บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

สีเป็นคุณลักษณะของอาหารที่มีความสำคัญมากอย่างหนึ่ง อาจถือได้ว่าเป็นคุณลักษณะอันดับแรกที่มีผลต่อความรู้สึกของผู้บริโภคในการเลือกซื้ออาหาร โดยช่วยให้เกิดความรู้สึกอยากรับประทาน และเป็นปัจจัยเบื้องต้นที่มีผลต่อการยอมรับหรือปฏิเสธอาหารก่อนที่จะรู้ถึงรสชาติและเนื้อสัมผัสของอาหารนั้น สีตามธรรมชาติของอาหารอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงหรือสูญเสียได้เนื่องจากกระบวนการแปรรูปหรือการเก็บรักษา เช่น มีสีซีดจาง สีคล้ำ หรือไม่มีสี ทำให้อาหารไม่น่าบริโภคจึงมีการแต่งสีอาหารเพื่อทดแทนและปรุงแต่งสีธรรมชาติที่ถูกทำลายเป็นการเพิ่มการยอมรับของผู้บริโภค

สีผสมอาหารที่อนุญาตให้ใช้ในอาหารมี 3 ชนิด คือ สีอินทรีย์สังเคราะห์ สีอนินทรีย์ และสีจากธรรมชาติ สีสังเคราะห์เป็นที่นิยมใช้กันมากที่สุด เพราะมีความคงตัวสูง ราคาถูก หาง่าย ใช้สะดวก สีสดสวย และมีหลากสีให้เลือกใช้ แต่ถ้าใช้ไม่ถูกต้องก็อาจเกิดอันตรายได้ เช่น เกิดผื่นที่ผิวหนัง หน้าบวม อาเจียน ท้องเดิน มีอาการชาคล้ายอัมพาต มะเร็งต่อมน้ำเหลือง และอาจถึงตายได้ (อุดม กาญจนปกรณ์ชัย และธีรวรรณ รางแดง, 2524) ในขณะที่สีจากธรรมชาติมีความปลอดภัย และมีคุณค่าทางอาหารสูงกว่าสีสังเคราะห์ (Clement, 1975 อ้างโดย กิตติ โพธิปัทมะ และคณะ, 2539) แต่เนื่องจากมีข้อจำกัดเรื่องความคงตัว และความเข้มข้นของสีที่ใช้ในอาหาร จึงไม่ค่อยเป็นที่นิยมใช้ อย่างไรก็ดีสีจากธรรมชาติบางชนิดสามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ เช่น แคโรทีนอยด์ (carotenoids) ซึ่งเป็นรงควัตถุสีส้มพบได้ทั่วไปในธรรมชาติทั้งพืชและสัตว์ เช่น แครอท มะเขือเทศ ไข่แดง (Astorg, 1997) รวมทั้งในน้ำมันปาล์มดิบ (Choo, 2000) ซึ่งสกัดได้จากผลปาล์มน้ำมัน การใช้ประโยชน์สารแคโรทีนอยด์สามารถใช้เป็นสารให้สี (colorants) ในการปรุงแต่งสีอาหาร เช่น มาการีน เนยแข็ง ไอศกรีม เครื่องดื่ม น้ำมันพืช น้ำสลัด ผลิตภัณฑ์ขนมอบ และไข่ผง เป็นต้น

(ศิวาพร ศิวเวชช, 2529) องค์ประกอบที่สำคัญของแคโรทีนอยด์ได้แก่ เบตาแคโรทีน (β-carotene) ซึ่งเป็นสารต้นกำเนิดของไวตามินเอ (provitamin A) จึงใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อป้องกัน และรักษาโรคขาดไวตามินเอได้ นอกจากนี้ยังใช้ทางเภสัชกรรมโดยใช้ทำยารักษาโรคผิวหนังที่เกิดจากการแพ้แสงแดด ทั้งยังป้องกันและลดการเกิดมะเร็งที่ผิวหนังมนุษย์ได้ (Seshadri *et al.*, 1991 อ้างโดย กิตติ โพธิปัทมะ และคณะ, 2539) สารแคโรทีนอยด์ส่วนใหญ่ในน้ำมันปาล์มดิบจะสูญเสียไปในกระบวนการฟอกสี และสลายได้เนื่องจากความร้อนในกระบวนการกลั่นใสน้ำมันปาล์ม (สุมาลัย ศรีกำไลทอง และคณะ, 2532) ทำให้เกิดการสูญเสียแหล่งแคโรทีนอยด์จากธรรมชาติแหล่งหนึ่งอย่างเปล่าประโยชน์ จึงน่าสนใจที่จะหาทางนำแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบมาใช้ประโยชน์โดยเริ่มต้นศึกษาถึงวิธีการแยก สมบัติและความคงตัวของแคโรทีนอยด์ที่แยกได้

ตรวจเอกสาร

1. แคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นกลุ่มสีธรรมชาติที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร เป็นรงควัตถุที่ให้สีเหลือง สีส้ม และสีแดง แคโรทีนอยด์เป็นสารที่ไม่เกิดสปอนนิไฟด์ (non-saponificable lipids) และจัดว่าเป็นสารประกอบเทอร์ปีนอยด์ (terpenoids) ที่สามารถสังเคราะห์ได้โดยแบคทีเรีย รา สาหร่าย และพืช แต่สัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์ได้ ดังนั้นต้องได้รับแคโรทีนอยด์จากอาหารเท่านั้น (Astorg, 1997) และเก็บสะสมแคโรทีนอยด์ไว้ในเนื้อเยื่อได้ เช่น สีแดงของไข่แดงในไข่ไก่ เป็นต้น (Belitz and Grosch, 1999)

1.1 แหล่งของแคโรทีนอยด์

1.1.1 พืช

แคโรทีนอยด์ที่พบในธรรมชาติมีมากกว่า 600 ชนิด โดยแคโรทีนอยด์ส่วนใหญ่ (>100 ชนิด) พบในผักและผลไม้ ซึ่งสีของแคโรทีนอยด์จัดได้ว่าพบมากในอาหารที่ได้จากพืช (ศศิเกษม ทองยงค์ และ พรรณี เดชกำแหง, 2530) แคโรทีนอยด์ที่มีมากที่สุด คือ ฟิวโคแซนธิน (fucoxanthin) ในสาหร่ายหลายชนิด และแคโรทีนอยด์หลักในพืชเกือบทุกชนิด ประกอบด้วยลูทีน (lutein) ไวโอลาแซนธิน (violaxanthin) และนีโอแซนธิน (neoxanthin) แคโรทีนอยด์อื่นๆที่มีปริมาณน้อยแต่เกิดอยู่ทั่วไป คือ เบตาแคโรทีน และซีแซนธิน (zeaxanthin) (Hendry and Houghton, 1996) โดยพบแคโรทีนอยด์ในผักและผลไม้หลายชนิด เช่น แครอท 54 มิลลิกรัมต่อลิตร มะเขือเทศ 51 มิลลิกรัมต่อลิตร แอปปริคอท 35 มิลลิกรัมต่อลิตร ลูกท้อ 27 มิลลิกรัมต่อลิตร ผักโขม 26-76 มิลลิกรัมต่อลิตร แอปเปิล 0.9-5.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และเลมอน 2-3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นต้น แคโรทีนอยด์ในพืชสีเขียวอยู่ในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) ซึ่งมีคลอโรฟิลล์อยู่ด้วย ซึ่งสีของคลอโรฟิลล์จะปิดบังสีของแคโรทีนอยด์จนมองไม่เห็น ส่วนสีเหลืองของฟักทอง และแครอทเกิดจากแคโรทีนอยด์ที่อยู่ในโครโมพลาสต์ (chromoplast) แต่ในพืชบางชนิดสีของแคโรทีนอยด์จะสามารถแสดงออกได้เมื่อพืชนั้นสุก โดยระหว่างกระบวนการสุกจะมีการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณ

ของแคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้น ขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดน้อยลง เช่น มะเขือเทศ พริกไทยสีเขียวจะเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่อสุก (DeMan, 1990 ; Belitz and Grosch, 1999) สาหร่ายบางชนิดสามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้ เช่น สาหร่ายสไปรูลินา (*Spirulina sp.*) ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชนิดหนึ่ง โดยสามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงสุด 2.0 มิลลิกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์ แต่ทั้งนี้ประสิทธิภาพในการผลิตแคโรทีนอยด์ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ และวิธีการเพาะเลี้ยง (กิตติ โพธิปัทมะ และคณะ, 2539) นอกจากนี้ยังพบแคโรทีนอยด์ได้ในน้ำมันจากพืชหลายชนิด ได้แก่ น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันมะกอก น้ำมันถั่วลิสง น้ำมันเรปซีด น้ำมันลินซีด น้ำมันบาร์เลย์ น้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน และน้ำมันเมล็ดฝ้าย แต่มีปริมาณแคโรทีนอยด์ต่ำ คือ น้อยกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (Ong and Tee, 1992) ในขณะที่น้ำมันปาล์มมีแคโรทีนอยด์ประมาณ 700 มิลลิกรัมต่อลิตร (Choo, 2000)

