

บทที่ 2

ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

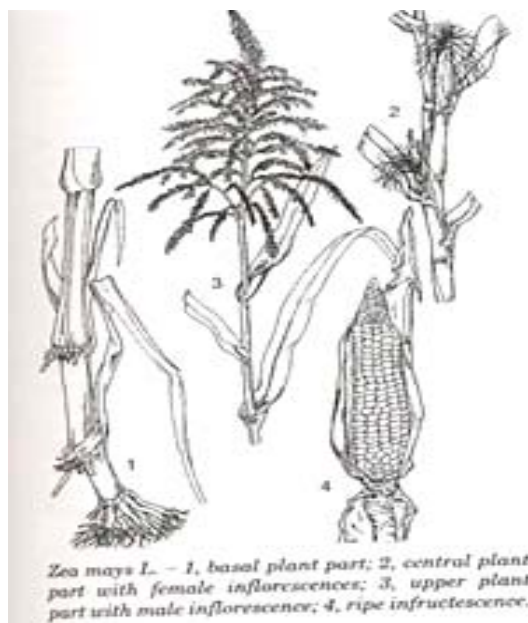
2.1 ข้าวโพด

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ข้าวโพดมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays* L. มีถิ่นกำเนิดในประเทศเม็กซิโก ข้าวโพดเป็นธัญพืชที่มีปริมาณการผลิตทั่วโลกมากเป็นอันดับสอง รองจากข้าวสาลี สำหรับประเทศที่ผลิตข้าวโพดได้มากที่สุด คือประเทศสหรัฐอเมริกา โดยผลิตได้มากเกือบครึ่งหนึ่งของปริมาณที่ผลิตได้ทั่วโลก รองลงมาคือประเทศจีน และบราซิล

ข้าวโพดเป็นพืชปีเดียว ลำต้นสูงตั้งตรง ความสูงประมาณ 2-3 เมตร ระบบรากเป็นแบบระบบรากฝอย มีรากพิเศษเจริญจากข้อล่างๆ ของลำต้น ทั้งส่วนที่อยู่เหนือดินและใต้ดิน โดยทั่วไปมักพบรากพิเศษอยู่สูงจากลำต้นเหนือดินไม่เกิน 75 เซนติเมตร รากแต่ละรากสามารถเจริญเติบโตลงดินได้ยาวถึง 200 เซนติเมตรหรือมากกว่าลำต้นเจริญเป็นต้นเดี่ยวตั้งตรงแข็งแรง เห็นข้อและปล้องชัดเจน มีใบจำนวน 12-20 ใบ การเรียงใบแบบสลับ เจริญออกมาจากทางด้านข้างของลำต้น โดยมีกาบใบหุ้มซ้อนกันทางด้านนอกของลำต้น มีซี่หวีใบอยู่ทางด้านบนของกาบใบ แผ่นใบเป็นรูปแถบคล้ายหอก ยาวประมาณ 30-150 เซนติเมตร กว้าง 5-15 เซนติเมตร ปลายใบเรียวแหลม มีเส้นใบหลักอยู่ตรงกลางแผ่นใบ เส้นใบสีไม่มีสีเขียวประมาณ 5 มิลลิเมตร ช่อดอกเพศผู้และช่อดอกเพศเมียอยู่บนต้นเดียวกันแต่ต่างตำแหน่งกัน ช่อดอกเพศผู้เป็นช่อดอกแบบแยกแขนง อยู่ตรงส่วนปลายสุดของลำต้น มีความยาวประมาณ 40 เซนติเมตร มีช่อดอกย่อยแตกแขนงออกจากแกนกลางจำนวนหลายช่อ มีช่อดอกย่อยแบบช่อเชิงหลั่นเจริญออกมาจากทางด้านข้างของช่อดอกย่อยเหล่านี้ ช่อดอกย่อยที่แยกแขนงออกมานี้ประกอบด้วย ช่อดอกย่อยที่ไม่มีก้านดอกย่อย 1 ช่อ และช่อดอกย่อยที่มีก้านดอกสั้นๆ 1 ช่อ แต่ละช่อมีความยาว 8-13 เซนติเมตร ประกอบด้วยกาบช่อดอกย่อย 2 กาบ และดอกย่อย 2 ดอก แต่ละดอกมีกาบล่างรูปไข่ 1 กาบ กาบบนผอมบาง 1 กาบ กลีบเกล็ดอ่อนนุ่ม 2 กลีบ เกสรเพศผู้ 3 อันช่อดอกเพศเมียเป็นแบบช่อเชิงหลั่นมีประมาณ 1-3 ช่อต่อดัน พัฒนาขึ้นมาเป็นบริเวณชอกใบของใบที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ซึ่งอยู่ที่ระดับกึ่งกลางความสูงของลำต้น ประกอบด้วยดอกย่อยที่ไม่มีก้านดอกย่อยอยู่ติดกันเป็นคู่ มีกาบช่อดอกย่อย 2 กาบ หุ้มดอกย่อยทั้งสองไว้ ดอกย่อยที่อยู่ด้านล่างเป็นหมัน ดอกย่อยที่อยู่ทางด้านบนมีกาบล่างและกาบบนขนาดใหญ่ มีเกสรเพศเมีย 1 อัน ประกอบด้วยรังไข่ 1 อัน และก้านเกสรเพศเมียที่เป็นเส้นผอมยาว เรียกว่าเส้นไหม อาจยาวได้ถึง 45 เซนติเมตร ซึ่งเจริญโผล่ออกมาทางด้านบนของช่อดอกช่อดอกเพศเมียที่ดอกย่อยได้รับการปฏิสนธิแล้วจะพัฒนาเป็นฝัก ซึ่งถูกห่อหุ้มด้วยเปลือกนอก ฝักมีความยาวตั้งแต่ 8-12 เซนติเมตร กว้าง 3-7.5 เซนติเมตร ผลเป็นผลแบบธัญพืช (caryopsis) แต่นิยมเรียกว่าเมล็ด มีจำนวนประมาณ 30-100 เมล็ด

ต่อฝัก ลักษณะรูปร่างคล้ายรูปไข่กลับแผ่แบน มีสีขาว เหลืองอ่อน เหลืองสด เหลืองเข้ม แดง ม่วง และเกือบดำ (Koopmans et al., 1996) ดังภาพที่ 2.1 และ 2.2



ภาพที่ 2.1 แสดงลักษณะส่วนต่างๆ ของข้าวโพด (*Zea mays*) ประกอบด้วย 1. ส่วนโคนลำต้น 2. ส่วนกลางลำต้นที่มีช่อดอกเพศเมียเจริญออกมา 3. ส่วนปลายยอดสุดของลำต้นที่มีช่อดอกเพศผู้ 4. ฝักแก่ที่เจริญจากช่อดอกเพศเมีย

ที่มา: Koopmans et al., 1996



ภาพที่ 2.2 แสดงส่วนต่างๆ ของลำต้นข้าวโพด ที่ประกอบด้วยใบ ช่อดอกเพศเมีย ช่อดอกเพศผู้ และฝักที่มีผลและเมล็ด ติดอยู่ โดยมีเปลือกหุ้มฝักไว้หลายชั้น

ที่มา: Koopmans et al., 1996

2.1.2 โครงสร้างของเมล็ดข้าวโพด

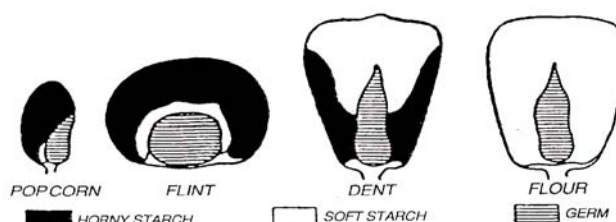
เมล็ดข้าวโพด ประกอบด้วย 4 ส่วนหลักคือ (ภาพที่ 2.10 และ 2.11)

2.1.2.1 เอนโดสเปิร์ม (endosperm) ภายในจะประกอบด้วยแป้งซึ่งเป็นแหล่งให้พลังงานและโปรตีนสำหรับพัฒนาเป็นเมล็ด เอนโดสเปิร์มยังจำแนกเป็น 2 ชนิด คือชนิดโปร่งแสง (translucent) และชนิดทึบแสง (opaque) ซึ่งการป้อนของเมล็ดข้าวโพดนั้น เอนโดสเปิร์มจะต้องเป็นชนิดโปร่งแสง ดังนั้นเอนโดสเปิร์มในเมล็ดข้าวโพดป้อนคอร์นส่วนใหญ่จึงเป็นชนิดโปร่งแสง

2.1.2.2 เปลือกหุ้มเมล็ด (pericarp) เป็นส่วนที่อยู่ด้านนอกสุดทำหน้าที่ในการช่วยป้องกันแมลงและจุลินทรีย์ต่างๆ สำหรับเมล็ดข้าวโพดป้อนคอร์นแล้ว เปลือกหุ้มเมล็ดจะมีความแข็งแรงมากสามารถทนต่อความดันได้สูงและปราศจากรู พรุนทำให้น้ำและไอน้ำไม่สามารถผ่านเข้าออกได้ ซึ่งแตกต่างจากเมล็ดข้าวโพดพันธุ์อื่น

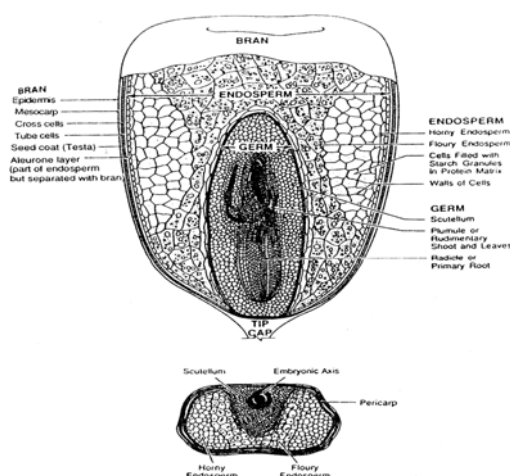
2.1.2.3 เจริม (germ) เป็นส่วนที่ประกอบด้วยข้อมูลทางพันธุกรรม เอนไซม์ วิตามิน และแร่ธาตุเพื่อให้เมล็ดข้าวโพดเจริญเติบโตเป็นต้นข้าวโพดต่อไป

2.1.2.4 บริเวณปลายเมล็ด (tip cap) เป็นบริเวณที่ไม่มีเปลือกหุ้มเมล็ดปกคลุม เพราะเป็นส่วนที่ยึดติดกับช่ข้าวโพด



ภาพที่ 2.3 เมล็ดข้าวโพดพันธุ์ต่างๆ

ที่มา: Johnson, 1991



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของเมล็ดข้าวโพด

ที่มา: Frame, 1994

สีของเมล็ดข้าวโพดขึ้นอยู่กับสารสีในเอนโดสเปิร์ม(endosperm) ชั้นแอลิวโรน (aleurone layer) และผนังผล (pericarp) เมล็ดข้าวโพดที่มีสีเหลืองถูกควบคุมด้วยยีนที่ทำให้เอนโดสเปิร์มมีสีเหลือง แต่ผนังผลใสไม่มีสี ส่วนเมล็ดข้าวโพดที่มีสีอื่นถูกควบคุมโดยยีนที่ผนังผลนั้นมีสีแดง ส้ม น้ำตาล และสีอื่นๆ ส่วนยีนที่ควบคุมสีในชั้นแอลิวโรนนั้นมีทั้งสีแดง ม่วง ฟ้ำ ทอง และน้ำตาล และในเมล็ดข้าวโพดบางพันธุ์อาจมียีนที่ควบคุมสีต่างๆ ทั้งในเอนโดสเปิร์ม ชั้นแอลิวโรน และผนังผลรวมกัน เมล็ดข้าวโพดที่มีสีดำเกิดจากการมีผนังผลสีแดงเข้ม มีชั้นแอลิวโรนสีน้ำเงินและน้ำตาลส่วนเมล็ดข้าวโพดที่มีสีเขียวนั้นเกิดจากการมีชั้นแอลิวโรนสีฟ้าอยู่ทางด้านนอกของเอนโดสเปิร์มที่มีสีเหลือง (Levetin and McMahon, 2003)

2.1.3 คุณค่าทางอาหารของข้าวโพด

ข้าวโพดที่มีสีเหลืองอุดมไปด้วยโปรวิตามินเอ (provitamin A) ซึ่งสามารถเปลี่ยนรูปเป็นคริปโทแซนทีน (cryptoxanthin) โดยวิตามินที่พบในข้าวโพดทั้งหมดถูกพบที่ชั้นเนื้อเยื่อซึ่งอยู่ล้อมรอบเอนโดสเปิร์มและชั้นแอลิวโรน (aleurone layer) แป้งข้าวโพดมีคุณสมบัติที่ไม่เหมาะสมต่อการผลิตขนมปัง เนื่องจากขาดกลูเตน (gluten) ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบเป็นปริมาณมากในข้าวสาลี เมล็ดข้าวโพด 1,000 เมล็ดหนักประมาณ 250-300 กรัม (Koopmans et al., 1996)

ส่วนประกอบของเมล็ดข้าวโพดที่สามารถรับประทานได้หนัก 100 กรัม ประกอบด้วย น้ำ 10 กรัม โปรตีน 10 กรัม ไขมัน 4.5 กรัม คาร์โบไฮเดรต 70 กรัม เส้นใย 2 กรัม เถ้า 2 กรัม พลังงานเฉลี่ย 1,525 กิโลจูลต่อ 100 กรัม มีโปรตีนชนิดซีน (zein) ร้อยละ 6-15 และได้มีการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้ยีน Opaque-2 ให้มีการสร้างกรดอะมิโนที่จำเป็นในปริมาณสูงสองชนิด คือทริปโทเฟน (tryptophane) และไลซีน (lysine) แป้งที่เก็บสะสมไว้ในเอนโดสเปิร์มประกอบด้วยเอมิโลเพคตินร้อยละ 67 เอมิโลสร้อยละ 33 เอนโดสเปิร์มมีน้ำหนักประมาณร้อยละ 80 ของน้ำหนักเมล็ด มีฟอสฟอรัส และแคลเซียมน้อย มีโปรตีนร้อยละ 67 ของโปรตีนทั้งหมดที่พบในเมล็ด มีปริมาณของไขมันและเกลือแร่ที่พบในจมูกข้าวหรือเอ็มบริโอมากกว่าร้อยละ 80 ของที่พบทั้งหมดในเมล็ด โดยเอ็มบริโอมีน้ำหนักประมาณร้อยละ 12 ของน้ำหนักเมล็ดทั้งหมด

ข้าวโพดจัดเป็นอาหารจำพวกแป้งเช่นเดียวกับข้าว ประกอบด้วยสารอาหาร คาร์โบไฮเดรตและไขมันที่เพียงพอ แต่มีปริมาณสารอาหารโปรตีนต่ำ ข้าวโพดมีวิตามินบีต่างๆ เช่น วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 และไนอาซินในปริมาณต่ำ รวมทั้งปริมาณแคลเซียมและเหล็กด้วย และพบว่าวิตามินเอมีเฉพาะในข้าวโพดสีเหลือง

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณของสารอาหารในเมล็ดข้าวโพดน้ำหนัก 100 กรัม

พลังงาน	(Energy)	ปริมาณ	แคลอรี
ไขมัน	(Fat)	0.1	กรัม
คาร์โบไฮเดรต	(Carbohydrate)	905	กรัม
เส้นใย	(Fiber)	0.2	กรัม
โปรตีน	(Protein)	3.3	กรัม
แคลเซียม	(Calcium)	15	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	(Phosphorus)	66	มิลลิกรัม
เหล็ก	(Iron)	0.5	มิลลิกรัม
ไนอาซิน	(Niacin)	0.3	มิลลิกรัม
วิตามินเอ	(Vitamin A)	129	หน่วยสากล
วิตามินบี 1	(Vitamin B1)	0.06	มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	(Vitamin B2)	0.12	มิลลิกรัม
วิตามินซี	(Vitamin C)	12	มิลลิกรัม

2.1.3 การใช้ประโยชน์

ข้าวโพดถูกนำมาใช้ประโยชน์ ใน 3 รูปแบบ (McMahon, 2003) คือ

2.1.3.1 นำมาใช้เป็นอาหารของมนุษย์ โดยประเทศกำลังพัฒนาใช้ข้าวโพดเป็นอาหารถึงร้อยละ 40 ประเทศพัฒนาแล้วใช้ข้าวโพดเป็นอาหารร้อยละ 14 กลุ่มประเทศในยุโรปตะวันออกใช้ข้าวโพดเป็นอาหารร้อยละ 4 ประเทศที่มีการรับประทานข้าวโพดและผลิตภัณฑ์จากข้าวโพด ได้แก่ บางส่วนของอดีตสหภาพโซเวียต ทวีปเอเชีย ทวีปแอฟริกา และอเมริกากลาง

การนำข้าวโพดมาบริโภคเป็นอาหารของมนุษย์นั้น มีการเตรียมได้หลายวิธีตั้งแต่รับประทานฝักดิบสดในบางสายพันธุ์ การต้ม การปิ้ง การอบเพื่อรับประทานทั้งฝัก การหมัก การบดหรือโหลกให้แตกแล้วนำไปต้มเป็นข้าวต้ม การนำมาทำเป็นขนมปังและเบเกอรี่ต่างๆ รวมทั้งการแปรรูปโดยให้ความร้อนแก่เมล็ดข้าวโพดแล้วอัดเป็นแผ่นแบนผสมกับสารปรุงแต่งรสชาติจำพวก น้ำตาล น้ำเชื่อม เกลือ และสารปรุงรสซึ่งสามารถนำไปรับประทานได้ทันที มีการทำข้าวโพดคั่วซึ่งเป็นอาหารยอดฮิตรู้จักกันทั่วโลก แล้วมีการปรุงแต่งรสชาติด้วยเกลือ เนย น้ำตาล คาราเมล ช็อกโกแลต และธัญพืชชนิดอื่นๆ อาหารเม็กซิกันชื่อดังคือ ทอร์ติลลา (Tortilla) ทำจากเมล็ดข้าวโพดแก่แช่น้ำต่างแล้วอัดให้เป็นแผ่นแบนก่อนนำมาทอดรับประทานเป็นอาหารควบคู่กับกับข้าว หรือปรุงแต่งรสชาติเป็นขนมขบเคี้ยว การนำฝักสดมาคั้นน้ำจากเมล็ดทำเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ หรือนำฝักอ่อนมารับประทานเป็นผัก

2.1.3.2 ใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์หรือส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงสัตว์ ซึ่งมีการใช้ทั่วโลก และในเขตอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ของประเทศในเขตอบอุ่น มีการใช้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ประมาณสองในสามของข้าวโพดทั้งโลกที่ผลิตได้ โดยมีการนำเข้าข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากประเทศต่าง ๆ นอกเหนือจากที่ผลิตได้เอง ส่วนของลำต้นและใบข้าวโพดที่เหลือจากการเก็บเกี่ยวฝักแล้ว สามารถนำไปใช้เลี้ยงสัตว์ต่อไปได้

2.1.3.3 ใช้เป็นวัตถุดิบในการแปรรูปเป็นสินค้าอุตสาหกรรม ได้แก่ แป้งข้าวโพด เมล็ดข้าวโพดสดบรรจุกระป๋อง ฝักอ่อนของข้าวโพดบรรจุกระป๋อง น้ำมันปรุงอาหาร น้ำมันสลัด น้ำเชื่อมกรดอินทรีย์ และเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ รวมทั้งขนมขบเคี้ยวบรรจุในภาชนะปิดผนึกที่มีการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรม ในการผลิตแป้งทำได้จากการขัดสีเมล็ดข้าวโพดที่เปียกชื้น นำไปขัดสีส่วนของผนังผลและเปลือกหุ้มเมล็ดให้หลุดออก แล้วแยกส่วนของจมูกข้าวหรือเอ็มบริโอและรำออกมา นำส่วนของเอนโดสเปิร์มที่แยกได้ไปบดเป็นแป้งข้าวโพด ที่มีความละเอียดของเนื้อแป้งแตกต่างกันไปตามลักษณะของความต้องการในการใช้งาน ซึ่งถูกนำมาใช้ในการผลิตอาหาร น้ำยาดักลิบเสื้อผ้า และผลิตภัณฑ์ต่างๆ ส่วนของเอ็มบริโอและรำถูกนำไปใช้ในการสกัดน้ำมันเพื่อการผลิตสบู่และกลีเซอริน รวมทั้งน้ำมันปรุงอาหารสำหรับทำขนมและน้ำมันสลัด กากที่เหลือจากการผลิตแป้งและน้ำมันถูกนำไปใช้ในการผลิตอาหารสัตว์

