บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ลักษณะทั่วไปของมะเขือเทศ

1.1 ข้อมูลทั่วไปของมะเขือเทศ

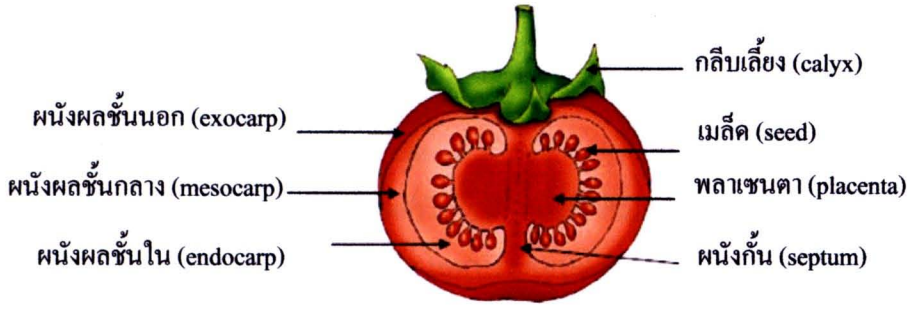
มะเขือเทศเป็นพืชผักที่อยู่ในวงศ์ Solanaceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Lycopersicon esculentum.* Mill. มีแหล่งกำเนิดในทวีปอเมริกากลางและอเมริกาใต้ ในแถบเทือกเขาแอนดีส ถูกนำเข้าไปในยุโรป และมีการพัฒนาจากพันธุ์ป่าเป็นพันธุ์ปลูก โดยปัจจุบันมีการปลูกทั่วโลก ซึ่งมะเขือเทศจัดเป็นพืชที่มีความสำคัญทั้งในแง่อุตสาหกรรมและการบริโภคสด โดยในแง่ของอุตสาหกรรมนั้นมะเขือเทศจะถูกนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น น้ำมะเขือเทศ ซอสมะเขือเทศ หรือมะเขือเทศเข้มข้น ในอดีตประเทศไทยได้มีการนำเข้าผลิตภัณฑ์มะเขือเทศ เพื่อการบริโภคและเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ทำให้มีเงินตราไหลออกนอกประเทศเป็นจำนวนมาก ปัจจุบันอุตสาหกรรมการแปรรูปมะเขือเทศสามารถพัฒนาได้อย่างดี และประเทศไทยสามารถลดการนำเข้าผลิตภัณฑ์มะเขือเทศได้เกือบทั้งหมด การปลูกมะเขือเทศในประเทศไทยเพื่ออุตสาหกรรม เริ่มต้นมาในช่วงปี พ.ศ. 2530 และมีการลงทุนสร้างโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อแปรรูปมะเขือเทศในแหล่งที่สามารถปลูกมะเขือเทศได้ ในเขตภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยมีพื้นที่ปลูกที่สำคัญอยู่ในจังหวัดหนองคาย นครพนม สกลนคร อุดรธานี บุรีรัมย์ สุรินทร์ และตาก เป็นต้น

1.2 องค์ประกอบทางเคมีของมะเขือเทศ

ผลมะเขือเทศสุกเป็นแหล่งของวิตามินและเกลือแร่ โดยเฉพาะวิตามินซี แคลเซียม ฟอสฟอรัส ตลอดจนโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต ซึ่งปริมาณที่พบขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น สายพันธุ์ ความแก่อ่อน และสภาพแวดล้อมในการเจริญเติบโต (Abushita and others 2000) นอกจากนี้มะเขือเทศยังเป็นแหล่งสำคัญของสารไลโคปีน มะเขือเทศที่มีสีแดงจัดจะมีปริมาณสารไลโคปีนสูงถึง 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่มะเขือเทศที่มีสีเหลืองมีปริมาณเพียง 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (McClain and Bausch 2003)

1.3 โครงสร้างเนื้อเยื่อมะเขือเทศ

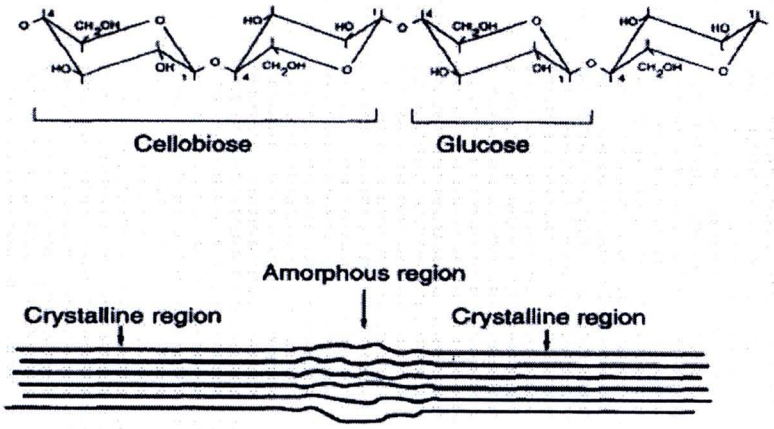
มะเขือเทศมีลักษณะผลเดี่ยว (simple fruit) เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่แล้วมีเนื้อนุ่ม เพราะมีผนังผล (pericarp) ที่อ่อนนุ่ม ผนังผลชั้นนอก (exocarp) เป็นผิวบางๆ ส่วนผนังผลชั้นกลาง (mesocarp) และผนังผลชั้นใน (endocarp) อยู่รวมกันไม่สามารถแยกได้ชัดเจน แคโรทีนอยด์อยู่ในโครโมพลาสต์ (chromoplast) ของเนื้อเยื่อพืช ซึ่งส่วนมากโครโมพลาสต์ที่ประกอบด้วยไลโคปีนนั้นอยู่ในส่วนผนังผล (pericarp) โดยเฉพาะส่วนของผนังผลชั้นนอก (exocarp) องค์ประกอบของเนื้อเยื่อมะเขือเทศส่วนใหญ่เป็นสารจำพวกคาร์โบไฮเดรต เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเพคติน เป็นต้น (Lavecchia and Zuorro 2008)



ภาพที่ 1 โครงสร้างของผลมะเขือเทศ
ที่มา : นิรนาม (2552)

1.3.1 เซลลูโลส (cellulose)

เซลลูโลสเป็นสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) ในลักษณะเชิงเส้นตรง (linear chain) ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ เบต้า-1,4 ไกลโคซิดิก (β-1,4 glycosidic bonds) และมีน้ำตาลเซลโลไบโอส (cellobios) ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส 2 โมเลกุล เป็นหน่วยย่อยซ้ำของสายโซ่เซลลูโลส (ภาพที่ 2) เซลลูโลสมีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) 3 หมู่ สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนเชื่อมแต่ละสายโซ่เซลลูโลสทั้งภายในและภายนอกโมเลกุลตลอดความยาวของสายโซ่ ทำให้เกิดลักษณะของเส้นใย (microfibril) ที่ไม่ละลายน้ำ ทั้งในรูปลักษณะที่เรียงตัวเป็นระเบียบ (crystalline) และเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ (amorphous) ขนาดโมเลกุลเซลลูโลสแสดงในรูปของจำนวนน้ำตาลกลูโคสต่อโมเลกุลเซลลูโลส (degree of polymerization) อยู่ในช่วง 100-14,000 โดยเซลลูโลสธรรมชาติจะมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยต่างกันขึ้นอยู่กับแหล่งของเซลลูโลส (Beguin and Aubert 1994)

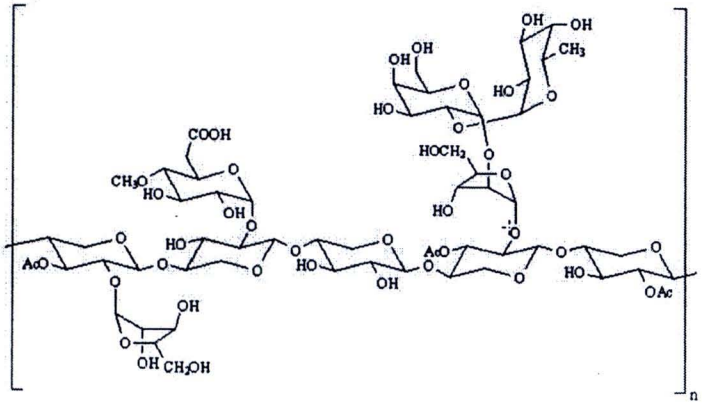


ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส

ที่มา : Beguin and Aubert (1994)

1.3.2 เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose)

เฮมิเซลลูโลสเป็นโพลีแซคคาไรด์ชนิดหนึ่งที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ เบต้า-1,4 ไกลโคซิดิก มีโครงสร้างคล้ายกับเซลลูโลส แต่เฮมิเซลลูโลสประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหลายชนิด เช่น ไซโลส กลูโคส กาแลกโตส แมนโนส อะราบิโนส รวมทั้งกรดกลูคูโรนิกและกาแลกทูโรนิก เฮมิเซลลูโลสมีขนาดโมเลกุลเล็กกว่าเซลลูโลส ซึ่งมี degree of polymerization อยู่ในช่วง 150-200 เฮมิเซลลูโลสพบในเนื้อเยื่อพืชโดยอยู่รวมกับสารหรือโครงสร้างอื่นๆ เช่น ลิกนิน และเซลลูโลส

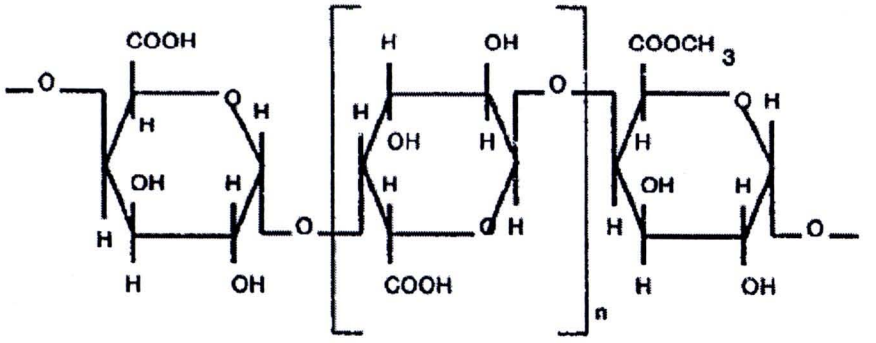


ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของเฮมิเซลลูโลส

ที่มา : Luangwitchajaroen and others (2007)