แคโรทีนอยด์สามารถอยู่ในรูปอิสระในเนื้อเยื่อของพืช เป็นผลึก หรือของแข็งอสัณฐาน หรือเป็นสารละลายในลิปิด (lipid) แคโรทีนอยด์ยังอาจเกิดเป็นเอสเทอร์ (ester) ของกรดไขมัน หรือรวมกับน้ำตาลและโปรตีน แคโรทีนอยด์ที่เกิดเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมัน เช่น ลูทีนในใบไม้อยู่ในรูปเอสเทอร์ โดยรวมอยู่กับกรดพาล์มิติก (palmitic acid) และกรดลิโนเลนิก (linolenic acid) หรือแคปแซนธิน (capsanthin) ในปาปริกาซึ่งอยู่เป็นเอสเทอร์ของกรดลอริก (lauric acid) เป็นต้น (รัชนี ตัณฑะพานิชกุล, 2541)

1.1.2 สัตว์

มีการพบแคโรทีนอยด์ในสัตว์บางชนิด โดยสีแดง สีส้ม และสีเหลืองของแคโรทีนอยด์จะปรากฏที่ผิวหนัง อวัยวะบางส่วน เนื้อ และขนของนก ไก่ แมลง และปลาบางชนิด เช่น ปลาแซลมอน ปลาเทราท์ เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบในสัตว์น้ำที่มีเปลือกหุ้ม (exoskeleton) ชนิดอื่นๆ เช่น กุ้ง ปู กุ้งก้ามกราม และในเซลล์ที่มีสีชมพูของมันกุ้ง เป็นต้น รวมทั้งในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ เช่น ไข่ (สีแดงของไข่แดง) นม เนย และชีส (Simpson *et al.*, 1985 ; Hendry and Houghton, 1996) ในน้ำนมมีแคโรทีนอยด์อยู่ในส่วนของไขมันนมประมาณ 2-13 ส่วนต่อล้านส่วน และแปรผันตามชนิดของอาหารที่วัวได้รับ (Schwartz and Von, 1996)

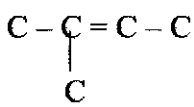
แคโรทีนอยด์สามารถรวมกับโปรตีนในสัตว์ ทำให้แคโรทีนอยด์เสถียรและสีเปลี่ยนไป เช่น แอสทาแซนธิน (astaxanthin) เมื่อเกิดปฏิกิริยาเชิงซ้อนกับโปรตีนจะให้สีฟ้าเทา หรือสีน้ำเงินเข้มในเปลือกกุ้งทะเลใหญ่ และปู (Fox and Vevers, 1960)

1.1.3 จุลินทรีย์

จุลินทรีย์บางชนิดมีระบบที่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้ เช่น *Laetiporus sulphureus* ซึ่งเป็นเชื้อราชนิดหนึ่ง โดยมีการสะสมแคโรทีนอยด์ไว้ที่ไมซีเลียม (mycelium) ในระหว่างการเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Mishyn and Zalashko, 2000)

1.2 โครงสร้างของแคโรทีนอยด์

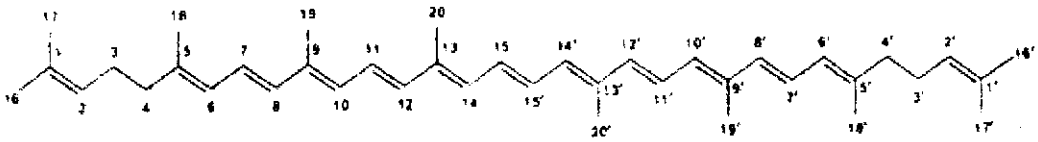
แคโรทีนอยด์จัดเป็นโพลีอีนไฮโดรคาร์บอน (polyene hydrocarbons) ที่ประกอบด้วยหมู่ไอโซพรีน (isoprene units) (รูปที่ 1) แคโรทีนอยด์เป็นจำนวนมากประกอบด้วยคาร์บอนอะตอม 40 ตัว หรือมีหมู่ไอโซพรีน 8 หมู่ (tetraterpenes) ต่อกันเป็นสายยาว (รูปที่ 2) ด้วยพันธะคู่ชนิดคอนจูเกต (conjugated double bonds) ซึ่งความยาวของสายโซ่คาร์บอนมีผลต่อความเข้มสีของแคโรทีนอยด์ เนื่องมาจากจำนวนพันธะคู่ชนิดคอนจูเกต โดยถ้าโมเลกุลมีจำนวนพันธะคู่ชนิดคอนจูเกตมากจะมีสีแดงเข้มขึ้น จำนวนพันธะคู่ในโมเลกุลแคโรทีนอยด์ที่น้อยที่สุด คือ 7 อัน ซึ่งให้สีเหลือง (Hendry and Houghton, 1996 ; Belitz and Grosch, 1999)



รูปที่ 1 โครงสร้างของหมู่ไอโซพรีน

Structure of an isoprene unit.

Source : Coultate (1989)



รูปที่ 2 โครงสร้างของแคโรทีนอยด์ (C_{40} - carotenoids)

Structure of carotenoids (C_{40} - carotenoids).

Source : Belitz and Grosch (1999)

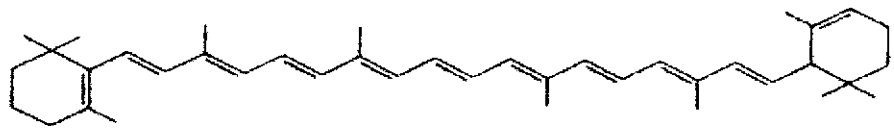
แคโรทีนอยด์แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1.2.1 แคโรทีน (carotenes)

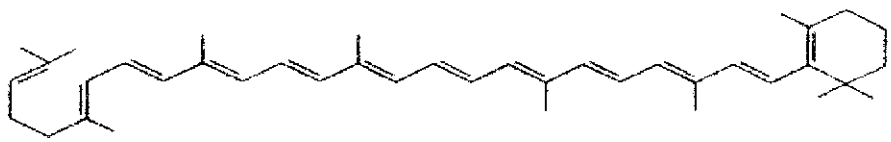
แคโรทีนเป็นรงควัตถุสีแดงส้ม มีสูตร $C_{40}H_{56}$ จัดเป็นโพลีอีนไฮโดรคาร์บอนบริสุทธิ์ (pure polyene hydrocarbons) โมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจนเท่านั้น ที่ปลายข้างใดข้างหนึ่ง หรือทั้งสองข้างมีอะตอมของคาร์บอนต่อกันเป็นวง เรียกว่า วงแหวนไอโอโนน (ionone ring) เช่น แอลฟาแคโรทีน (α-carotene) และเบตาแคโรทีน ซึ่งให้สีส้มในแครอท หรือ ไลโคปีน (lycopene) ซึ่งให้สีแดงในมะเขือเทศ เป็นต้น (Belitz and Grosch, 1999 ; Gross, 1987) (รูปที่ 3)

1.2.2 แซนโทฟิลล์ (xanthophylls)

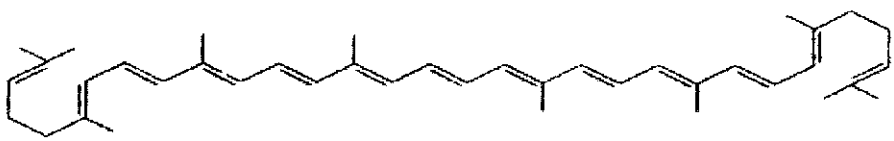
แซนโทฟิลล์ เป็นรงควัตถุสีเหลืองเข้ม หรือสีเหลืองแกมน้ำตาลพบในพืชทั่วไป และสาหร่ายทุกชนิด จัดเป็นออกซีแคโรทีนอยด์ (oxy carotenoids) คือ มีอนุพันธ์ของออกซิเจนเป็นองค์ประกอบในโมเลกุลอยู่ในรูปของ ไฮดรอกซี (hydroxy) อีพอกซี (epoxy) หรือหมู่ออกโซ (oxo groups) เช่น คริปโตแซนธิน (cryptoxanthin) ซึ่งเป็นรงควัตถุสำคัญในข้าวโพด ปาปริกา มะละกอ และส้มแมนดาริน ซีแซนธินในข้าวโพด ลูทีนในไข่แดง แคปแซนธินในพริกหยวก หรือบิกซิน (bixin) ในต้นชาด เป็นต้น (Belitz and Grosch, 1999 ; Gross, 1987) (รูปที่ 4)



α-Carotene (β,ε-carotene) (VI)



γ-Carotene (ψ,β-carotene) (V)

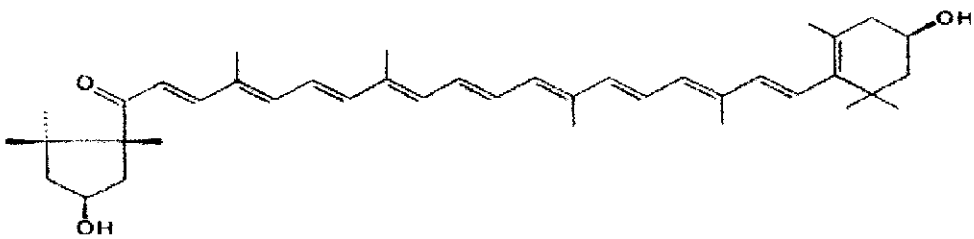


Lycopene (ψ,ψ-carotene) (IV)

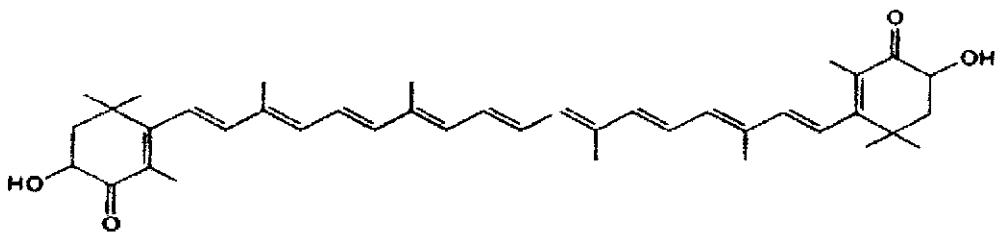
รูปที่ 3 โครงสร้างของแคโรทีนอยด์ในกลุ่มแคโรทีน

Structures of some carotene.

