

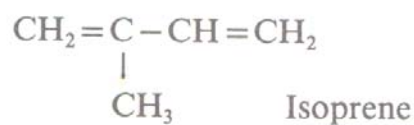
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

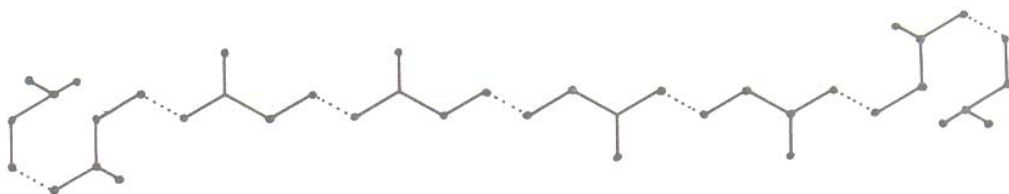
2.1 แคโรทีนอยด์ (carotenoid)

แคโรทีนอยด์เป็นกลุ่มสารสีที่มีการกระจายตัวมากที่สุดในธรรมชาติ สามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตหลากหลายทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ต่างๆ โดยสมาชิกในกลุ่มสารสีนี้มีมากกว่า 600 ชนิด (Fraser and Bramley, 2004) พบตั้งแต่สีเหลืองจนถึงสีแดง

แคโรทีนอยด์มีโครงสร้างหลักเป็นไอโซพรีนอยด์โพลีอิน (isoprenoid polyenes) เกิดจากไอโซพรีน (isoprene) ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน 5 อะตอม มีโครงสร้างดังรูปที่ 2.1 มาเชื่อมต่อกัน 8 โมเลกุล ได้เป็นสายยาวของโพลีอิน (รูปที่ 2.2) โดยไอโซพรีนแต่ละโมเลกุลเชื่อมต่อกันแบบ head-to-tail (รูปที่ 2.3ก.) ยกเว้นบริเวณจุดศูนย์กลางของโมเลกุลแคโรทีนอยด์ที่เป็นการเชื่อมต่อกันแบบ tail-to-tail (รูปที่ 2.3ข.) ด้วยเหตุนี้ทั้งสองด้านของจุดศูนย์กลางจึงมีความสมมาตรกัน (Gross, 1991)



รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างไอโซพรีน (Gross, 1991)



รูปที่ 2.2 แสดงสายยาวของโพลีอินที่เกิดจากไอโซพรีน 8 โมเลกุลเชื่อมต่อกัน (Gross, 1991)



รูปที่ 2.3ก. แสดงการเชื่อมต่อกันแบบ head-to-tail ของไอโซพรีน (Gross, 1991)

2.3ข. แสดงการเชื่อมต่อกันแบบ tail-to-tail ของไอโซพรีน (Gross, 1991)

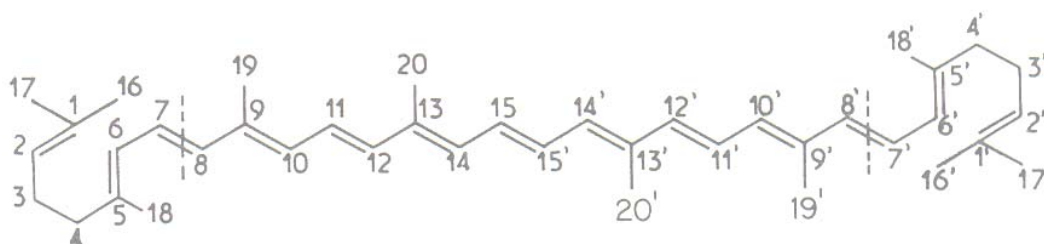
2.1.1 ชนิดและโครงสร้างของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์ทุกชนิดมีโครงสร้างต้นกำเนิดร่วมกันจากสาย lycopene ซึ่งมีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{40}H_{56}$ โดยการเปลี่ยนแปลงเป็นแคโรทีนอยด์หลากหลายชนิดเกิดจากปฏิกิริยาต่างๆ กันต่อสาย lycopene ดังนี้ hydrogenation, dehydrogenation, cyclization, insertion of oxygen in various forms, double bond migration, methyl migration, chain elongation และ chain shortening (Goodwin. 1980)

จากลักษณะโครงสร้างของแคโรทีนอยด์แต่ละชนิด สามารถแบ่งแคโรทีนอยด์ออกเป็น 7 ชนิด ดังนี้

2.1.1.1 แคโรทีนอยด์ไฮโดรคาร์บอน (carotenoid hydrocarbons)