2.1.4 ข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง

ข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง (*Zea mays ceratina*) (ภาพที่ 2.12) มีถิ่นกำเนิดบริเวณเทือกเขา Andes ประเทศเปรู ข้าวโพดสีม่วงนั้นถูกนำมาใช้เป็นอาหารและเครื่องดื่มมาแต่โบราณ โดยเฉพาะในชาวอเมริกันอินเดียนที่อยู่ทางตะวันตกเฉียงใต้ของทวีปอเมริกา ต่อมาได้มีการนำข้าวโพดสีม่วงไปใช้เป็นอาหารในรัฐนิวเม็กซิโก ประเทศสหรัฐอเมริกาและแพร่กระจายสู่เขตต่างๆ ปัจจุบันแม้ในประเทศไทยเองก็พบว่ามีความนิยมมากขึ้น ข้าวโพดที่วางขายเหล่านั้นมีหลายสายพันธุ์ด้วยกัน

สำหรับสีม่วงเข้มในเมล็ดข้าวโพดนั้น เป็นสารแอนโทไซยานิน ซึ่งมีคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระได้ในระดับสูง ช่วยลดโอกาสในการเกิดโรคมะเร็งชนิดเนื้อเยื่อ เสริมความคุ้มกันให้ร่างกายต่อต้านเชื้อโรค สมานแผล เพิ่มการทำงานของเม็ดเลือดแดง ช่วยลดการเกิดไขมันอุดตันในหลอดเลือด ลดภาวะการเป็นโรคหัวใจ ช่วยลดความเสี่ยงของดวงตา ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลและช่วยลดความแก่



ภาพที่ 2.5 ข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง

ที่มา: จินตน์กานต์ งามสุทธา, 2554

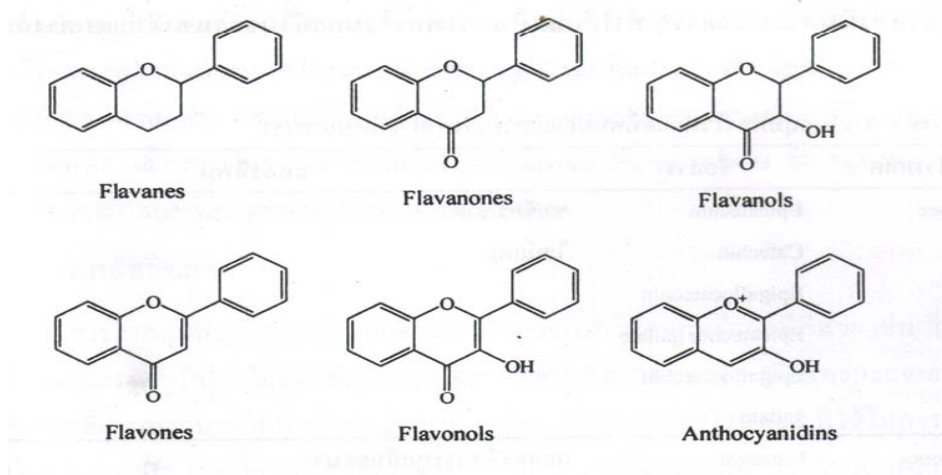
2.2 สารประกอบฟีนอลิกและสารแอนโทไซยานิน

ข้าวโพดม่วงจะมีปริมาณสารฟีนอลิกและสารแอนโทไซยานินสูงซึ่งเป็นสารที่ให้สีม่วงในข้าวโพดม่วงอยู่ในปริมาณที่สูงทำให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง นอกจากนั้นสารสีม่วงที่กล่าวนี้ยังมีสรรพคุณในการช่วยลดโอกาสในการเกิดมะเร็งชนิดเนื้องอก ช่วยควบคุมระดับน้ำตาล ในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าวโพดม่วงสายพันธุ์ที่พัฒนาขึ้นในไทยของกลุ่มวิจัยและพัฒนา การแพทย์ทางเลือกแบบบูรณาการ มหาวิทยาลัยขอนแก่นพบว่าส่วนใหญ่มีปริมาณสารฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นเดียวกับที่มีรายงานในต่างประเทศ แม้กระทั่งน้ำต้มฝักหรือซังข้าวโพดม่วงที่ปกติถูกทิ้งและไม่ได้นำมาใช้ประโยชน์ก็ยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นกัน

2.2.1 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)

จัดเป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอก และพบได้มากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิด ในธรรมชาติ ตั้งแต่โมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนิลโพรพานอยด์ และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึงโครงสร้างโพลีเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น แม้ว่าปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกัน แต่พบว่าปริมาณโดยเฉลี่ยที่คนได้รับต่อวันจะอยู่ในช่วงตั้งแต่ 20 มิลลิกรัม – 1 กรัมซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าปริมาณวิตามินอีที่ได้รับต่อวัน สารฟีนอลิกเป็นสารที่บทบาทสำคัญเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ และมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด รวมเป็นสารต้านการก่อมะเร็ง และสามารถลดความดันโลหิตในการสลายลิ่มเลือด เหล่านี้เป็นต้น ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติ การเป็นสารต้านอนุมูลโครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติก และมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซี อย่างน้อย 1 หมู่ ในที่นี้จะกล่าวถึงสารกลุ่มที่สำคัญได้แก่ ฟลาโวนอยด์

สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่ม ตามความแตกต่างของสูตรโครงสร้างโดยเฉพาะที่วงที่มีอะตอมออกซิเจนอยู่ในรูปแบบต่างๆ เช่น อีเทอร์ คีโตน รวมทั้งการมีหมู่ไฮดรอกซีแทนที่บนวงอะโรมาติกในโมเลกุล ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ได้แก่ ฟลาแวน (flavanes), ฟลาวาโนน (flavanols), ฟลาวานอล (flavanols), ฟลาโวนอล (flavonols), ฟลาโวน (flavones) และแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) เป็นต้น โครงสร้างของกลุ่มฟลาโวนอยด์บางชนิดดังภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 ตัวอย่างของกลุ่มฟลาโวนอยด์

ที่มา: โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550

สารประกอบฟีนอล (phenolic compound หรือ phenolics) ได้แก่ สารประกอบที่มี aromatic ring และอย่างน้อย 1 hydroxyl group และรวมไปถึงอนุพันธ์ของสารประกอบฟีนอลซึ่งมีการแทนที่ด้วยหมู่เคมีต่างๆ ตัวอย่างสารประกอบฟีนอล ได้แก่ flavonoids, lignin, ฮอร์โมน abscisic acid, cinnamic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, กรดอะมิโน tyrosine, phenylalanine และ dihydroxy-phenylalanine (DOPA), coenzyme Q และผลผลิตจากเมแทบอลิซึมอีกหลายชนิด สารประกอบฟีนอลเป็นตัวแทนของสารในธรรมชาติที่นับว่ามีปริมาณมากชนิดหนึ่งและ มีความสำคัญต่อสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยว เนื่องจากหน้าที่ที่เกี่ยวข้องกับสีและกลิ่นรส ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลแตกต่างกันไปอย่างมากในผลิตภัณฑ์หลังการเก็บเกี่ยว เช่น ในผลไม้สุกอาจมีปริมาณตั้งแต่น้อยมาก ไปจนถึง 8.5% ของน้ำหนักแห้ง ในผลพลับ (persimmon, *Diospyros kaki*, L.f.) ดังแสดงในตารางที่ 2.2

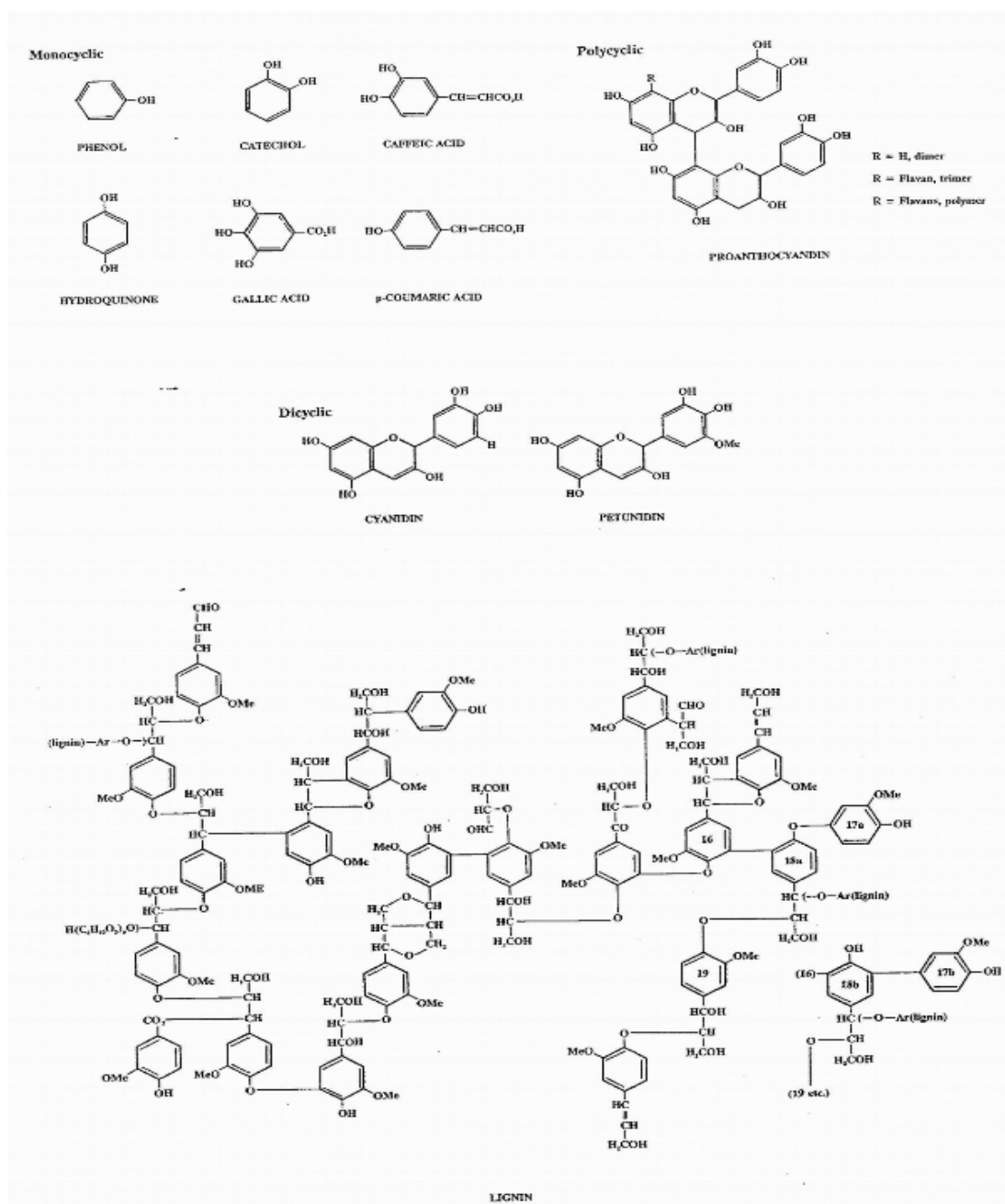
สารประกอบฟีนอลในพืชโดยทั่วไปแสดงคุณสมบัติเป็นกรด ซึ่งจะสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลอื่นอย่างรวดเร็ว และพบบ่อยที่ทำปฏิกิริยากับพันธะเปปไทด์ของโปรตีน และเมื่อโปรตีนนี้เป็นเอนไซม์ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นมักทำให้เอนไซม์หมดสภาพ ซึ่งมักเป็นปัญหาที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

เอนไซม์ในพืช โดยรวมแล้วสารประกอบฟีนอลจะไวต่อการเกิดออกซิเดชันโดยเอนไซม์ phenolases ซึ่งเปลี่ยน monophenols ไปเป็น diphenols และเปลี่ยนต่อไปเป็น quinones นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลบางตัวยังสามารถ chelate กับโลหะ

สารประกอบฟีนอลภายในเซลล์ที่อยู่ในรูปอิสระนั้นพบน้อยมาก ส่วนใหญ่มักพบรวมอยู่กับโมเลกุลอื่น หลายชนิดพบในรูป glycosides โดยเชื่อมต่อกับมโนแซคคาไรด์หรือไดแซคคาไรด์ โดยเฉพาะกลุ่มของ flavonoids ซึ่งมักรวมกับน้ำตาล นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลยังอาจรวมกับสารประกอบอื่นอีกหลายชนิด เช่น hydroxycinnamic acid อาจพบรวมกับ organic acids, amino groups, lipids, terpenoids, phenolics และกลุ่มอื่นๆ นอกเหนือจากน้ำตาล การรวมตัวในลักษณะนี้ภายในเซลล์เป็น monophenols และ diphenols ทำให้เกิดความเป็นพิษกับพืช (phytotoxic) น้อยกว่าในรูปอิสระ

การแบ่งชนิดของสารประกอบฟีนอลแบ่งเป็น 3 ชนิด ตามจำนวน phenol rings ที่มีอยู่ 1. Monocyclic phenols มี 1 phenol ring ที่พบทั่วไปในพืชได้แก่ phenol, catechol, hydroquinone และ p-hydroxycinnamic acid 2. Dicyclic phenols มี 2 phenol rings ได้แก่ flavonoids และ lignans 3. Polycyclic phenols หรือ polyphenol ได้แก่ lignins, catechol melanins, flavolans (condensed tannins)

โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลที่พบโดยทั่วไปในพืชแสดงในภาพที่ 2.7 สารประกอบฟีนอลเหล่านี้ยังอาจแบ่งย่อยลงไปอีกตามจำนวนอะตอมของคาร์บอนและรูปแบบโครงสร้างของคาร์บอนในโมเลกุล ดังแสดงในตารางที่ 2.2



ภาพที่ 2.7 สูตรโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลชนิดต่างๆ ที่พบทั่วไปในพืช
ที่มา: Kays, 1991

ตารางที่ 2.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่มีในผลไม้สุก (Kays, 1991)

ปริมาณสารประกอบฟีนอล	
Apple (<i>Malus sylvestris</i>, Mill.)	
Various cultivars	0.10-1.0 g/100 g FW
'Cox' s Orange Pippin'	2.0-5.5 g/100 g DW
'Baldwin'	0.25 g/100 g FW
Cider apple 'Launette'	1.1 g/100 g FW
Cider apple 'Waldhofier'	0.45 g/100 g FW
Banana (<i>Musa</i> spp.)	0.53 g/100 g DW
Date (<i>Phoenix dactylifera</i> , L.)	0.5 g/100 g FW
Cherry (<i>Prunus cerasus</i>, L.)	
Montmorency	0.5 g/100 g FW
Grape (<i>Vitis</i> spp.)	
Riesling, cluster	0.95 g/100 g FW
'Tokay', cluster	0.48 g/100 g FW
'Muscat' , skin	0.35 g/100 g FW
'Muscat' , pulp	0.10 g/100 g FW
'Muscat' , seed	4.5 g/100 g FW
Passion fruit (<i>Passiflora edulis</i> , Sims.)	1.4 mg/100 g FW
Peach (<i>Prunus persica</i>, (L.) Batsch)	
Mixed cultivars	0.028-0.141 g/100 g FW
'Elberta'	0.069-0.180 g/100 g FW
'Elberta'	0.240 g/100 g FW
Pear (<i>Pyrus communis</i> , L.)	
'Muscacachet'	0.4 g/100 g FW
Persimmon (<i>Diospyros kaki</i> , L.f.)	8.5 g/100 g DW
Plum (<i>Prunus americana</i>, Marsh.)	
'Victoria' , flesh	2.1 g/100 g DW
'Victoria' , skin	5.7 g/100 g DW

หมายเหตุ : FW = น้ำหนักสด (fresh weight)

DW = น้ำหนักแห้ง (dry weight)

ตารางที่ 2.3 สารประกอบฟีนอลส่วนใหญ่ที่พบในพืช (Kays, 1991)

จำนวนอะตอม ของคาร์บอน	โครงสร้าง พื้นฐาน	ชนิด	ตัวอย่าง
6	C_6	Simple phenols	Catechol, hydroquinone
		Benzoquinones	2,6-Dimethoxybenzoquinone
7	C_6-C_1	Phenolic acids	p-Hydroxybenzoic, salicylic
8	C_6-C_2	Acetophenones	3-Acetyl-6-methoxybenzaldehyde
		Phenylacetic acids	p-Hydroxyphenylacetic
9	C_6-C_3	Hydroxycinnamic acids	Caffeic, ferulic
		Phenylpropenes	Myristicin, eugenol
		Coumarins	Umbelliferone, aesculetin
		Isocoumarins	Bengenin
		Chromones	Eugenin
10	C_6-C_4	Naphthoquinones	Juglone, plumbagin
13	$C_6-C_4-C_3$	Xanthones	Mangiferin
14	$C_6-C_2-C_6$	Stilbenes	Lunularic acid
		Anthraquinones	Emodin
15	$C_6-C_3-C_6$	Flavonoids	Quercetin, cyanidin
		Isoflavonoids	Genistein
18	$(C_6-C_3)_2$	Lignans	Pinosresinol
		Neolignans	Eusiderin
30	$(C_6-C_3-C_6)_2$	Biflavonoids	Amentoflavone
n	$(C_6-C_3)_n$	Lignins	
	$(C_6)_n$	Catechol melanins	
	$(C_6-C_3-C_6)_n$	Flavolans (condensed tannins)	

2.2.1.1 จำแนกหน้าที่ความสำคัญของสารประกอบฟีนอล

หน้าที่ทางชีววิทยาโดยทั่วไปของสารประกอบฟีนอลในพืชจะปรากฏในหลายลักษณะเช่น รงควัตถุ ฮอร์โมน abscisic acid, lignin, coenzyme Q หรือบางชนิดอาจมีส่วนเกี่ยวข้องในการเป็น allelopathic agents, feeding deterrents, antifungal agents และ phytoalexin อย่างไรก็ตามหน้าที่ที่แน่นอนของสารประกอบฟีนอลส่วนใหญ่ในพืชนั้นยังเป็นที่สงสัย แต่ทั้งนี้อาจจำแนกหน้าที่ความสำคัญของสารประกอบฟีนอลออกเป็น 3 ประการดังนี้ (จริงแท้, 2538)

(1) การต้านทานโรค: สารประกอบฟีนอลหลายชนิดสามารถป้องกันหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราบางชนิดได้ เช่น protocatechuic acid ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลที่มีมากในหอมหัวใหญ่สีม่วง จะต้านทานต่อโรค smudge ที่เกิดจาก *Colletotrichum circinan* ได้ดี แต่ในหอมพันธุ์สีขาวจะไม่มีสารตัวนี้จึงอ่อนแอต่อโรค smudge สารสกัดที่ได้จากหัวหอมนี้สามารถป้องกันการงอกและยับยั้งการเจริญของเชื้อราชนิดนี้ได้