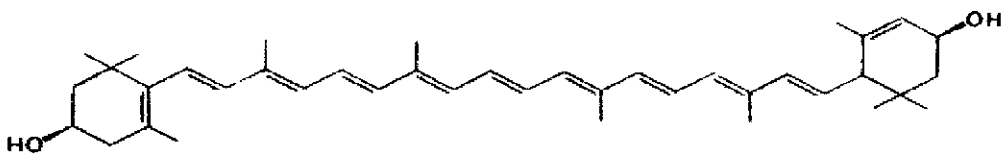
Source : Belitz and Grosch (1999)



Capsanthin (3,3′-dihydroxy-β,κ-carotene-6′-one) (X)



Astaxanthin (XI)



Lutein (β,ε-carotene-3,3′-diol (IX)

รูปที่ 4 โครงสร้างของแคโรทีนอยด์ในกลุ่มแซนโทฟิลล์

Structure of some xanthophyll.

Source : Belitz and Grosch (1999)

1.3 สมบัติบางประการของแคโรทีนอยด์

1.3.1 สมบัติทางกายภาพ

1.3.1.1 ความเป็นขั้ว

ความเป็นขั้วเกี่ยวข้องโดยตรงกับจำนวนพันธะคู่ในโครงสร้างทางเคมีของแคโรทีนอยด์ เช่น แซนโทฟิลล์มีหมู่ทำหน้าที่ (functional group) ที่มีความเป็นขั้ว โดยหมู่ทำหน้าที่จะมีความเป็นขั้วจากน้อย คือ โมโนอีพ็อกซี (monoepoxy) ซึ่งมีความเป็นขั้วน้อยที่สุดไปหาความเป็นขั้วมาก คือ ไฮดรอกซี ซึ่งมีความเป็นขั้วมากที่สุด ตัวอย่างเช่น แคโรทีนอยด์ที่พบในพืชตระกูลส้มเป็นแคโรทีนอยด์ที่มีความเป็นขั้วมาก เช่น โทรลลิแซนธิน (trollixanthin) และ โทรลลิโครม (trollichrom) (Gross, 1987)

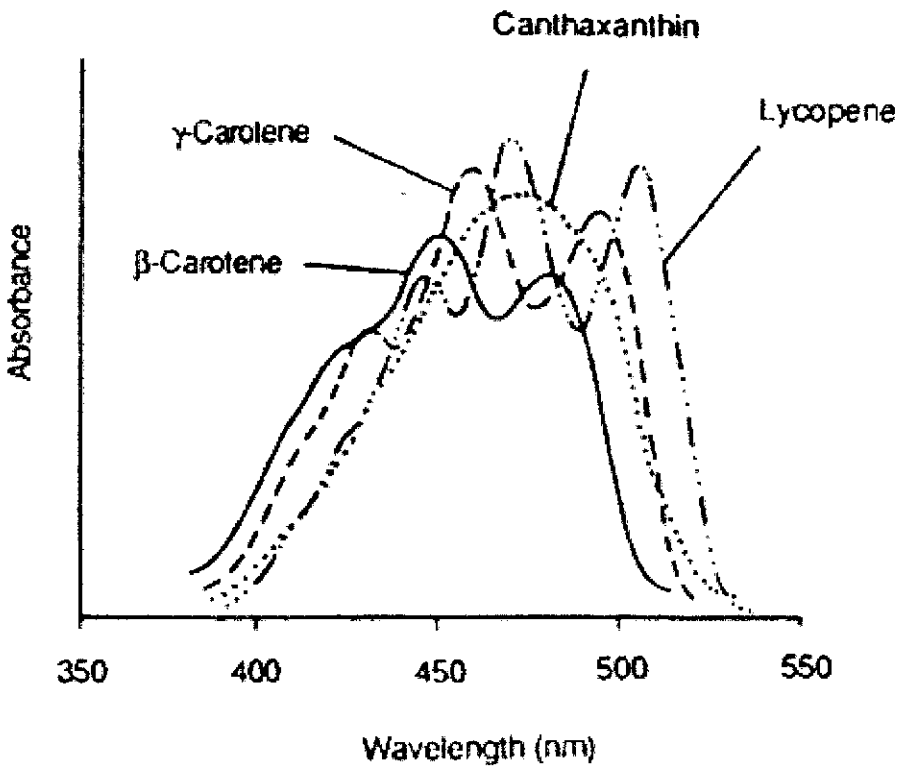
1.3.1.2 การละลาย

แคโรทีนอยด์เกือบทุกชนิดละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ไม่มีขั้ว เช่น เบนซิน คลอโรฟอร์ม ปิโตรเลียมอีเทอร์ ไดเอทิลอีเทอร์ และอะซิโตน รวมทั้งไขมันและน้ำมัน แต่ไม่ละลายน้ำ ดังนั้นจึงอาจเรียกแคโรทีนอยด์ว่าไลโปโครม (lipochrome pigments) (Belitz and Grosch, 1999) อย่างไรก็ดีมีแคโรทีนอยด์บางชนิดละลายน้ำได้ เช่น แอลฟาคอร์ซิน (α-corsin) ซึ่งพบในหญ้าฝรั่น (saffron) (Gross, 1987)

1.3.1.3 สมบัติทางสเปคโตรสโคปี (spectroscopy)

แคโรทีนอยด์มีสมบัติในการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลตและแสงที่มองเห็น ในช่วงความยาวคลื่นที่ 400-700 นาโนเมตร (Ritter and Purcell, 1981) โดยลักษณะการดูดกลืนแสงของแคโรทีนอยด์จะแสดงความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ที่แตกต่างกันชัดเจน 3 ตำแหน่ง หรือ 2 ตำแหน่ง (รูปที่ 5) ซึ่งค่าของความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดนั้น ขึ้นอยู่กับจำนวนพันธะคอนจูเกตในโครงสร้าง (ตารางที่ 1) (Belitz and Grosch, 1999) และชนิดของตัวทำละลาย (ตารางที่ 2) ซึ่งในการวิเคราะห์ส่วนใหญ่จะใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ หรือเฮกเซนกับแคโรทีนอยด์ และใช้เอทานอลกับแซนโทฟิลล์ ในขณะที่การใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายจะให้ค่าความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเปลี่ยนแปลงไป

ประมาณ 4 นาโนเมตร ส่วนคลอโรฟอร์ม หรือเบนซีน จะทำให้ค่าความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเปลี่ยนแปลงไปประมาณ 10-12 นาโนเมตร (Hendry and Houghton, 1996)



รูปที่ 5 การดูดกลืนแสงของแคโรทีนอยด์

Spectral characteristics of common carotenoids.

Source : Hendry and Houghton (1996)

ตารางที่ 1 ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของแคโรทีนอยด์บางชนิด

Absorption wavelength maxima for some carotenoids.

Compounds	Conjugated double bonds	Wavelength (nm) (in petroleum ether)		
Phytoene	3	275	285	296
Phytofluene	5	331	348	367
ξ-carotene	7	378	400	425
Neurosporene	9	416	440	470
Lycopene	11	446	472	505
γ-carotene	11	431	462	495
β-carotene	11	425	451	483

Source : Belitz and Grosch (1999)

ตารางที่ 2 ความยาวคลื่นแสงที่ดูดกลืนแสงได้มากที่สุดและสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงเฉพาะ ($A^{1\%}_{1cm}$) ของแคโรทีนอยด์บางชนิดในสภาวะการละลายด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

Light absorption maxima and specific absorption coefficients ($A^{1\%}_{1cm}$) of some carotenoids in different solvents.