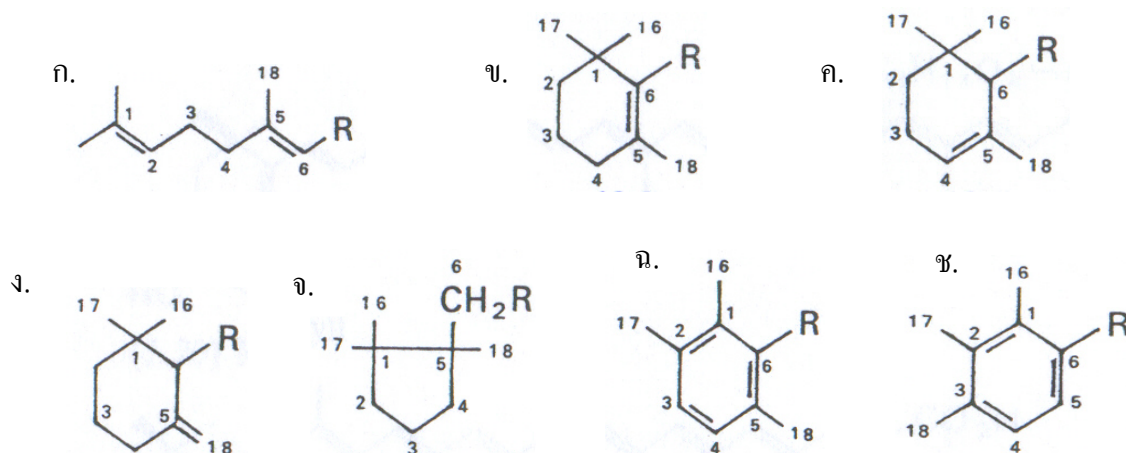
แคโรทีนอยด์ไฮโดรคาร์บอนหรือในชื่อที่รู้จักทั่วไปว่า แคโรทีน (carotenes) เป็นกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีส่วนประกอบเป็นคาร์บอนและไฮโดรเจนเท่านั้น โดยมีโครงสร้างหลักดังรูปที่ 2.4 ทั้งนี้ชื่อเรียกแคโรทีนแต่ละชนิดกำหนดตามหมู่อะตอมที่ปลายโมเลกุล โดยหมู่อะตอมที่ปลายโมเลกุลเป็นตัวกำหนดค่านำหน้าชื่อแคโรทีนแต่ละชนิด ดังตารางที่ 2.1 (Goodwin. 1980)



รูปที่ 2.4 แสดงโครงสร้างหลักของแคโรทีนอยด์และตำแหน่งอะตอมของคาร์บอน (Gross. 1991)

ตารางที่ 2.1 แสดงชื่อเรียกของแคโรทีนตามหมู่อะตอมที่ปลายโมเลกุล (Goodwin. 1980)

ชนิดหมู่อะตอม	ค่านำหน้าชื่อ	โครงสร้างหมู่อะตอม
acyclic	ψ (psi)	รูปที่ 2.5ก.
cyclohexene	β , ϵ (beta, epsilon)	รูปที่ 2.5ข. และ 2.5ค.
methylenecyclohexane	γ (gamma)	รูปที่ 2.5ง.
cyclopentene	κ (kappa)	รูปที่ 2.5จ.
aryl	ϕ , χ (phi, chi)	รูปที่ 2.5ฉ. และ 2.5ช.



รูปที่ 2.5ก. แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ acyclic

2.5ข. และ 2.5ค. แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ cyclohexene (Goodwin. 1980)

2.5ง. แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ methylenecyclohexane (Goodwin. 1980)

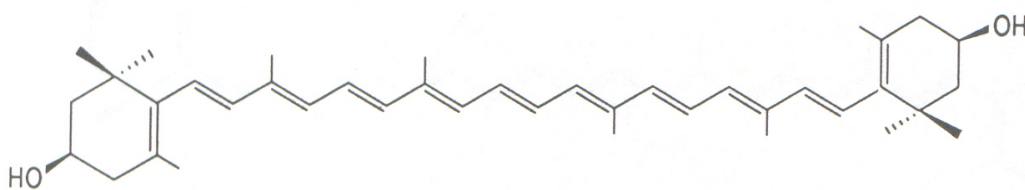
2.5จ. แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ cyclopentane (Goodwin. 1980)

2.5ฉ. และ 2.5ช. แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ aryl (Goodwin. 1980)

2.1.1.2 ออกซิเจนแคโรทีนอยด์ (oxygenated carotenoid)

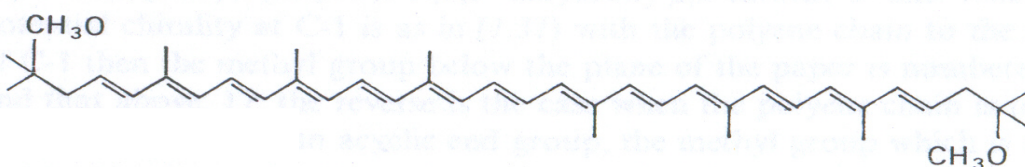
ออกซิเจนแคโรทีนอยด์หรือในชื่อที่รู้จักทั่วไปว่า แซนโทฟิลล์ (xanthophylls) เป็นกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีออกซิเจนประกอบอยู่ภายในโมเลกุล ทั้งนี้หมู่อะตอมที่มีออกซิเจนเป็นส่วนประกอบมีหลายกลุ่ม โดยสามารถจัดลำดับความถี่ของการพบจากมากไปน้อยได้ดังนี้ (Goodwin. 1980)

กลุ่มแรก คือ หมู่ไฮดรอกซี (hydroxy) ได้แก่ zeaxanthin (รูปที่ 2.6)



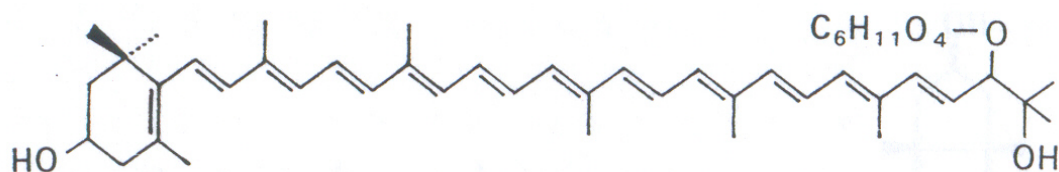
รูปที่ 2.6 แสดงโครงสร้างของ zeaxanthin (Goodwin. 1980)