1.3.3 เพคติน (pectin)

เพคตินเป็นสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ พบทั่วไปในผนังเซลล์ของพืชชั้นสูง และชั้นระหว่างเซลล์ของพืช ซึ่งจะช่วยเพิ่มลักษณะความคงตัวของเนื้อสัมผัส (texture) ของผักผลไม้และทำหน้าที่สร้างความแข็งแรงให้กับผนังเซลล์โดยสร้างพันธะโควาเลนต์กับเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) โครงสร้างส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดกาแลคทูโรนิก (D-galacturonic acid) ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ แอลฟา-1,4 ไกลโคซิดิก (α -1,4 glycosidic bonds)



ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบเพคติน

ที่มา : Pilnik and Voragen (1992 อ้างถึงใน ชวนิฏฐ์ สิทธิดิลกรัตน์ 2546)

1.4 กากมะเขือเทศเหลือใช้จากกระบวนการแปรรูปมะเขือเทศ

อุตสาหกรรมผลิตมะเขือเทศเข้มข้นมีของเสียจากกระบวนการผลิตทั้งในส่วนของแข็งและของเหลว โดยส่วนที่เป็นของแข็งส่วนใหญ่เป็นเมล็ดและเปลือกมะเขือเทศ ซึ่งต้องทำการกำจัดทิ้งหรือใช้เป็นอาหารสัตว์ แต่ปริมาณแคโรทีนอยด์ในของเหลือนี้มีปริมาณอยู่สูงซึ่งใกล้เคียงกับมะเขือเทศเข้มข้นที่เป็นตัวผลิตภัณฑ์อย่างมาก ดังตารางที่ 1 อีกทั้งส่วนของเมล็ดและเปลือกเหลือใช้นี้ยังเป็นแหล่งของพวกใยอาหาร โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต อีกด้วย (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ปริมาณแคโรทีนอยด์ในมะเขือเทศสุก มะเขือเทศเข้มข้น และส่วนต่างๆของมะเขือเทศเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์มะเขือเทศเข้มข้น

แคโรทีนอยด์	ปริมาณที่พบ (มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักเปียก)			
	มะเขือเทศสุก	มะเขือเทศเข้มข้น	เมล็ดจากของเหลือใช้	เปลือกจากของเหลือใช้
ไฟโทอีน	น้อย	2.29	0	น้อย
ไฟโทฟลูลีน	น้อย	1.86	0	น้อย
เบต้า-แคโรทีน	0.13	1.06	0.19	0.30
ไลโคปีน	3.35	16.79	0.04	11.98

ที่มา : AI-Wandawi and others (1985)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของกากมะเขือเทศ

แหล่งอ้างอิง	Claye and others (1995)	Alvarado and others (2001)	Knoblich and others (2005)
ปริมาณ (ร้อยละน้ำหนักแห้ง)	กากมะเขือเทศเหลือทิ้ง (เปลือกและเมล็ด)	กากมะเขือเทศเหลือทิ้ง (เปลือกและเมล็ด)	กากมะเขือเทศเหลือทิ้ง (เปลือก)
โปรตีน	25.41	19.65	10.08
ไขมัน	3.27	10.75	3.22
เถ้า	5.20	4.05	25.64
คาร์โบไฮเดรต	20.10	n.a.	n.a.
ใยอาหารรวม	65.9	55.12	n.a.
ใยอาหารละลายน้ำ	8.3	10.01	n.a.
ใยอาหารไม่ละลายน้ำ	57.6	45.12	n.a.

n.a. = no data available

1.5 ใยอาหาร (dietary fiber)

ใยอาหาร หมายถึง ส่วนของเซลล์พืชที่ไม่สามารถย่อยและดูดซึมได้ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ เนื่องจากในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ไม่มีเอนไซม์หรือน้ำย่อยที่สามารถย่อยสลายใยอาหารได้ ซึ่งใยอาหารประกอบด้วยสารที่มีโครงสร้างเป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนที่ไม่ใช่แป้ง (non-starch polysaccharides) ได้แก่ เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) กัม (gum) เพคติน (pectin) และมิวซิเลจส์ (mucilage) รวมถึงส่วนประกอบที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต ได้แก่ ลิกนิน (lignin) (Baghurst and others 1996; Eastwood 1997; Spiller 2001) อย่างไรก็ตามเมื่อใยอาหารเคลื่อนที่มาถึงส่วนลำไส้ใหญ่ ใยอาหารบางส่วนอาจถูกย่อยโดยแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ กลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซมีเทน ก๊าซไฮโดรเจน น้ำ และกรดไขมันสายสั้นๆ ซึ่งจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย ด้วยเหตุนี้ใยอาหารจึงมีผลต่อการทำงานของลำไส้และการดูดซึมสาร ใยอาหารแบ่งตามความสามารถในการละลายน้ำได้เป็น 2 ชนิด คือ ใยอาหารละลายน้ำ (soluble dietary fiber) และใยอาหารไม่ละลายน้ำ (insoluble dietary fiber) ส่วนผลรวมของใยอาหารที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ เรียกว่า ปริมาณใยอาหารรวม (total dietary fiber)

ใยอาหารละลายน้ำมักปนอยู่กับส่วนที่เป็นแป้งของพืชจึงละลายน้ำได้ดี เมื่อรวมตัวกับน้ำจะเกิดการพองตัวมีลักษณะคล้ายวุ้น ใยอาหารประเภทนี้ ได้แก่ เพคติน (pectin) กัม (gum) และมิวซิเลจส์ (mucilage) พบมากในผลไม้ ข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เล่ย์ และพืชตระกูลถั่ว ใยอาหารละลายน้ำจะช่วยลดอัตราการดูดซึมคอเลสเทอรอลในเลือด ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดในผู้ป่วยโรคเบาหวาน (ปาริชาติ สักกะทำนุ 2540) และนอกจากนี้ยังช่วยให้การขับถ่ายเป็นไปอย่างสะดวก จึงป้องกันโรคริดสีดวงทวารได้

ใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ได้แก่ เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และลิกนิน (lignin) พบในส่วนผนังเซลล์พืช ไม่ละลายน้ำแต่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ ส่วนมากเป็นใยอาหารที่ได้จากธัญพืช เช่น รำข้าว และรำข้าวสาลี เป็นต้น ใยอาหารชนิดนี้มีบทบาทที่สำคัญต่อระบบทางเดินอาหาร โดยจะช่วยกระตุ้นลำไส้ใหญ่ให้เกิดการขับถ่ายและเพิ่มปริมาณกากอาหาร จึงช่วยป้องกันโรคท้องผูกและมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้

นอกจากการบริโภคธัญพืชและผักผลไม้โดยตรงแล้ว ร่างกายยังได้รับใยอาหารจากการบริโภคผลิตภัณฑ์อาหารที่มีการเสริมใยอาหารลงไป (Thebaudin and others 1997) ใยอาหารเป็นวัตถุดิบอีกชนิดหนึ่งซึ่งมีบทบาทในการพัฒนาและเพิ่มคุณค่าให้ผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเติมเข้าไปเพื่อเพิ่มปริมาณเส้นใยในผลิตภัณฑ์อาหาร (Southgate and others 1990) ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ใยอาหารที่ใช้เติมในผลิตภัณฑ์ต่างๆ แบ่งเป็นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำซึ่งมักเติมในอาหารว่าง อาหารเช้าจากธัญพืช ขนมขบเคี้ยว และผลิตภัณฑ์ขนมอบ เช่น ขนมปัง

คุกกี้ และพิซซ่า เป็นต้น ส่วนเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำมักใช้เติมในอาหารที่มีลักษณะเหลว เช่น เครื่องดื่ม น้ำสลัด และไอศกรีม เป็นต้น

แหล่งของใยอาหารส่วนใหญ่เป็นวัตถุดิบที่นำเข้าจากต่างประเทศ ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์เสริมใยอาหารมีราคาแพง ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาปริมาณใยอาหารในพืชที่เป็นผลิตผลทางการเกษตรที่เพาะปลูกได้ภายในประเทศ ประเภทผัก ผลไม้ ธัญพืช ถั่วเมล็ดแห้ง และมีการนำเศษวัตถุดิบเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมอาหารที่มีศักยภาพเหมาะสมมาใช้เป็นแหล่งของใยอาหาร เช่น แกนสับปะรด เปลือกถั่วเหลือง และกากมะพร้าว เป็นต้น (สันทนา อมรไชย 2537)

2. ไลโคปีน

ไลโคปีนเป็นรงควัตถุในกลุ่มของแคโรทีนอยด์ซึ่งเป็นสารให้สีส้มแดงในผักและผลไม้ แคโรทีนอยด์ชนิดอื่น ได้แก่ เบต้าแคโรทีนและแอลฟาแคโรทีน เป็นต้น Cadoni and others (2000) รายงานว่า ไลโคปีนเป็นรงควัตถุที่พบมากกว่าร้อยละ 85 ของรงควัตถุทั้งหมดที่พบในมะเขือเทศ โดยมีความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 30 - 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของผลสด พบปริมาณมากในผลมะเขือเทศสดและผลิตภัณฑ์จากมะเขือเทศ (Sandmann 1994) และพืชชนิดอื่นๆที่พบไลโคปีนมาก เช่น แตงโม องุ่นแดง มะละกอ เป็นต้น (Rao and Agawal 1999)