Carotenoids	λ_{max} (nm)			Solvents[a]	$A^{1\%}_{1cm}$ [b]
Antheraxanthin	422	445	472	P	
	422	444	472	E	
Astaxanthin		468		P	
		480		A	
		485		C	
Capsanthin	450	475	505	P	
	460	483	518	B	2072
α-carotene	422	444	473	P	2800
	423	444	473	E	
	424	448	476	A	
	433	457	484	C	
β-carotene	425	449	476	P	2592
		450	476	E	2620
	(429)	452	478	A	
	435	461	485	C	2396
γ-carotene	437	462	494	P	3100
	440	460	489	E	
	439	461	491	A	
	446	475	509	C	

[a]solvents : P = light petroleum ; A = acetone ; C = chloroform ; E = ethanol ; B = benzene

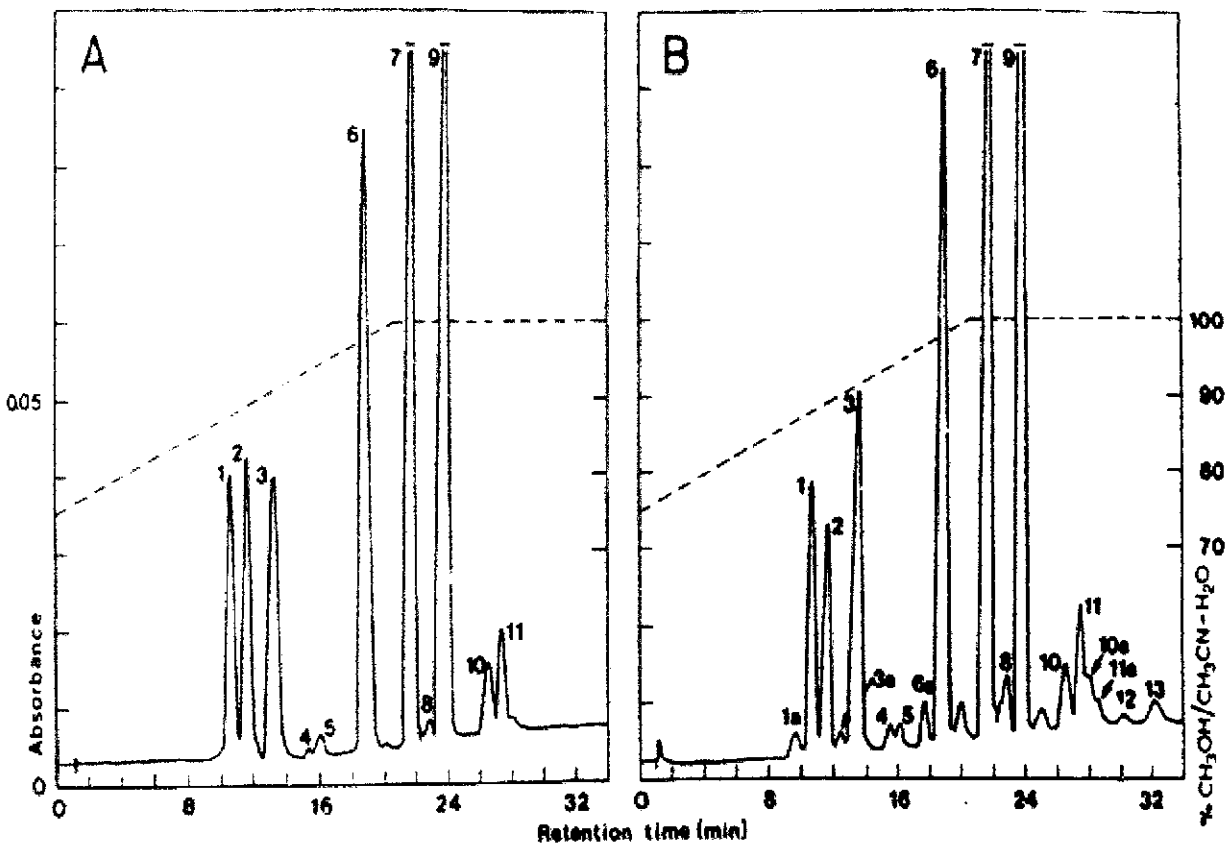
[b]The $A^{1\%}_{1cm}$ is the specific absorption coefficient that is, the absorbance of a solution of 1g of that carotenoid in 100 ml of solution.

Source : Hendry and Houghton (1996)

1.3.2 สมบัติทางเคมี

แคโรทีนอยด์มีความไวต่อแสงและออกซิเจนสูง จึงถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย เพราะมีความไม่อิ่มตัวในโครงสร้างทางเคมีสูง เนื่องจากมีพันธะคู่ชนิดคอนจูเกตเป็นจำนวนมาก โดยอัตราเร็วปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นกับแสง ความร้อน และการมีโปรออกซิแดนซ์ (pro-oxidants) จึงทำให้เกิดการสูญเสียความสามารถในการให้สี และมีการเปลี่ยนแปลงสภาพเกิดขึ้น ซึ่งเมื่อแยกปัจจัยเหล่านี้ออก แคโรทีนอยด์ในอาหารจะมีความคงตัวได้ที่อุณหภูมิสูง การเก็บแคโรทีนอยด์ในตัวทำละลายอินทรีย์จะเร่งให้เกิดการเสื่อมเสียของแคโรทีนอยด์เร็วขึ้น (Belitz and Grosch, 1999 ; Schwartz and Von, 1996)

แคโรทีนอยด์ในธรรมชาติมีไอโซเมอร์แบบทรานส์ทั้งหมดจับกันด้วยพันธะคู่ชนิดคอนจูเกต (all *trans*-double bond) ซึ่งจะเปลี่ยนเป็นไอโซเมอร์แบบซิส (*cis*-isomer) เมื่อถูกเหนี่ยวนำด้วยความร้อน ตัวทำละลายอินทรีย์ และกรด ซึ่งไอโซเมอร์แบบซิสที่เกิดขึ้นมีผลให้ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงได้สูงสุดของแคโรทีนอยด์เปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย และเป็นสาเหตุการสูญเสียของแคโรทีนอยด์ (Macrae, 1988) ไอโซเมอร์แบบซิสบางระดับจะปรากฏเด่นชัดในโครมาโตแกรมเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC (Philip and Chen, 1988) ดังแสดงในรูปที่ 6 โดยรูป A คือ ตัวอย่างสกัดที่ฉีดวิเคราะห์ทันทีหลังการเตรียมตัวอย่าง และรูป B คือ ตัวอย่างสกัดที่เตรียมไว้ 3 ชั่วโมงก่อนฉีดวิเคราะห์ ซึ่งได้โครมาโตแกรมต่างๆดังนี้ โครมาโตแกรม 1, นีโอแซนทิน (neoxanthin) ; 1a, ซิส-นีโอแซนทิน (*cis*-neoxanthin) ; 2, ไตรไฮดรอกซีแอลฟาแคโรทีน (trihydroxy-α-carotene) ; 3, ไวโอลาแซนทิน (violaxanthin) ; 3a, ซิส-ไวโอลาแซนทิน (*cis*-violaxanthin) ; 4, ลูทีน ; 5, แอนเทอราแซนทิน (antheraxanthin) ; 6, ลูทีน ; 6a, ซิส-ลูทีน (*cis*-lutein) ; 7, คลอโรฟิลล์บี (chlorophyll b) ; 8, คลอโรฟิลล์เอไอโซเมอร์ (chlorophyll a isomer) ; 9, คลอโรฟิลล์เอ (chlorophyll a) ; 10, แอลฟาแคโรทีน ; 10a, ซิส-แอลฟาแคโรทีน (*cis*-α-carotene) ; 11, เบตาแคโรทีน ; 11a, ซิส-เบตาแคโรทีน(*cis*-β-carotene) (Braumann and Grimme,1981 อ้างโดย Simpson *et al.*,1985)



รูปที่ 6 โครมาโตแกรมของแคโรทีนอยด์ที่สกัดจาก *C. fusca.*

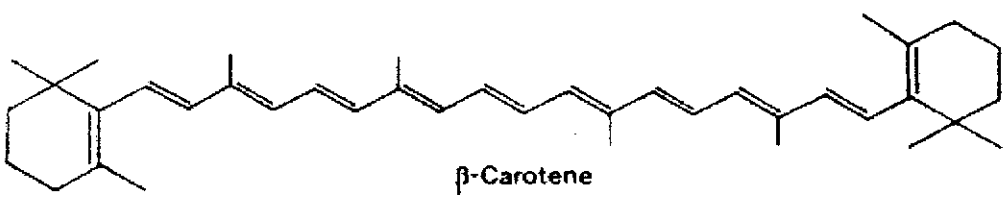
Chromatogram of a total pigment extract from *C. fusca.*

Source : Braumann and Grimme (1981 cite through Simpson *et al.*, 1985)

1.3.3 สมบัติทางชีววิทยา

แคโรทีนอยด์มีผลต่อพฤติกรรม การตอบสนองต่อแสง การหายใจ สุขภาพ และภูมิคุ้มกันโรคในมนุษย์ ตลอดจนเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ไวตามินเอ โดยเบตาแคโรทีน แอลฟาแคโรทีน เบตาคริปโตแซนทิน (β-cryptoxanthin) และแคโรทีนอยด์อื่นๆอีกมากกว่า 50 ชนิด สามารถเปลี่ยนรูปเป็นเรตินอล (retinol) ซึ่งเป็นรูปหนึ่งของไวตามินเอในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Parker, 1996 อ้างโดย Astorg, 1997) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเบตาแคโรทีน เนื่องจากส่วนที่สำคัญของแคโรทีนอยด์ที่จำเป็น

ต่อการเปลี่ยนเป็นไวตามินเอ คือ การมีวงแหวนไอโอโนนที่สมบูรณ์อย่างน้อย 1 วงในโมเลกุล ดังนั้นเบตาแคโรทีนซึ่งมีวงแหวนไอโอโนนที่สมบูรณ์ที่ปลายทั้งสองข้างของโมเลกุล (รูปที่ 7) จึงสามารถเปลี่ยนเป็นไวตามินเอได้ 2 โมเลกุล (Astorg, 1997 ; Braverman, 1963) แคโรทีนอยด์สามารถต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยมีคุณสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ (free radicals) และ หยุด singlet oxygen แคโรทีนอยด์ในรูปของแอสทาแซนทินสามารถช่วยลดความเป็นพิษภายในเซลล์ (Palozza and Krinsky, 1992) นอกจากนี้แอสทาแซนทินยังมีความสามารถในการจับออกซิเจนได้ดี จึงเป็นแหล่งออกซิเจนที่สำคัญภายในเซลล์ และสามารถช่วยให้เซลล์ และเนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตเป็นปกติในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ (Kurmaly and Latscha, 1993)



รูปที่ 7 โครงสร้างของเบตาแคโรทีน

Structure of β-carotene.

