. 2011. Analysis of proximate composition, total phenolic content, and antioxidant activity of seagrape (*Caulerpa lentillifera*). Master's thesis, Department of Food Science, College of Life Sciences, National Taiwan Ocean University.

Potter, K.M., Tung, M.A., Kitson, J.A. 1982. Quality of processed peach slices stored in flexible pouches. Canadian institute of food science and technology journal, 15, 96-100.

Ratana-Arporn,P. and Chirapart, A. 2006. Nutritional Evaluation of Tropical Green Seaweeds Caulerpa lentillfera and Ulva reticulate. Kasetsart Journal-Natural Science. 40: 75-80.

Reis, R.F. 2017. New Perspectives on Food Blanching. Springer International Publishing.

Silvia V, Angela A, Stefano M. 2004. The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overview. Current Pharmaceutical Design. 10(14):1677-94.

Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. 1998. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299, 152-178.

Sirikhwan Tinrat. 2016. Antioxidant Activities and Total Phenolic Content of Multi-colored Fruits and Vegetables in Thailand. KKU Res. J. 21(1)

Tan, C.T. and Francis, F.J. 2006. Effect of Processing Temperature on Pigments and Colors of Spinach. Journal of Food Science. 27(3):232-241.

Teles, A.S.C., Chávez, D.W.H, Gomes, F., Cabral, L.M.C. and Tonon, R.V. 2018. Effect of temperature on the degradation of bioactive compounds of *Pinot Noir* grape pomace during drying. *Brazilian* Journal of Food Technology, 21, e2017059. Epub November 27, 2017.https://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.5917

US20070134401A1. 2007. Cooking process of red bean porridge without a bitter taste.

Van Tang Nguyen, Jinn-Pyng Ueng, and Guo-Jane Tsai. 2011. Proximate Composition, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity of Seagrape (*Caulerpa lentillifera*)**.** Journal of Food Science. Vol. 76.

Wichachucherd, B., Pannak, S., Saengthong, C., Rodcharoen, E., Koodkaew, I. 2019. Correlation between Growth, Phenolic Content and Antioxidant Activity in the Edible Seaweed, Caulerpa lentilifera in Open Pond Culture System. Journal of Fisheries and Environment. 43(2):66-75.

Xu, G., Ye, X., Chen, J., Liu, D. 2007. Effect of Heat Treatment on the Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Citrus Peel Extract. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55(2):330-335.