(2) รสฝาด: รสฝาดของผลไม้หลายๆ ชนิด จะขึ้นอยู่กับปริมาณของสารประกอบฟีนอลในผล ช่วงน้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลที่จะให้ความฝาดนั้นอยู่ในช่วง 500-3,000 ซึ่งสามารถที่จะรวมตัวกับโมเลกุลของโปรตีนในปากทำให้รู้สึกฝาดได้ เมื่อผลไม้พัฒนาเข้าสู่การบริบูรณ์ สารประกอบฟีนอลจะลดลงนอกจากนี้สารประกอบฟีนอลยังเกิดการรวมตัวเป็นโมเลกุลใหญ่ (polymerization) และการรวมตัวของสารประกอบฟีนอลเป็นโมเลกุลใหญ่จะเกิดขึ้นเรื่อยๆ จากโมเลกุลที่ละลายน้ำกลายเป็นโมเลกุลที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งทำให้ความฝาดลดลงเมื่อผลไม้บริบูรณ์เต็มที่ ส่วนรสขมในผลไม้ตระกูลส้มนั้นเป็นผลจาก naringin ซึ่งพบมากและเป็นสารประกอบฟีนอลที่ให้รสขมสูง ส่วนรสขมของแตงกวาซึ่งเกิดจาก cucurbitacin หรือ รสขมซึ่งเกิดจาก limonoids ในพวกส้ม ไม่ใช่สารประกอบฟีนอล แต่เป็นสารประกอบพวก triterpenoid

(3) สี: สีของผักผลไม้ซึ่งเป็นสีของแอนโทไซยานินก็เป็นสีของสารประกอบฟีนอล นอกจากนี้การที่ผักหรือผลไม้เกิดสีน้ำตาลเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) ซึ่งเปลี่ยนโมเลกุลของฟีนอลไปเป็น quinone แล้วเกิด polymerization และมีสีน้ำตาล การยับยั้งปฏิกิริยานี้ทำได้โดยเก็บไว้ภายใต้สภาพที่มี O_2 น้อย หรือใช้ ascorbic acid ไป reduce quinone ไม่ให้เกิด polymerization ปริมาณของ PPO จะมีมากในผลไม้ เมื่อผลยังเล็กและจะลดลงเมื่อผลบริบูรณ์และสุก สันนิษฐานว่า quinone ที่ได้จากการทำงานของ PPO มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้

2.2.1.2 การสังเคราะห์สารประกอบฟีนอล (biosynthesis of phenols)

สารประกอบฟีนอลเกือบทั้งหมดสร้างจาก phosphoenolpyruvate และ erythrose-4-phosphate (จาก glycolysis และ oxidative pentose phosphate pathway ตามลำดับ) โดยวิธี shikimic acid ซึ่งมี aromatic amino acid 'phenylalanine' เป็นสารตัวกลาง (central intermediate) (ภาพที่ 2.8) จะมีการ deaminate และ hydroxylate ในตำแหน่ง para บน phenol ring ให้ p-hydroxycinnamic acid ในกรณีของ flavonoids นั้น malonate จะเป็นตัวเริ่มต้น โดย 3 โมเลกุลของ malonyl-CoA รวมตัวกับ cinnamic acid (cinnamyl-CoA) เพื่อสร้าง chalcone ซึ่งเมื่อเปิด ring แล้วก็จะได้โครงสร้างพื้นฐานของ flavonoids

ในผลิตผลหลังการเก็บเกี่ยว การเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเนื่องจากการ polymerization ของโมเลกุลได้เป็นโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ และซับซ้อนมากขึ้น

2.2.1.4 การเปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยว (postharvest alterations)

สารประกอบฟีนอลในพืชมีความสำคัญอย่างมากในช่วงหลังจากเก็บเกี่ยว เนื่องจากบทบาทที่มีต่อ กลิ่นรส (flavour) และสี (colour) ขณะที่สารประกอบฟีนอลส่วนใหญ่ในระดับความเข้มข้นที่พบในผลิตภัณฑ์อาหารไม่มี นัยสำคัญต่อรสชาติ แต่ก็มีหลายชนิดที่สามารถเปลี่ยนแปลงกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์บางอย่าง ส่วน phenolic acid ในปริมาณความเข้มข้นที่สูงมีผลต่อรสเปรี้ยว หรือกรณของ naringin ในส้มทำให้มีรสขม และสารประกอบฟีนอลในผลไม้ดิบ (immature fruits) หลายชนิดทำให้เกิดรสฝาด (astringent) ตัวอย่างเช่น ในกล้วยดิบมี water-soluble tannins 0.6% (น้ำหนักสด) ส่วน Chinese quince มีร้อยละ 0.4 ใน carob beans มีร้อยละ 1.7 และผลพลับ (persimmon fruits) มีร้อยละ 2.0

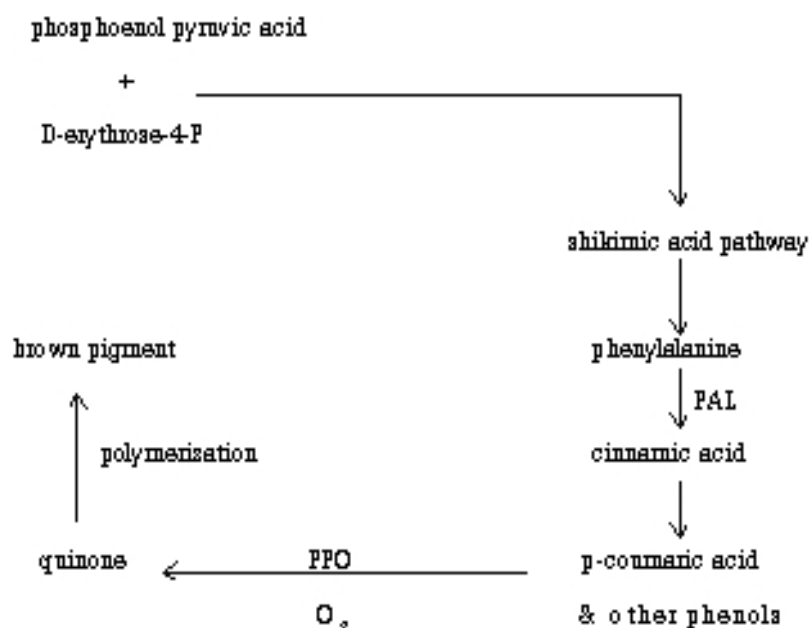
สำหรับพลับ water-soluble tannin ประกอบด้วย catechin, catechin-3-gallate, gallo-catechin, gallocatechin-3-gallate และ unknown terminal residue สำหรับ tannin สามารถรวมตัวกับโปรตีนได้เป็นอย่างดี จึงใช้ประโยชน์ในการกำจัดโปรตีนออกจากเหล้าสาเก (sake, Japanese rice wine) ทำให้เหล้าสาเกใส ขณะที่พลับเข้าสู่การบริบูรณ์และกำลังสุกระดับของความฝาด (astringency) และความเข้มข้นของ water-soluble tannin จะลดลง และในที่สุดผลพลับก็จะมีรสชาติที่ดี การที่ความฝาดลดลงก็เนื่องจากการ polymerization ของ tannin เกิด water-insoluble molecule ซึ่งมีขนาดใหญ่และไม่สามารถทำปฏิกิริยากับ taste receptors ในปาก

เป็นที่ทราบมาตั้งแต่ต้นศตวรรษแล้วว่า การขจัดความฝาดสามารถทำได้โดยการใช้บรรยากาศที่มี CO₂ สูง อัตราของการตอบสนองต่อการกระตุ้น (induction response) จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ที่ 40 °C จะใช้เวลาสั้นเพียง 6 ชั่วโมง ในการสัมผัสกับ CO₂ หลังจากนั้นจะเป็นช่วงของการขจัดความฝาดโดยวางไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่บรรยากาศปกติเป็นเวลา 3 วัน

เชื่อว่าสถานะที่เป็น anaerobic ซึ่ง block glycolysis มีผลในการสร้าง acetaldehyde และ aldehydes ที่สร้างขึ้นนี้จะทำปฏิกิริยาทันทีกับสารประกอบฟีนอล ทำให้เกิด cross link ระหว่างโมเลกุลข้างเคียงเกิดเป็นรูปที่ไม่ละลายน้ำและไม่ทำให้เกิดรสฝาด (insoluble non-astringent form)

นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสี (browning) ของผลิตผลหลังการเก็บเกี่ยว เนื่องจากการบาดแผลของเนื้อเยื่อที่เกิดขึ้นในขณะเก็บเกี่ยว การจัดการผลิตผล ตลอดจนการเก็บรักษา ซึ่งมีผลทำให้องค์ประกอบของเซลล์ถูกทำลายและมีเอนไซม์หลุดลอดออกมาทำปฏิกิริยากับ substrate ตัวอย่างเช่น การบอบช้ำเสียหายของผลไม้หรือการแตกหักของ

ปลายฝักของถั่วแขก (snap beans) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสี และเมื่อเกิดสีน้ำตาลขึ้น สารประกอบฟีนอลที่เป็นองค์ประกอบจะถูกออกซิไดซ์เป็น quinone หรือสารที่คล้ายกับ quinone (quinonelike compound) ซึ่งจะรวมตัวเป็นโมเลกุลใหญ่เกิดเป็นรงควัตถุสีน้ำตาล (brown pigments) ซึ่งเรียกว่า melanins หรือ melanoidins สารที่มีความสำคัญและเชื่อว่าเป็น substrate ของปฏิกิริยานี้คือ chlorogenic acid, neochlorogenic acid, catechol, tyrosine, phenylalanine, caffeic acid, protocatechin และ dopamine (ภาพที่ 2.16)



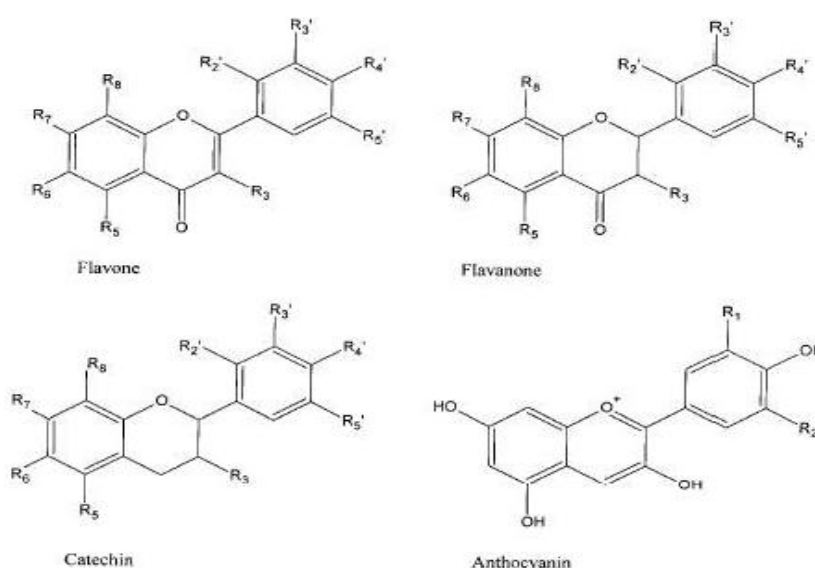
ภาพที่ 2.9 ขั้นตอนการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลและการเกิดสีน้ำตาล

ที่มา: จริงแท้, 2538

การวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบฟีนอล มุ่งเน้นไปที่องค์ประกอบของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาล เทคนิคในการจัดการผลิตผลและการเก็บรักษา ซึ่งสามารถใช้ในการป้องกันการเกิดสีน้ำตาล พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและสารประกอบฟีนอลที่จำเพาะหรือระดับของปฏิกิริยาของเอนไซม์ phenolase ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงสีแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับเนื้อเยื่อที่ ศึกษาและในบางกรณีขึ้นอยู่กับพันธุ์ เทคนิคที่ใช้ในการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวหลายวิธีสามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในผลิตผลบางอย่างได้ ตัวอย่างเช่น การเกิดสีน้ำตาลอย่างรวดเร็วของถั่วแขกในขณะทำการเก็บเกี่ยวเนื่องจากการแตก หักของฝักและเมื่อนำไปแปรรูปจะได้ผลิตภัณฑ์ที่ต่ำกว่ามาตรฐานอย่างเห็นได้ชัด ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องในการเปลี่ยนสีนี้สามารถยับยั้งได้โดยการรมฝักด้วย sulfur dioxide ความเข้มข้น 7,500-10,000 mg/L เป็นเวลา 30 วินาที ส่วนในผลิตผลอื่นอาจใช้การเก็บรักษาโดยการควบคุมบรรยากาศ (controlled atmosphere storage) และการใช้ antioxidants

2.2.2 ฟลาโวนอยด์ (flavonoid)

ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compound) ประเภท โพลีฟีนอล (polyphenol) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic Ring) ที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl Group) รวมอยู่ในโมเลกุลตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป สามารถละลายน้ำได้ ส่วนใหญ่รวมกับน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycoside) สารประกอบ flavonoids ได้แก่ flavonol, flavonone, flavone, isoflavone, flavonolcatechin anthocyanins



ภาพที่ 2.10 โครงสร้างของ Flavones Flavanone Catechin และ Anthocyanin

ที่มา: จริงแท้, 2538

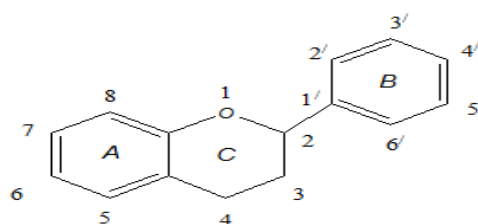
สารฟลาโวนอยด์ พบในพืช ได้แก่ naringin เป็นสารในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ที่ให้รสขม ในเปลือกผลของพืชตระกูลส้ม (citrus) และ catechin พบในชาพบมากในชาเขียว

สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์จัดเป็น nutraceutical มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยทำหน้าที่ในการหน่วงเหนี่ยวหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) จึงช่วยหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระได้แหล่งอาหารที่พบ ฟลาโวนอยด์มาก ได้แก่ พืช ผักและผลไม้เช่น ยอดกล้วยหอม กระชายดำ สารสกัดจากเมล็ดองุ่น รวมทั้งเครื่องดื่มต่าง ๆ เช่น ชา ไวน์ เป็นต้น

2.2.2.1 โครงสร้างของฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) (จริงแท้, 2538)

สารฟลาโวนอยด์พบอยู่ทั่วไปในพืชที่มีสีเขียว และพบในทุกส่วนของพืช ไม่ว่าจะเป็นใบราก เนื้อไม้ เปลือกต้น ดอก ผล หรือเมล็ด ในสัตว์สามารถพบได้บ้าง โดยเชื่อว่ามาจากพืชที่บริโภคเข้าไปมากกว่าการเกิดชีวสังเคราะห์ในร่างกายของสัตว์เอง ฟลาโวนอยด์จัดเป็นสารสำคัญของ

กลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenol) มีสูตรโครงสร้างหลักเป็นฟลาเวน (flavan) หรือ 2-ฟีนิลเบนโซไพแรน (2-phenylbenzopyran) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม ที่มีสูตรโครงสร้างพื้นฐานเป็น C6-C3-C6 กล่าวคือ ประกอบด้วย substituted benzene rings จำนวน 2 หมู่เชื่อมต่อกันด้วย aliphatic chain ของคาร์บอน 3 อะตอม และมีความแตกต่างกันตรง oxidation state ของ aliphatic chain ของอะตอมคาร์บอน 3 อะตอม (ภาพที่ 2.18)

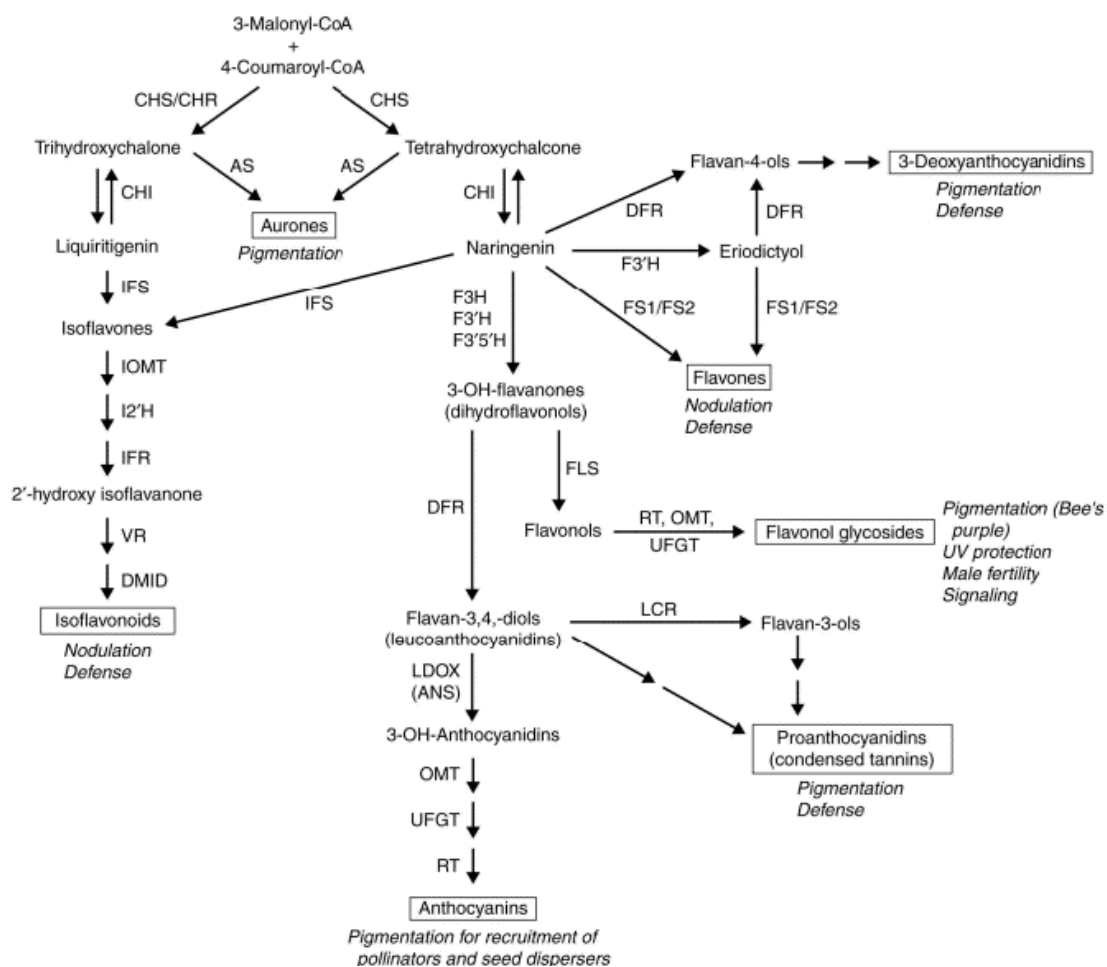


ภาพที่ 2.11 โครงสร้างของ flavan

ที่มา: จริงแท้, 2538

2.2.2.2 การชีวสังเคราะห์

ฟลาโวนอยด์มีสูตรโครงสร้างหลักเป็น C6-C3-C6 ซึ่งเกิดจาก phenyl-propanoid (C6-C3) เชื่อมกับ malonyl-CoA (C2) 3 หน่วย ซึ่งมีวิธีการชีวสังเคราะห์ ดังภาพที่ 2.12



ภาพที่ 2.12 การชีวสังเคราะห์ของฟลาโวนอยด์

ANS, anthocyanidin synthase; AS, aureusidin synthase; C4H, cinnamate-4-hydroxylase; CHR, chalcone reductase; DFR, dihydroflavonol 4-reductase; DMID, 7,2'-dihydroxy, 4'-methoxyisoflavanol dehydratase; F3H, flavanone 3-hydroxylase; F3'H, flavonoid 3' hydroxylase; F3'5'H, flavonoid 3'5' hydroxylase; FSI/FS2, flavones synthase; I2'H, isoflavone 2'-hydroxylase; IFR, isoflavone reductase; IFS, isoflavone synthase; IOMT, isoflavone O-methyltransferase; LCR, leucoanthocyanidin reductase; LDOX, leucoanthocyanidin dioxygenase; OMT, O-methyltransferase; PAL, phenylalanine ammonia-lyase; RT, rhamnosyl transferase; UFGT, UDP flavonoid glucosyl transferase; VR, vestitone reductase. The names of the major classes of flavonoid endproducts are boxed. Some of the known functions of the compounds in each class are indicated in italics.