Source : DeMan (1999)

1.4 การใช้ประโยชน์จากแคโรทีนอยด์

1.4.1 สารให้สี (Colorants)

เป็นการใช้แคโรทีนอยด์เป็นสารให้สีปรุงแต่งอาหารซึ่งสามารถใช้ได้ทั้งอาหารที่มีและไม่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ ในระยะแรกได้จากการสกัดพืชต่างๆ เช่น เมล็ดคำแสด พริกหยวก แครอท ปัจจุบันได้มีการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ขึ้นมาทดแทนสารสกัดจากธรรมชาติเพื่อลดข้อจำกัดและผลิตเป็นการค้า ซึ่งมีข้อดี

ข้อด้อยของการใช้งานแตกต่างกันไปดังตารางที่ 3 (ศิวาพร ศิวเวชช, 2529) แคโรทีนอยด์ที่สำคัญที่นำมาเป็นสารให้สีหรือสีผสมอาหาร ได้แก่

1.4.1.1 เบตาแคโรทีน เป็นแคโรทีนอยด์ที่ใช้มากที่สุด ให้สีเหลืองกับอาหาร นิยมใช้ในอาหารที่มี และไม่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ เช่น เนยมาการีน เนยแข็ง ไอศกรีม มักกะโรนี น้ำมันพืช น้ำสลัด ไข่ผง ผลิตภัณฑ์ขนมอบ แป้งเค้กสำเร็จรูป ซุป น้ำผลไม้ต่างๆ และเครื่องดื่มต่างๆ มีจำหน่ายในท้องตลาดในรูปแบบต่างๆ ได้แก่

- เบตาแคโรทีนชนิดเหลว (liquid suspension) ประกอบด้วยเบตาแคโรทีนร้อยละ 30 อยู่ในน้ำมันพืช
- เบตาแคโรทีนชนิดข้นหนืด (semi-solid suspension) ประกอบด้วยเบตาแคโรทีน ร้อยละ 24 ในน้ำมันพืชที่ผ่านการเติมก๊าซไฮโดรเจน
- เบตาแคโรทีนชนิดเม็ดละลายน้ำได้ (beadlet- solid suspension) ประกอบด้วยเบตาแคโรทีนร้อยละ 10-24
- เบตาแคโรทีนชนิดอีมัลชั่น (emulsion beverage type) ประกอบด้วยเบตาแคโรทีน ร้อยละ 3.6 นิยมใช้ในเครื่องดื่ม

1.4.1.2 เบตาอะโปแคโรทีนอล หรือ อะโปคาโรทีนอล (β-apo-8-carotenols หรือ Apocarotenol) เป็นแคโรทีนอยด์ที่ให้สีส้มถึงสีแดง นิยมใช้ในอาหารประเภทท๊อปปิ้ง หรือฟรอสติ้ง ขนมหวาน หน้าขนมพาย ไอศกรีม ซุป น้ำสลัด และเนยแข็ง

1.4.1.3 แคนธาแซนธิน (canthazanthin) เป็นแคโรทีนอยด์ที่ให้สีส้มแดง มีความเข้มของสีสูงมาก ใช้แทนสีสังเคราะห์ นิยมใช้ในน้ำสลัด เครื่องดื่ม ซุป วุ้น สปาเก็ตตี้ ช่วยแต่งสีผลิตภัณฑ์ให้มีสีสตรอเบอรี ราสเบอรี และ เชอรี่ (ศิวาพร ศิวเวชช, 2529)

การใช้แคโรทีนอยด์เป็นสารให้สีอาจใช้ตัวเดียว หรือร่วมกันก็ได้ เช่น การใช้เบตาแคโรทีนร่วมกับเบตาอะโปแคโรทีนอล หรือแคนทาแซนทิน เพื่อให้ได้สีอ่อนแก่แตกต่างกันตามความต้องการระดับสีที่จะให้มีในผลิตภัณฑ์ (ศิวาพร ศิวเวชช, 2529)

ตารางที่ 3 ข้อดีและข้อด้อยของการใช้แคโรทีนอยด์เป็นสีผสมอาหาร

Merits and demerits of carotenoids as food colorant.

Merits	Demerits
1. Good color intensity	1. Unstable
2. Soluble in fat but has an emulsion and colloid forms for non-fat and oil products	2. Bad odour
3. Safety	3. Easily moisture absorped
4. Some carotenoids are provitamin A	4. Nonstandard quality
5. High nutrition	5. Can use with some kinds of food
6. Good stable in reducing agent condition	6. Expensive
7. Good stable on acid in food	
8. Can mixed with other carotenoids or mixed with synthetic food colorants	
9. Easily to find	

Source : ดัดแปลงจาก ศิวาพร ศิวเวชช (2529) ; อุดม กาญจนปกรณ์ชัย และ ธีรวรรณ รางแดง (2524)

ไม่มีการจำกัดปริมาณของเบตาแคโรทีนที่ใช้ในอาหาร ส่วนปริมาณเบตาอะโป-8-แคโรทีนอล และแคนธาแซนธินมีจำกัดไว้ คือ 15 และ 20 มิลลิกรัม ตามลำดับ ต่อ 1 ปอนด์ของอาหารแข็ง และ ½ ควอร์ท (quart) ของอาหารเหลว (รัชนี ตัณฑะพานิชกุล, 2541)

1.4.2 สารต้านการเกิดออกซิเดชัน

เบตาแคโรทีน แกมมาแคโรทีน แอลฟาแคโรทีน และ ไลโคปีน เป็นสารที่สามารถต่อต้านการเกิดออกซิเดชัน โดยลดความว่องไวของปฏิกิริยาลง (พิสมัย เจนวนิชปัญจกุล, 2537) Leonardi และคณะ (2000) ศึกษาผลของระดับ

แคโรทีนอยด์ในมะเขือเทศ 4 ชนิด โดยวัดกิจกรรมการเป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชันด้วย พบว่า ความสามารถในการเป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชันขึ้นอยู่กับปริมาณของแคโรทีนอยด์ในมะเขือเทศ นั่นคือมะเขือเทศชนิดที่มีปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าจะมีความสามารถในการเป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชันมากกว่า Terao (1989 อ้างโดย Yousry, 2000) รายงานว่า แอสทาแซนทินมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ซึ่งสูงกว่าเบตาแคโรทีน 10 เท่า และสามารถยับยั้งการทำงานของ singlet oxygen และยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้สูงกว่าไวตามินอี 1000 เท่า (Miki, 1991) Liebler และ McClure (1996 อ้างโดย Yousry, 2000) รายงานว่า เบตาแคโรทีนมีพฤติกรรมเป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชันโดยการดึงอนุมูลอิสระมาฟอร์มตัวเข้าด้วยกันและ/หรือมีการถ่ายโอนอิเล็กตรอนไปยังอนุมูลอิสระเกิดเป็น radical cation ที่คล้ายกัน Yousry (2000) รายงานว่า แคโรทีนอยด์ในกลุ่มแอลฟาไฮดรอกซีคีโตแคโรทีนอยด์ (α-hydroxyketocarotenoid) นั่นคือ แอสทาแซนทินมีความสามารถในการเป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชันสูงกว่าเมื่อเทียบกับแคโรทีนอยด์ในกลุ่มอื่นๆ เนื่องจากเกิดการรวมกันของออโธไดไฮดรอกซีโพลีน (ortho-dihydroxy polene system) ทำให้มีอะตอมไฮโดรเจนที่มีความสามารถในการหยุดโซ่ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ ซึ่งมีพฤติกรรมคล้ายกับหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) ของแอลฟาโทโคฟีรอล

1.4.3 ใช้ทางด้านยา

เบตาแคโรทีน และแอลฟาแคโรทีนมีผลต่อการป้องกันมะเร็งและลดการเกิดมะเร็งที่ผิวหนังได้ โดยใช้ในรูปเรตินอล หรือบริโภคอาหารที่มีเบตาแคโรทีน (Gross,1987) และมีผลป้องกันการเกิดมะเร็งในตับ ในระบบทางเดินอาหารและที่ผิวหนัง (พิสมัย เจนวนิชปัญจกุล, 2537) Hof และคณะ (1999) รายงานว่า แอลฟาแคโรทีนมีประสิทธิภาพในการลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งปอดได้มากกว่าเบตาแคโรทีน

1.4.4 สร้างระบบภูมิคุ้มกัน

แคโรทีนอยด์บางชนิดสามารถสร้างระบบภูมิคุ้มกันแก่ร่างกายได้ โดยเบตาแคโรทีนมีส่วนในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เม็ดโลหิตขาวในเลือด (Bendich and Shipiro, 1986) จากการศึกษาของ Okai และ Higashi (1996) ; Jyonouchi และคณะ (1991) พบว่า แอสทาแซนทินสามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดี้เมื่อมีสิ่งแปลกปลอมเข้ามาได้

1.4.5 ใช้เป็นอาหารสัตว์

Clement (1975 อ้างโดย กิตติ โพธิปัทมะ และคณะ, 2539) รายงานว่า แคโรทีนอยด์สามารถใช้เป็นอาหารเสริมในสัตว์จำพวกเป็ด ไก่ ซึ่งจะทำให้ไข่แดงและเนื้อมีสีเข้มขึ้น

2. น้ำมันปาล์ม (palm oil)