2.1 โครงสร้างไลโคปีน

ไลโคปีนมีสูตรโมเลกุล คือ $C_{40}H_{56}$ และมีโครงสร้างดังภาพที่ 5 เป็นสายของไฮโดรคาร์บอนที่ปลายทั้งสองข้างเป็นแบบเปิด ประกอบด้วยพันธะคู่จำนวน 13 พันธะ โดยมีพันธะคู่สลับกับพันธะเดี่ยวเชื่อมต่อกัน 11 ตำแหน่ง (conjugated double bonds) ทำให้ไลโคปีนเป็นแคโรทีนอยด์ที่มีความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระมากที่สุด โดยมากกว่าเบต้าแคโรทีน 2 เท่า และลูทีน 10 เท่า (Lavecchia and Zuorro 2008) ในธรรมชาติพบไลโคปีนอยู่ในรูป *trans* แต่อาจเปลี่ยนไปอยู่ในรูป *cis* ได้ในระหว่างกระบวนการผลิตอาหาร โดยไลโคปีนในรูป *cis* สามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ง่ายและมีความสำคัญต่อหน้าที่เชิงชีวภาพมากกว่าอยู่ในรูป *trans* (Lin and Chen 2003)

ภาพที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของไลโคปีนในรูป *trans*

ที่มา : Delia and others (2001)

2.2 คุณสมบัติของสารไลโคปีน

2.2.1 คุณสมบัติการละลาย (solubility)

สารไลโคปีนเป็นสารที่ไม่ชอบน้ำ (lipophilic) จึงไม่สามารถละลายน้ำหรือละลายได้น้อย แต่สามารถละลายได้ดีในน้ำมัน มีความสามารถในการละลายประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้อง อีกทั้งสามารถละลายได้เพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิของน้ำมันสูงขึ้น (Ribeiro and others 2003) นอกจากนี้ไลโคปีนยังสามารถละลายได้ดีในสารทำละลายอินทรีย์ เช่น อะซิโตน แอลกอฮอล์ (เมทานอลและเอทานอล) เอทิลอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม และเอทิลอะซีเตต เป็นต้น

2.2.2 การดูดกลืนแสง

สารไลโคปีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่สามารถดูดกลืนพลังงานแสงในช่วงความยาวคลื่นของรังสีอัลตร้าไวโอเลตและวิสิเบิลได้ (UV-Vis) ดังนั้นเมื่อโมเลกุลของสารไลโคปีนดูดกลืนพลังงานแสงแล้วจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของอิเลคตรอนวงนอกสุดของโมเลกุล ทำให้สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของสารที่ความยาวคลื่นต่างๆ ได้ด้วยเทคนิคทางสเปคโตรสโคปี (spectroscopy) โดยความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) จะเป็นค่าที่จำเพาะเจาะจงของสารนั้นๆ จึงสามารถนำค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารไปพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารได้ ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารไลโคปีนในสารทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าความยาวคลื่นการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารไลโคปีนในรูป *trans* ในสารทำละลายอินทรีย์ต่างๆ

ตัวทำละลาย	ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max})		
อะซิโตน	448	474	505
คลอโรฟอร์ม	458	484	518
เอทานอล	446	472	503
ปิโตรเลียมอีเทอร์	444	470	502
เฮกเซน	445	472	503

ที่มา : Delia and others (2001); Lavecchia and Zuorro (2008)

2.2.3 การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

สารไลโคปีนมีโครงสร้างทางเคมีที่มีพันธะคู่สลับกัน (conjugated double bond) ทำให้มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง ทั้งสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระและยับยั้ง singlet oxygen (Takeoka and others 2001) สารต้านอนุมูลอิสระคือสารที่ช่วยยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชัน มีผลทำให้อนุมูลที่มีประจุบวก (radical cation หรือ radical adduct) มีความคงตัวมากขึ้น สามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้โดยเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการยับยั้งกลไกการเกิดอนุมูลอิสระซึ่งเป็นโมเลกุลที่ทำให้เกิดโรคและการเสื่อมคุณภาพของอาหารบางชนิด รวมทั้งการกำจัด singlet oxygen ด้วย ไลโคปีนสามารถยับยั้ง singlet oxygen ได้โดยไลโคปีนจะทำปฏิกิริยากับ singlet oxygen ได้เป็น triplet oxygen และสามารถกลับสู่สภาวะพื้น (ground state) ได้ง่าย เมื่อระดับพลังงานความร้อนกระจายออกหรือลดลง

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของสารไลโคปีน

ตามธรรมชาติสารไลโคปีนในผลมะเขือเทศสดจะอยู่ในรูป *trans* (Lin and Chen 2003) แต่อย่างไรก็ตาม all-*trans*-lycopene อาจเปลี่ยนรูปเป็น *cis* ในระหว่างกระบวนการแปรรูป (Lee and Chen 2002) หรือเมื่อสัมผัสกับแสง ความร้อน ออกซิเจน และกรด (Sharma and Maguer 1996) หรือการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (Turner and others 2001) นอกจากนี้โครงสร้างของสารไลโคปีนเป็นโครงสร้างที่มีโมเลกุลที่ไม่อิ่มตัวอยู่สูง ทำให้เกิดออกซิเดชันได้ง่าย (Ribeiro and others 2003) ดังนั้นในกระบวนการต่างๆ เช่น การวิเคราะห์ปริมาณ การทำให้บริสุทธิ์ การทำให้เข้มข้น การสกัด รวมทั้งสภาวะในการเก็บรักษาอาจเป็นสาเหตุของการเสื่อมสลายของสารไลโคปีนได้

Chen and others (2009) ศึกษาผลของความร้อนต่อการสลายตัวของไลโคปีน โดยนำผงมะเขือเทศผสมในน้ำกลั่นและน้ำมันคาโนลา ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80, 100, 120 และ 140 °ซ เป็นเวลา 1, 2, 3 และ 4 ชั่วโมง พบว่า ผงมะเขือเทศในน้ำกลั่นมีความคงตัวที่อุณหภูมิ 80 °ซ ซึ่งมีปริมาณไลโคปีนไม่ต่างจากเริ่มต้น ($p \leq 0.05$) และไลโคปีนมีความคงตัวสูงมากขึ้นเมื่อผงมะเขือเทศผสมอยู่ในน้ำมันคาโนลา โดยปริมาณไลโคปีนไม่เปลี่ยนแปลงที่อุณหภูมิ 80 และ 100°ซ ($p \leq 0.05$)

Sharma & Maguer (1996) ได้ทำการศึกษาการสลายตัวของไลโคปีนในเนื้อมะเขือเทศที่แยกเปลือกและเมล็ดออกแล้ว (tomato pulp) ทำแห้งโดยการให้ความร้อนที่ 100 °ซ ที่ความดันบรรยากาศ เป็นเวลา 0, 20, 40, 60, 80, 100 และ 120 นาที พบว่า ปริมาณไลโคปีนลดลงจาก 185.5 เป็น 141.5 มิลลิกรัม/มะเขือเทศ 100 กิโลกรัม หลังจากให้ความร้อนเป็นเวลา 120 นาที ซึ่งการลดลงของไลโคปีนในเนื้อมะเขือเทศนี้อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไลโคปีนไปอยู่ในไอโซเมอร์รูปแบบอื่น (isomerisation) นอกจากนี้ปัจจัยด้านแสง อากาศ และอุณหภูมิในการเก็บ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

รักษามีผลต่อการสูญเสียไลโคปีน โดยที่อุณหภูมิ 25 °ซ ในสภาวะการเก็บที่มีอากาศและแสง ทำให้เกิดการสูญเสียไลโคปีนสูงที่สุดถึงร้อยละ 76 อย่างไรก็ตามการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 °ซ ในสภาวะสุญญากาศและไม่มีแสง ทำให้เกิดการสูญเสียไลโคปีนได้เช่นกัน (สูญเสียไลโคปีนร้อยละ 16.2 เมื่อเก็บในสภาวะดังกล่าวเป็นระยะเวลา 60 วัน)

2.4 ประโยชน์ของไลโคปีน

- เป็นสารให้สีจากธรรมชาติที่สำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร
- เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เกี่ยวข้องกับสุขภาพ เช่น ป้องกันการเสื่อมสภาพของเซลล์ ชะลอความแก่ และป้องกันการเกิดออกซิเดชันในอาหาร
- ป้องกันโรค เช่น โรคมะเร็ง โรคต้อกระจก โรคหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น

3. การสกัดสารไลโคปีนจากมะเขือเทศ

3.1 การสกัดแบบดั้งเดิม (conventional extraction)

เป็นการสกัดด้วยสารทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมซึ่งเป็นเทคนิคในการแยกสารออกจากของผสม การสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid-liquid extraction) จะแยกสารอนินทรีย์ออกจากสารอินทรีย์ได้ โดยสารที่แขวนลอยในน้ำ เรียกว่า ชั้นน้ำ (aqueous layer) และที่ไม่ละลายน้ำซึ่งแยกชั้นอยู่เรียกว่า ชั้นสารอินทรีย์ (organic layer) ในการสกัดวิธีนี้นิยมทำในกรวยแยก (separatory funnel) โดยของผสมจะแยกชั้นอยู่ตามความสามารถในการละลาย คือสารอนินทรีย์หรือเกลือที่ละลายน้ำจะแตกตัวเป็นไอออนอยู่ในชั้นน้ำ ในขณะที่สารอินทรีย์จะละลายอยู่ในชั้นสารอินทรีย์ ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีประโยชน์มากในเคมีอินทรีย์ สารทำละลายที่นิยมใช้ ได้แก่ อีเทอร์ (ether) เมทิลลีนคลอไรด์ (methylene chloride) คลอโรฟอร์ม (chloroform) คาร์บอนเตตระคลอไรด์ (carbon tetrachloride) เบนซีน (benzene) และเฮกเซน (hexane)

การเลือกสารทำละลายอินทรีย์ในการสกัดอาศัยหลักการละลายที่เหมือนกัน (like dissolve like) โดยถ้าสารที่ต้องการสกัดมีความเป็นขั้วจะเลือกสารทำละลายที่มีความเป็นขั้ว หรือสารที่ต้องการสกัดเป็นสารที่ไม่มีขั้วจะเลือกสารทำละลายที่ไม่มีขั้ว การพิจารณาจะดูที่ค่าไดโพลโมเมนต์ (dipole moment) และค่าคงที่ไดอิเล็คทริก (dielectric constant) ค่าคงที่ไดอิเล็คทริกสูงแสดงว่ามีความเป็นขั้วมาก