กลุ่มสอง คือ หมู่เมทอกซี (methoxy) ได้แก่ spirilloxanthin (รูปที่ 2.7)



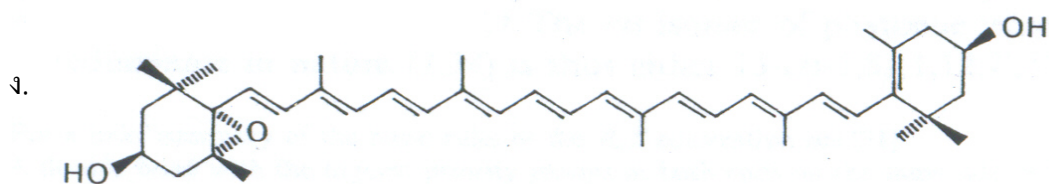
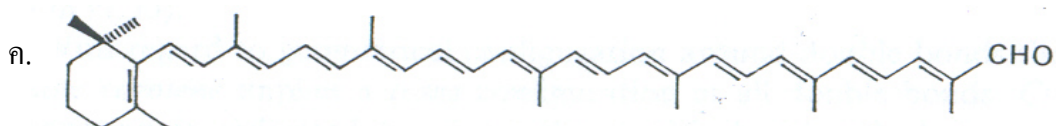
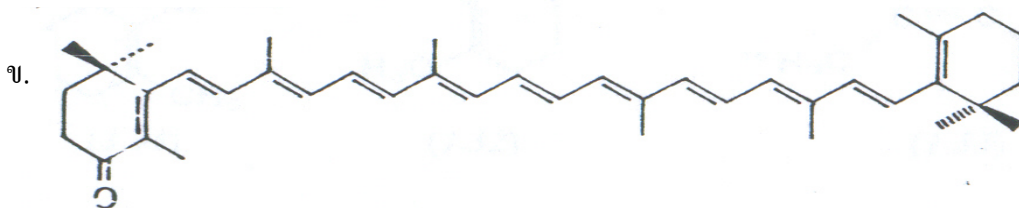
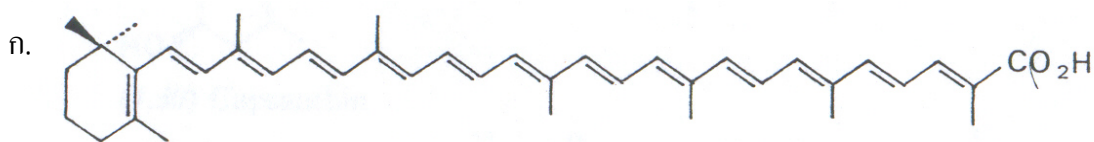
รูปที่ 2.7 แสดงโครงสร้างของ spirilloxanthin (Goodwin. 1980)

กลุ่มสาม คือ หมู่ไกลโคไซด์ออกซี (glycosyloxy) ได้แก่ myxoxanthophyll (รูปที่ 2.8)



รูปที่ 2.8 แสดงโครงสร้างของ myxoxanthophyll (Goodwin. 1980)

กลุ่มสี่ คือ หมู่คาร์บอกซี (carboxy) ได้แก่ torularhodin (รูปที่ 2.9ก.) หมู่ออกโซ (oxo) ได้แก่ echinenone (รูปที่ 2.9ข.) หมู่อัลดีไฮด์ (aldehyde) ได้แก่ torularhodin aldehyde (รูปที่ 2.9ค.) และหมู่อีพอกซี (epoxy) ได้แก่ anthreaxanthin (รูปที่ 2.9ง.)



รูปที่ 2.9ก. แสดงโครงสร้างของ torularhodin (Goodwin. 1980)

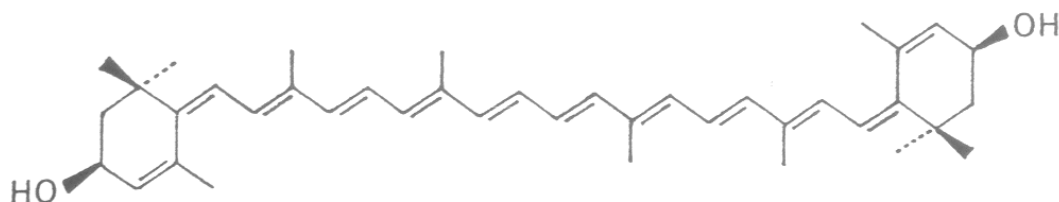
2.9ข. แสดงโครงสร้างของ echinenone (Goodwin. 1980)

2.9ค. แสดงโครงสร้างของ torularhodin aldehyde (Goodwin. 1980)

2.9ง. แสดงโครงสร้างของ anthreaxanthin (Goodwin. 1980)

2.1.1.3 retro-carotenoids

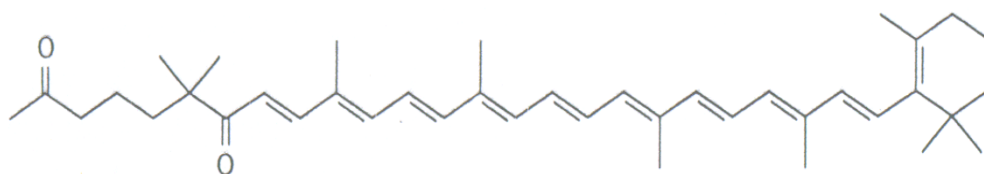
รีโทร-แคโรทีนอยด์ คือ แคโรทีนอยด์ที่เกิดจากการเคลื่อนย้ายพันธะภายในโมเลกุล ได้แก่ eschsholtzxanthin (รูปที่ 2.10) (Goodwin. 1980)