น้ำมันปาล์มเป็นผลิตผลที่สกัดได้จากผลปาล์ม ซึ่งเป็นพืชในตระกูลปาล์ม (Palmae หรือ Recaceae) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวเช่นเดียวกับมะพร้าว จาก อินทผาลัม ตาลโตนด และระกำ ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Elaeis guineensis Jacq.* น้ำมันปาล์มสามารถสกัดได้จากส่วนของเนื้อผลปาล์มและจากเมล็ดในซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกัน (ตารางที่4) แต่ทั้งน้ำมันจากเนื้อผลปาล์มและเมล็ดในต่างก็มีคุณสมบัติคล้ายกับน้ำมันพืชและไขมันสัตว์ที่ใช้บริโภคทั่วไป (edible oil) เช่น น้ำมันมะพร้าว น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันถั่วลิสง และน้ำมันหมู คือ เป็นสารอินทรีย์จำพวกหนึ่ง ที่เรียกว่า เอสเทอร์ (ester) ซึ่งโมเลกุลประกอบด้วยสารเคมี 2 ชนิด คือ กลีเซอรอล (glycerol) หรือ กลีเซอริน (glycerin) และ กรดอินทรีย์ หรือกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) (ศักดิ์ศิลป์ โชติสกุล และคณะ, 2541)

2.1 องค์ประกอบของน้ำมันปาล์ม

2.1.1 น้ำมันปาล์มจากเนื้อผลปาล์ม (crude palm oil)

น้ำมันปาล์มชนิดนี้หีบได้จากเนื้อผลปาล์ม เป็นน้ำมันปาล์มดิบที่มีลักษณะเหลวมีน้ำปนอยู่จึงต้องกรองแยกสิ่งสกปรกและเส้นใยออก แล้วนำไปขจัดความชื้นให้อยู่ในมาตรฐาน เพื่อลดการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรลิซิส (hydrolysis)

น้ำมันปาล์มดิบจะแยกออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนใส และส่วนที่เป็นไข โดยทั่วไปจะมีจุดหลอมเหลวประมาณ 40°C จุดแข็งตัวระหว่าง 25-50°C ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ น้ำมันปาล์มดิบจะมีสีเข้มโดยอาจมีสีตั้งแต่สีเหลืองส้มจนถึงสีส้มแก่ มีแคโรทีนอยด์เป็นองค์ประกอบอยู่มากกว่า 600 มิลลิกรัมต่อลิตร (Yusoff, 2000)

2.1.2 น้ำมันเมล็ดในปาล์ม (crude palm kernel oil)

เมล็ดในปาล์ม จะมีน้ำมันประมาณ 46 – 57 % การหีบน้ำมันเมล็ดในทำได้โดย หีบด้วยทรงอัดสูงๆ หรือสกัดด้วยตัวทำละลาย น้ำมันที่ได้แตกต่างจากน้ำมันจากเนื้อผลปาล์ม แต่มีส่วนประกอบ และคุณสมบัติที่ใกล้เคียงกับน้ำมันมะพร้าว น้ำมันเมล็ดในจะใส ไม่มีสีหรือสีเหลืองอ่อนจนถึงสีเหลืองน้ำตาล มีแคโรทีนอยด์เป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณ 7.20 มิลลิกรัมต่อลิตร (Yusoff, 2000)

3. แคโรทีนอยด์ในน้ำมันปาล์ม

น้ำมันปาล์มดิบเป็นแหล่งธรรมชาติที่มีแคโรทีนอยด์ในปริมาณมาก ซึ่งแคโรทีนอยด์เป็นองค์ประกอบสำคัญในการให้สีส้มแดง และช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันปาล์มดิบ (Hui, 1996) โดยแคโรทีนอยด์หลักที่มีในน้ำมันปาล์ม คือ แอลฟาแคโรทีน เบตาแคโรทีน แกมม่าแคโรทีน ไลโคปีน และแซนโทฟิลล์ (Yusoff, 2000) โดยเฉพาะแอลฟาแคโรทีน และเบตาแคโรทีน ซึ่งมีปริมาณมากกว่า 80 % ของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันปาล์มดิบ (Ooi *et al.*, 1994) ซึ่งชนิดของแคโรทีนอยด์ในน้ำมันปาล์มดิบจากการศึกษาของ Choo และคณะ (1996) แสดงดังตารางที่ 4

Chin และ Tan (1977) รายงานว่า คุณภาพของน้ำมันปาล์มที่สกัดจากผลปาล์มสดด้วยตัวทำละลายประกอบด้วยแคโรทีนความเข้มข้น 660 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนน้ำมันปาล์มที่สกัดจากผลปาล์มแก่ประกอบด้วยแคโรทีนความเข้มข้น 610 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4 องค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ในน้ำมันปาล์มดิบ[a]

Composition (%) of carotenoids in crude palm oil.

Carotenoids	% of total carotenoids
Phytoene	1.27
cis-β-carotene	0.68
Phytofluene	0.06
β-carotene	56.02
α-carotene	35.16
cis-α-carotene	2.49
ζ-carotene[b]	0.69
δ-carotene	0.83
γ-carotene	0.33
Neurosporene[c]	0.29
β-zeacarotene	0.74
α- zeacarotene	0.23
Lycopene[d]	1.30
Total carotene (มิลลิกรัมต่อลิตร)	500-700

[a] Commercial Malaysia crude palm oil.

[b] One *trans* and two *cis* isomer

[c] One *trans* and one *cis* isomer

[d] One *trans* and three *cis* isomer

Source : Choo *et al.* (1996)

Goh และคณะ (1985 อ้างโดย Ooi *et al.*, 1994) รายงานผลการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์จากน้ำมันชนิดต่างๆว่า ในน้ำมันปาล์มมีแคโรทีนอยด์มากกว่าในน้ำมันหรือไขมันชนิดอื่นๆ โดยมีความเข้มข้นสูงถึง 500–700 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งนี้จากการศึกษาแคโรทีนอยด์ในน้ำมันปาล์มของ Ooi และคณะ (1994) พบว่า สามารถแยก

แคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มได้ปริมาณในช่วง 50-90% ของปริมาณสารประกอบอื่นๆอันได้แก่ ไวตามินอี สเตอรอล ฟอสโฟไลปิด และแอลกอฮอล์ โดย Choo และคณะ (1996) รายงานว่า ในน้ำมันปาล์มดิบมีปริมาณแคโรทีนอยด์ 500-700 มิลลิกรัมต่อลิตร ไวตามินอีซึ่งประกอบด้วยโทโคฟีรอล (tocopherol) และโทโคไทรอินอล (tocotrienol) เป็นส่วนใหญ่มีปริมาณ 600-1000 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีสเตอรอล 250-650 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อเปรียบเทียบกับแคโรทีนอยด์จากแหล่งอื่นๆในธรรมชาติตามรายงานของ Tan (1987) พบว่า น้ำมันปาล์มมีแคโรทีนอยด์มากกว่าแครอท 15 เท่า และมากกว่ามะเขือเทศ 300 เท่า โดยปริมาณองค์ประกอบรองนอกจากกรดไขมันต่างๆที่พบในน้ำมันปาล์มดิบตามรายงานของ Choo และคณะ (1996) และ Choo (2000) แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ปริมาณองค์ประกอบรองนอกจากกรดไขมันต่างๆที่มีในน้ำมันปาล์มดิบ
Minor components of crude palm oil.

Minor component	Concentration (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	Choo (2000)	Choo *et al.* (1996)
Carotenoids	500 – 700	500 – 700
Tocopherol and Tocotrienol	600 – 1000	600 – 1000
Sterols	326 – 527	250 – 650
Phospholipid	5 – 130	-
Total alcohol	40 - 80	-

กระบวนการกลั่นบริสุทธิ์น้ำมันปาล์มดิบทำให้เกิดการสูญเสียแคโรทีนอยด์ซึ่งเป็นรงควัตถุในน้ำมันปาล์มดิบ โดยเฉพาะในขั้นตอนการฟอกสี (bleaching) (Yusoff, 2000) ไม่ว่าจะด้วยวิธีแอดซอบชัน (adsorption) หรือการใช้ความร้อน ซึ่งในระหว่างการกลั่น พบว่า น้ำมันที่ได้ภายหลังการฟอกสีเบื้องต้นก่อนการกำจัดกลิ่นจะมีสีแดงและสีเหลืองลดลง (Liew *et al.*, 1994) แคโรทีนอยด์มีส่วนสำคัญในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในน้ำมันปาล์มดิบจากแสง และออกซิเจน (Lin, 2000)

4. การแยกแคโรทีนอยด์ และองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่มีความไวต่อแสง ความร้อน และออกซิเจน การสกัดหรือการแยกแคโรทีนอยด์จึงต้องกระทำในสภาวะที่ไม่มีแสงแดดโดยตรง แคโรทีนอยด์อาจถูกสกัดหรือแยกได้โดยหลายวิธี เช่น

- ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (solvent extraction) เช่น เฮกเซน หรือ ปิโตรเลียมอีเทอร์ที่เย็น และอยู่ในสภาวะที่ปราศจากแสง (Hyoung, 2001)

- การใช้เทคนิคทางโครมาโตกราฟี (chromatography) เช่น adsorption chromatography (Baharin *et al.*, 1998)

- การสกัดด้วยเอนไซม์ (enzymatic hydrolysis method) โดย Lietz และ Henry (1997) สกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบด้วยเอนไซม์ *Candida cylindracea* lipase พบว่า แคโรทีนอยด์ที่ได้จากกระบวนการสกัดด้วยเอนไซม์ไม่มีการสูญเสียทั้งในด้านปริมาณ และคุณภาพ

- ใช้ปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชัน (transesterification) (Ooi *et al.*, 1994)

- วิธี molecular distillation (Ooi *et al.*, 1986 อ้างโดย Ooi *et al.*, 1994)

- วิธีสปอนนิฟิเคชัน (saponification) การวิเคราะห์รงควัตถุในน้ำมันทำได้ด้วยวิธีสปอนนิฟิเคชัน ด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ในแอลกอฮอล์ เช่น โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ในเมทานอล ในชั่วระยะเวลาหนึ่งแล้วเติมไดเอทิลอีเทอร์และน้ำ ซึ่งจะกำจัดแอลกอฮอล์ออกจากสารสกัดได้ (Schoefs, 2003) สปอนนิฟิเคชันจัดได้ว่าเป็นวิธีที่ทำให้แคโรทีนอยด์บริสุทธิ์ได้อย่างหยาบๆ นั่นคือ การสปอนนิไฟด์จะกำจัดส่วนของไขมันที่เป็นกลาง (neutral fat) กรดไขมัน เอสเทอร์ต่างๆ และคลอโรฟิลล์ออกจากแคโรทีนอยด์ ทำให้แคโรทีนอยด์ที่ได้ค่อนข้างบริสุทธิ์ (Ritter and Purcell, 1981)

Hornero และ Minguez (2000) สกัดแคโรทีนอยด์จากดอกไม้ชนิดหนึ่งชื่อ *Rosa mosqueta* Hips โดยการสปอนนิไฟด์ตัวอย่างด้วย 20% โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ในเมทานอล เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วแยกแคโรทีนอยด์ด้วยไดเอทิลอีเทอร์ พบว่าได้ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดประมาณ 2400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง มีเบตาแคโรทีน 497.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง แล้วศึกษาองค์ประกอบด้วย

เทคนิคธินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (Thin Layer Chromatography, TLC) พบว่า เมื่อใช้ธินเลเยอร์โครมาโตกราฟีแบบซิลิกาเจล (silica gel) และใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ (40-60^{O}C) เป็นตัวทำละลายจะสามารถแยกเบตาแคโรทีน และไลโคปีนได้ โดยเบตาแคโรทีนมีค่า R_f 0.26 และได้ค่าความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) ที่ 425 452 และ 476 นาโนเมตร แต่เมื่อใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ (65-95^{O}C) ผสมอะซิโตนและไดเอทธิลลามีน ในอัตราส่วน 10:4:1 ตามลำดับ จะแยกแคโรทีนอยด์ชนิดอื่นๆได้ ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แคโรทีนอยด์ใน *Rosa mosqueta* Hips

Carotenoids in *Rosa mosqueta* Hips.

Pigment	TLC		UV-visible (λ_{max})		
	R_f	Color in plate	in acetone		
β-carotene	0.26[a]	yellow-orange	(424)	452	476
Lycopene	0.15[a]	deep red	118	474	506
β-crytoxanthin	0.57[b]	yellow	425	449	476
Zeaxanthin	0.42[b]	orange	424	449	476
Rubixanthin	0.37[b]	orange	440	464	494
Gazaniaxanthin	0.37[b]	orange	440	464	494

[a].solvent : Light petroleum ether (40-60^{O}C)

[b].solvents : Light petroleum ether (65-95^{O}C) / Acetone / Diethylamine, 10:4:1

Source : Hornero and Minguez (2000)

Ooi และคณะ (1994) ศึกษาการแยกแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มด้วยกระบวนการทรานเอสเทอริฟิเคชันน้ำมันปาล์ม ตามด้วยการกลั่นแยกเอสเทอร์ พบว่า ในช่วงระยะแรกของการกลั่นแคโรทีนอยด์มีความเข้มข้นในช่วง 6,600-20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่าปริมาณผลผลิตที่ได้ (yields) ของแคโรทีนอยด์อยู่ในช่วง 50-90 % ซึ่งขึ้นกับอุณหภูมิในการกลั่น โดยอุณหภูมิสูงจะทำให้ปริมาณผลผลิตที่ได้ของแคโรทีนอยด์ลดลงที่เวลากลั่นเดียวกัน ในช่วงระยะที่สองของการกลั่น ความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์จะ

เพิ่มขึ้นเป็น 75,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่าปริมาณผลผลิตที่ได้ของแคโรทีนอยด์ ประมาณ 75 % และพบว่าแคโรทีนอยด์มีองค์ประกอบหลัก คือ แคโรทีน ไวตามินอี และ สเตอรอล โดยแคโรทีนในแคโรทีนอยด์มีหลายชนิด ซึ่งแคโรทีนที่พบมาก คือ แอลฟาแคโรทีน และเบตาแคโรทีน ซึ่งมีปริมาณ 83-92 % ของแคโรทีนอยด์ทั้งหมด

George และ Morten (1988) ศึกษาองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ด้วย ชินเลเยอร์โครมาโตกราฟีโดยใช้ tertiary alcohol ผสมในปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัว ทำละลาย ซึ่งสามารถแยกองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ได้ชัดเจน โดยเฉพาะเมื่อใช้ 20% tertiary-butanol หรือ 20% tertiary-pentanol ในปิโตรเลียมอีเทอร์ ซึ่งสามารถ จำแนกแคโรทีนอยด์ได้เป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ เบตาคริปโตแซนทิน (β-cryptoxanthin) กาซาเนียแซนทิน(gazaniaxanthin) และ แคนธาแซนทิน (canthaxanthin) กลุ่มที่ 2 ได้แก่ ลูทีน และ ซีแซนทิน กลุ่มที่ 3 ได้แก่ ทาราแซนทิน (taraxanthin) แอนเทอร์แซนทิน (antherxanthin) และ แคปแซนทิน และกลุ่มที่ 4 ได้แก่ ไวโอลาแซนทิน และ แคปโซลูบิน (capsorubin)

Tan (1988) ศึกษาการแยกแคโรทีนอยด์จากมะเขือเทศโดยใช้ normal-phase open column chromatography ใช้ ไดเอทิลอีเทอร์ (diethyl ether) ในปิโตรเลียมอีเทอร์ (2-100%) เป็นตัวพาแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากมะเขือเทศเข้าสู่คอลัมน์ พบว่า แคโรทีนอยด์ถูกแยกได้มากขึ้นตามจำนวนเปอร์เซ็นต์ของไดเอทิลอีเทอร์ที่เพิ่มขึ้น ได้องค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ ดังนี้ ไฟโตอีน 2% ไฟโตฟูอีน 4% เบตาแคโรทีน 10% และไลโคปีน 100% โดย ซีต้าและแกมมาแคโรทีน จะอยู่ในช่วงของ เบตาแคโรทีน และไลโคปีน การศึกษาองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์จากผลไม้จำพวก *Asparagus Officinalis* โดย Deli และคณะ (2000) ได้ใช้เทคนิค column chromatography ในการแยกแคโรทีนอยด์จากผลไม้สุก ซึ่งพบว่า สารละลายแคโรทีนอยด์แยกออก เป็น 4 ส่วนซึ่งแต่ละส่วนจะมีแคโรทีนอยด์ที่มีขั้วต่างกันโดยส่วนที่ 1 มีสีแดงอิฐ ส่วนที่ 2 มีสีชมพู, ส่วนที่ 3 มีสีเหลืองอ่อน และส่วนที่ 4 มีสีเหลือง แล้ววิเคราะห์ องค์ประกอบของแต่ละส่วนด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) พบว่า ในองค์ประกอบส่วนที่ 1 มีแคโรทีนอยด์หลัก คือ 9/9- และ 13/13-ซิส-แคปแซนทิน ซึ่งมีลักษณะเป็นโครมาโตแกรมเดี่ยวที่ความยาวคลื่น 464 และ

461 นาโนเมตร รวมทั้ง นีโอแซนทิน และ แคปแซนทิน องค์ประกอบส่วนที่ 2 มีแคโรทีนอยด์ชนิดแคปแซนทิน องค์ประกอบส่วนที่ 3 มีแคโรทีนอยด์ชนิดแอนเทอราแซนทิน มิวทาโทแซนทิน (mutatoxanthin) และไวโอลาแซนทิน และองค์ประกอบส่วนที่ 4 มีแคโรทีนอยด์ที่มีขั้วต่ำที่สุด คือ ซีแซนทิน ลูทีน และคริปโตแซนทิน ในการศึกษาองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ในผลไม้จำพวก Actinidia ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ 2 สายพันธุ์ คือ Actinidia deliciosa cv. Hayward และ Actinidia chinensis cv. Hort 16A โดย Tony and Gary (2001) ซึ่งใช้เทคนิค HPLC พบว่า ในผลไม้ทั้ง 2 สายพันธุ์มีแคโรทีนอยด์เหมือนกัน คือ เบตาแคโรทีน ลูทีน ไวโอลาแซนทิน และ 9-ซิส-นีโอแซนทิน แต่ใน A.hinensis มี esterified xanthophylls เป็นองค์ประกอบด้วย

5. ความคงตัวและการเก็บรักษาแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นเม็ดสีที่มีความเสถียร พบว่า การแปรรูปด้วยกระบวนการธรรมดา เช่น การลวก การฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิสูง การแช่เยือกแข็ง มีผลต่อความคงตัวของแคโรทีนอยด์น้อยมาก หรือไม่มีเลย สีของแคโรทีนอยด์ทนกรดด่าง และไม่ถูกชะออกด้วยน้ำ และการหุงต้มนานๆไม่ทำให้สีของแคโรทีนอยด์เปลี่ยนแปลงไปมากนัก ในผักผลไม้ที่มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงจะยังคงมีสีสวยสดภายหลังหุงต้มแล้ว แต่การนำไปใช้ในอาหารที่มีลักษณะเป็นผง จะทำให้ความคงตัวของแคโรทีนอยด์ลดลง นอกจากเก็บในภาชนะที่มีก๊าซเฉื่อย หรือไม่มีออกซิเจนจะมีผลเพิ่มความคงตัวของแคโรทีนอยด์ เนื่องจากออกซิเจนทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นผลให้ความคงตัวของแคโรทีนอยด์ลดลง (ศิวาพร ศิวเวชช, 2529) นอกจากนี้ปัจจัยอื่นที่มีผลเร่งการสูญเสียแคโรทีนอยด์ประกอบด้วย โลหะ เปอร์ออกไซด์ แสง อุณหภูมิ ค่า a_w (water activity) และส่วนประกอบของอาหาร (Ritter and Purcell, 1981) โดยทั่วไปจะเก็บภายใต้สูญญากาศ หรือก๊าซไนโตรเจน (Kearsley and Rodriguez, 1981 อ้างโดย ทิพย์ บุญล้ำ, 2537) หรือการเติมสารป้องกันการเกิดออกซิเดชัน เช่น BHT (butylated hydroxy toluene) ร้อยละ 1.0 (Gross, 1987) Simpson และ Haard (1985) รายงานว่า การใช้ BHT ร่วมกับ trasylol สามารถช่วยให้แคโรทีนอยด์ที่สกัดได้มีความคงตัวมากขึ้น

Klaui และ Bauernfeind (1981) รายงานว่า เมื่อใช้สารป้องกันการเกิดออกซิเดชันในน้ำมัน เช่น โทโคฟีรอล BHT และBHA (butylated hydroxy anisole) จะทำให้แคโรทีนอยด์มีความคงตัวเพิ่มขึ้นประมาณ 20 เท่า เบตาแคโรทีนมีความคงตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่า 50°C และมีความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงของ pH ในช่วง 2.0-7.0 เบตาแคโรทีนมีความคงตัวเพิ่มขึ้นที่ a_w สูง เนื่องจาก น้ำในอาหารช่วยป้องกันแคโรทีนอยด์โดยการห่อหุ้มไว้ (Kearsley and Rodriguez, 1981)

ศิวาพร ศิวเวชช (2529) กล่าวว่า ถ้าเม็ดสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ สัมผัสกับแสงจะทำให้ความคงตัวลดลง เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นการเก็บในที่มืดหรือภาชนะป้องกันแสง เช่น ภาชนะบรรจุชนิดลามิเนต หรือ ขวดสีชา สามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ Bauernfeind (1981 อ้างโดย เสาวลักษณ์ วนิชสุวรรณ, 2540) กล่าวว่า แคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จำเป็นต้องป้องกันการสูญเสียโดยการเก็บรักษาดังนี้

1. ป้องกันแคโรทีนอยด์จากแสงสว่าง ความร้อน และออกซิเจน โดยแสงสว่างมีผลต่อแคโรทีนอยด์ 2 ประการ คือ ประการแรกเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของพันธะคู่ระหว่างไอโซเมอริก มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงช่วงการดูดกลืนคลื่นแสงของแคโรทีนอยด์ ประการที่ 2 เกี่ยวกับการเกิดออกซิเดชันด้วยสายคาร์บอน ซึ่งการเติมสารกันหืน เช่น BHA สามารถป้องกันปัญหาดังกล่าวได้ และการใช้อุณหภูมิสูงในกระบวนการผลิตและระหว่างการเก็บรักษาเป็นสาเหตุทำให้เกิดการสูญเสียได้

2. ป้องกันแคโรทีนอยด์จากกรดและด่าง ในสภาพที่เป็นกรดทำให้เกิดการสูญเสียความคงทนของพันธะระหว่างคาร์บอนอะตอม เป็นสาเหตุให้เกิดการสูญเสียทั้งในแง่ปริมาณและคุณภาพ เมื่ออยู่ในสภาพที่เป็นด่างทำให้เกิดการเปลี่ยนสภาพ เช่น แคโรทีนอยด์ที่มีสีแดงจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินในสภาวะที่เป็นด่าง

Ooi และคณะ (1994) ศึกษาความคงตัวในการเก็บรักษาแคโรทีนอยด์ในรูปแคปซูล (capsule) และในรูปผง (powder) ที่อุณหภูมิ 28-30°C และ 4°C เป็นเวลา 12 เดือน พบว่า แคโรทีนอยด์ในรูปแคปซูลมีความคงตัวมากกว่าในรูปผง แม้เก็บที่อุณหภูมิ 28-30°C เป็นเวลา 12 เดือน ซึ่งแคโรทีนอยด์ในรูปผงมีปริมาณลดลงเล็กน้อย (4%) ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4°C และที่ 28-30°C ลดลง 20-25% เนื่องจากมีการ

สัมผัสกับแสงมาก จึงเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้น เกิดการเสื่อมสภาพของแคโรทีนอยด์ได้มากกว่า

Chen และ Tang (1998) ศึกษาการผลิตผงแคโรทีนอยด์ (carotenoid powder) จากกากแครอทด้วยวิธี spray-drying พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการทำผงแคโรทีนอยด์ประกอบด้วย 15% solid content ของ feed, ค่าอุณหภูมิ inlet air 135-145°C และ outlet air 90-100°C เมื่อศึกษาความคงตัวภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่สัมผัสกับแสงสว่างที่มีความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ และในที่มืด รวมทั้งความคงตัวที่อุณหภูมิต่างๆกัน พบว่า จำนวน *all-tran cis plus cis* ของลูเตอีน แอลฟาแคโรทีน และเบตาแคโรทีนในผงแคโรทีนอยด์ ลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาและอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น ไอโซเมอร์แบบซิสของแคโรทีนอยด์ที่เก็บในที่มืดเป็น 13-ซิส-แอลฟาแคโรทีน (13-*cis*-α-carotene) และ 13-ซิส-เบตาแคโรทีน (13-*cis*-β-carotene) ในขณะที่แคโรทีนอยด์ที่เก็บในที่มีแสงมี 9-ซิสไอโซเมอร์ (9-*cis*-isomers) ของทั้งแอลฟา และ เบตาแคโรทีน นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงสีและปริมาณของแคโรทีนอยด์ผงมีอิทธิพลเนื่องมาจากแสง นั่นคือแสงทำให้แคโรทีนอยด์มีอัตราการเสื่อมสภาพเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ค่าสีของแคโรทีนอยด์เปลี่ยนแปลงโดยสีเหลืองมีค่าลดลงในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งอาจเนื่องมาจากการลดลงของทรานส์เบตาแคโรทีน และเกิดเป็นซิสเบตาแคโรทีน

Manuel และ Isabel (1999) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของแคโรทีนอยด์จากปาปริก้าโอลิโอเรซิน (paprika oleoresins) เนื่องจากความร้อน โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆกัน คือ 40 60 80 และ 100°C ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิในอุตสาหกรรมการผลิตที่ใช้ปาปริก้าโอลิโอเรซินเป็นสีผสมอาหาร แล้วสุ่มตัวอย่างมาสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยวิธีสปอนนิฟิเคชัน และวิเคราะห์ผลด้วย HPLC พบว่า ตัวอย่างที่เก็บรักษาทั้ง 4 อุณหภูมิมีการสูญเสียรงควัตถุเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นโดยที่อุณหภูมิต่ำกว่า 60°C มีอัตราการสูญเสียรงควัตถุสีเหลืองมากกว่ารงควัตถุสีแดง ส่วนที่อุณหภูมิสูงกว่า 60°C จะให้ผลตรงกันข้ามกัน นั่นคือ รงควัตถุสีแดงจะสูญเสียมากกว่า นอกจากนี้ความร้อนยังลดความเข้มข้นของรงควัตถุทั้งหมด

Hyoung และ Gary (2002) รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงสีของแคโรทีนอยด์ในอาหารในระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่แข็งจะมีการลดลงของลักษณะสีแดง ในขณะที่สีเหลืองและความสว่างเพิ่มขึ้น ปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลงในระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่แข็งเนื่องจากการแช่แข็ง และการละลายน้ำแข็งมีผลให้เซลล์แตก เกิดการสูญเสียรงควัตถุ และเกิดไอโซเมอไรเซชันของแคโรทีนอยด์ได้

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาสมบัติบางประการ และความคงตัวของแคโรทีนอยด์ที่แยกได้จากน้ำมันปาล์มดิบ รวมถึงการวิเคราะห์แคโรทีนในแคโรทีนอยด์ที่แยกได้

ขอบเขตการวิจัย

1. แยกแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบที่มาจากวิธีการสกัดแบบบีบอัดและใช้ไอน้ำ
2. ศึกษาสมบัติบางประการ ความคงตัวต่อแสงและอุณหภูมิ ความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชัน รวมถึงการเปลี่ยนแปลงสีและความสามารถในการดูดกลืนแสงระหว่างการเก็บรักษา
3. วิเคราะห์แคโรทีนในแคโรทีนอยด์ที่แยกได้