คุณสมบัติของตัวทำละลาย

1. ต้องไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับสารละลายที่ถูกสกัด
2. ต้องไม่ทำปฏิกริยากับสารที่ต้องการสกัดหรือสารอื่นๆ ในสารละลายนั้น
3. ควรมีจุดเดือดต่ำเพื่อง่ายต่อการกำจัดในภายหลัง

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 13 ก.ย. 2555
เลขทะเบียน 249580

4. ควรเป็นสารที่ไม่มีอันตรายและราคาถูก
5. ละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี
6. มีความหนืดน้อย มีความหนาแน่นแตกต่างจากสารเริ่มต้น เพื่อให้แยกชั้นได้ดี
7. ไม่เกิดอิมัลชั่นถาวรในการสกัด ลักษณะอิมัลชั่นคือเกิดเป็นสารละลายขุ่นๆ ที่ไม่ยอมแยกเป็นสองชั้น (วรรณา กาญจนมยูร 2544)

Taungbodhitham and others (1998) ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนในน้ำมะเขือเทศกระป๋องด้วยการใช้สารทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ (ตารางที่ 4) และวิเคราะห์ปริมาณสารโดยใช้วิธีโครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พบว่า การสกัดด้วยวิธี AOAC (1984) วิธีที่ 1 และ 2 สามารถสกัดสารไลโคปีนได้มากที่สุด ($p>0.05$) ส่วนวิธีการอื่นๆ มีประสิทธิภาพในการสกัดไลโคปีนเพียงร้อยละ 50 ของวิธีที่ 1 และ 2 สำหรับการสกัดเบต้าแคโรทีนโดยทั้ง 6 วิธี ได้ปริมาณไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) นอกจากนี้ได้ศึกษาความคงตัวของไลโคปีนและเบต้าแคโรทีน พบว่า สารไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนที่สกัดจากวิธีที่ 1 และ 2 (AOAC 1984) มีความคงตัวสูงกว่าวิธีอื่นๆ อีกด้วย ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าวิธี AOAC (1984) วิธีที่ 2 ซึ่งใช้สารทำละลายอินทรีย์เอทานอลต่อเฮกเซนในอัตราส่วน 4:3 โดยปริมาตร เป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสารไลโคปีนและเบต้าแคโรทีน เนื่องจากเอทานอลเป็นสารที่มีอันตรายน้อยต่อสิ่งมีชีวิตและมีประสิทธิภาพสูงในการสกัดสารดังกล่าว

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบการสกัดด้วยสารทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆในน้ำมะเขือเทศกระป๋อง

วิธีที่	อ้างอิงจาก	สารทำละลายอินทรีย์
1	AOAC (1984)	ตัวอย่าง 2-5 กรัม สกัดด้วยอะซิโตนต่อเฮกเซน (2:3)
2	AOAC (1984)	ตัวอย่าง 2-5 กรัม สกัดด้วยเอทานอลต่อเฮกเซน (4:3)
3	Folch and others (1957)	ตัวอย่าง 2 กรัม สกัดด้วยคลอโรฟอร์มต่อเมทานอล (2:1) .
4	Chen and others (1981)	ตัวอย่าง 2 กรัม สกัดด้วยไดคลอโรมีเทนต่อเมทานอล (2:1)
5	Hara and Radin (1978)	ตัวอย่าง 2 กรัม สกัดด้วยเฮกเซนต่อไอโซโพรพานอล (3:2)
6	Hsieh and Karel (1983)	ตัวอย่าง 2-5 กรัม สกัดด้วยอะซิโตนต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ (1:1)

ที่มา : Taungbodhitham and others (1998)

Lin and Chen (2003) ศึกษาเปรียบเทียบผลของสารทำละลายชนิดต่างๆ ต่อประสิทธิภาพการสกัดไลโคปีนในน้ำมะเขือเทศ และวิเคราะห์โดยใช้วิธีโครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ผลที่ได้ดังตารางที่ 5 พบว่าการใช้เอทานอลต่อเฮกเซนในอัตราส่วน 4:3 โดยปริมาตร สามารถสกัดสารไลโคปีนได้มากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Taungbodhitham and others (1998) พบว่าการใช้สารทำละลายอินทรีย์เอทานอลต่อเฮกเซนในอัตราส่วน 4 : 3 โดยปริมาตร เป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสกัดสารไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนในน้ำมะเขือเทศกระป๋อง

ตารางที่ 5 ปริมาณไลโคปีนในน้ำมะเขือเทศที่สกัดด้วยสารทำละลายชนิดต่างๆ

ชนิดของสารทำละลายอินทรีย์	ปริมาณไลโคปีน (ไมโครกรัม/กรัมตัวอย่าง)
เอทานอลต่อเฮกเซน (4:3 v/v)	121.66
อะซิโตนต่อเฮกเซน (3:5 v/v)	71.74
เอทานอลต่ออะซิโตนต่อเฮกเซน (2:1:3 v/v/v)	96.13
เอทิลอะซีเตตต่อเฮกเซน (1:1 v/v)	77.88
เอทิลอะซีเตต	82.62

ที่มา : Lin and Chen (2003)

Olives Barba and others (2006) เปรียบเทียบการสกัดไลโคปีนและเบต้าแคโรทีน ในมะเขือเทศ ด้วยสารทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ พบว่าการใช้เฮกเซนต่ออะซิโตนต่อเอทานอล ในอัตราส่วน 2:1:1 โดยปริมาตร และวิเคราะห์โดยใช้วิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) มีปริมาณไลโคปีน 2.8-7.1 มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง

นอกจากนี้ Calvo and others (2007) ใช้สารทำละลายอินทรีย์ชนิด food grade ซึ่งมีความเป็นพิษน้อย คือ เอทานอลและเอทิลอะซีเตต สกัดไลโคปีน เบต้าแคโรทีน ไฟโทอีน และไฟโทฟลูอีน ในเปลือกมะเขือเทศ พบว่า เอทิลอะซีเตตสกัดสารไลโคปีนได้ดีกว่าเอทานอล

3.2 การสกัดโดยใช้เอนไซม์เข้าร่วม

เอนไซม์มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาในสิ่งมีชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงกว่าตัวเร่งสังเคราะห์เป็นหลายล้านเท่า นอกจากนี้เอนไซม์ยังเร่งปฏิกิริยาได้ภายในสภาวะที่ไม่รุนแรงซึ่งเหมาะสมอย่างยิ่งกับสภาวะภายในเซลล์และเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตทั่วไป (ปราณี อ่านเปรื่อง 2547)

ผนังเซลล์ (cell wall) เป็นส่วนประกอบภายนอกของเซลล์พืช มีสารพวกคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบ เช่น สารประเภทเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเพคติน เป็นต้น ซึ่งพบว่าในเนื้อเยื่อของมะเขือเทศนั้นมีสารแคโรทีนอยด์แทรกอยู่ ดังนั้นในการสกัดแคโรทีนอยด์จึงมีความจำเป็นต้องทำลายโครงสร้างพืชเหล่านั้นเพื่อทำให้แคโรทีนอยด์ละลายออกมาได้ เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด วิธีการที่ใช้ ได้แก่ วิธีการทางเคมี และการใช้เอนไซม์

วิธีการทางเคมีเป็นการใช้กรดหรือด่างในการย่อยสลาย ซึ่งเป็นสภาวะที่รุนแรงและเกิดปฏิกิริยาที่ไม่จำเพาะ ก่อให้เกิดการทำลายโครงสร้างของผลิตภัณฑ์ได้ ส่วนวิธีการใช้เอนไซม์เป็นการย่อยในสภาวะที่ไม่รุนแรง มีความจำเพาะต่อปฏิกิริยาใดปฏิกิริยาหนึ่งเท่านั้น ทำให้โอกาสเกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่ใช่ผลิตภัณฑ์หลักน้อยมาก เอนไซม์เป็นโปรตีนประเภทหนึ่ง ซึ่งสิ่งมีชีวิตผลิตขึ้นเพื่อทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ภายในเซลล์ เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีประสิทธิภาพสูง โดยต้องอยู่ในสภาวะที่เหมาะสม เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ โดยสามารถเร่งปฏิกิริยาได้เร็ว 10^{8}-10^{11} เท่า เมื่อเทียบกับปฏิกิริยาที่ไม่ใช้เอนไซม์

ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์

1) อุณหภูมิ อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์จะมีค่าเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าในทุกๆ อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น 10 °ซ อัตราการเกิดปฏิกิริยามีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิหนึ่ง เรียกว่า ค่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน (optimum temperature) เมื่ออุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าจุดนี้อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์จะช้าลง เพราะเอนไซม์เกิดการเสียสภาพ (denaturation) หรืออยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา

2) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุดที่ pH ค่าหนึ่งเรียกว่า ค่า pH ที่เหมาะสมในการทำงาน (pH optimum) ณ จุดที่ pH มีค่าสูงหรือต่ำกว่าค่านี้ กิจกรรม (activity) ของเอนไซม์จะลดลง เอนไซม์ส่วนใหญ่มี pH ที่เหมาะสมในช่วง 5-7 อย่างไรก็ตามมีเอนไซม์ที่มี pH ที่เหมาะสมต่ำมากและสูงมากก็มี เช่น pH 1.5 สำหรับเพปซิน และ pH 10.5 สำหรับแอลคาไลน์ฟอสฟาเทส

3) ความเข้มข้นของซับสเตรต (substrate) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของซับสเตรต อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์จะมีค่าสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรก และลดช้าลงเมื่อความเข้มข้นของซับสเตรทสูงขึ้น จนในที่สุดอัตราเร็วของปฏิกิริยาจะไม่เพิ่มขึ้นอีก

