



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการลดต้นทุนการผลิตและการเพิ่มมูลค่าของเหลือทิ้งในกระบวนการ
ผลิตแคะโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ
โครงการย่อยเรื่อง ความคงตัวต่อความร้อน และอายุการเก็บรักษาของสีผสม
อาหาร ผลิตจากแคะโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ

โดย ผศ.ดร.พัชรินทร์ ระวียัน

กุมภาพันธ์ 2551

สัญญาเลขที่ RDG4920053

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการลงทุนการผลิตและการเพิ่มมูลค่าของเหลือทิ้งในกระบวนการ
ผลิตแโครทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ
โครงการย่อยเรื่อง ความคงตัวต่อความร้อน และอายุการเก็บรักษาของ
สปีผสมอาหาร ผลิตจากแโครทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ

ผู้วิจัย

ผศ. ดร. พัทรินทร์ ระวียัน

สังกัด

คณะอุตสาหกรรมเกษตร มช.

ชุดโครงการปาล์มน้ำมัน

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
บทสรุปผู้บริหาร	4
บทคัดย่อภาษาไทย	6
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	7
เนื้อหางานวิจัย	
บทที่ 1 หลักการและเหตุผล	8
บทที่ 2 สารสำคัญจากเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	11
บทที่ 3 วัตถุประสงค์และวิธีการศึกษา	45
บทที่ 4 ผลการศึกษาและวิจารณ์	54
เอกสารอ้างอิง	78
ภาคผนวก ก	86
ภาคผนวก ข	90
ภาคผนวก ค	94
ภาคผนวก ง	101

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 ปริมาณของลูเทอโนแบบต่างๆ และความชื้นในผักสดและผักที่ผ่านการให้ความร้อน	25
2.2 ปริมาณของซีแซนทีนแบบต่างๆ และความชื้นในข้าวโพดสดและข้าวโพดบรรจุกระป๋อง	26
2.3 อัตราการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ที่เป็นโปรวิตามินเอ (บีตาแคโรทีน และบีตาคริปโตแซนทีน) ในตัวอย่างโอลิโอเรซิน 4 ชนิด ที่ได้รับความร้อน 3 ระดับ	29
2.4 ค่า Power ของสารประกอบฟีนอลิก ในการป้องกันการซีดจางของสี	37
4.1 ความเข้มข้นของบีตาแคโรทีน และสมบัติทางเคมีของผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน	55
4.2 ความเข้มข้นของบีตาแคโรทีน และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน	56
4.3 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนีต่อมิลลิตร) ในผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ระหว่างการเก็บรักษา 140 วัน	62
4.4 ปริมาณเชื้อยีสต์และรา (โคโลนีต่อมิลลิตร) ในผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ระหว่างการเก็บรักษา 140 วัน	63
4.5 ค่าคงที่ของอัตรา (k) และ ค่า D ที่อุณหภูมิต่างๆ ของผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน	67
4.6 ค่าพลังงานกระตุ้น และค่า z ของตัวอย่างสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ในช่วงอุณหภูมิ 140-160 องศาเซลเซียส	69
4.7 ค่าคงที่ของอัตรา (k) และ ค่า D ที่อุณหภูมิต่างๆ ของผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน	73
4.8 ค่าพลังงานกระตุ้น และค่า z ของตัวอย่างสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ในช่วงอุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส	75

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 หมู่ปลายที่พบในแคโรทีนอยด์ธรรมชาติแบบต่างๆ ทั้ง 7 แบบ	11
2.2 โครงสร้างของไฮดรอกซีแคโรทีนอยด์ (Hydroxycarotenoids) บางชนิด	12
2.3 โครงสร้างของอีพอกซีแคโรทีนอยด์ (Epoxy-carotenoids) บางชนิด	13
2.4 โครงสร้างของแคนทาแซนทิน (Canthaxanthin)	14
2.5 โครงสร้างของแคโรทีนอยด์แบบอะไซคลิก (Acyclic) บางชนิด	14
2.6 โครงสร้างของแคโรทีนอยด์แบบไซคลิก (Cyclic) บางชนิด	15
2.7 พันธะคู่ของแคโรทีนอยด์รูปทรานส์และซิส	16
2.8 เส้นกราฟการดูดกลืนแสงในช่วงที่มองเห็นได้ของไลโคปีน แกมมาแคโรทีน บีตาแคโรทีน และแอลฟาแคโรทีนในปิโตรเลียมอีเทอร์	17
2.9 เส้นกราฟการดูดกลืนแสงของซิกมาแคโรทีน, ไฟโตฟลูอิน และไฟโตอินโดย Mobile phase คือ อะซีโตไนไตร: เอทิลอะซิเตต: เมทานอล (85:10:5)	18
2.10 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของบีตาแคโรทีน กับ Peroxy radicals	21
2.11 ผลึกภัณฑ์เนื่องจากปฏิกิริยา Autoxidation ของบีตาแคโรทีน	22
2.12 โครงสร้างไอโซเมอร์ทั่วไปของบีตาแคโรทีน	24
2.13 โครงสร้างทางเคมีของลูเทนินและซีแซนทิน	26
2.14 การเปลี่ยนแปลงของสีเหลือง (b/b_0) ในตัวอย่างน้ำมันสับปะรดผ่านความร้อนที่ ระดับต่างๆ	27
2.15 การเกิดอีพอกซีแคโรทีนอยด์จากบีตาแคโรทีน และทรานส์ฟอร์เมชันของ ไวโอลาแซนทินในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาอาหาร	28
2.16 ปริมาณบีตาแคโรทีนของ Red palm olein ที่ได้รับความร้อน	30
2.17 กลไกการสลายตัวของแคโรทีนอยด์	31
2.18 การเกิดอะโปแคโรทีนอยด์จากบีตาแคโรทีน	31
2.19 โครงสร้างของแอลฟาโทโคเฟอร์อล (α -Tocopherol)	32
2.20 โครงสร้างของ BHA	33
2.21 โครงสร้างของ BHT	34
2.22 โครงสร้างของ TBHQ	35

2.23	โครงสร้างของ PG	35
2.24	ค่าเพอร์ออกไซด์ (PV) ของ 10% O/W Emulsion ที่เติมสารแอนติออกซิแดนต์ชนิดต่างๆ 50 ไมโครโมลาร์ และเก็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส	36
2.25	กราฟเส้นตรงของปฏิกิริยาอันดับต่างๆ	43
4.1	การเปลี่ยนแปลงปริมาณบีตาแคโรทีนของผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ซึ่งทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส	58
4.2	การเปลี่ยนแปลงค่าของกรดของผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ซึ่งทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส	59
4.3	การเปลี่ยนแปลงค่าเพอร์ออกไซด์ของผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ซึ่งทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส	59
4.4	การเปลี่ยนแปลงปริมาณบีตาแคโรทีนของผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชันซึ่งทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 ± 2 องศาเซลเซียส	61
4.5	การสลายตัวเนื่องจากความร้อนของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันในชุดควบคุมซึ่งไม่มีการเติมสารแอนติออกซิแดนต์ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ	65
4.6	การสลายตัวเนื่องจากความร้อนของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ในชุดที่มีการเติมสาร BHA ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ	65
4.7	การสลายตัวเนื่องจากความร้อนของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ในชุดที่มีการเติมสาร BHT ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ	66
4.8	การสลายตัวเนื่องจากความร้อนของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ชุดที่มีการเติมสาร TBHQ ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ	66
4.9	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln k$ กับ $1/T$ ของบีตาแคโรทีนในตัวอย่างสัผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน	68
4.10	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log D$ กับอุณหภูมิ ของบีตาแคโรทีนในตัวอย่างสัผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน	68

4.11 การสลายตัวเนื่องจากความร้อนของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัพสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ในชุดควบคุมซึ่งไม่มีการเติมสารแอนตีออกซิแดนท์ ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ	71
4.12 การสลายตัวเนื่องจากความร้อนของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัพสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ในชุดที่มีการเติมสาร BHA ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ	71
4.13 การสลายตัวเนื่องจากความร้อนของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัพสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ในชุดที่มีการเติมสาร BHT ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ	72
4.14 การสลายตัวเนื่องจากความร้อนของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัพสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ในชุดที่มีการเติมสาร TBHQ ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ	72
4.15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln k$ กับ $1/T$ ของบีตาแคโรทีนในตัวอย่างสัพสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน	74
4.16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log D$ กับอุณหภูมิ ของบีตาแคโรทีนในตัวอย่างสัพสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน	75
4.17 การเปลี่ยนแปลงปริมาณบีตาแคโรทีนของผลิตภัณฑ์สัพสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส	77

สัญญาเลขที่ RDG4920053

โครงการ “การลดต้นทุนการผลิตและการเพิ่มมูลค่าของเหลือทิ้งในกระบวนการผลิตแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ”

โครงการย่อยเรื่อง ความคงตัวต่อความร้อน และอายุการเก็บรักษาของสีผสมอาหาร ผลิตจากแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ

สรุปรายงานฉบับสมบูรณ์

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 กันยายน พ.ศ. 2549 ถึงวันที่ 29 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2551

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน: ศศ. ดร. พชรินทร์ ระวัง

หน่วยงาน: ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สถานที่ใช้ทำการวิจัยและรวบรวมข้อมูล (Location)

ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย (Duration)

ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัยทั้งหมด 1 ปี 6 เดือน

- เริ่มต้นจากเดือน กันยายน 2549 ถึง สิงหาคม 2550
- ได้รับการขยายเวลาถึง 29 กุมภาพันธ์ 2551

วัตถุประสงค์ของโครงการ

- เพื่อทดสอบผลของสารแอนติออกซิแดนท์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ ที่มีต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชันและชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน
- เพื่อทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน และชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ที่อุณหภูมิในการแปรรูปต่างๆ
- เพื่อศึกษาผลของการพ่นแก๊สไนโตรเจนต่อความคงตัวต่อความร้อนของผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์

หมายเหตุ วัตถุประสงค์ข้อ 3 ได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมจากที่เสนอในโครงร่างงานวิจัย เพื่อให้งานวิจัยสมบูรณ์ขึ้น

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1. ได้สารแอนติออกซิแดนต์ที่เหมาะสม ในการยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารที่ผลิตจากแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ
2. ทราบความคงตัวต่อความร้อน ที่ระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการแปรรูปอาหารต่างๆ
3. สามารถนำข้อมูลไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตที่เกี่ยวข้องต่อไปได้

กิจกรรมที่ดำเนินการมาและผลที่ได้รับตลอดโครงการ

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
1. การตรวจเอกสารที่เกี่ยวข้อง	ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับน้ำมันปาล์มดิบ การสกัดแคโรทีนอยด์ และการเตรียมผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารที่อยู่ในรูปน้ำมัน และอิมัลชัน	ปฏิบัติกิจกรรมตามที่วางแผนไว้	ได้ข้อมูลพื้นฐานในการทำงานวิจัย
2. ศึกษาผลของการเติมสารแอนติออกซิแดนต์ต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์	ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิดที่เติมสาร BHA, BHT, TBHQ และชุดควบคุม ระหว่างการเก็บรักษา 6 เดือน	ปฏิบัติกิจกรรมตามที่วางแผนไว้	ทราบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษา 6 เดือน
3. ศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิดที่อุณหภูมิในการแปรรูปต่างๆ	ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่ระดับต่างๆ	ปฏิบัติกิจกรรมตามที่วางแผนไว้	ทราบความคงตัวต่อความร้อนของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิด

4. ศึกษาผลของการพ่นแก๊สไนโตรเจนต่อความคงตัวต่อความร้อนของผลิตภัณฑ์	เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์ที่มีการพ่นแก๊สไนโตรเจน กับผลิตภัณฑ์ที่ไม่พ่นแก๊ส เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่ระดับเดียวกัน	กิจกรรมนี้ได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมจากที่เสนอในโครงร่างงานวิจัยเพื่อให้งานวิจัยสมบูรณ์ขึ้น	ทราบความแตกต่างของความคงตัวต่อความร้อนระหว่างผลิตภัณฑ์ที่พ่นแก๊สกับผลิตภัณฑ์ที่ไม่พ่นแก๊สไนโตรเจน
--	---	---	---

ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะอื่นๆ ต่อสกว.

.....

ลงนาม.....

(ผศ. ดร. พัชรินทร์ ระวียัน)

วันที่.....

บทสรุปผู้บริหาร

งานวิจัยเรื่อง ความคงตัวต่อความร้อนและอายุการเก็บรักษาของสีผสมอาหารผลิตจากแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ มีวัตถุประสงค์หลัก เพื่อ (1) ทดสอบผลของสารแอนติออกซิแดนท์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ ที่มีต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชันและชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน (2) เพื่อทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชันและชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ที่อุณหภูมิในการแปรรูปต่างๆ (3) เพื่อศึกษาผลของการพ่นแก๊สไนโตรเจนต่อความคงตัวต่อความร้อนของผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ซึ่งผลการศึกษาสรุปได้ดังนี้

การศึกษาผลของสารแอนติออกซิแดนท์สามชนิด คือ BHA, BHT และ TBHQ ต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ที่สกัดจากน้ำมันปาล์มดิบ ทั้งชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันและชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส สำหรับผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน และ 5 ± 2 องศาเซลเซียส สำหรับผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน พบว่าเมื่อทำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ภายในขวดสีชา ภายใต้สภาวะของแก๊สไนโตรเจน เป็นระยะเวลา 140 วัน พบว่าปริมาณบีตาแคโรทีนของผลิตภัณฑ์ที่ศึกษาทั้งหมดเปลี่ยนแปลงไป น้อยกว่าร้อยละ 5 ของปริมาณบีตาแคโรทีนเริ่มต้น โดยผลิตภัณฑ์ชุดที่เติมสารแอนติออกซิแดนท์กับชุดควบคุมให้ผลไม่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้ค่าของกรดและค่าเพอร์ออกไซด์ของผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันก็มีค่าไม่แตกต่างจากค่าเริ่มต้นด้วย ($p \leq 0.05$) ส่วนปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ และยีสต์ รา ของผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชันก็มีแนวโน้มลดลงจากปริมาณเชื้อเริ่มต้น

จากการศึกษาความคงตัวต่อความร้อนของผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ที่สกัดจากน้ำมันปาล์มดิบ ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ที่ระดับอุณหภูมิ 140-160 องศาเซลเซียส พบว่า การสลายตัวของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์เป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (first-order reaction) มีค่า $R^2 > 0.83$ มีค่าพลังงานกระตุ้น (E_a) อยู่ในช่วง 67.40-105.94 กิโลจูลต่อโมล มีค่า R^2 0.87 – 0.98 และได้ค่า z อยู่ในช่วง 32-51 องศาเซลเซียส ($0.87 < R^2 < 0.98$) โดยผลิตภัณฑ์ที่เติมสาร BHT จะให้ค่า z ต่ำที่สุดเท่ากับ 32.36 องศาเซลเซียส

จากการศึกษาความคงตัวต่อความร้อนของผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ที่สกัดจากน้ำมันปาล์มดิบ ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ที่ระดับอุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส พบว่า การสลายตัวของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์เป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ($R^2 > 0.82$) มีค่าพลังงานกระตุ้นอยู่ในช่วง 101.07-125.48 กิโลจูลต่อโมล ($0.89 < R^2 < 0.97$) และค่า z อยู่ในช่วง 21-26

องศาเซลเซียส ($0.89 < R^2 < 0.97$) โดยผลิตภัณฑ์ที่เติมสาร BHT จะให้ค่า z ต่ำที่สุดเท่ากับ 20.66 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ค่า D และ z ที่ได้นี้สามารถนำไปคำนวณความคงตัวของปีตาแคโรทีนที่อุณหภูมิอื่นได้ต่อไป

จากการศึกษาผลของการพ่นแก๊สไนโตรเจนต่อความคงตัวต่อความร้อนของปีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส พบว่า ปริมาณปีตาแคโรทีนในตัวอย่างชุดที่พ่นด้วยแก๊สไนโตรเจน ลดลงจากปริมาณเริ่มต้นน้อยกว่าร้อยละ 25 เมื่อให้ความร้อนเป็นระยะเวลา 20 ชั่วโมง ในขณะที่ตัวอย่างชุดที่ไม่พ่นด้วยแก๊สไนโตรเจน มีปริมาณปีตาแคโรทีนลดลงมากกว่าร้อยละ 85 เมื่อให้ความร้อนเพียง 8 ชั่วโมง สำหรับชุดควบคุม และ 16 ชั่วโมง สำหรับชุดที่เติมสารแอนติออกซิแดนท์ทั้งหมด แสดงว่าปีตาแคโรทีนจะมีความคงตัวต่อความร้อนมาก เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ดังนั้น ควรทำการเติม BHT 0.02% ในสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ทั้งในรูปน้ำมันและรูปอิมัลชัน โดยบรรจุสีในขวดสีชา และพ่นด้วยแก๊สไนโตรเจนก่อนปิดฝา เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษา และทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวต่อความร้อนมากขึ้น

บทคัดย่อ

การศึกษาความคงตัวต่อความร้อนและอายุการเก็บรักษาของสีผสมอาหารผลิตจากแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ ได้ทำการศึกษาในสีผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน และชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน โดยเปรียบเทียบผลของการเติมสารแอนติออกซิแดนท์สังเคราะห์สามชนิด ได้แก่ BHA, BHT และ TBHQ กับผลิตภัณฑ์ที่ไม่เติมสารแอนติออกซิแดนท์ การเปลี่ยนแปลงปริมาณปีตาแคโรทีนในสีผสมอาหารวิเคราะห์โดยใช้วิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี

สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ในรูปน้ำมันและรูปอิมัลชัน ที่เก็บรักษาในขวดสีชา ฟันแก๊สไนโตรเจน ซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 30 ± 5 และ 5 ± 2 องศาเซลเซียส ตามลำดับ มีความคงตัวสูงตลอดช่วงเก็บรักษา โดยปริมาณปีตาแคโรทีนในทุกสิ่งทดลองมีปริมาณลดลงน้อยกว่าร้อยละ 5 เมื่อเก็บนาน 140 วัน ($p \leq 0.05$) ค่าของกรดและค่าเพอร์ออกไซด์ของสีในรูปน้ำมัน มีค่าไม่แตกต่างจากค่าเริ่มต้น ($p \leq 0.05$) และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา ของสีในรูปอิมัลชันมีแนวโน้มลดลงจากปริมาณเริ่มต้น

การสลายตัวของปีตาแคโรทีนในสีที่อยู่ในรูปน้ำมัน ที่อุณหภูมิ 140-160 องศาเซลเซียส เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (first-order reaction) มีค่าพลังงานกระตุ้น (E_a) 67.40-105.94 กิโลจูลต่อโมล และได้ค่า z เท่ากับ 32-51 องศาเซลเซียส โดยผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัวจากมากไปหาน้อย คือผลิตภัณฑ์ที่เติม BHT, TBHQ, BHA และชุดควบคุม ซึ่งจะให้ค่า z เท่ากับ 32.36, 36.63, 39.22 และ 51.02 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

การสลายตัวของปีตาแคโรทีนในสีที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ที่อุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง มีค่า E_a 101.07-125.48 กิโลจูลต่อโมล และได้ค่า z เท่ากับ 21-26 องศาเซลเซียส โดยผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัวจากมากไปหาน้อย คือผลิตภัณฑ์ที่เติม BHT, TBHQ, BHA และชุดควบคุม ซึ่งจะให้ค่า z เท่ากับ 20.66, 22.27, 22.32 และ 25.64 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ดังนั้นการเติม BHT จะช่วยให้ปีตาแคโรทีนในสีทั้งสองชนิดมีความคงตัวดีที่สุด และการพ่นไนโตรเจนจะช่วยให้สีมีความคงตัวต่อความร้อนมากขึ้น

ABSTRACT

Thermal stability and shelf-life of food colorant produced from carotenoids from crude palm oil have been studied in oil dispersion and emulsion forms. Effects of synthetic antioxidants, BHA, BHT and TBHQ were compared with control (no antioxidant). Change of β -carotene concentration in food colorant was evaluated by UV/vis spectroscopy.

Food colorant from carotenoids in oil dispersion and emulsion form, packed in dark vial flushing with N_2 and stored at 30 ± 5 and $5\pm 2^\circ\text{C}$, respectively was stable during storage. β -carotene concentrations was decreased less than 5% ($p \leq 0.05$) during 140 days storage in every treatment. Acid value and peroxide value changes was not significant ($p \leq 0.05$). The amount of total plate count and yeast-mold in emulsion decreased from the initial amount.

β -carotene degradation at $140\text{-}160^\circ\text{C}$ in oil dispersion followed the first-order reaction kinetics. The activation energy (E_a) and z value was found to be $67.40\text{-}105.94$ kJ/mol and $32\text{-}52^\circ\text{C}$ respectively. The order of product stability was $\text{BHT} > \text{TBHQ} > \text{BHA} > \text{control}$. The z values were found to be 32.36 , 36.63 , 39.22 and 51.02°C , respectively.

β -carotene degradation at $90\text{-}100^\circ\text{C}$ in emulsion followed the first-order reaction kinetics. The activation energy (E_a) and z value was found to be $101.07\text{-}125.48$ kJ/mol and $21\text{-}26^\circ\text{C}$, respectively. The order of product was $\text{BHT} > \text{TBHQ} > \text{BHA} > \text{control}$. The z values were found to be 20.66 , 22.27 , 22.32 and 25.64°C , respectively. Therefore, addition of BHT will improve the stability of β -carotene in 2 form of colorant and N_2 flushing will improve thermal stability of colorant.

บทที่ 1

หลักการและเหตุผล

น้ำมันปาล์มดิบ ได้จากปาล์มน้ำมันซึ่งเป็นพืชน้ำมันที่มีบทบาทสำคัญในธุรกิจน้ำมันพืชเพื่อการบริโภค การผลิตปาล์มน้ำมันขยายตัวอย่างรวดเร็วในช่วง 3 ทศวรรษที่ผ่านมา อีกทั้งรัฐบาลยังมียุทธศาสตร์อุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันปี 2547-2572 เพื่อมุ่งสู่การเป็นผู้ผลิต และส่งออกน้ำมันปาล์มเคียงคู่ผู้นำระดับโลกอย่างประเทศมาเลเซีย และอินโดนีเซีย ปัจจุบันประเทศไทยสามารถผลิตน้ำมันปาล์มดิบได้ประมาณปีละ 700,000-800,000 ตัน (ศูนย์วิจัยกสิกรรมไทย, 2547)

น้ำมันปาล์มดิบที่ผลิตได้ จะถูกส่งต่อไปยังโรงกลั่นน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ และนำไปใช้เป็นวัตถุดิบให้กับอุตสาหกรรมต่อเนื่องต่างๆ ได้แก่ อุตสาหกรรมเพื่อการบริโภคในรูปของน้ำมันพืช อุตสาหกรรมสบู่ อุตสาหกรรมของว่างและขนมขบเคี้ยว อุตสาหกรรมเบเกอรี่สำเร็จรูป อุตสาหกรรมนมข้นหวานและนมจืด อุตสาหกรรมครีมเทียม อุตสาหกรรมเนยขาวและเนยเทียม และอุตสาหกรรมอุปโภคอื่นๆ เช่น พลาสติก เครื่องสำอาง น้ำมันหล่อลื่น และยางรถยนต์ เป็นต้น โดยการบริโภคส่วนใหญ่เป็นน้ำมันพืช คิดเป็นร้อยละ 58.6 ของปริมาณน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ทั้งหมด ส่วนที่เหลืออีกร้อยละ 42.4 จะนำไปใช้สำหรับอุตสาหกรรมต่อเนื่องอื่น ทั้งนี้การบริโภคภายในประเทศจะเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 10 ต่อปี นอกจากนี้ น้ำมันปาล์ม ยังประกอบด้วยกรดไขมันหลายชนิด อุดมด้วยวิตามินอี และบีตาแคโรทีน ซึ่งองค์ประกอบต่างๆ เหล่านี้ สามารถสกัด และใช้ประโยชน์เป็นสารตั้งต้นให้กับอุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมที่ใช้โอเลฟินเป็นวัตถุดิบและอุตสาหกรรมอื่นๆ ซึ่งเพิ่มมูลค่าได้อีกหลากหลาย (ศูนย์วิจัยกสิกรรมไทย, 2547)

น้ำมันปาล์มดิบที่มีสีส้มแดงนั้น พบว่ามีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงประมาณ 700-800 ไมโครกรัมต่อกรัม โดยแคโรทีนอยด์ชนิดหลักในน้ำมันปาล์ม คือ บีตาและแอลฟาแคโรทีน ซึ่งมีอยู่ประมาณร้อยละ 90 ของปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดที่มีประมาณ 11 ชนิด (Yap *et al.*, 1997) Dutta *et al.* (2005) ได้กล่าวไว้ว่าในจำนวนแคโรทีนอยด์ที่พบทั้งหมด 500-600 ชนิด มีเพียงประมาณ 24 ชนิดเท่านั้นที่พบในอาหารของมนุษย์ โดยแหล่งของแคโรทีนอยด์ที่สำคัญที่สุด คือ พืชจำพวกผักใบเขียว ผลไม้ เช่น สับปะรด ส้ม มะนาว เกรปฟรุ้ต สตรอเบอร์รี่ มะเขือเทศ และปาปริก้า เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบแคโรทีนอยด์ในดอกไม้ นก แมลง และสัตว์น้ำบางชนิด เช่น กุ้ง และแซลมอน เป็นต้น (Mangels *et al.*, 1993) ในน้ำมันพืชหลายชนิดก็มีแคโรทีนอยด์อยู่ด้วย รวมถึงน้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วลิสง น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันเรปซิด น้ำมันลินสีด น้ำมันมะกอก น้ำมันข้าวบาร์เลย์ น้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน และน้ำมันเมล็ดฝ้าย (NRC, 1989; Goodman, 1984; Zeitlin

et al., 1992) ซึ่งโดยทั่วไปแล้วในน้ำมันพืชเหล่านี้จะมีแคโรทีนอยด์อยู่น้อยกว่า 100 ไมโครกรัมต่อกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับในกลุ่มของน้ำมันพืชที่คนนิยมบริโภค พบว่า น้ำมันปาล์มมีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุด (Jain *et al.*, 1990) โดยมีเรตินอลอีควิวเลนซ์มากกว่าแครอท 15 เท่า และมากกว่ามะเขือเทศ 300 เท่า ทั้งนี้ในการกลั่นน้ำมันปาล์มดิบ พบว่ามีการสูญเสียแคโรทีนอยด์ไปกับสารที่เป็นตัวดูดซับ รวมถึงขั้นตอนการฟอกสีและดูดกลืนด้วยไอน้ำอุณหภูมิสูง เพื่อให้ได้น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ที่มีสีเหลืองใส (Sundram *et al.*, 2003)

แคโรทีนอยด์มีบทบาทสำคัญมากมายในร่างกายมนุษย์ โดยบทบาททางโภชนาการที่สำคัญคือเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ ซึ่งเป็นประโยชน์กับระบบการทำงานของอวัยวะต่างๆ ที่มีความสำคัญในร่างกายของมนุษย์ แคโรทีนอยด์ชนิดที่สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้มากที่สุด คือ บีตาแคโรทีน (Patton *et al.*, 1990; Ibrahim *et al.*, 1991) รวมถึงแอลฟาแคโรทีนและคริปโตแซนทินด้วย (Zeb and Mehmood, 2004) นอกจากนี้แคโรทีนอยด์ยังเป็นแอนติออกซิแดนท์ ช่วยปกป้องเซลล์ และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ ลดการเสี่ยงของโรคต่อกระดูก ทั้งยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของระบบด้านเชื้อโรค (Bendich, 1994) ปกป้องผิวจากการไหม้แดด (Matthews-Roth, 1990) และยับยั้งมะเร็งบางชนิด (Nishino, 1998) โดยมีงานวิจัยจำนวนมาก พบว่าแคโรทีนอยด์หลายชนิดมีประสิทธิภาพในการป้องกัน รักษา และใช้ร่วมกับวิธีเคมีบำบัดหรือรังสีบำบัด ในการรักษาโรคมะเร็ง (Lu *et al.*, 2003; Mannisto *et al.*, 2004; Karp and Tsao, 2003; Van Zandwijk and Hirsch, 2003; Russell, 2004; Kristal, 2004; Murtaugh *et al.*, 2004)

แคโรทีนอยด์ใช้เป็นสารให้สีธรรมชาติ ในผลิตภัณฑ์อาหารคน อาหารสัตว์ และเครื่องสำอาง ซึ่งจะให้สีเหลือง ส้ม และแดงกับผลิตภัณฑ์ (Palace *et al.*, 1999) ซึ่งแคโรทีนอยด์นี้เป็นสีผสมอาหารที่ได้รับอนุญาตจาก Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA, 2005) ให้ใช้ได้ในการหลายชนิด เช่น เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์จากนม เนยเทียม ผลิตภัณฑ์จากผลไม้ ลูกอม ขนมอบ ผลิตภัณฑ์จากเนื้อ ผลิตภัณฑ์จากไข่ และซูป เป็นต้น

สืบเนื่องจากโครงการการสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ ด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อใช้เป็นสีผสมอาหาร โดยพัชรินทร์ และคณะ (2548) ซึ่งได้ผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ 2 ชนิด คือชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน และชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน พบว่าผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารทั้ง 2 ชนิดมีอายุการเก็บรักษาไม่นาน โดยเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้เป็นระยะเวลา 6 เดือน ปริมาณแคโรทีนอยด์ในผลิตภัณฑ์ลดลงร้อยละ 50 และผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชันยังเกิดการแยกชั้นระหว่างส่วนที่เป็นน้ำกับส่วนที่เป็นไขมันอีกด้วย ทั้งนี้โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน มักมีอายุการเก็บรักษาอยู่ระหว่าง 24-36 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง ส่วนผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน มักมีอายุการเก็บรักษาอยู่

ระหว่าง 10-12 เดือน ที่อุณหภูมิ 10-15 องศาเซลเซียส (BASF Corp., 2005; Allied Biotech Corp., 2006)

เนื่องจากอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่งที่ผู้บริโภคคำนึงถึงในการเลือกใช้สัผสมอาหาร ดังนั้นจึงควรทำการพัฒนาสูตรการผลิตของผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิด ทั้งนี้ Rodriguez-Amaya (1999) ได้รายงานไว้ว่าการเติมสารแอนติออกซิแดนท์จะช่วยลดการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ได้ ฉะนั้นการเติมสารแอนติออกซิแดนท์สังเคราะห์ที่เหมาะสม จึงอาจช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวได้ และนอกจากนี้ยังพบว่าในระหว่างกระบวนการผลิตอาหาร โดยทั่วไป ปริมาณของแคโรทีนอยด์ในอาหารจะลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นและอุณหภูมิที่สูงขึ้น (Rodriguez-Amaya, 1999) ฉะนั้นความคงตัวของผลิตภัณฑ์จึงเป็นปัจจัยสำคัญอีกปัจจัยหนึ่งที่ควรทำการศึกษา เพื่อเป็นประโยชน์สำหรับผู้ประกอบการในการนำไปปรับใช้ในอุตสาหกรรมการผลิต และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์ได้ต่อไป ดังนั้นการศึกษานี้จึงได้ทำการศึกษาผลของการเติมสารแอนติออกซิแดนท์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ ต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ ทั้งชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันและชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน และยังได้ศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิระดับต่างๆ ที่ใช้ในการแปรรูปอาหาร เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้สามารถนำไปใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

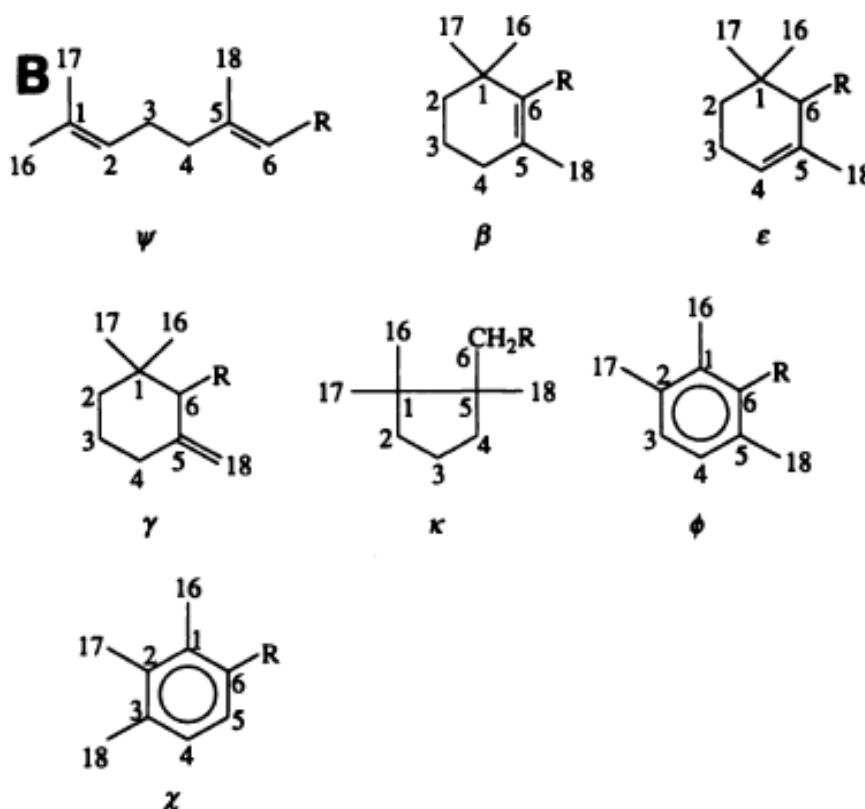
บทที่ 2

สาระสำคัญจากเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โครงสร้างของแคโรทีนอยด์

โดยทั่วไปแคโรทีนอยด์ในอาหารเป็น C_{40} tetraterpenoids ที่เกิดจาก C_5 isoprenoid จำนวน 8 หน่วย รวมตัวกันแบบหัวต่อหาง (Head-to-tail) ขกเว้นตรงส่วนกลางที่มีการจับกันแบบ หางต่อหาง (Tail-to-tail) ทำให้ได้โมเลกุลที่มีลักษณะสมมาตร (Rodriguez-Amaya and Kimura, 2004) สายคาร์บอนนี้สามารถเปลี่ยนแปลงไปได้โดยวิธีต่างๆ ดังนี้ (Britton, 1995)

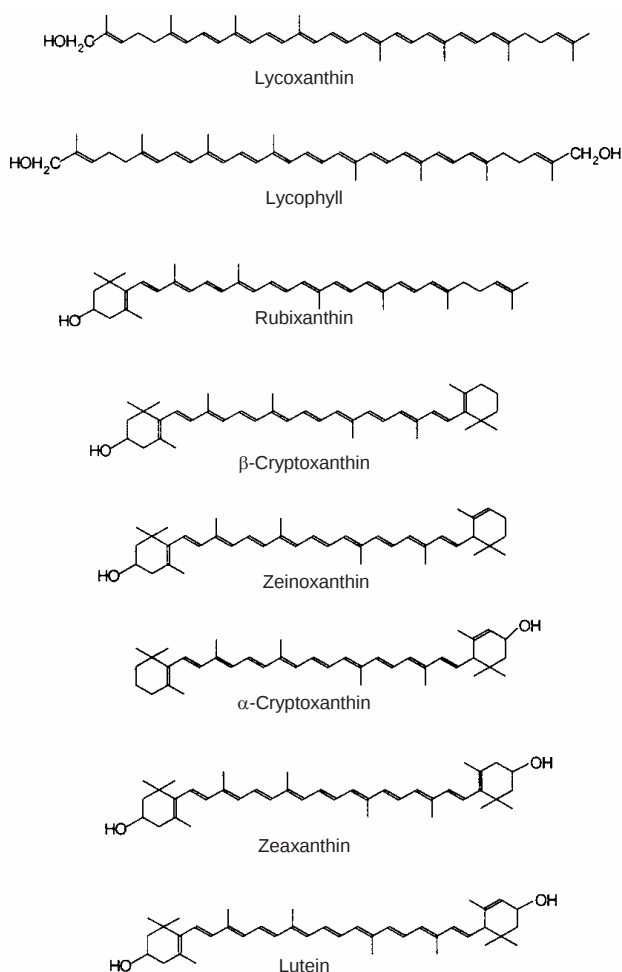
- 1) กระบวนการไซโคลเซชัน (Cyclization) ที่ปลายด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านของโมเลกุล ทำให้เกิดโครงสร้างของหมู่ปลายแบบต่างๆ 7 แบบ ดังภาพ 2.1
- 2) กระบวนการไฮโดรจีเนชัน (Hydrogenation) ที่ระดับต่างๆ
- 3) การเพิ่มหมู่ฟังก์ชันที่มีออกซิเจน



ภาพ 2.1 หมู่ปลายที่พบในแคโรทีนอยด์ธรรมชาติแบบต่างๆ ทั้ง 7 แบบ

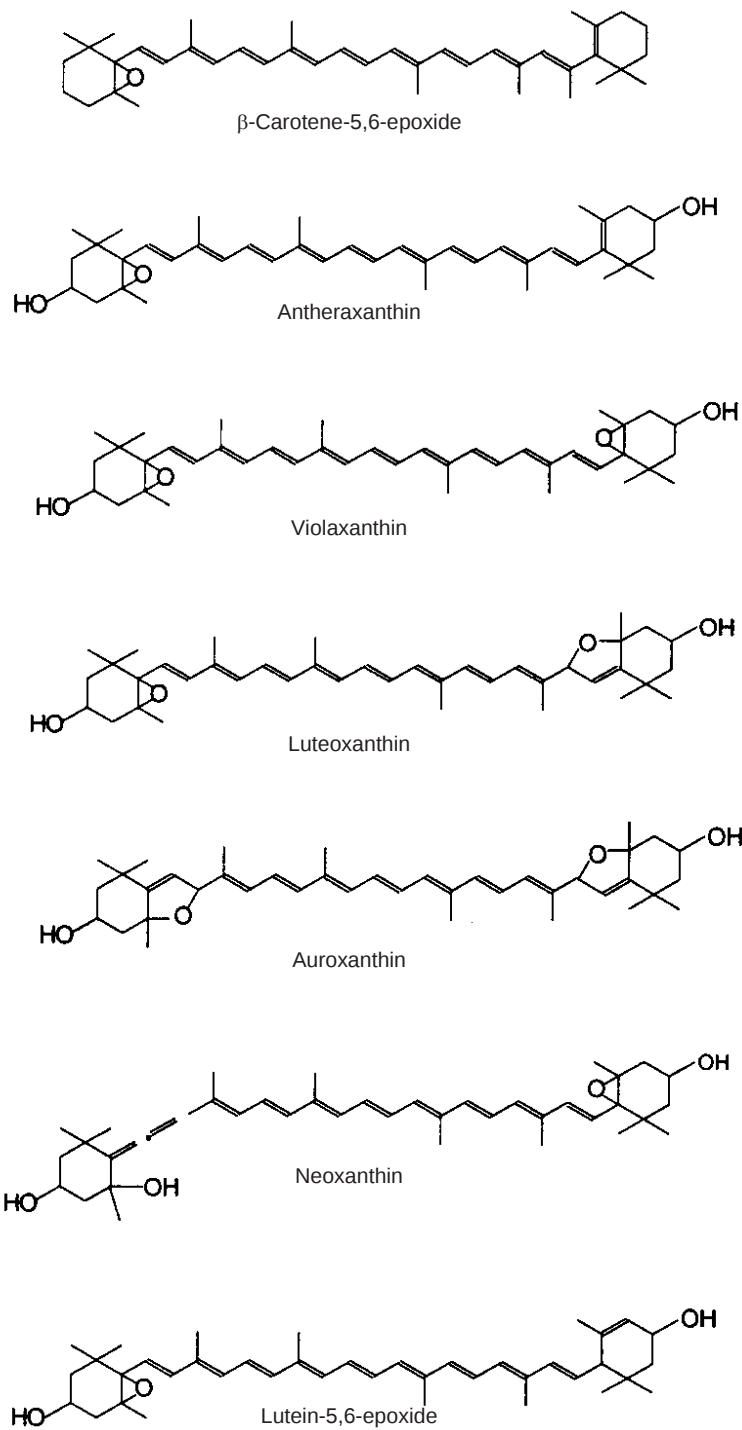
ที่มา: Britton, 1995

แคโรทีนอยด์ที่ประกอบด้วยไฮโดรเจนและคาร์บอน เช่น บีตาแคโรทีนและไลโคพีน มีชื่อเรียกว่าแคโรทีน (Carotenes) และเรียกอนุพันธ์ที่มีออกซิเจนว่าแซนโทฟิลล์ (Xanthophylls) หมู่ของออกซิเจนที่เข้าแทนที่โดยทั่วไป ได้แก่ หมู่ไฮดรอกซี (ภาพ 2.2) หมู่อีพอกซี (ภาพ 2.3) หมู่คีโต (ภาพ 2.4) และหมู่อัลดีไฮด์ แคโรทีนอยด์อาจมีโครงสร้างทั้งแบบอะไซคลิก (ภาพ 2.5) โมโนไซคลิกหรือไดไซคลิก (ภาพ 2.6) (Rodriguez-Amaya and Kimura, 2004) แคโรทีนอยด์บางตัวมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอนน้อยกว่า 40 ตัว ซึ่งเกิดจากการสูญเสียบางส่วนของสาย C_{40} ไป โดยเราจะเรียกสารประกอบที่มีการสูญเสียอะตอมของคาร์บอนที่ส่วนปลายของโมเลกุลว่าอะโปแคโรทีนอยด์ (Apocarotenoids) และเรียกสารประกอบที่มีการสูญเสียอะตอมของคาร์บอนที่ภายในสายคาร์บอนว่านอร์แคโรทีนอยด์ (Norcarotenoids) (Britton, 1995)



ภาพ 2.2 โครงสร้างของไฮดรอกซีแคโรทีนอยด์ (Hydroxycarotenoids) บางชนิด

ที่มา: Rodriguez-Amaya, 2001



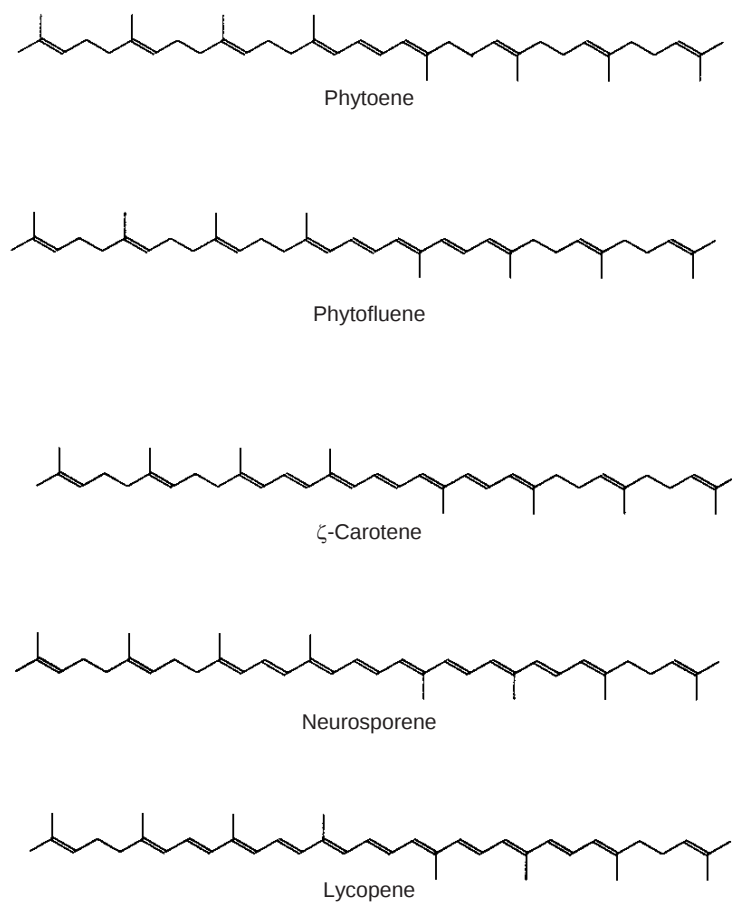
ภาพ 2.3 โครงสร้างของอีพอกซีแคโรทีนอยด์ (Epoxycarotenoids) บางชนิด

ที่มา: Rodriguez-Amaya, 2001



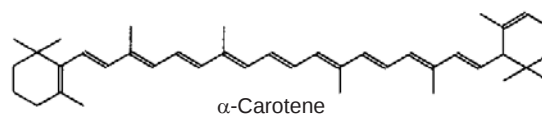
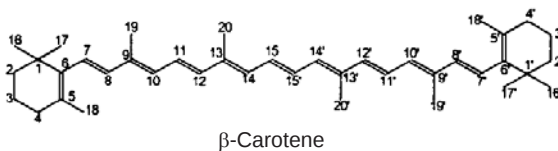
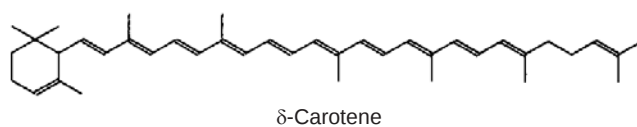
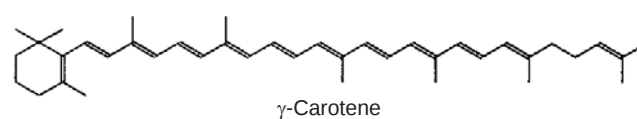
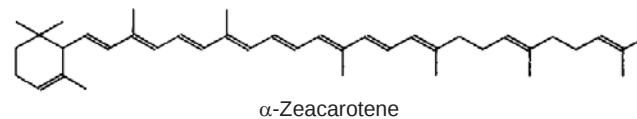
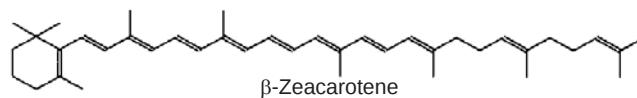
ภาพ 2.4 โครงสร้างของแคนทาแซนทิน (Canthaxanthin)

ที่มา: Rodriguez-Amaya, 2001



ภาพ 2.5 โครงสร้างของแคโรทีนอยด์แบบอะไซคลิก (Acyclic) บางชนิด

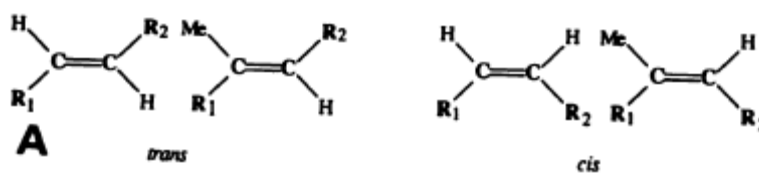
ที่มา: Rodriguez-Amaya, 2001



ภาพ 2.6 โครงสร้างของแคโรทีนอยด์แบบไซคลิก (Cyclic) บางชนิด

ที่มา: Rodriguez-Amaya, 2001

ตามทฤษฎี โครงสร้างที่เป็นพันธะคู่ของแคโรทีนอยด์สามารถมีรูปแบบไอโซเมอร์ได้ 2 รูปแบบ คือ ทรานส์ (*trans* หรือ E-isomers) และซิส (*cis* หรือ Z-isomers) ดังภาพ 2.7 โดยแคโรทีนอยด์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปแบบทรานส์ทั้งหมด ส่วนรูปแบบซิสมักพบในปริมาณน้อย (Britton, 1996)



ภาพ 2.7 พันธะคู่ของแคโรทีนอยด์รูปทรานส์และซิส

ที่มา: Britton, 1995

Yap *et al.* (1991) พบว่าแคโรทีนอยด์ในน้ำมันปาล์มมีทั้งหมด 11 ชนิด ได้แก่ ไฟโตอิน (Phytoene) บีตาแคโรทีน (β -Carotene) ไฟโตฟลูอิน (Phytofluene) แอลฟาแคโรทีน (α -Carotene) ซิกม่าแคโรทีน (ζ -Carotene) แกมมาแคโรทีน (γ -Carotene) เดลต้าแคโรทีน (δ -Carotene) นิวโรสปอรีน (Neurosporene) บีตาซีแคโรทีน (β -Zeaxanthin) แอลฟาซีแคโรทีน (α -Zeaxanthin) และไลโคพีน โดยร้อยละ 90 ของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเป็นแอลฟาและบีตาแคโรทีน

2.2 สมบัติทางเคมีและกายภาพของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์มีสมบัติทางเคมีและกายภาพที่สำคัญ ดังนี้

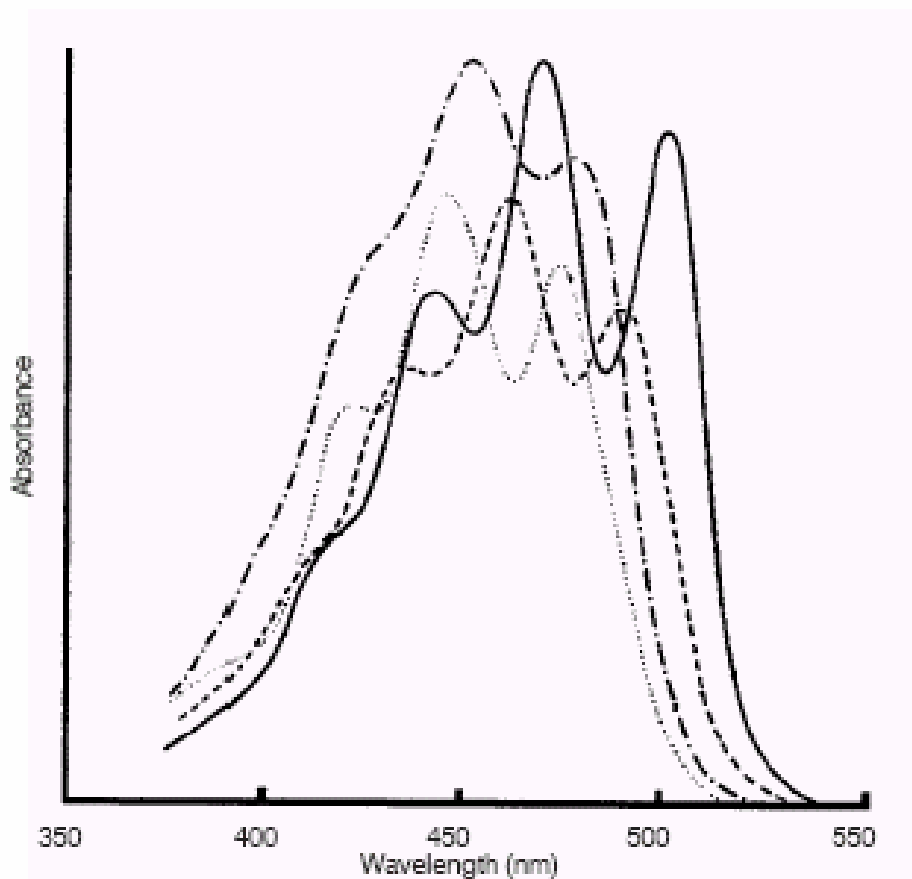
1. ความสามารถในการละลาย

แคโรทีนอยด์เป็นไลโปฟิลิก (Lipophilic) ซึ่งจะไม่สามารถละลายได้ในน้ำ แต่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น อะซิโตน (Acetone) แอลกอฮอล์ (Alcohol) เอทิลอีเทอร์ (Ethyl ether) คลอโรฟอร์ม (Chloroform) และเอทิลอะซิเตต (Ethyl acetate) โดยแคโรทีนสามารถละลายได้อย่างรวดเร็วในปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether) เฮกเซน (Hexane) และโทลูอิน (Toluene) ส่วนแซนโทฟิลล์สามารถละลายในเมทานอล (Methanol) และเอทานอล (Ethanol) ได้ดี (Rodriguez-Amaya, 2001)

2. การดูดกลืนแสง

ระบบ Conjugated double-bond ประกอบกันขึ้นเป็นโครโมฟอร์ (Chromophore) ซึ่งดูดกลืนแสงทำให้แคโรทีนอยด์มีสีส้มสวยงาม และให้สเปกตรัมที่ดูดกลืนแสงในช่วงที่มองเห็นได้ ซึ่งใช้เป็นหลักพื้นฐานในการบ่งชี้ และหาปริมาณของแคโรทีนอยด์ สีสามารถใช้ในการวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ที่ระดับต่างๆ โดยสีที่เปลี่ยนแปลงหรือสูญเสียไปที่เวลาต่างๆ ในระหว่างการวิเคราะห์ จะช่วยให้สามารถรู้ได้ทันทีว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือการสลายตัวขึ้น สเปกตรัมในช่วงที่มองเห็นได้ และอัลตราไวโอเลตเป็นเครื่องมือวิเคราะห์อันแรกที่ใช้ในการบ่งชี้แคโรทีนอยด์ ซึ่งช่วงความยาวคลื่นที่ดูดกลืนได้มากที่สุด (λ_{max}) และรูปร่างของสเปกตรัมเป็นสิ่งที่แสดงลักษณะ

ของโครโมฟอร์ ทั้งนี้แคโรทีนอยด์ส่วนใหญ่จะดูดกลืนแสงได้มากที่สุดที่ 3 ช่วงความยาวคลื่น ทำให้เกิดเส้นกราฟที่มี 3 ยอดดังภาพ 2.8 โดยเมื่อจำนวน Conjugated double-bond มีมากขึ้น ค่า $\lambda_{\max}$ ก็จะสูงขึ้นด้วย ดังนั้นไลโคพีน ซึ่งเป็นแคโรทีนอยด์แบบอะไซคลิกที่ไม่อ้อมตัวสูงที่สุด คือ มี 11 Conjugated double-bond จึงมีสีแดง และดูดกลืนแสงที่ $\lambda_{\max}$ สูงที่สุด คือ 444, 470 และ 502 นาโนเมตร แคโรทีนอยด์จะต้องมีอย่างน้อย 7 Conjugated double bonds จึงจะมีสีที่เห็นได้ชัดเจน ดังนั้นซีคม้าแคโรทีน ซึ่งเป็นแคโรทีนอยด์แบบอะไซคลิกที่มี 7 Conjugated double-bond จึงมีสีเหลืองใส และดูดกลืนแสงที่ $\lambda_{\max}$ ต่ำกว่าไลโคพีนมาก คือดูดกลืนแสงที่ 378, 400 และ 425 นาโนเมตร (ภาพ 2.9) ส่วนไฟโตอีโน และไฟโตฟลูอีโน ซึ่งมี 3 และ 5 Conjugated double-bond ตามลำดับนั้นจะไม่มีสี (Rodriguez-Amaya, 2001)

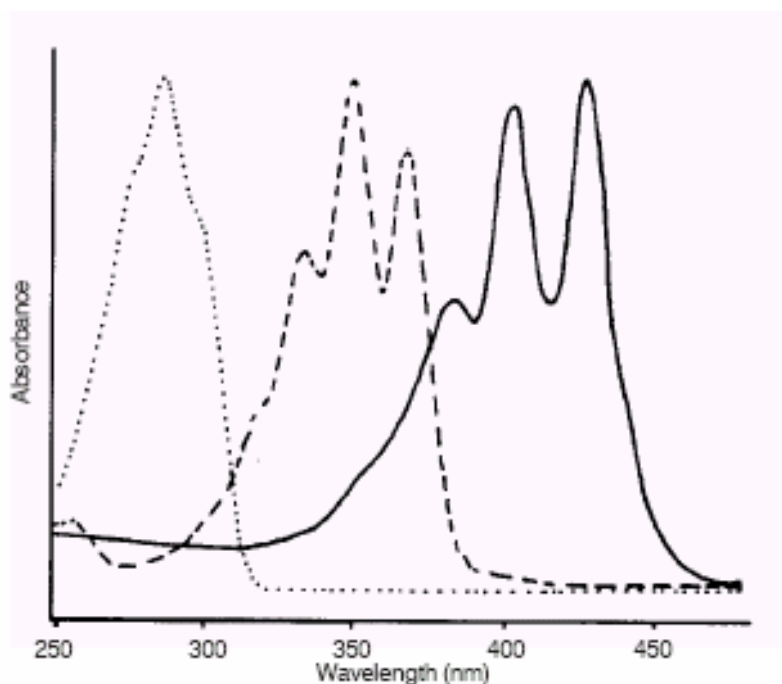


ภาพ 2.8 เส้นกราฟการดูดกลืนแสงในช่วงที่มองเห็นได้ของไลโคพีน (—)

แกมมาแคโรทีน (---) บีตาแคโรทีน (- - -) และแอลฟาแคโรทีน (...)

ในปิโตรเลียมอีเทอร์

ที่มา: Rodriguez-Amaya, 2001



ภาพ 2.9 เส้นกราฟการดูดกลืนแสงของซิกม่าแคโรทีน (—) ฟิโตฟลูอิน (---) และ ฟิโตอิน (...) โดย Mobile phase คือ อะซีโตไนไตร: เอทิลอะซิเตต: เมทานอล (85:10:5)

ที่มา: Rodriguez-Amaya, 2001

2.3 การสลายตัวของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นสารที่มีความไม่อึดตัวสูง ทำให้แคโรทีนอยด์ไวต่อการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและกระบวนการทางความร้อน โดยเฉพาะภายใต้สภาวะการเก็บรักษาและกระบวนการที่ไม่เหมาะสม (Bonnie and Choo, 1999)

1. การสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน

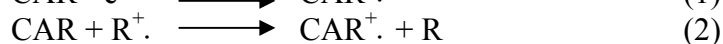
ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นสาเหตุหลักของการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ (Bonnie and Choo, 1999) ส่วนที่สำคัญที่สุดของโมเลกุลแคโรทีนอยด์ คือ ส่วนโซ่โพลีอิน ซึ่งเต็มไปด้วยอิเล็กตรอน และมีปฏิกิริยาตอบโต้สูง จึงไวต่อการเข้าชนของสารอิเล็กโตรฟิลิก (Electrophilic reagents) ทำให้แคโรทีนอยด์ไม่เสถียรเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Britton, 1995)

แคโรทีนอยด์บริสุทธิ์ที่สกัดออกมา แม้กระทั่งในรูปผลึกก็จะมีแนวโน้มไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน และอาจจะสลายตัวได้อย่างรวดเร็ว ถ้าเก็บตัวอย่างไว้ในที่มีออกซิเจน ถึงแม้จะมีออกซิเจนอยู่เพียงเล็กน้อยก็ตาม สำหรับในร่างกายแคโรทีนอยด์มักจะคงตัว โดยจะจับอยู่กับ

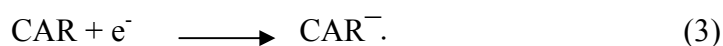
โปรตีนและโมเลกุลอื่นๆ ที่อยู่ติดกัน แต่อย่างไรก็ตามแคโรทีนอยด์ก็ยังไวต่อการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ถ้าไปสัมผัสกับสารออกซิไดซ์ หรืออนุมูลอิสระ (Free radicals) ทั้งนี้สิ่งที่มักเป็นตัวบ่งชี้ถึงการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ก็คือ สีที่จางลงเนื่องจากการแตกตัวของโครโมฟอร์ (Britton, 1995) การสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ยังเกิดจากปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ เช่น Hydroxyl radicals (Kinsky, 1989) หรือ อนุมูลอิสระเปอร์ออกซี (Peroxy radicals) (Yamamoto *et al.*, 1984) และอนุมูลอิสระเหล่านี้จะกลับมาทำปฏิกิริยากับแคโรทีนอยด์ ซึ่งปฏิกิริยาของแคโรทีนอยด์กับสารออกซิไดซ์อนุมูลอิสระเปอร์ออกซี และอื่นๆ เป็นสิ่งสำคัญในการวิเคราะห์การสลายตัวของแคโรทีนอยด์ เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Britton, 1995)

Carotenoid radicals ซึ่งไม่เสถียรนั้น สามารถเกิดขึ้นได้หลายวิธี (Britton, 1995) ดังนี้

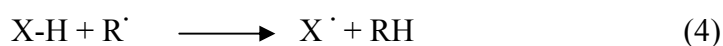
- 1) ปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยOxidizing radicals ที่มี Redox potential สูงสามารถดึงอิเล็กตรอน 1 ตัวออกจากโมเลกุลของแคโรทีนอยด์ ได้อนุมูลอิสระที่มีประจุบวก ดังสมการ (1) และ (2)



- 2) ปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction) การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัวให้กับโมเลกุลของแคโรทีนอยด์ จะได้อนุมูลที่มีประจุลบ ดังสมการ (3)



- 3) การแยกตัวออกของไฮโดรเจน (Hydrogen abstraction) เมื่ออะตอมของไฮโดรเจนแยกตัวออกจากอะตอมของคาร์บอนที่อิ่มตัว จะทำให้เกิดอนุมูลอิสระที่เป็นกลางเนื่องจาก Homolytic cleavage ของพันธะ C-H ตัวอย่างเช่นสมการ (4)

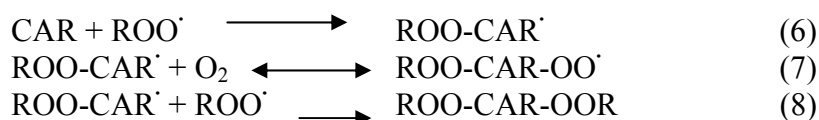


- 4) การเพิ่มอนุมูลอิสระ (Addition) เช่น การเพิ่มอนุมูลอิสระเปอร์ออกซี ($\text{ROO}^\cdot$) หรือ Hydroxyl radicals ($\text{HO}^\cdot$) ให้กับโซโพลีอิน จะได้ Carotenoid-adduct radicals ตัวอย่างเช่นสมการ (5)



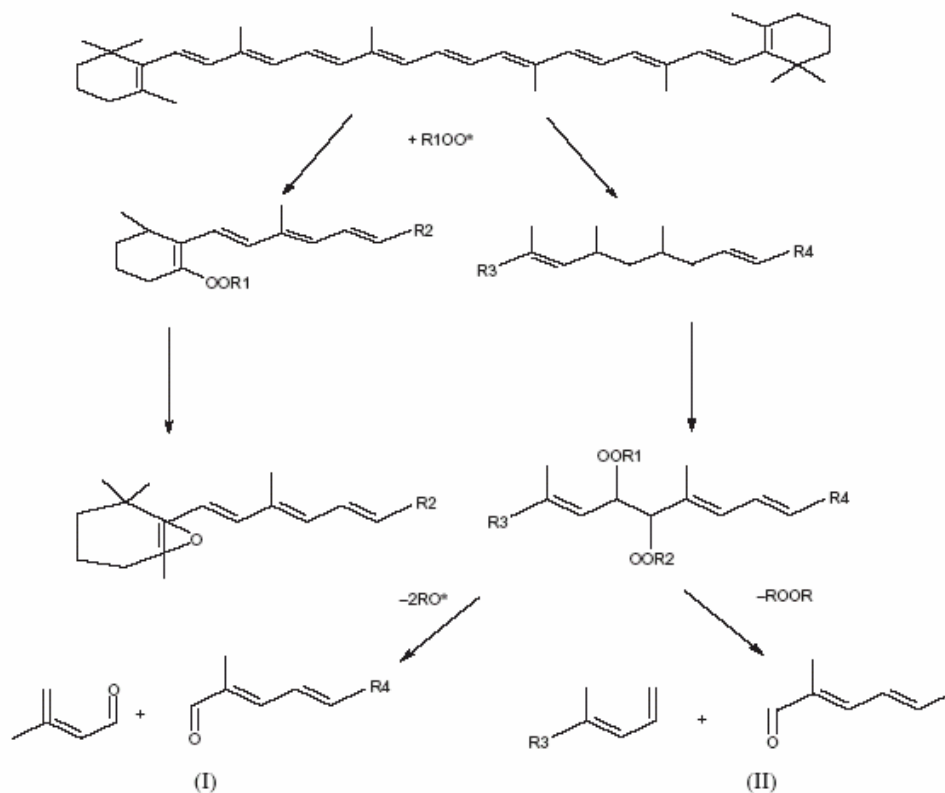
โดยใน Carotenoid radicals นี้ อิเล็กตรอนที่ไม่มีคู่จะเคลื่อนย้ายตลอดสายโพลีอิน ซึ่งยังทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อไปได้ในหลายๆ ส่วนของโมเลกุล เช่น Addition เป็นต้น (Britton, 1995)

Burton and Ingold (1984) ได้อธิบายไว้ว่า เมื่อปีตาแคโรทีนทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเปอร์ออกซี ในขั้นแรกจะเป็นการเพิ่มอนุมูลอิสระเปอร์ออกซีให้กับพันธะคู่ของแคโรทีนอยด์ (CAR) ทำให้เกิด Carbon-centered radical (ROO-CAR[•]) ดังสมการ (6) หลังจากนั้นจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนอย่างรวดเร็ว ได้อนุมูลอิสระเปอร์ออกซิล (ROO-CAR-OO[•]) ดังสมการ (7) เรียกว่า เกิดออกซิเดชัน (Autoxidation) ซึ่งแคโรทีนอยด์จะสลายตัวโดยไม่มีการจับกับอนุมูลอิสระใดๆ แต่ในกรณีที่ความดันของออกซิเจนต่ำ สมดุลของสมการ (7) จะเบี่ยงเบนไปทางซ้าย ทำให้อนุมูลอิสระเปอร์ออกซิลลดลง ส่วน Carbon-centered radicals จะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเปอร์ออกซี ดังสมการ (8) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาแอนติออกซิแดนท์ของแคโรทีนอยด์ โดยปฏิกิริยานี้จะทำให้อนุมูลอิสระเปอร์ออกซิลลดลง และจะเกิดเมื่อความดันออกซิเจนต่ำ (น้อยกว่า 150 ทอร์)



Woodall *et al.* (1997) ได้รายงานไว้ว่า การกระจายตัวของอิเล็กตรอนภายในโซโพลีอินที่แตกต่างกัน เนื่องจากโครโมฟอร์ที่แตกต่างกันนั้น จะทำให้ความไวในการเพิ่มอนุมูลอิสระให้กับ Conjugated double-bond นั้นแตกต่างกัน ซึ่งทำให้ปฏิกิริยาระหว่างแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดกับอนุมูลอิสระมีความแตกต่างกัน Mortensen *et al.* (1997) พบว่าการแทนที่อะตอมไฮโดรเจนด้วยหมู่คาร์บอนิลในตำแหน่งที่ 4 ของโมเลกุลแคโรทีนอยด์ จะทำให้แคโรทีนอยด์สามารถจับกับอนุมูลอิสระเปอร์ออกซีได้ดีขึ้น หรือเกิด Antioxidant effect ได้ดีกว่านั่นเอง สำหรับแคนทาแซนทิน แอสทาแซนทิน และแคโรทีนอยด์อื่นๆ ที่ประกอบด้วย Oxo-groups ในตำแหน่งที่ 4 ของ β -ionone ring พบว่าจะเกิด Antioxidant effect ได้ดีกว่าปีตาแคโรทีน (Mortensen and Skibsted, 1997)

Liebler and McClure (1996) พบว่าปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดโฮมอลิติก (Homolytic Cleavage) จะปล่อย Alkoxy radicals ออกมาและไม่เกิด Antioxidant effect ส่วน Heterolytic Cleavage จะทำให้เกิด Carbonyl fragments, Dialkyl peroxides และ Nonradical products อื่นๆ ซึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของปีตาแคโรทีนที่เกิดในลักษณะนี้ จะมีการใช้อนุมูลอิสระเปอร์ออกซี 2 ตัว ดังภาพ 2.10



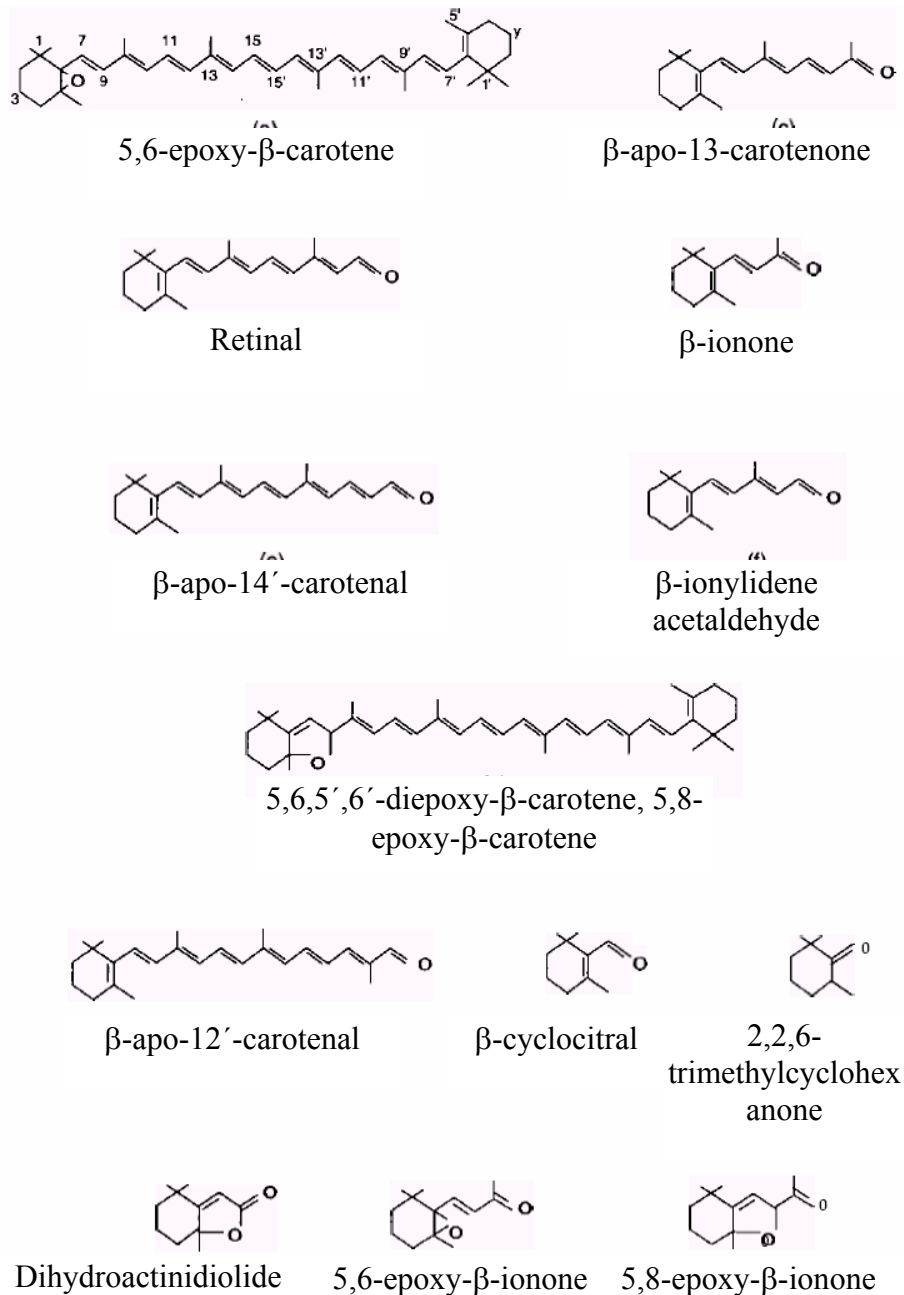
ภาพ 2.10 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของบีตาแคโรทีน กับ Peroxy radicals

(I) Homolytic Cleavage: ไม่เกิด Antioxaion effect

(II) Heterolytic Cleavage: เกิด Antioxidation effect

ที่มา: Kiokias and Gordon, 2004

Bonnie and Choo (1999) ได้รายงานไว้ว่าผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้แก่ อีพอกไซด์ (Epoxides) อะโปแคโรทีนอยด์ และสารประกอบไฮดรอกซี ภาพ 2.11 แสดงผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยา Autoxidation ของบีตาแคโรทีน

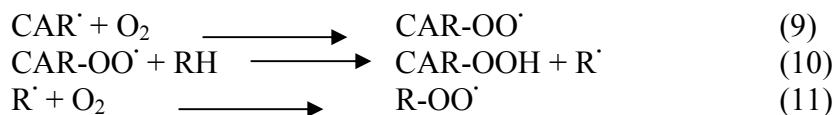


ภาพ 2.11 ผลิตภัณฑ์เนื่องจากปฏิกิริยา Autoxidation ของบีตาแคโรทีน

ที่มา: Bonnie and Choo, 1999

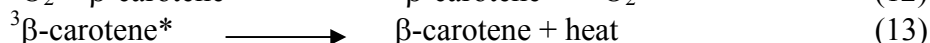
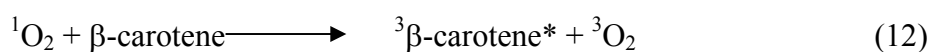
ในบางกรณีแคโรทีนอยด์อาจจะเปลี่ยนเป็นโปรออกซิแดนซ์ (Prooxidant) ซึ่งจะไปเร่งอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และทำให้แคโรทีนอยด์สลายตัวเร็วขึ้น โดยส่วนใหญ่ มักเกิดในกรณีที่ความดันออกซิเจนสูงขึ้น แต่ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ด้วย (Van den Berg *et al.*, 2000) โดยเมื่อระดับของออกซิเจนสูง Carotenoid radicals อาจจะทำ

ปฏิกิริยากับออกซิเจน ได้ Carotenoid peroxy radical (CAR-OO[•]) ดังสมการ (9) ซึ่งจะเป็นตัวกลางของปฏิกิริยาที่ทำหน้าที่เป็นโปรออกซิแดนซ์ ยกตัวอย่างเช่น กระบวนการ Lipid peroxidation ดังสมการ (10) และ (11) (Kiokias and Gordon, 2004)



Niki *et al.* (1995) พบว่าในสถานะที่ไม่มีออกซิเจน บีตาแคโรทีนจะเกิด Antioxidant effect ได้ดีกว่าในสถานะที่ความดันออกซิเจนเพิ่มขึ้น สำหรับผลของความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์นั้นพบว่า เมื่อความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์สูง (มากกว่า 5 มิลลิโมลาร์) โดยทั่วไปแคโรทีนอยด์มักจะแสดงลักษณะเป็น Proxidant (Farombi and Britton, 1999; Zhang and Omaye, 2000) และในระหว่างการเกิดออกซิเดชันที่มีความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของน้ำมันเมล็ดดอกคำฝอย ซึ่งมีความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์มากกว่า 500 ไมโครกรัมต่อกรัม พบว่าทั้งบีตาแคโรทีนและไลโคปีน แสดงลักษณะเป็น Proxidant (Henry *et al.*, 1998)

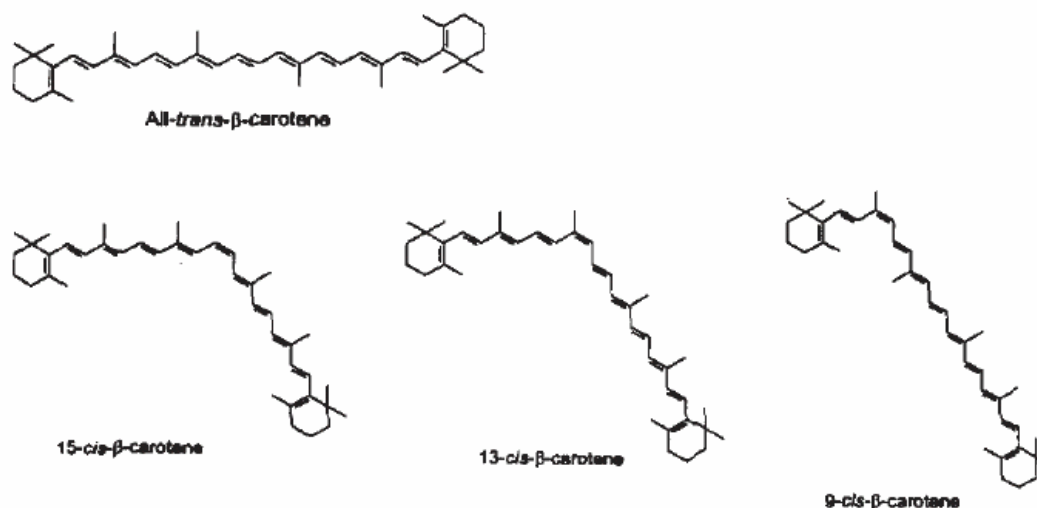
แคโรทีนอยด์ ยังสามารถทำปฏิกิริยากับ Singlet oxygen (¹O₂) ได้อีกด้วย โดย Singlet oxygen จะแลกเปลี่ยนพลังงานกับแคโรทีนอยด์ ได้ Triplet-state carotene ขณะที่ออกซิเจนจะกลับเข้าสู่สถานะพื้น (Ground state) และหยุดทำงาน ดังสมการ (12) จากนั้น Triplet-state carotene จะปล่อยพลังงานออกมาในรูปของพลังงานความร้อน และแคโรทีนอยด์จะกลับเข้าสู่สถานะปกติ ดังสมการ (13) (Kiokias and Gordon, 2004)



ถึงแม้ว่าสุดท้ายจะได้แคโรทีนอยด์ในสถานะปกติ แต่โดยทั่วไปปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นมักจะทำลายโมเลกุลของแคโรทีนอยด์ (Krinsky, 1989) โดย Liebler (1993) กล่าวว่า การเกิดปฏิกิริยาอาจแตกต่างกันออกไป โดยผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างแคโรทีนอยด์กับ Singlet oxygen ส่วนใหญ่จะเป็นอะปอแคโรทีนอยด์ นอกจากนี้ อาจมีการเพิ่ม Singlet oxygen ให้กับพันธะคู่ ทำให้เกิดไดออกซีเทน (Dioxetane) ซึ่งไม่คงตัว และแตกตัวออกได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นคาร์บอนิล

