

ผลของการเก็บรักษาต่อคุณภาพของสารสกัดกระเทียม

The Effect of Storage on Quality of Concentrated Garlic Solution

สิงหนาท พวงจันทน์แดง (Singhanat Phoungchandang)¹

รุ่งกานต์ บุญนาคกร (Rungkan Boonnattakorn)²

บทคัดย่อ

การหาอายุการเก็บรักษาสารสกัดกระเทียมเข้มข้นที่เก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิห้อง ($30\pm 2^{\circ}\text{C}$) โดยการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญอัลลิซิน โดยวิธีการแยกของเหลวสมรรถนะสูง (HPCL) พบว่าอัลลิซินเป็นสารที่ไม่เสถียร และสลายตัว เมื่อเวลาผ่านไป 15 วัน มีปริมาณอัลลิซินเหลืออยู่ 51.88% ของปริมาณอัลลิซินเริ่มต้นในสารสกัดกระเทียมเข้มข้น และไม่พบปริมาณอัลลิซินเมื่อเก็บไว้นาน 30 วัน ปฏิกิริยาการเสื่อมสลายอัลลิซินเป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับศูนย์ โดยมีค่า $k = 0.90467$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ($R^2 = 0.99976$)

Abstract

The shelf-life of concentrated garlic extract at room temperature ($30\pm 2^{\circ}\text{C}$) was studied. Allicin content in concentrated garlic extract was determined using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) during the storage. Allicin was not stable at room temperature and decomposed to 51.88% of initial concentration within 15 days. The allicin content was unable to be measured within 30 days of storage. Allicin decomposition followed zero order reaction with $k = -0.90467$ and provided high correlation coefficient (R^2) of 0.99976.

คำสำคัญ: กระเทียม การทำให้เข้มข้น อัลลิซิน อายุการเก็บรักษา

Keywords: garlic, concentration, allicin, shelf-life

¹รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²อาจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตสกลนคร

*corresponding author, e-mail: singho@kku.ac.th

บทนำ

กระเทียมเป็นพืชเครื่องเทศและสมุนไพรที่ใช้เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในอาหารไทยหลายชนิด นอกจากจะช่วยดับกลิ่นคาวของอาหารแล้วยังมีสรรพคุณทางยา เช่น สารอัลลิซินในน้ำมันหอมระเหยของกระเทียมช่วยลดระดับคอเรสเตอรอลในเลือด ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจ และทำหน้าที่ต่อต้านแบคทีเรีย ทำให้กระเทียมและอาหารที่มีส่วนผสมของกระเทียมจัดเป็นอาหารสำหรับอนาคต (Cetron et al., 1996 และ Tumer, 1997) เนื่องจากกระเทียมของ Nutraceutical ซึ่งเป็นคำที่มาจากสารที่เรียกว่า ไฟโตเคมีคอล (Phytochemicals) หมายถึง สารเคมีหลายชนิดที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในผัก ผลไม้ ธัญพืช หรือน้ำมันจากสัตว์ และสมุนไพร สามารถป้องกันและรักษาโรคบางโรคได้ ดังนั้นอาหารที่มีส่วนผสมของวัตถุดิบเหล่านี้จึงมีแนวโน้มที่จะได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นด้วย รวมทั้งอาหารไทยที่มีผู้บริโภคชาวต่างประเทศเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะในแถบอเมริกาและอาเซียนที่มีอัตราการนำเข้าผลิตภัณฑ์อาหารไทยเพิ่มขึ้นร้อยละ 1.23 และ 19.1 ตามลำดับ (นภาวรรณ, 2545) ดังนั้นนอกจากจะบริโภคแล้วควรส่งเสริมให้มีการนำมาแปรรูปหรือนำเอาสารสำคัญที่มีอยู่ในกระเทียมมาใช้ประโยชน์เพื่อเพิ่มคุณค่าให้กับอาหาร

Krest and Keusgen (1999) สกัดเอนไซม์ Allinase จากกระเทียมผง (*Allium sativum* L.) ซึ่งจำหน่ายในท้องตลาด พบว่าความร้อนจากการทำแห้งแม้จะมีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์แต่ยังคงมีความสามารถในการเปลี่ยนอัลลิอินไปเป็นอัลลิซิน Ramalakshmi et al. (1999) ได้ทำการทดสอบการเก็บรักษากระเทียมผงในรูปแคปซูล โดยใช้กระเทียมผงผสมกับน้ำมันกระเทียม (77 : 23) พบว่าเมื่อเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิห้อง (27°C, 65% RH) และในสภาวะเร่ง (40°C, 30-40% RH) เป็นเวลา 6 เดือน พบว่าปริมาณ Diallyl disulfide สูญเสียไป 6.2 และ 9.5% ตามลำดับ Han et al. (1995) พบว่าสามารถเก็บกระเทียมไว้ในรูปของกระเทียมผงที่มีความชื้น 3-5% d.b. ที่อุณหภูมิห้องได้เป็นเวลา 1 ปี โดยไม่สูญเสียปริมาณอัลลิซิน

ทฤษฎี

สมการพื้นฐานที่ใช้อธิบายปฏิกิริยาการเสื่อมคุณภาพของอาหาร โดยให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาของอาหาร ณ เวลาใดๆ เป็นฟังก์ชันกับค่ายกกำลังของความเข้มข้นของตัวทำปฏิกิริยา (reactant) ดังแสดงในสมการที่ 1 (Charm, 1978)

$$\frac{dA}{dt} = kA^N \quad (1)$$

เมื่อ

A = คุณภาพของอาหารที่ต้องการวัด

t = เวลา

k = ค่าคงที่ของอัตราเร่งของปฏิกิริยา

N = อันดับของปฏิกิริยา (order of reaction)

$\frac{dA}{dt}$ = อัตราการเปลี่ยนแปลงของ A เทียบกับ

เวลา A จะมีเครื่องหมาย- เมื่อปฏิกิริยาเป็นการเสื่อมคุณภาพของ A

เมื่อปฏิกิริยาเป็นปฏิกิริยาอันดับศูนย์ N = 0 ดังนั้นอัตราการเสื่อมคุณภาพของอาหาร เมื่ออุณหภูมิและวอเตอร์แอคทิวิตี (a_w) คงที่ได้เป็น

$$-\frac{dA}{dt} = k \quad (2)$$

ทำการอินทิเกรต

$$A_c = A_0 - kt \quad (3)$$

เมื่อ

A_0 = คุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารเริ่มต้น

A_c = คุณภาพของอาหารที่จุดสุดท้ายของการเก็บรักษา

ปฏิกิริยาการเสื่อมคุณภาพของอาหารหลายกรณีไม่ได้เป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับศูนย์ แต่การเสื่อมคุณภาพจะอยู่ในรูปของสมการ เอ็กโปเนนเชียล (exponential) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่งโดยมี N = 1

$$-\frac{dA}{dt} = kA \quad (4)$$

ทำอินทิเกรต

$$A_c = A_o \exp^{-kt} \quad (5)$$

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการคงตัวของสารสำคัญในสมุนไพรสารสกัดกระเทียม หลังจากเก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิห้อง และศึกษาอันดับของปฏิกิริยาการเสื่อมสลายของสารสกัดกระเทียมเข้มข้น

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. วิธีเตรียมตัวอย่างและสารสกัดกระเทียม

1.1 นำกระเทียมสดพันธุ์ศรีสะเกษมาป็นละเอียดในน้ำกลั่นด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง เป็นเวลา 5 นาที โดยอัตราส่วนของกระเทียมต่อน้ำกลั่นเท่ากับ 1 กรัมต่อน้ำ 2 มิลลิลิตร กรองกากกระเทียมด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1

1.2 นำสารสกัดกระเทียมที่ได้ไปทำให้เข้มข้นโดยการระเหยเอาน้ำออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 60°C ความดันบรรยากาศ 100 มิลลิบาร์

1.3 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดกระเทียม โดยใช้สารสกัดกระเทียมเข้มข้นในข้อ 1.2 จำนวน 10 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำจัดอออนเป็น 100 มล. นำสารสกัดที่เจือจางแล้ว 10 มล. ปรับปริมาตรด้วย 50% เมทานอลเป็น 50 มล. หมุนเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอนออก สารละลายใสที่ได้กรองผ่านกระดาษกรองและวิเคราะห์ด้วย HPLC

2. วิธีวิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน

สารละลายมาตรฐานอัลลิซินสังเคราะห์จากการออกซิไดซ์ 0.01 mol Diallyl disulfide ด้วย 0.01 mol m-chloroperbenzoic acid ในสารละลาย Dichloromethane ทำให้เป็นกลาง แยกน้ำและตัวทำละลายออก (Bocchini et al., 2001) และนำสารละลายอัลลิซินไปแยกด้วยการทำ Thin Layer Chromatography (TLC) บนแผ่น Silica Gel 60 PF₂₅₄ ค่า R_f ของอัลลิซินเท่ากับ 0.3 ละลายอัลลิซินด้วย Chloromethane และระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 20°C ความดันบรรยากาศ 100 มิลลิบาร์ อุณหภูมิเครื่องควบแน่น 2°C

(ดัดแปลงจาก Villaton, 2001) ซึ่งน้ำหนักและยืนยันความเข้มข้นด้วยการทำปฏิกิริยากับ 4-Mercaptopyridine แล้ววัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer (ดัดแปลงจาก Miron et al., 2002)

3. วิธีวิเคราะห์ปริมาณสาร

วิธีวิเคราะห์แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือวิธีแบบตรง (Direct method) และวิธีอ้อม (Indirect method) วิธีตรงวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC และใช้สารละลายมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลลิซินวิธีทางอ้อมอาศัยการทำปฏิกิริยาของหมู่ Thiosulfinate กับ 4-Mercaptopyridine แล้ววัดความเข้มของสีโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer (Perkin-elmer) โดยทั้ง 2 วิธี ใช้วิธีในการเตรียมตัวอย่างเหมือนกันและสามารถวิเคราะห์ไปพร้อมกันได้ โดยวิธีที่วิเคราะห์ด้วย HPLC จะรายงานผลเป็นปริมาณอัลลิซินและวิธีวิเคราะห์ด้วย Spectrophotometer ถ้าใช้วิเคราะห์ในสารละลายมาตรฐานอัลลิซินจะรายงานผลเป็นปริมาณอัลลิซิน เนื่องจากผ่านการแยกสารด้วย Thin Layer Chromatography มาแล้ว แต่ถ้าวิเคราะห์ในตัวอย่างจะรายงานผลเป็นปริมาณ Total thiosulfinate (ดัดแปลงจาก Miron et al., 2002) ในการทดลองใช้วิธีอ้อมโดยสภาวะในการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ตัวเครื่องประกอบด้วยปั๊ม (Water™ 600 Controller), Auto sample (Water™ 717), UV Visible detector (Water™ 486) ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร, Column Nova-pak C18 (3.9 x 150 mm) ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (Mobile phase) ใช้ 50% เอทานอล อัตราการไหล (Flow rate) 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิช่องพักตัวอย่าง 4°C สภาวะในการวิเคราะห์ด้วย Spectrophotometer ความยาวคลื่น 324 นาโนเมตร

4. การศึกษาผลการเก็บรักษาต่อคุณภาพของสารสกัดกระเทียม

โดยการนำสารสกัดกระเทียมในข้อ 1 บรรจุในขวดสีชา ปิดฝาขวดให้แน่น นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2°C) ทำการสุ่มตัวอย่างสารสกัดกระเทียมมาตรวจสอบปริมาณ อัลลิซินทุก ๆ 15 วัน ทำการทดลอง

2 ข้ำ และวางแผนการทดลองแบบสุ่มโดยสมบูรณ์ (Completely Randomized Design)

ผลการทดลองและวิจารณ์

สารสกัดกระเทียมเตรียมจากน้ำคั้นกระเทียมสด 150 กรัม ทำให้เข้มข้นโดยการระเหยที่อุณหภูมิ 60°C ความดันบรรยากาศ 100 มิลลิบาร์ พบว่าสารละลายเข้มข้นมีปริมาณลดลงอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณอัลลิซินในกระเทียมสด (561.05 มิลลิกรัม/100 กรัม) เนื่องจาก อัลลิซินเป็นสารที่ไม่เสถียรและไม่ทนความร้อน จึงเกิดการสลายตัว งานวิจัยของ Ibert et al. (1990) พบว่าการแตกตัวของอัลลิซินไปเป็นสารอื่นขึ้นอยู่กับความเป็นขั้วของสารละลาย ระยะ เวลา และ อุณหภูมิในการเก็บ ถ้าเก็บกระเทียมบดไว้ในน้ำหรือ แอลกอฮอล์อัลลิซินจะแตกตัวให้สารพวกไตรซัลไฟด์เป็นหลัก ถ้าเก็บในสารที่ไม่มีขั้วเช่นน้ำมันถั่วเหลืองจะแตกตัวให้สารพวก Dithiins และ Ajoenes เป็นสารหลักและพบว่าถ้าเก็บกระเทียมไว้ในสารละลายที่ไม่มีขั้ว (Non-polar) อัลลิซินจะแตกตัวเร็วขึ้นโดยอัลลิซินจะแตกตัวหมดภายใน 48 ชั่วโมง ถ้าเก็บในน้ำหรือ แอลกอฮอล์สามารถเก็บไว้ได้นานกว่าแต่มีปริมาณอัลลิซินเหลือน้อยกว่า 20% ของปริมาณอัลลิซินเริ่มต้นเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 9 วัน และหลัง 40 วัน ไม่พบอัลลิซินและสารที่แตกตัวมาจากอัลลิซิน ในการศึกษาอายุการเก็บของสารสกัดกระเทียมเข้มข้นพบว่าหลังจากเก็บกระเทียมไว้ 15 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C) มีปริมาณอัลลิซินเหลืออยู่ 51.88% ของปริมาณอัลลิซินเข้มข้นเริ่มต้น และไม่พบปริมาณอัลลิซินเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 30 วัน ดังแสดงในตารางที่ 1 อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Ibert et al. (1990) พบว่าสารละลายกระเทียมเข้มข้นในการทดลองนี้สามารถเก็บไว้ได้นานกว่า โดยในงานวิจัยของ Ibert et al. (1990) อัลลิซินแตกตัวไปเกือบหมดเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 9 วัน

เมื่อนำข้อมูลในตารางที่ 1 มาหาอันดับของปฏิกิริยา (order of reaction) ในสมการที่ (3) และ (5) สำหรับปฏิกิริยาอันดับศูนย์และปฏิกิริยาอันดับหนึ่งตามลำดับ พบว่าปฏิกิริยาการเสื่อมสลายของอัลลิซินในสารสกัดกระเทียมเข้มข้นเป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับศูนย์ ดังแสดงในตารางที่ 2 และสมการที่ (6) โดยมีค่า $A_0 = 27.31$ มิลลิกรัม/100 มิลลิกรัม ค่าคงที่ของอัตราเร็วของปฏิกิริยา (k) มีค่า - 0.90467 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สัมพันธ์สูงมาก ($R^2=0.99976$)

$$A_c = 27.31 - 0.9067 t \quad (6)$$

โดย

$$t = \text{เวลา (วัน)}$$

สรุปผลการทดลอง

1. การศึกษาหาปริมาณอัลลิซินในสารสกัดกระเทียมเข้มข้น

อัลลิซินเป็นสารที่ไม่เสถียร ไม่ทนต่อความร้อนและสารละลายทุกชนิด ดังนั้นการนำสารสกัดกระเทียมมาทำให้เข้มข้นขึ้นโดยใช้ความร้อน จึงทำให้อัลลิซินสลายตัวและมีปริมาณลดลงอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับกระเทียมสด และเมื่อนำมาหาอายุการเก็บพบว่า เมื่อเวลา ผ่านไป 15 วัน มีปริมาณอัลลิซินเหลืออยู่ 51.88% ของปริมาณอัลลิซินเริ่มต้นและไม่พบปริมาณอัลลิซินเมื่อเก็บไว้นาน 30 วัน

2. การศึกษาอันดับของปฏิกิริยา

พบว่าการเสื่อมสลายของสารสกัดกระเทียมเข้มข้นเป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับศูนย์ โดยมีค่า $k = -0.90467$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สัมพันธ์สูง ($R^2 = 0.99976$)

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของทุนอุดหนุนประเภทเงินอุดหนุนทั่วไปจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น ผู้ทำการวิจัยขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

นภาพรณ นพรัตน์นารณ์ .2545. แนวทางการสร้างอาหารไทยเป็นอาหารหลักโลกในสิบปีข้างหน้า. อักษรสยามการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

Bocchini, P., Andalo, C., Pozzi, R. Galletti, G.C. and Antonelli, A. 2001. Determination of diallyl thiosulfinate (allicin) in garlic (*Allium sativum* L.) by high-performance liquid chromatography with column photochemical reactor. Analytical Chemical Acta 441: 37-43.

Cetron, M.J., William, J.A. and De Micco, F.J. 1996. Restaurant renaissance : current and trends in food service. The Futurist 30 :8-12.

Charm, E. 1978. The Fundamentals of Food Engineering. 3rd ed. Westport, Connecticut: AVI Publishing Co., INC.

Han, J., Lawson, L., Han, G. and Han, P.A. 1995. A Spectrophotometric method for quantitative determination of allicin and total garlic thiosulfinate. Analytical Biochemistry 225:157-160.

Ibert, B., Winkler, G. and Knobloch, K. 1990. Production of allicin transformation : ajoenes and dithiins characterization and their determination by HPLC. Planta Med 56:202-211.

Krest, I. and Keusgen, M. 1999. Quality of herbal remedies from *Allium sativum* : differences between allinase from garlic powder and fresh garlic. Planta Med 65(2) : 139-143.

Miron, T., Shin, I., Feigenblat, G., Weiner, L., Mirelman, D. and Wilchek, M. 2002. A Spectrophotometric assay for allicin, alliin and alliinase (alliin lyase) with chromogenic thiol: reaction of 4-mercaptopyridine with thiosulfinate. Analytical Biochemistry 307 : 76-83.

Ramalakshmi, K., Prabhakara, R. and Raghvan, B. 1999. Effect of storage on the quality of stabilized garlic powder. Indian Spices 34(4): 5-7.

Tumer, L. 1997. Food for the next millennium, top 10 super foods. Let.s Lie. แปลโดย จัตรตระกูลเจียจันทร์พงษ์. 2544. อาหารสำหรับสหัสวรรษหน้า 10 สุดยอดอาหาร. อาหารสุขภาพและสุขภาพ : 25-31.

Villaton, G. 2001 Synthesis of allicin and purification by solid-phase extraction. Analytical Biochemistry 290 : 376-378.

ตารางที่ 1 ปริมาณอัลลิซินในสารสกัดกระเทียม

อายุการเก็บ (วัน)	ปริมาณอัลลิซิน (มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร)
0	27.14 ± 0.71
15	14.08 ± 0.42
30	ไม่พบ

ตารางที่ 2 ลำดับชั้นของปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงอัลลิซินในสารสกัดกระเทียม

ลำดับชั้น	A_0 (มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร)	k	R^2
ลำดับชั้นที่ศูนย์ (Zero order)	27.31	-0.90467	-0.99976
ลำดับชั้นที่ 1 (First order)	257.56	-0.49380	-0.88496