4) ปริมาณเอนไซม์ เมื่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาดำเนินไปจนถึงจุดสูงสุด พบว่า อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะมีค่าเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของเอนไซม์

5) ผลของสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibitor) เป็นตัวแปรหนึ่งที่ใช้ในการอธิบายกระบวนการทำงานของเอนไซม์ ความจำเพาะของเอนไซม์ต่อซับสเตรตและลักษณะของ function group ที่บริเวณ active side ทำให้เข้าใจและสามารถควบคุมกระบวนการที่เกิดขึ้นได้

ความเสถียร (stability) ของเอนไซม์ หมายถึง การที่เอนไซม์คงรูปร่างที่ทำให้สามารถทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาได้ หากเอนไซม์สูญเสียโครงรูปตามธรรมชาติดังกล่าวไปจะมีผลทำให้เอนไซม์สูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์หรือความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาไป ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า การสูญเสียสภาพธรรมชาติ (denature)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเสียสภาพของเอนไซม์ เนื่องมาจากเอนไซม์เป็นโปรตีนชนิดหนึ่ง ปัจจัยที่มีผลตอการเสียสภาพของโปรตีนจึงมีผลต่อการเสียสภาพของเอนไซม์ด้วย เช่น สภาพความเป็นกรดด่าง อุณหภูมิ รังสีอัลตร้าไวโอเลต และสารเคมี เช่น ยูเรีย และสารดีเทอร์เจนต์ ดังนั้นการทำให้เอนไซม์เสถียร ก็คือการคงรูปตามธรรมชาติของเอนไซม์ไว้ให้ได้มีหลายวิธี เช่น การเก็บเอนไซม์ที่อุณหภูมิต่ำ ตั้งแต่ -20 ถึง 4 °ซ ขึ้นกับชนิดของเอนไซม์ การเติมสารเพิ่มความเสถียร เช่น เกลือ (โซเดียมคลอไรด์หรือแอมโมเนียซัลเฟต) หรือกลีเซอรอล การเก็บในรูปผงแห้ง (lyophilized form) และการตรึงเอนไซม์ (enzyme immobilization) เป็นต้น

เอนไซม์เซลลูเลส

เซลลูเลสเป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่ย่อยเซลลูโลส (cellulolytic enzymes) ประกอบด้วยเอนไซม์ 3 กลุ่มหลัก ที่ทำงานร่วมกันและเสริมกัน ได้แก่ 1) เอนโดกลูแคเนส (EG, endoglucanase, E.C.3.2.1.4) ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลลูโลสได้เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ โดยจะย่อยภายในเซลลูโลสแบบสุ่ม 2) เอกโซกลูแคเนส (exoglucanase) หรือเซลโลไบโอไฮโดรเลส (CBH, cellobiohydrolase, E.C.3.2.1.91) ทำหน้าที่ย่อยสลายโอลิโกแซคคาไรด์ และเซลลูโลสให้เปลี่ยนเป็นเซลโลไบโอส โดยย่อยจากปลายสายทั้ง 2 ด้าน 3) เบต้า-กลูโคสิเดส (BGI, β-glucosidase, E.C.3.2.1.21) ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลโลไบโอสให้เปลี่ยนเป็นกลูโคส เอนไซม์เซลูเลสมีค่า pH ที่เหมาะสมในการทำงาน ที่ 5.5-6.0 มีความคงตัวในช่วงอุณหภูมิ 30-60 °ซ โดยเอนไซม์เซลลูเลสจะเกิดการเสียสภาพที่อุณหภูมิประมาณ 80 °ซ สามารถหาการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอนไซม์ได้โดยการวัดอัตราการเปลี่ยนจากซับสเตรตเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ ซึ่งอาจวัดอัตราการลดลงของซับสเตรตหรือการเกิดขึ้นของผลิตภัณฑ์นิยมใช้สับสเตรต ที่ละลายน้ำได้ดี เช่น คาร์บอกเมทีล-เซลลูโลส ซึ่งเป็นสับสเตรตสังเคราะห์ (ปราณี อ่านเปรื่อง 2547)

เอนไซม์เฮมิเซลลูเลส

เป็นเอนไซม์ที่ย่อยเฮมิเซลลูโลสมีหลายชนิด แต่ละชนิดย่อยเฮมิเซลลูโลสต่างชนิดกัน โดยอาจแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มที่ย่อยแกนหลัก (main chain) ของโพลิเมอร์ เช่น ไซแลนเนส (xylanase, E.C.3.2.1.8) บีตา-กลูแคเนส (β-glucanase, E.C.3.2.1.6) และแมนแนเนส (mannanase, E.C.3.2.1.78) เป็นต้น และกลุ่มที่ย่อยโซ่กิ่ง (branch chain) เช่น แอลฟา-อะราบิโนซิเดส (α-arabinosidase, E.C.3.2.1.55) แอลฟา-กาแล็กโทซิเดส (α-galactosidase, E.C.3.2.1.22) แอลฟา-กลูคูโรนิเดส (α-glucuronidase, E.C.3.2.1.139) (เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์ 2551)

เอนไซม์เพคติเนส

เพคติเนสประกอบด้วยเอนไซม์ในกลุ่มไฮโดรเลส ที่สำคัญ คือ พอลิกาแล็กทูโรเนส (PG, polygalacturonase) และเพคตินเอสเทอเรส (PE, pectin esterase) และกลุ่มไลเอส ที่สำคัญ คือ เพคเทตไลเอส (PAL, pectate lyase) และเพคตินไลเอส (PL, pectin lyase) เอนไซม์เหล่านี้เร่งปฏิกิริยาการสลายเพคตินหรือเอสเทอร์ของมัน โดยมีกลไกการย่อย ความชอบต่อสับสเตรตและผลิตภัณฑ์แตกต่างกัน (เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์ 2551) เอนไซม์พอลิกาแล็กทูโรเนสมีค่า pH ที่เหมาะสมในการทำงาน ที่ 5.0-6.5 ส่วนเพคเทตไลเอสมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการทำงาน ที่ 8.5-9.5 (ปราณี อ่านเปรื่อง 2547)

มีงานวิจัยที่นำเอนไซม์มาใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดไลโคปีนจากมะเขือเทศ ได้แก่

Sheetal and others (2007) ศึกษาการใช้เอนไซม์เซลลูเลสและเพคติเนส ในการช่วยสกัดสารไลโคปีนจากเนื้อเยื่อมะเขือเทศ โดยใช้ร่วมกับการสกัดด้วยสารทำละลายอินทรีย์ปิโตรเลียมอีเทอร์และอะซีโตน (1:1 โดยปริมาตร) และวิเคราะห์ปริมาณสารไลโคปีนที่สกัดได้ด้วยเทคนิคทางสเปคโตรสโคปีที่ความยาวคลื่น 472 นาโนเมตร โดยทำการศึกษาในส่วนต่างๆ ของมะเขือเทศ ได้แก่ มะเขือเทศทั้งผล (whole tomatoes) เปลือกมะเขือเทศ (tomato peel) มะเขือเทศเหลือทิ้งในห้องทดลอง (laboratory pulper waste) และมะเขือเทศเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม (industrial waste) พบว่า เอนไซม์เพคติเนสมีความสามารถในการช่วยสกัดสารไลโคปีนได้มากกว่าเอนไซม์เซลลูเลส ในการสกัดมะเขือเทศทั้งผล เปลือกมะเขือเทศ และมะเขือเทศเหลือทิ้งในห้องทดลอง ส่วนในมะเขือเทศเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม พบว่าเอนไซม์เซลลูเลสมีผลต่อการเพิ่มการสกัดมากกว่า โดยการใช้เอนไซม์สกัดไลโคปีนจากมะเขือเทศเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมได้ไลโคปีน 50-53 มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง (เพิ่มขึ้นร้อยละ 45-61)

Lavecchia and Zuorro (2008) พัฒนาการสกัดไลโคปีนจากเปลือกมะเขือเทศโดยการใช้เอนไซม์ในการทำลายผนังเซลล์พืช โดยศึกษาเปรียบเทียบการใช้เอนไซม์ทางการค้า 4 ชนิด ที่ประกอบด้วยกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์เพคติเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส ได้แก่ Citrozym CEO,

Citrozym Ultra L, Peclyve LI และ Peclyve EP พบว่า การใช้เอนไซม์ Peclyve LI ร่วมกับการสกัดด้วยสารทำละลายอินทรีย์ เฮกเซนต่ออะซิโตนต่อเอทานอล (2:1:1 โดยปริมาตร) สามารถสกัดไลโคปีนได้ 440 มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง โดยได้ผลผลิตไลโคปีนเพิ่มร้อยละ 236 เมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดที่ไม่ใช้เอนไซม์ และยังแสดงให้เห็นว่าการใช้เอนไซม์ผสม (mixed enzyme) มีประสิทธิภาพการสกัดดีกว่าการใช้เอนไซม์เซลลูเลสหรือเพคติเนสเพียงตัวใดตัวหนึ่ง

4. การทำแห้ง (drying)

เทคโนโลยีการทำแห้งนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารต่างๆ เนื่องจากผลิตภัณฑ์มีการเสื่อมเสียเนื่องจากเชื้อโรคน้อย ประหยัดค่าใช้จ่ายในการเก็บรักษาการขนส่งและสะดวกต่อการบริโภค ส่วนผสมของอาหารส่วนใหญ่เป็นอาหารจำพวกไวต่อความร้อน ดังนั้นเทคนิคในการทำแห้งจึงกลายเป็นสิ่งสำคัญต่อการแปรรูปอาหารจำพวกนี้ อย่างไรก็ตาม เป็นการยากที่จะเลือกใช้เทคนิคที่เหมาะสมที่สุดเพราะต้องพิจารณาปัจจัยหลายอย่างเช่น อาหารที่ไวต่อความร้อนต้องการกระบวนการอบแห้งที่ทำให้ยังคงคุณภาพอยู่ในขณะที่ใช้อุณหภูมิในการอบแห้งสูง