2. การสลายตัวเนื่องจากความร้อน

Bonnie and Choo (1999) รายงานไว้ว่า ความร้อนทำให้โมเลกุลของแคโรทีนอยด์เกิดการไอโซเมอไรเซชัน ออกซิเดชัน และโมเลกุลเสียหาย Rodriguez-Amaya (1999) รายงานว่าเมื่อแคโรทีนอยด์ผ่านกระบวนการทางความร้อน จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากรูปแบบทรานส์เป็นรูปแบบซิส (*trans* to *cis*-isomerization) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างนี้จะทำให้สูญเสีย และความสามารถในการเปลี่ยนเป็นวิตามินเอ (Rodriguez-Amaya, 2001) โดยซิสไอโซเมอร์ของบีตาแคโรทีนที่วิเคราะห์ได้ส่วนใหญ่แสดงดังภาพ 2.12



ภาพ 2.12 โครงสร้างไอโซเมอร์ทั่วไปของบีตาแคโรทีน
ที่มา: Rodriguez-Amaya, 1999

Updike and Schwartz (2003) ได้ศึกษาการเพิ่มขึ้นของลูเทนิน และซีแซนทินในรูปแบบซิส ที่พบในผักที่ผ่านกระบวนการทางความร้อน พบว่า *all-trans* isomer ในผักที่ผ่านกระบวนการทางความร้อนจะลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับผักสด ดังตาราง 2.1 และตาราง 2.2 ซึ่งผักคะน้าที่ผ่านกระบวนการทางความร้อน จะเกิดซิสไอโซเมอร์ของลูเทนินเพิ่มขึ้นมากที่สุด รองลงมา คือ ข้าวโพด ผักโขม ถั่ว และบล็อกโคลี่ โดยเพิ่มขึ้นร้อยละ 22, 12, 11, 6 และ 3 ตามลำดับ ส่วนซิสไอโซเมอร์ของซีแซนทิน ในข้าวโพดที่ผ่านกระบวนการทางความร้อนจะเพิ่มขึ้นร้อยละ 17 ทั้งนี้โครงสร้างของลูเทนิน และซีแซนทินที่พบแสดงดังภาพ 2.13 โดย

ซีแซนทีนที่มีลักษณะโครงสร้างแบบสมมาตรนั้นจะเกิดซิสไอโซเมอร์ 2 แบบ คือ 13-*cis* และ 9-*cis* ส่วนลูเทนินที่มีลักษณะโครงสร้างแบบอสมมาตรจะเกิดซิสไอโซเมอร์หลายแบบ

ตาราง 2.1 ปริมาณของลูเทนินแบบต่างๆ และความชื้น ในผักสดและผักที่ผ่านการให้ความร้อน

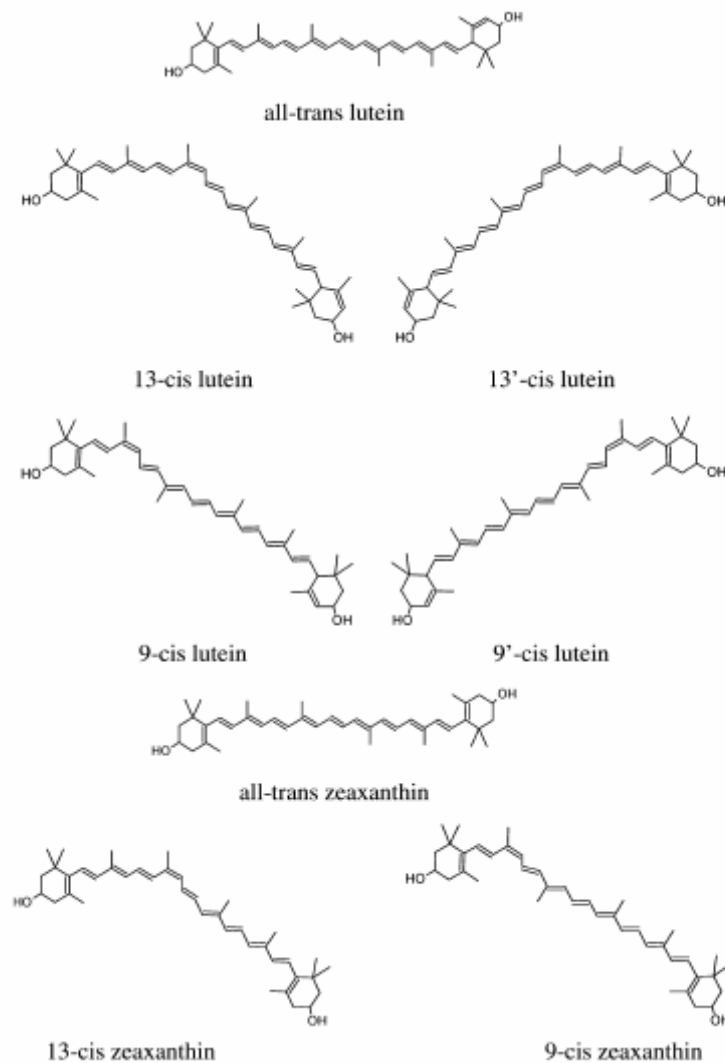
สารสกัดจากผัก	ความเข้มข้นของลูเทนิน (ไมโครกรัมต่อกรัม)						ความชื้น (ร้อยละ)
	all- <i>trans</i>	13- <i>cis</i>	9- <i>cis</i>	9'- <i>cis</i>	รูป <i>cis</i> รวม	ปริมาณ ลูเทนิน รวม	
บัตือคโคลี							
สด	83.0	0.6			0.6	83.6	87.8
ผ่านการให้ความ ร้อนด้วยไมโครเวฟ	101.8	3.9			3.9	106.7	87.1
ข้าวโพด							
สด	12.0	เล็กน้อย			เล็กน้อย	12.0	77.2
บรรจุกระป๋อง	11.0	1.4	0.2		1.6	12.6	82.2
คะน้า							
สด	515.4					515.4	85.9
บรรจุกระป๋อง	489.8	58.6	42.7	35.9	137.2	627.0	87.5
ถั่ว							
สด	40.7	0.7			0.7	41.4	76.2
บรรจุกระป๋อง	54.3	2.4	1.4	0.8	4.6	58.9	83.1
ผักโขม							
สด	853.9	27.1			27.1	881.0	93.5
บรรจุกระป๋อง	793.6	56.2	44.4	28.9	129.5	923.1	90.6

ที่มา: Updike and Schwartz, 2003

ตาราง 2.2 ปริมาณของซีแซนทีนแบบต่างๆ และความชื้นในข้าวโพดสดและข้าวโพดบรรจุกระป๋อง

ข้าวโพด	ความเข้มข้นของซีแซนทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม)				ความชื้น (ร้อยละ)
	<i>all-trans</i>	<i>13-cis</i>	รูป <i>cis</i> รวม	ปริมาณซีแซนทีน รวม	
สด	23.8	0.1	0.1	23.9	77.2
บรรจุกระป๋อง	19.8	4.2	4.2	24.0	82.2

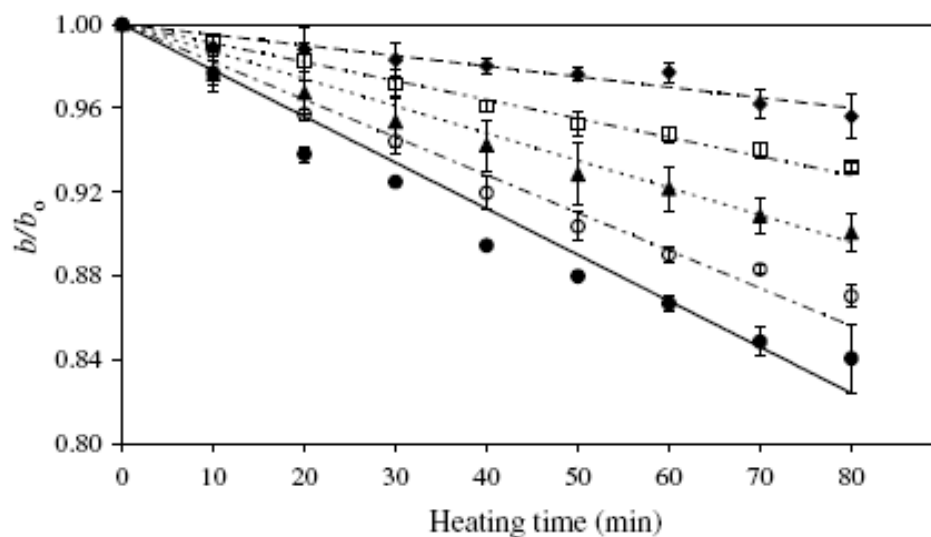
ที่มา: Updike and Schwartz, 2003



ภาพ 2.13 โครงสร้างทางเคมีของลูเทินและซีแซนทีน

ที่มา: Updike and Schwartz, 2003

Marx *et al.* (2003) ได้ศึกษาผลของกระบวนการทางความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากรูปแบบทรานส์เป็นซิส ของปีตาแคโรทีนในน้ำแครอท พบว่าเมื่อให้ความร้อนในขั้นตอนการลวกแครอทเพิ่มขึ้น ที่ระดับ 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10, 30 และ 60 นาที ตามลำดับ พบว่าปริมาณ 13-ซิส-เบต้าแคโรทีน ในน้ำแครอทพาสเจอร์ไรซ์จะเพิ่มขึ้นร้อยละ 1.8-10 ส่วนการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 วินาที และการสเตอริไรซ์ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 นาที ทำให้ปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำแครอทที่ไม่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อ สำหรับการสเตอริไรซ์ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เมื่อให้ความร้อนเป็นระยะเวลาเพิ่มขึ้นจาก 20 เป็น 40 นาที พบว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเกิดเพิ่มขึ้น และยังเกิด 9-ซิส-เบต้าแคโรทีนเพิ่มขึ้นด้วย ทั้งนี้ Rattanathanalerk *et al.* (2005) ได้พบว่าค่า b value ซึ่งแสดงถึงการสลายตัวของ รงควัตถุในน้ำสับปะรดผ่านความร้อนที่ระดับต่างๆ ได้แก่ 55, 65, 75, 85 และ 95 องศาเซลเซียส นั้นมีค่าลดลง โดยอัตราของการลดลงจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ดังภาพ 2.14 เนื่องจากแคโรทีนอยด์ซึ่งเป็นรงควัตถุที่มีในน้ำสับปะรดเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง

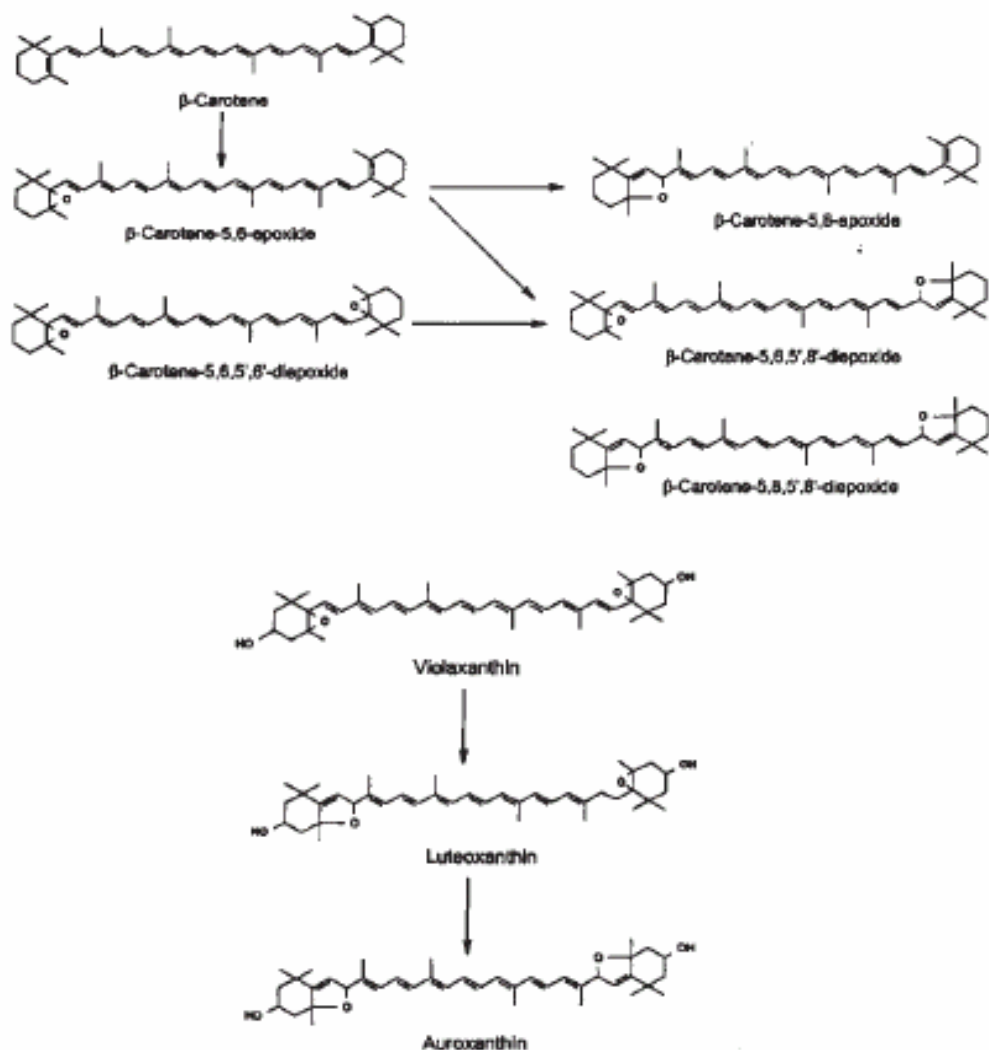


ภาพ 2.14 การเปลี่ยนแปลงของสีเหลือง (b/b_0) ในตัวอย่างน้ำสับปะรดผ่านความร้อนที่ระดับต่างๆ ดังนี้ 55 (♦), 65 (□), 75 (▲), 85 (○) และ 95 องศาเซลเซียส (●)

ที่มา: Rattanathanalerk *et al.*, 2005

Rodriguez-Amaya (1999) พบว่านอกจากการไอโซเมอไรเซชันแล้ว ในระหว่างที่มีการให้ความร้อนแคโรทีนอยด์ยังเกิดการอีพอกซิเดชัน (Epoxidation) และทรานส์ฟอร์มเมชัน (Transformation) ของหมู่ 5,6-Epoxy ไปเป็น 5,8-Furanoid oxide ดังภาพ 2.15

Bonnie and Choo (1999) ยังได้รายงานว่า ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการสลายตัวเนื่องจากความร้อนของแคโรทีนอยด์แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ระเหยได้ (Volatile) และส่วนที่ไม่ระเหย (Non-volatile) ซึ่งส่วนที่ระเหยได้จะประกอบด้วยโมเลกุลที่มีมวลโมเลกุลต่ำ และส่วนที่ไม่ระเหยจะเป็นส่วนที่เหลือจากการระเหยของส่วนที่ระเหยได้



ภาพ 2.15 การเกิดอีพอกซิแคโรทีนอยด์จากบีตาแคโรทีน และทรานส์ฟอร์มเมชันของไวโอลาแซนทิน ในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาอาหาร

ที่มา: Rodriguez-Amaya, 1999

จากการศึกษาความคงตัวของแคโรทีนอยด์ ในน้ำมันเชื้อเพลิงขณะทำการเก็บรักษา พบว่าเมื่อเก็บรักษาน้ำมันเชื้อเพลิงบรรจุกระป๋องไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ปริมาณของบีตาแคโรทีนรูปแบบทรานส์ ลดลงตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ปริมาณของบีตาแคโรทีนทั้งหมดก็จะสลายตัวเร็วขึ้นด้วย ทั้งนี้ลูเทออินและไลโคพีนก็มีลักษณะการสลายตัวเช่นเดียวกันกับบีตาแคโรทีน (Lin and Chen, 2005) นอกจากนี้ Pérez-Gálvez and Mínguez-Mosquera (2004) ยังพบว่าเมื่อให้ความร้อนปาปริก้าโอลีโอเรซิน (Paprika oleoresins) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 600 ชั่วโมง ปริมาณบีตาแคโรทีน และบีตาคริปโตแซนทิน จะลดลงประมาณร้อยละ 63 และอัตราส่วนแคปแซนทินรูปแบบซิสต่อทรานส์ จะเพิ่มขึ้นในช่วงแรก จนถึงระดับสมดุล อัตราส่วนก็จะคงที่ โดย Pérez-Gálvez *et al.* (2005) ยังพบการเพิ่มขึ้นของอัตราส่วน บีตาแคโรทีนรูปแบบซิสต่อทรานส์ในลักษณะเดียวกันนี้ เมื่อทำการให้ความร้อนกับปาปริก้าโอลีโอเรซิน ที่ระดับ 373, 383 และ 393 เคลวิน เป็นระยะเวลานานขึ้น และเมื่อให้ความร้อนเพิ่มขึ้นแล้ว อัตราการสลายตัวของบีตาแคโรทีนและบีตาคริปโตแซนทินจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นด้วย โดยการสลายตัวของบีตาแคโรทีนจะมากกว่าบีตาคริปโตแซนทิน ดังตาราง 2.3

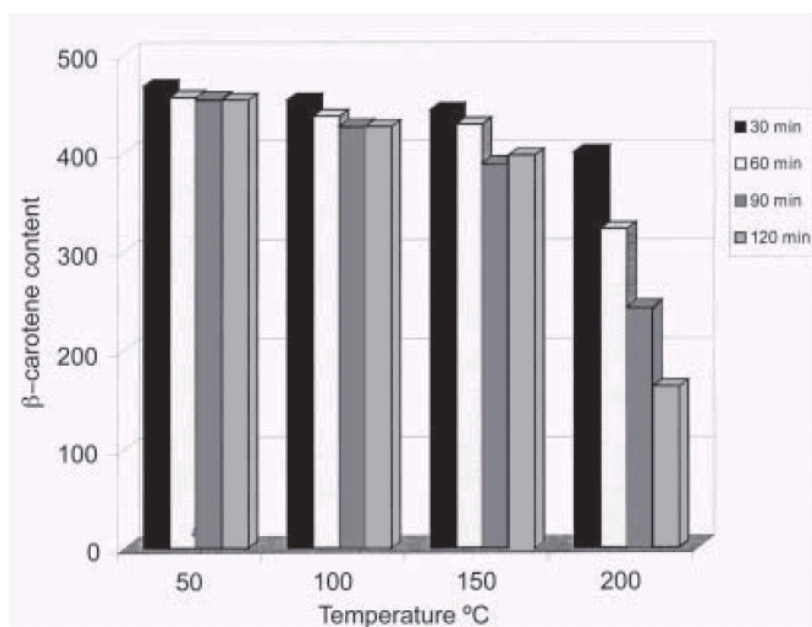
ตาราง 2.3 อัตราการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ที่เป็นโปรวิตามินเอ (บีตาแคโรทีน และบีตาคริปโตแซนทิน) ในตัวอย่างโอลีโอเรซิน 4 ชนิด ที่ได้รับความร้อน 3 ระดับ

อุณหภูมิ (เคลวิน)	อัตราการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ ($\times 10^{-4}$) (ต่อชั่วโมง)			
	1	2	3	4
β -cryptoxanthin				
373	7.958 $\pm$ 0.392	14.82 $\pm$ 0.494	14.49 $\pm$ 0.636	9.015 $\pm$ 0.452
383	11.43 $\pm$ 0.776	22.50 $\pm$ 0.866	22.23 $\pm$ 1.074	10.73 $\pm$ 1.021
393	24.27 $\pm$ 1.868	41.56 $\pm$ 1.725	37.67 $\pm$ 1.864	22.44 $\pm$ 1.868
All-trans- β -carotene				
373	12.05 $\pm$ 0.585	19.80 $\pm$ 1.014	19.64 $\pm$ 0.722	10.16 $\pm$ 1.049
383	15.91 $\pm$ 1.537	29.29 $\pm$ 1.610	24.66 $\pm$ 1.481	13.48 $\pm$ 1.216
393	28.31 $\pm$ 2.179	44.54 $\pm$ 2.860	50.67 $\pm$ 2.864	27.69 $\pm$ 3.101

ที่มา: Pérez-Gálvez *et al.*, 2005

การศึกษาของ Alyas *et al.* (2006) เรื่องการเปลี่ยนแปลงของปริมาณบีตาแคโรทีนใน Red palm olein ระหว่างที่มีการให้ความร้อน พบว่าปริมาณของบีตาแคโรทีนลดลงตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น และระยะเวลาในการให้ความร้อนที่ยาวนานขึ้น โดยเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 100, 150 และ 200 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 นาที ปริมาณบีตาแคโรทีนลดลงร้อยละ 3, 6, 10 และ 59 ตามลำดับเมื่อเทียบกับปริมาณบีตาแคโรทีนขณะให้ความร้อนเป็นระยะเวลา 30 นาที

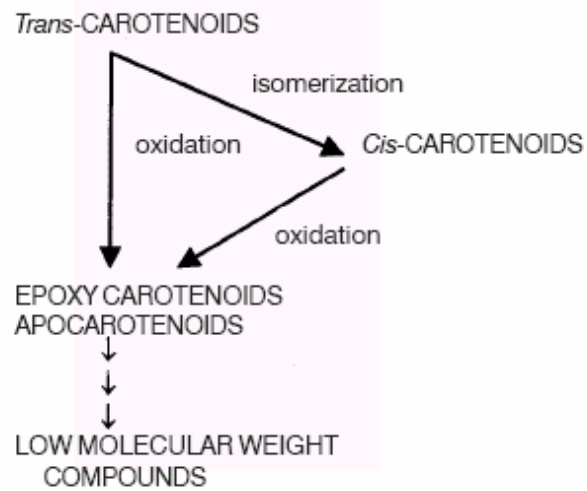
ดั่งภาพ 2.16 ทั้งนี้จากการศึกษาผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ และการทำน้ำส้มเข้มข้นต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ (Gama and Sylos, 2007) พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในน้ำส้มพาสเจอร์ไรซ์ และน้ำส้มเข้มข้นลดลงร้อยละ 13 และ 18 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในน้ำส้มสด โดยกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์จะทำให้เกิดการสูญเสียไวโอลาแซนทิน ลูเทอีน ซิกม่าแคโรทีน แอลฟาแคโรทีน บีตาแคโรทีน และซีแซนทินไปร้อยละ 38, 20, 14, 13, 11 และ 9 ตามลำดับ แต่ปริมาณของบีตาคริปโตแซนทินกลับเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่วนกระบวนการทำน้ำส้มเข้มข้นจะทำให้สูญเสียไวโอลาแซนทิน ซิกม่าแคโรทีน ซีแซนทิน ลูเทอีน แอลฟาแคโรทีน บีตาคริปโตแซนทิน และบีตาแคโรทีนไปร้อยละ 31, 29, 24, 17, 12, 5 และ 3 ตามลำดับ



ภาพ 2.16 ปริมาณบีตาแคโรทีนของ Red palm olein ที่ได้รับความร้อน

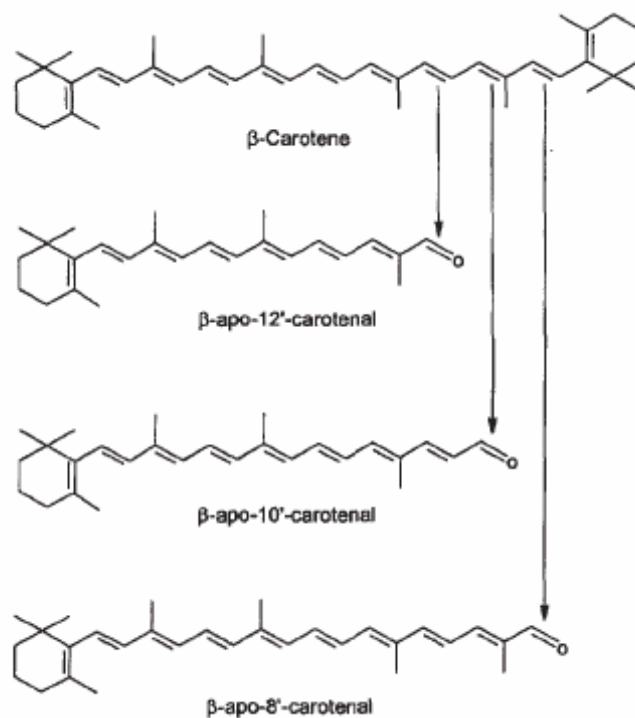
ที่มา: Alyas et al., 2006

สรุปได้ว่าปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ ได้แก่ โครงสร้างของแคโรทีนอยด์ ชนิดของวัตถุดิบที่ทำการศึกษ ปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่ การสัมผัสโดนแสง ปริมาณน้ำหรือวอเตอร์แอคทีวี่ อุณหภูมิ บรรยากาศ การมีสารแอนตีออกซิแดนซ์ โปรออกซิแดนซ์ อนุมูลอิสระ และสารยับยั้ง (Rodriguez-Amaya, 1999) ทั้งนี้กลไกการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ในขั้นตอนแรกจะเกิดอีพอกไซด์ และอะโปแคโรทีนอยด์ จากนั้นจะเกิดการแตกตัวเป็นสารประกอบที่มีมวลโมเลกุลต่ำ ดั่งภาพ 2.17 และ 2.18 ทำให้เกิดการสูญเสีย และการทำงานทางชีววิทยาไปในที่สุด (Rodriguez-Amaya, 2001)



ภาพ 2.17 กลไกการสลายตัวของแคโรทีนอยด์

ที่มา: Rodriguez-Amaya, 2001

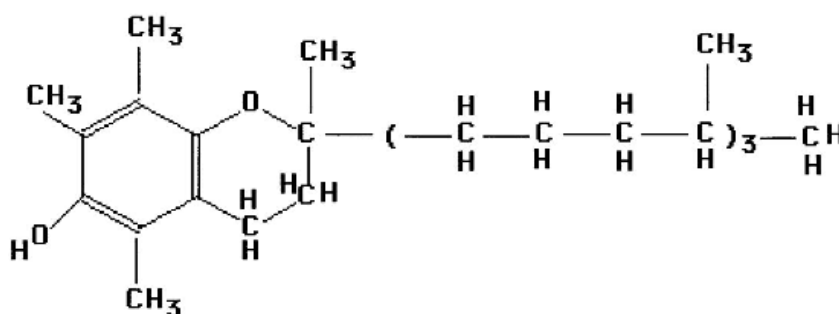


ภาพ 2.18 การเกิดอะโปแคโรทีนอยด์จากบีตาแคโรทีน

ที่มา: Rodriguez-amaya, 1999

2.4 สารแอนต้ออกซิแดนซ์

สารแอนต้ออกซิแดนซ์แบ่งได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ (German, 2002) ประเภทแรกคือ สารแอนต้ออกซิแดนซ์ที่ได้จากธรรมชาติ ได้แก่ กรดซิตริก กรดตาร์ตริก กรดแอสคอร์บิก ซึ่งเมื่อมีความเข้มข้นต่ำจะสามารถต้านออกซิเดชันได้ดี แต่เมื่อมีความเข้มข้นสูงจะเปลี่ยนเป็น โปรออกซิแดนซ์ และโทโคเฟอรอลหรือวิตามินอี ซึ่งโทโคเฟอรอลชนิดแอลฟา (ภาพ 2.19) บีตา แกมมา และเดลต้า นั้น เป็นชนิดที่นิยมใช้มากที่สุด (นิธิยา, 2005) โดย Khan and Shahidi (2001) พบว่า เกล็ดต้าโทโคเฟอรอล สามารถต้านออกซิเดชันใน Borage และ Evening primrose triacylglycerols ได้ดีกว่าแกมมาโทโคเฟอรอล นอกจากนี้ยังมีสารที่สกัดได้จากพืชหรือสมุนไพร เช่น สารสกัดโรสแมรี่ เป็นต้น Gordon *et al.* (2001) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากน้ำมันมะกอก ได้แก่ Hydroxytyrosol acetate, Hydroxytyrosol, Oleuropein, 3,4-DHPEA-EA (ไอโซเมอร์ของ Oleuropein aglycon) และ แอลฟาโทโคเฟอรอล มีสมบัติในการต้านออกซิเดชัน โดย Hydroxytyrosol สามารถต้านออกซิเดชันในน้ำมันได้ดีที่สุด รองลงมาคือ Hydroxytyrosol acetate, 3,4-DHPEA-EA, แอลฟาโทโคเฟอรอล และ Oleuropein ตามลำดับ ส่วนในอิมัลชัน พบว่าแอลฟาโทโคเฟอรอลจะสามารถให้ผลในการต้านออกซิเดชันได้ดีที่สุด รองลงมาคือ 3,4-DHPEA-EA, Oleuropein, Hydroxytyrosol acetate และ Hydroxytyrosol ตามลำดับ



ภาพ 2.19 โครงสร้างของแอลฟาโทโคเฟอรอล (α -Tocopherol)

ที่มา: German, 2002

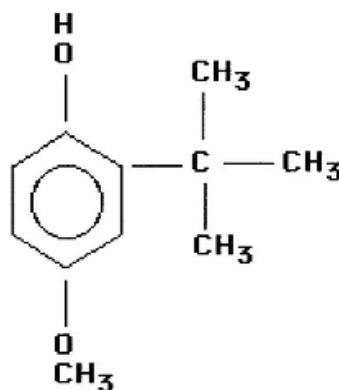
Biacs and Daood (2000) ได้ศึกษาการสลายตัวของแคโรทีนอยด์จากมะเขือเทศ ในสภาวะที่มีวิตามินซีและวิตามินอี ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ กรดแอสคอร์บิกจนถึง 1.8 มิลลิโมลาร์ สามารถช่วยลดการสลายตัวของไลโคพีนและไลโคแซนทีน ได้เพิ่มขึ้น ซึ่งจะลดการสลายตัวได้สูงสุดถึงร้อยละ 93 และ 79 ตามลำดับ แต่การสลายตัวของ บีตาแคโรทีนนั้นจะลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น สำหรับการเติมแอลฟาโทโคเฟอรอลอะซิเตต ที่ความเข้มข้นต่างๆ จนถึง 7.5 มิลลิโมลาร์ สามารถช่วยลดการสลายตัวของบีตาแคโรทีนได้ดีกว่าไลโคพีน

และไลโคแซนทีน นอกจากนี้การเติมทั้งกรดแอสคอบิก 0.6 มิลลิโมลาร์ และแอลฟา โทโคเฟอรอลอะซีเตต 2.5 มิลลิโมลาร์ นั้นพบว่าสามารถช่วยลดการสลายตัวของไลโคปีนได้ต่ำกว่าการใช้แอลฟาโทโคเฟอรอลอะซีเตตเพียงอย่างเดียว และยังทำให้ความคงตัวของ บีตาแคโรทีนในระบบลดลงอีกด้วย

สารแอนติออกซิแดนซ์อีกประเภทหนึ่งคือ สารแอนติออกซิแดนซ์สังเคราะห์ ซึ่งสามารถทนต่อสภาวะของกระบวนการผลิต เช่น การทอดหรือการอบได้ดี ในขณะที่สารแอนติออกซิแดนซ์ที่ได้จากธรรมชาตินั้นจะไม่สามารถทนต่อสภาวะของกระบวนการผลิตดังกล่าวได้ (German, 2002) ทั้งนี้สารแอนติออกซิแดนซ์สังเคราะห์นั้นมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด แต่ชนิดที่นิยมใช้เติมลงในอาหารกันอย่างแพร่หลาย และได้รับการรับรองจาก Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA, 2005) มี 4 ชนิด ได้แก่

1. Butylated Hydroxyanisole (BHA)

BHA มีลักษณะเป็นขี้ผึ้ง สีขาว สามารถละลายได้ดีในน้ำมันและไขมัน แต่ไม่สามารถละลายได้ในน้ำ มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 180.24 จุดเดือด 264-270 องศาเซลเซียส และจุดหลอมเหลว 48-55 องศาเซลเซียส BHA เป็นส่วนผสมของ 2-*tert*-butyl-4-methoxyphenol และ 3-*tert*-butyl-4-methoxyphenol ซึ่งมากกว่าร้อยละ 90 จะอยู่ในรูป 3-isomer (ภาพ 2.20) ด้วยโครงสร้างที่เป็นหมู่ *tert*-butyl ซึ่งเชื่อมต่ออยู่กับหมู่ไฮดรอกซิลนั้นทำให้ BHA มีความคงตัวดีและไม่สลายตัวเมื่อผ่านกระบวนการผลิตด้วยความร้อนโดยเฉพาะกระบวนการอบ แม้ว่าจะทำให้ประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันของ BHA ลดลงบ้าง นอกจากนี้ BHA ยังอาจให้กลิ่นฟีนอลิก เมื่อได้รับอุณหภูมิสูง เช่น ผ่านกระบวนการทอดหรืออบ โดยทั่วไปมักใช้ BHA ร่วมกับสารแอนติออกซิแดนซ์ตัวอื่นๆ เช่น BHT, Propyl gallate, Lecithin, Hydroquinone หรือ Methionine เป็นต้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชัน

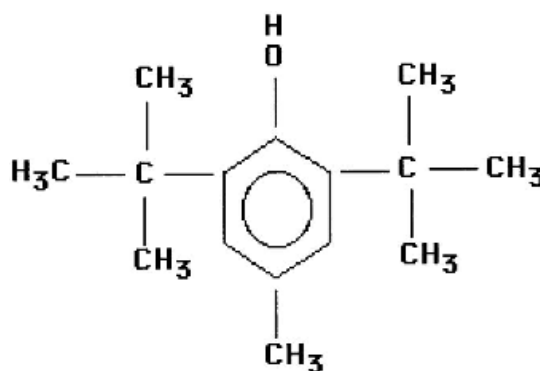


ภาพ 2.20 โครงสร้างของ BHA

ที่มา: German, 2002

2. Butylated Hydroxytoluene (BHT)

BHT (2,6-di-*tert*-butyl-*p*-cresol หรือ 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methylphenol) (ภาพ 2.21) มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ไม่สามารถละลายได้ในน้ำ แต่สามารถละลายในน้ำมันและไขมันได้ดีกว่า BHA มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 220.34 มีจุดเดือดและจุดหลอมเหลวเท่ากับ 265 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ทั้งนี้ BHT ยังสามารถละลายได้ใน โทลูอิน เมทานอล เอทานอล ไอโซโพรพานอล อะซีโตน เบนซีน และตัวทำละลายไฮโดรคาร์บอนอื่นๆ ด้วย นอกจากนี้ BHT ยังสามารถทนต่ออนุมูลอิสระสูง และไม่สลายตัวเมื่อผ่านกระบวนการอบ แต่อย่างไรก็ตาม BHT จะให้ประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันได้ต่ำกว่า BHA เนื่องจากมีหมู่ *tert*-butyl อยู่รอบหมู่ไฮดรอกซิลถึง 2 หมู่ อีกทั้งในสถานะที่มีเหล็กอยู่ด้วย BHT ก็อาจจะทำให้เกิดสีเหลืองในผลิตภัณฑ์ได้ เนื่องจากเกิดการสร้างสาร Stilbenequinone ขึ้น โดยทั่วไปมักใช้ BHT ร่วมกับสารแอนติออกซิแดนต์ตัวอื่นๆ เช่น BHA เป็นต้น

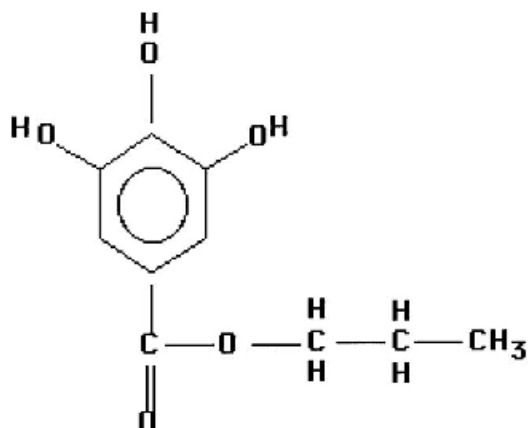


ภาพ 2.21 โครงสร้างของ BHT

ที่มา: German, 2002

3. Tertiary Butylhydroquinone (TBHQ)

TBHQ (2-(1,1-dimethylethyl)-1,4-benzenediol) (ภาพ 2.22) มีลักษณะเป็นผลึกสีขาวถึงสีน้ำตาลอ่อน มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 166.22 มีจุดเดือด 300 องศาเซลเซียส และจุดหลอมเหลว 126.5-128.5 องศาเซลเซียส สามารถละลายในน้ำมันและไขมันได้ปานกลาง ประมาณร้อยละ 5-10 และสามารถละลายในน้ำได้เล็กน้อยประมาณร้อยละ 1 ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ TBHQ เป็นสารแอนติออกซิแดนต์ที่นิยมนำไปใช้กันมาก นอกจากนี้ TBHQ ยังมีความคงตัวดี ไม่สลายตัวเมื่อผ่านกระบวนการผลิต และให้ประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันดีกว่าสารตัวอื่นๆ ด้วย ทั้งนี้อาจมีการใช้กรดซิตริกร่วมด้วยเพื่อเพิ่มความคงตัว แต่ห้ามใช้ TBHQ ร่วมกับ Propyl gallate

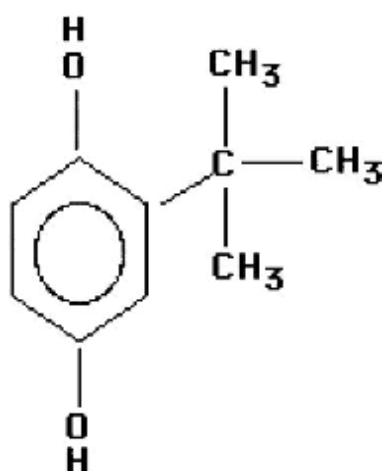


ภาพ 2.22 โครงสร้างของ TBHQ

ที่มา: German, 2002

4. Propyl Gallate (PG)

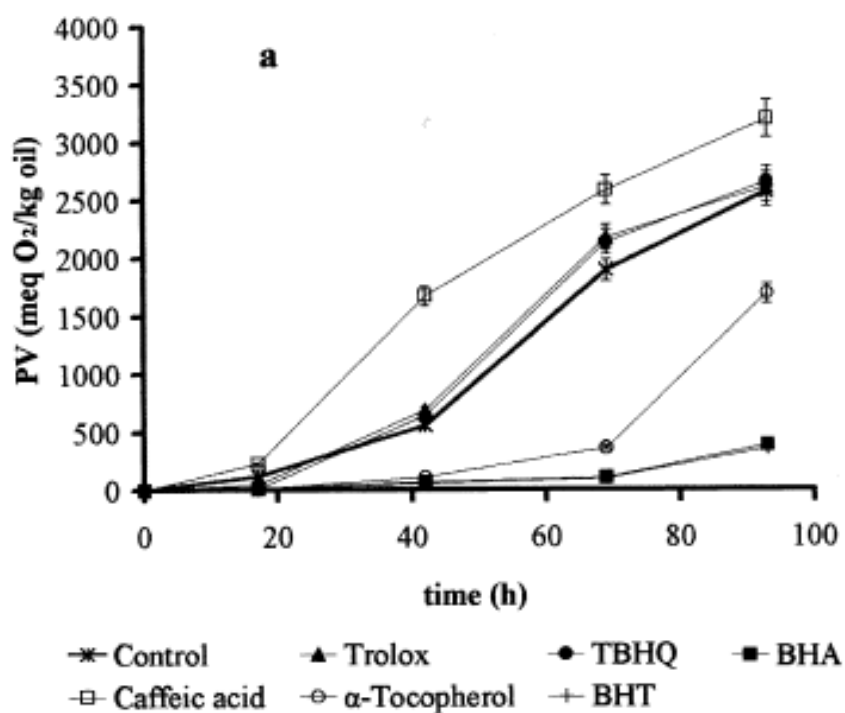
PG (3,4,5-trihydroxybenzoic acid propyl ester) (ภาพ 2.23) มีลักษณะเป็นผลึกสีขาวถึงสีเทาอ่อน มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 212.20 มีจุดหลอมเหลว 150 องศาเซลเซียส และสลายตัวที่อุณหภูมิสูงกว่า 148 องศาเซลเซียส สามารถละลายได้บางส่วนในน้ำ แอลกอฮอล์ อีเทอร์ และสามารถละลายในน้ำมันได้ต่ำ ทั้งนี้เนื่องจาก PG มีจุดหลอมเหลวต่ำ จึงทำให้ประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันต่ำ เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 190 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ PG ยังไวต่อความร้อน ทำให้สลายตัวไปเมื่อผ่านกระบวนการทางความร้อนอีกด้วย โดยทั่วไปจึงมักใช้ PG ร่วมกับ BHA หรือ BHT เพื่อเพิ่มความคงตัวและประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชัน



ภาพ 2.23 โครงสร้างของ PG

ที่มา: German, 2002

Khan and Shahidi (2001) ได้ศึกษาผลของสารแอนติออกซิแดนท์ที่ได้จากธรรมชาติ และสารแอนติออกซิแดนท์สังเคราะห์ต่อความคงตัวของ Borage และ Evening primrose triacylglycerols พบว่าสารแอนติออกซิแดนท์สังเคราะห์มีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าสารแอนติออกซิแดนท์ที่ได้จากธรรมชาติ โดย TBHQ มีประสิทธิภาพดีที่สุด รองลงมาคือ BHA และ BHT ตามลำดับ ทั้งนี้ Nenadis *et al.* (2003) ได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารแอนติออกซิแดนท์ที่ใช้ในอาหารทั่วไป ได้แก่ BHA, BHT, TBHQ, Caffeic acid, Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetra-methyl-chroman-2-carboxylic acid) และแอลฟาโทโคเฟอรอล ในระบบอิมัลชัน พบว่า BHA และ BHT มีประสิทธิภาพดีที่สุด (ภาพ 2.24) รองลงมาคือ แอลฟาโทโคเฟอรอล สำหรับ TBHQ และ Trolox นั้นมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน ส่วน Caffeic acid นั้นอาจมีเป็นโปรออกซิแดนท์หรือแอนติออกซิแดนท์ ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่ใช้



ภาพ 2.24 ค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) ของ 10% O/W Emulsion ที่เติมสารแอนติออกซิแดนท์ชนิดต่างๆ 50 ไมโครโมลาร์ และเก็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ที่มา: Nenadis *et al.*, 2003

Gülçin *et al.* (2004) ได้ศึกษาสมบัติในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดอะซีโตนและคลอโรฟอร์ม ที่ได้จาก Clary sage (CS) เปรียบเทียบกับ BHA, BHT และแอลฟาโทโคเฟอรอล พบว่า BHT สามารถกำจัดไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ได้ดีที่สุด ซึ่งเมื่อเติม BHT 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกำจัดไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ได้ถึงร้อยละ 86 รองลงมาคือแอลฟาโทโคเฟอรอล สารสกัดคลอโรฟอร์ม สารสกัดอะซีโตน ส่วน BHA มีประสิทธิภาพต่ำที่สุด ส่วนการศึกษาสมบัติในการต้านออกซิเดชันของชาที่ได้จาก Oregano, Thyme และ Wild Thyme เปรียบเทียบกับ BHA, BHT และแอลฟาโทโคเฟอรอล โดยวิธี β -carotene bleaching (BCB) (Kulišić *et al.*, 2006) พบว่า BHA สามารถรักษาสีของบีตาแคโรทีนไว้ได้มากที่สุด รองลงมาคือ BHT, แอลฟาโทโคเฟอรอล ชาที่ได้จาก oregano, thyme และ wild thyme ตามลำดับ นอกจากนี้ Iqbal and Bhanger (2007) ยังพบว่า การเติม BHT 200 ไมโครกรัมต่อกรัม ในน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวันสามารถต้านออกซิเดชันได้ดีเทียบเท่ากับการเติมสารสกัดเมทาโนลิก (Methanolic extract) ที่สกัดได้จากกระเทียมถึง 1,000 ไมโครกรัมต่อกรัม ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาประสิทธิภาพของฟีนอลิกแอนติออกซิแดนท์ (Phenolic antioxidant) ในการป้องกันการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ในปาปริก้า (Cuvelier and Berset, 2005) โดยสารแอนติออกซิแดนท์ที่ศึกษา ได้แก่ BHT (Butylated Hydroxytoluene), α -Tocopherol, Epigallocatechin gallate, Quercetin, Rosmarinic acid, Caffeic acid, Ferulic acid, *p*-Coumaric acid และ Catechin พบว่า BHT ให้ผลในการป้องกันการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุด และ Catechin ให้ผลในการป้องกันการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ต่ำที่สุด ดังตาราง 2.4

ตาราง 2.4 ค่า Power ของสารประกอบฟีนอลิก ในการป้องกันการซีดจางของสี

สารประกอบฟีนอลิก	1/C (10^{-3} L mol ⁻¹)	R ²
BHT	126.4	0.9861
α -Tocopherol	97.7	0.8996
Epigallocatechin gallate	50.9	0.9854
Quercetin	34.3	0.9866
Rosmarinic acid	13.7	0.9939
Caffeic acid	11.5	0.9955
Ferulic acid	10.1	0.9513
<i>p</i> -Coumaric acid	6.0	0.9728
Catechin	1.7	0.8711

ที่มา: Cuvelier and Berset, 2005

2.5 ปฏิกิริยาทางจลนพลศาสตร์ (Kinetic Reaction)

อาหารต่างๆ มีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางเคมีและชีวภาพระหว่างการแปรรูปและการเก็บรักษา ซึ่งวัตถุประสงค์หลักของการแปรรูปและการเก็บรักษาคือ ต้องการควบคุมตัวแปรต่างๆ ซึ่งทำให้ปฏิกิริยาต่างๆ เกิดขึ้นอย่างเหมาะสม โดยปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการแปรรูปและการเก็บรักษาจะเกิดขึ้นด้วยอัตราที่แตกต่างกัน ปฏิกิริยาเหล่านี้ (รุ่งนภา, 2540) ได้แก่

- 1) การเปลี่ยนแปลงทางเคมี เช่น การออกซิเดชัน การไฮโดรไลซิส
- 2) การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ เช่น การเกิดกลิ่นรสผิดปกติ
- 3) การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เช่น การเปลี่ยนสี การแยกชั้นของครีม
- 4) การเปลี่ยนแปลงทางคุณค่าอาหาร เช่น การสูญเสียวิตามิน
- 5) การเปลี่ยนแปลงทางด้านประสาทสัมผัส เช่น การสูญเสียกลิ่นรส

1. จลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยา

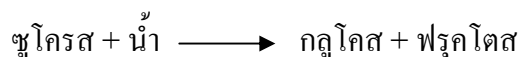
ในการศึกษาและควบคุมจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยานั้นจะต้องมีการวัดว่าปฏิกิริยาดำเนินไปด้วยความเร็วระดับใด อะไรคืออัตราของปฏิกิริยาและจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยา ซึ่งมีสมการพื้นฐานสำหรับการเปลี่ยนแปลงทั้งหมดในระหว่างการแปรรูปและการเก็บรักษา คือ

$$\frac{dC}{dt} = f(C, T) \quad (1)$$

เมื่อ	$\frac{dC}{dt}$	เป็นอัตราการเปลี่ยนแปลงปริมาณสาร
	C	เป็นความเข้มข้นของสารที่เวลาหนึ่งๆ
	T	เป็นอุณหภูมิ

สมการนี้จะมีประโยชน์อย่างมากถ้าทราบ $f(C, T)$ ในกระบวนการใดๆ ที่สนใจ เพื่อให้มีรายละเอียดข้อมูลเพียงพอต่อการคำนวณ

การเปรียบเทียบอัตราของปฏิกิริยาในตัวอย่างง่ายๆ เช่น ในการผลิตแยม ปฏิกิริยาที่พิจารณา คือ



เมื่อควบคุมความเป็นกรดและอุณหภูมิให้คงที่ การเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยของซูโครสเทียบกับเวลาจะเป็น

$$\frac{\Delta C_A}{C_A} = -k\Delta t \quad (2)$$

ถ้าเวลาสั้นมาก จะได้สมการอัตราดังนี้

$$\frac{dC_A}{dt} = -k \cdot C_A$$

ซึ่งเป็นกรณีพิเศษของสมการที่ขึ้นกับความเข้มข้น (C_A) เรียกปฏิกิริยานี้ว่าปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ค่าคงที่อัตรา (k) หาได้จากการนำข้อมูลของกราฟที่เกี่ยวข้องกับความเข้มข้นเริ่มต้นของ A เทียบกับเวลาในหน่วยของนาที่ มาเขียนกราฟระหว่าง $\ln(C_A/C_{A0})$ เทียบกับเวลาซึ่งจะให้กราฟเส้นตรงและมีความชันเป็น k ซึ่งเรียกว่า Reaction rate constant

จลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาเกี่ยวข้องกับรูปของ $f(C)$ โดยหลักการแล้วจลนพลศาสตร์เป็นค่าที่ได้จากการทดลองซึ่งอธิบายสิ่งที่เกิดขึ้นจริงในอาหาร แม้ว่าจะมีความพยายามที่จะใช้ทฤษฎีในการอธิบายก็ตาม แต่ในที่สุดก็ต้องใช้การทดลองช่วยสรุปในขั้นสุดท้าย เมื่อได้ค่าทางจลนพลศาสตร์แล้วขั้นตอนต่อไปคือ การใช้ค่าเหล่านี้แทนลงในสมการทางคณิตศาสตร์ แล้วทำการแก้สมการออกมา โดยทั่วไปแล้วปฏิกิริยาเหล่านี้มักเกิดขึ้นในระบบที่กำหนด ซึ่งอาจเรียกระบบทางกายภาพที่ปฏิกิริยาเหล่านี้เกิดขึ้นว่า Reactor ก็ได้

สมการพื้นฐานที่สำคัญมี 2 สมการ คือ Rate of reaction และการใช้ผลของความเข้มข้นและอุณหภูมิต่อปฏิกิริยา ดังต่อไปนี้

(1) Reaction kinetic equation

$$-r_A = \frac{-dC_A}{dt} = f(C_A, C_B, \dots, T) \quad (3)$$

เมื่อ $C_A, C_B, \dots$ เป็นความเข้มข้นขององค์ประกอบต่างๆ ของอาหารในสูตร
 T เป็นอุณหภูมิ

(2) ผลของอุณหภูมิและ/หรือความเข้มข้นต่ออัตราของปฏิกิริยา (Rate of reaction) โดยอุณหภูมิและความเข้มข้นไม่ขึ้นต่อกัน

$$\frac{-dC_A}{dt} = k(T) f(C_A)$$

หรือ

$$\frac{-dC_A}{f(C_A)} = k(T) dt \quad (4)$$

ในการออกแบบ วางแผนและควบคุมกระบวนการหนึ่งๆ สมการพื้นฐาน (3) และ (4) สามารถอินทิเกรตเทียบกับเวลาเพื่อหาความเข้มข้นขององค์ประกอบที่ต้องการ ที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพอาหารในผลิตภัณฑ์สุดท้าย โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์อาหารจะมีหลายองค์ประกอบ บางองค์ประกอบก็มีความสำคัญกว่าองค์ประกอบอื่นๆ บางองค์ประกอบก็อาจเป็นองค์ประกอบวิกฤติ ดังนั้นถ้าเราทราบข้อมูลทางจลนพลศาสตร์ ผลของอุณหภูมิร่วมกับกระบวนการ เราก็สามารถควบคุมกระบวนการหรือปฏิกริยานั้นๆ ให้เป็นไปตามที่เราต้องการได้

Arrhenius ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิ และพบสมการหนึ่งซึ่งกล่าวว่า Rate of reaction ที่อุณหภูมิหนึ่งเกี่ยวข้องกับ Rate of reaction ที่อีกอุณหภูมิหนึ่ง ดังนี้

$$k = Ae^{-E_a/RT} \quad (5)$$

หรือ

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT}$$

เมื่อ	k	เป็น Rate of constant (ค่าคงที่อัตรา)
	A	เป็น Arrhenius constant
	E _a	เป็น Activation energy (พลังงานกระตุ้น)
	R	เป็น Gas constant (ค่าคงที่ของแก๊ส) เท่ากับ 8.314 จูลต่อโมล เคลวิน
	T	เป็นอุณหภูมิสัมบูรณ์ (เคลวิน)

นั่นคือ อัตราของปฏิกริยามีความสัมพันธ์กับส่วนกลับของอุณหภูมิสัมบูรณ์ทางเอกซ์โปเนนเชียล เราสามารถหาอัตราของปฏิกริยาที่ 2 อุณหภูมิ แล้วแทนค่าในสมการ (5) จะได้ค่า E_a/R (รู้งนภา , 2540)

2. อันดับของปฏิกริยา

โมเลกุลที่เข้าทำปฏิกริยาจะทำปฏิกริยากับโมเลกุลอื่นๆ บางครั้งอาจทำปฏิกริยากับสารเดียวกัน อัตราที่สารเหล่านี้เข้าทำปฏิกริยากันเกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ของโมเลกุลที่อยู่ติดกัน ซึ่งก็คือความเข้มข้นนั่นเอง การแสดงความสัมพันธ์เป็นสมการสำหรับองค์ประกอบ A คือ

$$-r_A = \frac{-dC_A}{dt} = f(C_A, C_B, \dots) k(T) \quad (6)$$

เมื่อ C_B, ... เป็นความเข้มข้นของโมเลกุลอื่น นอกเหนือจากโมเลกุล A

สัญลักษณ์ที่ติดลบ มาจากความจริงที่ว่าสารที่เข้าทำปฏิกริยากันซึ่งเป็นความเข้มข้นขององค์ประกอบเริ่มต้นจะลดลงเมื่อเวลาผ่านไป

ถ้าความเข้มข้นของโมเลกุลอื่นๆ มีค่าคงที่ และถ้าเราตั้งสมมติฐานว่าเป็นสัดส่วนของ Power law ดังนั้นที่อุณหภูมิคงที่

$$-r_A = \frac{-dC_A}{dt} = k \cdot C_A^n \quad (7)$$

เมื่อ k เป็น ค่าคงที่อัตรา

n เป็นอันดับของปฏิกิริยา

สมการที่ (7) นี้กล่าวว่า อัตราที่องค์ประกอบ A ของอาหารเปลี่ยนแปลงจะเป็นค่าคงที่คูณกับความเข้มข้นของ A ที่ยกกำลัง n ซึ่งเป็นอันดับของปฏิกิริยา ส่วนค่าคงที่อัตรานั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น อุณหภูมิและความเข้มข้นขององค์ประกอบอื่นๆ ของอาหาร

จะเห็นว่า วิธีดังกล่าวเป็นการแสดงปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการแปรรูปอาหารหรือในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งทำให้ผู้แปรรูปอาหารทราบว่าองค์ประกอบของอาหารหนึ่งๆ ทำปฏิกิริยาหรือเปลี่ยนรูปไปมากน้อยแค่ไหนในช่วงเวลาหนึ่ง ซึ่งอาจเป็นเวลาของการฆ่าเชื้อ หรือสูญเสียวิตามินระหว่างการเก็บ โดยการทำอินทิเกรตในช่วงเวลาหนึ่ง แล้วทำการรวมมวลที่ทำปฏิกิริยาในช่วงเวลาที่เพิ่มขึ้นทีละน้อยเหล่านี้ การอินทิเกรต Rate equation เป็นวิธีการมาตรฐานทางคณิตศาสตร์ โดยรูปการอินทิเกรตจะแปรเปลี่ยนไปตามค่าของ n ดังนี้

สำหรับ $n = 1$;

$$\frac{dC_A}{dt} = -k C_A$$

หรือ

$$\frac{dC_A}{C_A} = -k dt \quad (8)$$

ดังนั้นถ้า k ไม่เป็นฟังก์ชันกับเวลา t หมายความว่าอุณหภูมิคงที่ และองค์ประกอบอื่นๆ ไม่ได้ทำปฏิกิริยา ดังนั้นถ้าความเข้มข้นเริ่มต้นขององค์ประกอบ A เป็น C_{A0} ที่เวลา $t=0$ และ C_A ที่เวลา t เมื่ออินทิเกรตสมการ (8) จะได้

$$\ln\left(\frac{C_A}{C_{A0}}\right) = -k \cdot t \quad (9)$$

$$C_A = C_{A0} e^{-kt} \quad (10)$$

สำหรับ $n \neq 1$;

$$\frac{-dC_A}{dt} = k C_A^n$$

$$\frac{-dC_A}{C_A^n} = k dt$$

เมื่อทำการอินทิเกรตจะได้ $\int_{C_A}^{C_{A0}} \frac{dC_A}{C_A^n} = \int_0^t k dt = -k \int_0^t dt$

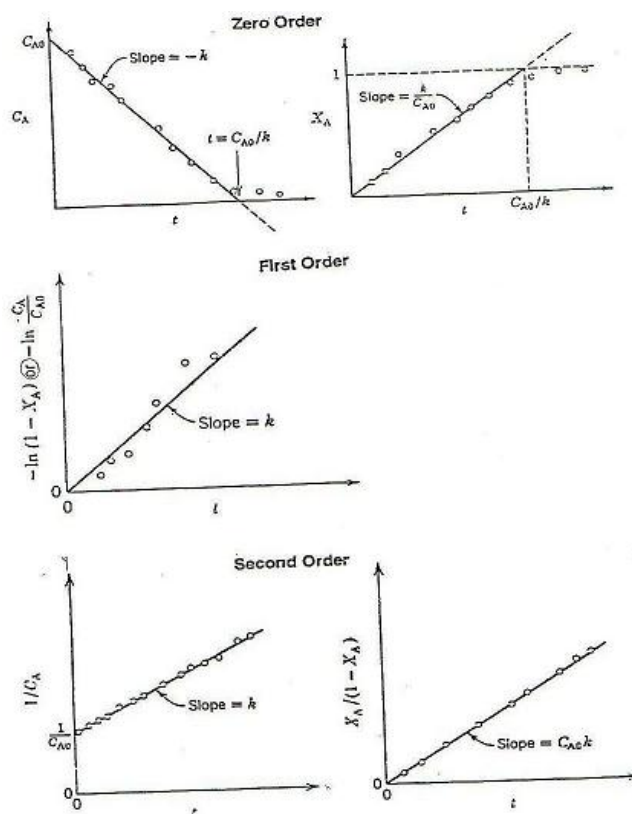
ดังนั้น $C_A^{1-n} - C_{A0}^{1-n} = (n-1)kt$

สำหรับ $n = 2$; $C_A^{1-2} - C_{A0}^{1-2} = (2-1)kt$ (11)

$$\frac{1}{C_A} - \frac{1}{C_{A0}} = (2-1)kt$$

$$\frac{1}{C_A} - \frac{1}{C_{A0}} = kt$$
 (12)

สมการ (9) และ (11) แสดงให้เห็นถึงความก้าวหน้าของปฏิกิริยาต่างๆ ซึ่งองค์ประกอบอาหาร A ที่มีความเข้มข้น C_A เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเทียบกับเวลา t ตามสมการทั้งสองขึ้นกับค่า n และ k ถ้าเขียนกราฟระหว่าง $\ln (C_A/C_{A0})$ หรือ $C_A^{1-n} - C_{A0}^{1-n}$ เทียบกับเวลา t กราฟที่ได้ควรเป็นกราฟเส้นตรงดังแสดงในภาพ 2.25 โดยที่ค่า $X_A = 1 - (C_A/C_{A0})$ นอกจากนี้ค่า n ไม่จำเป็นต้องเป็นเลขจำนวนเต็ม แต่ในระบบของอาหารมักมีค่า n อยู่ระหว่าง 0 ถึง 2 ($0 \leq n \leq 2$)



ภาพ 2.25 กราฟเส้นตรงของปฏิกิริยาอันดับต่างๆ

ที่มา: รุ่งนภา, 2540

การหาค่าคงที่อัตราและอันดับของปฏิกิริยาในทางทฤษฎี จำเป็นต้องหาข้อมูลจากการทดลอง โดยทำการวัดความเข้มข้นขององค์ประกอบต่างๆ ในระบบอาหารหนึ่งๆ เทียบกับเวลา ภายใต้สภาวะคงที่ เช่น อุณหภูมิ เทคนิคในการวิเคราะห์จะใช้ความสอดคล้องของข้อมูลจากการทดลองกับสมการที่ใช้อธิบายผลการทดลอง เช่น ถ้าผลการทดลองสอดคล้องกับปฏิกิริยาอันดับ 0 ($n = 0$) ก็จะใช้สมการอันดับ 0 เพื่ออธิบายหรือทำนายการเปลี่ยนแปลงในอาหาร (รุ่งนภา, 2540)

3. ผลของอุณหภูมิ

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างการแปรรูปและการเก็บรักษา จะเห็นว่าอุณหภูมิมิผลต่ออัตราของปฏิกิริยาก่อนข้างมาก ที่อุณหภูมิต่ำปฏิกิริยาจะดำเนินไปได้ช้ากว่า และที่อุณหภูมิสูงปฏิกิริยาจะดำเนินไปได้เร็วกว่า เดมนักเคมีได้สังเกตว่าอัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นประมาณสองเท่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิทุก 10 องศาเซลเซียส

Arrhenius ได้ทำการไฮโดรไลซิสซูโครส ซึ่งพบว่าเป็นปฏิกิริยอันดับหนึ่ง และทำการวัดค่าคงที่ของอัตราที่อุณหภูมิหนึ่ง จากนั้นจึงทำการวัดค่าคงที่ของอัตราที่อุณหภูมิต่างๆ จำนวนหนึ่ง และเมื่อสร้างกราฟระหว่าง $\log k$ เทียบกับส่วนกลับของอุณหภูมิสัมบูรณ์ ($1/T$) จะได้กราฟเส้นตรง ดังนี้

$$\ln k = \ln A - \left(\frac{S}{T} \right) \quad (13)$$

$$k = Ae^{-(S/T)} \quad (14)$$

เมื่อ A และ S เป็นค่าคงที่
T เป็นอุณหภูมิ (K)

A เป็นค่าคงที่ทางคณิตศาสตร์ที่เท่ากับค่า k เมื่อ T = Frequency factor และเมื่อเทียบทางเทอร์โมไดนามิกส์ ความชัน S ของเส้นตรงสามารถเทียบได้เป็น $-E_a/R$

เมื่อ E_a เป็นพลังงานกระตุ้น
R เป็นค่าคงที่ของแก๊สมีค่าเท่ากับ 8.314 จูลต่อโมล เคลวิน
ดังนั้นจากสมการ (14) จะได้

$$k = Ae^{-E_a/RT} \quad (15)$$

เรียกสมการ (15) ว่าสมการ Arrhenius และอาจเขียนได้ว่า

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (16)$$

โดยค่าพลังงานกระตุ้น จะบอกให้ทราบว่าอัตราของปฏิกิริยาเปลี่ยนแปลงไปอย่างไร เมื่อเทียบกับอุณหภูมิ ขณะที่ค่าคงที่อัตรา จะบอกให้ทราบว่าปฏิกิริยาไวอย่างไร (รุ่งนภา, 2540)

Decimal reduction time (ค่า D) หมายถึงเวลาที่ปริมาณความเข้มข้นของสารจะลดลงไปร้อยละ 90 ซึ่งมีความสัมพันธ์กับค่าคงที่อัตรา (Vikram *et al.*, 2005) ดังสมการ

$$D = \frac{2.303}{k} \quad (17)$$

และค่า D จะมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิ และค่า z (Vikram *et al.*, 2005) ดังสมการ

$$\ln \left(\frac{D_1}{D_2} \right) = \frac{(T_2 - T_1)}{z} \quad (18)$$

เมื่อ D_1 และ D_2 เป็นค่า Decimal reduction time ที่อุณหภูมิ T_1 และ T_2
ตามลำดับ

z เป็นค่าอุณหภูมิที่ทำให้ค่า D ลดลงไป 1 log cycle

บทที่ 3

วัตถุดิบและวิธีการศึกษา

3.1 วัตถุดิบ

น้ำมันปาล์มดิบจากบริษัท ชุมพรอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม จำกัด (มหาชน)

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

- เครื่องสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิต่ำ
- เครื่องระเหย (Rotary Evaporator: R-200 model, BUCHI, Switzerland)
- เครื่องโซนิเคเตอร์ (Sonicator: S30 model, ELMA[®], Germany)
- เครื่องปั่นแบบมือจับ (MR 430 HC model, 300 Watt, BRAUN[®], Spain)
- ตู้ป้อน (Incubator: BD115 model, BINDER[®], Germany)
- ตู้อบลมร้อน (Oven: UNE 400 model, Memmert, Germany)
- เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer: UV WINLAB version 2.85.04, PerkinElmer[™], United Kingdom)

3.3 สารเคมี

- กรดซิตริก (Citric acid: $C_6H_8O_7$, MERCK, Germany)
- กรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid: H_3PO_4 , MERCK, Germany)
- เฮกเซน (Hexane: C_6H_{14} , commercial grade, Etalmar, Thailand)
- เอทานอล (Ethanol: C_2H_5OH , purity 95%, ethanol 95, Imported denatured ethyl alcohol 95%)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide: NaOH, purity 98%, THASCO Chemical, Thailand)
- น้ำมันดอกทานตะวัน (น้ำมันดอกทานตะวันผ่านกรรมวิธี 100% ตราไก่, ธนากรผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช, ประเทศไทย)
- กรดอะซิติก (Acetic acid: CH_3COOH , glacial AR Grade, MERCK, Germany)
- โซเดียมอะซิเตต (Sodium acetate: CH_3COONa , AR Grade, MERCK, Germany)
- BHA (Butylated hydroxyanisole: $C_{11}H_{16}O_2$, Sigma-Aldrich, USA)
- BHT (Butylated hydroxytoluene: $C_{15}H_{24}O$, Sigma-Aldrich, USA)
- TBHQ (tert-Butylhydroquinone: $C_{10}H_{14}O_2$, Sigma-Aldrich, USA)
- ทวิน 20 (Tween 20: $C_{58}H_{114}O_{26}$, MERCK, Germany)

- โปแตสเซียมซอร์เบท (Potassium sorbate: $C_6H_7O_2K$, MERCK, Germany)
- บีตาแคโรทีนมาตรฐาน (Standard beta-carotene: $C_{40}H_{56}$, purity $\geq 95\%$, HPLC grade, Sigma-Aldrich, USA)
- เตตราไฮโดรฟูแรน (Tetrahydrofuran: C_4H_8O , purity 99.9% , HPLC grade, Fisher Scientific, USA)
- โปแตสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide: KI, AR Grade, MERCK, Germany)
- คลอโรฟอร์ม (Chloroform: $CHCl_3$, AR Grade, LAB-SCAN, Ireland)
- สตาร์ช (Starch soluble: AR Grade, MERCK, Germany)
- โซเดียมไธโอซัลเฟต (Sodium thiosulphate: $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$, AR Grade, Finechem, New Zealand)
- โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium hydroxide: KOH, AR Grade, MERCK, Germany)
- ฟีนอล์ฟทาเลอิน (Phenolphthalein: $C_{20}H_{14}O_4$, AR Grade, MERCK, Germany)
- น้ำกลั่น (Distilled, demineralized, deionized water)
- เปปโตน (Peptone from casein: MERCK, Germany)
- อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA (Plate count agar: MERCK, Germany)
- อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato dextrose agar: MERCK, Germany)

3.4 วิธีการวิจัย

ตอนที่ 1 การสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อุณหภูมิต่ำ

ใช้วิธีการและสภาวะที่ใช้ในการสกัดของ พัชรินทร์และคณะ (2548)

ก. การกำจัดกัมและโลหะหนักในน้ำมันปาล์มดิบ ซึ่งน้ำมันปาล์มดิบใส่หม้อต้ม แล้วให้ความร้อนโดยนำขึ้นตั้งไฟ และกวนตลอดเวลา จนกระทั่งวัดอุณหภูมิของน้ำมันปาล์มดิบได้ประมาณ 80 องศาเซลเซียส แล้วค่อยๆ เติมกรดซัลฟริกเข้มข้นร้อยละ 20 และกรดฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 75 ในปริมาณร้อยละ 0.02 และ 0.08 ของน้ำหนักน้ำมันปาล์มดิบ ตามลำดับจากนั้นกวนผสมต่อเป็นเวลา 15-20 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงเป็น 60 องศาเซลเซียสแล้วจึงนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 โดยใช้ระบบการกรองแบบสุญญากาศ นำน้ำมันส่วนที่กรองได้ใส่ขวดเก็บไว้ในที่มืด

ข. การสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อุณหภูมิต่ำแบบไม่ต่อเนื่อง ด้วยเครื่องสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิต่ำ

1. ปรับตั้งอุณหภูมิของอุปกรณ์ที่ใช้ในการแช่เย็นตัวทำละลายเฮกเซนเป็น -10 องศาเซลเซียส แล้วเติมตัวทำละลายเฮกเซนปริมาณ 4,300 มิลลิลิตร ลงในอุปกรณ์ที่ใช้ในการผสมเฮกเซนกับน้ำมันปาล์มดิบที่ผ่านการกำจัดกัมออกไปแล้ว รอจนกระทั่งอุณหภูมิของเฮกเซนลดลงเท่ากับ -10 องศาเซลเซียส

2. ชั่งน้ำมันปาล์มดิบที่ผ่านการกำจัดกัมและโลหะหนักที่ได้จากข้อ ก. ปริมาณ 1,434 กรัม (อัตราส่วนน้ำมันต่อเฮกเซนเป็น 1 ต่อ 3) นำเข้าอุปกรณ์ที่ใช้ในการผสมเฮกเซนกับน้ำมันปาล์มดิบที่ผ่านการกำจัดกัมออกไปแล้ว โดยใช้ Peristaltic pump เพื่อช่วยให้อัตราการไหลของน้ำมันคงที่ ทั้งนี้จะปรับให้น้ำมันที่ไหลลงถึงผสมมีลักษณะค่อยๆ ไหลทีละหยด และปรับความเร็วรอบของใบกวนในระหว่างการผสมเป็น 250 รอบต่อนาที เมื่อน้ำมันไหลลงถึงผสมจนหมดแล้วจึงจับเวลาให้น้ำมันผสมกับเฮกเซนต่ออีกเป็นระยะเวลา 5 นาที

3. กรองสารละลายที่ได้ ด้วยอุปกรณ์แยกผลึกไขมัน เพื่อแยกส่วนของไขมันที่แข็งตัวออกด้วยกระดาษกรอง โดยใช้ระบบการกรองแบบสุญญากาศ ทั้งนี้จะควบคุมอุณหภูมิตลอดการกรองให้ไม่สูงเกินกว่า -10 องศาเซลเซียส

4. นำสารละลายส่วนที่กรองได้ใส่ขวดสีชาทึบแสง เก็บไว้ในที่มืด เพื่อให้อุณหภูมิของสารละลายเพิ่มสูงขึ้นจนมีอุณหภูมิเท่าบรรยากาศ

ค. การระเหยแยกเอาตัวทำละลายเฮกเซนออก ด้วยเครื่องสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิต่ำ โดยตั้งอุณหภูมิของอุปกรณ์ควบแน่นเฮกเซนไว้ที่ -15 องศาเซลเซียส แล้วนำสารละลายส่วนที่กรองได้ที่ได้จากข้อ ข. เข้าอุปกรณ์ระเหยสุญญากาศ ซึ่งตั้งอุณหภูมิและความดันเป็น 40 องศาเซลเซียสและ 60 เซนติเมตรปรอท ตามลำดับ ทำการระเหยจนกระทั่งตัวทำละลายเฮกเซนระเหยออกจนหมด ซึ่งระยะเวลาที่ใช้จะขึ้นอยู่กับปริมาณของสารละลายในถังระเหยแยกตัวทำละลาย จากนั้นเก็บสารสกัดแคโรทีนอยด์ที่ได้ใส่ในขวดสีชาแล้วเก็บในที่มืด และเก็บตัวทำละลายเฮกเซนจากอุปกรณ์รวบรวมเฮกเซนใส่ขวดเพื่อใช้งานต่อไป

ง. การทำสะปอนิฟิเคชัน เพื่อกำจัดไขมันส่วนเกินออกจากสารสกัดแคโรทีนอยด์ โดยนำสารสกัดแคโรทีนอยด์ที่ได้จากข้อ ค. มาผสมกับเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ในโถแก้วด้วยอัตราส่วน 1 ต่อ1 (ใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์ 400 กรัม ผสมกับเอทานอล 400 กรัม) แล้วให้ทำปฏิกิริยากับด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ในสัดส่วนที่เท่ากัน (ถ้าใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์ 400 กรัม จะใช้สารโซเดียมไฮดรอกไซด์ 400 กรัม) โดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 20

ในเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 (ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ 400 กรัม ละลายในเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณ 1,600 กรัม ซึ่งในระหว่างการละลายสารละลายจะร้อน ให้หล่อเย็นด้วยน้ำและใช้เครื่องปั่นช่วยให้ต่างละลายดีขึ้น) ทั้งนี้หลังจากเติมสารละลายต่างลงผสมกับสารละลายแคโรทีนอยด์ในโถแก้ว ให้รีบเขย่าอย่างแรงเพื่อให้สารละลายต่างเข้าทำปฏิกิริยาอย่างทั่วถึง จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง จากการทำปฏิกิริยาจะได้แคโรทีนอยด์และสบู่ ทำการแยกแคโรทีนอยด์ออกจากสบู่ด้วยการเติม ตัวทำละลายเฮกเซนประมาณ 1,000 มิลลิลิตร แล้วล้างค้างส่วนเกิน สบู่ และกลีเซอรินออกด้วยน้ำและเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 จนกว่าจะได้แคโรทีนอยด์ตามต้องการ (ประยุกต์จาก Godoy and Rodriguez-Amaya, 1998) จากนั้นจึงนำไปประเหยตัวทำละลายเฮกเซนออกอีกครั้งหนึ่ง ด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุน จะได้แคโรทีนอยด์

ตอนที่ 2 การเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์สัสมอาหาร

ก. ผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน เตรียมโดยใช้น้ำมันดอกทานตะวันละลายแคโรทีนอยด์ที่ได้จากตอนที่ 1 จากนั้นเติมสารแอนติออกซิแดนท์สังเคราะห์ ได้แก่ BHA, BHT และ TBHQ ปริมาณร้อยละ 0.02 ซึ่งความเข้มข้นที่ใช้เป็นปริมาณที่มีการแนะนำให้ใช้ในการค้าและไม่เกินมาตรฐานที่กฎหมายกำหนด ทั้งนี้ตัวอย่างที่เป็นชุดควบคุมจะไม่เติมสารแอนติออกซิแดนท์ บรรจุตัวอย่างลงในขวดสีชาทึบแสง พันด้วยก๊าชไนโตรเจน และปิดฝาให้สนิท

ข. ผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน เตรียมสารละลายโซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.5 เติมน้ำ 20 ร้อยละ 1 ของปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ต้องการเตรียมเพื่อเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (ผลิตภัณฑ์ 100 กรัมจะใช้ทวิน 20 ปริมาณ 1 กรัม) ค่อยๆเติมแคโรทีนอยด์ในน้ำมันดอกทานตะวัน (เตรียมตามวิธีการเตรียมผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันในข้อ ก.) ซึ่งเติมสารแอนติออกซิแดนท์สังเคราะห์ ได้แก่ BHA, BHT และ TBHQ ปริมาณร้อยละ 0.02 ของปริมาณผลิตภัณฑ์ และตัวอย่างที่เป็นชุดควบคุมจะไม่เติมสารแอนติออกซิแดนท์ ทั้งนี้ใช้อัตราส่วนน้ำมันต่อสารละลายบัฟเฟอร์เป็น 1 ต่อ 9 โดยในการผสมจะทำในอ่างน้ำแข็งและใช้เครื่องโฮมิเคเตอร์ช่วยในการผสม (Kiokias and Gordon, 2003) จะได้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปอิมัลชันที่มีส่วนของน้ำมันอยู่ร้อยละ 10 นำตัวอย่างที่เติมสารแอนติออกซิแดนท์สังเคราะห์มาแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มหนึ่งเติมสารกันเชื้อรา ได้แก่ โปแตสเซียมซอร์เบตปริมาณร้อยละ 0.1 ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งไม่เติมสารกันเชื้อรา แล้วบรรจุตัวอย่างลงในขวดสีชาทึบแสง พันด้วยก๊าชไนโตรเจน และปิดฝาให้สนิท

ตอนที่ 3 การทดสอบผลของการเติมสารแอนติออกซิแดนท์ต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ สีส้มอาหารจากแคโรทีนอยด์

ก. ผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันที่เตรียมได้จากตอนที่ 2 มาทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 140 วัน และทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120 และ 140 เพื่อตรวจวัดปริมาณบิตาแคโรทีนด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี (AOAC, 2002) ตรวจวัดค่าของกรดและค่าเพอร์ออกไซด์ตามวิธีมาตรฐาน โดยทำการทดลองเป็นจำนวน 3 ซ้ำ

ข. ผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชันที่เตรียมได้จากตอนที่ 2 มาทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 140 วัน และทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120 และ 140 เพื่อตรวจวัดปริมาณบิตาแคโรทีนด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี (AOAC, 2002) ตรวจหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ รา ตามวิธีมาตรฐาน โดยทำการทดลองเป็นจำนวน 3 ซ้ำ

ตอนที่ 4 การทดสอบความคงตัวต่อความร้อนของผลิตภัณฑ์สีส้มอาหารจากแคโรทีนอยด์

ก. ผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ศึกษาความคงตัวต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 140, 145, 150, 155 และ 160 องศาเซลเซียส โดยนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันที่เตรียมได้จากตอนที่ 2 บรรจุลงในขวดสีชาทึบแสงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร สูง 3 เซนติเมตร ปริมาณขวดละ 1 มิลลิลิตร พันด้วยก๊าสในโตรเจน ปิดปากขวดแล้วนำไปให้ความร้อนจนกระทั่งผลิตภัณฑ์มีอุณหภูมิตามต้องการ จึงเริ่มจับเวลาและทำการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ระยะเวลาต่างๆ ทั้งนี้ช่วงระยะเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่างของแต่ละระดับอุณหภูมิจะแตกต่างกันตามลักษณะการลดลงของปริมาณบิตาแคโรทีน ทำการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณบิตาแคโรทีนด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี (AOAC, 2002) โดยทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

ข. ผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปของอิมัลชัน ศึกษาความคงตัวต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 90.0, 92.5, 95.0, 97.5 และ 100.0 องศาเซลเซียส โดยนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชันกลุ่มที่ไม่เติมสารกันเชื้อรา ที่เตรียมได้จากตอนที่ 2 บรรจุลงในขวดสีชาทึบแสงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร สูง 3 เซนติเมตร ปริมาณขวดละ 1 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดให้สนิท นำไปให้ความร้อนจนกระทั่งผลิตภัณฑ์มีอุณหภูมิตามต้องการ จึงเริ่มจับเวลาและทำการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ระยะเวลาต่างๆ ทั้งนี้ช่วงระยะเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่างของแต่ละระดับอุณหภูมิจะแตกต่างกันตามลักษณะการลดลงของปริมาณบิตาแคโรทีน ทำการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณบิตาแคโรทีนด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี (AOAC, 2002) ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

ตอนที่ 5 การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี

วิธีการที่ใช้ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC (2002)

ก. การสร้างกราฟมาตรฐานของบีตาแคโรทีน

1) ชั่งสารบีตาแคโรทีนมาตรฐาน 0.006 กรัม ละลายด้วยเตตราไฮโดรฟูแรน 100 มิลลิลิตร ในขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้ Stock A ที่มีความเข้มข้นบีตาแคโรทีน 60 ไมโครกรัมต่อกรัม

2) ปิเปตสารละลายในข้อ 1. ปริมาตร 0.4, 1.2, 2.0, 3.2, 4.0, 4.8, 5.6, 6.4, 7.2 และ 8 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเตตราไฮโดรฟูแรน จะได้สารละลายบีตาแคโรทีนมาตรฐานในตัวทำละลายเตตราไฮโดรฟูแรนที่มีความเข้มข้น 0.24, 0.72, 1.20, 1.92, 2.40, 2.88, 3.36, 3.84, 4.32 และ 4.80 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

3) นำสารละลายบีตาแคโรทีนจากข้อ 2. มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยเริ่มวัดจากสารละลายที่มีความเข้มข้นน้อยแล้วจึงเพิ่มความเข้มข้นขึ้นเรื่อยๆ ทั้งนี้จะใช้เตตราไฮโดรฟูแรนเป็น Blank แล้วบันทึกค่าที่วัดได้

4) นำค่าที่วัดได้มาเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร กับค่าความเข้มข้นของบีตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม)

ข. การตรวจวัดปริมาณแคโรทีนอยด์ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์สัสมอาหารจากแคโรทีนอยด์

1) ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์สัสมอาหารประมาณ 0.05 กรัม (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ลงในขวดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายแคโรทีนอยด์ และปรับปริมาตรด้วยเตตราไฮโดรฟูแรน

2) นำสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ ก. มาตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้เตตราไฮโดรฟูแรนเป็น Blank บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้

3) กรณีค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มีค่ามากกว่ากราฟมาตรฐาน ให้ทำการปิเปตสารละลายในข้อ ก. มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตร ด้วยเตตราไฮโดรฟูแรน และทำตามข้อ ข. (ทำซ้ำจนกว่าค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะอยู่ในช่วงของกราฟมาตรฐาน)

4) นำค่าการดูดกลืนแสงที่บันทึกได้มาคำนวณด้วยสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน จะได้ค่าความเข้มข้นของบิตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม) แล้วนำไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นเป็นร้อยละ

ค. การคำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์

ค่าความเข้มข้นที่วัดได้จากการเจือจางด้วยเตตราไฮโดรฟูแรน 25 มิลลิลิตร ครั้งที่ 2 (ข้อ ค.) เป็น x ไมโครกรัมต่อกรัม

จาก	ในสารละลาย 1 มิลลิลิตร	มีบิตาแคโรทีน x	ไมโครกรัม
	ในสารละลาย 25 มิลลิลิตร	มีบิตาแคโรทีน $25x$	ไมโครกรัม
ดังนั้น	ในสารละลาย 1 มิลลิลิตร	มีบิตาแคโรทีน $25x$	ไมโครกรัม
	ในสารละลาย 25 มิลลิลิตร	มีบิตาแคโรทีน $625x$	ไมโครกรัม
เนื่องจากช่วงตัวอย่างผลิตภัณฑ์สัฟผสมอาหารมาปริมาณ y	มิลลิกรัม		
นั่นคือ	ในตัวอย่าง y มิลลิกรัม	มีบิตาแคโรทีน $0.625x$	มิลลิกรัม
	ในตัวอย่าง 100 มิลลิกรัมมี	บิตาแคโรทีน $\frac{0.625x}{y}$	มิลลิกรัม

หมายเหตุ ในการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ของสารละลาย แคโรทีนอยด์เข้มข้นเป็นค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของบิตาแคโรทีนมาตรฐานในเตตราไฮโดรฟูแรน ดังนั้นแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปลาัมคิบจะดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นนี้ แต่ไม่ใช่ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด จึงไม่สามารถรายงานเป็นปริมาณของบิตาแคโรทีนได้ ดังนั้นค่าที่ได้จึงเป็นค่าของแคโรทีนอยด์

ตอนที่ 6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางจลนพลศาสตร์

วิธีการนำมาจากวิธีของ Dhuique-Mayer *et al.* (2007) โดยพบว่าถ้าการสลายตัวของบิตาแคโรทีนมีลักษณะเป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง จะมีสมการความสัมพันธ์ดังนี้

$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = -kt \quad (1)$$

โดยที่ C_0	เป็นค่าความเข้มข้นของบิตาแคโรทีนเริ่มต้น (ไมโครกรัมต่อกรัม)
C	เป็นค่าความเข้มข้นของบิตาแคโรทีนที่เวลา t ใดๆ (ไมโครกรัมต่อกรัม)
k	เป็นค่าคงที่อัตราที่อุณหภูมิหนึ่ง (ต่อวินาที)
t	เป็นระยะเวลาที่ให้ความร้อน (วินาที)

จากสมการ (1) เมื่อสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln (C/C_0)$ กับเวลาจะได้กราฟเป็นเส้นตรงซึ่งมีค่าความชันเท่ากับ $-k$ ที่อุณหภูมิหนึ่ง จากค่า k ที่ได้นี้สามารถนำไปหาค่า E_a และค่า D ได้ดังนี้

จากสมการอาร์เรเนียส

$$k = k_0 e^{-\left(\frac{E_a}{RT}\right)} \quad (2)$$

โดยที่	k	เป็นค่าคงที่ของอัตราที่อุณหภูมิ T
	k_0	เป็นค่า pre-exponential factor
	E_a	เป็นค่าพลังงานกระตุ้น (กิโลจูลต่อโมล)
	R	เป็นค่าคงที่ของแก๊สเท่ากับ 8.314 จูลต่อโมล เคลวิน
	T	เป็นอุณหภูมิ (เคลวิน)

จากสมการ (2) เมื่อสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln k$ กับ $1/T$ จะได้กราฟเป็นเส้นตรงซึ่งมีค่าความชันเท่ากับ $-E_a/R$

จากสมการที่ใช้ในกระบวนการทางอาหารทั่วไป

$$C = C_0 10^{-\left(\frac{t}{D}\right)} \quad (3)$$

$$\text{ดังนั้น} \quad D = \frac{\ln(10)}{k} = \frac{2.303}{k} \quad (4)$$

โดยที่ D เป็นค่า decimal reduction time ที่อุณหภูมิหนึ่ง และจากสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า D และ ค่า z ที่อุณหภูมิใดๆ

$$D = D_0 10^{-\left(\frac{T}{z}\right)} \quad (5)$$

เมื่อสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log D$ กับอุณหภูมิ จะได้กราฟเป็นเส้นตรงที่มีค่าความชันเท่ากับ $-1/z$ นั่นเอง

ตอนที่ 7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อุณหภูมิต่ำ

ผลการสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ พบว่าเมื่อนำน้ำมันปาล์มดิบที่ผ่านการกำจัดกัมแล้วซึ่งมีปีตาแคโรทีน 552.44 ไมโครกรัมต่อกรัม มาผ่านกระบวนการสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยเครื่องสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิต่ำ เมื่อระเหยแยกเอาตัวทำละลายเฮกเซนออกไปแล้ว จะได้สารสกัดแคโรทีนอยด์ร้อยละ 43.032 โดยมวลของน้ำมันปาล์มดิบเริ่มต้น และเมื่อนำไปผ่านกระบวนการสะปอนิฟิเคชันจะได้ปริมาณสารสกัดแคโรทีนอยด์ร้อยละ 0.016 ของปริมาณน้ำมันปาล์มดิบที่ผ่านการกำจัดกัม ซึ่งปริมาณที่ได้ใกล้เคียงกันกับที่พัชรินทร์และคณะ (2548) ได้ทำการศึกษาไว้

4.2 ความคงตัวของปีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 140 วัน

ในการศึกษานี้ได้เตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ 2 ชนิด ได้แก่ ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันและชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน เนื่องจากผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิดนี้เป็นชนิดที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งการนำไปใช้จะแตกต่างกัน โดยพิจารณาจากองค์ประกอบหลักของผลิตภัณฑ์ที่จะเติมสัผสมอาหารลงไป โดยสัผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชันจะนำไปใช้กับอาหารประเภทน้ำผลไม้ ลูกอม หมากฝรั่ง ไอศกรีม เครื่องดื่มที่มีนมเป็นส่วนประกอบหลัก พาสต้า และเนยแข็ง เป็นต้น ส่วนสัผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน จะนำไปใช้กับอาหารประเภทที่มีไขมัน หรือน้ำมันเป็นส่วนประกอบ เช่น เนยเทียม เนยแข็ง ชูป และขนมอบ เป็นต้น (BASF Corp., 2005)

4.2.1 ความคงตัวของปีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน

จากการเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน โดยใช้น้ำมันดอกทานตะวันเป็นตัวทำละลาย เมื่อนำไปตรวจวัดความเข้มข้นของปีตาแคโรทีนด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้ทั้งชุดควบคุมและชุดที่มีการเติมสารแอนติออกซิแดนท์มีความเข้มข้นปีตาแคโรทีนไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) เนื่องจากได้ทำการเตรียมตัวอย่างในคราวเดียวกัน แล้วจึงแบ่งตัวอย่างไปเติมสารแอนติออกซิแดนท์ชนิดต่างๆ ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงมีความเข้มข้นปีตาแคโรทีนใกล้เคียงกัน รวมทั้งค่าของกรด และค่าเพอร์ออกไซด์ก็ไม่แตกต่างกันด้วย ดังแสดงในตาราง 4.1 ทั้งนี้ในการศึกษาได้เลือกใช้น้ำมันดอกทานตะวันเป็นตัวทำละลาย

เนื่องจากน้ำมันดอกทานตะวันประกอบด้วยกรดโอเลอิกและวิตามินอีสูง (นิธิยา, 2548) ซึ่ง Goulson and Warthesen (1999) พบว่าบีตาแคโรทีนจะมีความคงตัวมากเมื่อละลายอยู่ในน้ำมันที่มีองค์ประกอบของกรดโอเลอิกสูง และวิตามินอียังมีคุณสมบัติต้านออกซิเดชัน ช่วยป้องกันการสลายตัวของบีตาแคโรทีนได้อีกด้วย (Heinonen *et al.*, 1997) นอกจากนี้ น้ำมันดอกทานตะวันยังมีราคาถูก และยังพบว่าผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันที่จำหน่ายโดยทั่วไป นิยมใช้น้ำมันดอกทานตะวันเป็นตัวทำละลายอีกด้วย (BASF Corp., 2005; Allied Biotech Corp., 2006)

ตาราง 4.1 ความเข้มข้นของบีตาแคโรทีน และสมบัติทางเคมีของผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน

สิ่งทดลอง	ความเข้มข้นของ บีตาแคโรทีน ^{1, ns} (ไมโครกรัมต่อกรัม)	ค่าของกรด ^{1, ns} (มิลลิกรัมของโพแทสเซียม ไฮดรอกไซด์ต่อกรัม)	ค่าเพอร์ออกไซด์ ^{1, ns} (มิลลิกรัมสมมูล ต่อกิโลกรัม)
ชุดควบคุม	1,387.74±21.57	0.668±0.035	6.5346±0.964
เติม BHA	1,366.16±33.31	0.642±0.017	6.1970±0.626
เติม BHT	1,359.58±14.13	0.683±0.012	6.2473±0.775
เติม TBHQ	1,396.54±20.91	0.659±0.019	7.0237±0.835

หมายเหตุ ^{ns} ข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

¹ ผลการวิเคราะห์เป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

4.2.2 ความคงตัวของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน

จากการเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความเข้มข้นของบีตาแคโรทีนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตาราง 4.2) เนื่องจากในการเตรียมตัวอย่างอิมัลชันจะต้องนำผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปน้ำมันซึ่งเติมสารแอนต้ออกซิแดนต์แต่ละชนิด มาผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ของแต่ละชุดทดลอง ซึ่งในการผสมแต่ละครั้งอาจทำให้ขนาดอนุภาคของน้ำมันกระจายตัวในส่วนสารละลายบัฟเฟอร์ได้ไม่เท่ากัน ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงมีความเข้มข้นของบีตาแคโรทีนแตกต่างกัน และผลการตรวจปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ทั้งหมด พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่า 250 โคโลนีต่อมิลลิตร และปริมาณเชื้อยีสต์และรานน้อยกว่า 100 โคโลนีต่อมิลลิตร แต่ทั้งนี้ยังไม่สามารถเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานได้ เนื่องจากยังไม่มีการระบุมาตรฐานปริมาณเชื้อสำหรับ

ผลิตภัณฑ์สัผสมอาหาร อย่างไรก็ตาม ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในผลิตภัณฑ์ถือว่ามีความต่ำมาก แสดงว่าเชื้อจุลินทรีย์อาจปนเปื้อนและเจริญในน้ำมันได้น้อยมาก เนื่องจากน้ำมันมีค่าวอเตอร์แอกติวิตี (a_w) ต่ำมาก และเมื่อผ่านกระบวนการสกัดด้วยเฮกเซนซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ จึงทำให้พบเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในปริมาณน้อยมาก

ตาราง 4.2 ความเข้มข้นของปีตาแคโรทีน และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน

สิ่งทดลอง	ความเข้มข้นของปีตาแคโรทีน ¹ (ไมโครกรัมต่อกรัม)	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ทั้งหมด ¹ (โคโลนีต่อมิลลิเมตร)	ปริมาณเชื้อ ยีสต์และรา ¹ (โคโลนีต่อ มิลลิเมตร)
ชุดควบคุม	1,408.08 ^a ±65.13	น้อยกว่า 250	น้อยกว่า 100
เติม BHA	1,241.75 ^{bc} ±18.07	น้อยกว่า 250	น้อยกว่า 100
เติม BHT	1,235.09 ^{bc} ±53.10	น้อยกว่า 250	น้อยกว่า 100
เติม TBHQ	1,172.96 ^c ±36.43	น้อยกว่า 250	น้อยกว่า 100
เติม BHA และ สารกันเชื้อรา	1,297.24 ^b ±93.88	น้อยกว่า 250	น้อยกว่า 100
เติม BHT และ สารกันเชื้อรา	1,177.22 ^c ±85.82	น้อยกว่า 250	น้อยกว่า 100
เติม TBHQ และ สารกันเชื้อรา	1,219.85 ^{bc} ±15.29	น้อยกว่า 250	น้อยกว่า 100

หมายเหตุ ^{a,b,c,...} ในแถวแนวนึงเดียวกันที่มีอักษรกำกับเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมี

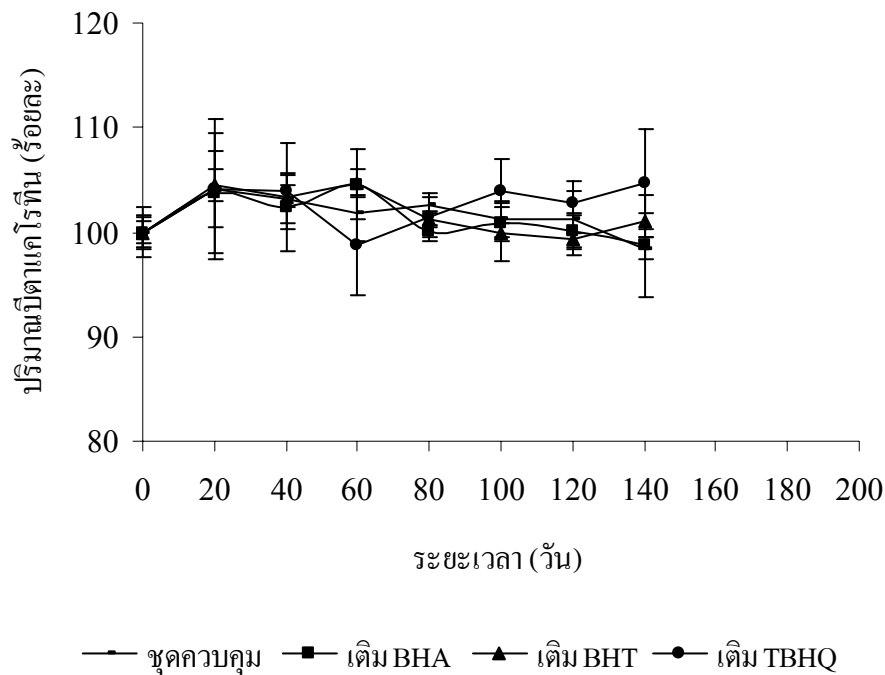
นัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

¹ ผลการวิเคราะห์เป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

4.3 ผลของการเติมสารแอนติออกซิแดนซ์ต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์

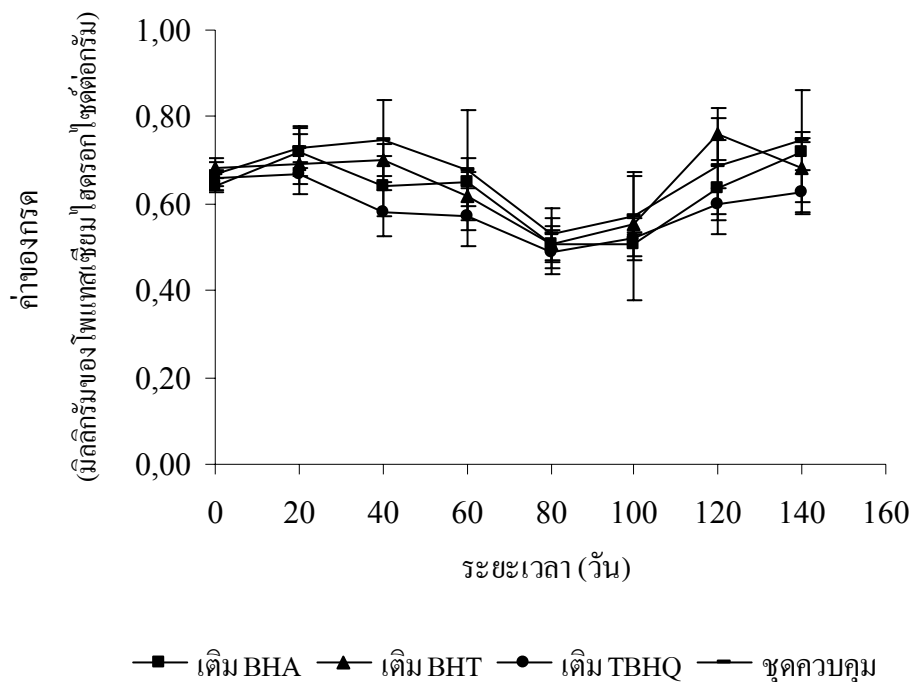
4.3.1 ผลของการเติมสารแอนติออกซิแดนซ์ต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน โดยทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิห้องเฉลี่ยสำหรับประเทศแถบร้อน เป็นระยะเวลา 140 วัน พบว่าตลอดระยะเวลาที่ทำการเก็บรักษา ปริมาณบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์ที่มีการเติมสารแอนติออกซิแดนซ์ทั้งสามชนิด และชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารแอนติออกซิแดนซ์ มีการเปลี่ยนแปลงไม่แตกต่างจากปริมาณบีตาแคโรทีนที่ตรวจวัดได้เมื่อวันที่ 0 ($p > 0.5$) ดังแสดงในภาพ 4.1 และพบว่าค่าความเป็นกรดและค่าเพอร์ออกไซด์ของผลิตภัณฑ์มีแนวโน้มค่อนข้างคงที่ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 140 วัน (ภาพ 4.2 และ 4.3) ซึ่งค่าความเป็นกรดจะบ่งชี้ถึงการสลายตัวและการหืนของน้ำมัน โดยถ้าค่าความเป็นกรดสูง แสดงว่าโมเลกุลของไตรเอซิลกลีเซอรอลสลายตัวได้เป็นกรดไขมันอิสระมาก และค่าเพอร์ออกไซด์จะบ่งชี้ถึงการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันเนื่องจากเพอร์ออกไซด์เป็นสารที่เกิดจากปฏิกิริยาออกได้ออกซิเดชัน (นิธิยา, 2548) ผลที่ได้นี้อาจเนื่องมาจากในขั้นตอนการบรรจุขวดได้มีการพ่นด้วยก๊าซไนโตรเจนก่อนทำการปิดฝา ซึ่งเป็นการกำจัดออกซิเจนออกไป และป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของบีตาแคโรทีน ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์ที่เติมสารแอนติออกซิแดนซ์ทั้งสามชนิด กับชุดควบคุมที่ไม่เติมสารแอนติออกซิแดนซ์จึงไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ขวดที่ใช้บรรจุซึ่งเป็นขวดสีชาทึบแสงและการเก็บในตู้บ่มที่มีด ยังช่วยป้องกันการสลายตัวของบีตาแคโรทีนเนื่องจากแสงได้ด้วย โดยผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับการศึกษาการใช้ไนโตรเจนเพื่อเพิ่มความคงตัวของน้ำมันมะกอกในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งพบว่าการพ่นด้วยก๊าซไนโตรเจนและเก็บรักษาน้ำมันมะกอกในที่มืด จะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้ถึง 24 เดือนที่อุณหภูมิ 12-20 องศาเซลเซียส ในขณะที่การเก็บรักษาที่ไม่มีการพ่นด้วยก๊าซไนโตรเจนนั้น ค่าเพอร์ออกไซด์ของน้ำมันมะกอกจะเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ จนมีค่าสูงเกินกว่ามาตรฐาน (Giovacchino *et al.*, 2002) นอกจากนี้ Ramírez *et al.* (2000) ซึ่งทำการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและแสงต่ออายุการเก็บรักษาของน้ำมันดอกทานตะวัน โดยบรรจุน้ำมันดอกทานตะวันในขวดพลาสติกใสและพ่นด้วยแก๊สไนโตรเจน พบว่าเมื่อทำการเก็บรักษาในที่มืดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส น้ำมันดอกทานตะวันจะมีอายุการเก็บรักษามากกว่า 2 ปี แต่เมื่อทำการเก็บรักษาในที่ที่มีแสงที่อุณหภูมิเดียวกันจะมีอายุการเก็บรักษาประมาณ 281 วัน

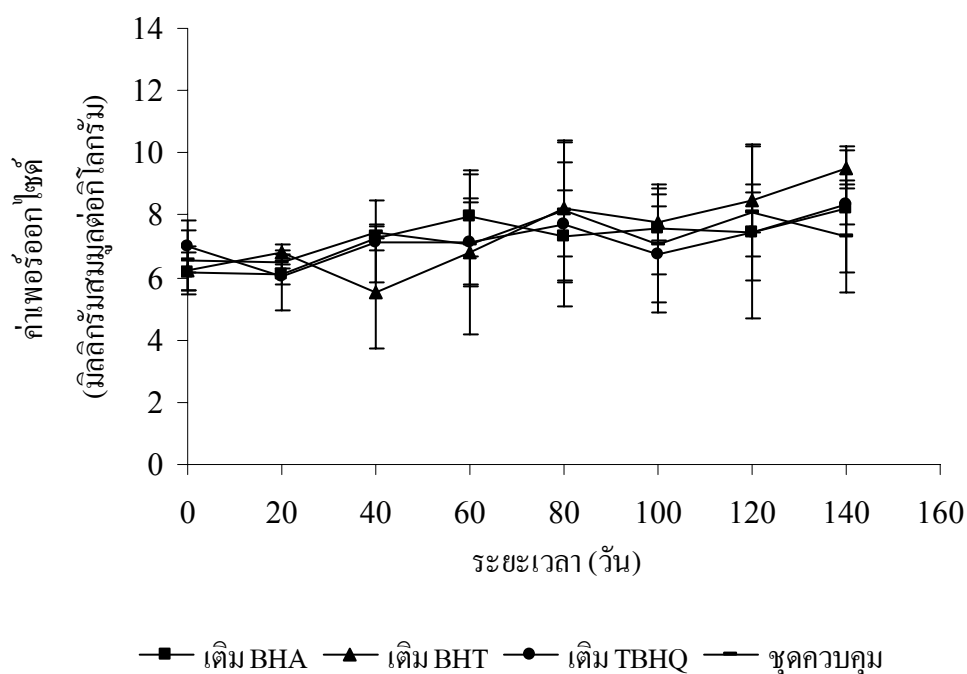


ภาพ 4.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณปีตาแคโรทีนของผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ซึ่งทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส

อย่างไรก็ตาม เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจน ปีตาแคโรทีนจะสลายตัวอย่างรวดเร็ว โดย Goulson and Warthesen (1999) ได้ศึกษาความคงตัวของปีตาแคโรทีนในน้ำมันคาโนลา โดยเมื่อเก็บรักษาน้ำมันในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในที่มีดและปล่อยให้ให้น้ำมันสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ พบว่าอัตราการสูญเสียปีตาแคโรทีนในน้ำมันจะสูงขึ้นตามระยะเวลาที่ทำการเก็บรักษา โดยในวันที่ 12 อัตราการสูญเสียปีตาแคโรทีนจะสูงถึงร้อยละ 25.7 และเมื่อความเข้มข้นของปีตาแคโรทีนในน้ำมันมีมากขึ้น อัตราการสูญเสียปีตาแคโรทีนในน้ำมันก็จะเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย และค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันก็เพิ่มสูงขึ้นด้วย นอกจากนี้เมื่อเก็บรักษาน้ำมันในที่มีแสง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และปล่อยให้ให้น้ำมันสัมผัสกับออกซิเจน เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่าอัตราการสูญเสียปีตาแคโรทีนจะสูงถึงร้อยละ 27.3



ภาพ 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่าของกรดของผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ซึ่งทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส

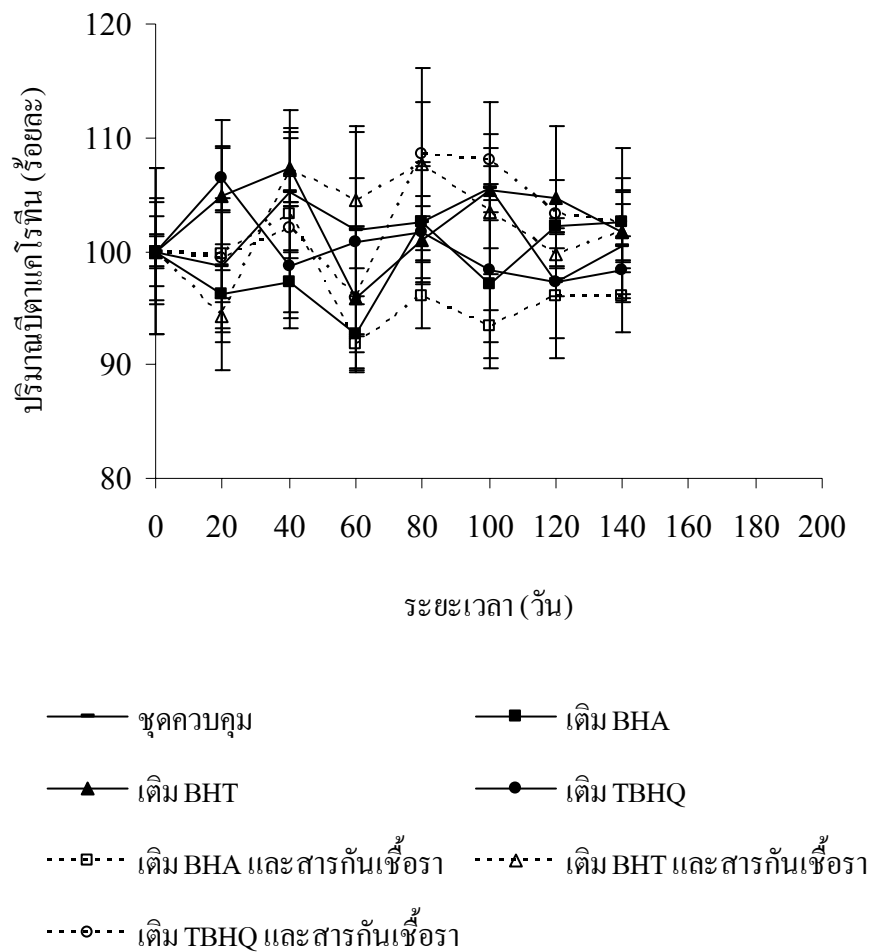


ภาพ 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์ออกไซด์ของผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ซึ่งทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส

4.3.2 ผลของการเติมสารแอนต้ออกซิแดนซ์ต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน

การเปลี่ยนแปลงของปริมาณบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 ± 2 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในรูปอิมัลชันเพื่อป้องกันการแยกชั้นในส่วนของน้ำกับน้ำมัน พบว่าผลที่ได้ก็ให้ผลเช่นเดียวกันกับผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน นั่นคือปริมาณบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 140 วัน ไม่แตกต่างกับปริมาณบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์เริ่มต้น (ภาพ 4.4) โดยผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยเรื่องผลของการบรรจุและสภาวะการเก็บรักษาต่อสีและปริมาณบีตาแคโรทีนที่เหลืออยู่ในเนื้อมะม่วงเข้มข้นพาสเจอร์ไรส์ (Vásquez-Caicedo *et al.*, 2007) ซึ่งพบว่าเมื่อทำการเก็บรักษาเนื้อมะม่วงเข้มข้นบรรจุกระป๋องและพ่นด้วยแก๊สไนโตรเจน ที่อุณหภูมิ 25 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 140 วัน จะช่วยรักษาปริมาณบีตาแคโรทีนในเนื้อมะม่วงเข้มข้นได้ดีกว่าการเก็บรักษาเนื้อมะม่วงเข้มข้นบรรจุกระป๋องที่ไม่ได้พ่นด้วยแก๊สไนโตรเจน และยังพบว่าปริมาตรของช่องว่างในขวดบรรจุที่น้อย จะช่วยให้เกิดสภาวะการเก็บรักษาภายใต้ก๊าซไนโตรเจนได้ดีขึ้น ทั้งนี้ในงานวิจัยนี้ได้บรรจุตัวอย่างผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ในขวดสีชาที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.2 เซนติเมตร สูง 3.5 เซนติเมตร ทำให้ปริมาตรของช่องว่างในขวดบรรจุน้อย จึงช่วยทำให้การเก็บรักษาได้ดี

Nenadis *et al.* (2003) ได้เปรียบเทียบผลของสารแอนต้ออกซิแดนซ์ที่ใช้ในอาหารทั่วไปที่เป็นรูปอิมัลชัน พบว่า BHA และ BHT จะช่วยยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในอิมัลชันได้ดีกว่า TBHQ ถ้าไม่ได้พ่นด้วยแก๊สไนโตรเจน



ภาพ 4.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณบิตาแคโรทีนของผลิตภัณฑ์สัฟฟิมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชันซึ่งทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 ± 2 องศาเซลเซียส

เนื่องจากผลิตภัณฑ์ในรูปอิมัลชันจะมีเชื้อจุลินทรีย์เจริญได้ การศึกษานี้จึงทำการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และยีสต์ รา พบว่าเมื่อเก็บรักษา 140 วัน จุลินทรีย์ทั้งหมดและยีสต์ รา ในผลิตภัณฑ์มีแนวโน้มลดลงจากวันที่ 0 (ตาราง 4.3 และ 4.4) ทั้งนี้อาจเนื่องจากสภาวะในการบรรจุโดยการพ่นก๊าซไนโตรเจน ซึ่งเป็นการกำจัดออกซิเจนออกไป ทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ

แม้ว่าการเปลี่ยนแปลงของบิตาแคโรทีนในสัฟฟิมอาหารจากแคโรทีนอยด์ทั้งชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันและชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ระหว่างชุดที่มีการเติมสารแอนติออกซิแดนซ์กับชุดควบคุมที่ไม่เติมสารแอนติออกซิแดนซ์จะมีแนวโน้มเหมือนกันเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 140 วัน แต่ยังคงไม่สามารถสรุปได้ว่าควรเติมสารแอนติออกซิแดนซ์ในผลิตภัณฑ์สัฟฟิมอาหารจากแคโรทีนอยด์หรือไม่ เนื่องจากสารแอนติออกซิแดนซ์อาจมีผลต่อความคงตัวต่อความร้อนของ

ปีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ซึ่งผลการศึกษาความคงตัวต่อความร้อน แสดงในตอนที 4.4 และ 4.5

ตาราง 4.3 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนีต่อมิลลิตร) ในผลิตภัณฑ์สีผสมอาหาร จากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ระหว่างการเก็บรักษา 140 วัน

สิ่งทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)							
	0	20	40	60	80	100	120	140
ชุดควบคุม	< 250	1.06×10^3	< 250	< 250	2.80×10^3	1.67×10^3	< 250	< 250
เติม BHA	< 250	3.07×10^2	< 250	< 250	3.64×10^4	9.00×10^3	< 250	< 250
เติม BHT	< 250	1.51×10^3	8.33×10^2	< 250	5.42×10^4	7.53×10^4	< 250	< 250
เติม TBHQ	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250
เติม BHA และสารกันเชื้อรา	< 250	< 250	2.67×10^2	< 250	4.67×10^2	< 250	< 250	< 250
เติม BHT และสารกันเชื้อรา	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250
เติม TBHQ และสารกันเชื้อรา	< 250	< 250	< 250	9.17×10^2	< 250	< 250	< 250	< 250

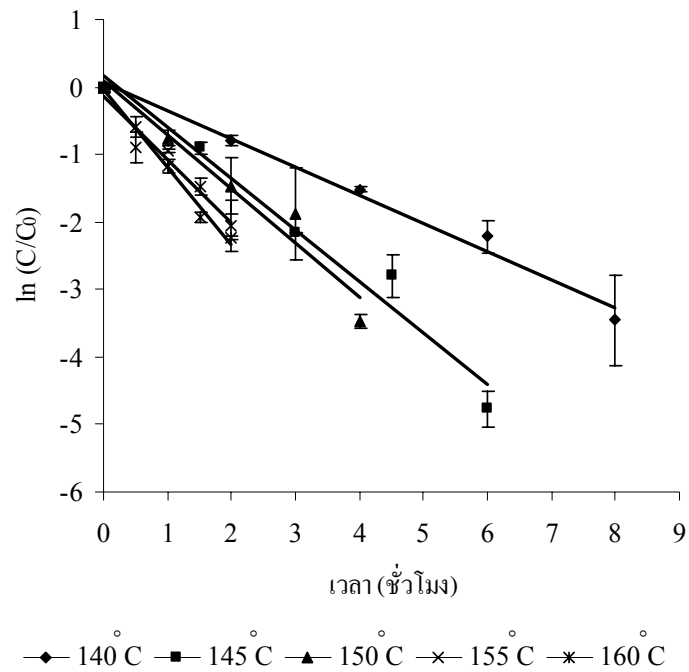
ตาราง 4.4 ปริมาณเชื้อยีสต์และรา (โคโลนีต่อมิลลิลิตร) ในผลิตภัณฑ์สัณสุกรมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ระหว่างการเก็บรักษา 140 วัน

[illegible]

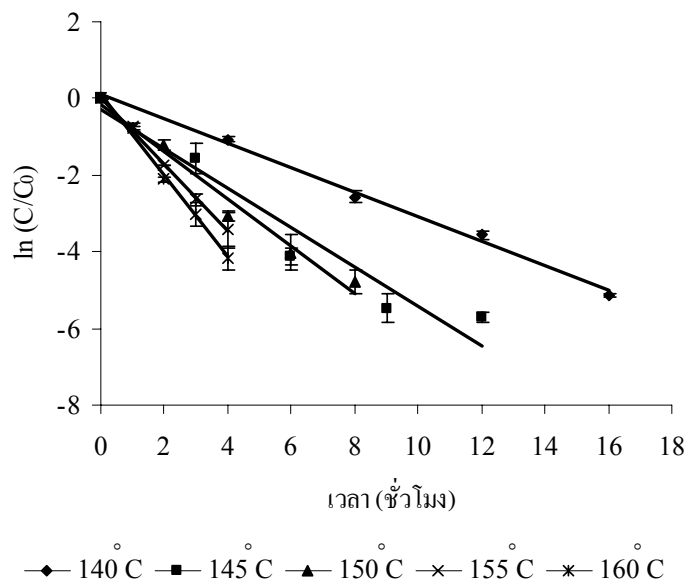
4.4 การทดสอบความคงตัวต่อความร้อนของผลิตภัณฑ์สัฟลมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน

จากการศึกษาความคงตัวต่อความร้อนของผลิตภัณฑ์ ได้ทำการทดสอบที่ระดับอุณหภูมิ 140-160 องศาเซลเซียส เนื่องจากผลิตภัณฑ์ในรูปน้ำมันนี้นิยมใช้กับขนมอบซึ่งต้องผ่านกระบวนการทางความร้อนที่ใช้อุณหภูมิสูงประมาณ 140 องศาเซลเซียสขึ้นไป โดยในการทดลองจะให้ความร้อนกับผลิตภัณฑ์แล้วทำการเก็บตัวอย่างที่ระยะเวลาต่างๆ เพื่อตรวจวัดปริมาณบิตาแคโรทีนที่เปลี่ยนแปลงไปของผลิตภัณฑ์ จนกระทั่งปริมาณบิตาแคโรทีนในตัวอย่างลดลงมากกว่าร้อยละ 80 พบว่าการสลายตัวของบิตาแคโรทีนเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (first-order reaction) นั่นคืออัตราการเกิดปฏิกิริยาจะแปรผันตามค่าความเข้มข้นของสาร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่าการสลายตัวของบิตาแคโรทีนในปาปริก้าโอลิโอรซินก็เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่งเช่นกัน (Pérez-Gálvez *et al.*, 2005) จากสมการอาร์เรเนียสเมื่อสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln (C/C_0)$ กับเวลา จะได้เส้นกราฟความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง ดังภาพ 4.5, 4.6, 4.7 และ 4.8 ซึ่ง ปริมาณบิตาแคโรทีนที่ลดลงต่ำกว่าร้อยละ 80 จะมีค่า $\ln (C/C_0)$ ต่ำกว่า -1.6 โดยค่าคงที่ของอัตรา (k) และ ค่า Decimal reduction time (D value) แสดงดังตาราง 4.5 โดยจากค่า R^2 ซึ่งอยู่ในช่วง 0.83-0.99 แสดงว่าการสลายตัวของบิตาแคโรทีนมีความสอดคล้องกับสมการของปฏิกิริยาอันดับหนึ่งมาก เมื่อเปรียบเทียบภายในชุดทดลอง พบว่าค่าคงที่ของอัตราการสลายตัวมีแนวโน้มสูงขึ้น เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบที่ระดับอุณหภูมิเดียวกัน พบว่าตัวอย่างชุดที่เดิม TBHQ จะมีค่าคงที่ของอัตราต่ำที่สุดที่ทุกระดับอุณหภูมิ ซึ่งค่าคงที่ของอัตรานี้แสดงถึงความไวของปฏิกิริยาที่อุณหภูมิหนึ่งๆ (รุ่งนภา, 2540) นั่นแสดงว่าตัวอย่างสัฟลมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันชุดที่เดิมสาร TBHQ จะมีการสลายตัวของบิตาแคโรทีนเกิดช้าที่สุด ส่วนตัวอย่างสัฟลมอาหารชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารแอนติออกซิแดนท์นั้น มีค่าคงที่ของอัตราสูง แสดงว่าการสลายตัวของบิตาแคโรทีนจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วนั่นเอง

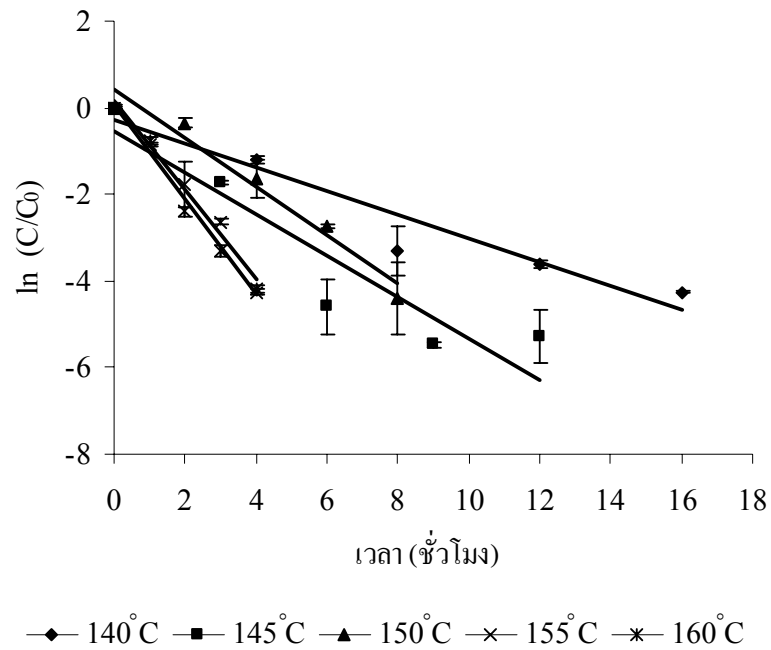
สำหรับค่า Decimal reduction time หรือค่า D (D value) นั้น แสดงถึงระยะเวลาที่ความเข้มข้นของบิตาแคโรทีนลดลงร้อยละ 90 (Vikram *et al.*, 2005) หมายความว่าตัวอย่างที่มีค่า D สูง จะต้องใช้เวลานานกว่าที่บิตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์จะสลายตัวไป หรือผลิตภัณฑ์มีความคงตัวสูงนั่นเอง ซึ่งผลการศึกษาค่า D นี้จะได้ผลในแนวทางเดียวกันกับค่าคงที่ของอัตรา (k) นั่นคือ ตัวอย่างสัฟลมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชุดควบคุมจะมีค่า D ต่ำที่สุด หรือมีความคงตัวของบิตาแคโรทีนต่ำ ผลิตภัณฑ์สัฟลมอาหารชุดที่เติมสาร BHA กับชุดที่เติมสาร BHT จะมีค่า D ใกล้เคียงกัน โดยมีค่า D สูงกว่าชุดควบคุม แสดงว่ามีความคงตัวของบิตาแคโรทีนสูงกว่า และผลิตภัณฑ์ชุดที่เติมสาร TBHQ จะมีค่า D สูงที่สุด หรือบิตาแคโรทีนจะมีความคงตัวมากที่สุด



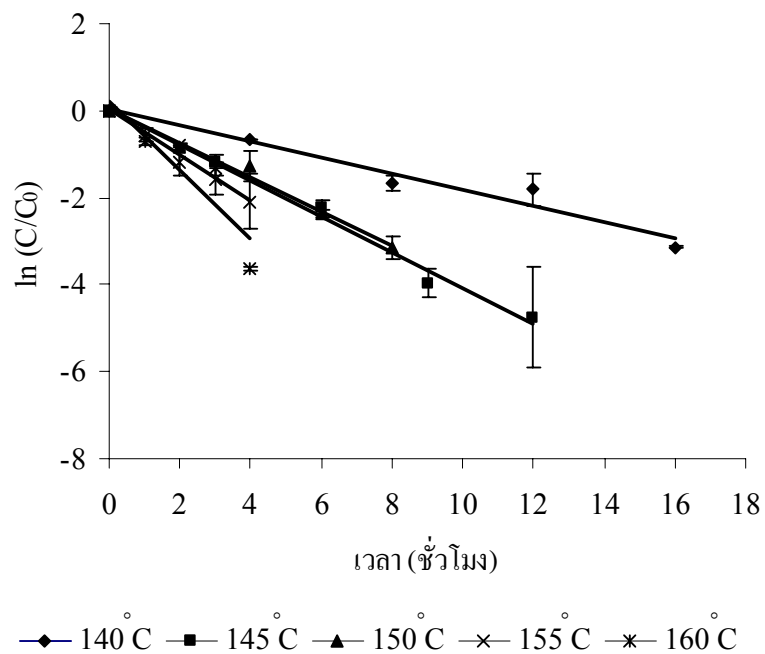
ภาพ 4.5 การสลายตัวเนื่องจากความร้อนของปีตาแลโรทีนในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแลโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ในชุดควบคุมซึ่งไม่มีการเติมสารแอนติออกซิแดนท์ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ



ภาพ 4.6 การสลายตัวเนื่องจากความร้อนของปีตาแลโรทีนในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแลโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันในชุดที่มีการเติมสาร BHA ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ



ภาพ 4.7 การสลายตัวเนื่องจากความร้อนของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัฟฟมอาหารจาก
แคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันในชุดที่มีการเติมสาร BHT ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ

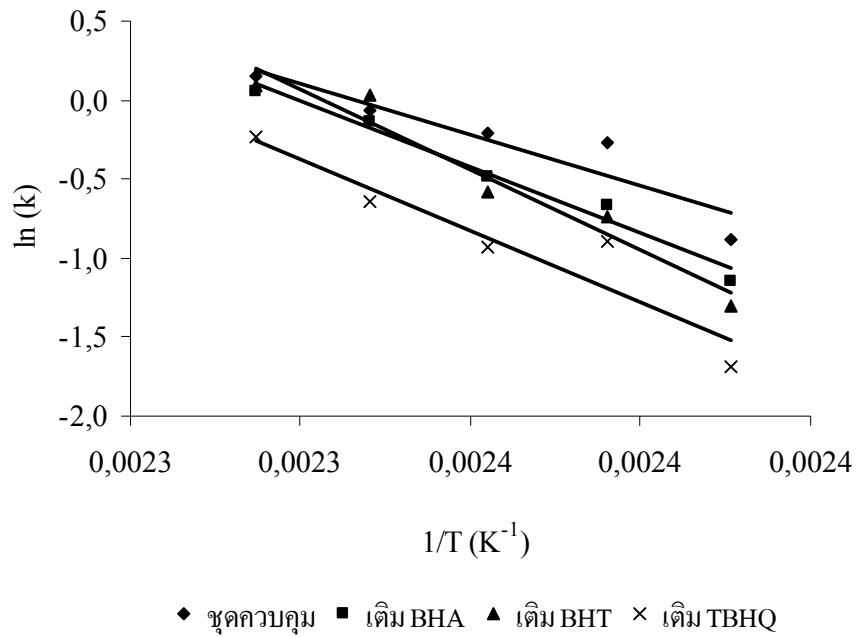


ภาพ 4.8 การสลายตัวเนื่องจากความร้อนของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัฟฟมอาหารจาก
แคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ชุดที่มีการเติมสาร TBHQ ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ

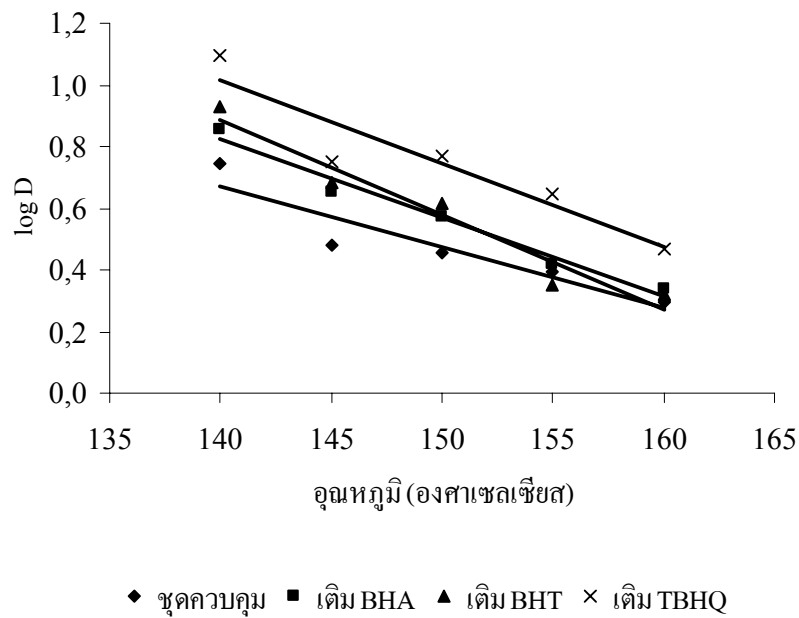
ตาราง 4.5 ค่าคงที่ของอัตรา (k) และ ค่า D ที่อุณหภูมิต่างๆ ของผลิตภัณฑ์สัณนิเทศอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน

สิ่งทดลอง	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ค่าคงที่ของอัตรา (k) (ต่อชั่วโมง)	Decimal reduction time (D value) (ชั่วโมง)	R ²
ชุดควบคุม	140	0.4163	5.5311	0.9866
	145	0.7625	3.0198	0.9715
	150	0.8069	2.8536	0.9527
	155	0.9361	2.4598	0.9449
	160	1.1614	1.9826	0.9888
เติม BHA	140	0.3196	7.2046	0.9952
	145	0.5109	4.5069	0.9373
	150	0.6189	3.7204	0.9759
	155	0.8735	2.6360	0.9978
	160	1.0584	2.1755	0.9956
เติม BHT	140	0.2724	8.4530	0.9248
	145	0.4770	4.8272	0.8674
	150	0.5595	4.1154	0.9618
	155	1.0314	2.2325	0.9800
	160	1.0953	2.1022	0.9851
เติม TBHQ	140	0.1855	12.4129	0.9596
	145	0.4099	5.6174	0.9892
	150	0.3922	5.8710	0.9877
	155	0.5234	4.3993	0.9768
	160	0.7880	2.9221	0.8313

จากการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $1/T$ กับ $\ln k$ ได้กราฟดังภาพ 4.9 เมื่อนำค่าความชันที่ได้มาคำนวณหาค่าพลังงานกระตุ้น พบว่าอยู่ในช่วง 67.40-105.94 กิโลจูลต่อโมล และจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $\log D$ กับอุณหภูมิ (ภาพ 4.10) นำมาคำนวณค่า z พบว่าอยู่ในช่วง 32-51 องศาเซลเซียส ดังตาราง 4.6 พบว่าค่าพลังงานกระตุ้นของผลิตภัณฑ์สัณนิเทศอาหารจากแคโรทีนอยด์ชุดที่มีการเติมสาร BHT จะมีค่ามากที่สุด และชุดควบคุมจะมีค่าพลังงานกระตุ้นน้อยที่สุด ในทางกลับกันพบว่าค่า z ของตัวอย่างชุดที่เติม BHT จะมีค่าต่ำที่สุด และชุดควบคุมจะมีค่า z สูงที่สุด ซึ่งค่าพลังงานกระตุ้นและค่า z นี้จะแสดงถึงความไวต่ออุณหภูมิของบีตาแคโรทีนในตัวอย่าง (รุ่งนภา. 2540) โดยตัวอย่างที่มีค่าพลังงานกระตุ้นต่ำ หรือค่า z สูง จะไวต่ออุณหภูมิมากกว่าตัวอย่างที่มีค่าพลังงานกระตุ้นสูง หรือค่า z ต่ำ นั่นเอง ดังนั้นตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชุดที่มีการเติม BHT จึงมีความคงตัวของบีตาแคโรทีนมากที่สุด เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไป รองลงมาคือ ชุดที่เติม TBHQ ชุดที่เติม BHA และชุดควบคุมมีความคงตัวของบีตาแคโรทีนต่ำที่สุด



ภาพ 4.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln k$ กับ $1/T$ ของบีตาแคโรทีนในตัวอย่าง
สัณผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน



ภาพ 4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log D$ กับอุณหภูมิ ของบีตาแคโรทีนในตัวอย่าง
สัณผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน

ตาราง 4.6 ค่าพลังงานกระตุ้น และค่า z ของตัวอย่างสัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ในช่วงอุณหภูมิ 140-160 องศาเซลเซียส

สิ่งทดลอง	พลังงานกระตุ้น (E_a) (กิโลจูลต่อโมล)	R^2	ค่า z (องศาเซลเซียส)	R^2
ชุดควบคุม	67.40	0.8734	51.02	0.8673
เติม BHA	87.36	0.9794	39.22	0.9764
เติม BHT	105.94	0.9486	32.36	0.9454
เติม TBHQ	93.51	0.8842	36.63	0.8814

Pérez-Gálvez *et al.* (2005) ได้ศึกษาค่าคงที่ของอัตราการสลายตัวของบีตาแคโรทีนในปาปริก้าโอลิโอเรซินที่อุณหภูมิ 100-130 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นค่าคงที่ของอัตราการสลายตัวของบีตาแคโรทีนก็สูงขึ้นตามไปด้วยเช่นเดียวกัน โดยค่าคงที่ของอัตราที่มีค่าอยู่ในช่วง $10.16-50.67 \times 10^{-4}$ ต่อชั่วโมง ซึ่งมีค่าต่ำกว่างานวิจัยนี้มาก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอุณหภูมิที่ทำการศึกษต่ำกว่าระดับอุณหภูมิที่งานวิจัยนี้ทำการศึกษา และจากแผนการทดลองพบว่าในการศึกษานั้นได้ทำในระบบปิด ซึ่งตัวอย่างจะไม่ได้สัมผัสกับออกซิเจน ดังนั้นการสลายตัวที่เกิดขึ้นจึงเกิดจากความร้อนเพียงอย่างเดียว ในขณะที่งานวิจัยนี้ไม่ได้ทำในระบบปิด เพื่อควบคุมให้มีสภาวะใกล้เคียงกับการผลิตอาหารทั่วไป ดังนั้นการสลายตัวที่เกิดขึ้นในงานที่ศึกษานี้ จึงเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วย ทำให้ค่าคงที่ของอัตราที่ได้ในงานวิจัยนี้มีค่าสูงกว่า แต่อย่างไรก็ตาม Pérez-Gálvez *et al.* (2005) ยังพบว่าบีตาแคโรทีนในปาปริก้าโอลิโอเรซินที่ได้จากวัตถุดิบคนละชุด และผ่านกระบวนการผลิตที่แตกต่างกันนั้นจะมีค่าคงที่ของอัตราแตกต่างกันด้วย ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกันจึงอาจมีค่าคงที่ของอัตราแตกต่างกัน

4.5 การทดสอบความคงตัวต่อความร้อนของผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน

ในการศึกษาความคงตัวต่อความร้อนของผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชันได้ทำการศึกษาที่ระดับอุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส เนื่องจากผลิตภัณฑ์ชนิดนี้อยู่ในรูปอิมัลชัน ซึ่งมีน้ำอยู่ถึงร้อยละ 90 ดังนั้นในการให้ความร้อนกับผลิตภัณฑ์สูงเกินกว่า 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลานานจะทำให้มีน้ำในผลิตภัณฑ์ระเหยออก การศึกษานี้จึงเลือกศึกษาในระดับอุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส

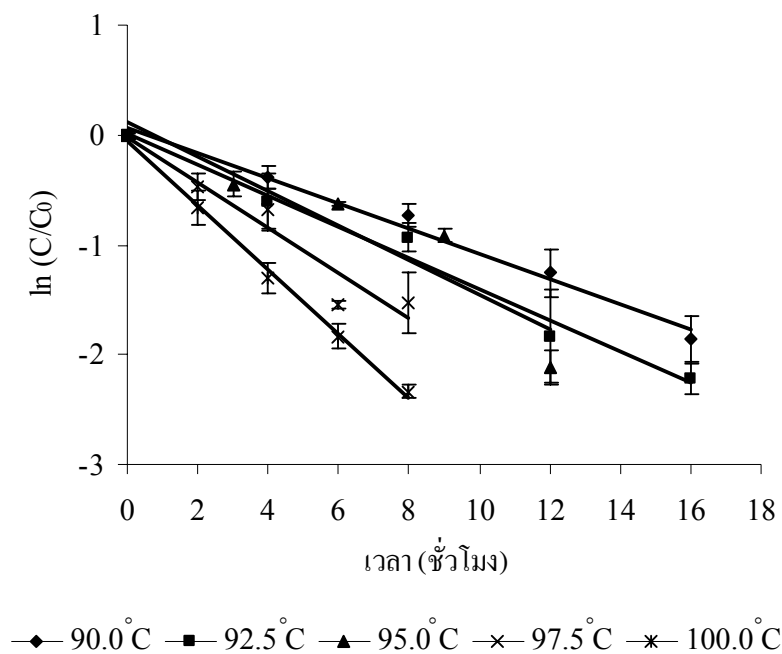
ในการทดลองได้ให้ความร้อนกับผลิตภัณฑ์แล้วทำการเก็บตัวอย่างที่ระยะเวลาต่างๆ เพื่อตรวจวัดปริมาณบีตาแคโรทีนที่เปลี่ยนแปลงไปของผลิตภัณฑ์ จนกระทั่งปริมาณบีตาแคโรทีนใน

ตัวอย่างลดลงมากกว่าร้อยละ 80 พบว่าการสลายตัวของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาเกี่ยวกับการสลายตัวของบีตาแคโรทีนในน้ำผลไม้ และเนื้อผลไม้เข้มข้น (Vikram *et al.*, 2005; Dhuique-Mayer *et al.*, 2007; Rattanathanalerk *et al.*, 2005; Dutta *et al.*, 2006)

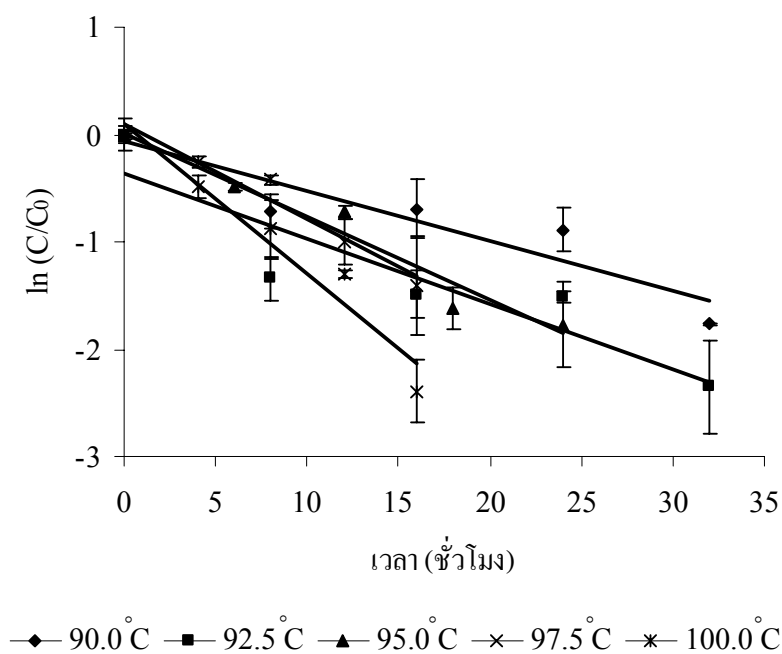
จากสมการอาร์เรเนียสเมื่อสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(C/C_0)$ กับเวลา จะได้เส้นกราฟความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง ดังภาพ 4.11, 4.12, 4.13 และ 4.14 ซึ่ง ปริมาณบีตาแคโรทีนที่ลดลงต่ำกว่าร้อยละ 80 จะมีค่า $\ln(C/C_0)$ ต่ำกว่า -1.6 โดยค่าคงที่ของอัตรา (k) และ ค่า D value แสดงดังตาราง 4.7 จากค่า R^2 ซึ่งอยู่ในช่วง 0.83-0.99 แสดงว่าการสลายตัวของบีตาแคโรทีนสอดคล้องอย่างมากกับสมการของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง

เมื่อเปรียบเทียบภายในชุดทดลอง พบว่ามีแนวโน้มเหมือนกันกับผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน นั่นคือค่าคงที่ของอัตราที่มีแนวโน้มสูงขึ้น เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น ส่วนค่า D จะมีแนวโน้มลดลง เมื่อเปรียบเทียบที่ระดับอุณหภูมิเดียวกัน พบว่าตัวอย่างชุดที่เดิม BHA จะมีค่าคงที่ของอัตราต่ำที่สุดและค่า D สูงกว่าตัวอย่างชุดอื่นๆ ที่ทุกระดับอุณหภูมิ นั้นแสดงว่าตัวอย่างสีผสมอาหารจากแคโรทีนชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ชุดที่เดิมสาร BHA จะช่วยให้การสลายตัวของบีตาแคโรทีนเกิดช้าที่สุด หรือบีตาแคโรทีนจะมีความคงตัวมากที่สุด ส่วนตัวอย่างสีผสมอาหารชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารแอนติออกซิแดนต์นั้นมีค่าคงที่ของอัตราสูง และค่า D ต่ำที่สุด แสดงว่าการสลายตัวของบีตาแคโรทีนจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วนั่นเอง

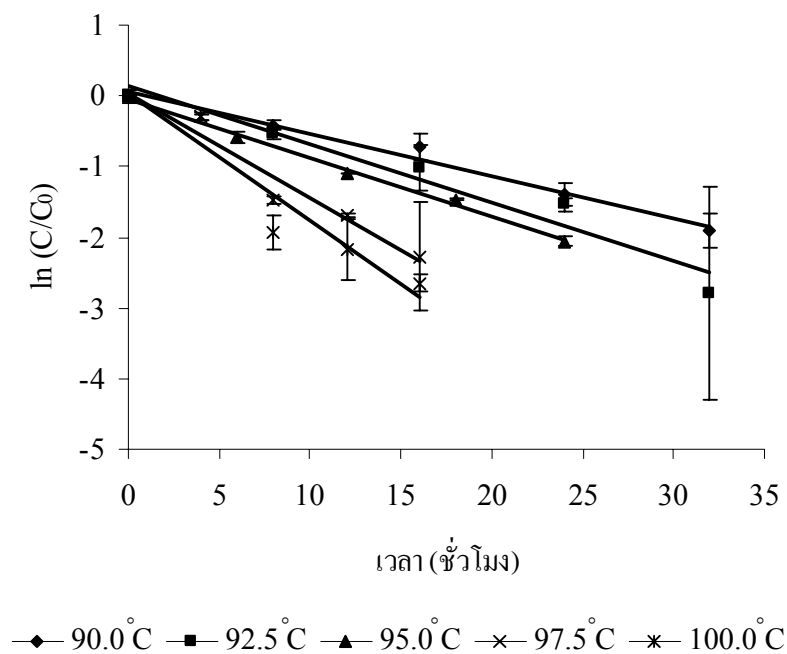
Dutta *et al.* (2006) ได้ศึกษาค่าคงที่ของอัตราการสลายตัวของบีตาแคโรทีนในเนื้อฟักทองบด ที่อุณหภูมิ 70-100 องศาเซลเซียส พบว่าค่าคงที่ของอัตราที่ 100 องศาเซลเซียส เป็น 0.0080 ต่อ นาที โดยมีค่าสูงกว่าค่าคงที่ของอัตราการสลายตัวของผลิตภัณฑ์สีในรูปอิมัลชันนี้ ที่ผ่านความร้อนระดับอุณหภูมิเดียวกัน โดยในผลิตภัณฑ์ชุดควบคุมที่ศึกษานี้ มีค่าคงที่ของอัตราเป็น 0.2923 ต่อ ชั่วโมง หรือเท่ากับ 0.0049 ต่อ นาที การที่ผลการศึกษาดังกล่าวแตกต่างกันอาจเนื่องมาจากเนื้อฟักทองบดได้ผ่านกระบวนการผลิต ซึ่งเป็นการทำลายเนื้อเยื่อจึงทำให้บีตาแคโรทีนสลายตัวได้ง่ายยิ่งขึ้น



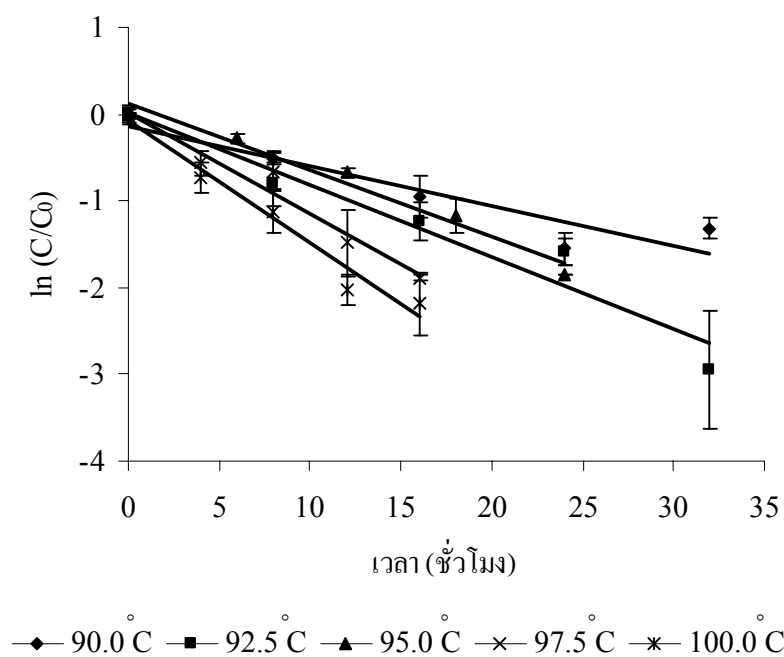
ภาพ 4.11 การสลายตัวเนื่องจากความร้อนของปีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ในชุดควบคุมซึ่งไม่มีการเติมสารแอนติออกซิแดนซ์ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ



ภาพ 4.12 การสลายตัวเนื่องจากความร้อนของปีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ในชุดที่มีการเติมสาร BHA ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ



ภาพ 4.13 การสลายตัวเนื่องจากความร้อนของปีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ในชุดที่มีการเติมสาร BHT ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ



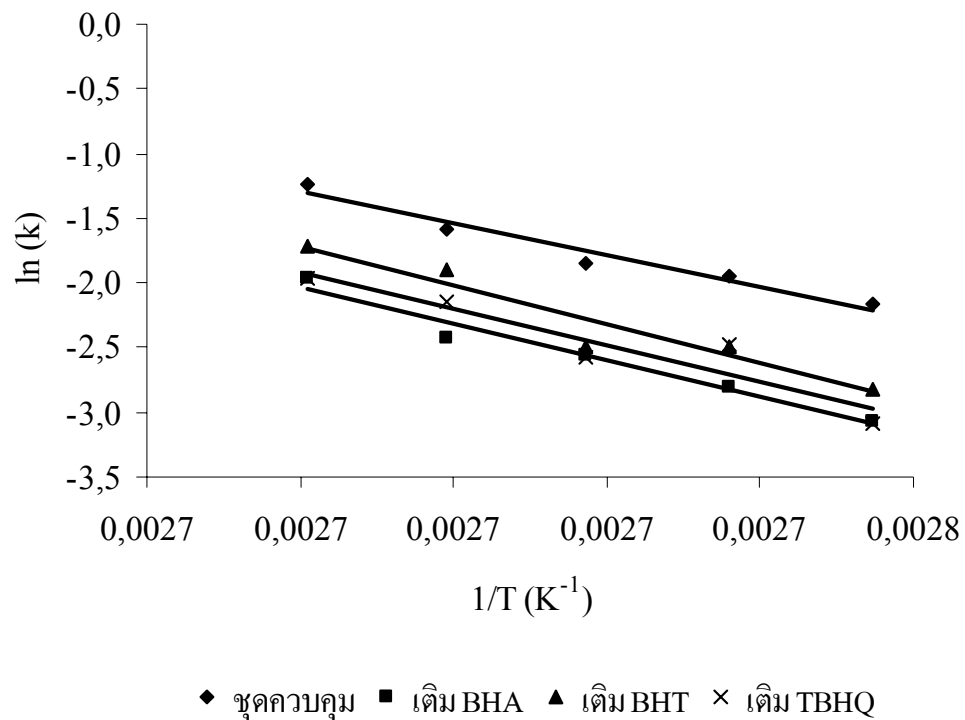
ภาพ 4.14 การสลายตัวเนื่องจากความร้อนของปีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ในชุดที่มีการเติมสาร TBHQ ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ

ตาราง 4.7 ค่าคงที่ของอัตรา (k) และ ค่า D ที่อุณหภูมิต่างๆ ของผลิตภัณฑ์สัณสุกอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน

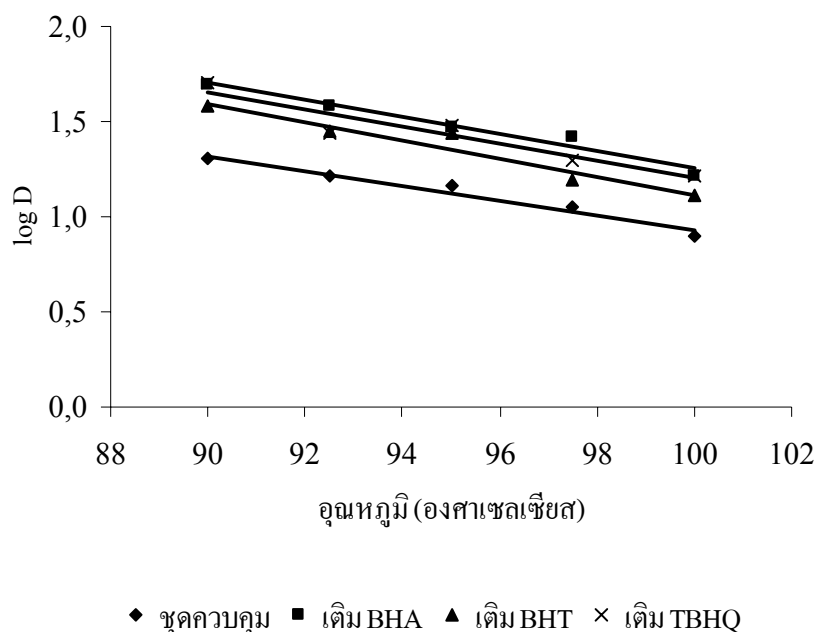
สิ่งทดลอง	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ค่าคงที่ของอัตรา (k) (ต่อชั่วโมง)	Decimal reduction time (D value) (ชั่วโมง)	R ²
ชุดควบคุม	90.0	0.1146	20.0924	0.9865
	92.5	0.1416	16.2612	0.9816
	95.0	0.1571	14.6568	0.8684
	97.5	0.2057	11.1939	0.9269
	100.0	0.2923	7.8775	0.9960
เติม BHA	90.0	0.0464	49.6247	0.8577
	92.5	0.0609	37.8093	0.8283
	95.0	0.0778	29.5962	0.9560
	97.5	0.0886	25.9885	0.9589
	100.0	0.1398	16.4706	0.9488
เติม BHT	90.0	0.0597	38.5693	0.9851
	92.5	0.0825	27.9101	0.9499
	95.0	0.0833	27.6421	0.9947
	97.5	0.1486	15.4952	0.9508
	100.0	0.1792	12.8492	0.9164
เติม TBHQ	90.0	0.0459	50.1653	0.8679
	92.5	0.0835	27.5759	0.9420
	95.0	0.0766	30.0599	0.9729
	97.5	0.1173	19.6299	0.9606
	100.0	0.1412	16.3073	0.9673

จากการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $1/T$ กับ $\ln k$ ได้กราฟดังภาพ 4.15 ค่าความชันที่ได้นำมาคำนวณหาค่าพลังงานกระตุ้น พบว่าอยู่ในช่วง 101.07-125.48 กิโลจูลต่อโมล และจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $\log D$ กับอุณหภูมิ (ภาพ 4.16) นำมาคำนวณค่า z พบว่าอยู่ในช่วง 20-25 องศาเซลเซียส ดังตาราง 4.8 เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันพบว่าค่าพลังงานกระตุ้นของผลิตภัณฑ์สัณสุกอาหารจากแคโรทีนอยด์ชุดที่มีการเติมสาร BHT จะมีค่ามากที่สุด และค่า z น้อยที่สุด ส่วนชุดควบคุมจะมีค่าพลังงานกระตุ้นน้อยที่สุด และมีค่า z สูงที่สุด แสดงว่าตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชุดที่มีการเติม BHT จึงมีความคงตัวของบีตาแคโรทีนมากที่สุด เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไป รองลงมาคือ ชุดที่เติม TBHQ ชุดที่เติม BHA และชุดควบคุมมีความคงตัวของบีตาแคโรทีนต่ำที่สุด

ค่าพลังงานกระตุ้น และค่า z ของผลิตภัณฑ์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชันนี้ใกล้เคียงกันกับการศึกษาการสลายตัวของบีตาแคโรทีนในน้ำส้ม อันเนื่องมาจากความร้อน (Dhuique-Mayer *et al.*, 2007) โดยศึกษาที่ระดับอุณหภูมิ 75-100 องศาเซลเซียส พบว่าค่าพลังงานกระตุ้น และค่า z มีค่าเท่ากับ 110 กิโลจูลต่อโมล และ 22.5 องศาเซลเซียส ตามลำดับ



ภาพ 4.15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln k$ กับ $1/T$ ของบีตาแคโรทีนในตัวอย่าง
สัผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน



ภาพ 4.16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log D กับอุณหภูมิ ของปีตาแคโรทีนในตัวอย่าง
สัผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน

ตาราง 4.8 ค่าพลังงานกระตุ้น และค่า z ของตัวอย่างสัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่
อยู่ในรูปอิมัลชัน ในช่วงอุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส

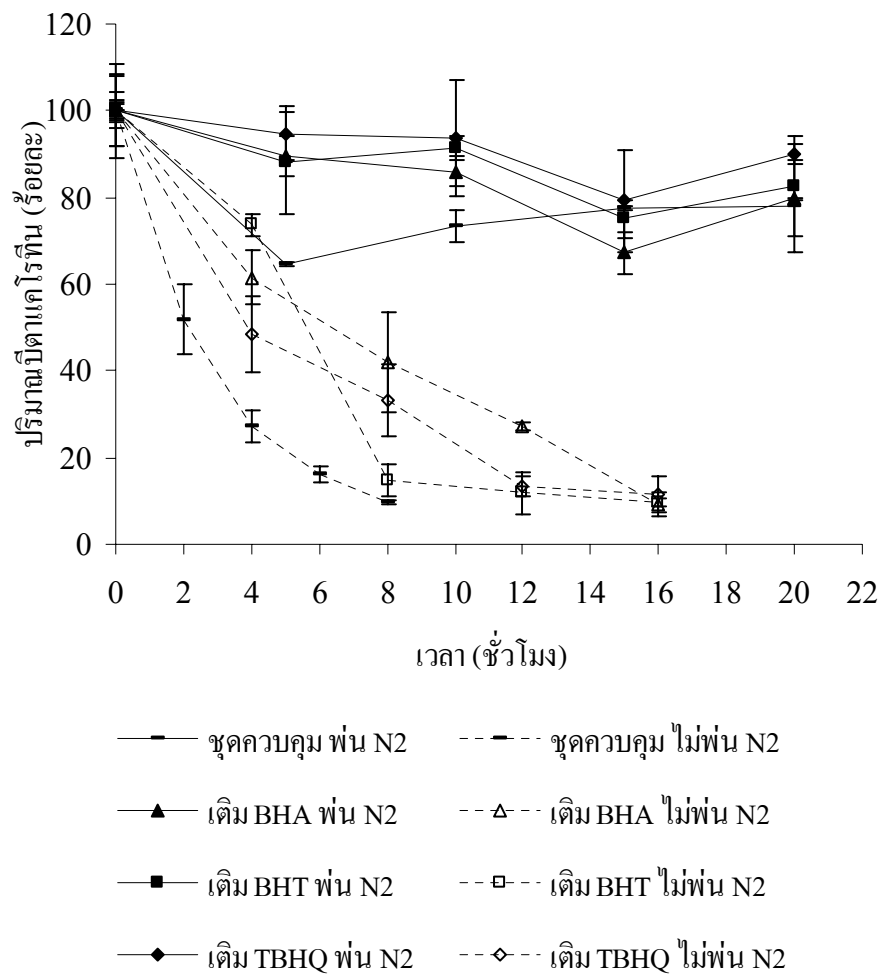
สิ่งทดลอง	พลังงานกระตุ้น (E_a) (กิโลจูลต่อโมล)	R^2	ค่า z (องศาเซลเซียส)	R^2
ชุดควบคุม	101.07	0.9600	25.64	0.9626
เติม BHA	116.20	0.9680	22.32	0.9694
เติม BHT	125.48	0.9319	20.66	0.9334
เติม TBHQ	116.68	0.8934	22.27	0.8920

ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Nenadis *et al.* (2003) ซึ่งได้เปรียบเทียบผลของสารแอนติออกซิแดนท์ทั้งสามชนิด ทั้งใน Phosphatidylcholine liposome และในอิมัลชัน ซึ่งพบว่า BHT จะช่วยต้านออกซิเดชันได้ดีที่สุด ทั้ง liposome และในอิมัลชัน เนื่องจากมีสภาพขั้วต่ำที่สุด อีกทั้ง German (2002) ยังได้รายงานไว้ว่า BHT จะมีความคงตัวมากที่อุณหภูมิสูง จึงสามารถต้านออกซิเดชันในอาหารที่ต้องผ่านการอบได้ดีอีกด้วย นอกจากนี้ liposome ยังเกิดออกซิเดชันได้เร็วกว่าอิมัลชัน เช่นเดียวกับงานวิจัยนี้ที่เมื่อเปรียบเทียบค่า z ของ

ผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารทั้งสองชนิด พบว่าผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชันจะมีค่า z ต่ำกว่าผลิตภัณฑ์ที่อยู่รูปน้ำมัน ซึ่งหมายถึงผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชันจะมีความไวต่ออุณหภูมิน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปน้ำมัน

4.6 ผลของการพ่นแก๊สไนโตรเจนต่อการสลายตัวของบีตาแคโรทีน

ในการศึกษานี้ได้เลือกผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน มาทำการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างที่ทำการพ่นด้วยแก๊สไนโตรเจนก่อนปิดฝา กับตัวอย่างที่ไม่มีการพ่นด้วยแก๊สไนโตรเจนก่อนปิดฝา ผลการศึกษาแสดงดังภาพ 4.17 ซึ่งพบว่าเมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างชุดที่พ่นด้วยแก๊สไนโตรเจนเป็นระยะเวลา 20 ชั่วโมง ปริมาณบีตาแคโรทีนในตัวอย่างลดลงจากปริมาณเริ่มต้นน้อยกว่าร้อยละ 25 ในขณะที่ตัวอย่างชุดที่ไม่พ่นด้วยแก๊สไนโตรเจน มีปริมาณบีตาแคโรทีนลดลงมากกว่าร้อยละ 85 เมื่อให้ความร้อนเพียง 8 ชั่วโมง สำหรับชุดควบคุม และ 16 ชั่วโมง สำหรับชุดที่เติมสารแอนตีออกซิแดนซ์ทั้งหมด แสดงว่าบีตาแคโรทีนจะมีความคงตัวต่อความร้อนมาก เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาเรื่องอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ ในตอนที่ 4.2



ภาพ 4.17 การเปลี่ยนแปลงปริมาณปิตาแคโรทีนของผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

เอกสารอ้างอิง

- นิธิยา รัตนปนนท์. 2548. วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.
- พัชรินทร์ ระวีวัน, สรศักดิ์ เหล็กวชิรพันธุ์, ดวงสมร ลิ้มปิติ และประมวล ศรีกาหลง. 2548. รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการการสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิต่ำเพื่อใช้เป็นสีผสมอาหาร. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- รุ่งนภา วิสิฐอุตรการ. 2540. “การประเมินอายุการเก็บของอาหาร”. เอกสารคำสอน ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศูนย์วิจัยกสิกรรมไทย. 2547. ปาล์มน้ำมัน: พืชเศรษฐกิจที่น่าจับตามอง. ผู้จัดการออนไลน์. แหล่งที่มา <http://www.manager.co.th/Business/ViewNews.aspx?NewsID=9470000093275> (25 มิถุนายน 2549).
- วินันทา พุ่มพันธ์พานิช. 2546. “การแยกแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มโดยการดูดซับบนดินเหนียว”. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาปิโตรเคมีและวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Allied Biotech Corporation. 2006. Altratene® Products. [Online]. Available <http://www.altratene.com/products.htm> (25 มิถุนายน 2006).
- Alyas S. A., A. Abdulah and N. A. Idris. 2006. Changes of β -carotene content during heating of red palm olein. Journal of oil palm research; Special issue: 99-102.
- AOAC. 2002. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists Inc., Washington, DC.
- BASF Corporation. 2005. Human Nutrition, Products: Carotenoids. [Online]. Available http://www.basf.com/humannutrition/products_carot.html (25 มิถุนายน 2006).
- Bendich A. 1994. Recent advances in clinical research involving carotenoids. Pure & Appl. Chem., Vol. 66, No. 5, pp. 1017-1024.
- Biacs P.A. and H.G. Daood. 2000. Lipxygenase-catalysed degradation of carotenoids from tomato in the presence of antioxidant vitamins. Biochemical Society Transactions, Vol. 28, part 6: 839-845.
- Bonnie TYP. and YM. Choo. 1999. Oxidation and thermal degradation of carotenoids. Journal of Oil Palm Research. Vol. II, No. 1, pp. 62-78.

- Britton G. 1995. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *FASEB J.* 9, 1551-1558.
- Britton G. 1996. Carotenoids. In: Hendry G.A.F. and J.D. Houghton (Ed.), *Natural food colorants*, 2nd ed., pp. 197-243, Hartnolls Ltd., Great Britain.
- Burton G. W. and K. U. Ingold. 1984. Beta carotene: an unusual type of lipid antioxidant. *Science* 224: 569-573.
- Chuang M.H. and G. Brunner. 2006. Concentration of minor components in crude palm oil. *J. of Supercritical Fluids*; 37: 151-156.
- Cuvelier M.-E. and C. Berset. 2005. Phenolic compounds and plant extracts protect paprika against UV-induced discoloration. *International Journal of Food Science and Technology*; 40: 67-73.
- Dhuique-Mayer C., M. Tbatou, M. Carail, C. Caris-Veyrat, M. Dornier and M. J. Amiot. 2007. Thermal degradation of antioxidant micronutrients in *Citrus* juice: Kinetics and newly formed compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 55:4209-4216.
- Dutta D., A. Dutta, U. Raychaudhuri and R. Chakraborty. 2006. Rheological characteristics and thermal degradation kinetics of beta-carotene in pumpkin puree. *Journal of Food Engineering.*, 76: 538-546.
- Dutta D., UR. Chaudhuri and R. Chakraborty. 2005. Structure, health benefits, antioxidant property and processing and storage of carotenoids. *Afr. J. Biotechnol.* Vol. 4 (13), pp. 1510-1520.
- Farombi E. O. and G. Britton. 1999. Antioxidant activity of palm oil carotenes in organic solution: effects of structure and chemical reactivity. *Food Chemistry* 64: 315-321.
- Gama J.J.T. and C.M. de Sylos. 2007. Effect of thermal pasteurization and concentration on carotenoid composition of Brazilian Valencia orange juice. *Food Chemistry*, 100: 1686-1690.
- German J.B. 2002. Antioxidants. In: Branen A.L., P.M. Davidson, S. Salminen and J.H. Thorngate III (Ed.), *Food additives*, 2nd ed., Marcel Decker Inc., New York.

- Goodman D.S. 1984. Vitamin A and retinoids in health and disease. *N. Engl. J. Med.*, 310: 1023-1031.
- Gordon M.H., F. Paiva-Martins and M. Almeida. 2001. Antioxidant activity of hydroxytyrosol acetate compared with that of other olive oil polyphenols. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 2480-2485.
- Goulson M.J. and J.J. Warthesen. 1999. Stability and antioxidant activity of beta carotene in conventional and high oleic canola oil. *Journal of Food Science*, Vol. 64, No. 6, pp. 996-999.
- Gülçin İ., M.T. Uğuz, M. Oktay, Ş. Betdemir and Ö.İ. Küfrevioğlu. 2004. Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of Clary Sage (*Salvia sclarea* L.). *Turk. J. Agric. For.*, 28: 25-33.
- Heinonen M., K. Haila, A. Lampi and V. Piironen. 1997. Inhibition of oxidation in 10% oil-in-water emulsions by α -carotene with α - and γ -tocopherols. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 74: 1047-1052.
- Henry L. K., G. L. Gatignani and S. Scwharz. 1998. The influence of carotenoids and tocopherols on the stability of safflower seed oil during heat-catalysed oxidation. *J. Amer. Oil. Chem. Soc.* 75: 1399-1402.
- Ibrahim K., T.J. Hassan and S.N. Jafarey. 1991. Plasma vitamin A and carotene in maternal and cord blood. *Asia Oceania J. Obstet. Gynaecol.*, 17 (2): 159-64.
- Iqbal S. and M.I. Bhanger. 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry*, 100: 246-254.
- Jain MK., N.J. Mehta, M. Fonseca and N.V. Pai. 1990. Correlation of serum vitamin A and its transport protein (RBP) in malnourished and vitamin A deficient children. *J. Postgrad. Med.*, 36: 119-23.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). 2005. General standard for food additives. *Codex Stan 192-1995*, Rev. 6.
- Karp D.D. and A.S. Tsao. 2003. Kim Nonsmall-cell lung cancer: chemoprevention studies. *Semin Thorac Cardiovasc Surg.*, 15: 405-420.

- Khan M.A. and F. Shahidi. 2001. Effects of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of borage and evening primrose triacylglycerols. *Food Chemistry*, 75: 431-437.
- Kiokias S. and M. H. Gordon. 2004. Antioxidant properties of carotenoids in vitro and in vivo. *Food Reviews International*. Vol. 20, No. 2, pp. 99-121.
- Krinsky N.I. 1989. Antioxidant functions of carotenoids. *Free Rad. Biol. Med.* 7: 617-635.
- Kristal A.R. 2004. Vitamin A, retinoids and carotenoids as chemo preventive agents for prostate cancer. *J. Urol.* 2004; 171 (2 Pt 2): S54-8; discussion S 58.
- Kulišić T., V. Dragović-Uzelac and M. Miloš. 2005. Antioxidant activity of aqueous tea infusions prepared from oregano, thyme and wild thyme. *Food Technol. Biotechnol.*, 44 (4): 485-492.
- Liebler D. C. 1993. Antioxidant reaction of carotenoids. *Ann. New York Acad. Sci.* 691: 20-31.
- Liebler D. C. and T. D. McClure. 1996. Antioxidant reaction of β -carotene: identification of carotenoids-radical adducts. *Chem. Res. Toxicol.* 9: 8-11.
- Lin C. H. and B. H. Chen. 2005. Stability of carotenoids in tomato juice during storage. *Food chemistry*; 90: 837-846.
- Lu QJ., CY. Huang, SX. Yao, RS. Wang and XN. Wu. 2003. Effects of fat-soluble extracts from vegetable powder and beta-carotene on proliferation and apoptosis of lung cancer cell YTMCLC-90. *Biomed. Environ. Sci.*, 16 (3): 237-245.
- Mangels A.R., J.M. Holden, G.R. Beecher, M.R. Forman and E. Lanza. 1993. Carotenoid content of fruits and vegetables: an evaluation of analytic data. *J. Am. Diet. Assoc.*, 93: 284-296.

- Mannisto S., S.A. Smith-Warner, D. Spiegelman, D. Albanes, K. Anderson, P.A. van den Brandt, J.R. Cerhan, G. Colditz, D. Feskanich, J.L. Freudenheim, E. Giovannucci, R.A. Goldbohm, S. Graham, A.B. Miller, T.E. Rohan, J. Virtamo, W.C. Willett and D.J. Hunter. 2004. Dietary carotenoids and risk of lung cancer in a pooled analysis of seven cohort studies. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 13: 40-48.
- Marx M., M. Stuparic, A. Schieber and R. Carle. 2003. Effects of thermal processing on trans-cis-isomerization of β -carotene in carrot juices and carotene-containing preparations. *Food Chemistry*, 83: 609-617.
- Mathews-Roth M.M. 1990. Plasma concentration of carotenoids after large doses of beta-carotene. *Am. J. Clin. Nutr.*, 52: 500-1.
- Mortensen A. and L.H. Skibsted. 1997. Importance of carotenoid structure in radical-scavenging reactions. *J. Agric. Food. Chem.* 45: 2970-2977.
- Mortensen A., L. H. Skibsted, J. Sampson and A. S. Everett. 1997. Comparative mechanisms and rate of free radical scavenging by carotenoid antioxidants. *FEBS Letters* 418: 91-97.
- Murtaugh M.A., K.N. Ma, J. Benson, K. Curtin, B. Caan and M.L. Slattery. 2004. Antioxidants, carotenoids, and risk of rectal cancer. *Am. J. Epidemiol.*, 159: 32-41.
- National Research Council (NRC). 1989. Commission on Life Sciences, Food and Nutrition Board. Recommended dietary allowances. 10th ed. Washington, DC: National Academy Press.
- Nenadis N., I. Zafiropoulou and M. Tsimidou. 2003. Commonly used food antioxidants: a comparative study in dispersed systems. *Food Chemistry*, 82: 403-407.
- Niki E., N. Noguchi, H. Tsuchihashi and N. Goton. 1995. Interactions amount vitamin E, vitamin C and b-carotene. *Amer. J. Clin. Nutr.* 62: 1322s-1326s.
- Nishino H. 1998. Cancer prevention by carotenoids. *Mutat. Res.*, 402: 159-163.
- Nitsche M., W. Johannsbauer, V. Jordan. 1999. Process for obtaining carotene from palm oil. US Patent 5902890.

- Ooi C.K. and Y.C. May. 2000. Recovery of carotenes. US Patent 6072092.
- Palace V.P., N. Khaper, Q. Qin and P.K. Singal. 1999. Antioxidant Potential of Vitamin A and Carotenoids and their Relevance to Heart Disease. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 26, Nos. 5/6, pp. 746-761.
- Patton S., LM. Canfield, GE. Huston, AM. Ferris and RG. Jensen. 1990. Carotenoids of human colostrum. *Lipids*, 25 (3): 159-65.
- Pérez-Gálvez A. and M.I. Mínguez-Mosquera. 2004. Degradation, under non-oxygen-mediated autooxidation, of carotenoid profile present in paprika oleoresins with lipid substrates of different fatty acid composition. *J. Agric. Food Chem*, 52: 632-637.
- Pérez-Gálvez A., M. Jarén-Galán and M.I. Mínguez-Mosquera. 2005. Impact of the increased thermal processing on retinol equivalent values of paprika oleoresins. *Journal of Food Engineering*, 71: 379-385.
- Rattanathanalerk M., N. Chiewchan and W. Srichumpoung. 2005. Effect of thermal processing on the quality loss of pineapple juice. *Journal of Food Engineering*, 66: 259-265.
- Rodriguez-Amaya DB. 1999. Changes in carotenoids during processing and storage of foods. *Archivos latinoamericanos de Nutrition*. 49: 38S-47S.
- Rodriguez-Amaya DB. 2001. A guide to carotenoid analysis in foods. ILSI Press, Washington, DC.
- Rodriguez-Amaya DB. and M. Kimura. 2004. Harvestplus Handbook for Carotenoid Analysis. HarvestPlus Technical Monograph 2, Washington, DC.
- Russell R.M. 2004. The enigma of beta-carotene in carcinogenesis: what can be learned from animal studies. *J. Nutr.*, 134: 262S-268S.
- Sundram K., R. Sambanthamurthi and YA. Tan. 2003. Palm fruit chemistry and nutrition. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.*; 12 (3): 355-362.
- Updike A. A. and S. J. Schwartz. 2003. Thermal processing of vegetables increases cis isomers of lutein and zeaxanthin. *J. Agric. Food Chem.*; 51: 6184-6190.

- Van den Berg H., R. Faulks, F. Granado, J. Hirscheberg, B. Olmedilla, G. Sandmann, S. Southon and W. Stahl. 2000. The potential for the improvement of carotenoid levels in foods and the likely systematic effects. *J. Sci. Food Agric.* 80: 880-912.
- Van Zandwijk N. and F.R. Hirsch. 2003. Chemo prevention of lung cancer: current status and future prospects. *Lung cancer.*, 42 (Suppl) 1: S71-79.
- Vásquez-Caicedo A. L., S. Schiling, R. Carle and S. Neidhart. 2007. Impact of packaging and storage conditions on colour and β -carotene retention of pasteurized mango purée. *Eur Food Res Technol.* 224: 581-590.
- Vikram V. B., M. N. Ramesh and S. G. Prapulla. 2005. Thermal degradation kinetics of nutrients in orange juice heated by electromagnetic and conventional methods. *Journal of Food Engineering.*, 69: 31-40.
- Woodall A. A., G. Britton and M. J. Jackson. 1997. Carotenoids and protection of phospholipids in solute or in liposomes against oxidation by peroxyl radicals. Relationship between structure and protective ability. *Bioch. Biophys. Acta Subjects* 1336: 575-586.
- Yamamoto Y., S. Haga, E. Niki and Y. Kamiya. 1984. Oxidation of lipids. V. Oxidation of methyl linoleate in aqueous dispersion. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 57: 1260-1264.
- Yap SC., Choo YM., Ooi YM., Ong ASH. and Goh SH. 1991. Quantitative analysis of carotenes in the oil from different palm species. *Elaeis*; 3: 369-378.
- Zeb A. and S. Mehmood. 2004. Carotenoids contents from various sources and their potential health applications. *Pakistan Journal of nutrition* 3 (3): 199-204.
- Zeitlin M.F., R. Megawangi, E.M. Kramer and H.C. Armstrong. 1992. Mothers and children's intakes of vitamin A in rural Bangladesh. *Am. J. Clin. Nutr.*, 56: 136-47.
- Zhang P. and S. T. Omaye. 2000. β -Carotene and protein oxidation: effects of ascorbic acid and β -tocopherol. *Toxicology* 146: 37-47.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
ตารางผลการทดลอง

ตาราง ก-1 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณบีตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส

สิ่งทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)							
	0	20	40	60	80	100	120	140
ชุดควบคุม	1,387.74 $\pm$ 21.57	1,445.21 $\pm$ 92.63	1,431.86 $\pm$ 31.98	1,412.37 $\pm$ 35.97	1,423.56 $\pm$ 9.77	1,404.35 $\pm$ 24.35	1,405.83 $\pm$ 49.65	1,366.36 $\pm$ 15.56
เติม BHA	1,366.16 $\pm$ 33.31	1,417.39 $\pm$ 78.48	1,398.55 $\pm$ 27.93	1,428.54 $\pm$ 45.99	1,367.94 $\pm$ 8.23	1,377.42 $\pm$ 22.05	1,368.33 $\pm$ 23.28	1,348.01 $\pm$ 66.52
เติม BHT	1,359.58 $\pm$ 14.13	1,420.76 $\pm$ 21.98	1,404.40 $\pm$ 69.69	1,423.13 $\pm$ 19.10	1,375.49 $\pm$ 10.63	1,358.66 $\pm$ 37.68	1,349.96 $\pm$ 9.49	1,373.32 $\pm$ 9.83
เติม TBHQ	1,396.54 $\pm$ 20.91	1,453.87 $\pm$ 51.38	1,452.57 $\pm$ 23.43	1,379.13 $\pm$ 65.70	1,416.34 $\pm$ 31.19	1,450.45 $\pm$ 42.67	1,435.48 $\pm$ 16.44	1,461.45 $\pm$ 71.67

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตาราง ก-2 การเปลี่ยนแปลงค่าของกรด (มิลลิกรัมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อกรัม) ในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส

สิ่งทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)							
	0	20	40	60	80	100	120	140
ชุดควบคุม	0.668 $\pm$ 0.035	0.727 $\pm$ 0.046	0.745 $\pm$ 0.096	0.677 $\pm$ 0.137	0.528 $\pm$ 0.062	10.572 $\pm$ 0.102	0.687 $\pm$ 0.111	0.745 $\pm$ 0.005
เติม BHA	0.642 $\pm$ 0.017	0.720 $\pm$ 0.058	0.639 $\pm$ 0.069	0.650 $\pm$ 0.056	0.508 $\pm$ 0.039	0.506 $\pm$ 0.024	0.637 $\pm$ 0.109	0.719 $\pm$ 0.142
เติม BHT	0.683 $\pm$ 0.012	0.691 $\pm$ 0.070	0.701 $\pm$ 0.037	0.619 $\pm$ 0.056	0.508 $\pm$ 0.058	0.551 $\pm$ 0.017	0.761 $\pm$ 0.062	0.683 $\pm$ 0.081
เติม TBHQ	0.659 $\pm$ 0.019	0.669 $\pm$ 0.025	0.580 $\pm$ 0.053	0.570 $\pm$ 0.067	0.487 $\pm$ 0.051	0.520 $\pm$ 0.144	0.600 $\pm$ 0.036	0.628 $\pm$ 0.048

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตาราง ก-3 การเปลี่ยนแปลงค่าเพอร์ออกไซด์ (มิลลิกรัมสมมูลต่อกิโลกรัม) ในผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส

สิ่งทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)							
	0	20	40	60	80	100	120	140
ชุดควบคุม	6.535 $\pm$ 0.964	6.458 $\pm$ 0.0160	7.469 $\pm$ 0.237	7.072 $\pm$ 1.340	8.148 $\pm$ 2.240	7.041 $\pm$ 1.827	8.099 $\pm$ 0.628	7.303 $\pm$ 1.803
เติม BHA	6.197 $\pm$ 0.626	6.112 $\pm$ 0.319	7.253 $\pm$ 0.388	7.980 $\pm$ 1.317	7.332 $\pm$ 1.492	7.549 $\pm$ 1.450	7.430 $\pm$ 2.761	8.190 $\pm$ 2.052
เติม BHT	6.247 $\pm$ 0.775	6.794 $\pm$ 0.077	5.492 $\pm$ 1.799	6.811 $\pm$ 2.613	8.208 $\pm$ 1.515	7.763 $\pm$ 0.540	8.488 $\pm$ 1.800	9.476 $\pm$ 0.582
เติม TBHQ	7.024 $\pm$ 0.835	6.011 $\pm$ 1.044	7.143 $\pm$ 1.318	7.141 $\pm$ 1.388	7.723 $\pm$ 2.636	6.756 $\pm$ 1.889	7.449 $\pm$ 1.563	8.354 $\pm$ 0.633

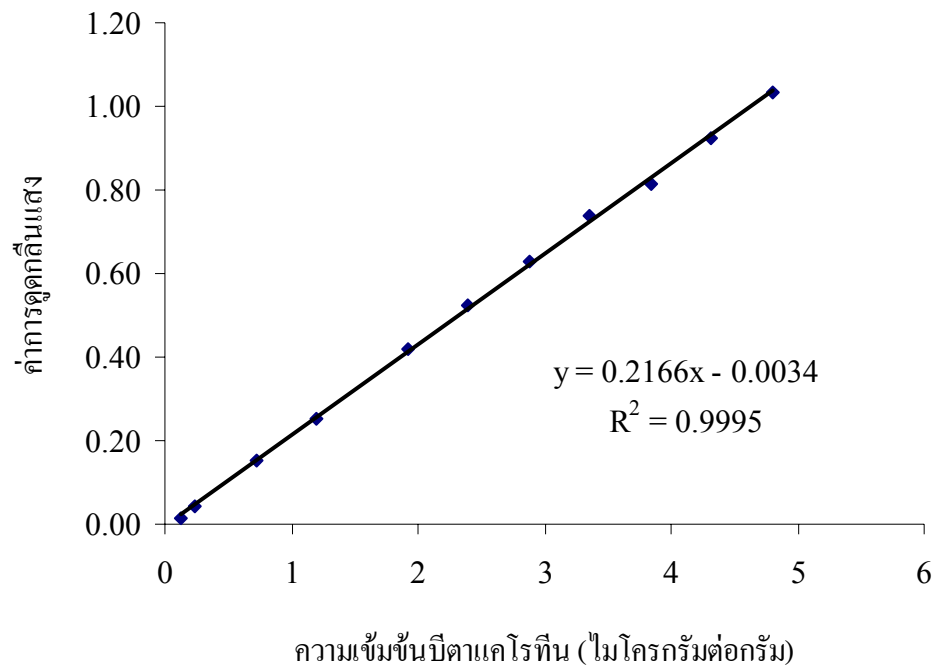
ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตาราง ก-4 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณบีตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ในผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 5 ± 2 องศาเซลเซียส

สิ่งทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)							
	0	20	40	60	80	100	120	140
ชุดควบคุม	1,408.08 $\pm$ 65.13	1,390.46 $\pm$ 83.80	1,480.08 $\pm$ 80.27	1,433.15 $\pm$ 130.71	1,443.69 $\pm$ 74.92	1,485.96 $\pm$ 28.45	1,370.29 $\pm$ 18.04	1,415.01 $\pm$ 65.28
เติม BHA	1,241.75 $\pm$ 18.07	1,194.91 $\pm$ 53.81	1,207.53 $\pm$ 33.17	1,151.04 $\pm$ 41.23	1,272.46 $\pm$ 61.31	1,205.07 $\pm$ 91.46	1,269.94 $\pm$ 7.65	1,272.90 $\pm$ 48.71
เติม BHT	1,235.09 $\pm$ 53.10	1,295.14 $\pm$ 81.79	1,326.23 $\pm$ 38.01	1,183.80 $\pm$ 75.27	1,247.55 $\pm$ 47.58	1,301.06 $\pm$ 62.04	1,293.27 $\pm$ 77.09	1,255.02 $\pm$ 32.01
เติม TBHQ	1,172.96 $\pm$ 36.43	1,247.52 $\pm$ 31.74	1,156.45 $\pm$ 62.92	1,182.90 $\pm$ 65.10	1,191.81 $\pm$ 17.40	1,153.02 $\pm$ 90.05	1,140.45 $\pm$ 56.47	1,153.83 $\pm$ 34.04
เติม BHA และสารกันเชื้อรา	1,297.24 $\pm$ 93.88	1,293.57 $\pm$ 49.31	1,339.24 $\pm$ 118.05	1,192.06 $\pm$ 10.75	1,246.85 $\pm$ 38.40	1,211.47 $\pm$ 18.14	1,244.86 $\pm$ 70.72	1,245.22 $\pm$ 41.48
เติม BHT และสารกันเชื้อรา	1,177.22 $\pm$ 85.82	1,110.58 $\pm$ 13.73	1,260.81 $\pm$ 33.27	1,229.48 $\pm$ 70.66	1,267.19 $\pm$ 99.61	1,218.66 $\pm$ 65.48	1,173.13 $\pm$ 24.81	1,197.49 $\pm$ 42.26
เติม TBHQ และสารกันเชื้อรา	1,219.85 $\pm$ 15.29	1,212.88 $\pm$ 120.46	1,245.07 $\pm$ 23.37	1,169.10 $\pm$ 78.19	1,323.26 $\pm$ 55.87	1,316.92 $\pm$ 63.18	1,259.65 $\pm$ 37.19	1,252.06 $\pm$ 77.93

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ภาคผนวก ข
ภาพประกอบ



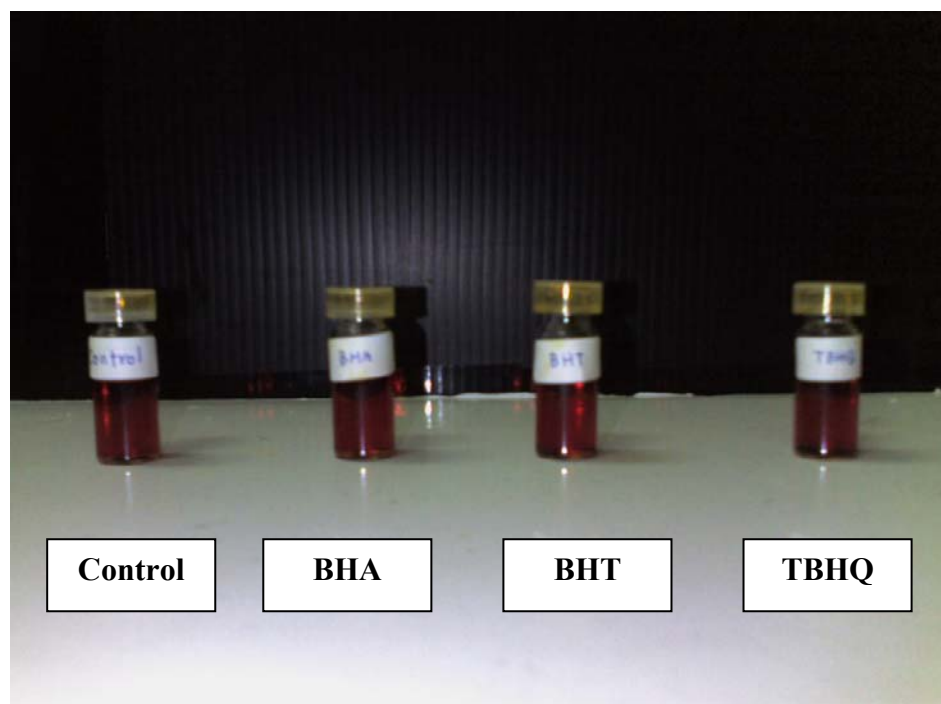
ภาพ ข-1 กราฟมาตรฐานของบีตาแคโรทีนในตัวทำละลายเตตราไฮโดรฟูแรน



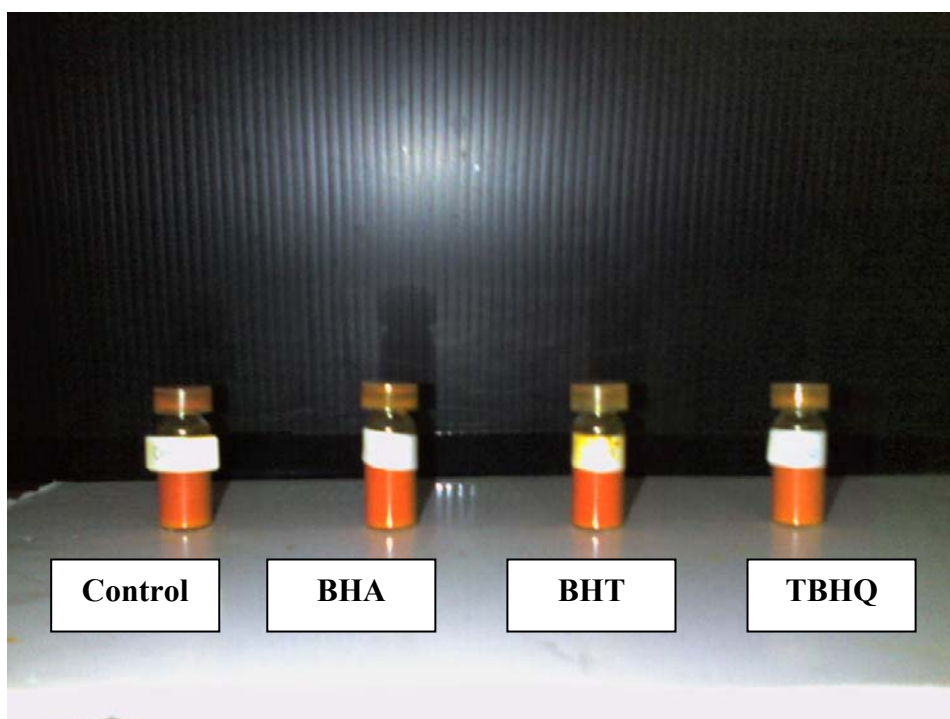
ภาพ ข-2 น้ำมันปาล์มดิบ



ภาพ ข-3 สารสกัดแคโรทีนอยด์หลังจาก
ระเหยเฮกเซนออกด้วยระบบสุญญากาศ



ภาพ ข-4 ตัวอย่างสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน



ภาพ ข-5 ตัวอย่างสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอัดชั้น



ภาพ ข-6 การเก็บรักษาตัวอย่างสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันในตู้บ่ม
อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส



ภาพ ข-7 การเก็บรักษาตัวอย่างสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชันในตู้เย็น
อุณหภูมิ 5 ± 2 องศาเซลเซียส



ภาพ ข-8 การศึกษาความคงตัวต่อความร้อนของบีตาแคโรทีนในสีผสมอาหาร
จากแคโรทีนอยด์ด้วยตู้อบลมร้อน

ภาคผนวก ก
วิธีการวิเคราะห์คุณภาพ

วิธีการวิเคราะห์คุณภาพ

ค-1 การวิเคราะห์ค่าของกรด (Acid Value, A.V.) ประยุกต์จากวิธี AOAC (2000)

1. ผสมไดเอทิลอีเทอร์ 25 มิลลิลิตร รวมกับเอทิลแอลกอฮอล์ 25 มิลลิลิตร ให้เป็นตัวทำละลายผสม หรือใช้เอทิลแอลกอฮอล์ (ร้อยละ 95) 50 มิลลิลิตร เพียงชนิดเดียวก็ได้
2. เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาเลิน (ความเข้มข้นร้อยละ 1) ลงไป 0.5 มิลลิลิตร
3. ค่อยๆ ไตเตรตตัวทำละลายผสมให้เป็นกลางด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (ใช้ค่าประมาณ 2-3 หยด)
4. ชั่งน้ำมันตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักแน่นอน (ใช้น้ำมัน 2 กรัม หรือไขมัน 10 กรัม)
5. ละลายน้ำมันตัวอย่างในตัวทำละลายผสมที่เป็นกลาง
6. ไตเตรตด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์
7. เขย่าพร้อมกับไตเตรตจนกระทั่งได้สารละลายสีชมพู ซึ่งคงตัวนานกว่า 15 วินาที
8. ผลการไตเตรตไม่ควรใช้สารละลายค่าเกิน 10 มิลลิลิตร ถ้าใช้มากกว่านี้ต้องทดลองใหม่ โดยใช้น้ำมันตัวอย่างให้น้อยลง

วิธีคำนวณ

$$AV. = \frac{V \times 5.61}{W}$$

V = จำนวนโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ใช้ (มิลลิกรัม)

W = น้ำหนักของน้ำมันตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)

1 มิลลิตรของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เท่ากับ 5.6 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์

หากต้องการคำนวณค่าของกรดเป็นปริมาณของกรดไขมันอิสระในรูปร้อยละของกรดปาล์มิติก (ใช้กับน้ำมันปาล์ม) หรือกรดลอริก (ใช้กับน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันปาล์มเคอร์เนล) หรือกรดโอเลอิก (ใช้กับน้ำมันพืชอื่นๆ) สามารถคำนวณได้ดังนี้

1 มิลลิตรของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดโอเลอิก 0.0282 กรัม หรือกรดปาล์มิติก 0.0256 กรัม หรือกรดลอริก 0.0200 กรัม

$$\begin{aligned}
 A.V. &= 2.19 \times \% \text{ FFA (ในรูปกรดปาล์มติก)} \\
 &= 2.81 \times \% \text{ FFA (ในรูปกรดลอริก)} \\
 &= 1.99 \times \% \text{ FFA (ในรูปกรดโอเลอิก)}
 \end{aligned}$$

น้ำมันที่มีกรดไขมันอิสระประมาณร้อยละ 0.5-1.5 ในรูปกรดโอเลอิกจะเริ่มสังเกตการหืนได้

ค-2 การวิเคราะห์ค่าเพอร์ออกไซด์ (Peroxide Value, P.V.) ประยุกต์จากวิธี AOAC (2000)

สารเคมีที่ใช้

1. โพแทสเซียมไอโอไดด์
2. สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 เตรียมได้โดยชั่งโพแทสเซียมไอโอไดด์มา 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร
3. สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.002 นอร์มัล (โมลาร์) เตรียมได้โดยชั่งโซเดียมไทโอซัลเฟตมา 0.4954 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร (เตรียมก่อนใช้)
4. สารละลายน้ำแปง ความเข้มข้นร้อยละ 1 เตรียมได้โดยชั่งแปง 1 กรัม ละลายน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดแล้วปล่อยให้เย็น (เตรียมก่อนใช้)

วิธีทำ

1. ชั่งน้ำมันตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักแน่นอน (ประมาณ 1 กรัม) ใส่ในหลอดแก้วที่สะอาดและแห้งสนิท
2. ทำ blank ไปพร้อมกัน โดยไม่ต้องใส่น้ำมันตัวอย่าง
3. ชั่งโพแทสเซียมไอโอไดด์ ใส่ลงไป 1 กรัม หรือใช้สารละลายอิ่มตัวของโพแทสเซียมไอโอไดด์ 0.5 มิลลิลิตร
4. เติมน้ำทำละลายผสมลงไป 20 มิลลิลิตร (ตัวทำละลายผสม ประกอบด้วยกรดอะซิติก 3 ส่วน และคลอโรฟอร์ม 2 ส่วน ปริมาตรต่อปริมาตร ผสมให้เข้ากันก่อนเทใส่ลงไป ในหลอดแก้ว) ควรทำในตู้ดูดควัน (fume hood)
5. นำหลอดแก้วไปต้มในน้ำเดือด ปล่อยให้เดือด นานไม่เกิน 30 วินาที
6. เทของเหลวที่กำลังเดือดลงในฟลasks ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 จำนวน 20 มิลลิลิตร

7. ล้างหลอดแก้วด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง ครั้งละ 15 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ เทน้ำที่ล้างลงในฟลาสค์
8. ไตเตรตสารละลายในฟลาสค์ด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ความเข้มข้น 0.002 นอร์มัล จนสีเหลืองจางลง เติมน้ำแบ่งลงไป 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ ไตเตรตต่อจนถึงจุดยุติ คือ เมื่อสีฟ้าจางหายไปหมดจนสารละลายไม่มีสี
9. บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้กับน้ำมันตัวอย่าง (= A มิลลิลิตร) และที่ใช้กับ blank (= B มิลลิลิตร)

ข้อควรระวัง ไม่ควรเติมน้ำแบ่งลงไปในช่วงแรกขณะที่สารละลายไอโอดีนมีความเข้มข้นสูง เพราะไอโอดีนจะไปทำลายโมเลกุลของสตาร์ช ทำให้สมบัติในการเป็นอินดิเคเตอร์ของน้ำแบ่งเสียไปด้วย ยกเว้น blank ถ้าใช้สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.002 นอร์มัล ในการไตเตรตมากกว่า 5 มิลลิลิตรต่อกรัมของตัวอย่างน้ำมัน แสดงว่าตัวอย่างน้ำมันเกิดออกซิเดชันหรือ oxidation rancidity ซึ่งอาจรู้สึกได้โดยการชิม

การคำนวณ

ค่าเพอร์ออกไซด์จะคำนวณออกมาเป็นจำนวนมิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ความเข้มข้น 0.002 นอร์มัลต่อกรัมของไขมันหรือน้ำมัน

$$P.V. = \frac{A - B \text{ (มิลลิลิตร)}}{\text{น้ำหนักของน้ำมันตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)}} \quad (1)$$

หรือค่าเพอร์ออกไซด์คำนวณเป็นมิลลิมูลของเพอร์ออกไซด์ออกซิเจนต่อกิโลกรัมของน้ำมันตัวอย่าง (mEq/kg)

$$\begin{aligned} P.V. &= \frac{(A - B) \times N \times 1,000}{\text{น้ำหนักของน้ำมันตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)}} \\ &= \frac{(A - B) \times 0.002 \times 1,000}{\text{น้ำหนักของน้ำมันตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)}} \\ &= \frac{0.002 \times (A - B)}{\text{น้ำหนักของน้ำมันตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)}} \quad (3) \end{aligned}$$

หรือผลการคำนวณค่าเพอร์ออกไซด์ในสมการที่ (1) เมื่อคูณด้วย 2 จะเท่ากับผลการคำนวณในสมการที่ (3)

น้ำมันใหม่ (fresh oil) จะมีค่าเพอร์ออกไซด์ต่ำกว่า 10 มิลลิสมมูลต่อกิโลกรัม

ส่วนน้ำมันที่มีกลิ่นหืน จะมีค่าเพอร์ออกไซด์ประมาณ 20-40 มิลลิสมมูลต่อกิโลกรัม

ค-3 การหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) ด้วยวิธี pour plate (AOAC, 2002)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ซึ่งเปปโตน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดหรือหลอดทดลอง นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อมา 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

วิธีทำ

1. ดูดตัวอย่างสิ่งผสมอาหาร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน สารละลายที่ได้เป็นตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 หรือ 10^{-1}
2. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าตัวอย่างให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ได้เป็นสารละลายตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 หรือ 10^{-2}
3. นำตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 มาเจือจางให้เป็น 1:1000 หรือ 10^{-3} โดยทำเช่นเดียวกับข้อ 2.

การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ใช้ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อดูดสารละลายตัวอย่างอาหารเจือจางที่เตรียมไว้ (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) ลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ระดับเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มดูดจากตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางมากที่สุด
2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar ที่ยังเป็นของเหลวที่อุณหภูมิประมาณ 45-55 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อที่มีสารละลายตัวอย่างจานละประมาณ 15-20 มิลลิลิตร

3. ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดี วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว คั่วจนเพาะเชื้อลง และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 3 ชั่วโมง

การตรวจนับจุลินทรีย์

หลังจากบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 30-300 โคโลนี นำค่าเฉลี่ยจากทั้ง 2 จานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับว่ามีจำนวน Mesophilic aerobic bacteria ในรูปจำนวนโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

ค-4 การตรวจหาเชื้อยีสต์และรา (Yeast and Mould) ด้วยวิธีของ AOAC (2002)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ซึ่งเปปโตน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดหรือหลอดทดลอง นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อมา 39 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

วิธีทำ

1. คูดตัวอย่างสัผสมอาหาร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน สารละลายที่ได้เป็นตัวอย่างที่เจือจาง $1:10$ หรือ 10^{-1}
2. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจาง $1:10$ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าตัวอย่างให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ได้เป็นสารละลายตัวอย่างที่เจือจาง $1:100$ หรือ 10^{-2}
3. นำตัวอย่างที่เจือจาง $1:100$ มาเจือจางให้เป็น $1:1000$ หรือ 10^{-3} โดยทำเช่นเดียวกับข้อ 2.

การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ใช้ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อคูดสารละลายตัวอย่างอาหารเจือจางที่เตรียมไว้ (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) ลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ระดับเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มคูดจากตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางมากที่สุด

2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar ที่ปรับ pH เป็น 3.5 ด้วยกรดทาร์ตริก เข้มข้นร้อยละ 10 ที่ยังเป็นของเหลวที่อุณหภูมิประมาณ 45-55 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อที่มีสารละลายตัวอย่าง จานละประมาณ 15-20 มิลลิลิตร
3. ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดี วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน โดยไม่ต้องคว่ำจานเพาะเชื้อ

การตรวจนับจุลินทรีย์

หลังจากบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 10-150 โคโลนี นำค่าเฉลี่ยจากทั้ง 2 จานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับว่าพบเชื้อยีสต์และราในรูปจำนวนโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ในกรณีที่ไม่นับโคโลนีของเชื้อขึ้นเลยทุกระดับความเข้มข้น ให้รายงานการพบเชื้อยีสต์และราน้อยกว่า $1 \times$ ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ใช้

ภาคผนวก ง

บทความสำหรับการเผยแพร่

กิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการนำผลจากโครงการไปใช้ประโยชน์
ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผนไว้ กิจกรรม
ที่ดำเนินมา ผลที่ได้รับตลอดโครงการ และงานวิจัยสำหรับตีพิมพ์

1) บทความสำหรับการเผยแพร่

ความคงตัวต่อความร้อน และอายุการเก็บรักษาของสัผสมอาหาร ที่ผลิตจากแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ พัชรินทร์ ระวียัน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

แคโรทีนอยด์ใช้เป็นสารให้สีธรรมชาติ โดยให้สีเหลือง ส้ม และแดงกับผลิตภัณฑ์ มีการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์หลายชนิด ได้แก่ เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์จากนม เนยเทียม ลูกอม ขนมอบ ชูป อาหารสัตว์ และเครื่องสำอาง เป็นต้น นอกจากนี้แคโรทีนอยด์ยังสามารถเปลี่ยนไปเป็นวิตามินเอได้ในร่างกาย โดยแคโรทีนอยด์ชนิดที่สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้มากที่สุด คือ บีตาแคโรทีนซึ่งพบมากในน้ำมันปาล์มดิบ แต่การสกัดบีตาแคโรทีนจากน้ำมันปาล์มดิบเพื่อนำมาผลิตเป็นสัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ จะสลายตัวได้ง่ายเนื่องจากการทำปฏิกิริยากับแสงและออกซิเจนในอากาศ ทำให้ผลิตภัณฑ์สัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์มีอายุการเก็บรักษาที่สั้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการศึกษาถึงวิธีการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

จากการศึกษาพบว่าสัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ในรูปน้ำมันและรูปอิมัลชัน ที่บรรจุในขวดสีชา และพ่นด้วยแก๊สไนโตรเจนก่อนปิดฝา ซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 ± 5 และ 5 ± 2 องศาเซลเซียส ตามลำดับ มีความคงตัวสูงตลอดช่วงการเก็บรักษา โดยสีทั้งสองชนิดมีปริมาณบีตาแคโรทีนลดลงน้อยกว่าร้อยละ 5 เมื่อเก็บนาน 140 วัน และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา ซึ่งมีรายงานว่าเจริญได้ดีในสีในรูปอิมัลชัน ก็มีแนวโน้มลดลงจากปริมาณเริ่มต้น

จากการศึกษาการสลายตัวด้วยความร้อนของบีตาแคโรทีนในสีที่อยู่ในรูปน้ำมัน และรูปอิมัลชัน ที่ช่วงอุณหภูมิ 140-160 องศาเซลเซียส และ 90-100 องศาเซลเซียส ตามลำดับ พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เติมสารแอนติออกซิแดนท์ BHT จะช่วยให้บีตาแคโรทีนมีความคงตัวต่อความร้อนสูงที่สุด รองลงมาคือ TBHQ, BHA และผลิตภัณฑ์ที่ไม่เติมสารแอนติออกซิแดนท์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าพ่นด้วยแก๊สไนโตรเจนยังช่วยให้สีมีความคงตัวต่อความร้อนมากขึ้นอีกด้วย

การศึกษานี้สรุปได้ว่าควรเติม BHT 0.02% ในสัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ทั้งในรูปน้ำมันและรูปอิมัลชัน โดยบรรจุสีในขวดสีชา และพ่นด้วยแก๊สไนโตรเจนก่อนปิดฝา เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษา และทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวต่อความร้อนมากขึ้น

2) กิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการนำผลจากโครงการไปใช้ประโยชน์

1. ได้ให้ข้อมูลแก่ผู้ประกอบการที่ผลิตน้ำมันปาล์มดิบ และผู้สนใจทั่วไปผ่านโครงการปาล์มน้ำมัน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
2. ได้เตรียมต้นฉบับเพื่อส่งตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารระดับชาติที่มี peer review

3) ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผนไว้ และกิจกรรมที่ดำเนินการมาและผลที่ได้รับตลอดโครงการ

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
1. การตรวจเอกสารที่เกี่ยวข้อง	ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับน้ำมันปาล์มดิบ การสกัดแคโรทีนอยด์ และการเตรียมผลิตภัณฑ์ผสมอาหารที่อยู่ในรูปน้ำมัน และอิมัลชัน	ปฏิบัติกิจกรรมตามที่วางแผนไว้	ได้ข้อมูลพื้นฐานในการทำงานวิจัย
2. ศึกษาผลของการเติมสารแอนตี้ออกซิแดนต์ต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์	ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิดที่เติมสาร BHA, BHT, TBHQ และชุดควบคุม ระหว่างการเก็บรักษา 6 เดือน	ปฏิบัติกิจกรรมตามที่วางแผนไว้	ทราบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษา 6 เดือน
3. ศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิดที่อุณหภูมิในการแปรรูปต่างๆ	ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่ระดับต่างๆ	ปฏิบัติกิจกรรมตามที่วางแผนไว้	ทราบความคงตัวของความร้อนของบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิด

4. ศึกษาผลของการพ่นแก๊สไนโตรเจนต่อความคงตัวต่อความร้อนของผลิตภัณฑ์	เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณบีตาแคโรทีนในผลิตภัณฑ์ที่มีการพ่นแก๊สไนโตรเจน กับผลิตภัณฑ์ที่ไม่พ่นแก๊ส เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่ระดับเดียวกัน	กิจกรรมนี้ได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมจากที่เสนอในโครงร่างงานวิจัยเพื่อให้งานวิจัยสมบูรณ์ขึ้น	ทราบความแตกต่างของความคงตัวต่อความร้อนระหว่างผลิตภัณฑ์ที่พ่นแก๊สกับผลิตภัณฑ์ที่ไม่พ่นแก๊สไนโตรเจน
--	---	---	---

4) งานวิจัยสำหรับตีพิมพ์

ความคงตัวต่อความร้อนและอายุการเก็บรักษาของสีผสมอาหารผลิตจากแคโรทีนอยด์จากน้ำมัน ปาล์มดิบ

Thermal Stability and Shelf-life of Food Colorant Produced from Carotenoids from Crude Palm Oil

พัชรินทร์ ะวียัน¹

กฤติกา บุรณโชคไพศาล¹

Patcharin Raviyan¹

Kritika Buranachokpaisan¹

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการเติมสารต้านอนุมูลอิสระต่ออายุการเก็บรักษา และความคงตัวต่อความร้อนของสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ที่สกัดจากน้ำมันปาล์มดิบ ได้ทำการศึกษาในสีผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน และชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ที่เติม BHA, BHT หรือ TBHQ พบว่าสีที่เก็บรักษาในขวดสีชา ฟัน แก๊สไนโตรเจนที่ผิวหน้า ซึ่งเก็บที่ $30 \pm 5^{\circ}\text{C}$ และ $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ มีความคงตัวสูงตลอดช่วงเก็บรักษา โดยปริมาณบิตาแคโรทีนมีปริมาณลดลงน้อยกว่า 10% เมื่อเก็บนาน 180 วัน ($p > 0.05$) ค่า AV และ PV ของ สีผสมอาหารในรูปน้ำมันมีค่าไม่แตกต่างจากค่าเริ่มต้น ($p > 0.05$) และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราของสีผสมอาหารในรูปอิมัลชันมีปริมาณลดลงจากเริ่มต้น การเติม BHT จะช่วยให้บิตาแคโรทีนในสีผสมอาหารทั้งสองชนิดมีความคงตัวต่อความร้อนดีที่สุด โดยค่า z ของบิตาแคโรทีนในสีผสมอาหารที่อยู่ในรูปน้ำมัน เท่ากับ $32.36-51.02^{\circ}\text{C}$ ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ $140-160^{\circ}\text{C}$ และค่า z ของบิตาแคโรทีนในสีผสมอาหารที่อยู่ในรูปอิมัลชัน เท่ากับ $20.66-25.64^{\circ}\text{C}$ ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ $90-100^{\circ}\text{C}$

คำสำคัญ: แคโรทีนอยด์ สารต้านอนุมูลอิสระ ความคงตัวต่อความร้อน สีผสมอาหาร อายุการเก็บรักษา

Key Words : Carotenoids, Antioxidant agents, Thermal stability, Food colorant, Shelf-life

P. Raviyan:p.charin@chiangmai.ac.th

คำนำ

แคโรทีนอยด์เป็นสารธรรมชาติให้สีในผลิตภัณฑ์อาหารคน อาหารสัตว์ และเครื่องสำอาง ซึ่งจะให้สีเหลือง ส้ม และแดงกับผลิตภัณฑ์ (Palace *et al.*, 1999) ซึ่งแคโรทีนอยด์นี้เป็นสีผสมอาหารที่ได้รับอนุญาตจาก FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA, 2005) ให้ใช้ได้ในอาหารหลาย

¹ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 155 หมู่ 2 แม่เหียะ อ.เมือง เชียงใหม่ 50100

ชนิด เช่น เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์จากนม เนยเทียม ผลิตภัณฑ์จากผลไม้ ลูกอม ขนมอบ ผลิตภัณฑ์จากเนื้อ ผลิตภัณฑ์จากไข่ และซูป เป็นต้น พบว่าในน้ำมันปาล์มดิบมีแคโรทีนอยด์อยู่ 700-800 ppm (Yap *et al.*, 1997) แต่จะถูกกำจัดออกไปในกระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มบริโภค เพื่อให้ได้น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ที่มีสีเหลืองใส (Sundram *et al.*, 2003)

จากโครงการการสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ ด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิต่ำเพื่อใช้เป็นสีผสมอาหาร (พัชรินทร์ และคณะ, 2548) ได้สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน และชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ซึ่งเมื่อเก็บรักษาที่ 30°C สีผสมอาหารอาหารชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันมีปริมาณบิตาแคโรทีนลดลง 10% ต่อเดือน ส่วนชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชันมีปริมาณบิตาแคโรทีนลดลง 33% ในเดือนแรก และเกิดการแยกชั้นระหว่างส่วนที่เป็นน้ำกับส่วนที่เป็นน้ำมัน นอกจากนี้ยังพบการเจริญของเชื้อราที่บริเวณผิวหน้าอีกด้วย ทั้งนี้โดยทั่วไปสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน มักมีอายุการเก็บรักษาอยู่ระหว่าง 24-36 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง ส่วนชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน มักมีอายุการเก็บรักษาอยู่ระหว่าง 10-12 เดือน ที่อุณหภูมิ 10-15°C (BASF Corp., 2005; Allied Biotech Corp., 2006) ซึ่งอายุการเก็บรักษาเป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่งที่ผู้บริโภคคำนึงถึงในการเลือกใช้สีผสมอาหาร ดังนั้นจึงควรทำการพัฒนาสูตรการผลิตของสีผสมอาหารทั้งสองชนิด การเติมสารต้านอนุมูลอิสระอาจช่วยลดการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ได้ ดังนั้นการศึกษานี้จึงได้ทำการศึกษาผลของการเติมสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ชนิดต่างๆ ต่ออายุการเก็บรักษาของสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ ทั้งชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันและชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน และผลของสารกันเชื้อราต่ออายุการเก็บรักษาของสีผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน รวมทั้งยังได้ศึกษาความคงตัวของสีผสมอาหารที่อุณหภูมิระดับต่างๆ ที่ใช้ในการแปรรูปอาหาร เพื่อเป็นประโยชน์สำหรับผู้ประกอบการในการนำไปปรับใช้ในอุตสาหกรรม การผลิตและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัตถุดิบ

นำน้ำมันปาล์มดิบจากบริษัท ชุมพรอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม จำกัด (มหาชน) มาสกัดด้วยเครื่องสกัด แคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิต่ำ ตามวิธีการสกัดของพัชรินทร์ และคณะ (2548)

2. การเตรียมตัวอย่าง

นำแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้มาเตรียมตัวอย่างสีผสมอาหารที่อยู่ในรูปของน้ำมัน โดยใช้น้ำมันดอกทานตะวันเป็นตัวทำละลาย เติมสารต้านอนุมูลอิสระ BHA, BHT หรือ TBHQ 0.02% ส่วนตัวอย่างที่อยู่ในรูปอิมัลชันจะเตรียมตามวิธีของ Kiokias and Gordon (2003)

3. การทดสอบผลของสารต้านอนุมูลอิสระต่ออายุการเก็บรักษาของสัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์

สัผสมอาหารที่อยู่ในรูปน้ำมัน จะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30 \pm 5^{\circ}\text{C}$ และเปรียบเทียบผลของตัวอย่างชุดที่เติม BHA, BHT, TBHQ กับชุดควบคุมที่ไม่เติมสารต้านอนุมูลอิสระ สำหรับสัผสมอาหารที่อยู่ในรูปอิมัลชัน จะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ และเปรียบเทียบผลของตัวอย่างชุดที่เติม BHA, BHT, TBHQ ทั้งกลุ่มที่เติม สารกันเชื้อรา (โพแทสเซียมซอร์เบต 0.1%) และกลุ่มที่ไม่เติมสารกันเชื้อรา กับชุดควบคุม โดยตัวอย่างสัผสมอาหารจะบรรจุในขวดสีชาทึบแสง ฟันแก๊สในโตรเจนที่ผิวหน้าก่อนปิดฝาให้สนิท เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 180 วัน และสุ่มตัวอย่างทุกๆ 20 วัน เพื่อตรวจวัดปริมาณบิตาแคโรทีนด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี (AOAC, 2002) ตรวจวัดค่า AV และ PV ของตัวอย่างที่อยู่ในรูปน้ำมัน ตามวิธีมาตรฐาน และตรวจหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียและ ยีสต์-รา ของตัวอย่างที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ตามวิธีมาตรฐาน ทำการทดลองเป็นจำนวน 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ข้อมูลด้วย ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

4. การทดสอบความคงตัวต่อความร้อนของสัผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์

นำตัวอย่างสี 1 ml บรรจุลงในขวดสีชาทึบแสงขนาด 1X3 cm ปิดฝาแล้วนำไปให้ความร้อนที่ 140, 145, 150, 155 และ 160°C สำหรับสัผสมอาหารที่อยู่ในรูปน้ำมัน และที่อุณหภูมิ 90.0, 92.5, 95.0, 97.5 และ 100.0°C สำหรับสัผสมอาหารที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ทำการเก็บตัวอย่างที่ระยะเวลาต่างๆ จนกระทั่งปริมาณบิตาแคโรทีนลดลงมากกว่า 80% วัดปริมาณบิตาแคโรทีนด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี (AOAC, 2002) โดยทำการทดลองเป็นจำนวน 3 ซ้ำ นำผลมาหาค่า D และ z

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางจลนพลศาสตร์

ประยุกต์จากวิธีของ Dhuique-Mayer *et al.* (2007) โดยพบว่าถ้าการสลายตัวของบิตาแคโรทีนมีลักษณะเป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง จะมีสมการความสัมพันธ์ดังนี้

$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = -kt \quad (1)$$

โดยที่ C_0, C เป็นค่าความเข้มข้นของบิตาแคโรทีนเริ่มต้น และที่เวลา t ใดๆ ตามลำดับ (ppm)

k เป็นค่าคงที่อัตราที่อุณหภูมิหนึ่ง (ต่อชั่วโมง)

จากสมการ (1) เมื่อสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(C/C_0)$ กับเวลา จะได้กราฟเส้นตรงที่มีค่าความชันเท่ากับ $-k$ ที่อุณหภูมิหนึ่ง จากค่า k ที่ได้สามารถนำไปคำนวณหาค่า D (Decimal reduction time) ได้จาก $D = 2.303/k$ และหาค่าพลังงานก่อกัมมันต์ (E_a) ได้จากสมการอาร์เรเนียส

$$k = k_0 e^{-\left(\frac{E_a}{RT}\right)} \quad (2)$$

จากสมการ (2) เมื่อสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln k$ กับ $1/T$ จะได้กราฟเส้นตรงที่มีค่าความชันเท่ากับ $-E_a/R$ ($R = 8.314 \text{ J/mol K}$)

จากสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า D และ ค่า z ที่อุณหภูมิใดๆ

$$D = D_0 10^{-\left(\frac{T}{z}\right)} \quad (3)$$

ซึ่งเมื่อสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log D$ กับอุณหภูมิ จะได้กราฟเส้นตรงที่มีค่าความชันเท่ากับ $-1/z$

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของสารต้านอนุมูลอิสระต่ออายุการเก็บรักษาของสปีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์

สปีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมันมีความเข้มข้นของบีตาแคโรทีนอยู่ในช่วง 1,360-1,397 ppm ค่า AV และ PV อยู่ระหว่าง 0.64-0.68 mgKOH/g และ 6.20-7.02 mEq/kg ตามลำดับ ซึ่งไม่เกินมาตรฐานของน้ำมันบริโภค (นิธิยา, 2548) เมื่อทำการเก็บรักษา $30 \pm 5^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 180 วัน พบว่าปริมาณบีตาแคโรทีนในสปีผสมอาหารที่มีการเติมสารต้านอนุมูลอิสระทั้งสามชนิด และชุดควบคุม มีการเปลี่ยนแปลงไม่แตกต่างจากปริมาณบีตาแคโรทีนเริ่มต้นที่ตรวจวัดได้ ($p > 0.5$) (Figure 1) ค่า AV และ PV ของสปีผสมอาหารก็มีแนวโน้มค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บ 180 วันเช่นเดียวกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในการบรรจุขวดได้มีการฟ้นแก๊สในโตรเจนที่ผิวหน้าก่อนทำการปิดฝา ซึ่งเป็นการกำจัดออกซิเจนออกไป และป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของบีตาแคโรทีน นอกจากนี้ขวดที่ใช้บรรจุซึ่งเป็นขวดสีชาทึบแสง และการเก็บรักษาในตู้บ่มที่มีมืด ยังช่วยป้องกันการสลายตัวของบีตาแคโรทีนเนื่องจากแสงได้ด้วย

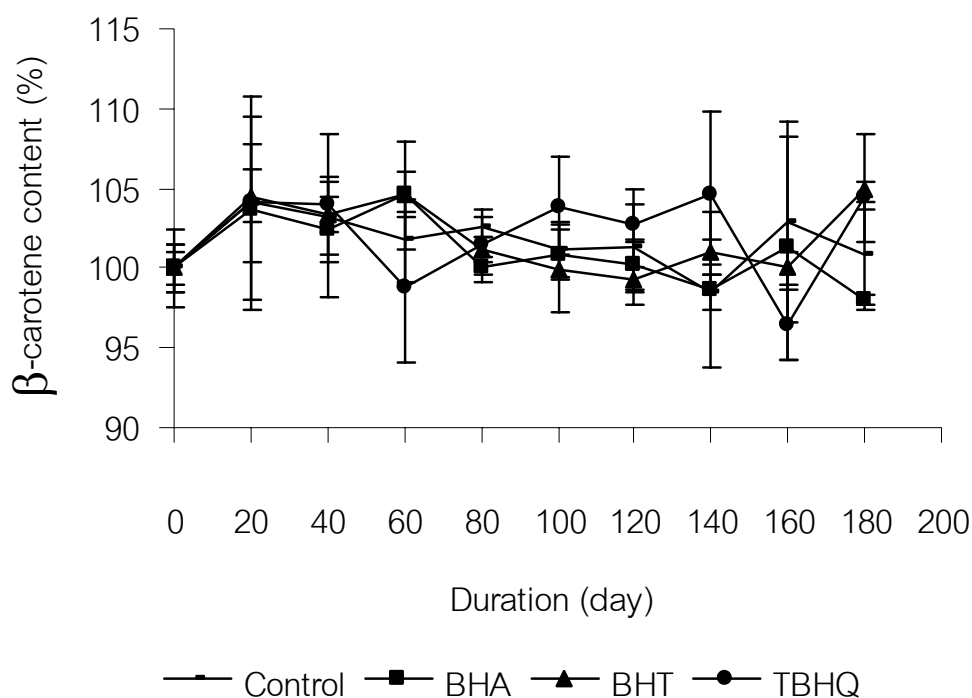


Figure 1 β -carotene retention in oil dispersion food colorant produced from carotenoids at $30\pm 5^{\circ}\text{C}$

สำหรับสีผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน พบว่าตัวอย่างมีความเข้มข้นบีตาแคโรทีนอยู่ในช่วง 1,173-1,408 ppm ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และยีสต์-รา พบน้อยกว่า 250 และ 100 colony/ml ตามลำดับ เมื่อทำการเก็บรักษาสีผสมอาหารที่อุณหภูมิ $5\pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นระยะเวลา 180 วัน พบว่าได้ผลเช่นเดียวกันกับสีผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน นั่นคือการเปลี่ยนแปลงปริมาณบีตาแคโรทีนในสีผสมอาหารทุกชุดทดลองไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p>0.5$) ดังภาพ 2 ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงไปน้อยกว่า 10% ผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Vásquez-Caicedo *et al.* (2007) อย่างไรก็ตามในการใช้งานจริงอาจเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ระหว่างใช้งานได้ จึงอาจจำเป็นต้องเติมสารกันเชื้อราในสีผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน

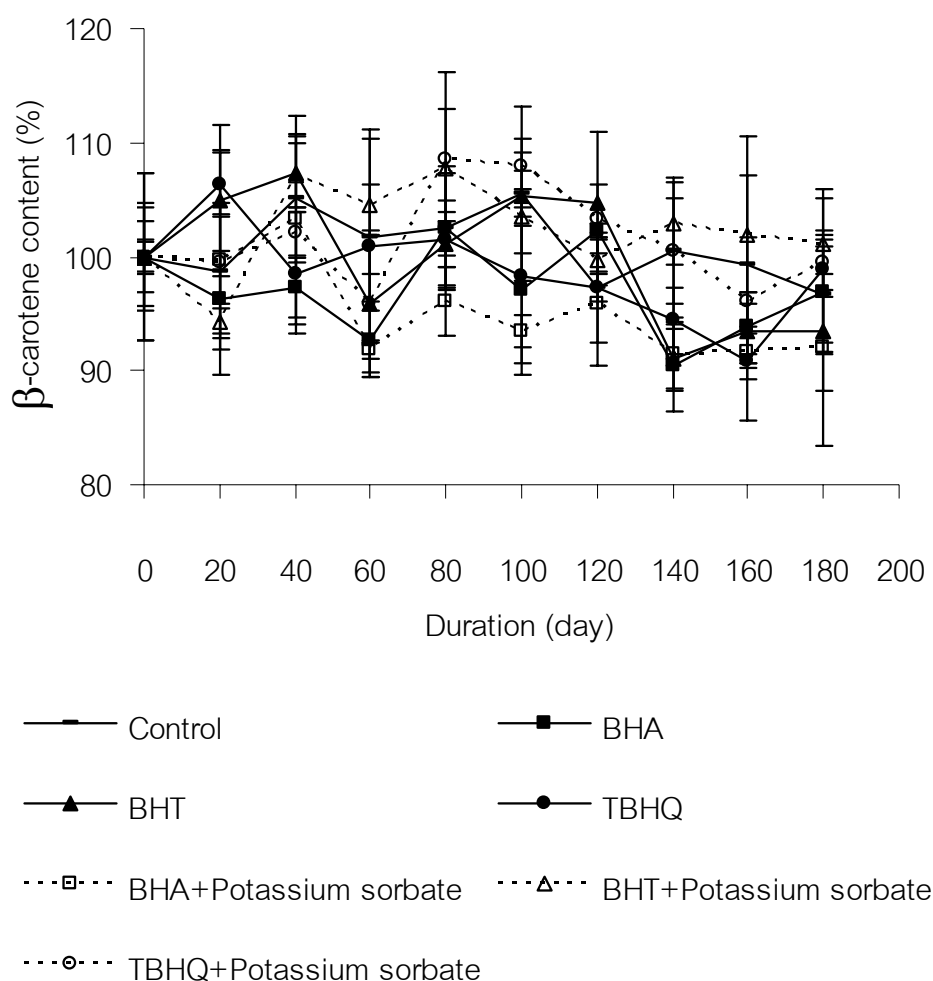


Figure 2 β -carotene retention of food colorant produced from carotenoids emulsion at $5\pm 2^\circ\text{C}$

2. การทดสอบความคงตัวต่อความร้อนของสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์

การศึกษาความคงตัวต่อความร้อนของสีผสมอาหารที่อยู่ในรูปน้ำมันที่ $140-160^\circ\text{C}$ พบว่าการสลายตัวของบีตาแคโรทีนเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เมื่อสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(C/C_0)$ กับเวลา (Figure 3A) ได้กราฟเส้นตรงที่มีค่าความชันเท่ากับ $-k$ โดยทุกชุดทดลองจะได้กราฟในลักษณะคล้ายคลึงกัน และสามารถคำนวณค่า D ได้ดังตาราง 1 ($R^2 > 0.83$) ซึ่งค่า D นั้นหมายถึงระยะเวลาที่ความเข้มข้นของบีตาแคโรทีนลดลง 90% (Vikram *et al.*, 2005) นั่นคือตัวอย่างที่มีค่า D สูงการสลายตัวของบีตาแคโรทีนจะใช้เวลานาน หรือมีความคงตัวสูงกว่าตัวอย่างที่มีค่า D ต่ำ พบว่าค่า D ก็มีแนวโน้มลดลงตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น แสดงว่าการสลายตัวของบีตาแคโรทีนจะเกิดเร็วขึ้น เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น

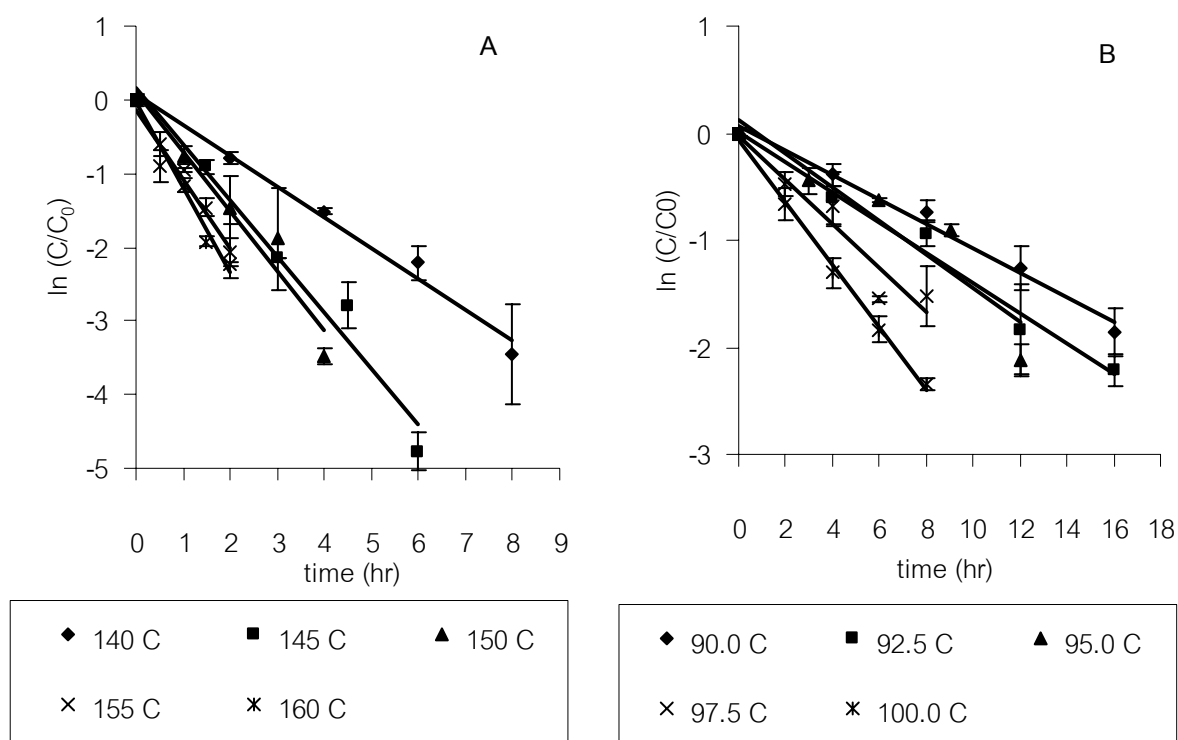


Figure 3 Thermal degradation kinetics of β -carotene in control sample of oil dispersion colorant (A) and in control sample of carotenoids emulsion (B)

จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $1/T$ กับ $\ln k$ และ $\log D$ กับอุณหภูมิ สามารถคำนวณหา E_a และค่า z ได้ 67.40-105.94 kJ/mol และ 32-51°C ตามลำดับ ($0.87 < R^2 < 0.98$) ดังตาราง 1 ซึ่งค่า E_a และค่า z แสดงถึงความไวต่ออุณหภูมิของปฏิกิริยาในตัวอย่าง (รุ่งนภา, 2540) โดยตัวอย่างที่มีค่า E_a ต่ำ หรือค่า z สูง จะไวต่ออุณหภูมิมากกว่าตัวอย่างที่มีค่า E_a สูง หรือค่า z ต่ำ พบว่าสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่เติม BHT จะมีค่า E_a มากที่สุด และค่า z ต่ำที่สุด ส่วนขูดควบคุมจะมีค่า E_a น้อยที่สุด และค่า z สูงที่สุด ดังนั้นสีผสมอาหารชนิดที่เติม BHT จึงมีความคงตัวของปฏิกิริยาแคโรทีนมากที่สุด เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไป รองลงมาคือ ชนิดที่เติม TBHQ ชนิดที่เติม BHA และขูดควบคุมมีความคงตัวของปฏิกิริยาแคโรทีนต่ำที่สุด

การศึกษาความคงตัวของสีผสมอาหารชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ที่ระดับอุณหภูมิ 90-100°C พบว่าการสลายตัวของปฏิกิริยาแคโรทีนในสีผสมอาหารเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (Figure 3B) โดยสีผสมอาหารชนิดที่เติม BHT มีความคงตัวของปฏิกิริยาแคโรทีนมากที่สุด เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไป รองลงมาคือ ชนิดที่เติม TBHQ ชนิดที่เติม BHA และขูดควบคุมมีความคงตัวของปฏิกิริยาแคโรทีนต่ำที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับ Nenadis *et al.* (2003)

Table 1 Thermal degradation kinetic constants of β -carotene in carotenoids colorants

Treatment	Oil Dispersion carotenoids				Carotenoids emulsion			
	Temp. (°C)	D (hr)	E _a (kJ/mol)	z (°C)	Temp. (°C)	D (hr)	E _a (kJ/mol)	z (°C)
Control	140	5.5311	67.40	51.02	90.0	20.0924	101.07	25.64
	145	3.0198			92.5	16.2612		
	150	2.8536			95.0	14.6568		
	155	2.4598			97.5	11.1939		
	160	1.9826			100.0	7.8775		
BHA	140	7.2046	87.36	39.22	90.0	49.6247	116.20	22.32
	145	4.5069			92.5	37.8093		
	150	3.7204			95.0	29.5962		
	155	2.6360			97.5	25.9885		
	160	2.1755			100.0	16.4706		
BHT	140	8.4530	105.94	32.36	90.0	38.5693	125.48	20.66
	145	4.8272			92.5	27.9101		
	150	4.1154			95.0	27.6421		
	155	2.2325			97.5	15.4952		
	160	2.1022			100.0	12.8492		
TBHQ	140	12.4129	93.51	36.63	90.0	50.1653	116.68	22.27
	145	5.6174			92.5	27.5759		
	150	5.8710			95.0	30.0599		
	155	4.3993			97.5	19.6299		
	160	2.9221			100.0	16.3073		

คำนิยม

ขอขอบคุณ สำนักงานสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่กรุณาสับสนุนเงินทุนในการทำวิจัย และ บริษัท ชุมพรอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม จำกัด (มหาชน) ที่เอื้อเฟื้อน้ำมันปาล์มดิบที่ใช้เป็นวัตถุดิบในงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- นิธิยา รัตนานนท์. 2548. วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- พัชรินทร์ ระวีชัย, สรศักดิ์ เหลี้ยวไชยพันธุ์, ดวงสมร ลิ้มปิติ และประมวล ศรีกาหลง. 2548. รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการการสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิต่ำเพื่อใช้เป็นสีผสมอาหาร. สำนักงานสนับสนุนการวิจัย.
- Allied Biotech Corporation. 2006. *Altratene® Products*. [Online]. Available <http://www.altratene.com/products.htm> (25 June 2006).
- AOAC. 2002. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists Inc., Washington, DC.
- BASF Corporation. 2005. *Human Nutrition, Products: Carotenoids*. [Online]. Available http://www.basf.com/humannutrition/products_carot.html (25 June 2006).
- Dhuique-Mayer, C., Tbatou, M., Carail, M., Caris-Veyrat, C., Dornier, M., and Amiot, M.J. 2007. Thermal degradation of antioxidant micronutrients in *Citrus* juice: Kinetics and newly formed compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 55 : 4209-4216.
- FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). 2005. *General standard for food additives*. Codex Stan 192-1995, Rev. 6.
- Kiokias, S. and Gordon, M.H. 2003. Antioxidant properties of annatto carotenoids. *Food Chem.*, 83 : 523-529.
- Nenadis, N., Zafropoulou, I., and Tsimidou, M. 2003. Commonly used food antioxidants: a comparative study in dispersed systems. *Food Chem.*, 82 : 403-407.
- Palace, V.P., Khaper, N., Qin, Q., and Singal, P.K. 1999. Antioxidant Potential of Vitamin A and Carotenoids and their Relevance to Heart Disease. *Free Rad. Biol. Med.*, 26 (5/6) : 746-761.
- Rodriguez-Amaya, D.B. 1999. Changes in carotenoids during processing and storage of foods. *Arch. Latinoam. Nutri.*, 49 : 38S-47S.
- Sundram, K., Sambanthamurthi, R., and Tan, Y.A. 2003. Palm fruit chemistry and nutrition. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.*, 12 (3) : 355-362.
- Vásquez-Caicedo, A.L., Schiling, S., Carle, R., and Neidhart, S. 2007. Impact of packaging and storage conditions on colour and β -carotene retention of pasteurized mango purée. *Eur. Food Res. Technol.*, 224 : 581-590.

- Vikram, V.B., Ramesh, M.N., and Prapulla, S.G. 2005. Thermal degradation kinetics of nutrients in orange juice heated by electromagnetic and conventional methods. *J. Food Eng.*, 69 : 31-40.
- Yap, S.C., Choo, Y.M., Ooi, Y.M., Ong, A.S.H., and Goh, S.H. 1991. Quantitative analysis of carotenes in the oil from different palm species. *Elaeis.*, 3 : 369-378