ที่มา: จริงแท้, 2538

2.2.2.3 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (จริงแท้, 2538)

สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ นอกจากจะเป็นสารที่ทำให้ดอกหรือผลไม่มีสีสวย เช่น สีเหลือง ชมพู แดง ฟ้ำ หรือม่วง ซึ่งมีประโยชน์ใช้ล่อแมลง นก หรือผึ้งเข้ามาผสมเกสร เพื่อแพร่กระจายพันธุ์แล้ว รายงานการศึกษามากมายยืนยันถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของฟลาโวนอยด์ ที่ใช้ในการป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ เช่น โรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด ฤทธิ์ต้านมะเร็ง การต้านแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ ต้านอาการแพ้ เป็นต้น ซึ่งพบว่าคุณสมบัติเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารฟลาโวนอยด์

สำหรับกลไกในการต้านอนุมูลอิสระของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์นั้น มีรายงานการศึกษาอย่างกว้างขวาง แต่ทั้งนี้ยังไม่มีรายงานยืนยันที่ชัดเจนถึงกลไกการออกฤทธิ์สำหรับฟลาโวนอยด์ต่างชนิดกัน อย่างไรก็ตามกลไกหลักในการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มนี้ รวมถึงกลุ่มโพลีฟีนอลอื่น ๆ มี 3 กลไก คือ

(1) เป็นสารคีเลต (chelating agent) โดยเฉพาะสารโพลีฟีนอลที่มีโครงสร้างเป็นออร์โธไดไฮดรอกซีฟีนอลิก (ortho-dihydroxyphenolic) ทำหน้าที่จับหรือฟอร์มพันธะโคออร์ดิเนตกับโลหะหนัก เช่น ทองแดง และเหล็ก ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระ รวมทั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ

(2) เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain breaking antioxidant) ในการยับยั้งหรือขจัดอนุมูลอิสระ เช่น lipid alkoxyl และ peroxy radicals เป็นต้น โดยทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเลคตรอนแก่อนุมูลเหล่านั้น ดังแสดงในปฏิกิริยา (1) หลังจากฟลาโวนอยด์ถูกออกซิไดซ์แล้วจะได้อนุมูลของฟลาโวนอยด์ฟีนอกซิลเป็นผลิตภัณฑ์ และอนุมูลที่ได้นี้มีความเสถียรมากกว่า เนื่องจากโครงสร้างของฟลาโวนอยด์มีการ delocalize ของอิเล็กตรอนตลอดเวลา

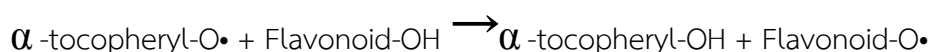


โดยที่ Flavonoid-OH = สารฟลาโวนอยด์

R• = อนุมูลอิสระในร่างกาย

Flavonoid-O• = อนุมูลฟีนอกซิล

(3) ทำหน้าที่ regenerate วิตามินอี (α -tocopherol) โดยจะรีดิวซ์อนุมูล α -tocopheroxyl กลับเป็น α -tocopherol เหมือนเดิม ทำให้สามารถทำหน้าที่เป็น antioxidant ได้ต่อไป ดังแสดงในสมการ



มีรายงานการศึกษาว่า ฟลาโวนอยด์โดยเฉพาะในกลุ่มฟลาโวน (flavone) และไอโซฟลาโวน (isoflavone) สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ โดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 (COX-2) ผ่าน PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor- γ) ซึ่งเป็นแฟกเตอร์ที่มีหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของเอนไซม์ COX-2 โดยพบว่าโครงสร้างที่จำเป็นในการยับยั้ง ได้แก่ (1) พันธะคู่ที่ C2-C3 ของวง C (2) หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 5 และ 7 ที่วง A และหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 4' บนวง A และยังมีรายงานการศึกษายืนยันว่า ฟลาโวนอยด์สามารถยับยั้งการแสดงออกของเอนไซม์ COX ของยีนส์ โดยเกิดอันตรกิริยาในกระบวนการ cell signaling เช่น NF- κ B, protein kinase C และ tyrosine kinase เป็นต้น นอกจากนี้ ยังมีรายงานถึงฤทธิ์อื่น ๆ เช่น สารกลุ่มไอโซฟลาโวน สามารถออกฤทธิ์เป็น phytoestrogen โดยจับกับเอสโตรเจนรีเซพเตอร์ (α -subtype) ทำให้สามารถใช้เป็นฮอร์โมนทดแทนในผู้หญิงที่ใกล้หมดประจำเดือน รวมทั้งใช้ป้องกันมะเร็งที่มีความสัมพันธ์กับฮอร์โมน เช่น มะเร็งเต้านม และมะเร็งต่อมลูกหมาก เป็นต้น

2.2.2.4 โครงสร้างที่สำคัญพื้นฐานที่จำเป็นต่อการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

(1) โครงสร้าง catechol หรือ ortho-diphenolic group ในวง B ถือเป็นโครงสร้างที่สำคัญที่สุดสำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งนอกจากจะมีบทบาทสำคัญในการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยทำหน้าที่เป็น hydrogen donating แล้ว ยังสามารถจับหรือคีเลตกับโลหะหนักโดยเฉพาะทองแดง และเหล็ก ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการสร้างและเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระในร่างกาย

(2) พันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2-3 คอนจูเกต (conjugate) กับหมู่ 4-oxo ในวง C ซึ่งจะเพิ่มความเสถียรของอนุมูลฟลาโวนอยด์ฟีนอกซิล

(3) หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3 และ 5 จากรายงานการศึกษาพบว่า สารกลุ่มฟลาโวนและฟลาโวนอนซึ่งไม่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ C3 จะมีโครงสร้างที่บิดเบี้ยว ในขณะที่สารกลุ่มฟลาโวนอลและฟลาโวนอน ซึ่งมีหมู่แทนที่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งดังกล่าว จะทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุล โครงสร้างจะมีลักษณะแบนราบในระนาบเดียวกัน ส่งผลให้การ delocalization ของอิเล็กตรอนผ่านพันธะคู่เกิดได้ดีขึ้น

2.2.3 แอนโทไซยานิน

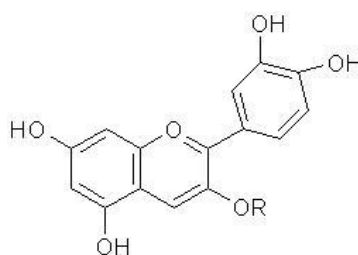
แอนโทไซยานิน เป็นรงควัตถุหรือสารสี (pigment) ที่ให้สีแดง ม่วง และน้ำเงิน ใช้เป็นสารให้สี (coloring agent) ธรรมชาติในอาหาร สารสกัดแอนโทไซยานิน มีสมบัติเป็นโภชนเภสัช (nutraceutical) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ ช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและเส้นเลือดอุดตันในสมอง ด้วยการยับยั้งไม่ให้เลือดจับตัวเป็นก้อน

ชะลอความเสื่อมของดวงตา ช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) อีโคไล (*Escherichia coli*) ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงและอาหารเป็นพิษด้วย (Lazze et al., 2004)

อาหารที่เป็นแหล่งสำคัญของแอนโทไซยานิน ได้แก่ ผลไม้ เช่น องุ่น ทับทิม และผลไม้ในกลุ่มเบอร์รี่ เช่น สตรอเบอร์รี่ (strawberry) ผลหม่อน (mulberry) บลูเบอร์รี่ (blueberry) แครนเบอร์รี่ (cranberry) เชอร์รี่ (cherry) ราสเบอร์รี่ (raspberry) เป็นต้น ผัก เช่น กะหล่ำปลีสีม่วง (red cabbage) และเรดิชสีแดง (red radish) เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าวกล้อง หรือข้าวสาลี ข้าวโพดสีม่วง พืชหัว ได้แก่ มันเทศสีม่วง ดอกไม้ เช่น กระเจี๊ยบแดง และดอกอัญชัน เป็นต้น และแหล่งของแอนโทไซยานิน ได้แก่ มันเทศสีม่วง ชมพู่มะเหมี่ยว ชมพู่มะเขี๋ยวดำ ลูกหว้า ข้าวแดง ข้าวนิล ข้าวเหนียวดำ ถั่วแดง ถั่วดำ หอมแดง ดอกอัญชัน น้ำวุ้น-กาบหอย ผีเสื้อ หอมหัวใหญ่สีม่วง มะเขือม่วง พริกแดง องุ่นแดง-ม่วง แอปเปิ้ลแดง ลูกไหน ลูกพรุน ลูกเกด ลูกหม่อน (มัลเบอร์รี่) บลูเบอร์รี่ เชอร์รี่ แบล็กเบอร์รี่ ราสเบอร์รี่ สตรอเบอร์รี่

2.2.3.1 โมเลกุลของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานิน (anthocyanins) จัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) กลุ่มพอลิฟีนอล (polyphenol) (ภาพที่ 2.20)



ภาพที่ 2.13 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน

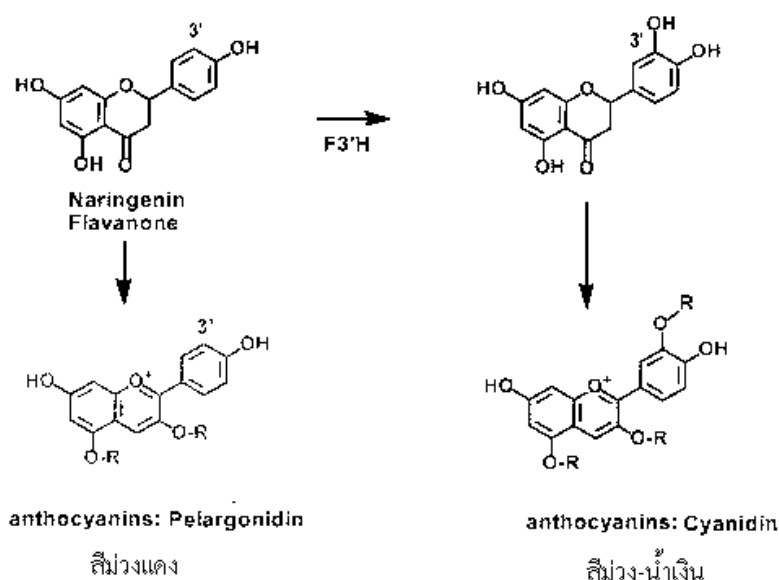
ที่มา: Lazze et al., 2004

2.2.3.2 สีของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานิน เป็นสารสีที่พบได้ทั่วไปในดอกไม้ ผลไม้บางชนิด ใบหรือลำต้นของพืชบางชนิดที่มีสีแดงถึงน้ำเงินเข้ม ในสภาพที่เป็นกรดมีค่า pH ต่ำกว่า 3 (เป็นกรดสูง) จะทำให้แอนโทไซยานินมีสีแดง ในสภาพที่ค่อนข้างเป็นกลาง หรือมีค่า pH ประมาณ 7-8 แอนโทไซยานินจะมีสีม่วง และเมื่อสภาพเป็นเบสหรือมีค่า pH มากกว่า 11 (เป็นเบสสูง) แอนโทไซยานินจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน (ภาพที่ 2.18)

สารสำคัญที่ชื่อว่า แอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งเป็นเม็ดสีที่ละลายน้ำได้ เป็นสารให้สีตามธรรมชาติที่จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ สีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนไปตามสภาวะความเป็นกรด-ด่าง เป็นสารที่ให้สีแดงตั้งแต่สีน้ำเงินเข้มหรืออาจไม่มีสีเลยเมื่ออยู่ในสภาวะต่าง (pH>7)

จะเปลี่ยนเป็นสีม่วงเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกลาง ($\text{pH}=7$) และจะเปลี่ยนเป็นสีแดงถึงแดงเข้มได้ในสภาวะเป็นกรด ($\text{pH}<7$) สารในกลุ่มแอนโทไซยานิน ที่อยู่ด้วยกันหลายชนิด แต่มีอยู่ 6 ชนิดที่พบบ่อย ได้แก่ เพลาโกนิน (pelargonidin), ไซยานิดิน (cyanidin), เดลฟินิดิน (delphinidin), พีโอนิดิน (peonidin), เพทูนิดิน (petunidin) และ มาลวิดิน (malvidin) Lazze et al., 2004



ภาพที่ 2.14 การเปลี่ยนแปลงสีของแอนโทไซยานิน

ที่มา: Lazze et al., 2004

2.2.3.3 ประโยชน์ต่อสุขภาพของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินมีประโยชน์ต่อสุขภาพหลายประการจัดเป็น functional food เพราะสารนี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน และโรคมะเร็ง (Lazze et al., 2004)

2.2.3.4 ผลของการแปรรูปอาหารต่อแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินละลายได้ดีในน้ำ ไม่เสถียร สลายตัวได้ง่ายด้วยความร้อน ออกซิเจน แสง เมื่อโครงสร้างเปลี่ยนแปลงไป สีจะเปลี่ยนไปด้วย ปัจจัยที่มีผลต่อสีของแอนโทไซยานิน ได้แก่ ความเป็นกรดเป็นด่าง เมื่อ pH เป็นกรดจะมีสีแดง เมื่อ pH สูงขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน

การแปรรูปผักผลไม้ที่มีแอนโทไซยานินด้วยความร้อน (thermal processing) ด้วยการบรรจุกระป๋อง (canning) โดยใช้กระป๋องโลหะ (can) ที่ทำจากแผ่นเหล็กเคลือบดีบุก (tin plate) อลูมิเนียม โลหะจะปฏิกิริยากับกรดอินทรีย์ (organic acid) ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในผักหรือ

ผลไม้ หรือกรดที่เติมไปเพื่อปรับให้อาหารเป็นกรด (acidification) ได้เป็นเกลือของโลหะ หลังจากนั้น แอนโทไซยานินจะรวมตัวกับโลหะไอออนที่ได้ให้เกิดเป็นกรด และเกิดปฏิกิริยาเช่นนี้อย่างต่อเนื่อง กัดกร่อนจนกระทั่งติบูกที่เคลือบกระป๋องหมดไป ต่อจากนั้นแอนโทไซยานินจะไปทำปฏิกิริยากับเหล็กที่เป็นตัวกระป๋องทำให้เกิด การรั่วแบบรูเข็ม (pin holing) ซึ่งเป็นสาเหตุของอาหารกระป๋องเสื่อมเสีย (canned food spoilage) กระป๋องที่จะใช้บรรจุผักและผลไม้ที่มีแอนโทไซยานินอยู่ด้วย จึงควรเคลือบด้วยสารเคลือบ เช่น แล็กเกอร์เพื่อป้องกันปฏิกิริยาดังกล่าว หรืออาจจะใช้ร่วมกับ chelating agent เพื่อจับกับโลหะ (Lazze et al., 2004)

2.2.3.5 ประโยชน์ของแอนโทไซยานิน

- (1) ช่วยต้านอนุมูลอิสระ มีการวิจัยพบว่าแอนโทไซยานินมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีและอีถึง 2 เท่า
- (2) ลดอาการอักเสบ
- (3) ช่วยปกป้องหลอดเลือด กระตุ้นการไหลเวียนของเลือด และลดความเสี่ยงในการเป็นโรคหัวใจหลอดเลือดได้
- (4) ลดคอเลสเตอรอลในเลือด
- (5) ป้องกันมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งลำไส้และตับ มะเร็งเม็ดเลือดขาวและมะเร็งของระบบสืบพันธุ์
- (6) ยับยั้งเชื้ออีโคไลในทางเดินอาหารที่ทำให้เกิดท้องเสีย
- (7) ต้านไวรัสได้

2.3 กระบวนการออกซิเดชัน

2.3.1 ออกซิเดชัน (Oxidation) (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550)

ออกซิเดชัน คือ ปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนให้แก่ธาตุหรือสาร หรือการลดจำนวนอิเล็กตรอนในธาตุ ธาตุโลหะที่ถูกเติมออกซิเจนจะหมดสภาพความเป็นโลหะ ธาตุคาร์บอนอินทรีย์ที่ถูกเติมออกซิเจนจนกลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ จะหมดศักยภาพของความเป็นสารที่มีพลังงานชีวภาพ จุลชีพและพืชที่สังเคราะห์แสงพยายามจะเพิ่มสถานะของคาร์บอนให้เป็น reduced carbon คือ เปลี่ยนจากคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำให้เป็นสารอินทรีย์หรือสารอาหารเสมอ เพื่อรักษาสภาพพลังงานที่เป็นประโยชน์ต่อชีวิตในทางตรงข้าม ในเมตะบอลิซึมของเซลล์ เช่น ในไมโทคอนเดรีย ในไมโครโซม มีออกซิเดชันตลอดเวลา ออกซิเดชันอาจเป็นพิษได้ หากมีการเติมออกซิเจน หรือการลดอิเล็กตรอนเดี่ยวออกจากธาตุและโมเลกุลบางชนิด เช่น กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว โปรตีนและดีเอ็นเอ ปฏิกิริยาที่ขาดการควบคุม ขาดรีดักชัน ปฏิกิริยาจะเกิดต่อเนื่องไปเรื่อย ๆ ออกซิเดชันจะกลับเป็นอันตรายต่อเซลล์ ถ้าทำให้เกิด lipid peroxidation ที่ไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ฉีกขาด ทำ

ให้เซลล์ตายเนื้อเยื่อเสื่อมสภาพและเกิดความชราตามอายุขัย ถ้าเกิดที่โปรตีนใด โปรตีนนั้นจะเสื่อมสภาพตามธรรมชาติ (denaturation) เช่น เกิดที่ lens collagen ก็จะเป็น lens cataract ได้ ถ้าเกิดที่ low-density lipoprotein molecule (LDL) จะมีปัญหาของการพาโคเลสเตอรอลในเลือด ทำให้มีการตกตะกอนของโคเลสเตอรอล และเกิด atherosclerosis ตามมา ถ้าเกิดที่ ดีเอ็นเอ ก็จะมี DNA oxidative damage หรือ เกิด genetic mutation มะเร็ง โรคทางพันธุกรรม และอื่น ๆ อีก ภาวะที่มีการทำลายด้วยออกซิเดชันมาก ๆ เรียกว่า oxidative stress ซึ่งเป็นผลร้ายต่อเนื้อเยื่อและชีวิตเป็นพิษอีกมากมาย เช่น สารพิษตกค้างในอาหารและน้ำ สารฆ่าหญ้า สารปราบศัตรูพืช ยาบางชนิดรังสี UV X-ray เชื้อโรค ไวรัส แบคทีเรียและพยาธิ สิ่งเหล่านี้จะส่งเสริมหรือเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันให้มากขึ้น ทำให้มีการเพิ่มการทำลายชีวโมเลกุลต่าง ๆ เช่น ไขมันที่ประกอบเป็นเยื่อหุ้มเซลล์ หากถูกออกซิไดซ์เซลล์จะแตก มีความผิดปกติ และตายในที่สุด บางที ดีเอ็นเอ ในนิวเคลียสจะถูกออกซิไดซ์และทำให้รหัสพันธุกรรมเปลี่ยนแปลงผิดไปจากเดิม มีการกลายพันธุ์ หรือแปรสภาพเซลล์ดีให้กลายเป็นเซลล์มะเร็ง อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องในทางชีววิทยา สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive nitrogen species, NOS) และกลุ่มที่มีสารอื่นเป็นองค์ประกอบสำคัญ สารบางชนิดสามารถจัดอยู่ได้ 2 กลุ่ม เช่น เปอร์ออกซีไนไตรท์

2.3.2 อนุมูลอิสระ (Free radicals) (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550)

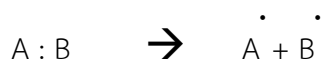
อนุมูลอิสระ หมายถึง อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่หรืออิเล็กตรอนเดี่ยว (unpaired electrons or singlet electron) อยู่ในวงโคจรของอิเล็กตรอนในอะตอมหรือโมเลกุลในภาวะปกติอะตอมหรือโมเลกุลจะเสถียรเมื่อมีอิเล็กตรอนครบคู่ ดังนั้นการที่อนุมูลอิสระมีอิเล็กตรอนเดี่ยว ทำให้เป็นสารที่ไม่เสถียร มีช่วงครึ่งอายุสั้น (half life) ซึ่งโดยทั่วไปอนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยากับสารอื่นใน 2 รูปแบบ คือ โดยการดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนมาจากสารโมเลกุลอื่นที่อยู่ข้างเคียง โดยการเพิ่มโมเลกุลของออกซิเจนเข้าไป เพื่อให้เกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxyl radical) เนื่องจากอนุมูลอิสระมีอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่อยู่ในโมเลกุล จึงมีความไวสูงในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลภายในร่างกาย ทำลายสมดุลของระบบต่าง ๆ ในร่างกาย โดยการทำลาย

องค์ประกอบหลักของเซลล์ เช่น ทำลายหน้าที่ของเซลล์เมมเบรนอันนำไปสู่การตายของเซลล์ทำลาย ดีเอ็นเอ โดยไปจับกับหมู่ฟอสเฟตและน้ำตาลดีออกซีไรโบส อนุมูลอิสระยังสามารถแตกพันธะเปปไทด์ของโปรตีน ทำให้โปรตีนไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นสาเหตุของการเกิดการกลายพันธุ์และการเกิดมะเร็ง นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดสภาวะทางพยาธิสภาพในโรคสำคัญบางโรค เช่น ไขมันอุดตันในเส้นเลือด โรคหัวใจ โรคไขข้ออักเสบ ต้อกระจก เป็นต้น อนุมูลอิสระมีที่มาจากแหล่งภายนอกในร่างกาย ได้แก่ มลพิษในอากาศ โอโซน ไนตรัสออกไซด์ อาหารที่มีกรดไขมัน

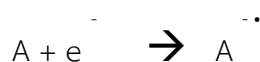
อิมตัวหรือธาตุเหล็กมากกว่าปกติ แสงแดด ความร้อน รังสีแกมมา ยาบางชนิด เป็นต้นและแหล่งภายในร่างกาย ได้แก่ ออกซิเจน เป็นต้น

อนุมูล หรือ อนุมูลอิสระ คือ อะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูล หรืออนุมูลอิสระ คือ อิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลซึ่งจะแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล A $\dot{A}$ อนุมูล A^- และ อนุมูล A^+ โดยเฉพาะอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง อนุมูลอิสระจึงมีคุณสมบัติเฉพาะ คือ มีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ ตัวอย่างของอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน (O_2^-) อนุมูลไฮดรอกซี ($OH^\cdot$) อนุมูลอัลคอกซี ($RO^\cdot$) และอนุมูลเปอร์ไฮดรอกซี ($OH_2^\cdot$) อนุมูลอิสระเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาสูงมาก และขณะที่ไนตริกออกไซด์ (NO) หรืออนุมูลไนตริกออกไซด์ ($NO^\cdot$) อนุมูลวิตามินอี และอนุมูลวิตามินซี เป็นอนุมูลที่มีความไวสูงรองลงมา การเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายกลไกที่แตกต่างกัน ดังนี้

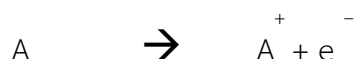
ก. การแตกของพันธะโควาแลนต์แบบโฮโมไลซิส



ข. การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัวให้แก่อะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



ค. การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัวให้แก่อะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



นอกจากนี้การศึกษาและวิจัยพบว่ามีการหลายชนิดที่ไม่ได้อยู่ในสภาวะอนุมูล แต่มีความเกี่ยวข้องหรือเป็นผลผลิตของอนุมูล เนื่องจากมีความคงตัวต่ำ สลายตัวได้ง่าย เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เปอร์ออกซิไนไตรท์ ($ONOO^-$) อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลมีบทบาทในทางชีวภาพ แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive nitrogen species, RNS) กลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive chlorine species, RCS) สารบางชนิดจัดอยู่ได้ 2 กลุ่ม เช่น เปอร์ออกซิไนไตรท์ ($ONOO^-$) สามารถแสดงได้ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.4 อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง (โอภา วัชรคุปต์และคณะ, 2550)

อนุมูลอิสระ	สารที่เกี่ยวข้อง
Reactive oxygen species (ROS, RS)	
Superoxide, Superoxide anion $O_2^{\cdot-}$	H_2O_2 Ozone O_3
Hydroxyl, $\cdot OH$	Hypobromous acid, HOBr
Hydroperoxyl, $HO_2^{\cdot}$	Hypochlorous acid, HOCl
Peroxyl, $RO_2^{\cdot}$	Singlet oxygen ($O_1, \Delta g$)
Alkoxyl, $RO^{\cdot}$	Organic peroxides, ROOH
Carbonate, $CO_3^{\cdot-}$	Peroxynitrite, $ONOO^-$
Carbon dioxide, $CO_2^{\cdot-}$	Peroxynitrous acid, ONOOH
Reactive nitrogen species (RNS)	
Nitric oxide, $NO^{\cdot}$	Nitrous acid, HNO_2
Nitrogen dioxide, $NO_2^{\cdot}$ $NO_2^{\cdot+}$	Nitrosyl cation, NO^+ Nitroxyl anion, NO^-
	Dinitrogen tetroxide, N_2O_4 Dinitrogen trioxide, N_2O_3
	Peroxynitrite, $ONOO^-$ Peroxynitrous acid, ONOOH
	Nitronium (nitryl) cation, NO_2^+
	Alkyl peroxynitrites, ROONO
Reactive chlorine species (RCS)	
Atomic chlorine, Cl	Hypochlorous acid, HOCl
	Nitryl (nitronium) chloride, NO_2Cl
	Chloramines Chlorine gas (Cl_2)
Others	
Thiyl radical ($RS^{\cdot}$)	

2.3.2.1 กระบวนการสร้างอนุมูลอิสระภายในร่างกาย (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550)

อนุมูลอิสระเป็นกระบวนการปกติที่เกิดขึ้นในร่างกาย รวมถึงการได้รับสารจากภายนอกโดยจะเข้ามากระตุ้นภายในร่างกายให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระ โดยจะกล่าวถึงภาวะที่เกิดขึ้นภายในร่างกายเท่านั้น

(1) อนุมูลอิสระที่เกิดจากกระบวนการหายใจและกระบวนการสร้างพลังงานภายในร่างกาย ไมโทคอนเดรียเป็นแหล่งที่สร้างพลังงานและเกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นคือ อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน อนุมูลไฮดรอกซี และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เมื่อการสร้างพลังงานให้กับร่างกายโดยออกซิเดทีฟฟอสโฟรีเลชัน (oxidative phosphorylation) พบว่าออกซิเจนทั้งหมดที่ใช้สร้างพลังงานจะมีการรีดิวซ์ไม่สมบูรณ์ประมาณ 2-10% ได้เป็นอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ซึ่งนำไปสู่อนุมูลอิสระตัวอื่นคือ อนุมูลไฮดรอกซี และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยที่อนุมูลไฮดรอกซีที่เกิดจากอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ในสภาวะที่มี Fe เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ยังทำให้เกิดอนุมูลไฮดรอกซีจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยปฏิกิริยาเฟนตัน (Fenton) ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^{\cdot} + OH^-$) นอกจากปฏิกิริยาเฟนตันแล้วยังทำให้เกิดอนุมูลไฮดรอกซีโดยปฏิกิริยาฮาเบอร์ไวส์ (Haberweiss) จากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + HO^{\cdot} + OH^-$) อนุมูลอิสระที่หลุดออกมาจากห่วงโซ่หายใจทั้ง ROS และ RNS เมื่อถูกกระตุ้นจึงจำเป็นต้องดึงอิเล็กตรอนออกมา

จากโมเลกุลอื่นเพื่อทำให้ตัวเองเสถียรขึ้น ซึ่งทำให้มีอนุมูลอิสระตัวใหม่เกิดขึ้น เป็นจุดเริ่มต้นของปฏิกิริยาลูกโซ่เพื่อสร้างอนุมูลอิสระ หากไม่มีการยับยั้งให้มีการสร้างลดลงของอนุมูลตัวใหม่จะทำให้เกิดปฏิกิริยา เช่น ลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ซึ่งเป็นการสร้างอนุมูลอิสระภายในเยื่อหุ้มเซลล์

(2) อนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เมื่อเซลล์ในร่างกายของเราพบว่ามีแบคทีเรียเข้าสู่ร่างกายจะมีการสร้างอนุมูลอิสระมาทำลายแบคทีเรียนั้นๆ ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายจะควบคุมการสร้างอนุมูลอิสระ แต่ถ้าเมื่อใดที่ระบบภูมิคุ้มกันไม่สามารถควบคุมการสร้างได้จะทำให้เกิดโทษต่อร่างกายโดยอนุมูลอิสระที่มีการสร้างขึ้นมากมายจะไปทำลายเซลล์ร่างกาย เช่น การเป็นโรคอโตอิมมูน (autoimmune diseases)

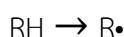
(3) อนุมูลอิสระเป็นผลผลิตที่มาจากการทำงานของเอนไซม์หรือปฏิกิริยาเคมีในร่างกายอนุมูลอิสระจะถูกสร้างจากกระบวนการย่อยสลายของอะดรีนาลีน (adrenaline) กระบวนการเมตาบอลิซึมของไขมัน (lipid metabolism) และเหล็ก (iron metabolism)

2.3.2.2 ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ

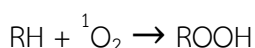
ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระจัดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (free radical chain reaction) ซึ่งมีกลไกในการเกิดปฏิกิริยา 3 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกเรียกว่าอินิทิเอชัน (Initiation step) เป็นขั้นตอนที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ขั้นตอนที่สองเรียกว่าพรอพาเกชัน (Propagation step) เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลตัวอื่น และขั้นตอนสุดท้ายเรียกว่าเทอร์มิเนชัน (Termination step) เป็นขั้นตอนที่มีการรวมกันของอนุมูลอิสระ 2 อนุมูล ได้เป็นสารที่มีความเสถียร

ขั้นตอนที่ 1 อินิทิเอชัน (Initiation step)

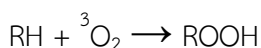
ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์ มักเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการสลายพันธะด้วยน้ำ(hydrolysis), ด้วยแสง (photolysis), ด้วยรังสี (radiolysis) หรือปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox reaction) นอกจากนี้ก็ยังมีเอนไซม์อื่น ๆ อีกหลายชนิดที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในเซลล์ รวมถึงโมเลกุลที่มีความไวสูงในการทำปฏิกิริยา เช่น nitric oxide (NO) และ singlet oxygen (1O_2) ซึ่งหมายถึงออกซิเจนในสถานะที่ถูกกระตุ้น (excited state) สิ่งเหล่านี้ล้วนทำให้เกิดขั้นตอนอินิทิเอชันของปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ



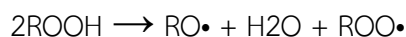
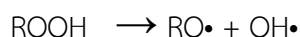
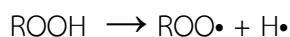
ซึ่ง singlet oxygen เมื่อทำปฏิกิริยากับไขมัน (RH) จะทำให้เกิด hydroperoxide



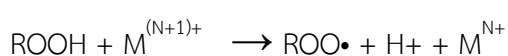
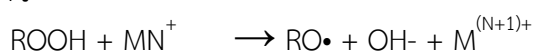
นอกจากนี้ hydroperoxide ยังเกิดขึ้นได้ในปฏิกิริยาที่มีออกซิเจนที่อยู่ในสถานะ ground state ซึ่งเรียกว่า triplet oxygen (3O_2) โดยมีเอนไซม์ lipoxygenase อยู่ด้วย



พันธะ O-O ในโมเลกุลของ hydroperoxide เป็นพันธะที่อ่อน ดังนั้นจึงถูกสลายทำลายได้ง่าย ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระ ซึ่งถือเป็นขั้นตอนอินิทิเอชันของปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ

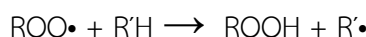
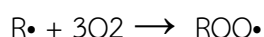
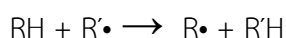


ในปฏิกิริยาที่มีโลหะไอออน เช่น เหล็ก และทองแดง พบว่าจะเป็นการช่วยเร่งการสลายโมเลกุล hydroperoxide ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น



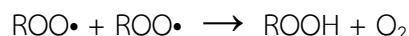
ขั้นตอนที่ 2 พรอพาเกชัน (Propagation step)

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในขั้นตอนอินิทิเอชันจะดำเนินปฏิกิริยาต่อไปในขั้นตอนของพรอพาเกชัน ซึ่งเกิดปฏิกิริยาขึ้นได้ 2 ทาง คือ โดยการดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลข้างเคียง หรือโดยการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเจนที่อยู่ในสถานะ ground state ทำให้ได้อนุมูลอิสระตัวใหม่ขึ้นมา



ขั้นตอนที่ 3 เทอร์มิเนชัน (Termination step)

ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น 2 อนุมูลมารวมกันได้เป็นสารที่มีความเสถียร จึงเป็นการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ



2.3.2.3 ความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550)

อนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดโรค ทั้งเป็นต้นเหตุของการเกิดโรคและเป็นปัจจัยทำให้โรคมีการพัฒนาอย่างรวดเร็วและมีความรุนแรงยิ่งขึ้น โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวข้องกับความเสื่อมและความบกพร่องของเซลล์ประสาท และระบบสื่อประสาทในสมอง และภาวะขาดเลือดของอวัยวะที่สำคัญต่อการดำรงชีวิต คือ หัวใจ และสมอง นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ อนุมูลอิสระมีความไวสูงไม่คงตัวเนื่องจากมีอิเล็กตรอนเดี่ยวไว้คู่ ดังนั้นจึง

พยายามหาอิเล็กตรอนมาจับคู่ทำให้มีความคงตัวขึ้น เป้าหมายแรกที่อนุมูลอิสระทำให้เกิดความเสียหายและเป็นสาเหตุของการเกิดโรค คือ ชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกายที่ไวต่อการถูกออกซิไดส์ ได้แก่ ลิพิดที่เป็นองค์ประกอบของเมมเบรน โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์รีเซพเตอร์ และ สารสื่อประสาท และดีเอ็นเอ ลิพิด โปรตีน และดีเอ็นเอ เป็นชีวโมเลกุลที่ถูกอนุมูลอิสระทำให้เกิดความเสียหาย ทั้งนี้เพราะชีวโมเลกุลเหล่านี้มีอิเล็กตรอน หรืออะตอมไฮโดรเจนที่หลุดออกได้ง่าย ทำให้อนุมูลอิสระเข้าไปทำปฏิกิริยาโดยเข้าไปจับคู่กับอิเล็กตรอนของชีวโมเลกุล หรือดึงอิเล็กตรอน หรืออะตอมไฮโดรเจนออกจากชีวโมเลกุลนั้นๆ กล่าวคือชีวโมเลกุลคือ ลิพิด โปรตีน และดีเอ็นเอ ถูกออกซิไดส์โดยอนุมูลอิสระ อุบัติการณ์เหล่านี้ทำให้คุณสมบัติ และการทำงานของชีวโมเลกุลเปลี่ยนไปเกิดความบกพร่อง หรือถูกทำลาย อันเป็นเหตุของการเกิดโรค

(1) กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่ลิพิดถูกออกซิไดส์

ในสิ่งมีชีวิตการที่ลิพิดถูกออกซิไดส์โดยอนุมูล เรียกว่า ลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน เป็นกระบวนการที่กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว และ พอสโพลีพิดเกิดการเสื่อมสภาพหรือเสียหายจากการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ทำให้เกิดลิพิดไฮเปอร์ออกไซด์ขึ้นในเซลล์เมมเบรนหรือ ลิพิดในเลือด และ ในของเหลวในร่างกายอื่นๆ เป็นต้น อนุมูลอิสระเพียง 1 อนุมูล สามารถทำให้เกิดลิพิดเปอร์ออกไซด์ เป็นจำนวนหลายร้อยโมเลกุลก่อนที่จะสิ้นสุดปฏิกิริยา เนื่องจากปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันสามารถเกิดขึ้นได้ง่ายที่เซลล์เมมเบรนอันมีลิพิด 2 ชั้นเป็นประกอบ ทำให้เกิดสารประกอบผลผลิตที่หลากหลาย

(2) กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่ดีเอ็นเอถูกออกซิไดส์

อนุมูลอิสระมีบทบาทในปฏิกิริยาที่ทำให้โครงสร้างของดีเอ็นเอเปลี่ยนแปลงไปในลักษณะต่างๆ เช่น nicking การจับคู่เบสในดีเอ็นเอผิดไป การจัดเรียงลำดับของนิวคลีโอไทด์ผิดไป การหายไปของดีเอ็นเอบางส่วน การมีนิวคลีโอไทด์หรือดีเอ็นเอบางส่วนสอดแทรก และการเพิ่มขึ้นของดีเอ็นเอ ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในเซลล์และร่างกายซึ่งทำความเสียหายต่อดีเอ็นเอ ได้แก่ การเติมหมู่เมทิล การกำจัดหมู่พิวรีน และการกำจัดหมู่อะมิโน อนุมูลอิสระต่างชนิดกันจะมีผลต่อดีเอ็นเอในรูปแบบที่แตกต่างกัน เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะไม่ทำปฏิกิริยากับเบสในดีเอ็นเอ ในขณะที่อนุมูล OH สามารถทำปฏิกิริยากับเบสในดีเอ็นเอทั้งสี่ชนิดเกิดเป็นสารหลากหลายชนิด ส่วนอนุมูล O ทำปฏิกิริยาจะเฉพาะเจาะจงกับกวีนีนเท่านั้น

(3) กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่โปรตีนถูกออกซิไดส์

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีนจะเพิ่มการเผาผลาญโปรตีนซึ่งเป็นสารเชิงซ้อนที่มีโมเลกุลใหญ่ได้เป็นสารโมเลกุลที่เล็กลง ผลที่ตามมาจะทำให้เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต เพราะจะมีผลกระทบต่อการทำงานของร่างกาย โปรตีนเมื่อถูกออกซิไดส์โครงสร้างของโปรตีนจะเปลี่ยนไปได้หลายรูปแบบ การเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำ

ให้โปรตีนเสียสภาพ ซึ่งจะมีผลทำให้เอนไซม์ รีเซพเตอร์และสารสื่อต่างๆ ซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ ไม่สามารถทำงานได้ตามปกติหรือมีประสิทธิภาพการทำงานลดลง

2.3.2.4 การป้องกันอันตรายและความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550)

กลไกที่สำคัญที่ควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสมดุล ได้แก่

(1) เอนไซม์ที่ป้องกันการออกซิเดชัน (antioxidant defense enzyme) ในระดับเซลล์เอนไซม์เป็นกลไกสำคัญแรกที่ทำหน้าที่ควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสมดุล เอนไซม์ที่สำคัญได้แก่ เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxide dismutase; SOD) เอนไซม์ SOD จะทำหน้าที่ขจัดอนุมูลอิสระเริ่มต้นที่ เกิดขึ้นในร่างกาย คือ อนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O) โดยการเปลี่ยน O ให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์



เอนไซม์คาตาเลส (catalase ; CAT) เอนไซม์คาตาเลสเป็นเอนไซม์ซึ่งอยู่ในเปอร์ออกซิโซม มีฮีม คือ ferriprotoporphyrin เป็นองค์ประกอบ เอนไซม์คาตาเลสทำหน้าที่เปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นโมเลกุลของน้ำกับออกซิเจน



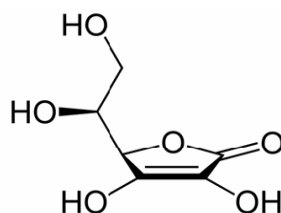
เอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase ; GPx) เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจะมีธาตุซีลีเนียมเป็นองค์ประกอบสำคัญอยู่ในโครงสร้างของเอนไซม์ GPx ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยารีดักชันของสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ได้แก่ ลิพิดเปอร์ออกไซด์ (ROOH) และ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยมีการออกซิไดส์กลูตาไทโอน ร่วมในปฏิกิริยาดังนี้ เป็นการสลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่ให้เกิดปฏิกิริยาพ่นต้น ซึ่งเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ เอนไซม์นี้ปกป้องเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมไม่ให้เกิดการทำลายหรือเสียหายจากภาวะที่ร่างกายถูกออกซิไดส์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินไป



(2) สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง เพื่อกำจัดอนุมูลให้หมดไป หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้เกิดอนุมูลอิสระที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เช่น

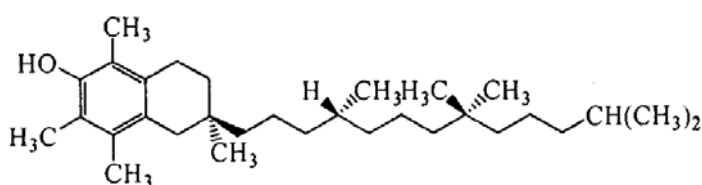
(2.1) วิตามินซี มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี จึงทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระในเซลล์และอวัยวะที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก วิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิก (AscH_2) มีหมู่ไฮดรอกซี 2 หมู่ที่แตกตัวให้ไฮโดรเจนได้ปฏิกิริยาโดยรวมคือ การให้อิเล็กตรอน 1 ตัว ร่วมกับอะตอมไฮโดรเจน แก่อนุมูลอิสระ เป็นการกำจัดหรือสลายอนุมูลอิสระคือ $\text{R}^\bullet$ ให้เป็น RH จากการกำจัดนี้จะได้อนุมูลอิสระตัวใหม่ที่มีความไวต่ำคือ Asc แสดงดังภาพที่ 2.15



ภาพที่ 2.15 ascorbic acid (วิตามินซี)

ที่มา: <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/09/Ascorbic-acid-2D-skeletal.png> [20 ธันวาคม 2558]

(2.2) วิตามินอี หรือ tocopherol เป็นวิตามินที่ละลายได้ดีในไขมันจากโครงสร้างมีได้หลายไอโซเมอร์หรือรูปแบบ α -tocopherol เป็นไอโซเมอร์ที่มีฤทธิ์สูงสุดจากบรรดาไอโซเมอร์ทั้งแปด วิตามินอีเป็นสารต้านอนุมูลที่สำคัญของเมมเบรนซึ่งมีลิพิดเป็นองค์ประกอบ โดยปกป้องไม่ให้เกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน แสดงดังภาพที่ 2.16



ภาพที่ 2.16 α -tocopherol (วิตามินอี)

ที่มา: โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550

2.4 สารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชัน (antioxidants) คือ สารสังเคราะห์หรือสารธรรมชาติที่ช่วยป้องกันหรือชะลอการถูกทำลายของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (autoxidation) โดยการกำจัดพวก Reactive oxygen /nitrogen species (ROS/RNS) จึงช่วยยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของสารอนุมูลหรือยับยั้งสารออกซิแดนท์ สารต้านออกซิเดชันมีกลไกการทำงานในรูปแบบการป้องกัน คือ ลดสารที่ไวต่อปฏิกิริยา (Reactive species) ซึ่งเป็นสาร ที่มีผลเสียต่อร่างกายได้ เป็นตัวล่อโลหะ ยับยั้งเอนไซม์ที่มี

ผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และเป็นโคแฟกเตอร์ของสารต้านออกซิเดชันที่เป็นเอนไซม์ เป็นต้น สารต้านออกซิเดชันส่วนใหญ่เป็นสารประกอบฟีนอล (phenols) และเอมีน (amines) (Huang et al., 2005)

การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านออกซิเดชัน (Antioxidant capacity assays) มีหลักการวิเคราะห์แบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ 1. ความสามารถในการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (single electron transfer; ET) และ 2. ความสามารถในการเคลื่อนย้ายอะตอมของไฮโดรเจน (hydrogen atom transfer; HAT) (Huang et al., 2005)

2.4.1 การเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (Single electron transfer; ET)

เป็นการวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันจากปฏิกิริยารีดักชันของสารออกซิแดนซ์ซึ่งเมื่อถูกรีดิวซ์จะเปลี่ยนสี ปฏิกิริยาประกอบด้วยสารต้านออกซิเดชัน และสารออกซิแดนซ์ซึ่งใช้เป็นโพรบ (probe) เพื่อติดตามปฏิกิริยาและบ่งชี้จุดสิ้นสุดปฏิกิริยา โพรบเมื่อได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชันจะเปลี่ยนสีและเมื่อถึงจุดสิ้นสุดปฏิกิริยาจะหยุดการเปลี่ยนแปลงสี โดยระดับการเปลี่ยนแปลงสีเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชัน เมื่อพลอตกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชันจะได้กราฟเส้นตรง นิยมเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพกับโทรลอกซ์ (Trolox equivalence; TE) หรือกรดแกลลิก (Gallic acid equivalent; GAE) เนื่องจากการวัดไม่ใช่ปฏิกิริยาแข่งขันและไม่มีอนุมูลของออกซิเจน ดังนั้นความสามารถของสารต้านออกซิเดชันจึงสัมพันธ์กับความสามารถที่ลดลง วิธีการที่นิยมใช้ได้แก่ 1. วัดปริมาณฟีนอลทั้งหมดโดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent (Total phenols assay by Folin-Ciocalteu reagent) 2. Trolox equivalence antioxidant capacity (TEAC) 3. Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) 4. Total antioxidant potential โดยใช้ Cu (II) ทำปฏิกิริยากับสารออกซิแดนซ์ และ 5. DPPH radical scavenging capacity assay

2.4.1.1 การวัดปริมาณฟีนอลทั้งหมด (Total phenols assay by Folin-ciocalteu reagent; FCR) เริ่มต้นใช้เพื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยสารที่ใช้จะเกิดปฏิกิริยากับไทโรซีน (มีกลุ่มของฟีนอล) การหาปริมาณฟีนอลทั้งหมด (หรือฟีนอลิก) เป็นวิธีที่นิยมใช้เนื่องจากความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลและความสามารถในการต้านออกซิเดชันมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงเป็นอย่างดี

2.4.1.2 Trolox equivalent antioxidant capacity assay เป็นการวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันเปรียบเทียบกับโทรลอกซ์ โดยใช้สารอนุมูล $ABTS^{\bullet-}$ เป็นสารออกซิแดนซ์ ซึ่งเกิดจากการออกซิเดชันของเปอร์ซัลเฟตของกรด ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) เมื่อ พลอตกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชันจะได้กราฟเส้นตรง โดยความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชันทำให้การดูดกลืนแสงของ $ABTS^{\bullet-}$ เปลี่ยนแปลง วิธีการนี้สามารถทำให้ง่ายในห้องปฏิบัติการ

2.4.1.3 Ferric ion reducing antioxidant power assay (FRAP) เป็นวิธีการที่ใช้

เกลือเฟอร์ริก (ferric salt) ((Fe (III) (TPTZ)₂Cl₃(TPTZ) 2,4,6-tripyridyl-s-triazine) เป็นสารออกซิแดนท์ พบว่าค่ารีดอกซ์โพเทนเชียลของเกลือเฟอร์ริกประมาณ 0.70 V และ ABTS^{•-} ประมาณ 0.68 V ดังนั้นวิธี TEAC และ FRAP จึงค่อนข้างเหมือนกัน ยกเว้น TEAC วิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่ pH เป็นกลาง ส่วน FRAP วิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด (pH 3.6)

2.4.1.2 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay

เป็นการวัดความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH[•] ซึ่งอนุมูล DPPH[•] เป็นสารสังเคราะห์ที่มีความคงตัวและเป็นอนุมูลอินทรีย์ของไนโตรเจน (organic nitrogen radicals) ดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่อเกิดปฏิกิริยารีดักชันสีของสารละลายจะจางลง ติดตามปฏิกิริยาโดยใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ พบว่าปริมาณ DPPH[•] (ร้อยละ) เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชัน

2.4.2 การเคลื่อนย้ายอะตอมไฮโดรเจน (Hydrogen atom transfer; HAT)

เป็นการวัดความสามารถในการให้ไฮโดรเจนของสารต้านออกซิเดชัน โดยพิจารณาจากปฏิกิริยาการแข่งขันทางจลศาสตร์ระหว่างสารต้านออกซิเดชันกับสับสเตรตในสภาวะที่มีอนุมูลเปอร์ออกซิล (อนุมูลที่เกิดจากสารเอโซ (azo)) นิยมใช้อนุมูลเปอร์ออกซิลในการวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชัน ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดออกซิเดชันของไขมันในอาหารและระบบสิ่งมีชีวิต พบว่าวิตามินอีเป็นสารต้านออกซิเดชันที่นำมาใช้เพื่อป้องกันการเกิดเอสเทอร์ของไขมันในอาหารและเซลล์ เมมเบรนจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน สารต้านออกซิเดชันในระบบอาหารทั่วไปหมายถึง สารที่สามารถยับยั้งการเกิดการออกซิเดชันของไขมัน สารต้านออกซิเดชันที่สำคัญที่เป็นตัวล่อโลหะ เช่น EDTA และยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ เช่น BHT โดยเป็นตัวให้ไฮโดรเจน การวัดความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านออกซิเดชันโดยวิธี FCR และ Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) สามารถบอกถึงความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของกรดไขมันในระบบอาหารได้ Pedulli et al., (1999) ได้ศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของฟีนอไทเอซีน (Phenothiazine) พบว่าอะโรมาติกเอมีนจะแสดงความสามารถในการต้านออกซิเดชัน เนื่องจากมีพลังงานระหว่างพันธะของ N-H ต่ำ (77-80 kcal/mol) ถ้ามีการแทนที่ไฮโดรเจนอะตอมด้วยกลุ่มเมธิลจะทำให้ความสามารถในการจับกับอนุมูลเปอร์ออกซิลลดลง ดังนั้นความสามารถในการจับกับอนุมูลจึงมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการให้ไฮโดรเจนอะตอม การเกิดปฏิกิริยาประกอบด้วย ตัวกำเนิดสารอนุมูล โพรบ และสารต้านออกซิเดชัน มีวิธีการที่ใช้ได้แก่ 1. วัดความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของ LDL (low-density lipoprotein autoxidation) 2. วัดความสามารถในการดูดกลืนแสงของอนุมูลออกซิเจน (Oxygen radical absorbance capacity; ORAC) 3.Total radical trapping antioxidant parameter (TRAP) และ 4. Crocin bleaching assays

2.4.2.1 Inhibited oxygen uptake (IOU) Method เป็นการวัดอัตราการใช้ออกซิเจน หรือการฟอร์มตัวของเปอร์ออกไซด์โดยใช้สไตรีน (styrene) เป็นสับสเตรต โดยสารเอโซไฮโซบิวทริลไนไตรด์ (azoisobutyronitrile; AIBN) เป็นตัวเริ่มต้นเพื่อกำเนิดสารอนุมูล วิธีนี้ไม่ได้รับการนิยมมากนัก เนื่องจาก 1. ข้อมูลจากการทดลองไม่ได้อยู่ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนจริงๆ 2. ความถูกต้องของการวัดอัตราการใช้ออกซิเจนทำได้ยาก โดยเฉพาะช่วงการยับยั้งซึ่งมีการใช้ออกซิเจนอย่างช้าๆ และ 3. ในตัวอย่างอาหารทั่วไปความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชันจะมีปริมาณต่ำมากซึ่งความไวของวิธีการยังไม่เพียงพอ

2.4.2.2 Inhibition of induced lipid autoxidation เป็นวิธีการที่จำลองการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไลโนเลอิกหรือ LDL โดยใช้ Cu (II) หรือสารที่ทำให้เกิดสีติดตามการดูดกลืนแสงของอนุมูลเปอร์ออกไซด์ที่เกิดจากการออกซิเดชันของกรดไลโนเลอิกด้วยยูวีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 234 นาโนเมตร เป็นวิธีการวัดที่ไวกว่าวิธี Inhibited oxygen uptake (IOU) และใช้ตัวกำเนิดอนุมูลและสับสเตรตน้อยกว่าถึง 10 เท่า สามารถเกิดปฏิกิริยานอกไมเซลล์หรือในตัวทำละลายอินทรีย์ได้ ซึ่งการทำปฏิกิริยาในไมเซลล์ไม่สามารถติดตามด้วยยูวีสเปกสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ได้โดยตรงจึงเป็นข้อจำกัดในการเตรียมตัวอย่าง

2.4.2.3 การวัดโดยใช้โมเลกุลโพรบ (Assays using molecular probes) เป็นการทดลองเพื่อติดตามปฏิกิริยาทางจุลศาสตร์ในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันที่มีความซับซ้อนและมีข้อจำกัด วิธีนี้พัฒนาขึ้นเพื่อวัดความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ซึ่งมีความสะดวกมากกว่าวิธีแบบเดิม โดยวัดการเกิดสีและการเรืองแสงของสารต้านออกซิเดชัน ซึ่งนำมาใช้กับสารอนุมูลที่ไม่เกิดปฏิกิริยาถูกโซ่ และสารอนุมูลจะเตรียมในสารละลายที่มีอากาศมาก สารต้านออกซิเดชันจะแข่งขันกับโพรบ (สับสเตรต) เพื่อจับสารอนุมูล จึงช่วยยับยั้งหรือชะลอการเกิดออกซิเดชันของโพรบ วิธีการวัดได้แก่ 1) Total radical trapping antioxidant parameter (TRAP) assay 2) Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay และ 3) Crocin bleaching assay ปฏิกิริยาประกอบด้วย ตัวกำเนิดสารอนุมูลที่มีสี โดยทั่วไปนิยมใช้ AAPH เป็นโพรบ ติดตามการเกิดปฏิกิริยาการแข่งขันของสารต้านออกซิเดชันและโพรบโดยใช้ยูวีหรือฟลูออโรเรสเซนซ์ และคำนวณความสามารถของสารต้านออกซิเดชันจากปฏิกิริยาทางจุลศาสตร์

(1) Peroxyl radical-trapping antioxidant parameter assay (TRAP) เป็นการวัดที่ใช้ R-phycoerythrin (R-PE) เป็นโพรบซึ่งเรืองแสงได้ ติดตามปฏิกิริยาของ R-PE ที่มีอนุมูล AAPH โดยวัดการเรืองแสง

(2) Oxygen radical absorbance capacity assay (ORAC) เป็นวิธีการที่ใช้สาร β -phycoerythrin (β -PE เป็นสารประกอบโปรตีนที่มีการเรืองแสง) เป็นโพรบ และอนุมูลเปอร์

ออกซิดเป็นสารออกซิแดนท์เพื่อประเมินความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารอนุมูล เป็นวิธีที่ดัดแปลงขึ้นเพื่อวัดสารต้านออกซิเดชันที่ชอบไขมัน (lipophilic antioxidants) วัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันจากการเรืองแสงที่ลดลงของ β -PE เนื่องจากอนุมูลเปอร์ออกซิถูกยับยั้งโดยสารต้านออกซิเดชัน ข้อเสียของการใช้ β -PE คือ 1. β -PE เป็นสารประกอบโปรตีนที่แยกได้จาก *Porphyridium cruentum* จึงมีความแปรปรวนมาก 2. สีของ β -PE จะจางลงเมื่อถูกแสง และ 3. β -PE สามารถเกิดปฏิกิริยากับโพลีฟีนอลซึ่งสามารถจับกับโปรตีนแบบไม่จำเพาะ จึงทำให้สูญเสียการเรืองแสงแม้จะไม่มีสารอนุมูล

(3) Crocin bleaching assay เป็นการวัดความสามารถในการยับยั้งของสารต้านออกซิเดชัน โดยการป้องกันการจางลงของสีโครซินที่เกิดจากอนุมูล AAPH ดังนั้นการวิเคราะห์การเคลื่อนย้ายอะตอมของไฮโดรเจนและการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนจึงเป็นวิธีที่เน้นการวัดความสามารถในการจับสารอนุมูล (หรือตัวออกซิแดนท์) ของสารต้านออกซิเดชันแทนความสามารถในเชิงป้องกัน และเป็นความสัมพันธ์ของอัตราการเกิดปฏิกิริยาของสารต้านออกซิเดชัน (หรือสับสเตรต) ในการกำจัดสารออกซิแดนท์ โดยอนุมูลเปอร์ออกซิถือว่าเป็นตัวแปรหลักที่บ่งบอกถึงการสูญเสียความสามารถในการต้านออกซิเดชัน

2.4.3 การวัดความสามารถในการจับกับ ROS (ROS scavenging capacity)

เป็นการวัดความสามารถในการจับสารออกซิแดนท์ในสิ่งมีชีวิต ซึ่งถือว่าเป็นการทดลองเพื่อให้เห็นถึงสาเหตุทางตรงและทางอ้อมที่เกิดขึ้นจากการทำลายของการเกิดออกซิเดชันในร่างกายมนุษย์ โดย Reactive oxygen species (ROS) มีอยู่ 6 ชนิด ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ($O_2^{\bullet-}$) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) อนุมูลเปอร์ออกซิล ($ROO^{\bullet}$) อนุมูลไฮดรอกซิล ($HO^{\bullet}$) ซิงเกิลทอกซิเจน (1O_2) และ เปอร์ออกซีไนไตรท์ ($ONOO^-$) เพื่อยับยั้งความรุนแรงของ ROS เหล่านี้ ในเซลล์สิ่งมีชีวิตจะมีระบบการป้องกัน ROS ประกอบด้วยสารต้านออกซิเดชันที่เป็นเอนไซม์ ซึ่งจะเปลี่ยน ROS/RNS ไปเป็นสารที่ไม่เป็นอันตราย เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (SOD) จะเปลี่ยน $O_2^{\bullet-}$ เป็นออกซิเจนและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรือปฏิกิริยาที่มีไนตริกออกไซด์ ($NO^{\bullet}$) จะฟอร์มตัวเป็นเปอร์ออกซีไนไตรท์ ค่ะตะเลสจะเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นน้ำและก๊าซออกซิเจน และพบว่าสารต้านออกซิเดชันที่ไม่ใช่เอนไซม์ยังมีความสามารถในการจับ $ROO^{\bullet}$ $HO^{\bullet}$ 1O_2 และ $ONOO^{\bullet-}$ ได้ เช่น วิตามินซี วิตามินอีและสารไฟโตเคมีคัลต่างๆ สารเหล่านี้ใช้ประเมินคุณสมบัติการจับกับสารออกซิแดนท์และสารอนุมูลอิสระในตัวอย่างอาหาร ดังนั้นความสามารถในการจับกับ ROS จึงวัดความสามารถของตัวอย่างที่เกิดปฏิกิริยากับสารออกซิแดนท์ (อนุมูลอินทรีย์หรือสารประกอบรีดอกซ์แอคทีฟ) และอนุมูลเปอร์ออกซิลเป็นสารอนุมูลที่นำมาใช้มากที่สุด เนื่องจากเป็นอนุมูลที่สำคัญในการเกิดออกซิเดชัน และเกิดได้ง่ายจากการเสื่อมสลายของสารเอโซ

เนื่องจากความร้อน วิธีที่ใช้ได้แก่ 1. $O_2^{\bullet-}$ scavenging capacity assay 2. H_2O_2 scavenging capacity assay 3. Hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$) scavenging assay 5. Singlet oxygen scavenging capacity assay และ 6. Peroxynitrite ($ONOO^-$) scavenging capacity assay เป็นต้น

อนุมูลอิสระสร้างขึ้นจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกาย และในสภาวะที่ร่างกายผิดปกติ เช่น ภาวะของโรค หรือร่างกายอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่เป็นมลพิษ สภาวะผิดปกติดังกล่าวทำให้ร่างกายเกิดการสะสมอนุมูลอิสระมากขึ้น ดังนั้นร่างกายจึงสร้างระบบการต้านออกซิเดชันขึ้นเพื่อป้องกันการทำลายจากสารอนุมูลอิสระ ซึ่งประกอบด้วยสับสเทรตหรือเอนไซม์ที่มีความเข้มข้นต่ำ จึงช่วยชะลอหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสับสเทรตเหล่านี้ พบว่าสารเกือบทั้งหมดในร่างกายเป็นสับสเทรตของการเกิดออกซิเดชัน เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และ ดีเอ็นเอ เป็นต้น สภาวะที่มีสารอนุมูลอิสระจำนวนมากจนระบบการต้านออกซิเดชันของร่างกายป้องกันไม่ได้เรียกว่า oxidative stress ซึ่งส่งผลกระทบต่อเซลล์มีชีวิตต่างๆ เช่น เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ ดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และโมเลกุลที่มีพันธะ S-H และเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดผลเสียและทำลายเซลล์ ซึ่งเป็นสาเหตุของการแก่ชรา (aging) และรุนแรงไปถึงการเกิดเป็นโรค เช่น เส้นเลือดตีบ โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน และมะเร็ง เป็นต้น (Jun และคณะ 2004) ดังนั้นการทำลายโมเลกุลที่เป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระจึงเป็นกลไกการทำงานที่สำคัญของระบบการต้านออกซิเดชัน โดยการทำงานดังกล่าวมีทั้งแบบที่ใช้และไม่ใช้เอนไซม์ ได้แก่ สารต้านออกซิเดชันที่พบในร่างกายและจัดเป็นเอนไซม์คือ ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase; SOD) คะตะเลส (catalase; CAT) กลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase; GPX) กลูตาไธโอนรีดักเทส (glutathione reductase (GR) และ glutathione S-transferase (GST) สารต้านออกซิเดชันที่พบในร่างกายแต่ไม่จัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่ กลูตาไธโอน (glutathione) กรดไลโปอิก (lipoic acid) อัลบูมิน (albumin) ทรานสเฟอร์ริน (transferrin) กรดยูริก (uric acid) เป็นต้น และสารต้านออกซิเดชันที่พบในอาหารและไม่จัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่ โทโคฟีรอล (tocopherols) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) สเตอรอยด์ (steroids) ไธออล (thiols) อินโนซีน (inosine) ไพรูเวท (pyruvate) กรดแกลลิก (gallic acid) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) โทรลอกซ์ (trolox) บิวทิลเลทเทต ไฮดรอกซีอะนิโซล (BHA) และบิวทิลเลทไฮดรอกซีโทลูอีน (BHT) เป็นต้น

โดยสารเหล่านี้จะไปจับกับอนุมูลอิสระจึงลดการเกิดปฏิกิริยา ณ จุดเริ่มต้นหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของสารอนุมูล นอกจากนั้นยังพบว่าการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันในผลิตภัณฑ์อาหารส่งผลต่อการเสื่อมคุณภาพ เช่น การเกิดกลิ่นหืน รสชาติไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และอายุการเก็บสั้นลง เป็นต้น ดังนั้นเพื่อป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารและป้องกันการรุนแรงของโรค จึงต้องยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันและการฟอร์มตัวของสารอนุมูลอิสระในร่างกายของสิ่งมีชีวิตและในผลิตภัณฑ์อาหาร

สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโ

นอยด์ เทนิน และแอนโทไซยานินจากพืช นับว่าเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีความปลอดภัยและยังแสดงคุณสมบัติทางชีวภาพอีกด้วย (Mohsen and Ammar, 2009) ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา นักวิจัยได้ให้ความสนใจในการค้นหาสารสกัดจากพืชหรือพืชที่มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันมากขึ้น รวมทั้งยังสามารถนำมาใช้เพื่อบริโภคได้อีกด้วย (Chua et al., 2008) ซึ่งสารสกัดจากพืชที่มีองค์ประกอบของสารฟีนอลิกปริมาณมากจึงได้รับความสนใจอย่างมากในอุตสาหกรรม เนื่องจากสารประกอบดังกล่าวสามารถชะลอการเกิดออกซิเดชันในไขมัน รวมถึงช่วยปรับปรุงคุณภาพและเพิ่มคุณค่าในผลิตภัณฑ์อาหารได้ (Kahkonen et al., 1999)

2.5 การแปรรูปอาหารโดยกระบวนการเอกซ์ทรูชัน

กระบวนการเอกซ์ทรูชัน เป็นกระบวนการแปรรูปที่ผสมผสานกันระหว่างแรงกลและแรงเฉือน เป็นกระบวนการแปรรูปอาหารที่ได้รับความนิยมในอุตสาหกรรมอาหารประเภทต่าง ๆ ได้แก่ การผลิตอาหารขบเคี้ยวประเภทพองตัวทันที อาหารขบเคี้ยวประเภทที่ต้องผ่านกระบวนการเพื่อทำให้เกิดการพองตัวในภายหลังอาหารเข้าถังชาตีพาสต้า เป็นต้น เป็นกระบวนการที่รวมหลาย ๆ กรรมวิธีเข้าด้วยกัน เช่น การผสม การต้ม การนวดการเฉือน การขึ้นรูป ซึ่งในการผลิตอาหารด้วยกระบวนการเอกซ์ทรูชันมีข้อดีมากมาย คือ ทำให้กระบวนการแปรรูปอาหารง่ายขึ้น (วิไลรังสาดทอง, 2547) เพิ่มความหลากหลายของอาหาร โดยเพิ่มชนิดของอาหารจากส่วนผสมพื้นฐานให้มีรูปร่าง เนื้อสัมผัส สีกลิ่น รส แบบต่าง ๆ เป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายต่ำ ประหยัดเวลา พลังงานและแรงงาน รวมถึง พื้นที่สำหรับการผลิตให้อัตราการผลิตสูง นอกจากนี้ยังเป็นกระบวนการผลิตแบบต่อเนื่องที่ใช้อุณหภูมิสูง เวลาสั้น (HTST) ซึ่งสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้อีกด้วย (Harper, 1981)

เครื่องเอกซ์ทรูเดอร์ที่ใช้ในการผลิตอาหาร มีหน้าที่อยู่ 4 อย่างคือ การผสม การทำให้สุก (cooking) การทำให้เกิดรูปร่าง (shaping) และการทำให้พอง (puffing) ซึ่งกระบวนการที่เกิดขึ้นนี้อยู่ในเครื่องเพียงเครื่องเดียว เป็นเทคนิคแปรรูปอาหารในระดับอุตสาหกรรม ที่ทำให้ส่วนผสมของวัตถุดิบสุกจนได้ผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นรูป เทคโนโลยีอันทันสมัยของเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์สามารถที่จะนำไปใช้เมื่อต้องการผลิตอาหารให้มีคุณสมบัติต่างๆ (Guha and Ali, 2006) เช่น ต้องการผลิตอาหารที่มีลักษณะพอง (puff) หรือต้องการสร้างลักษณะปรากฏของอาหารให้คล้ายเนื้อสัตว์ และมีการเติมส่วนผสมอาหารที่มีโปรตีนสูงลงในสูตร เป็นต้น โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์อาหารว่างประเภทขนมขบเคี้ยว ซึ่งต้องการของตลาดมักจะต้องมีความหลากหลายในด้านรูปร่าง ขนาด สี และลักษณะเนื้อสัมผัส สิ่งต่างๆ เหล่านี้ สามารถสร้างสรรค์ได้ด้วยเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์แบบสกรูคู่ นอกจากนั้นเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์แบบสกรูคู่ยังสามารถรองรับการผลิต ที่ต้องการความยืดหยุ่นในเรื่องของพารามิเตอร์ในกระบวนการผลิตต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความเร็วสกรู ปริมาณความชื้น ตลอดจนอัตราการไหล

2.5.1 หลักการทำงานของเอกซ์ทรูเดอร์

กระบวนการเอกซ์ทรูชันเป็นกระบวนการทำให้เกิดรูปร่างโดยใช้การบังคับสารที่อ่อนตัวหรือหลอมเหลวผ่านรูหรือไดด้วยความดัน โดยหลักการทำงานของเอกซ์ทรูเดอร์คือวัตถุดิบจะถูกส่งไปที่ส่วนรับวัตถุดิบ (feed hopper) จากนั้นส่งผ่านไปที่ตัวเอกซ์ทรูเดอร์วัตถุดิบจะหลอมเหลวอยู่ในรูปคล้ายพลาสติก เนื่องจากความดันสูงอุณหภูมิสูง และแรงเฉือน (shear force) ที่เกิดขึ้นในบารัล จากนั้นวัตถุดิบจะอยู่ในรูปของโด และเคลื่อนที่ไปตามทิศทางการหมุนของสกรูช่วงระยะที่ผ่านตัวเอกซ์ทรูเดอร์นี้ โดจะถูกทำให้สุกเนื่องจากเกิดการเจลาติไนซ์เซชัน และทำให้เกิดรูปร่างโดยผ่านหน้าแปลน (die) ซึ่งเป็นรูเปิดหรือช่องอยู่ส่วนสุดท้ายของเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์ (กมลวรรณ แจ่มชัด, 2541)

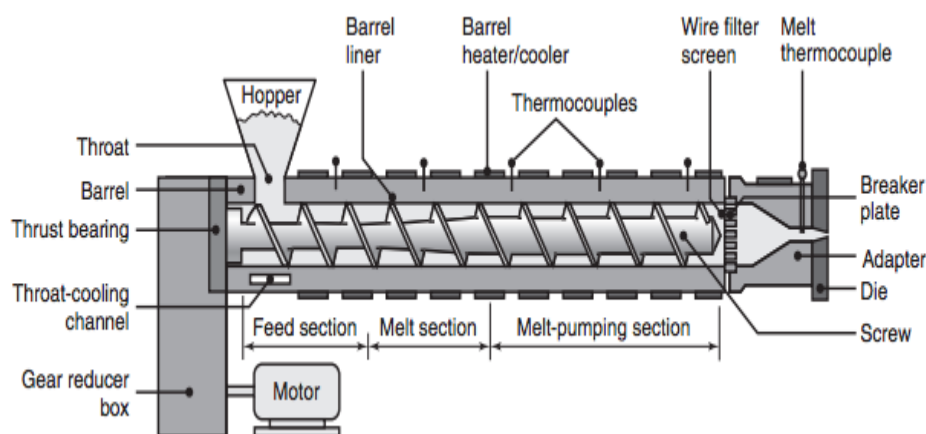
ปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเอกซ์ทรูเดอร์มากที่สุดคือ สภาวะการเดินเครื่อง อุณหภูมิ ความดัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโด และอัตราการหมุน ลักษณะของสกรู ส่วนคุณสมบัติของส่วนผสม ปัจจัยที่สำคัญที่สุด ได้แก่ ความชื้น ขนาดของวัตถุดิบและองค์ประกอบทางเคมี

2.5.1.1 สกรูทำหน้าที่ 3 อย่าง คือ

- (1) การขนถ่ายเคลื่อนย้ายมวล
- (2) ก่อให้เกิดพลังงานและความร้อน
- (3) เกิดการผสม

สกรูในส่วนแรกที่ทำหน้าที่ป้อนมักมีลักษณะสันเกลียวลึกซึ่งจะรับส่วนผสมของอาหารเคลื่อนที่ไปตามความยาวของสกรูและระหว่างการเคลื่อนที่ส่วนผสมจะได้รับการอัดเพิ่มขึ้น ส่วนที่สองของสกรูจะเป็นช่วงของการอัด สกรูจะมีสันเกลียวลดลงหรืออาจใช้วิธีการอื่นที่ทำให้ความสามารถในการเคลื่อนที่ลดลง ซึ่งมีผลให้เกิดการอัดมากขึ้น ส่วนนี้ของสกรูออกแบบมาเพื่อทำหน้าที่ผสมส่วนของอาหารที่หลอมเหลวนี้ สันเกลียวที่ตื้นขึ้นจะเพิ่มแรงเฉือนและช่วยให้การผสมดีขึ้นเพื่อให้เกิดโดที่มีอุณหภูมิและความดันสูงสม่ำเสมอ

การทำงานของเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์ ส่วนผสมที่ถูกป้อนเข้าสู่บาร์เรลของเครื่องมักอยู่ในรูปที่เป็นเม็ด (granular) พลังงานต่างๆ ที่ป้อนเข้าสู่เครื่องทั้งจากความร้อนของกระแสไฟฟ้า และความดันที่สูงขึ้น ทำให้อุณหภูมิของส่วนผสมเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะคงอยู่น้อยกว่า 20 วินาที เพระถ้านานเกินไปจะทำให้เกิดการไหม้และเกิดกลิ่นรสแปลกปลอม สกรูจะทำหน้าที่ขนถ่ายส่วนผสมของอาหารทำให้เกิดการอัดและผ่านไดเพื่อให้เกิดรูปร่างต่างๆ



ภาพที่ 2.17 ส่วนประกอบของเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์

ที่มา: Studyblue, 2014

เมื่อโดถูกปล่อยออกจากโดด้วยความดันสูงอย่างทันทีทันใด ทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการพองตัว (puffing) อย่างทันที การพองตัวส่วนใหญ่เกิดจากไอน้ำที่ระเหยออกจากน้ำในผลิตภัณฑ์อาหารที่ออกจากเอกซ์ทรูเดอร์ที่ขยายตัวจะมีโครงสร้างของเซลล์ปิด ซึ่งเซลล์แต่ละเซลล์ถูกล้อมรอบด้วยเมมเบรนของแป้งหรือโปรตีน ขนาดของเซลล์เหล่านี้เป็นลักษณะเฉพาะที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ คือ ลักษณะเนื้อและความหนาแน่นของผลิตภัณฑ์ เอกซ์ทรูเดอร์จะถูกตัดที่ผิวหน้าของโดด้วยใบมีด แล้วอบแห้งต่อด้วยเครื่องอบแห้งแบบลมร้อนให้มีความชื้น 2-12% ขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์

Kadan (2003) ศึกษากระบวนการเอกซ์ทรูชันว่าเป็นกระบวนการที่ทำให้ส่วนผสมอาหารขึ้นก่อนแล้วทำให้สุกอัดออกมาเป็นรูปทรง ซึ่งความร้อนที่ทำให้แป้งสุกนี้จะเปลี่ยนแป้งดิบให้เป็นเจลสมบูร์ณ์ อัดพองเป็นรูปร่างต่างๆ โดยผ่านรูโดแล้วอบให้แห้งกรอบ ปัจจุบันกระบวนการผลิตแบบ extrusion cooking เป็นกรรมวิธีที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ประเภทขนมขบเคี้ยว และอาหารเข้าประเภทธัญพืช

2.5.2 การพองตัว

การพองตัวของผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวมีความสำคัญต่อผลิตภัณฑ์ เพราะเป็นปัจจัยคุณภาพอย่างหนึ่งของการยอมรับในตัวผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภค การพองตัวของผลิตภัณฑ์ขบเคี้ยวขึ้นอยู่กับปัจจัย 2 อย่าง คือ ความดันและความต้านทาน ความดันเกิดจากน้ำที่แทรกอยู่ในอาหารเกิดการขยายตัวดันให้เนื้ออาหารเป็นโพรง หรือรูพรุน เพื่อให้ความชื้นออกจากเนื้ออาหารได้ ในขณะเดียวกันก็จะเกิดแรงต้าน หรือแรงยึดมิให้น้ำขยายตัวหลุดออกไป ถ้าใช้พลังงานพอเหมาะจะทำให้ความดันเท่ากับ ความต้านทาน การพองตัวที่ได้จะมีการพองตัวสม่ำเสมอทั่วทั้งชิ้นอาหาร ความชื้นที่เหลืออยู่พอเหมาะที่จะทำให้มีความกรอบพอเหมาะ และมีโครงสร้างเนื้อสัมผัสดีไปด้วย แต่ถ้าความดันน้อยกว่าความต้านทาน ลักษณะเนื้อสัมผัสจะไม่ดี มีรูพรุนไม่สม่ำเสมอ ส่วนที่เป็นรูพรุนก็

จะแห้ง สัดส่วนของแอมิโลสและแอมิโลสเพคตินในแป้งมีผลต่อคุณภาพทางด้านเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปที่ได้ โดยแอมิโลสเพคตินจะช่วยให้ผลิตภัณฑ์พองตัว มีลักษณะโปร่งเบาและแตกหักได้ง่าย สำหรับการใส่แป้งที่มีปริมาณแอมิโลสสูงจะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้แข็งแรงและมีข้อจำกัดในการพองตัว

2.5.2.1 กลไกการโตของฟองอากาศ การกำเนิดและการโตของฟองอากาศ (initiation and early growth) ในผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยว ประกอบด้วย

แคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate) เป็นวัตถุดิบที่ผลิตจากหินปูน และนำไปใช้เป็นวัตถุดิบสำเร็จรูปในอุตสาหกรรมต่างๆ ด้วยคุณสมบัติของแคลเซียมคาร์บอเนตที่ไม่เป็นพิษ มีความขาวและความสว่างสูง จึงนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น ใช้เป็นตัวเติมเต็ม (filler) และตัวเพิ่มปริมาณ (extruder) ในอุตสาหกรรมกระดาศ อุตสาหกรรมขนมขบเคี้ยว เป็นต้น

แคลเซียมคาร์บอเนต มีสูตรทางเคมี (CaCO_3) ส่วนประกอบทางเคมี ประกอบด้วย CaO ร้อยละ 56 และ CO_2 ร้อยละ 44 มีความแข็ง 3 ความถ่วงจำเพาะ 2.71 สลายตัวเมื่อเผาที่อุณหภูมิ 825 องศาเซลเซียส ลักษณะทางกายภาพของแคลเซียมคาร์บอเนต เป็นผงสีขาวไม่ละลายน้ำแต่สามารถทำปฏิกิริยากับน้ำและคาร์โบไฮเดรต โดยที่กลไกการโตของฟองอากาศเกิดจากกลไกการทำงานของปฏิกิริยาการสลายตัวของสารประกอบแคลเซียมคาร์บอเนต ดังนี้ (กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่, 2547) โดยที่กลไกการโตของฟองอากาศจะเกิดขึ้นขณะที่น้ำถูกเปลี่ยนสภาพเป็นน้ำเดือด บริเวณที่อยู่รอบหยดน้ำขยายออกเป็นวงกลมเกิดเป็นผนังเซลล์ล้อมรอบฟองอากาศหรือฟองไอน้ำ ฟองอากาศจะขยายตัวออกเรื่อยๆ จนผนังเซลล์แต่ละฟองอากาศเริ่มชนติดกัน การเชื่อมติดกัน ฟองอากาศเล็กรวมกันกับฟองอากาศใหญ่ เนื่องจากผนังเซลล์ขาดจึงทำให้ฟองอากาศมารวมกัน เป็นโครงสร้างรูพรุนในเม็ดอาหารที่ไม่มีความสม่ำเสมอของฟองอากาศ ซึ่งการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตลงในผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวจะช่วยให้เอกซ์ทราเดตที่ออกจากหน้าแปลนเกิดโครงสร้างลักษณะรูพรุนในผลิตภัณฑ์ที่ดีขึ้น เนื่องจากการสลายตัวของแคลเซียมคาร์บอเนตเมื่อได้รับความร้อนและน้ำจะได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้เอกซ์ทราเดตเกิดการพองตัว อีกทั้งแคลเซียมคาร์บอเนตยังเป็น nucleation ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นตัวล่อขนาดเล็กทำให้เกิดฟองอากาศที่มีขนาดเล็กเท่าๆ กัน ขนาดรูพรุนมีลักษณะที่สม่ำเสมอเพิ่มขึ้น