การทำแห้ง (drying) เป็นการใช้ความร้อนภายใต้สภาวะควบคุม เพื่อขจัดน้ำส่วนใหญ่ออกจากอาหาร โดยการระเหยหรือการระเหิดน้ำออก การทำแห้งสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การตากแดด (sun drying), การทำแห้งโดยใช้พลังงานแสงอาทิตย์ (solar drying), การทำแห้งแบบใช้ลมร้อน (hot air drying), การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งระเหิดแห้ง (freeze drying) และการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) เป็นต้น

4.1 การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying)

การทำแห้งแบบพ่นฝอย คือ กระบวนการทำแห้งที่นำอาหารที่ผ่านการทำให้ข้นมาแล้วจะถูกทำให้กระจายและกลายเป็นอนุภาคหรือหยดน้ำเล็กๆ ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 10-200 ไมโครเมตร และพ่นเข้าไปในถังอบขนาดใหญ่ที่มีกระแสของลมร้อนที่อุณหภูมิ 150-300 °ซ มีการควบคุมอัตราการส่งวัตถุดิบเพื่อให้อุณหภูมิของอากาศที่จุดทางออกเท่ากับ 90-100 °ซ การพ่นกระจายให้เป็นอนุภาคเล็กๆ (atomization) ที่สมบูรณ์และสม่ำเสมอสำคัญมากสำหรับการอบแห้งที่ดี ปัจจุบันในอุตสาหกรรมอาหารนิยมใช้กระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยในการผลิตอาหารผง เนื่องจากกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยมีข้อได้เปรียบเมื่อเทียบกับการอบแห้งชนิดอื่นคือ เป็นกระบวนการอบแห้งแบบต่อเนื่อง ใช้เวลาสั้นและสะดวกต่อการบรรจุ กระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยสามารถที่จะผลิตอาหารแห้งมากมายหลายประเภทที่มีคุณภาพสูง กระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยใช้เวลาเร็วกว่าการอบแห้งแบบลูกกลิ้งทรงกระบอก (drum drying) มากและยังถูกกว่าการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็งระเหิดแห้ง (freeze drying) ถึงครึ่งหนึ่ง ในอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้

กระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยกันอย่างกว้างขวางในการแปรรูปอาหารเหลวเป็นอาหารผง เช่น ผลิตภัณฑ์นม น้ำผลไม้ กาแฟ ผัก ไข่ เนื้อ แป้ง และอื่นๆ อีกมากมาย (Johnson 1991; Ferrary and others 1989)

ข้อได้เปรียบของการอบแห้งแบบพ่นฝอย คือ สามารถควบคุมสภาวะการอบแห้งได้โดยไม่ทำให้เกิดการสูญเสียและเสื่อมคุณภาพจากความร้อนมากจนเกินไป เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการทำแห้งในช่วงเวลาสั้นเพียงแค่วินาที เหมาะสำหรับวัตถุดิบที่ไม่ทนต่อความร้อน เช่น อาหารและยา ซึ่งต้องการการอบแห้งที่อุณหภูมิต่ำหรือภายใต้ความดัน การอบแห้งแบบพ่นฝอยในเชิงปฏิบัติแล้วให้อัตราการผลิตสูงมาก จึงทำให้ราคาค่าใช้จ่ายในการอบแห้งต่อน้ำหนักผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้จะต่ำกว่าวิธีอื่นๆ สรุปได้ว่ากระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยมีข้อดีในเรื่องของกระบวนการผลิตและการบรรจุ ดังนั้นกระบวนการนี้จึงถูกเลือกใช้ในการแปรรูปอาหารในอุตสาหกรรม (Johnson 1991) ส่วนข้อเสียของการทำแห้งแบบพ่นฝอย คือ ในการใช้งานไม่สามารถปรับเปลี่ยนหรือยืดหยุ่นให้ใช้งานได้กว้างมากนัก เนื่องจากหัวฉีดที่ออกแบบไว้จะเหมาะสำหรับผลิตภัณฑ์ขนาดเล็กๆ ไม่สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ให้มีอนุภาคขนาดใหญ่ได้และวัตถุดิบที่จะนำมาอบแห้งนั้นต้องเป็นของเหลวที่สามารถดูดส่งไปยังหัวฉีดได้ และการอบแห้งแบบนี้มีค่าใช้จ่ายในการลงทุนครั้งแรกมากกว่าเครื่องอบแห้งชนิดอื่น

4.2 การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งระเหิดแห้ง (freeze drying)

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งระเหิดแห้ง (freeze drying หรือ lyophilization) เป็นเทคนิคการทำสารให้เข้มข้นและทำให้อยู่ในรูปผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายในลักษณะผงแห้ง กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งระเหิดแห้งประกอบด้วยกระบวนการ 2 ขั้นตอน คือ ในขั้นตอนแรกผลิตภัณฑ์ถูกแช่แข็ง (freezing) เป็นการเปลี่ยนสถานะของน้ำจากสถานะของเหลวให้อยู่ในรูปของแข็ง โดยเริ่มจากการลดอุณหภูมิของน้ำจากอุณหภูมิห้องทำให้เกิดการเปลี่ยนสถานะเป็นของแข็ง ส่วนของแข็งที่ละลายน้ำอยู่นั้นมีความเข้มข้นสูงขึ้น เนื่องจากตัวทำละลายมีปริมาณลดลงทำให้สารตัวอย่างเข้มข้นมากขึ้น เมื่อปริมาณน้ำอิสระลดลงจนต่ำที่สุด (เกิดการแข็งตัวหมด) จึงเกิดการตกผลึกลงมาเป็นผลึกที่มีขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน (amorphous glass) แต่ยังมีน้ำยึดอยู่ในโครงสร้างของผลึกอยู่ (bounded water) เรียกอุณหภูมิ ณ จุดที่สารตัวอย่างเกิดการตกผลึกว่า glass transition temperature (T_G) หลังจากนั้นน้ำอิสระจะถูกกำจัดออกโดยการระเหิด ซึ่งของแข็งสามารถเปลี่ยนสถานะเป็นไอน้ำได้โดยตรงโดยไม่ต้องกลายเป็นของเหลวก่อน ในสภาพสุญญากาศการระเหิดสามารถเกิดขึ้นได้ที่อุณหภูมิ 20-50 °ซ เนื่องจากค่าความดันไอน้ำลดต่ำลงจึงสามารถขจัดน้ำอิสระออกจากสารตัวอย่างได้ที่อุณหภูมิต่ำ จากหลักการดังกล่าวทำให้สามารถลดปริมาณน้ำในตัวอย่างลงได้จนกระทั่งอยู่ในระดับที่สามารถเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ได้นานโดยที่มีการเสื่อมคุณภาพน้อยที่สุด

เนื่องจากเป็นกระบวนการทำแห้งที่ไม่ใช้ความร้อน จึงยังคงรักษาสี กลิ่น รส และคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ไว้ได้ ดังนั้นการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งระเหิดแห้งจึงเป็นกระบวนการทำแห้งที่ดีมากสำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีความไวต่อความร้อน อย่างไรก็ตามเนื่องจากราคาในการทำให้แห้งด้วยกระบวนการนี้มีต้นทุนสูง ใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง (ประมาณ 3 เท่าของการทำแห้งแบบทั่วไป) ใช้พลังงานสูง 2 - 3 เท่า และใช้เวลาในการทำแห้งแต่ละรอบนาน 24 - 48 ชั่วโมง การนำกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งระเหิดแห้งนี้ไปประยุกต์ใช้จึงถูกจำกัดในผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูง ได้แก่ ยา ยาปฏิชีวนะ เอนไซม์ ฮอร์โมนต่างๆ อาหารเสริม เป็นต้น และอาหารที่มีคุณภาพบางชนิด เช่น กาแฟ เนื้อ ปลา อาหารทะเลบางชนิด เป็นต้น

Chen and Tang (1998) ศึกษาการทำแห้งของแคโรทีนอยด์จากส่วนที่เป็นเนื้อแครอทเหลือทิ้งโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่า การใช้อุณหภูมิลมเข้า 135-145 °ซ และอุณหภูมิลมออก 90-100 °ซ และปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 15 เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำแห้ง การใช้อุณหภูมิลมเข้าสูงเป็นการลดระยะเวลาการทำแห้ง แต่อาจเป็นการเพิ่มการเสื่อมสลายของสารแคโรทีนอยด์ ได้ปริมาณ *all-trans*-α-carotene 36.48 ไมโครกรัม/กรัมผงแคโรทีนอยด์

Wang and Chen (2006) ศึกษาการทำแห้งของไลโคปีนที่สกัดจากส่วนที่เป็นเนื้อมะเขือเทศโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งระเหิดแห้งที่อุณหภูมิแช่แข็ง -30 °ซ ได้ปริมาณไลโคปีน 24.7 ไมโครกรัม/กรัมผงไลโคปีน

สุเมธ ตันตระเธียร และพรเทพ เมฆารักษ์ภิญโญ (2546) ศึกษาผลของวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมออก 60-90 °ซ เปรียบเทียบกับการทำแห้งแบบเยือกแข็งระเหิดแห้งที่อุณหภูมิแช่แข็ง -5 และ -20 °ซ พบว่า การทำแห้งแบบเยือกแข็งระเหิดแห้งทำให้ได้โยเกิร์ตผงที่มีคุณสมบัติด้านสี อัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรีย ผลผลิตกรดแลคติค ระดับคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสดีกว่าแบบพ่นฝอย และปัจจัยของอุณหภูมิที่ใช้ในการแช่แข็งที่ลดลง มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติค ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ยังติดตามการเปลี่ยนแปลงด้านต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้นในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ เร่ง (37 °ซ) ตลอด 10 สัปดาห์พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงด้านสี ระดับคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่น-รส ความเปรี้ยว ลักษณะปรากฏ และเนื้อสัมผัส ($p > 0.05$) แต่อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียผลิตกรดแลคติค รา ยีสต์ ระดับคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัส ด้าน สี และการยอมรับโดยรวม จะลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บมากขึ้น ส่วนปริมาณความชื้นจะเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บนานขึ้น ($p \leq 0.05$)