รูปที่ 2.10 แสดงโครงสร้างของ eschsholtzxanthin (Goodwin. 1980)

2.1.1.4 seco-carotenoids

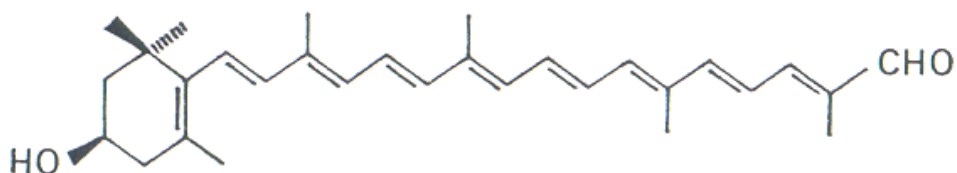
เซโค-แคโรทีนอยด์ คือ แคโรทีนอยด์ที่เกิดจากการแตกพันธะระหว่างอะตอมคาร์บอนภายในหมู่อะตอมที่มีโครงสร้างเป็นวงของส่วนปลายโมเลกุลแคโรทีนอยด์ ได้แก่ semi- β -carotenone (รูปที่ 2.11) (Young และ Britton. 1993)



รูปที่ 2.11 แสดงโครงสร้างของ semi- β -carotenone (Young และ Britton. 1993)

2.1.1.5 apo-carotenoids

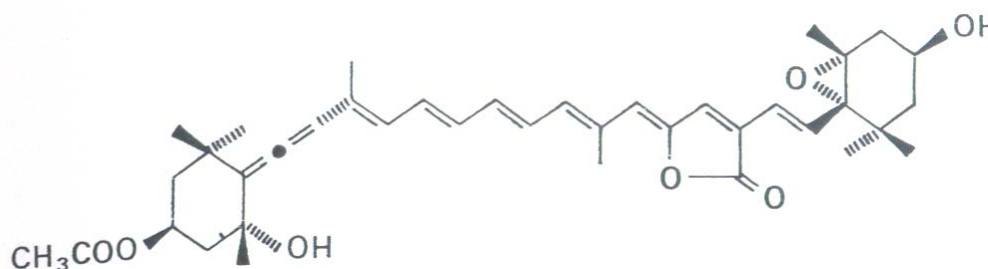
อะโป-แคโรทีนอยด์ คือ แคโรทีนอยด์ที่มีโครงสร้างหลักสืบลงจากการกำจัดคาร์บอนในส่วนของหมู่อะตอมที่ปลายด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านของโมเลกุลแคโรทีนอยด์ ได้แก่ β -citaurin (รูปที่ 2.12) (Young และ Britton. 1993)



รูปที่ 2.12 แสดงโครงสร้างของ β -citaurin (Goodwin. 1980)

2.1.1.6 nor-carotenoids

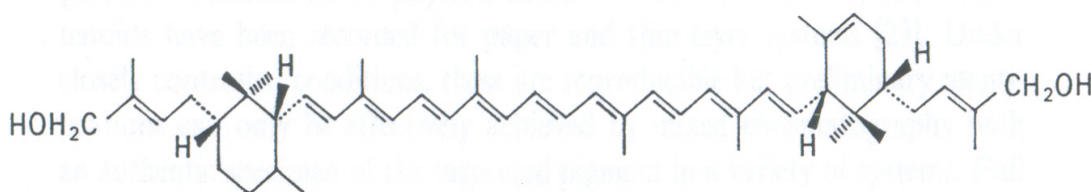
นอร์-แคโรทีนอยด์ คือ แคโรทีนอยด์ที่เกิดจากการกำจัดอะตอมคาร์บอนจำนวนหนึ่ง อะตอมหรือมากกว่านั้นออกจากโครงสร้างหลัก โดยบริเวณที่เกิดการกำจัดอะตอมคาร์บอนต้อง ไม่อยู่ในส่วนของหมู่อะตอมที่ปลายด้านใดด้านหนึ่งของโมเลกุลแคโรทีนอยด์ ได้แก่ peridinin (รูปที่ 2.13) (Young และ Britton. 1993)



รูปที่ 2.13 แสดงโครงสร้างของ peridinin (Goodwin. 1980)

2.1.1.7 higher carotenoids

ไฮเออร์แคโรทีนอยด์ คือ แคโรทีนอยด์ที่มีจำนวนอะตอมคาร์บอนเท่ากับ 45 หรือ 50 อะตอม โดยโมเลกุลแคโรทีนอยด์ที่มีจำนวนอะตอมคาร์บอน 45 อะตอม เรียกอีกชื่อว่า monosubstituted C_{40} carotenoids และโมเลกุลแคโรทีนอยด์ที่มีจำนวนอะตอมคาร์บอน 50 อะตอม เรียกอีกชื่อว่า disubstituted C_{40} carotenoids ตัวอย่างไฮเออร์แคโรทีนอยด์ ได้แก่ decaprenoxanthin (รูปที่ 2.14) (Goodwin. 1980)



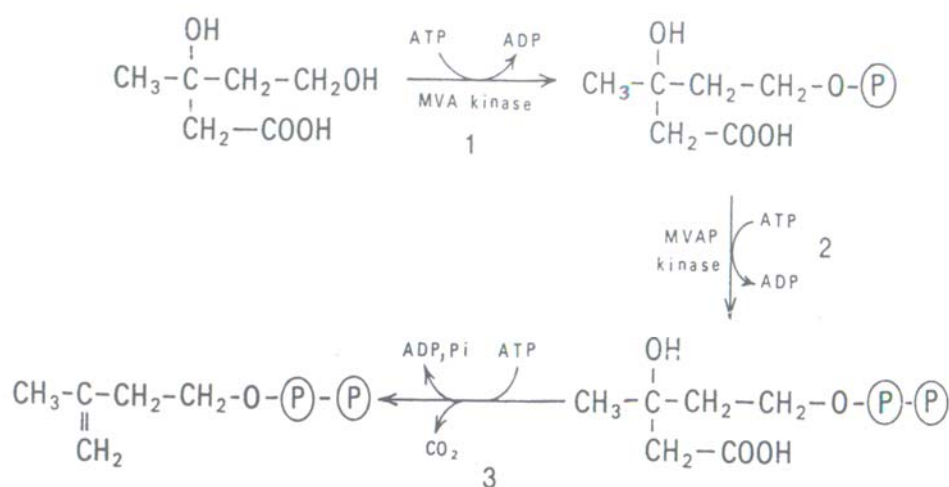
รูปที่ 2.14 แสดงโครงสร้างของ decaprenoxanthin (Goodwin. 1980)

2.1.2 กลไกการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ทางชีวภาพ

2.1.2.1 ระยะเริ่มต้น : ที่มาของสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ไอโซพรีนอยด์

การศึกษาของ Young และ Britton (1993) พบว่าคลอโรพลาสต์ที่ยังพัฒนาไม่ สมบูรณ์ในใบของต้นอ่อน เมื่อมีการสังเคราะห์แสงสามารถตรึงคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อ เปลี่ยนเป็นเบต้า-แคโรทีน และไอโซพรีนอยด์ตัวอื่นๆ โดยกลไกการสังเคราะห์ทั้งหมดเกิด

ภายในคลอโรพลาสต์ แต่ในกรณีของใบแก่ที่มีคลอโรพลาสต์พัฒนาสมบูรณ์และมีกิจกรรมการสังเคราะห์แสงสูงสุด จะไม่สามารถใช้คาร์บอนไดออกไซด์เพื่อเปลี่ยนเป็นเบต้า-แคโรทีน และไอโซพรีนอยด์ได้ ดังนั้นการสังเคราะห์ไอโซพรีนอยด์จึงมีการนำเข้าสู่สารตั้งต้นจากภายนอกคลอโรพลาสต์ โดยสารตั้งต้นคือไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟต (isopentenyl diphosphate, C_5) ทั้งนี้สารไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟตมีการสังเคราะห์ผ่านสารตัวกลาง คือ ไพรูเวต (pyruvate) อะซีทิล-โคเอนไซม์เอ (acetyl-coenzyme A) และกรดเมวาโลนิก (mevalonic acid) โดยขั้นตอนการสังเคราะห์ไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟตจากกรดเมวาโลนิก แสดงดังรูปที่ 2.15



รูปที่ 2.15 แสดงขั้นตอนการสังเคราะห์ไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟตจากกรดเมวาโลนิก (Goodwin. 1980)

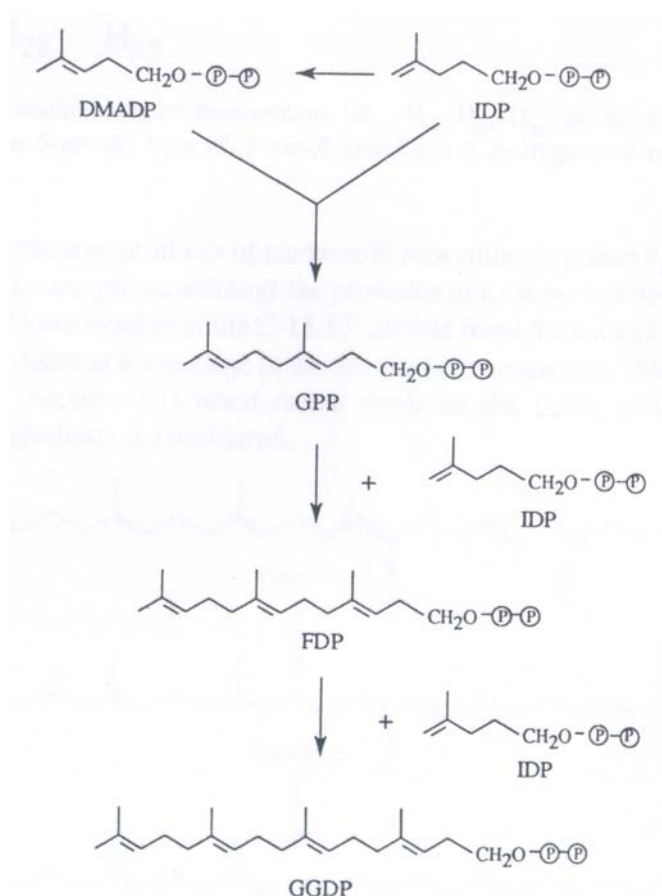
2.1.2.2 การสังเคราะห์สารตั้งต้นเจรานิลเจรานิลไดฟอสเฟต (geranylgeranyl diphosphate, C_{20})