2.5.3 การอบแห้ง

ผลิตภัณฑ์บางชนิดที่ได้จากกระบวนการเอกซ์ทราชันยังมีความชื้นอยู่มาก จึงมีความจำเป็นต้องนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปอบแห้ง เพื่อเพิ่มระยะเวลาในการเก็บรักษาในผลิตภัณฑ์ที่สุกแต่ยังไม่พองทันที และเพื่อให้ผลิตภัณฑ์ที่สุกพองทันที

อาหารขบเคี้ยวประเภทสุกพองทันทีต้องการการอบแห้งหลังจากกระบวนการอัดพอง ความชื้นของวัตถุดิบเริ่มต้นมีค่าประมาณร้อยละ 15-20 ความชื้นของอาหารขบเคี้ยวลดลงเป็นร้อยละ

8-12 เมื่อผ่านกระบวนการอัดพอง เนื่องจากน้ำจะถูกความร้อนทำให้กลายเป็นและระเหยออกไป ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอบไล่ความชื้นเหลือเพียงร้อยละ 2-3 เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่กรอบแห้งและเพื่อเป็นการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (ประชา, 2537) กล่าวว่า อาหารขบเคี้ยวที่มีข้าวโพดเป็นส่วนประกอบหลักด้วยกระบวนการอัดพอง ผลิตภัณฑ์ใช้อุณหภูมิในการอบประมาณ 80 องศาเซลเซียส และระยะเวลาที่ใช้อบอยู่ระหว่าง 15-30 นาที ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความแห้ง และกรอบคงทน มีความชื้นร้อยละ 2-3

2.5.4 การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์และวอเตอร์แอกติวิตี้

วอเตอร์แอกติวิตี้ของน้ำ (water activity) หมายถึง อัตราส่วนของความดันไอของน้ำในอาหาร (P) ต่อความดันไอของน้ำบริสุทธิ์ (P_0) ที่อุณหภูมิเดียวกัน ซึ่งก็คือ ความดันไอสัมพันธ์ เนื่องจากน้ำในอาหารอยู่ในรูปของสารละลายซึ่งหากสารละลายมีความเข้มข้นมากขึ้น ความดันไอของน้ำในอาหารก็จะลดลง ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของน้ำในอาหารก็จะลดลง

ปริมาณน้ำในอาหารเป็นปัจจัยสำคัญยิ่งที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ โดยทั่วไปแบคทีเรียต้องการความชื้นหรือน้ำมากกว่ายีสต์และเชื้อรา อาหารแต่ละชนิดจะเสียเร็วหรือช้าขึ้นขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำที่เป็นประโยชน์ต่อจุลินทรีย์หรือที่เรียกว่า วอเตอร์แอกติวิตี้ อาหารที่มีปริมาณน้ำมากจัดอยู่ในประเภทที่มีวอเตอร์แอกติวิตี้สูง ซึ่งมีค่าใกล้เคียง 1.00 ได้แก่ อาหารสดทั้งหลาย เช่น เนื้อสัตว์ อาหารทะเล และผักสด เป็นต้น อาหารที่จัดอยู่ในจำพวกอาหารกึ่งแห้ง มีค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ในช่วง 0.6-0.9 ได้แก่ แยม ทุเรียนกวน และกุ้งแห้ง เป็นต้น ส่วนอาหารที่มีวอเตอร์แอกติวิตี้ต่ำกว่า 0.6 ได้แก่ อาหารแห้ง ธัญชาติ นมผง และกาแฟ ซึ่งเกิดจากการเน่าเสียได้ยากสามารถเก็บรักษาได้เป็นเวลานาน

จุลินทรีย์แต่ละชนิดเจริญได้ในอากาศที่มีวอเตอร์แอกติวิตี้ต่างกัน แบคทีเรียเจริญได้ดีในอาหารที่มีวอเตอร์แอกติวิตี้สูง ส่วนยีสต์และเชื้อรานั้นทนต่อสภาพที่ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ต่ำได้ดีกว่า นั่นคือการเน่าเสียของอาหารแห้งส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อรา จุลินทรีย์แต่ละชนิดที่มีความสำคัญในอาหารสามารถเจริญในอาหารที่มีวอเตอร์แอกติวิตี้ขั้นต่ำสุดแตกต่างกัน

2.5.5 การดูดซับน้ำ การพองตัวและการละลาย

การดูดซับน้ำ จะเกิดขึ้นเมื่อเติมน้ำลงไปแช่และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เม็ดแป้งจะดูดซึมน้ำที่เติมลงไปภายใต้สภาวะบรรยากาศห้อง จนเกิดสมดุลระหว่างความชื้นภายในเม็ดแป้งกับน้ำที่เติมลงไปและความชื้นภายในบรรยากาศ ปริมาณน้ำที่ถูกดูดซึมจะขึ้นกับอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ น้ำที่อยู่ในเม็ดแป้งมี 3 รูปแบบ คือ น้ำในผลึก น้ำในรูปที่ไม่อิสระ (bound water) และน้ำในรูปอิสระ (free water) โดยมีการจับกับแป้งได้แน่นตามลำดับ และแป้งที่มีความชื้นร้อยละ 8-10 สามารถจับน้ำได้แน่นกว่าแป้งที่มีความสูงกว่นี้ ดังนั้นเมื่อความร้อนแก่สารละลายน้ำแป้ง เม็ดแป้งจะ

เกิดการพองตัว และบางส่วนของแป้งจะละลายออกมา กำลังการพองตัวของแป้งจะแสดงเป็นปริมาตรหรือน้ำหนักของเม็ดแป้งที่เพิ่มขึ้นมากที่สุดเมื่อเม็ดแป้งพองตัวได้อย่างอิสระในน้ำสำหรับความสามารถในการละลายจะแสดงเป็นน้ำหนักของแข็งทั้งหมดในสารละลายที่สามารถละลายได้ (คล้ายณรงค์, 2550)

Lee and Osman (1991) กล่าวว่า การพองตัวของสตาร์ชเกิดขึ้นโดยโมเลกุลของน้ำจับกับโมเลกุลของสตาร์ชด้วยพันธะไฮโดรเจน ส่วนการเกิดเจลาตินเซชันของเม็ดแป้งพันธะไฮโดรเจนของโครงสร้างที่เป็นผลึกในสตาร์ชจะแตกออก โดยน้ำจะเข้าไปแทนที่ในผลึกทำให้สตาร์ชเกิดการพองตัว

ความสามารถในการดูดซับน้ำ หมายถึง ปริมาณของสตาร์ชที่พองตัวในน้ำปริมาณมากเกินพอ ส่วนความสามารถในการละลาย คือ ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่ปล่อยออกมาจากอนุภาคของสตาร์ชในน้ำปริมาณมากเกินพอ ซึ่งค่าทั้งสองนี้บ่งบอกถึงลักษณะของผลิตภัณฑ์เอกซ์ทรูเดต โดยเมื่อค่าความสามารถในการละลายสูงขึ้น จะแสดงถึง starch conversion ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งจะเกิดขึ้นเมื่อสตาร์ชถูกทำลาย และมีความสามารถจับกับน้ำได้ดี (Sriburi and Hill, 2000) โดยค่าพารามิเตอร์บ่งบอกถึง starch conversion ได้แก่ ปริมาณน้ำ อุณหภูมิ แรงเฉือน และคุณภาพทางเคมี (Myllymaki et al., 1997)

2.5.6 ประเภทของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเอกซ์ทรูด

1) ผลิตภัณฑ์กรอบพองสุกทันที (direct expanded products) เป็นผลิตภัณฑ์ที่พองตัวทันทีเมื่อออกจากหน้าแปลนของเครื่องอัดพองและไม่ต้องแปรรูปอื่นนอกจากการทำแห้ง 2) ผลิตภัณฑ์ที่ยังไม่พองสุกทันที (indirect expanded products) หรือเรียกว่า ผลิตภัณฑ์กึ่งสำเร็จรูป (halfproducts หรือ intermediate products) คำจำกัดความของผลิตภัณฑ์กึ่งสำเร็จรูปหมายถึง ผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากการทำแป้งให้ขึ้นร้อนเหนียวจนกระทั่งกลายเป็นเจล (แป้งสุก) ได้อย่างสมบูรณ์แล้วอัดผ่านรูเปิดของหน้าแปลนหรือรีดให้เป็นแผ่นออกมาแล้วตัดเป็นชิ้นหรือแผ่นบางๆ จากนั้นนำไปอบไล่ความชื้นจนกระทั่งเหลือความชื้นประมาณร้อยละ 12 โดยน้ำหนักหรือน้อยกว่า เพื่อให้เก็บไว้ได้นานแต่เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์กึ่งสำเร็จรูปดังนั้นจึงต้องมีขั้นตอนของกระบวนการผลิตเพิ่มเข้ามาอีกจึงจะรับประทานได้ซึ่งขั้นตอนการผลิตที่เพิ่มเข้ามานี้เป็นตัวทำให้เกิดรูปร่างปรากฏขึ้นหรือเกิดลักษณะเนื้อสัมผัสที่เป็นจริงตามสภาพของผลิตภัณฑ์นั้น ๆ ตามแบบชนิดของขั้นตอนหรือกระบวนการผลิตที่เพิ่มเข้ามาซึ่งอาจประกอบด้วยการทอดในน้ำมันการอบด้วยความร้อนสูงหรือการต้มสุก (ประชา บุญศิริกุล, 2537)

2.5.7 ประเภทของเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์

แบ่งประเภทของเครื่องอัดพองตามจำนวนสกรูแบ่งได้ 2 ประเภทคือ 1) เครื่องอัดพองแบบสกรูเดี่ยว (single screw extruder) เป็นเครื่องอัดพองแบบที่มีสกรู 1 อันวางตลอดภายในตัวเครื่อง 2) เครื่องอัดพองแบบสกรูคู่ (twin screw extruder) เป็น เครื่องอัดพองที่ ประกอบด้วยสกรู 2 อันมีความยาวเท่ากันอยู่ในบารเรเดียวกัน เครื่องอัดพองแบบสกรูคู่ยังแบ่งได้หลายชนิดขึ้นกับแบบของสกรู (screw configuration) โดยขึ้นอยู่กับทิศทางการหมุนของสกรูทั้งคู่ (แบบหมุนตามกันและแบบหมุนตรงข้ามกัน) และลักษณะของสกรูที่ซ้อนกัน (สกรูซ้อนกันและสกรูไม่ซ้อนกัน) อย่างไรก็ตามเครื่องอัดพองแบบสกรูเดี่ยวมีการใช้ประโยชน์ค่อนข้างจำกัดและมักมีปัญหาในการส่งผ่านส่วนผสมที่มีความหนืดต่ำเครื่องอัดพองแบบสกรูคู่จะเป็นที่นิยมใช้กันมากกว่าในอุตสาหกรรมอาหารเนื่องจากใช้ได้กับวัตถุดิบหลายประเภทรวมทั้งใช้ได้กับวัตถุดิบที่มีความชื้นหลายระดับและวัตถุดิบที่มีปริมาณไขมันปานกลางด้วย (กมลวรรณ แจ่มชัด, 2541) การเปลี่ยนแปลงของวัตถุดิบที่เกิดขึ้นภายในบารเร่ ส่งผลต่อคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ซึ่งขึ้นกับตัวแปรต่าง ๆ จำนวนมาก ทั้งทางด้านเครื่องมือและวัตถุดิบ เช่น ความชื้นเริ่มต้นของวัตถุดิบ รูปแบบการจัดเรียงสกรูความเร็วรอบสกรูอุณหภูมิของบารเร่อัตราการป้อน วัตถุดิบ ความชื้นของวัตถุดิบภายในบารเร่ รูปแบบของหน้าแปลน ค่าแรงที่ทำให้หมุน (Torque หรือค่าแรงทอร์ก) ความดันที่บริเวณหน้าแปลน เป็นต้น (Chang, 2003) น้ำทำหน้าที่ในการถ่ายเทความร้อนและเป็นสารหล่อลื่น ช่วยในการควบคุมความดันและแรงเฉือนภายในเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์ (Bhattacharya and Hanna, 1987) Chaiyakul et al. (2009) ทำการศึกษาผลของสภาวะของกระบวนการเอกซ์ทรูชันต่อสมบัติทางกายภาพ และทาง เคมีของขนมพองกรอบที่ผลิตจากแป้งข้าวเหนียวเสริมโปรตีน พบว่าที่ปริมาณความชื้นต่ำส่งผลให้ อุณหภูมิที่ต้องการเพื่อทำให้เกิดการเจลลาติไนซ์สูงขึ้นทั้ง Akdogan (1996) ที่ทำการศึกษาผลของความดัน ค่าแรงทอร์กและพลังงานตอบสนองของกระบวนการเอกซ์ทรูชันแบบสกรูคู่ที่มีต่อสตาร์ชข้าวความชื้นสูง (ร้อยละ 57, 60 และ 65)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วลัย และคณะ, (2553) ได้พัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเข้าสำเร็จรูปจากแป้งกล้วยด้วยเทคโนโลยีเอกซ์ทรูชัน ด้วยเครื่องอัดรีดชนิดสกรูเดี่ยว ความเร็วสกรู 168 รอบต่อนาที อุณหภูมิบาร์เรลล์ 135 องศาเซลเซียส 380 โวลท์ 85 รอบต่อนาที เส้นผ่านศูนย์กลางหน้าแปลน 2 มิลลิเมตร ความเร็วใบมีด 95 รอบต่อนาที โดยผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคในระดับปานกลาง และผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยในการบริโภค

Kadan, (2003) ได้ศึกษากระบวนการเอกซ์ทรูชัน พบว่าเป็นกระบวนการที่ทำให้ส่วนผสมอาหารมีความชื้นก่อนแล้วทำให้สุกอัดออกมาเป็นรูปทรง ซึ่งความร้อนที่ทำให้แป้งสุกนี้จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นเจลที่สมบูรณ์ อัดพองเป็นรูปต่างๆ โดยผ่านรูได้แล้วอบให้แห้งกรอบ ปัจจุบันกระบวนการ

ผลิตแบบ extrusion cooking เป็นกรรมวิธีที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ประเภทขนมขบเคี้ยว และอาหารเข้าประเภทธัญพืช

เอกซ์ทรูชันเป็นกระบวนการที่ใช้อุณหภูมิสูง เวลาสั้น ซึ่งได้รับความนิยมในอุตสาหกรรมอาหาร และพบว่ากระบวนการดังกล่าวมีผลอย่างยิ่งต่อการลดลงของสารแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์อาหารเข้า (Camire et al., 2002) การปรับปรุงความคงตัวของแอนโทไซยานินโดยกระบวนการเอกซ์ทรูชันนั้นมีความจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับสารให้สีจากธรรมชาติเหล่านี้เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่อไป

Pozo-Insfran et al., (2006) ได้รายงานว่ากระบวนการเอกซ์ทรูชันส่งผลกระทบต่อคุณภาพและคุณลักษณะทางเคมีและกายภาพของผลิตภัณฑ์จากธัญชาติ (Paredes-Lopez, 2002) โดยเฉพาะสารแอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิก สามารถถูกทำลายได้ง่ายในระหว่างกระบวนการผลิต ซึ่งส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติในการรักษาโรค การส่งเสริมสุขภาพ รวมถึงคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันได้

Maga and Kim, (1989) ได้รายงานถึงการคงเหลือของสีในกระบวนการเอกซ์ทรูชันของแป้งข้าวและผลแคนเบอร์รี่แห้ง และน้ำแคนเบอร์รี่ เมื่อเติมกรดแอสคอร์บิกร้อยละ 0.5 ลงไปในสูตร โดยกรดแอสคอร์บิกทำหน้าที่เป็นตัวทำให้เกิดกรดและวิตามินในอาหาร ซึ่งกรดอินทรีย์เหล่านี้สามารถช่วยเพิ่มการหลงเหลือของสารให้สีได้

Talcott et al., (2005) ได้รายงานว่าการเติมสารโพลีฟีนอลิกลงไปในการละลายแอนโทไซยานินซึ่งเป็นรงควัตถุร่วม จะเพิ่มความคงตัวของแอนโทไซยานินระหว่างกระบวนการให้ความร้อนและการจัดเก็บในน้ำผลไม้ ดังนั้นจึงอาจเป็นแนวทางที่จะนำไปใช้ทางการค้าเพื่อป้องกันสีและการทำลายของสารแอนโทไซยานินในน้ำผลไม้ แต่การใช้สารมาตรฐานโพลีฟีนอลบริสุทธิ์เป็นรงควัตถุร่วมไม่สามารถทำได้จริงในอุตสาหกรรมน้ำผลไม้และเครื่องดื่ม ดังนั้นจึงได้มีการใช้ประโยชน์ของสารโพลีฟีนอลิกที่สกัดจากธรรมชาติ เพื่อใช้เป็นสารที่เพิ่มความคงตัวของแอนโทไซยานิน อย่างไรก็ตามเพื่อพิจารณาประสิทธิภาพของสารสกัดในการป้องกันการทำลายของสารแอนโทไซยานิน ยังต้องคำนึงถึงโครงสร้างของอาหารด้วย เช่นเอนไซม์และการเปลี่ยนแปลงระหว่างการจัดเก็บ ซึ่งเกิดปฏิสัมพันธ์กับองค์ประกอบอื่นๆ ในอาหาร

Pozo-Insfran et al., (2006) ได้รายงานว่า การปรับสภาพให้เป็นกรดด้วยกรดฟอสฟอริกร้อยละ 0.2 จะลดการสูญเสียของสารแอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิก ในระหว่างกระบวนการผลิต เอกซ์ทรูชันของผลิตภัณฑ์ข้าวโพดสีม่วงและสีน้ำเงินได้ถึงร้อยละ 9-17 และลดการสูญเสียประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันได้ถึงร้อยละ 6-14

Pozo-Insfran et al., (2004) ได้ศึกษาสารแอนโทไซยานินและสารประกอบโพลีฟีนอลิกใน acai (*Euterpe oleracea* Mart.) และพิจารณาประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่า

เครื่องดื่มที่มีการเติมแอสคอบิกและเอซิลเลทแอนโทไซยานินจะช่วยเพิ่มความคงตัวของสีต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 0-30 องศาเซลเซียส

Gauche et al., (2010) ได้ทำการศึกษาเพื่อประเมินอิทธิพลของค่า pH และกรดอินทรีย์ต่อการคงตัวของแอนโทไซยานินจากสารสกัดจากผิวองุ่น พบว่าการเติมกรดอินทรีย์สามารถปรับปรุงความคงตัวของแอนโทไซยานินได้

ดังนั้นจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งที่จะหาวิธีในการรักษาความคงตัวของสารแอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิกจากกระบวนการแปรรูปเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ข้าวโพดม่วงที่ผลิตด้วยกระบวนการเอกซ์ทรูชัน ที่มีผลโดยตรงในการป้องกันโรคหรือส่งเสริมสุขภาพ จึงนับว่าเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตผลทางการเกษตรและสามารถนำไปประยุกต์ใช้สู่การผลิตในเชิงพาณิชย์และก่อให้เกิดประโยชน์ด้านสาธารณสุขของประเทศ