5. การวิเคราะห์ปริมาณไลโคปีน

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารไลโคปีนที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย 2 วิธี คือการวิเคราะห์สารด้วยการวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์และการวิเคราะห์สารด้วยโครมาโทกราฟี-ของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

5.1 การวิเคราะห์สารโดยการวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

เป็นวิธีที่อาศัยหลักการการดูดกลืนหรือการส่องผ่านคลื่นแสงของสาร โดยสารบริสุทธิ์ใดๆ จะมีคุณสมบัติดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นช่วงหนึ่งหรือหลายช่วงคลื่นขึ้นกับโครงสร้างของสารแต่ละชนิด เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer วัดความยาวคลื่นในช่วง 200-800 นาโนเมตร ซึ่งอยู่ในช่วงรังสีอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิล (UV-Vis) สามารถจำแนกชนิดของสารได้เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงสถานะของอิเลคตรอนวงนอกสุด (valence electron) โดยเกิดจากการที่สารอินทรีย์ดูดกลืนรังสีอัลตร้าไวโอเลตหรือวิสิเบิลเข้าไป ซึ่งการเปลี่ยนสถานะของอิเลคตรอนแต่ละชนิดของสารอินทรีย์จะให้พลังงานในการเกิดแตกต่างกัน จึงทำให้เกิดเป็นแถบดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแตกต่างกัน

เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์มีส่วนประกอบหลักที่สำคัญดังนี้

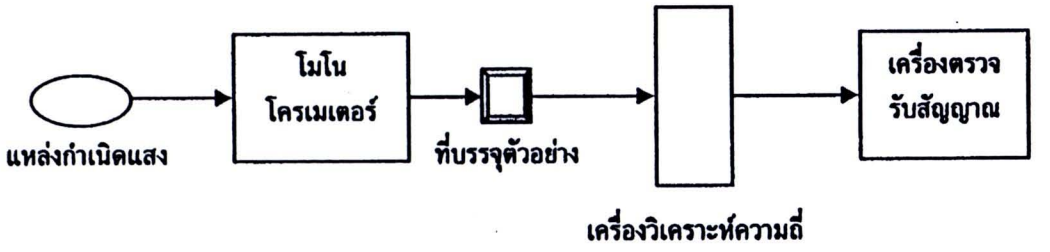
1. แหล่งกำเนิดแสง (light source) นิยมใช้แหล่งกำเนิดแสงจากหลอดไฮโดรเจนและหลอดดิวเทเรียมสำหรับวัดช่วงแสงยูวี (160-360 นาโนเมตร) และถ้าต้องการช่วงความยาวคลื่นถึงช่วงยูวี-วิสิเบิล (200-800 นาโนเมตร) จะใช้หลอดทังสเตน

2. monochromator เป็นส่วนสำคัญที่ทำหน้าที่แยกองค์ประกอบของแสงที่มีความยาวคลื่นต่อเนื่องให้เป็นลำแสงที่มีความยาวคลื่นเดี่ยว

3. ที่บรรจุตัวอย่าง

4. เครื่องวิเคราะห์ความถี่ (frequency analyzer)

5. เครื่องตรวจวัด (detector)



ภาพที่ 6 แผนภาพแสดงส่วนประกอบเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์
ที่มา : ลาวัลย์ ศรีพงษ์ (2543)

งานวิจัยของ Sheetal and others (2007) วิเคราะห์ปริมาณสารไลโคปีนที่สกัดได้จากเนื้อเยื่อมะเขือเทศด้วยเทคนิคทางสเปคโตรสโคปีวัดค่าการดูดกลืนแสงเปรียบเทียบกับปิโตรเลียมอีเทอร์ (สารอ้างอิง) ที่ความยาวคลื่น 445 472 และ 502 นาโนเมตร และ Lavecchia and Zuorro (2008) ใช้เทคนิคทางสเปคโตรสโคปีในการวัดปริมาณไลโคปีนที่สกัดจากเปลือกมะเขือเทศ วัดค่าการดูดกลืนแสงเปรียบเทียบกับเฮกเซน (สารอ้างอิง) ที่ความยาวคลื่น 503 นาโนเมตร

5.2 การวิเคราะห์สารด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

เป็นเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ โดยระบบการแยกสารอาศัยการกระจายตัวที่แตกต่างกันของสารในเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) และเฟสคงที่ (stationary phase) การแยกของสารเป็นผลของแรงที่เกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลของสารกับโมเลกุลของเฟสในแต่ละเฟส ซึ่งเป็นแรงที่เกิดจากสมบัติทางกายภาพและทางเคมีทำให้สารแยกออกจากกันได้ ส่วนประกอบของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ได้รับการพัฒนาในรูปแบบที่ทันสมัยมากขึ้น โดยมีส่วนประกอบที่สำคัญหลายอย่าง ดังแสดงในภาพที่ 7

องค์ประกอบของเครื่อง HPLC ได้แก่ (แม้น อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม 2534)

1. ภาชนะบรรจุเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase reservoir) เป็นขวดที่ใช้บรรจุตัวทำละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ก่อนที่จะถูกปั๊มเข้าสู่ระบบโครมาโทกราฟี โดยทั่วไปการเลือกใช้จะขึ้นกับชนิดตัวอย่างและคอลัมภ์ที่ใช้

2. เครื่องปั๊ม (pump) ทำหน้าที่ขับดันสารละลายเฟสเคลื่อนที่เข้าสู่คอลัมภ์ และภายในคอลัมภ์ประกอบด้วยอนุภาคขนาดเล็ก ทำให้เกิดความต้านทานการไหล จึงจำเป็นที่จะต้องใช้ความดันสูงเพื่อดันเฟสเคลื่อนที่ให้ไหลออกไป

3. ระบบฉีด (injector) เป็นการนำสารละลายตัวอย่างเข้าที่ตำแหน่งคอลัมภ์

4. คอลัมน์ (column) เป็นหัวใจสำคัญของโครมาโทกราฟี ประสิทธิภาพในการแยกจะขึ้นอยู่กับ packing material ที่ใช้ และวิธีการบรรจุคอลัมน์ คอลัมน์ที่ใช้จะมีความแตกต่างกันขึ้นกับบริษัทผู้ผลิต อาจจำแนกชนิดคอลัมน์และคุณสมบัติต่างๆ ได้ดังนี้

1) การแยกคอลัมน์ตามความแตกต่างของเทคนิควิเคราะห์ ได้แก่ reversed-phase ใช้คอลัมน์ชนิด C_{18} ส่วน normal phase ใช้คอลัมน์ชนิด silica เป็นต้น

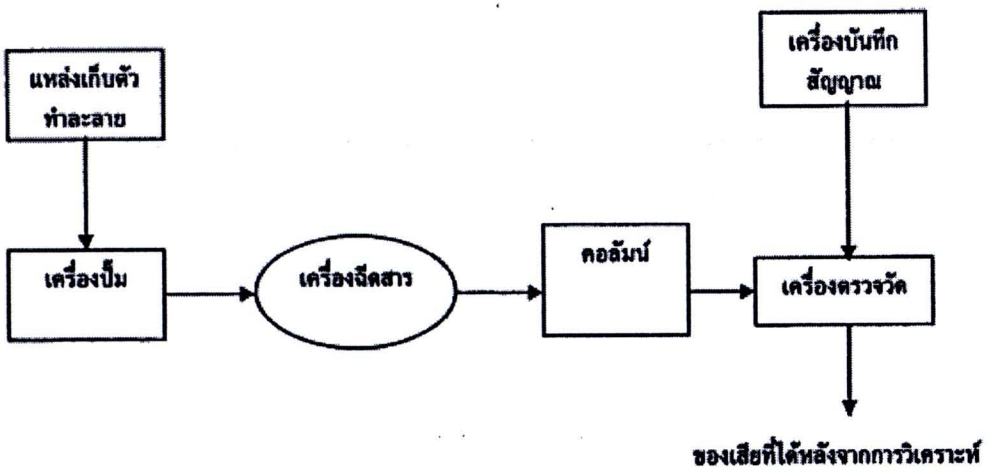
2) การแยกคอลัมน์ตามความแตกต่างของเฟสคงที่ เช่น เฟสคงที่ชนิด cyano, phenyl, alkyl phase (C_8, C_{18}) เป็นต้น

3) การแยกคอลัมน์ตามชนิดของสารแยกที่บรรจุในคอลัมน์ (packing material) ส่วนมากคอลัมน์โดยทั่วไปจะใช้สารแยกที่บรรจุในคอลัมน์เป็น porous silica อย่างไรก็ตามก็มีการใช้สารแยกอื่นบรรจุในคอลัมน์ เช่น polystyrene และ polyethylene oxide เป็นต้น

5. เครื่องตรวจวัด (detector) เป็นตัวตรวจวัดปริมาณสารที่ออกมาจากคอลัมน์ ซึ่งชนิดของเครื่องตรวจวัดมีหลายประเภท เช่น เครื่องตรวจวัดการดูดกลืนแสงอัลตร้าไวโอเลต-วิสิเบิล (UV-Vis detector), เครื่องตรวจวัดการดูดกลืนแสงฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent detector) เป็นต้น

6. เครื่องบันทึกสัญญาณ รับสัญญาณจากเครื่องตรวจวัดแล้วแปลงสัญญาณเข้าสู่เครื่องบันทึกสัญญาณ แสดงผลออกมาเป็นโครมาโทแกรมหรือคำนวณผลการวิเคราะห์โดยคอมพิวเตอร์ต่อไป

เทคนิคนี้มีข้อดีคือ สามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างได้หลายชนิด เครื่องมือเป็นแบบอัตโนมัติ วิเคราะห์หาปริมาณสารได้ง่าย ให้ผลรวดเร็ว แม่นยำและมีประสิทธิภาพสูง แต่มีข้อเสียคือ ราคาค่อนข้างแพง ต้องใช้ความรู้และความชำนาญสูงในการวิเคราะห์ (ศักดิ์สิทธิ์ จันทร์ไทย 2541)