กลไกการสังเคราะห์ไอโซพรีนอยด์ หรือ เจรานิลเจรานิลไดฟอสเฟต แสดงดังรูปที่ 2.16 โดยเริ่มจากปฏิกิริยาไอโซเมอร์ไรเซชัน (isomerization) ของไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟต เปลี่ยนเป็นไดเมทิลแอลลิลไดฟอสเฟต (dimethylallyl diphosphate) จากนั้นเกิดการรวมโมเลกุลของไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟต กับไดเมทิลแอลลิลไดฟอสเฟตอย่างละ 1 โมเลกุล เข้าด้วยกันโดยผ่านเอนไซม์เพรนิลทรานเฟอเรส (prenyl transferase) ได้เป็นเจรานิลไดฟอสเฟต (geranyl diphosphate, C_{10}) ในระยะต่อมามีการรวมโมเลกุลไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟตเข้าไปอีก 2 โมเลกุล โดยในการรวมไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟตโมเลกุลแรกจะได้ฟาร์เนซิลไดฟอสเฟต (farnesyl diphosphate, C_{15}) และเมื่อรวมไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟตโมเลกุลที่สอง จึงได้เป็นเจรานิลเจรานิลไดฟอสเฟต (Goodwin. 1980)

2.1.2.3 การสังเคราะห์ไฟโตอีน (phytoene)

การสังเคราะห์ไฟโตอีนเป็นปฏิกิริยาที่จำเพาะเจาะจงกับกระบวนการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ โดยไฟโตอีนซึ่งเป็นสายไฮโดรคาร์บอนที่มีจำนวนคาร์บอน 40 อะตอม สามารถ

สังเคราะห์ได้จากการรวมเจรานิลเจรานิลไดฟอสเฟต 2 โมเลกุล โดยปฏิกิริยานี้ดำเนินผ่านสารตัวกลางพรีไฟโตอินไดฟอสเฟต (prephytoene diphosphate) (Young และ Britton, 1993)



รูปที่ 2.16 แสดงกลไกการสังเคราะห์สารเจรานิลเจรานิลไดฟอสเฟต (Young และ Britton, 1993)

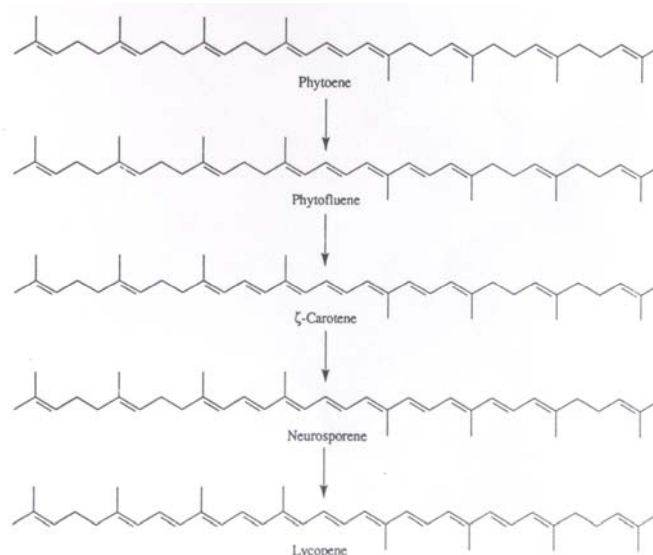
2.1.2.4 ปฏิกิริยาดีแซทูเรชัน (desaturation)

การเปลี่ยนไฟโตอินซึ่งเป็นสารไร้สีให้เป็นไลโคพีน (ไลโคพีนเป็นสารสีในกลุ่มแคโรทีนอยด์) เกิดผ่านกลไกชุดปฏิกิริยาดีแซทูเรชัน โดยการกำจัดอะตอมของไฮโดรเจนทุก 2 อะตอม ก่อให้เกิดพันธะคู่ขึ้นใหม่ 1 พันธะ ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงของไฟโตอินจากชุดปฏิกิริยาดีแซทูเรชัน แสดงดังรูปที่ 2.17 (Young และ Britton, 1993)

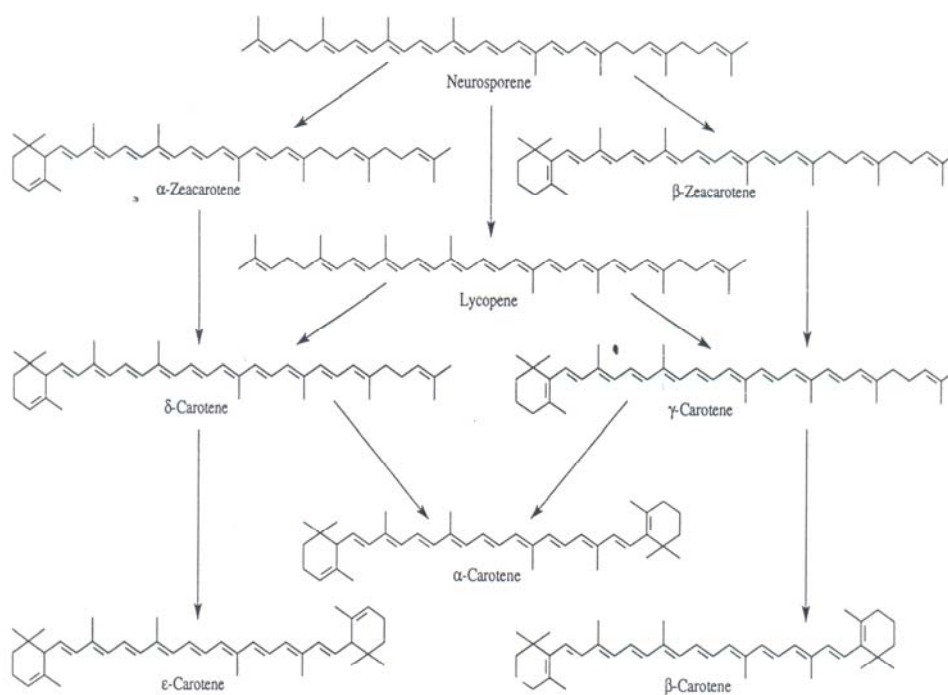
2.1.2.5 ปฏิกิริยาไซคลิเซชัน (cyclisation)

การเกิดสารประกอบแคโรทีนอยด์แบบ 2 วง คือ α -carotene β -carotene และ ε -carotene แสดงดังรูปที่ 2.18 ยังเป็นปฏิกิริยาที่มีการถกเถียงเกี่ยวกับสารตัวกลางตัวแรกสำหรับการเปลี่ยนเป็นสารประกอบแคโรทีนอยด์แบบวง ระหว่าง neuroporene หรือ lycopene โดยปฏิกิริยาไซคลิเซชันเริ่มจากโปรตอนกระทบกับอะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของกลุ่มอะตอมที่ปลายโมเลกุลเป็นโซ่ตรงซึ่งวางโครงสร้างเหมาะสม จากนั้นจึงเกิดการสูญเสียโปรตอนจากอะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 6

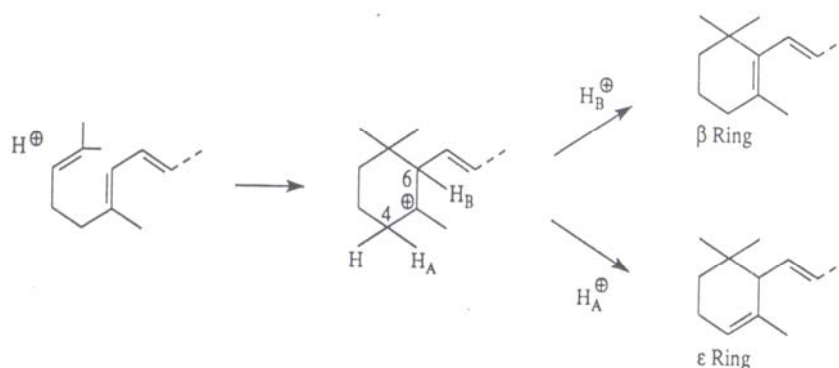
หรืออะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 เพื่อกลายเป็น β -carotene ในกรณีที่เกิดการสูญเสียโปรตอนจากอะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 หรือ ϵ -carotene ในกรณีที่เกิดการสูญเสียโปรตอนจากอะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ดังรูปที่ 2.19 (Young และ Britton, 1993)



รูปที่ 2.17 แสดงการเปลี่ยนแปลงของไฟโตอินให้เป็นไลโคพีนจากชุดปฏิกิริยาดีแซทูเรชัน (Young และ Britton, 1993)



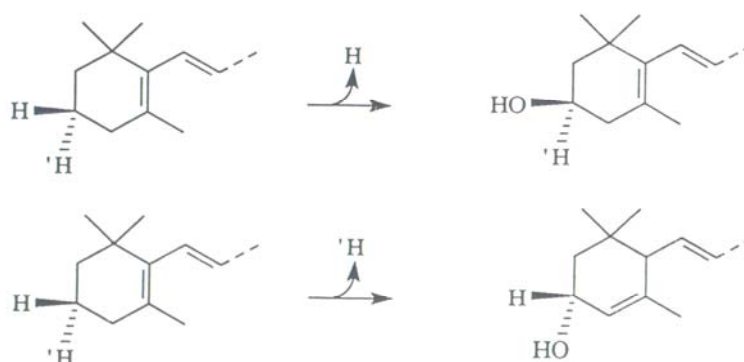
รูปที่ 2.18 แสดงการเกิดสารประกอบแคโรทีนอยด์แบบ 2 วง คือ α -carotene β -carotene และ ϵ -carotene (Young และ Britton, 1993)



รูปที่ 2.19 แสดงกลไกปฏิกิริยาไซคลิกเซชัน (Young และ Britton. 1993)

2.1.2.6 ปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน (hydroxylation)

แคโรทีนอยด์ที่มีอะตอมออกซิเจนในโครงสร้างโมเลกุล พบว่าปฏิกิริยานี้จำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ในกลุ่มแซนโทฟิลล์ โดยปฏิกิริยาที่มีการศึกษามากที่สุด คือ การนำกลุ่มไฮดรอกซีเข้าทำปฏิกิริยาที่อะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของวงไฮโดรคาร์บอนแบบเบต้าหรือเอปซิลอน กลายเป็นแซนโทฟิลล์ คือ zeaxanthin หรือ lutein ตามลำดับ ดังรูปที่ 2.20 (Young และ Britton. 1993)



รูปที่ 2.20 แสดงกลไกปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน (Young และ Britton. 1993)

2.2 สิ่งมีชีวิตที่เป็นแหล่งผลิตแคโรทีนอยด์

2.2.1 พืช

แคโรทีนอยด์พบได้ในทุกส่วนของพืช ทั้งจากราก ใบ ยอด เมล็ด ผล และดอก ทั้งนี้ในผักและผลไม้ที่มนุษย์นิยมบริโภคสามารถจำแนกชนิดของแคโรทีนอยด์ได้ประมาณ 60 ชนิด (Fraser และ Bramley. 2004) ได้แก่ ไลโคพีน แอลฟา-แคโรทีน เบต้า-แคโรทีน ลูทีน ซีแซนทีน เป็นต้น โดยปริมาณแคโรทีนอยด์ในพืชผลทางการเกษตรบางชนิดแสดงไว้ในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงปริมาณแคโรทีนอยด์ในพืชผลทางการเกษตรบางชนิด (Fraser and Bramley. 2004)

ชนิด	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด)					
	total	zeaxanthin	lutein	α -carotene	β -carotene	lycopene
กะหล่ำดาว (brussel sprout)	1163	-	610	-	553	-
ถั่วเขียว (green bean)	940	-	494	70	376	-
ถั่วปากอ้า (broad bean)	767	-	506	-	261	-
บร็อกโคลี่ (broccoli)	2533	-	1614	-	919	-
กะหล่ำปลีเขียว (green cabbage)	139	-	80	-	59	-
ผักสลัดแก้ว (lettuce)	201	-	110	-	91	-
ผักชีฝรั่ง (parsley)	10335	-	5812	-	4523	-
ถั่วลันเตา (pea)	2091	-	1633	-	458	-
ผักขม (spinach)	9890	-	5869	-	4021	-
ผักสลัดน้ำ (watercress)	16632	-	10713	-	5919	-
แอปปริคอต (apricot)	2196	31	101	37	1766	-
กล้วย (banana)	126	4	33	50	39	-
แครอท : พ.ค. (carrot : May)	11427	-	170	2660	8597	-
แครอท : ก.ย. (carrot : Sept)	14693	-	283	3610	10800	-
ส้ม (orange)	211	50	64	Nd	14	-
พริกไทย (pepper)	2784	1608	503	167	416	-
พีช (peach)	309	42	78	Tr	103	-
ข้าวโพดหวาน (sweet corn)	1978	437	522	60	59	-
มะเขือเทศ (tomato)	3454	-	78	-	439	2937

หมายเหตุ Nd คือ ไม่มีข้อมูล

Tr คือ การพบแคโรทีนอยด์ปริมาณน้อยมาก

2.2.2 สาหร่าย

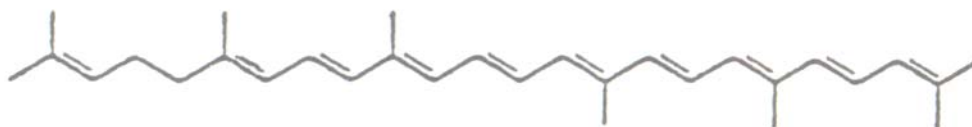
สาหร่ายทุกคลาส (class) ส่วนใหญ่มีคุณสมบัติในการสร้างแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดแตกต่างกันไป ดังแสดงในตารางที่ 2.3 (Cohen. 1999) ทั้งนี้แคโรทีนอยด์ที่สาหร่ายทุกคลาสสามารถสังเคราะห์ได้ คือ เบต้า-แคโรทีน

2.2.3 แบคทีเรีย

แบคทีเรียที่มีแคโรทีนอยด์สามารถแบ่งได้ 2 กลุ่มคือ

2.2.3.1 แบคทีเรียไม่สังเคราะห์แสง (Non-photosynthetic bacteria)

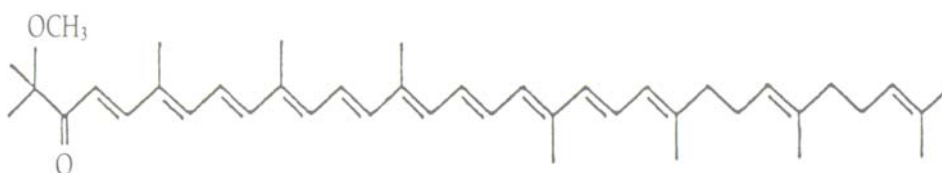
ใน chemo-organotrophic bacteria สามารถพบแคโรทีนอยด์ได้หลายกลุ่ม คือ C_{50} C_{40} และ C_{30} ตัวอย่างแบคทีเรีย ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecium* และ *Pseudomonas rhodos* โดยแคโรทีนอยด์ที่พบ คือ ไดอะโปแคโรทีนอยด์ (diapocarotenoids, C_{30}) เช่น diaponeurosporene ซึ่งแสดงโครงสร้างดังรูปที่ 2.21 ทั้งนี้แคโรทีนอยด์ที่มีจำนวนอะตอมคาร์บอน 30 อะตอม พบเฉพาะในแบคทีเรีย chemo-organotrophic bacteria เท่านั้น (Margalith. 1992)



รูปที่ 2.21 แสดงโครงสร้างของ diaponeurosporene (Margalith. 1992)

2.2.3.2 แบคทีเรียสังเคราะห์แสง (photosynthetic bacteria)

ตัวอย่างแบคทีเรียในกลุ่มนี้ ได้แก่ purple bacteria ซึ่งสามารถสังเคราะห์ spirilloxanthin หรือ spheroidenone แสดงโครงสร้างดังรูปที่ 2.22 หรืออาจสังเคราะห์ได้ทั้งสองชนิด (Margalith. 1992)



รูปที่ 2.22 แสดงโครงสร้างของ spheroidenone (Margalith. 1992)