ภาพที่ 7 แผนผังเครื่องมือโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)
ที่มา : พัฒนา เหล่าไพบูลย์ (2547)

ปัจจุบันเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) สามารถประยุกต์ใช้ประโยชน์ในงานวิเคราะห์ได้อย่างกว้างขวาง ยกตัวอย่างในการวิเคราะห์สารไลโคปีนและเบต้าแคโรทีน เช่น Gama and others (2006) วิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ในมะเขือเทศและผลิตภัณฑ์มะเขือเทศ โดยใช้คอลัมน์ C_{18} เฟสเคลื่อนที่ คือ อะซิโตไนไตรล์ เมทานอล และเอทิลอะซีเตต Olives Barba and others (2006) ตรวจวิเคราะห์ไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนในผักและผลไม้ โดยใช้คอลัมน์ C_{18} เฟสเคลื่อนที่ คือ เมทานอล อะซิโตไนไตรล์ และ Shi and others (2009) วิเคราะห์ไลโคปีนจาก

เปลือกมะเขือเทศโดยใช้คอลัมน์ C_{30} เฟสเคลื่อนที่ คือ เมทิลเทอร์เชียรีบิวทิลอีเทอร์ (MTBE) เมทานอล และเอทิลอะซีเตต

Rao and others (1998) ศึกษาเปรียบเทียบการวิเคราะห์ปริมาณสารไลโคปีนในมะเขือเทศและผลิตภัณฑ์มะเขือเทศ โดยใช้เทคนิคสเปคโตรสโคปี (spectroscopy) และโครมาโทกราฟี-ของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) (ตารางที่ 6) ให้ผลที่แตกต่างกันเฉลี่ยร้อยละ 11 ซึ่งการวิเคราะห์สารด้วยเทคนิคทางสเปคโตรสโคปี (spectroscopy) เป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและรวดเร็วกว่าเทคนิค HPLC เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ที่ทำเป็นประจำและต้องการผลที่รวดเร็ว แต่ HPLC มีประสิทธิภาพในการแยกและบ่งชี้สารที่ต้องการวิเคราะห์ได้ดีกว่า และมีราคาแพงกว่า การเลือกใช้วิธีการวิเคราะห์จึงขึ้นกับวัตถุประสงค์ของการทดลอง

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบการวิเคราะห์ปริมาณไลโคปีนโดยวิธีทางสเปคโตรสโคปี และโครมาโทกราฟี-ของเหลวสมรรถนะสูง

ผลิตภัณฑ์	ปริมาณไลโคปีน (ppm)	
	สเปคโตรสโคปี	โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
น้ำมะเขือเทศเข้มข้น	101.6 ± 0.6	116.9
ซอสมะเขือเทศ	130.6 ± 1.2	156.7
น้ำซอสชนิดข้น (ketchup)	123.9 ± 2.1	114.9
ซุปเข้มข้น (condensed soup)	72.7 ± 0.2	75.8
มะเขือเทศเข้มข้น	365.0 ± 3.6	343.1
ซอสพริก	168.3 ± 1.6	191.7

ที่มา : Rao and others (1998)

6. การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity)

อนุมูลอิสระ (free radical) หมายถึง สารใดๆ ก็ตามซึ่งมีอิเลคตรอนที่ไม่ได้จับคู่ (unpaired electron) มากกว่าหรือเท่ากับหนึ่งอิเลคตรอนในวงโคจรของโมเลกุล อนุมูลอิสระส่วนมากเป็นสารที่ไม่เสถียร โดยทั่วไปจะทำปฏิกิริยากับสารอื่นใน 2 รูปแบบ ได้แก่ การดึงอะตอมของไฮโดรเจนมาจากโมเลกุลของสารข้างเคียง และการเพิ่มอะตอมของออกซิเจนเข้าไปเพื่อให้เกิดเป็นอนุมูลเพอร์ออกซิล (peroxyl radical) นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังสามารถทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่ ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายอย่างต่อเนื่อง

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นสารที่สามารถชะลอหรือยับยั้งการเกิดกระบวนการออกซิเดชัน โดยจะทำหน้าที่เป็นผู้ให้อิเลคตรอน ขับไล่อนุมูลอิสระ จับตัวกับโลหะที่กระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือลดการก่อตัวของ singlet oxygen ซึ่งเป็นออกซิเจนที่พร้อมจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (นวลศรี รักอริยะธรรม และอัญชนา เจนวิถีสุข 2545)

วิธีทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

1) ABTS free radical decolorization assay (ABTS assay)

ABTS assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สาร 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonicacid) หรือ ABTS มีสูตรโมเลกุล $C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$ ซึ่งเมื่อละลายน้ำจะได้สารละลายสีเขียวอ่อน แต่เมื่อถูกทำให้เป็นอนุมูลอิสระโดยการถูกออกซิไดซ์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ให้กลายเป็น $ABTS^{+\cdot}$ จะได้อนุมูลที่มีสีเขียวเข้ม ดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 660, 734 และ 820 นาโนเมตร แต่จะนิยมวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร ซึ่งความยาวคลื่นนี้จะมีการรบกวนต่างๆน้อยมาก วัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารทดสอบที่มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระลงไป จะทำให้ $ABTS^{+\cdot}$ ลดลง ดังนั้นจึงทำให้สีจางลง และสามารถนำไปคำนวณเป็น % inhibition ได้ตามสมการที่ 1

$$\% \text{ Inhibition} = [(A734 \text{ control} - A\ 734 \text{ test sample}) / A\ 734 \text{ control}] \times 10 \quad \text{.....สมการที่ 1}$$

ผลการวิเคราะห์จะรายงานโดยเทียบหาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน เช่น โทรล็อก ก็จะได้เป็น TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity)

ข้อดีของวิธีนี้ คือ ทำได้ง่าย อนุมูล $ABTS^{+\cdot}$ จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารต้านอนุมูลอิสระ อนุมูล $ABTS^{+\cdot}$ ละลายได้ทั้งในน้ำและสารทำละลายอินทรีย์ จึงทำให้ศึกษาได้ทั้งในสารที่ละลายในน้ำหรือละลายในไขมัน (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ 2549)

2) Reducing power

ความสามารถของการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (oxidation-reduction) ของสารที่ต้องการทดสอบ สามารถใช้ในการหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ วิธีนี้เป็นการศึกษาความสามารถในการรีดิวซ์หรือให้อิเล็กตรอนของสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบแก่สารอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้นภายในระบบ โดยสารที่ต้องการทดสอบจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระแล้วทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัว โดยอาศัยจากการวัดปฏิกิริยารีดักชัน ของ $Fe^{3+}(CN^{-})_6$ ไปเป็น $Fe^{2+}(CN^{-})_6$ ซึ่งจะทำให้มีสีน้ำเงินที่เข้มขึ้น สามารถตรวจสอบความสามารถในการรรีดิวซ์ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นแสดงถึง ความสามารถในการรีดิวซ์ที่มากขึ้น

Ramandeep and Geoffrey (2005) ศึกษาปริมาณ antioxidants และ antioxidant activity โดยวิธี ABTS assay ในส่วนต่างๆของมะเขือเทศ ได้แก่ เปลือกมะเขือเทศ เมล็ด และเนื้อมะเขือเทศ พบว่าในส่วนเปลือกและเมล็ดยังมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระอยู่ในปริมาณสูง ซึ่งเป็นส่วนที่ถูกกำจัดทิ้งเมื่อบริโภค ดังนั้นหากมีการนำส่วนเหลือใช้ดังกล่าวมาทำการสกัดสารไลโคปีนและสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ ซึ่งสามารถนำสารสกัดไปเสริมลงในผลิตภัณฑ์ต่างๆ เป็นการเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ได้

Chang and others (2006) ศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติของมะเขือเทศสด มะเขือเทศผ่านการทำแห้งโดยวิธีแช่แข็งระเหิดแห้ง (freeze drying) และการใช้กระแสลมร้อน (hot air drying) ต่อปริมาณวิตามินซี (ascorbic acid) สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และไลโคปีน อีกทั้งวัดกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี reducing power, ferrous ion chelating ability (FICA) และ DPPH scavenging activity พบว่ามะเขือเทศสดมีปริมาณวิตามินซีสูงที่สุดเท่ากับ 70-85 มิลลิกรัม/100 กรัม และมะเขือเทศผ่านการทำแห้งโดยใช้กระแสลมร้อน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และไลโคปีน สูงที่สุดเท่ากับ 0.43-0.44 มก. กรดแกลลิก/กรัม, 8.4-8.9 มก.คาเทชิน/100 กรัม และ 5.8-8.9 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ ส่วนการวัดกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้วิธี FICA และ DPPH scavenging activity พบว่ามะเขือเทศผ่านการทำแห้งโดยใช้กระแสลมร้อน มีค่าสูงสุดเท่ากับร้อยละ 92-93 และ 99 ตามลำดับ วิธี reducing power พบว่ามะเขือเทศผ่านการทำแห้งโดยวิธีแช่แข็งระเหิดแห้งมีค่าสูงสุด ส่วนมะเขือเทศสดมีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และไลโคปีน อาจจะส่งผลต่อการเพิ่มคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

Giuseppe and others (2007) ศึกษาปริมาณและความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระของเบต้าแคโรทีนและไลโคปีนในส่วนที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำของมะเขือเทศสายพันธุ์ต่างๆ ที่นิยมบริโภคสดและใช้ในอุตสาหกรรมการแปรรูปมะเขือเทศ โดยใช้วิธี ABTS และ DMPD ในการวัดกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ สรุปได้ว่าปริมาณแคโรทีนอยด์เปลี่ยนแปลงได้ขึ้นกับสายพันธุ์ วิธีการปลูก เทคโนโลยีที่ใช้ และสิ่งแวดล้อม และพบว่าสารสกัดในส่วนที่ไม่ละลายน้ำของมะเขือเทศมีปริมาณแคโรทีนอยด์และแสดงกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูง