ผลของสภาวะการสกัดไลโคพีนจากกากมะเขือเทศโดยเทคนิคการสกัดคาร์บอนไดออกไซด์เหลวเหนือจุดวิกฤติ

EFFECTS OF EXTRACTION CONDITIONS ON SUPERCRITICAL CO_2 EXTRACTION OF LYCOPENE FROM TOMOTO PASTE WASTE

อัมพร ยุวรรณศิริ

UMPORN YUWANSIRI

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอุตสาหกรรมอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2551

KMITL-2008-AI-M-054-147

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของสภาวะการสกัดไลโคพีนจากกากมะเขือเทศโดยเทคนิคการสกัดคาร์บอนไดออกไซด์เหลวเหนือจุดวิกฤติ

EFFECTS OF EXTRACTION CONDITIONS ON SUPERCRITICAL CO_2 EXTRACTION OF LYCOPENE FROM TOMOTO PASTE WASTE

อัมพร ยุวรรณศิริ

UMPORN YUWANSIRI

วพ.
ผ555ผ
2551

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 81378
วัน,เดือน,ปี 11 มิ.ย. 2551

b 11931085
i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2551

KMITL-2008-AI-M-054-147

EFFECTS OF EXTRACTION CONDITIONS ON SUPERCRITICAL CO_2 EXTRACTION OF LYCOPENE FROM TOMOTO PASTE WASTE

UMPORN YUWANSIRI

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN SANITATION

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2008

KMITL-2008-AI-M-054-147

COPYRIGHT 2008

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของสภาวะการสกัดไลโคพีนจากกากมะเขือเทศโดยเทคนิคการสกัดคาร์บอนไดออกไซด์เหลวเหนือจุดวิกฤติ
นักศึกษา	นางสาวอัมพร ยุวรรณศิริ
รหัสประจำตัว	48068751
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2551
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร. พอใจ ถามากร

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาถึงผลของความดันและอุณหภูมิที่มีต่อการสกัดไลโคพีนจากกากมะเขือเทศโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลวเหนือจุดวิกฤติ โดยศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ 4 ระดับ (50 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส) ความดัน 4 ระดับ (4000 4500 5000 และ 5500 พีเอสไอ) และใช้เวลาในการสกัด 4 ระดับ (15 30 45 และ 60 นาที) นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณไลโคพีนทั้งหมดด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมททรี พบว่าที่สภาวะความดัน 5500 พีเอสไอ อุณหภูมิ 70 และ 80 องศาเซลเซียส เวลาการสกัด 60 นาทีให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 472 นาโนเมตรสูงที่สุด เมื่อนำสารสกัดที่สภาวะทั้งสองไปวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนโดยวิธี HPLC พบว่าที่อุณหภูมิสกัด 70 องศาเซลเซียส สามารถสกัดในรูปทรานส์ไลโคพีนได้ 16.72 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ 80 องศาเซลเซียส สกัดได้ 2.98 เปอร์เซ็นต์

Thesis title	Effects of extraction conditions on supercritical CO_2 extraction of lycopene from tomato paste waste
Student	Miss Umporn Yuwansiri
Student ID.	48068751
Degree	Master of Science
Program	Sanitation
Year	2008
Thesis Advisor	Assist. Prof. Dr. Porjai Thamakorn

ABSTRACT

The objective of this research is to study the effects of pressure and temperature to the extraction of lycopene from tomato paste waste by supercritical CO_2 extraction technique. Extraction temperature at 50, 60, 70, and 80 °C, pressure at 4000, 4500, 5000, and 5500 psi, and extraction time at 15, 30, 45, and 60 minutes were operated. The extract solutions were measured the total lycopene in term of absorbance by spectrophotometry method at 472 nm. It was found that at pressure 5500 psi, temperature 70 °C and 80 °C resulted in the highest values of absorbance. The extracts were analysed for all-trans lycopene by HPLC method, the values of 16.72 % and 2.98 % extracted lycopene were achieved at extraction temperature 70 °C and 80 °C respectively.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยศิลปากรและเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาสุขาภิบาลอาหารสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่านที่ให้การดูแลและให้ความช่วยเหลือในด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้มาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณท่านอาจารย์ ภก.ผศ.ดร.วิเชียร ลีลาสง่าลักษณ์ และท่านอาจารย์ ภก.รศ.ดร. สินธุ์ชัย แก้วกิติชัย คณบดีคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากรวิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ เป็นอย่างยิ่งในการสนับสนุนที่ทำงาน อุปกรณ์และเครื่องมือ เป็นผลงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีด้วยความเมตตา

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ ดร.กิตติชัย บรรจง และ ผศ.ดร. อรสา สุริยาพันธ์ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำแนะนำในการแก้ไขข้อบกพร่อง เพื่อให้วิทยานิพนธ์นี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดาอันเป็นที่รักยิ่งที่ตลอดการทำงานได้ให้กำลังใจและให้การสนับสนุนแก่ข้าพเจ้าในทุกๆด้าน และคุณค่าแห่งการศึกษาที่พึงมีนี้ ข้าพเจ้าขอมอบแด่ท่านทั้งสอง ร่วมถึงท่านผู้มีพระคุณทุกท่านที่ทำให้ข้าพเจ้ามีวันนี้

และสุดท้ายนี้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจาก ผศ.ดร. พอใจ ถามากร อาจารย์ที่ปรึกษาและผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ซึ่งคอยดูแลให้คำปรึกษา เลือกสรรเอาวิชาการที่ก้าวหน้าที่สุดให้ข้าพเจ้าได้ใช้ในงานวิจัย ให้ความรู้ เพิ่มพูนประสบการณ์ ให้รู้จักใช้ปัญญาตลอดจนแนวทางการแก้ไขปัญหาข้อบกพร่องต่างๆแก่ข้าพเจ้ามาโดยตลอด จนกระทั่งวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จเป็นรูปเล่มที่สมบูรณ์ได้ ทำให้ข้าพเจ้ากลายเป็นบัณฑิตที่มีความรู้ ความสามารถควบคู่กับคุณธรรมอย่างต่อเนื่องและยั่งยืน จึงขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ท่านนี้เป็นอย่างสูง

อัมพร ยุวรรณศิริ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษอังกฤษ.....II

กิตติกรรมประกาศ.....III

สารบัญ.....IV

สารบัญตาราง.....VII

สารบัญภาพ.....VIII

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1

1.2 ขอบเขตของการวิจัย.....2

1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....2

บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....3

1.1 ไลโคพีน.....3

2.2 กระบวนการเกิดไอโซเมอร์ของไลโคพีน.....6

2.3 ยูวีวิสิเบิลสเปคโตรสโคปี.....7

2.4 การสกัดของไหลเหนือจุดวิกฤติ (Supercritical Fluid Extraction, SFE).....8

2.5 คาร์บอนไดออกไซด์เหนือจุดวิกฤติ (Supercritical carbon dioxide).....12

2.6 การประยุกต์ใช้เทคนิคการสกัดของไหลเหนือจุดวิกฤติ.....13

2.6.1 อุตสาหกรรมโพลิเมอร์.....13

2.6.2 อุตสาหกรรมอาหาร.....13

2.6.3 อุตสาหกรรมการผลิตยา.....14

2.7 ข้อดีและข้อจำกัดของเทคนิคการสกัด SFE.....14

2.8 งานวิจัยที่ประยุกต์ใช้เทคนิคการสกัดแบบ SFE ในการสกัดไลโคพีน.....15

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย.....17

3.1 วัตถุดิบ.....17

3.2 อุปกรณ์.....17

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....17

3.4 สถานที่ทำการทดลอง.....18

3.5 วิธีการทดลอง.....18

3.5.1 การเตรียมตัวอย่างกากมะเขือเทศ.....18

3.5.2 การวิเคราะห์หาปริมาณไลโคพีนทั้งหมดโดยวิธีสเปกโตโฟโตเมททรี.....18

3.5.3 การศึกษาสภาวะการสกัดโดย SFE.....18

3.5.4 การวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนโดยวิธี
(High Performance Liquid Chromatography, HPLC).....19

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....20

4.1 การเตรียมตัวอย่างกากมะเขือเทศ.....20

4.2 หาปริมาณไลโคพีนโดยวิธีสเปกโตโฟโตเมททรี.....20

4.3 การศึกษาสภาวะการสกัดโดยเทคนิค SFE.....22

4.3.1 อิทธิพลของเวลา.....24

4.3.2 อิทธิพลของความดัน.....25

4.3.3 อิทธิพลของอุณหภูมิ.....25

4.4 การวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนด้วยวิธี HPLC.....26

4.4.1 การสร้างกราฟมาตรฐานไลโคพีน.....26

4.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนจากสารละลายที่สกัดได้และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสระยะเวลา 1 เดือน.....28

4.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนจากสารละลายที่สกัดได้ทันที.....30

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....33

สารบัญ (ต่อ)

ข้อเสนอแนะ.....34

บรรณานุกรม.....35

ภาคผนวก.....38

ประวัติผู้เขียน.....50

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ปริมาณไลโคพีนในแหล่งอาหารต่างๆ.....6

2.2 การเปรียบเทียบค่าความหนาแน่น ความหนืด ค่าสัมประสิทธิ์แพร่กระจายของก๊าซของเหลว และของไหลเหนือจุดวิกฤติ.....8

2.3 คุณสมบัติที่จุดวิกฤติของสารชนิดต่างๆ.....11

4.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดไลโคพีนและปริมาณไลโคพีนในกากมะเขือเทศอบแห้ง.....21

4.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดไลโคพีนโดยเทคนิคการสกัด SFE ที่ความยาวคลื่น 472 นาโนเมตร.....22

4.3 ค่าพื้นที่ใต้กราฟไลโคพีนของสารสกัดใหม่ที่อุณหภูมิ 70 และ80 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เวลาสกัด 60 นาที.....31

ค1 พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไลโคพีนที่ความเข้มข้น 0.001-0.020 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 45

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 โครงสร้างโมเลกุลของเบต้าแคโรทีนเปรียบเทียบกับไลโคพีน.....3
2.2 แผนภาพแสดงจุดวิกฤติและขอบเขตสถานะของของเหลว-ก๊าซ.....9
2.3 แผนภาพแสดงอุณหภูมิและความดันวิกฤติของคาร์บอนไดออกไซด์.....13
4.1 กราฟมาตรฐานของสารละลายไลโคพีน.....27
4.2 โครมาโตแกรมสารมาตรฐานไลโคพีน.....27
4.3 โครมาโทแกรมสารสกัดไลโคพีนที่ผ่านการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 1 เดือน (สภาวะการสกัด อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 4500 พีเอสไอ เวลาสกัด 60 นาที).....29
4.4 โครมาโทแกรมสารสกัดไลโคพีนที่ผ่านการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 1 เดือน (สภาวะการสกัดอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5500 พีเอสไอ เวลาสกัด 60 นาที).....29
4.5 โครมาโทแกรมสารสกัดไลโคพีนที่สกัดและวิเคราะห์ทันที (อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5500 พีเอสไอ เวลาสกัด 60 นาที).....30
ก1 เครื่องสกัด SFE.....39
ก2 Dynamic Extraction Menu.....40
ค1 โครมาโตแกรมสารสกัดไลโคพีนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เวลา 60 นาที สกัดซ้ำที่ 1.....46
ค2 โครมาโตแกรมสารสกัดไลโคพีนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เวลา 60 นาทีใสกัดซ้ำที่ 2.....46
ค3 โครมาโตแกรมสารสกัดไลโคพีนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เวลา 60 นาที สกัดซ้ำที่ 3.....47
ค4 โครมาโตแกรมสารสกัดไลโคพีนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เวลา 60 นาที สกัดซ้ำที่ 1.....47
ค5 โครมาโตแกรมสารสกัดไลโคพีนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เวลา 60 นาที สกัดซ้ำที่ 2.....48
ค6 โครมาโตแกรมสารสกัดไลโคพีนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เวลา 60 นาที สกัดซ้ำที่ 3.....48

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะเขือเทศเป็นผลิตผลทางการเกษตร นิยมบริโภคในรูปผลสดและนำไปแปรรูป ได้แก่ ซอสมะเขือเทศ เนื้อมะเขือเทศเข้มข้น และน้ำมะเขือเทศ กากมะเขือเทศที่เหลือจากกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมแปรรูปเป็นส่วนของผิวผล เมล็ด และเนื้อ ซึ่งส่วนที่เป็นผิวมะเขือเทศมีปริมาณไลโคพีน 53.9 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ในขณะที่เนื้อมะเขือเทศทั้งผลมีไลโคพีนอยู่ประมาณ 11 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Sharma and Le Maguer, 1996) ไลโคพีนเป็นสารที่พบในธรรมชาติมีสีแดง อยู่ในกลุ่มของแคโรทีนอยด์ และพบมากในมะเขือเทศสุกหรือมะเขือเทศที่มีลักษณะเป็นสีแดงเข้ม ไลโคพีนมีคุณสมบัติสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) ได้ดี สามารถต้านมะเร็ง ป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ ด้วยเหตุนี้จึงมีผู้สนใจทำการสกัดไลโคพีนจากมะเขือเทศเพื่อใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร เช่นผลิตภัณฑ์อาหารเสริม และใช้เป็นส่วนประกอบของเครื่องสำอางค์ แต่ถึงกระนั้นก็ยังพบปัญหาในด้านความปลอดภัยของสารสกัดไลโคพีนที่ได้ โดยเฉพาะการปนเปื้อนของสารเคมี อันเนื่องจากเทคนิคการสกัดโดยทั่วไปอาศัยสารละลายอินทรีย์ช่วยในการสกัด เช่น เฮกเซน ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นต้น การเลือกเทคนิคการสกัดจึงเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึง เพื่อช่วยในการแก้ปัญหาข้างต้น และเพื่อลดความเสี่ยงและเพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้บริโภคมากขึ้น สำหรับเทคนิคการสกัดของไหลเหนือจุดวิกฤติ (supercritical fluid extraction, SFE) เป็นวิธีการสกัดที่ได้รับความสนใจมากวิธีหนึ่ง เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากกว่าการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่จะไม่สามารถแยกตัวทำละลายออกมาได้หมดสมบูรณ์ ทำให้มีตัวทำละลายตกค้างอยู่ ตัวทำละลายเหนือจุดวิกฤติที่ได้รับความสนใจมาก คือ คาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide) เพราะมีจุดวิกฤติที่ต่ำ มีสภาวะการสกัดที่ไม่รุนแรง ประหยัดพลังงาน และทำให้สารที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์สูง

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาถึงเทคนิคการสกัด SFE ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความปลอดภัยและลดการใช้สารเคมี มาใช้ในการสกัดไลโคพีนจากกากมะเขือเทศ โดยศึกษาถึงปัจจัยอุณหภูมิและความดันการสกัดที่มีต่อปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้เมื่อสกัดโดยใช้เวลาต่างๆกัน

1.2 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาถึงปัจจัยของอุณหภูมิและความดันที่มีผลต่อการสกัดไลโคพีนจากกากมะเขือเทศด้วยเทคนิคการสกัดคาร์บอนไดออกไซด์เหลวเหนือจุดวิกฤติ (supercritical CO_2 extraction) ศึกษาผลของปัจจัยที่มีต่อปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้ และวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

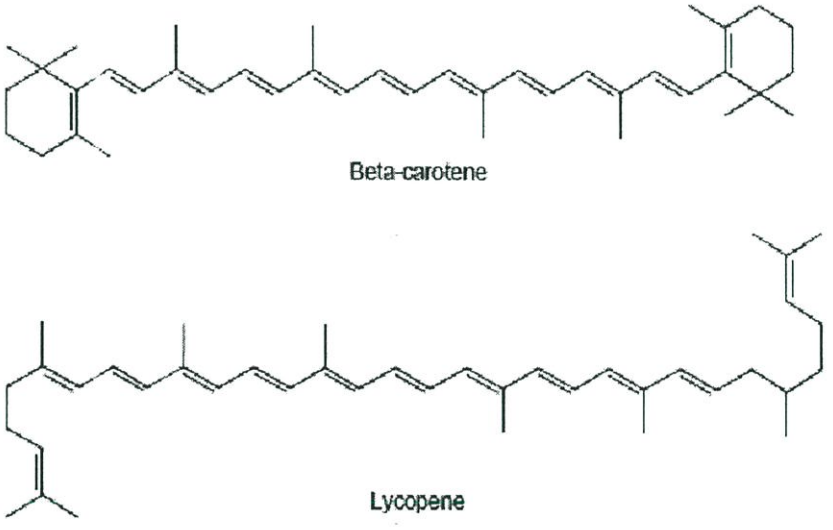
1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาปัจจัยเวลา ความดัน และอุณหภูมิ ที่มีต่อปริมาณไลโคพีนจากกากมะเขือเทศโดยวิธี SFE

บทที่ 2
ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไลโคพีน (Lycopene)

ไลโคพีน เป็นสารอนุพันธุ์ในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoid) กลุ่มเดียวกันกับเบต้าแคโรทีน มีโครงสร้างทางเคมีเป็นสายไฮโดรคาร์บอนแบบไม่อิ่มตัว ประกอบด้วยพันธะคู่แบบคอนจูเกต (conjugated) 11 คู่ และแบบไม่ใช่คอนจูเกต (unconjugated) 2 คู่ โครงสร้างโมเลกุลของไลโคพีนมีลักษณะเป็นโซ่ตรง ในขณะที่ปลายโซ่ของโมเลกุลเบต้าแคโรทีนมีลักษณะเป็นวงแหวน (ring) ที่ปลายโซ่ของโมเลกุลดังที่แสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 โครงสร้างโมเลกุลของเบต้าแคโรทีนเปรียบเทียบกับไลโคพีน

ไลโคพีนเป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยสายไฮโดรคาร์บอน ทำให้เป็นสารไม่มีขั้ว จึงละลายได้ดีในไขมัน สูตรโมเลกุลไลโคพีนคือ $C_{40}H_{56}$ ไลโคพีนมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าแคโรทีนอยด์ชนิดอื่นๆ เช่น เบต้าแคโรทีนโดยมีประสิทธิภาพสูงกว่าเบต้าแคโรทีน 2 เท่า (สถาบันมะเร็ง, 2538) ด้วยคุณสมบัติของไลโคพีนที่เป็นสารประเภทละลายได้ในไขมัน พบว่าไลโคพีนสามารถทำงานได้ดีในเนื้อเยื่อที่มีปริมาณไขมันสูง นอกจากนี้ไลโคพีนจะช่วยป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตจากแสงแดดได้ด้วย โดยป้องกันมิให้อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยาที่ผนังเซลล์ซึ่งอาจกลายเป็นเนื้อร้ายภายหลัง ปริมาณไลโคพีนที่เหมาะสมกับร่างกายในแต่ละวันยังไม่ทราบค่าที่

แน่นอนแต่เมื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมในทางการค้า ไลโคพีนจะผสมกับฟอสโฟลิปิด ขนาดรับประทาน 5-15 มิลลิกรัมต่อวัน (John, 1987)

คุณสมบัติด้านชีวภาพของไลโคพีนในด้านการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และความสามารถในการตรวจจับอนุมูลอิสระ สามารถป้องกันการทำลายสารพันธุกรรม (DNA) จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน จากการวิจัยพบว่าการบริโภคไลโคพีนธรรมชาติจำนวน 15 มิลลิกรัม 2 ครั้งต่อวัน สามารถลดความดันโลหิตสูง และลดระดับแอลดีแอล คอเลสเตอรอล (Food Focus Thailand, 2007) นอกจากนี้ยังยับยั้งการเกิด singlet oxygen และจับอนุมูลอิสระเปอร์ออกซี อันเป็นสาเหตุของการเกิดกลิ่นหืนในผลิตภัณฑ์ การรับประทานอาหารที่มีไลโคพีน ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง เช่น มะเร็งต่อมลูกหมาก โรคหัวใจ เป็นต้น

คุณลักษณะของโครงสร้างที่มีลักษณะโซ่ตรงและมีพันธะคู่หลายคู่และยาว ได้สร้างคุณสมบัติทางชีวภาพที่โดดเด่น ทำให้ไลโคพีนได้รับความสนใจและสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา FDA (U.S. Food and Drug Administration) ได้ออกประกาศเรื่องรายการสีที่อนุญาตให้ใช้ได้ในอาหารฉบับปรับปรุงใหม่ ซึ่งได้เพิ่มสารสกัดไลโคพีนจากมะเขือเทศหรือไลโคพีนจากมะเขือเทศเข้มข้น เข้าไปในรายการสีวัตถุเจือปนอาหารที่ยอมให้ใช้ในอาหารได้โดยไม่ต้องขออนุญาตทุกรุ่นการผลิต เนื่องจากไลโคพีนเป็นสีที่ถูกเตรียมจากวัสดุพืชตามธรรมชาติ ในปัจจุบันนิยมนำไลโคพีนมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เชิงการค้าและ ทางเภสัชวิทยา

ในร่างกายและในน้ำเลือดของมนุษย์มีสารจำพวกแคโรทีนอยด์เป็นองค์ประกอบอยู่หลายชนิด ซึ่ง 50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งหมดนี้เป็นไลโคพีน นอกจากนี้เรายังพบไลโคพีนสะสมอยู่ในส่วนต่างๆของร่างกาย โดยจะพบมากที่อัณฑะ ต่อมหมวกไต และต่อมลูกหมาก หลังจากการบริโภคแล้วไลโคพีนจะรวมตัวกับน้ำดีแล้วจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายที่ลำไส้เล็กไปพร้อมๆกับอาหารจำพวกไขมัน และด้วยความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ที่เป็นสาเหตุของการทำลายเซลล์ในร่างกายและการเกิดโรคเสื่อมสภาพต่างๆ ทำให้ไลโคพีนจัดเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ดีมีประสิทธิภาพสูงตัวหนึ่ง ซึ่งในปัจจุบันมีการศึกษาถึงคุณสมบัติของไลโคพีนในด้านที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถป้องกันและลดความเสี่ยงเกิดโรคมะเร็งได้ (มูลนิธิโต้โยต้าประเทศไทย, 2545) ผู้ชายที่รับประทานมะเขือเทศสุกประมาณ 10 ครั้งต่อสัปดาห์ จะช่วยลดการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมากได้ถึง 45 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผู้หญิงนั้นพบว่า มะเขือเทศช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งมดลูกได้เช่นกัน การใช้สารไลโคพีนในขนาด 6.5 มิลลิกรัมต่อวัน เทียบเท่ากับการกินอาหารที่มีมะเขือเทศเป็นส่วนผสมหลักประมาณ 10 ครั้งต่อสัปดาห์ จะช่วยป้องกันมะเร็งอย่างได้ผลและสามารถลดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่อมลูกหมากอักเสบได้มากถึง 21 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับผู้ที่ไม่ได้รับประทาน ในขณะที่นักวิจัยจากมหาวิทยาลัยแห่งเทอวิฟพบว่าผู้ชายที่รับประทานซอสมะเขือเทศประมาณ 3 ใน 4 ถ้วยต่อวันจะช่วยพัฒนาความสามารถของร่างกายในการต่อสู้กับโรคหืดหอบได้ถึง 45 เปอร์เซ็นต์ (สุดสายชล, 2548)

แหล่งไลโคพีนที่พบได้จากผักและผลไม้ที่มีปริมาณไลโคพีนสูงได้แก่ มะเขือเทศมีมากถึง 3.1-7.7 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม นอกจากนี้ยังมีใน แตงโม 4.1 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ฝรั่งสีแดง 5.4 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม มะละกอสุก 2.0-5.3 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และจากผลิตภัณฑ์จากมะเขือเทศ เช่น น้ำมะเขือเทศบรรจุกระป๋อง ซอสมะเขือเทศ และมะเขือเทศสกัดเป็นต้น (Gross, 1987; Gross, 1991; Beerh and Siddappa, 1959; Mangels *et al.*, 1993) มะเขือเทศที่บรรจุกระป๋องผสมมากับน้ำมันพืชที่นำมาใช้ประกอบอาหาร เช่น สปาเกตตี้ หรือ พิซซ่า จะทำให้ร่างกายได้รับไลโคพีนสูงมากในเลือด เพราะไลโคพีนละลายในไขมันช่วยให้ดูดซึมได้ดีในอาหารที่มีไขมัน นอกจากไลโคพีนแล้วมะเขือเทศประกอบไปด้วยแคโรทีนอยด์ชนิดอื่นๆแต่มีในปริมาณที่น้อย ได้แก่ แอลฟาแคโรทีน เบต้าแคโรทีน แกมมาแคโรทีน

สีแดงเข้มในมะเขือเทศสุกจะเป็นแหล่งที่ใหญ่ที่สุดของไลโคพีน สีของมะเขือเทศจะเป็นตัวที่บ่งบอกถึงคุณภาพของมะเขือเทศ สภาวะรุนแรงในกระบวนการแปรรูปเช่น อุณหภูมิสูง เวลาในกระบวนการที่ยาวนาน แสงและออกซิเจน มีอิทธิพลต่อการเสื่อมสลายของไลโคพีน (Cole and Kapur, 1957)

ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์ไลโคพีนเองได้จึงต้องรับได้จากอาหารเท่านั้นโดยแหล่งของไลโคพีนในอาหารได้จากมะเขือเทศและผลิตภัณฑ์มะเขือเทศ ปริมาณไลโคพีนในแหล่งอาหารผลไม้และอาหารต่างๆแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณไลโคพีนในแหล่งอาหารต่างๆ

อาหาร	ปริมาณไลโคพีน (มิลลิกรัมต่อ100 กรัมน้ำหนักอาหาร)
แอพริคอตแห้ง	0.86
องุ่นสีชมพู	3.36
ฝรั่งสด	5.40
น้ำฝรั่ง	3.34
มะละกอสุก	2.00-5.30
มะเขือเทศสด	0.88-4.20
ซอสมะเขือเทศ	6.20
ซอสมะเขือเทศเข้มข้น	5.40-150.0
ซุปมะเขือเทศเข้มข้น	7.99
ผงมะเขือเทศแห้ง	112.63-126.49
น้ำมะเขือเทศ	5.00-11.60
มะเขือเทศแห้งในน้ำมัน	46.50
แตงโมสด	2.30-7.20

ที่มา : ดัดแปลงจาก Clinton (1998).

2.2 กระบวนการเกิดไอโซเมอไรเซชันของไลโคพีน

การเกิดปฏิกิริยาไอโซเมอไรเซชัน (isomerization) ของแคโรทีนอยด์ในผักผลไม้ เป็นผลเนื่องมาจากอุณหภูมิในระหว่างกระบวนการแปรรูปและกระบวนการเตรียม ซึ่งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากออล-ทรานส์ (all-trans) ไปเป็นซิสไอโซเมอร์ (cis-isomer) แคโรทีนสามารถเกิดไอโซเมอไรเซชันได้ง่ายกว่าไลโคพีน ในกระบวนการแปรรูปอาหารธรรมดาที่ใช้อุณหภูมิไม่สูงมากนัก จะไม่มีผลต่อการเกิดไอโซเมอร์ของไลโคพีน ปกติไลโคพีนจะมีความคงตัวอยู่แล้วในเนื้อเยื่อของผลไม้ อย่างไรก็ตามการเกิดไอโซเมอไรเซชันของไลโคพีนทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ลดลงและทำให้สีของไลโคพีนในมะเขือเทศมีความเข้มลดลงเช่นกันอันอาจเป็นผลจากไอโซเมอร์ที่เกิดขึ้น

ออล-ทรานส์ไลโคพีน มีรูปร่างโมเลกุล ความเสถียร และคุณสมบัติการดูดกลืนแสงแตกต่างจากซิสไอโซเมอร์ เนื่องจากพันธะซิสเกิดการบิดตัว ทำให้โมเลกุลถูกจำกัดให้แคบลง พลังงานสูงขึ้น และมีผลสัมพันธ์กับการดูดกลืนแสงสูงสุดในช่วงคลื่นมองเห็น (visible spectrum) แคโรทีนอยด์สามารถเกิดทรานส์-ซิสไอโซเมอร์ ระหว่างการปรุง การให้ความร้อน

(Sweeney and Marsh, 1971) ขณะที่ระหว่างเก็บรักษาเกิดทรานส์-ซิสไอโซเมอร์ของไลโคพีนน้อยมากเนื่องจากไม่มีการป้อนพลังงานเข้าในระบบหรือขาดตัวเร่งที่จำเป็นสำหรับกระบวนการนี้ ในทางกลับกันจะเกิดซิส-ทรานส์ไลโคพีน สามารถอธิบายกระบวนการนี้ได้ว่าซิสไอโซเมอร์ไม่เสถียรในสถานะที่มีพลังงานสูง (energy-rich state) จึงกลับไปสู่สถานะพื้น (ground state)

จากการทดลองของ Nguyen and Schwart (1998) ได้วิเคราะห์ผลิตภัณฑ์มะเขือเทศทางการค้า เช่น น้ำผัก น้ำมะเขือเทศ ซอสมะเขือเทศ ซุปมะเขือเทศ เนื้อมะเขือเทศเข้มข้น ซอสพิซซ่า มะเขือเทศผงที่ใช้วิธีสเปรย์ดราย (spray dry) และ ดรัมดราย (drum dry) ผลิตภัณฑ์มะเขือเทศในน้ำมันที่มะเขือเทศผ่านการตากแดดนั้น (sun-dried tomato in oil) พบว่ามีปริมาณซิสไอโซเมอร์ทั้งหมด ไม่มากกว่า 10.1 เปอร์เซ็นต์ แม้ว่าทุกผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทดสอบถูกแปรรูปภายใต้สภาวะที่ให้ความร้อนแตกต่างกัน แต่ปริมาณซิสไอโซเมอร์ของไลโคพีนไม่สัมพันธ์กับปริมาณความร้อนที่ผลิตภัณฑ์เหล่านี้ได้รับ การวิเคราะห์ซิสไอโซเมอร์นิยมใช้ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ในการวิเคราะห์ โดยเลือกคอลัมน์ชนิด C_{30} เฟสเคลื่อนที่เป็น n-butanol-acetonitrile-methylene chloride (30:70:10, v/v/v) และใช้ความยาวคลื่นในการตรวจสอบที่ 476 นาโนเมตร เวลา 35 นาที พบไอโซเมอร์ 9- cis เมื่อเปรียบเทียบกับคอลัมน์ชนิด C_{18} แล้วพบว่าคอลัมน์ชนิด C_{30} มีค่า รีเทนชันไทม์ ที่สูงกว่า และซิสไอโซเมอร์ที่ได้มักจะพบอยู่ในรูปของ 5-*cis* 9-*cis* 13-*cis* และ15-*cis* ไลโคพีน (Emenhiser *et al.*, 1995)

2.3 ยูวีวิสิเบิลสเปคโตรสโคปี

การดูดกลืนแสงหรือรังสีอยู่ในช่วงอัลตราไวโอเล็ตและวิสิเบิล ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 190-800 นาโนเมตร ของสารนั้น ส่วนใหญ่ได้แก่พวกสารอินทรีย์ (organic compound) หรือสารประกอบเชิงซ้อน (complex compound) หรือสารอนินทรีย์ (inorganic compound) เป็นวิธีวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณอย่างกว้างขวางเพราะวิธีนี้ให้ความถูกต้องแม่นยำ และมีความไวสูง

หลักการของยูวีวิสิเบิลสเปกโตรสโคปี เมื่อให้ลำแสงเคลื่อนที่อย่างต่อเนื่องผ่านเข้าไปในวัตถุใส จะพบว่าแสงบางส่วนถูกดูดกลืน บางส่วนเกิดการสะท้อน บางส่วนกระเจิง และบางส่วนทะลุผ่านออกไป ถ้าให้แสงที่ทะลุผ่านออกไปนั้นผ่านเข้าเครื่องกระจายแสง จะพบว่าสเปกตรัมหายไปส่วนหนึ่ง ส่วนที่หายไปนี้เรียกว่า แอปซอฟชัน สเปกตรัม (absorption spectrum) พลังงานที่ถูกดูดกลืนไปนั้นจะทำให้โมเลกุลหรืออะตอมเปลี่ยนระดับของพลังงานจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้น ดังนั้นเมื่อแสงที่อยู่ในช่วงยูวีวิสิเบิล ผ่านเข้าไปในโมเลกุลของสาร สารนั้นจะดูดกลืนแสงเฉพาะบางช่วง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอนที่เกิดพันธะ

แล้ว หรืออิเล็กตรอนที่ยังไม่เกิดพันธะ ซึ่งแต่ละชนิดจะมีพลังงานแตกต่างกันอิเล็กตรอนที่ได้รับพลังงานสูงขึ้นนี้เรียกว่า แอนตี้บอดิง ออบิทอล (antibonding orbitals) กฎของเบียร์และแลมเบิร์ต (Beer and Lambert's Law) กล่าวเกี่ยวกับการดูดกลืนของแสงกับความหนาของของเหลวที่มีสี พบว่าที่แต่ละชั้นของความหนาที่เท่ากันจะดูดกลืนแสงที่ผ่านในเศษส่วนที่เท่ากันนั้นคือเมื่อลำแสงของแสงโมโนโครมาติก (monocromatic light) ฉายผ่านตัวกลางที่ดูดกลืน(absorb medium) ซึ่งก็คือสารละลายที่มีสี ความเข้มข้นของแสงจะลดลงในรูปของฟังก์ชันเอกซโพแนนเชียล ในขณะที่ความยาวคลื่นของตัวกลางมากขึ้น

การวิเคราะห์หาโดยศึกษาจากยูวีวิสิเบิล สเปกตรัมนั้นค่อนข้างจะจำกัด เพราะลักษณะของสเปกตรัมที่ได้นั้นกว้างขวางมากและขาดรายละเอียด จึงทำให้สามารถวิเคราะห์ได้เพียงคร่าวๆ เท่านั้น จึงควรต้องใช้เทคนิคการวิเคราะห์อื่นเข้าช่วยด้วยเช่นวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) หรือ Mass Spectroscopy จะทำให้การวิเคราะห์นั้นถูกต้องขึ้น

2.4 การสกัดของไหลเหนือจุดวิกฤติ (Supercritical Fluid Extraction, SFE)

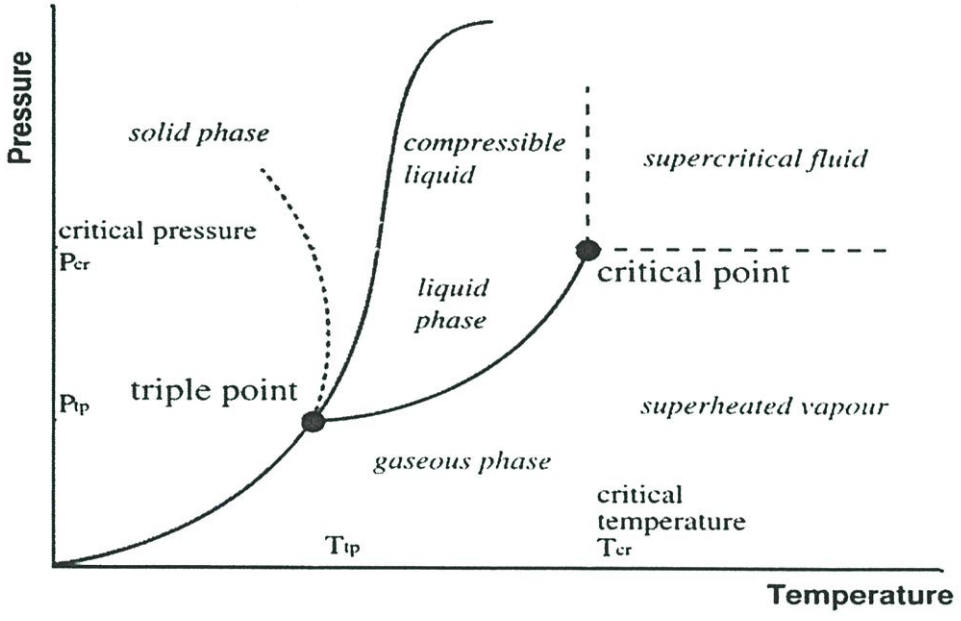
ของไหลเหนือจุดวิกฤติ หมายถึงก๊าซที่มีความหนาแน่นและความสามารถในการละลายใกล้เคียงกับของเหลวแต่ไม่ใช่ของเหลว ดังนั้นการสกัดของไหลเหนือจุดวิกฤติเป็นการสกัดที่อาศัยคุณสมบัติในการละลายของของไหลเหนือจุดวิกฤติ ของไหลที่กล่าวถึง คือ ก๊าซซึ่งเดิมมีสถานะเป็นของเหลว เมื่อผ่านกระบวนการสกัดมีการเพิ่มความดันและอุณหภูมิของก๊าซไปจนกระทั่งทำให้ก๊าซนั้นเปลี่ยนสภาพกลายเป็นของไหลเหนือจุดวิกฤติ คือ มีคุณสมบัติในการละลาย ความหนืด ความหนาแน่น และค่าสัมประสิทธิ์การแพร่กระจายอยู่ระหว่างของเหลวและก๊าซดังแสดงค่าการเปรียบเทียบในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 การเปรียบเทียบค่าความหนาแน่น ความหนืด ค่าสัมประสิทธิ์แพร่กระจายของ สถานะก๊าซ ของเหลวและของไหลเหนือจุดวิกฤติ

สถานะ	ความหนาแน่น (กก./ลบ.ม.)	ความหนืด (เซนติพอยท์)	สัมประสิทธิ์การแพร่กระจาย (มม ^{2} /วินาที)
ก๊าซ	1	0.01	1-10
ของไหลเหนือจุดวิกฤติ	100-800	0.05-0.1	0.01-0.1
ของเหลว	1000	0.5-1.0	0.001

ที่มา : Reid (1987).

คุณสมบัติของของไหลเหนือจุดวิกฤติทำให้สามารถสกัดและมีการแทรกซึมได้ดีกว่าก๊าซ ก๊าซที่อยู่ในสภาวะที่อุณหภูมิและความดันสูงพอ ก๊าซนั้นจะไม่สามารถควบแน่นกลับมาเป็นของเหลวได้อีก เมื่อมีการเพิ่มความดันสูงขึ้นทำให้ความหนาแน่นของก๊าซสูงขึ้นด้วยอย่างรวดเร็ว ณ พื้นที่ซุปเปอร์คริติคอลฟลูอิด (supercritical fluid region) ความสามารถในการละลายมีความสัมพันธ์โดยตรงต่อความหนาแน่น ซึ่งขึ้นอยู่กับระบบความดัน (ณ อุณหภูมิคงที่) เมื่อความดันเพิ่ม ความหนาแน่นของก๊าซเพิ่ม คุณสมบัติในการละลายก็จะเพิ่มขึ้นด้วย เฟสของไหลเหนือจุดวิกฤติ (supercritical fluid phase) สามารถอธิบายได้จากแผนภาพความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและความดันที่จุดวิกฤติดังแสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 แผนภาพแสดงจุดวิกฤติและขอบเขตสถานะของของเหลว-ก๊าซ

ที่มา : Reid. (1987).

รูปที่ 2.2 แสดงให้เห็นถึงการแบ่งเส้นขอบเขตจุดวิกฤติและอุณหภูมิสูงสุดของสถานะของเหลว-ก๊าซ ซึ่งจะประกอบด้วยเส้น 3 เส้น คือ เส้นแสดงการระเหิด เส้นแสดงการระเหย และเส้นแสดงการละลาย โดยทั้ง 3 เส้นนี้ จะแบ่งพื้นที่ออกเป็น 3 ส่วน คือส่วนที่เป็นของแข็ง (solid) ของเหลว (liquid) และก๊าซ (gas) และที่จุดทั้งสามเส้นนี้รวมกัน เรียกว่า จุดสามเฟส (triple point) ซึ่งของแข็ง ของเหลวและก๊าซจะสมดุลกัน เมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิและความดันไปตามเส้นแสดงการระเหย จนถึงจุดๆหนึ่ง จะเรียกจุดนั้นว่าจุดวิกฤติ (critical point) ซึ่ง ณ จุดนี้ก๊าซจะไม่สามารถควบแน่นกลายเป็นของเหลวได้อีก ตามหลักแล้วการเพิ่มความดันให้กับก๊าซจนโมเลกุลของก๊าซอยู่ชิดกันแล้ว ก๊าซจะสามารถที่จะควบแน่นได้อีก แต่ในความเป็นจริงแล้วไม่สามารถทำได้ทุก

อุณหภูมิ เนื่องจากโมเลกุลของก๊าซจะมีพลังงานจลน์อยู่จำนวนหนึ่งที่คอยกันไม่ให้โมเลกุลของก๊าซเข้ามาอยู่ชิดกันเกินไป โดยพลังงานจลน์นั้นจะผันแปรตามอุณหภูมิ ดังนั้นการควบแน่นก๊าซ ณ อุณหภูมิและความดันที่เหนือกว่าจุดวิกฤติ ทั้งก๊าซและของเหลวจะสามารถรวมตัวกันเป็นเฟสเดียวกัน มีคุณสมบัติที่เป็นทั้งของเหลวและก๊าซ หรือเรียกว่าของไหล (fluids) ตารางที่ 2.3 แสดงอุณหภูมิวิกฤติ ความดันวิกฤติ และความหนาแน่นที่จุดวิกฤติของสารต่างๆ

ความสามารถในการละลายในจุดของไหลเหนือจุดวิกฤตินั้น เป็นผลมาจากความดันไอและตัวทำละลายรวมตัวกัน ในการสกัดถ้าให้ความดันอย่างเดียวในระบบ ระบบอาจจะยุ่งยากมากขึ้น ถึงแม้ความสามารถในการกลายเป็นไอเกิดได้รวดเร็วสูงกว่าก๊าซก็ตาม บ่อยครั้งที่ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้นและลดลงจะเป็นไปตามสภาวะที่กำหนดในการสกัด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับตัวอย่างที่ใช้ในสกัดด้วย

ความสามารถในการละลายของระบบ SFE นี้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดออกมาได้มากขึ้นโดยใช้ สารละลายสกัดร่วมด้วย โดยปกติแล้วจะใช้สารที่มีความสามารถเป็นตัวทำละลายได้ดี ระเหยกลายเป็นไอได้ง่าย เป็นการจัดกลไกวิธีการโดยให้การสกัดมีความเหมาะสมมากขึ้น ในทางการค้าเทคโนโลยี SFE นี้มีความเป็นไปได้อย่างยิ่งที่มีการนำสารละลายสกัดร่วมมาร่วมในการสกัดเพื่อช่วยในการปรับปรุงความสามารถในการสกัด อย่างไรก็ตามจากการพิจารณาการเพิ่มสารละลายสกัดร่วมปริมาณเล็กน้อยในระบบ SFE ก็สามารถส่งผลต่อจุดวิกฤติในระบบได้เช่นกัน

ตารางที่ 2.3 คุณสมบัติที่จุดวิกฤติของสารชนิดต่างๆ

สาร	น้ำหนักโมเลกุล (กรัม/โมล)	อุณหภูมิวิกฤติ (องศาเคลวิน)	ความดันวิกฤติ (เมกะพาสคาล) (บรรยากาศ)	ความหนาแน่นวิกฤติ (กรัม/ลูกบาศก์เมตร)
คาร์บอนไดออกไซด์ CO_2	44.01	304.1	7.38 (72.8)	0.469
น้ำ (H_2O)	18.02	647.3	22.12 (218.3)	0.348
มีเทน (CH_4)	16.04	190.4	4.60 (45.4)	0.162
อีเทน (C_2H_6)	30.07	305.3	4.87 (48.1)	0.203
โพรเพน (C_3H_8)	44.09	369.8	4.25 (41.9)	0.217
เอทธีลีน (C_2H_4)	28.05	282.4	5.04 (49.7)	0.215
โพรพิลีน (C_3H_6)	42.08	364.9	4.60 (45.4)	0.232
เมทธานอล (CH_3OH)	32.04	512.6	8.09 (79.8)	0.272
เอทธานอล(C_2H_5OH)	46.07	513.9	6.14 (60.6)	0.276
อะซิโตน (C_3H_6O)	58.08	508.1	4.70 (46.4)	0.278

ที่มา : Reid (1987).

การสกัดของไหลเหนือจุดวิกฤติ (SFE) เป็นเทคนิคการสกัดที่นำมาใช้เมื่อไม่นานมานี้เป็นกระบวนการสกัดภายใต้สภาวะเหนือจุดวิกฤติ โดยทั่วไปเป็นสภาวะที่มีความดันสูง อุณหภูมิต่ำ โดยตัวทำละลายจะอยู่ในสภาพที่เป็นของไหล (fluid) ตัวทำละลายที่นิยมใช้อย่างกว้างขวาง คือ คาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ เนื่องจากราคาไม่แพง หาง่าย ไม่ต้องใช้สารเคมี ไม่มีสารพิษที่เป็นอันตรายตกค้าง ไม่ไวไฟ สามารถกำจัดออกจากผลิตภัณฑ์ได้ง่าย และไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ใช้ได้ทั้งในอุตสาหกรรมการสกัด การซักแห้ง หรือการกำจัดของเสียที่เป็นสารเคมี เป็นต้น ในอุตสาหกรรมโพลีเมอร์ จะใช้เอทธีลีน และโพรพิลีน โดยใช้เป็นตัวทำละลาย และเป็นสาร โมโนเมอร์ตั้งต้น

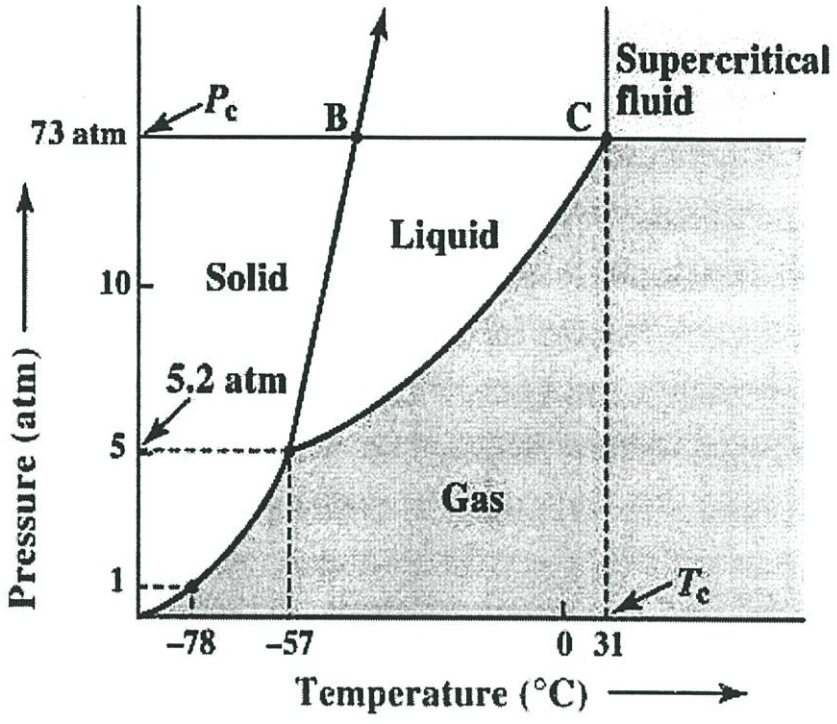
ระบบการสกัดแบบ SFE นี้มักกระทำในเครื่องแบบขั้นเดียว ซึ่งอาจมีการหมุนเวียนของไหลเหนือจุดวิกฤตินำมาใช้ใหม่หรือไม่ก็ได้ ในกรณีที่มีการหมุนเวียนกลับมาใช้ใหม่ จะมีการลดความดัน (และอุณหภูมิในกรณีที่มีการเพิ่มอุณหภูมิในตอนแรก) เพื่อให้ของไหลเหนือจุดวิกฤติสูญเสียความสามารถในการละลาย ของแข็งที่เหลือซึ่งทำการแยกออกโดยอาศัยแรงโน้มถ่วง ส่วนก๊าซดังกล่าวจะถูกนำมาอัดเพิ่มความดันและอุณหภูมิให้สูงขึ้น สู่สภาวะเหนือจุดวิกฤติเพื่อนำกลับมาใช้อีก

จุดเด่นของการสกัดแบบ SFE ที่เป็นเทคโนโลยีที่ไม่ใช้สารเคมี จึงทำให้มีความเหมาะสมกับอุตสาหกรรมอาหาร เช่น อุตสาหกรรมการผลิตกาแฟที่ไม่มีคาเฟอีน เนื่องจากคาเฟอีนเป็นสารที่ไม่มีขั้ว ในการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเคมี ส่วนใหญ่แล้วจะต้องเลือกตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเช่นกัน มักจะใช้เฮกเซน (hexane : C_6H_{14}) หรือ คลอโรฟอร์ม (chloroform : $CHCl_3$) เป็นต้น แต่สารทั้งสองเป็นสารที่มีพิษต่อร่างกาย ดังนั้นทางเลือกหนึ่งในการสกัดที่ดี เหมาะสม และประหยัดที่สุด คือ การสกัดด้วยวิธีของไหลเหนือจุดวิกฤติ เพราะสามารถแยกคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากคาเฟอีนได้ง่ายกว่าเฮกเซนและคลอโรฟอร์ม โดยการเปลี่ยนอุณหภูมิและความดัน

นอกจากนี้การสกัด SFE ยังใช้กับผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันและต้องการมีคลอเรสเตอรอลต่ำ ยาสูบปราศจากนิโคติน อุตสาหกรรมการสกัดเครื่องเทศ เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์ และยา สามารถช่วยลดเวลาในการสกัด และทำให้มีความสะดวกและง่ายมากขึ้น

2.5 คาร์บอนไดออกไซด์เหนือจุดวิกฤติ (Supercritical carbon dioxide)

คาร์บอนไดออกไซด์เหนือจุดวิกฤติ หมายถึง คาร์บอนไดออกไซด์ที่อยู่ในสถานะของไหล ซึ่งจะต้องอยู่ที่หรือเหนือสภาวะอุณหภูมิ และความดันวิกฤติ โดยคุณสมบัติจะอยู่ระหว่างก๊าซและของเหลว คาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิวิกฤติ (31.1 องศาเซลเซียส) ความดันสูงกว่าความดันวิกฤติ 73 บรรยากาศ (1072.80 พีเอสไอ) (รูปที่ 2.3) จะแพร่กระจายตัวอยู่ในภาชนะบรรจุได้ มีความหนาแน่นใกล้เคียงกับของเหลว คาร์บอนไดออกไซด์เหนือจุดวิกฤติเป็นตัวทำละลายที่มีบทบาทในการสกัดสารต่างๆ เนื่องจากปราศจากสารพิษตกค้างต่อสิ่งแวดล้อม อีกทั้งอุณหภูมิในการสกัดค่อนข้างต่ำ จึงทำให้วัตถุดิบที่ต้องการสกัดนั้นสูญเสียหรือเสียสภาพไปน้อยมาก



รูปที่ 2.3 แผนภาพแสดงอุณหภูมิและความดันวิกฤติของคาร์บอนไดออกไซด์

2.6 การประยุกต์ใช้ของเทคนิคการสกัดของไหลเหนือจุดวิกฤติ

2.6.1 อุตสาหกรรมโพลิเมอร์

ของไหลเหนือจุดวิกฤติถูกใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมโพลิเมอร์ เพื่อช่วยในการแก้ไขปัญหาการแพร่กระจายผลึกของของแข็งในมวลสารที่ไม่อยู่ในสถานะที่จะละลายได้ การทำงานของของไหลเหนือจุดวิกฤติแสดงตัวเหมือนเป็นผู้ต่อต้านสารละลายเพื่อที่จะไปเร่งรัดการตกผลึก

2.6.2 อุตสาหกรรมอาหาร

อุตสาหกรรมอาหารนิยมใช้เทคนิคของไหลเหนือจุดวิกฤติสกัดสารประกอบของอาหารที่ไม่คงตัวหรือมีความคงตัวต่ำ เนื่องจากเทคนิคนี้จะใช้อุณหภูมิการสกัดที่อุณหภูมิจุดวิกฤติ ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ต่ำจึงสามารถลดการสลายตัวได้ ตัวอย่างเช่น สารประกอบที่ให้กลิ่นรส เป็นต้น และเนื่องจากเทคนิคการสกัด SFE เป็นการสกัดที่ไม่มีการใช้สารเคมีจึงไม่เกิดการปนเปื้อนของสารเคมีที่มีโอกาสก่อพิษในอาหารได้

ตัวอย่างการใช้เทคนิคการสกัด SFE ในปัจจุบันได้แก่ มีการเริ่มนำเทคนิคนี้มาใช้สกัดน้ำมันถั่วเหลืองและกำลังทดลองใช้กับกระบวนการผลิตน้ำมันข้าวโพด น้ำมันดอกทานตะวัน และน้ำมันถั่วลิสง เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีที่เป็นตัวช่วยในการสกัด ตัวอย่างของสารละลายที่เคยนิยมใช้ในการสกัดน้ำมันคือ สารละลายเฮกเซน ซึ่งเทคนิคการสกัดนี้ไม่เพียงแต่ใช้ในการทดแทนสารเคมีเท่านั้น แต่เป็นการสกัดน้ำมันที่ช่วยให้ระดับของกรดไขมันอิสระลดต่ำลงด้วย

นอกเหนือจากการใช้สกัดน้ำมันข้างต้นแล้วยังสามารถใช้สกัดเครื่องเทศ พริกไทยดำ วนิลา ลูกจันทน์ ใบกะเพรา ขิง คาโมมายล์ และสารให้กลิ่นรสชนิดต่างๆจากธรรมชาติ

2.6.3 อุตสาหกรรมการผลิตยา

ในอุตสาหกรรมยาที่ผ่านมาในอดีตมักพบปัญหาจากสารสกัดที่เหลือจากกระบวนการซึ่งมีความสำคัญมากต่อขั้นตอนการผลิตยา เทคนิคการสกัด SFE เป็นเทคนิคหนึ่งที่สามารถนำมาใช้เป็นตัวเลือกในการสกัดยา เนื่องด้วยคุณสมบัติการสกัดนี้สามารถสกัดได้โดยไม่ต้องใช้สารเคมีและสภาวะที่ใช้สกัดก็ไม่รุนแรง ซึ่งส่งผลให้สามารถรักษาปริมาณสารสกัดตัวอย่างที่มีความคงตัวต่ำ ให้มีปริมาณใกล้เคียงกับตัวอย่างก่อนการสกัด

2.7 ข้อดีและข้อจำกัดของเทคนิคการสกัด SFE

ข้อดีของเทคนิคการสกัด SFE นั้น จากข้อมูลเบื้องต้นพบว่าเทคนิคการสกัดนี้ใช้ก๊าซเป็นสารละลายเคลื่อนที่ จึงทำให้สามารถทำปฏิกิริยาได้ทุกส่วนของสารที่ต้องการสกัด โดยคุณสมบัติในด้านตัวทำละลายที่มีลักษณะคล้ายก๊าซนี้ จะทำให้สามารถแยกสารออกมาได้ปริมาณมากและรวดเร็ว การสกัดโดยเทคนิคนี้ยังให้ความจำเพาะในการแยกสารซึ่งจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและความดันที่เพิ่มให้กับระบบ วิธีนี้ไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม ไม่ก่อให้เกิดมลภาวะที่เป็นพิษ ไม่ทิ้งสารตกค้างในผลิตภัณฑ์ ใช้ระยะเวลาในการสกัดสั้น ลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้สูง ลดปัญหาในการกำจัดตัวทำละลายที่เหลือในผลิตภัณฑ์ และสารสกัดที่ได้มีความบริสุทธิ์สูง

ข้อจำกัดที่พบของเทคนิคการสกัด SFE คือ ความต้องการในการเพิ่มความดันสูงขึ้นในระบบจึงจำเป็นต้องมีการอัดสารละลายเพื่อนำมาใช้ ทำให้การลงทุนสำหรับการติดตั้งอุปกรณ์ต้องใช้ต้นทุนสูง

2.8 งานวิจัยที่ประยุกต์ใช้เทคนิคการสกัดแบบ SFE ในการสกัดไลโคพีน

Baysal และคณะ (2000) ศึกษาการสกัดเบต้าแคโรทีนและไลโคพีนจากกากมะเขือเทศที่ได้จากโรงงานโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหลวเหนือจุดวิกฤติทำการทดลองสกัดที่อุณหภูมิ 35 45 55 และ 60 องศาเซลเซียส ความดัน 200 250 และ 300 บาร์ เวลาสกัด 1 2 และ 3 ชั่วโมง อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 2 4 และ 8 กิโลกรัมต่อชั่วโมง พบว่าสามารถสกัดไลโคพีนได้ 53.93 เปอร์เซ็นต์ จากไลโคพีนทั้งหมด ใช้เวลาในการสกัด 2 ชั่วโมง ที่ 55 องศาเซลเซียส ความดัน 300 บาร์หรือ 4351.17 พีเอสไอ ใช้อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์มีค่าเท่ากับ 4 กิโลกรัมต่อชั่วโมง โดยใช้เอทธานอล 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารสกัดร่วม สกัดเบต้าแคโรทีนได้ 49.95 เปอร์เซ็นต์ ที่อัตราการไหลคาร์บอนไดออกไซด์ 4 กิโลกรัมต่อชั่วโมง อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ความดัน 300 บาร์ และใช้เอทธานอล 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารสกัดร่วม

Cadoni และคณะ (2000) ศึกษาการสกัดไลโคพีนและเบต้าแคโรทีนจากกากและเปลือกมะเขือเทศที่ความดัน 4000 พีเอสไอ อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 30 นาที เก็บสารที่สกัดได้ในเอทธานอล 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่าการสกัดที่สภาวะนี้ให้ค่าปริมาณไลโคพีนสูงสุด โดยสามารถสกัดไลโคพีนได้ 65 เปอร์เซ็นต์ และ สกัดเบต้าแคโรทีนได้ 35 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าเมื่อให้อุณหภูมิสูงขึ้นในการสกัดมีผลต่อปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้มีค่าเพิ่มมากขึ้น ในการปรับปรุงสภาวะการสกัด โดยทำการสกัดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส 4000 พีเอสไอ แล้วตามด้วยอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 4000 พีเอสไอ ทำให้เพิ่มปริมาณการสกัดไลโคพีนปริมาณ 87 เปอร์เซ็นต์และเบต้าแคโรทีน 13 เปอร์เซ็นต์

Gomez-Prieto และคณะ (2003) ทดลองการสกัดไลโคพีนด้วยเทคนิคการสกัด SFE สามารถสกัดไลโคพีน และแยกไอโซเมอร์ ของไลโคพีนโดยผ่านเครื่องวิเคราะห์ HPLC ใช้ตัวอย่าง 0.5 กรัม ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความหนาแน่นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เท่ากับ 0.90 กรัมต่อมิลลิลิตร มีอัตราการไหลคาร์บอนไดออกไซด์ 4 มิลลิลิตรต่อนาที ไม่ใช้สารสกัดร่วม พบองค์ประกอบของออล-ทรานส์ไลโคพีน 88 เปอร์เซ็นต์และ 12 เปอร์เซ็นต์ ซิสไลโคพีน ซึ่งในทำการทดลองเริ่มแรกใช้ความหนาแน่นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 0.55 กรัมต่อมิลลิลิตร ในสภาวะเดียวกันและไม่ใช้สารสกัดร่วมได้ ซิสไลโคพีน 69 เปอร์เซ็นต์

Rozzi และคณะ (2002) นำเมล็ดและผิวมะเขือเทศที่เหลือจากกระบวนการผลิตจากผลิตภัณฑ์มะเขือเทศสำเร็จรูปนำมาทดลองสกัดหาไลโคพีน เบต้าแคโรทีน แอลฟา-แคโรทีน แอลฟาโทโคฟีรอล และเดลต้าโทโคฟีรอลโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย HPLC ทำการทดลองสกัดที่อุณหภูมิ 32-86 องศาเซลเซียส ความดัน 13.78 ถึง 48.26 เมกะพาสคาล (2000-7000 พีเอสไอ) พบว่าเปอร์เซ็นต์ไลโคพีนที่สกัดได้จะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิและความดัน จนกระทั่งสูงสุดที่สภาวะอุณหภูมิ 86 องศาเซลเซียส ความดัน 34.47 เมกะพาสคาล (5000 พีเอสไอ) และหลังจากนั้นปริมาณไลโคพีนจะลดลง โดยสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดดังนี้ ใช้ตัวอย่าง 3 กรัม อุณหภูมิ 86 องศาเซลเซียส ความดัน 34.47 เมกะพาสคาล (5000 พีเอสไอ) อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 2.5 มิลลิลิตรต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที สามารถสกัดไลโคพีนได้ 61 เปอร์เซ็นต์ของไลโคพีนทั้งหมดหรือได้ปริมาณ 7.19 ไมโครกรัมไลโคพีนต่อกรัม

Vasapollo และคณะ (2004) ศึกษาการสกัดไลโคพีนจากมะเขือเทศโดยใช้เทคนิค SFE และใช้น้ำมันพืชเป็นสารละลายร่วม พบว่าการใช้สารละลายร่วมจะช่วยทำให้สารสกัดที่ได้มีความเสถียรภาพมากขึ้น สามารถสกัดไลโคพีนได้ 60 เปอร์เซ็นต์ จากไลโคพีนทั้งหมดของมะเขือเทศอบแห้ง ที่มีความชื้น 6 เปอร์เซ็นต์ ขนาดอนุภาค 1 มิลลิเมตร ที่สภาวะการสกัดความดัน 450 บาร์ อุณหภูมิ 66 องศาเซลเซียส โดยใช้สารสกัดร่วมและอัตราการไหลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20 กิโลกรัมต่อชั่วโมง

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 มะเขือเทศพันธุ์ท้อ (*Lycopersicon Esculentum Mill Var.TOR,* ตลาดศรีเมือง อ.เมือง จ.ราชบุรี)

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 เครื่องชั่งน้ำหนักอย่างละเอียด (4 ตำแหน่ง)	Mettler, AE, 3000, สวิสเซอร์แลนด์
3.2.2 เครื่องชั่งอย่างหยาบ	Mettler, AE, 3000, สวิสเซอร์แลนด์
3.2.3 เครื่องปั่นแยกกาก	Braun type :4235, เยอรมัน
3.2.4 เครื่องสกัด Supercritical Fluid Extraction model 220	Isco, Lincoln, อเมริกา
3.2.5 เครื่อง HPLC	Milton Roy, อเมริกา
3.2.6 คอลัมน์ C_{18} (P/N 00G-4053-E0 5µ 200 A° 250 x 4.6 mm)	Jupiter, อเมริกา
3.2.7 การ์ดคอลัมน์ C_{18} (P/N 03A-4053-E03.0 x 4.6 mm)	Jupiter, อเมริกา
3.2.8 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)	Agilent 8453E เยอรมัน
3.2.9 เครื่องบดตัวอย่าง (Pin Mill) รุ่น BE-122G ตะแกรงขนาด 0.25 มิลลิเมตร	อเมริกา
3.2.10 ตู้อบลมร้อน (tray dryer)	
3.2.11 เครื่องแก้ว บีกเกอร์ ขวดปรับปริมาตร	

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1 Ethanol 95 %	Analytical grade Merck เยอรมัน
3.3.2 Standard all-trans lycopene 95%	Chomatography grade Sigma อเมริกา
3.3.3 Acetonitrile	Chomatography grade Merck เยอรมัน
3.3.4 Hexane	Chomatography grade Merck เยอรมัน
3.3.5 Methanol	Chomatography grade Merck เยอรมัน
3.3.6 2-Propanol	Chomatography grade Merck เยอรมัน

81378

3.4 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ห้องปฏิบัติการคณะเภสัชศาสตร์ วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การเตรียมตัวอย่างกากมะเขือเทศ

นำมะเขือเทศมาล้างด้วยน้ำสะอาด หั่นเป็น 4 ส่วน แยกกากและน้ำมะเขือเทศออกจากกันโดยใช้เครื่องปั่นแยกกาก นำเฉพาะส่วนของกากมะเขือเทศมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 ± 3 องศาเซลเซียส 5-6 ชั่วโมง จนมีความชื้นประมาณ 2 % นำมะเขือเทศที่ผ่านการอบแห้งแล้วมาบดละเอียดด้วย pin mill ขนาดช่องตะแกรง 0.25 มิลลิเมตร บรรจุถุงพลาสติกเก็บในกล่องพลาสติกมีฝาปิดสนิทจากนั้นเก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส

3.5.2 การวิเคราะห์หาปริมาณไลโคพีนทั้งหมดโดยวิธีสเปกโตโฟโตเมททรี

นำตัวอย่างกากมะเขือเทศอบแห้งมาสกัดไลโคพีนโดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์และตรวจสอบปริมาณไลโคพีนทั้งหมดโดยใช้วิธีสเปกโตรโฟโตเมททรี (เยาวภา, 2545) (ภาคผนวก ข)

3.5.3 การศึกษาสภาวะการสกัดโดยเทคนิค SFE

นำตัวอย่างมะเขือเทศที่เตรียมได้จากข้อ 3.5.1 มาชั่งน้ำหนัก 3.00 กรัม พร้อมกับ wet support 1.5 กรัม ใส่ลงในคาทิส (cartridge) ของชุดอุปกรณ์การสกัด (ภาคผนวก ก) จากนั้นทำการตั้งค่าเครื่องสกัดที่อัตราการไหลของ คาร์บอนไดออกไซด์ 2.5 มิลลิลิตรต่อนาที โดยศึกษาที่สภาวะการสกัดดังนี้

3.5.3.1 แปรอุณหภูมิ 4 ระดับ 50 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส

3.5.3.2 แปรความดัน 4 ระดับ 4000 4500 5000 และ 5500 พีเอสไอ

3.5.3.3 แปรเวลาการสกัด 4 ระดับ 15 30 45 และ 60 นาที

เก็บสารที่สกัดได้ในสารละลายเอทธานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 7 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงเพื่อเปรียบเทียบปริมาณไลโคพีน ที่ความยาวคลื่น 472 นาโนเมตร

3.5.4 วิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนโดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

นำสารสกัดไลโคพีนในเอทธานอลจากสภาวะที่เลือกจากข้อ 3.5.3 ไประเหยเอทธานอลโดยใช้ก๊าซไนโตรเจน นำสารที่เหลือจากการระเหยไปเติมเฮกเซน 4 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายจนหมดหลังจากนั้นนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC (เยาวภา, 2545) (ภาคผนวก ค)

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การเตรียมตัวอย่างกากมะเขือเทศ

ในอุตสาหกรรมผลิตผลิตภัณฑ์จากมะเขือเทศได้แก่ ซอสมะเขือเทศและน้ำมะเขือเทศเข้มข้นนั้น มีกากมะเขือเทศเหลือจากกระบวนการผลิตซึ่งเป็นส่วนของผิวเปลือกและเมล็ดมะเขือเทศเป็นส่วนใหญ่ เป็นแหล่งของปริมาณไลโคพีนที่มีอยู่จำนวนมาก การทดลองนี้จึงมีจุดประสงค์ในการใช้กากมะเขือเทศที่เหลือจากกระบวนการแปรรูปในอุตสาหกรรม เป็นแหล่งวัตถุดิบเพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่า จากรายงานผลการวิจัย Al-wandawi และคณะ (1985) พบว่ามีไลโคพีน 12 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักผิวมะเขือเทศสด ในขณะที่มะเขือเทศทั้งผลมีไลโคพีน 3.4 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของไลโคพีนในผิวมะเขือเทศมากกว่ามะเขือเทศทั้งผลประมาณ 3 เท่า จากการทดลองนี้ได้ทดลองเตรียมกากมะเขือเทศขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ โดยภายหลังจากการแยกเนื้อและน้ำออกไปพบว่ามีสัดส่วนของน้ำหนักกากมะเขือเทศ 27.4 กรัมต่อ 100 กรัมของมะเขือเทศสด หลังจากนั้นนำกากมะเขือเทศ นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 5-6 ชั่วโมงด้วยเครื่องอบลมร้อนแบบถาดจะได้กากมะเขือเทศที่แห้งมีความชื้น 2 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นนำมาบดให้มีขนาดอนุภาคเล็กลงด้วยเครื่องบด pin mill โดยใช้ตะแกรงขนาด 0.25 มิลลิเมตร ผงมะเขือเทศหลังจากการบดแล้วเก็บให้พ้นแสง บรรจุในกล่องพลาสติกปิดสนิท นำไปเก็บในที่อุณหภูมิตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส

จากการเตรียมตัวอย่างกากมะเขือเทศอบแห้ง และต้องผ่านกระบวนการลดขนาดนั้นเพราะเนื่องจากขนาดของตัวอย่างมีผลต่อปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้ ขนาดของตัวอย่างที่เล็กลงจะช่วยเพิ่มพื้นที่ในการแทรกซึมของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้ดียิ่งขึ้นและทำให้ปริมาณที่สกัดได้เพิ่มขึ้น (Baysal *et al.*, 2000; Vasapollo *et al.*, 2004)

4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณไลโคพีนทั้งหมดโดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมททรี

วิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนเริ่มต้นด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมททรี (ตารางที่ 4.1) เพื่อนำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับปริมาณสารสกัดไลโคพีนที่ได้จากเทคนิคการสกัด SFE พบว่าปริมาณไลโคพีนเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 8.73 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง (ฐานเปียก) หรือ 8.91 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง (ฐานแห้ง)

ตารางที่ 4.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดไลโคพีนและปริมาณไลโคพีนในกากมะเขือเทศอบแห้ง

การทดลอง (ซ้ำ)	น้ำหนักตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสง	% ความเข้มข้นไลโคพีนในสารสกัด	ปริมาณไลโคพีนในกากมะเขือเทศอบแห้ง มิลลิกรัม/100 กรัม
1	0.1001	0.116	3.36×10^{-5}	8.40
2	0.1011	0.136	3.94×10^{-5}	9.75
3	0.1001	0.119	3.45×10^{-5}	8.61
4	0.1006	0.127	3.68×10^{-5}	9.15
5	0.1006	0.107	3.10×10^{-5}	7.70
6	0.1002	0.121	3.50×10^{-5}	8.75
ค่าเฉลี่ย				8.73

จากการเปรียบเทียบกับปริมาณไลโคพีนในมะเขือเทศทั้งผล ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีลมร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เวลา 6 -10 ชั่วโมง วิเคราะห์โดย Shi และ Le Maguer (1999) พบว่ามีปริมาณไลโคพีน 72.6 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง และผลิตภัณฑ์มะเขือเทศแช่อิ่มผ่านการอบแห้งด้วยวิธีลมร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เวลา 6 – 8 ชั่วโมง วิเคราะห์โดย เยาวภา (2545) พบว่ามีปริมาณไลโคพีน 21.95 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งพบว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบกับการทดลองทั้งสอง จะเห็นได้ว่าในการทดลองนี้ตัวอย่างที่เตรียมได้มีค่าต่ำกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องจากไลโคพีนนั้นได้สลายตัวไปกับความร้อนในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง และผ่านกระบวนการบด ซึ่งมีความร้อนเกิดขึ้น ดังนั้นจึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการสูญเสียปริมาณไลโคพีนได้

อย่างไรก็ตาม นอกจากปัจจัยด้านอุณหภูมิสูงในกระบวนการผลิตแล้ว ยังมีความแตกต่างในด้านพันธุ์ของมะเขือเทศ ซึ่งให้ปริมาณไลโคพีนที่ต่างกัน และในผลิตภัณฑ์แปรรูปมะเขือเทศซึ่งมีวัตถุเจือปนอาหารเป็นส่วนประกอบ เช่น น้ำตาล เกลือ ถ้ามีในปริมาณมากอาจช่วยลดการสลายตัวของไลโคพีนได้ในผลิตภัณฑ์มะเขือเทศได้ ทำให้ปริมาณไลโคพีนที่ได้มีค่าแตกต่างกัน (ประพันธ์, 2003 ; เยาวภา, 2545)

4.3 การศึกษาสภาวะการสกัดโดยเทคนิค (SFE)

จากการนำตัวอย่างกากมะเขือเทศอบแห้งมาสกัดไลโคพีนด้วยเครื่องสกัด supercritical fluid extraction (SFE) ที่สภาวะความดัน 4 ระดับ 4000 4500 5000 และ 5500 พีเอสไอ และอุณหภูมิ 4 ระดับ 50 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการสกัด 4 ระดับ 15 30 45 และ 60 นาที นำสารละลายที่สกัดได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 472 นาโนเมตร ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดไลโคพีนโดยเทคนิคการสกัด SFE ที่ความยาวคลื่น 472 นาโนเมตร

ความดัน (พีเอสไอ)	4000				4500				5000				5500			
นาที\°C	50	60	70	80	50	60	70	80	50	60	70	80	50	60	70	80
15 นาที	0.1635	0.0887	0.0205	0.0253	0.0511	0.0437	0.0447	0.092	0.1192	0.1077	0.0731	0.051	0.1938	0.1463	0.0587	0.0794
30 นาที	0.1721	0.1364	0.0338	0.0748	0.0579	0.0977	0.0612	0.1103	0.1308	0.1320	0.1606	0.1076	0.1597	0.6996	0.0879	0.1923
45 นาที	0.5762	0.1569	0.0411	0.0550	0.1820	0.1635	0.1721	0.1877	0.5417	0.2310	0.3909	0.3278	0.1830	0.4880	0.2617	0.2228
60 นาที	0.1332	0.1780	0.0614	0.0838	0.1844	0.3321	0.1761	0.2792	> 1	0.4461	0.7205	0.4705	0.3901	0.4667	> 1	> 1

หมายเหตุ ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ

4.3.1 อิทธิพลของเวลาสกัด

ผลของค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดไลโคพีน จากตารางที่ 4.2 พบว่าโดยรวมแล้วสารสกัดที่เวลา 60 นาทีให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดคือมากกว่า 1 ในขณะที่สารสกัดไลโคพีนที่เวลา 15 นาทีให้ค่าการดูดกลืนแสงของทุกสภาวะการสกัดส่วนใหญ่ต่ำกว่า 0.1 โดยให้ค่ามากสุดไม่เกิน 0.16 ในสภาวะ 15 นาที 4000 พีเอสไอ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เมื่อเพิ่มเวลาการสกัดเป็น 30 นาที ให้ค่าการดูดกลืนแสงส่วนใหญ่เพิ่มขึ้น และมีแนวโน้มมากกว่า 0.16 เมื่อเปรียบเทียบกับเวลาที่ใช้ 15 นาที พบว่าโดยรวมแล้วสภาวะส่วนใหญ่ ปริมาณไลโคพีนเพิ่มขึ้น แต่เห็นการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่ชัดเจน คือยังได้ปริมาณไลโคพีนที่น้อยอยู่ เมื่อให้เวลาในการสกัดเพิ่มเป็น 45 นาที พบว่าไลโคพีนที่สกัดออกมาได้เพิ่มมากขึ้น ซึ่งวัดได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่มีค่าเพิ่มขึ้น โดยเฉลี่ยค่าที่สูงขึ้นมีค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 0.3 - 0.5 และเมื่อให้ในเวลาการสกัดนานขึ้นเป็น 60 นาที พบว่าที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ และอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ มีค่าการดูดกลืนแสงสูงขึ้นมาเห็นได้อย่างชัดเจน โดยมีค่ามากกว่า 1 ทั้งสองสภาวะ

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าที่ระยะเวลาในการสกัด 15 - 45 นาที อิทธิพลเนื่องจากสภาวะการสกัดยังไม่สามารถเห็นได้ชัดเจน และจะต้องมีเวลาการสกัดที่ยาวนานเพียงพอ ซึ่งในสภาวะการสกัดนี้ จะเห็นได้เมื่อการสกัดใช้เวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง

อย่างไรก็ตามระยะเวลาในการสกัดไลโคพีนของแต่ละการทดลองจะมีค่าแตกต่างกัน เนื่องจากยังมีปัจจัยอื่นๆที่มีผลต่อการสกัดไลโคพีน เช่น อัตราการไหลของตัวทำละลาย (คาร์บอนไดออกไซด์) ขนาด และประสิทธิภาพของเครื่อง เป็นต้น จากงานวิจัยของ Baysal และคณะ (2000) ศึกษาอิทธิพลของเวลาโดยพบว่า เมื่อให้ระยะเวลาในการสกัดนานขึ้นปริมาณไลโคพีนที่ได้มีปริมาณเพิ่มขึ้น โดยทดลองใช้เวลาในการสกัด 1 2 และ 3 ชั่วโมงพบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการสกัด คือที่เวลา 2 ชั่วโมง จะให้ปริมาณไลโคพีนสูงสุด 21.86 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่เวลาสกัดมากกว่า 2 ชั่วโมงพบการสลายตัวของไลโคพีน

4.3.2 อิทธิพลของความดัน

อิทธิพลของความดันจะเห็นผลชัดเจนเมื่อเวลาในการสกัด 60 นาที (ตารางที่ 4.2) โดยพบว่าที่ระยะเวลาการสกัดนี้ทุกอุณหภูมิของการสกัดเมื่อให้ความดันเพิ่มมากขึ้น ปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้ก็เพิ่มมากขึ้นเช่นกัน จากการทดลองสกัดที่ ความดัน 4 ระดับ 4000 4500 5000 และ 5500 พีเอสไอ พบว่าที่ความดัน 5500 พีเอสไอ อุณหภูมิ 70 และ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 60 นาที ให้ค่าการดูดกลืนสูงสุดมีค่ามากกว่า 1

ตามทฤษฎีการสกัดของไหลเหนือจุดวิกฤติกล่าวคือเมื่อเพิ่มความดันของก๊าซไปจนกระทั่งกลายเป็นของไหลเหนือจุดวิกฤติในระบบ จะมีคุณสมบัติในการละลาย ความหนืด ความหนาแน่น และค่าสัมประสิทธิ์การแพร่กระจายอยู่ระหว่างของเหลวและก๊าซ มีผลทำให้ความสามารถในการสกัดแทรกซึมได้ดี เมื่อความดันเพิ่ม ความหนาแน่นของก๊าซเพิ่ม คุณสมบัติในการละลายก็จะเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน และความสามารถในการสะลายมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความหนาแน่นซึ่งขึ้นกับความดันที่ใช้ในการสกัด

จากงานวิจัยหลายฉบับรายงานถึงผลของอิทธิพลของความดันเช่น งานวิจัยของ Vasapollo และคณะ (2004) ที่ทดลองสกัดไลโคพีนที่อุณหภูมิ 66 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 335 บาร์ (4858) พีเอสไอและ 450 บาร์ (6526 พีเอสไอ) พบว่าที่ความดัน 450 บาร์ ปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้มีค่าสูงกว่าที่ความดัน 335 บาร์

อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยต่างๆที่ผู้ทำการวิเคราะห์พบสภาวะความดันที่เหมาะสมของการสกัดต่างๆกันออกไป ได้แก่ Cadoni และคณะ (2000) ทดลองสกัดไลโคพีนจากมะเขือเทศอบแห้ง พบว่าที่สภาวะที่เหมาะสมคือที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดันสูงสุดในการทดลองคือ 4000 พีเอสไอ ได้ไลโคพีนสูงสุด 65 เปอร์เซ็นต์ และจากการทดลองของ Rozzi และคณะ (2002) ทดลองสกัดกากมะเขือเทศอบแห้งที่อุณหภูมิ 32-86 องศาเซลเซียส ความดัน 13.78-48.26 เมกะพาสคาล (2000-7000 พีเอสไอ) จากการทดลองนี้พบว่าเปอร์เซ็นต์ไลโคพีนที่สกัดได้มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิและความดันและพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดอยู่ที่ 86 องศาเซลเซียส 34.47 เมกะพาสคาล (5000 พีเอสไอ) ให้ปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้ 61.0 เปอร์เซ็นต์

4.3.3 อิทธิพลของอุณหภูมิ

จากการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 70 และ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ ให้ค่าปริมาณไลโคพีนสูงสุด ในขณะที่ความดันเดียวกันนี้ที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส ปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้มีปริมาณต่ำแสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้นปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้มีค่ามากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cadoni และคณะ (2000) ที่ทำการ

ทดลองที่ความดันคงที่ 4000 พีเอสไอ โดยแปรอุณหภูมิ 40 50 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิสูงสุดในการทดลองคือ 80 องศาเซลเซียสให้ปริมาณไลโคพีนสูงสุด โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้มีค่ามากขึ้น อันเนื่องจากลักษณะโครงสร้างของไลโคพีนตามธรรมชาติมีลักษณะคล้ายผลึกแท่งยาว (needle) เรียงตัวกันเหนี่ยวแน่นเกาะที่ชั้นผิวมะเขือเทศ ซึ่งลักษณะโครงสร้างนี้ยากแก่การสกัดไลโคพีน

การเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นนั้นจะทำให้ความดันไอในตัวถูกละลายหรือสารตัวอย่างระเหยได้ดี ซึ่งจะส่งผลต่อความสามารถในการละลายได้ดีและทำให้ไลโคพีนที่ได้มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ซึ่งจากการทดลองทั้งหมดโดยรวมแล้วจะพบว่า ผลของอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะช่วยเพิ่มปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้ในเกือบทุกการทดลองโดยมีอุณหภูมิเหมาะสมอยู่ระหว่าง 65 ถึง 80 องศาเซลเซียส

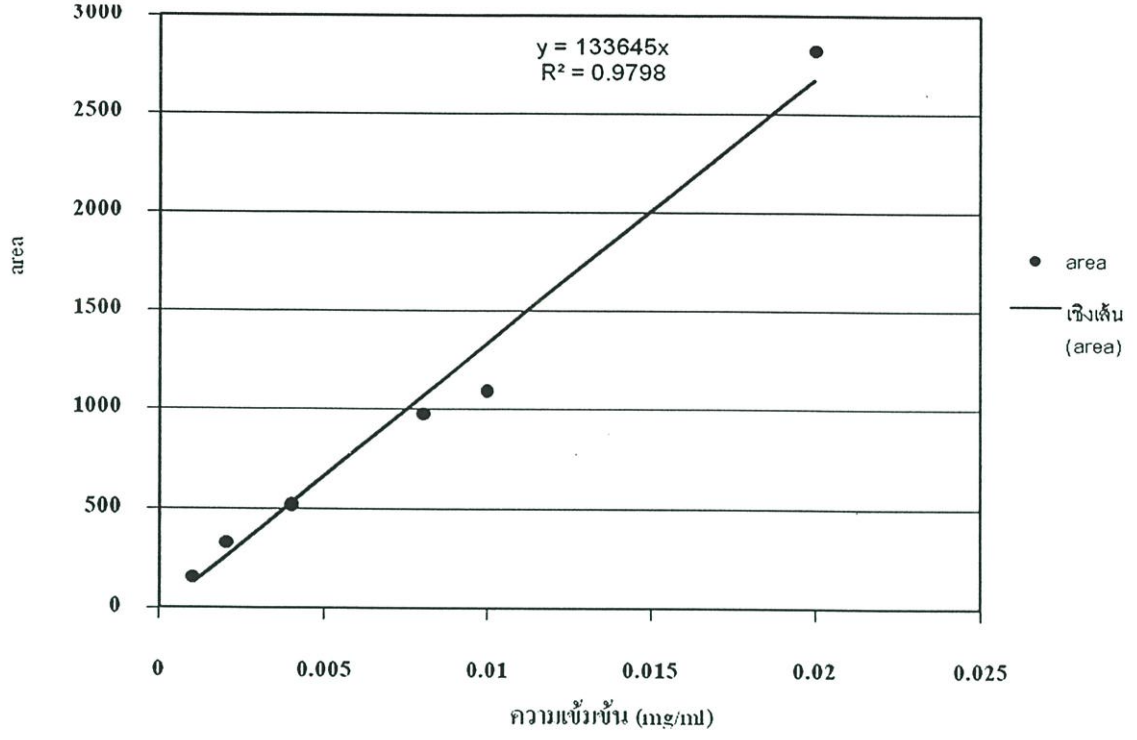
ดังนั้นจะได้ว่าปัจจัยด้านอิทธิพลของอุณหภูมิมีผลต่อการสกัดปริมาณไลโคพีน ซึ่งในการสกัดแต่ละครั้งเมื่อให้อุณหภูมิและความดันเพิ่มขึ้นควบคู่กัน ปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้นั้นมีปริมาณเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้ในแต่ละการทดลองไม่เท่ากัน เนื่องจากสภาวะที่ใช้ในการสกัดมีความแตกต่างกัน เช่นอัตราการไหลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ความหนาแน่นของก๊าซและการใช้สารละลายสกัดร่วม (co-solvent) เป็นต้น

4.4 การวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนด้วยวิธี HPLC

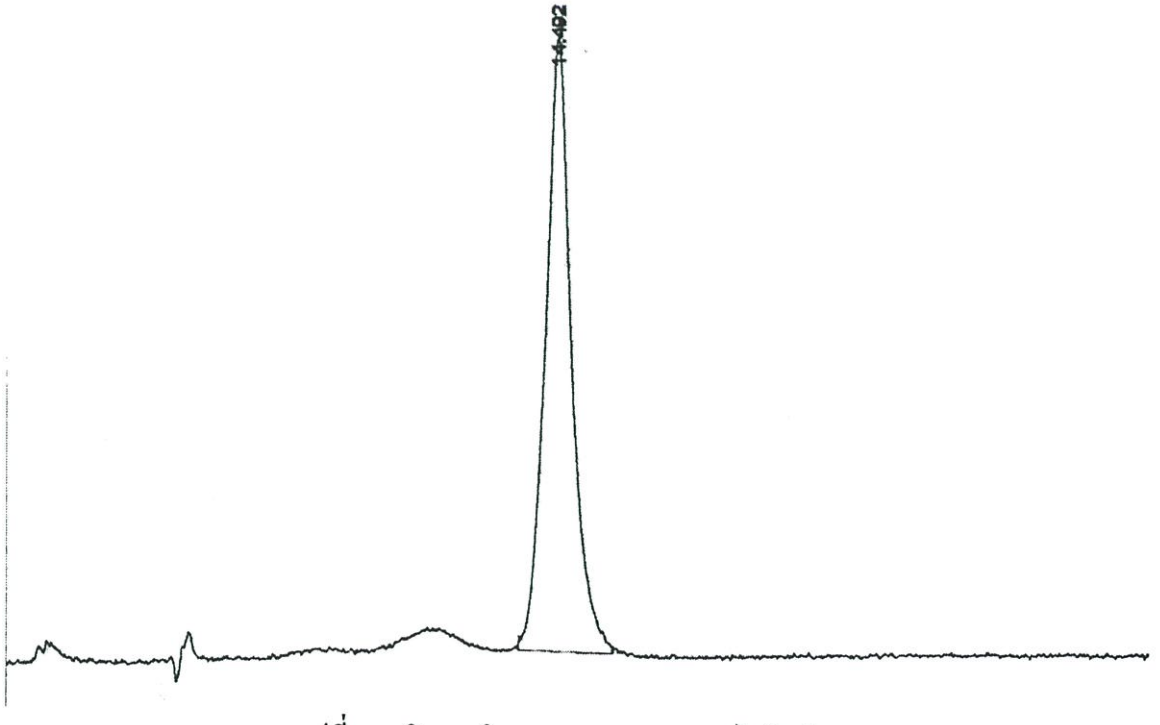
การทดลองแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่หนึ่งการสร้างกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของสารละลายมาตรฐานไลโคพีนที่ความเข้มข้นต่างๆ ส่วนที่สอง การวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนจากสารละลายที่สกัดได้เก็บในขวดสีชาและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสระยะเวลา 1 เดือนและส่วนที่สาม วิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนจากสารละลายที่ได้จากการสกัดทันที

4.4.1 การสร้างกราฟมาตรฐานไลโคพีน

จากการเตรียมสารละลายออล-ทรานส์ (all-trans) ไลโคพีนมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.001-0.020 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวก ค) แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC นำค่าพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละความเข้มข้นไปสร้างกราฟสารละลายมาตรฐานไลโคพีน ดังแสดงในรูปที่ 4.1 ได้กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้กราฟเป็นเส้นตรง $y = 133645x$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9798



รูปที่ 4.1 กราฟมาตรฐานของสารละลายไลโคพีน



รูปที่ 4.2 โครมาโตแกรมสารมาตรฐานไลโคพีน

จากการทดสอบวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานออล-ทรานส์ (all-trans) ไลโคพีนโดยใช้คลอลัมน์ชนิด C_{18} โครมาโตแกรมที่ปรากฏให้ค่า รีเทนชันไทม์ (retention time) ที่เวลา 14.492 นาที (รูปที่ 4.2) ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 30 นาที

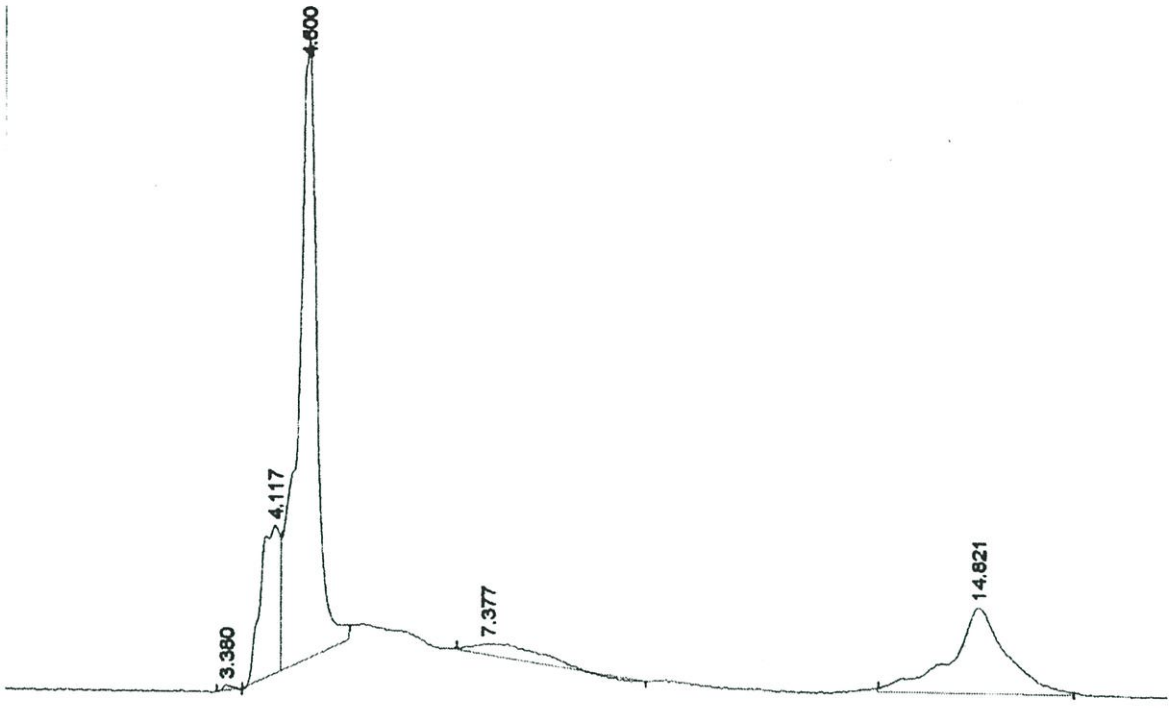
อย่างไรก็ตามค่ารีเทนชันไทม์ไลโคพีนจะมีความแตกต่างกันนั้น ขึ้นกับสภาวะที่เลือกใช้ในการสกัดเช่น ชนิดของคลอลัมน์ เฟสเคลื่อนที่ และสารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์

4.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนจากสารละลายที่สกัดได้และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสระยะเวลา 1 เดือน

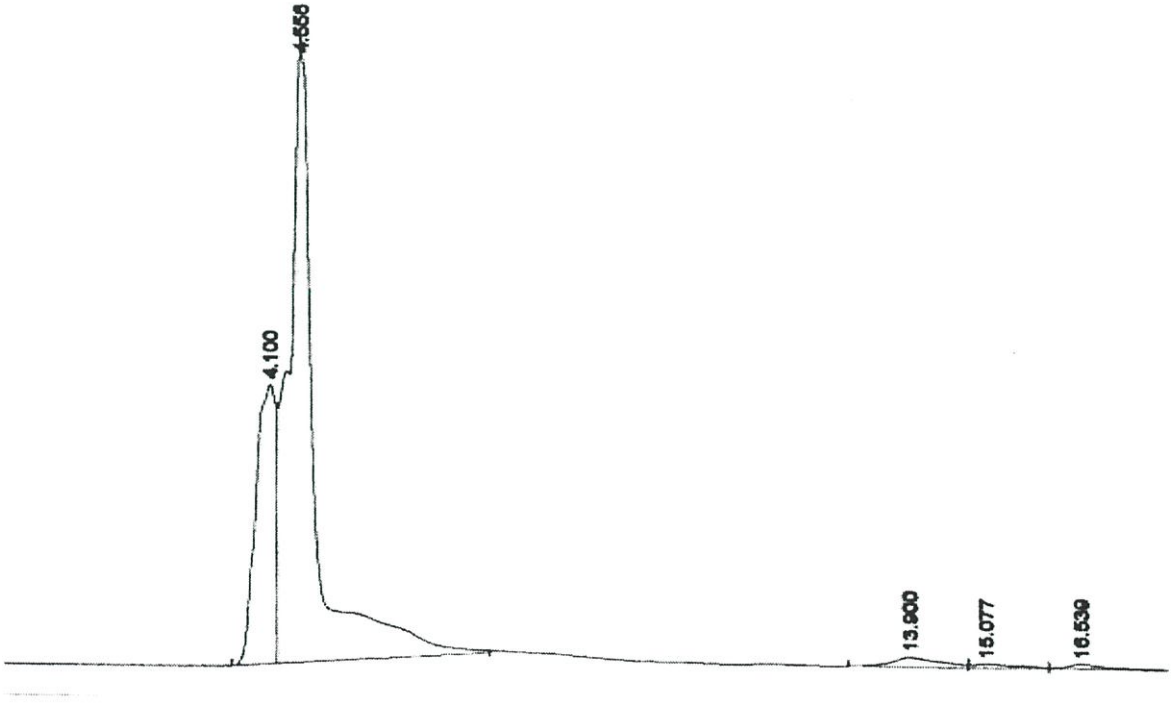
จากการศึกษาในขั้นตอนที่ 4.3 ทำการสกัดไลโคพีนที่สภาวะต่างๆ สารสกัดที่ได้นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงทันที่เพื่อหาปริมาณไลโคพีนทั้งหมดและเปรียบเทียบอิทธิพลของสภาวะ หลังจากนั้นได้นำสารสกัดเก็บในหลอดแก้วสีชา นำไปแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนโดยวิธี HPLC ทั้งนี้เนื่องจากเพื่อให้การสกัดที่สภาวะต่างๆเสร็จสมบูรณ์ก่อน

จากการวิเคราะห์ปริมาณออล-ทรานส์ (all-trans) ไลโคพีนของสารสกัดที่สกัดจากทุกสภาวะตามข้อ 4.3 (ข้อมูลไม่ได้แสดง) พบว่าสารสกัดที่เก็บได้พบพีคของไลโคพีนในปริมาณต่ำ (รูปที่ 4.3) และบางสภาวะไม่พบพีคของไลโคพีน (รูปที่ 4.4) ทั้งนี้เนื่องจากเป็นไปได้ว่าสารสกัดไลโคพีนที่เก็บนั้นเกิดการสลายตัว เปลี่ยนไปเป็นไอโซเมอร์อื่น ซึ่งอาจเกิดจากปฏิกิริยากับออกซิเจน แสง และอุณหภูมิในระหว่างการเก็บรักษา (Cole and Kapur, 1957)

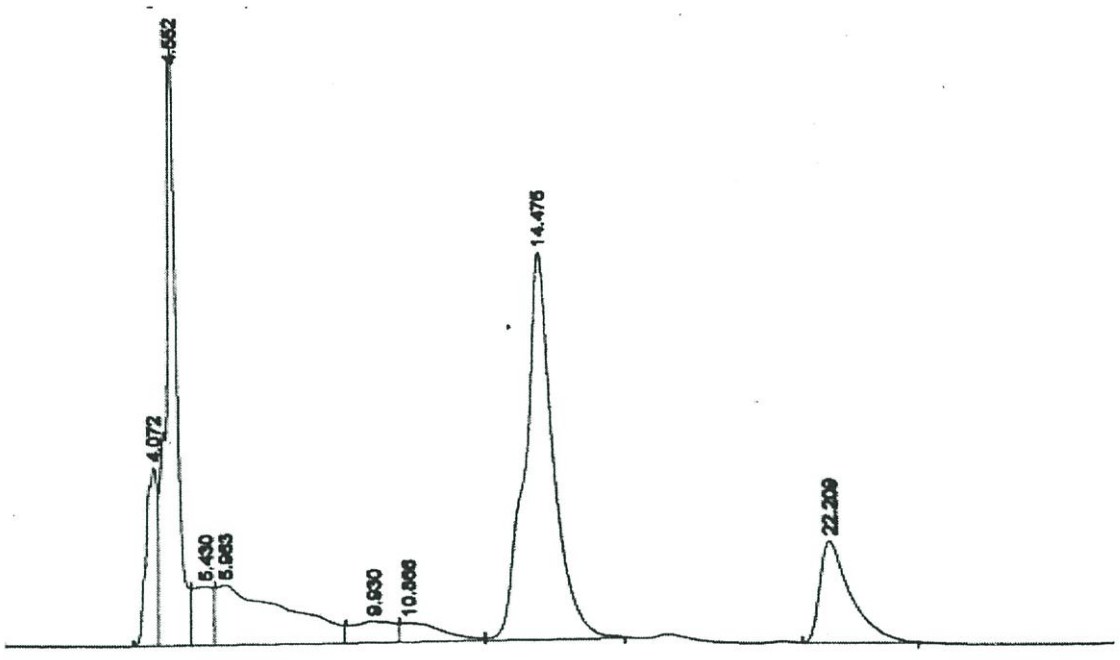
ตัวอย่างโครมาโตแกรมของสารสกัดที่สภาวะ 80 องศาเซลเซียส 4500 พีเอสไอและ 70 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เวลาสกัด 60 นาที และเก็บรักษาสารสกัดไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงดังรูปที่ 4.3 และ 4.4



รูปที่ 4.3 โครมาโทแกรมสารสกัดไลโคพีนที่ผ่านการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 1 เดือน (สภาวะการสกัด อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 4500 พีเอสไอ เวลาสกัด 60 นาที)



รูปที่ 4.4 โครมาโทแกรมสารสกัดไลโคพีนที่ผ่านการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 1 เดือน (สภาวะการสกัดอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5500 พีเอสไอ เวลาสกัด 60 นาที)



รูปที่ 4.5 โครมาโทแกรมสารสกัดไลโคพีนที่สกัดและวิเคราะห์ทันที
(อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5500 พีเอสไอ เวลาสกัด 60 นาที)

จากโครมาโตแกรมพบพีคของออล-ทรานส์ไลโคพีนในปริมาณต่ำหรือไม่พบเลย แต่พบพีคที่ค่ารีเทนชันไทม์ใกล้เคียง ซึ่งอาจเป็นไลโคพีนที่เปลี่ยนรูปไปเป็นไอโซเมอร์อื่นๆ เนื่องจากไลโคพีนมาตรฐานเป็นออล-ทรานส์ไอโซเมอร์ (all-trans) หรืออาจเป็นสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์เช่นเดียวกับไลโคพีน ได้แก่ เบต้าแคโรทีน อัลฟาแคโรทีนและไอโซเมอร์ของสารเหล่านี้ เป็นต้น ซึ่งการจะชี้ชัดว่าพีคที่พบนั้นเป็นสารใด จำเป็นต้องใช้สารมาตรฐานมาวิเคราะห์ควบคู่กันต่อไป โดยทรานส์ไอโซเมอร์มีแนวโน้มที่จะไม่เสถียรมีการเปลี่ยนเป็นไอโซเมอร์อื่นๆเมื่อได้รับความร้อนหรือผ่านกระบวนแปรรูปอื่นๆ ดังนั้นการนำสารสกัดที่ได้มาเก็บไว้ระยะหนึ่งจึงเกิดการสูญเสียทรานส์ไลโคพีน และเกิดการเปลี่ยนเป็นซิส (cis) ไอโซเมอร์ โดยซิสไอโซเมอร์ที่พบมากได้แก่ 9 - cis และ 15 – cis (Emenhiser *et al.*, 1995)

4.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนจากสารละลายที่สกัดได้ทันที

จากการที่ไม่สามารถพบพีคของออล-ทรานส์ไลโคพีนในสารสกัดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 1 เดือน จึงได้ทำการสกัดไลโคพีนและวิเคราะห์ในเวลาเดียวกัน ที่สภาวะที่ได้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดคือที่สภาวะ 70 และ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ

เนื่องจากเป็นสภาวะที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด โดยทำการสกัด 3 ซ้ำและนำสารสกัดไปวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนโดยวิธี HPLC ทันที จากตารางที่ 4.3 พบว่ามีพื้นที่ใต้กราฟของไลโคพีนสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเก็บไว้ ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าการเก็บสารสกัดไว้มีผลต่อความเสถียรภาพของไลโคพีนที่สกัดได้

ตารางที่ 4.3 ค่าพื้นที่ใต้กราฟไลโคพีนของสารสกัดใหม่ที่อุณหภูมิ 70 และ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เวลาสกัด 60 นาที

สภาวะการสกัดของสารสกัดใหม่	พื้นที่ใต้กราฟ
70 °c ซ้ำที่ 1	1433.93
70 °c ซ้ำที่ 2	1465.21
70 °c ซ้ำที่ 3	1506.87
ค่าเฉลี่ย = 1468.67, SD ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน = 36.62	
80 °c ซ้ำที่ 1	232.40
80 °c ซ้ำที่ 2	273.88
80 °c ซ้ำที่ 3	276.31
ค่าเฉลี่ย = 260.86, SD ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน = 24.68	

จากการวิเคราะห์หาปริมาณไลโคพีนโดยวิธี HPLC ได้พื้นที่ใต้กราฟไลโคพีนในสภาวะการสกัดที่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เท่ากับ 1468.67 และที่สภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เท่ากับ 260.86 เมื่อนำไปคำนวณจากกราฟมาตรฐาน (แสดงตัวอย่างการคำนวณในภาคผนวก ค) ได้ปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้ 1.46 และ 0.26 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง แต่จากการวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนทั้งหมดโดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมททรี มีไลโคพีน 8.73 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม หรือคิดเป็นปริมาณที่สกัดได้ 16.72 เปอร์เซ็นต์ และ 2.98 เปอร์เซ็นต์ของไลโคพีนทั้งหมด

จากการทดลองพบว่าพื้นที่ใต้กราฟไลโคพีนในสภาวะการสกัดที่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ มีค่ามากกว่าที่สภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ 5 เท่า สามารถเห็นได้อย่างชัดเจน ซึ่งที่อุณหภูมิสูง 80 องศาเซลเซียส อาจทำให้ไลโคพีนในตัวอย่างกากมะเขือเทศสลายตัวด้วยความร้อน ดังนั้นที่อุณหภูมิสูงจึงไม่เหมาะสมแก่การสกัดไลโคพีนจากกากมะเขือเทศเนื่องจากไลโคพีนที่สกัดได้มีปริมาณน้อยและทำให้สูญเสียพลังงาน

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัย Vasapollo และคณะ (2004) ทำการทดลองหาปริมาณไลโคพีนจากมะเขือเทศตากแห้ง อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด 45-70 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิที่ให้ปริมาณไลโคพีนมากที่สุดคือ 66 องศาเซลเซียส ปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้เท่ากับ 35 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากอุณหภูมิสูงกว่านี้ปริมาณไลโคพีนที่สกัดได้น้อยกว่า 35 เปอร์เซ็นต์ และปัญหาที่พบในการสกัดไลโคพีนคือไลโคพีนที่ได้มีความคงตัวต่ำสลายตัวได้ง่ายที่อุณหภูมิสูงในขั้นตอนการสกัดจึงทำการทดลองเพิ่มการใช้สารสกัดร่วมในการทดลอง เพื่อช่วยลดการสลายตัวของไลโคพีนที่สกัดได้

ทั้งนี้ปริมาณของสารสกัดที่ได้จากการทดลองนี้มีปริมาณน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยต่างๆที่ทำการทดลอง อันเนื่องจาก ผลของหลายปัจจัยในการทดลอง เช่น เวลาที่กำหนดในการสกัดของการทดลองนี้คือ 1 ชั่วโมง ซึ่งได้ค่าการสกัดที่สูงที่สุด จึงอาจเป็นไปได้ว่าเมื่อถ้าเพิ่มเวลามากกว่า 1 ชั่วโมงอาจทำให้ปริมาณการสกัดเพิ่มขึ้นต่อเนื่องไปอีก นอกจากนี้ปัจจัยทางด้านอัตราการไหลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ก็อาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถเพิ่มปริมาณสารสกัดไลโคพีนได้ซึ่งจะต้องมีการศึกษาอัตราที่เหมาะสมอีกต่อไป

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาสภาวะการสกัดด้วยเทคนิค SFE โดยศึกษาอุณหภูมิ 4 ระดับที่ 50 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 4 ระดับ 4000 4500 5000 และ 5500 พีเอสไอ เวลาการสกัด 4 ระดับ 15 30 45 และ 60 นาที ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 2.5 มิลลิลิตรต่อนาที ได้ข้อสรุปดังนี้

1. อิทธิพลของปัจจัยอุณหภูมิและความดัน จะไม่สามารถเห็นได้อย่างชัดเจนที่ระยะเวลาการสกัดตั้งแต่ 15 ถึง 45 นาทีแต่สามารถเห็นได้อย่างชัดเจนเมื่อเวลาสกัด 1 ชั่วโมง

2. ที่ระยะเวลาสกัด 1 ชั่วโมงพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิ และความดัน ปริมาณการสกัดไลโคพีนเพิ่มขึ้น และจากการวัดค่าการดูดกลืน เพื่อเปรียบเทียบปริมาณไลโคพีนทั้งหมดในตัวอย่างที่สกัดได้ พบว่าที่ความดัน 5500 พีเอสไอ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสให้ปริมาณไลโคพีนสกัดได้สูงสุด

3. การสกัดโคพีนโดยใช้เอทธานอลเป็นสารเก็บ หลังจากการสกัดไปเก็บในขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าเกิดการสลายตัวและการเปลี่ยนแปลงของไอโซเมอร์ของไลโคพีน ทำให้การวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC พบออล-ทรานส์ไลโคพีนได้ปริมาณน้อย จนกระทั่งถึงไม่พบเลย เนื่องจากผลจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

4. จากการวิเคราะห์สารสกัดไลโคพีนที่สภาวะความดัน 5500 พีเอสไอ อุณหภูมิ 70 และ 80 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาสกัด 1 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนด้วยวิธี HPLC ทันทีหลังจากสกัด พบว่าสามารถสกัดไลโคพีนออกมาได้ 16.72 เปอร์เซ็นต์ และ 2.98 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาเวลาสกัดเพิ่มขึ้นจาก 1 ชั่วโมง ซึ่งอาจเพิ่มปริมาณการสกัดได้
2. อาจมีการนำสารสกัดร่วม (co-solvent) มาใช้ในการสกัดเพื่อให้ไลโคพีนที่สกัดออกมามีความคงตัวเพิ่มขึ้นและเพิ่มผลผลิตการสกัด (yield)

Clinton, S.K. 1998. Lycopene. Chemistry, biology and implication for human health and disease. *Nutr.Rev.* 56(2) : 35-51.

Cole, E.R. and Kapur, N.S. 1957. "The stability of lycopene. Oxidation during hearting of tomato pulps." *J. Sci. Food Agric.* 8 : 366-368.

Curl, A.L. 1961 "The xanthophylls of tomatoes." *J. Food Sci.* 26 : 106-111.

Emenhiser, C., Sander, L.C and Schwrtz, S.J. 1995. "Capability of a polymeric C_{30} stationnary phase to resolve cis-tran carotenoid isomer in reverse-phase liouild chromatography." *J. Chromatog A.* 707 : 205-216.

Food Focus Thailand. 2007. Lycopene. [Online]. Available http://www.tistr-foodprocess.net/Newsletter_2007/july_07/newsletter2_th.htm. (Accessed: 16/08/2006).

Gome-Prieto Salud, M., Caja Mar, M., Herraiz Marta and Santa-Maria Guillermo. 2003. "Supercritical fluid extraction of all- tran lycopene from tomato." *J. Agri. Food Chem.* 51 : 3-7.

Gross, J. 1987. "Pigment in Fruits." London : Academic Press.

Gross, J. 1991. Pigment in Vegetables "Chlorophylls and carotenoids." Van Nostrand Reinhold. : New York. 148-249.

John, C., Leffingwell 1985. Lycopene. [Online]. Available : http://www.lycopene.com. (Accessed : 04/04/2008).

Mangels, A.R., Holden, J.M., Beecher, G.R., Forman, M .R., and Lanza, E. 1993. "Carotenoid content of fruits and vegetable." An evaluation of analytic data. *J .Am. Diet.* Assoc. 93 : 284-296.

Monselise, J.J. and Berk, Z. 1954. "Some observations on the oxidation on the oxidative destruction of lycopene during the manufacture of pure." *Bull Res. Counc. Israel.* 4 : 188-191.

Nguyen, M.L. and Schwart, S.J. 1998. "Lycopene stability during food processing." Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 218 : 101-105.

Rao AV., Waseem, Z. and Agarwal, S. 1998. "Lycopene content of tomatoes and tomato products and their contribution to dietary lycopene." *Food Res.* Int. 31(1) : 343-347.

Reid. 1987. Critical fluid, [Online].
Available : http://en.wikipedia.org/wiki/Supercritical_fluid#Supercritical_fluid_extraction.

Richard. P.F. 1982. "Carbon Dioxide as a Solvent Application of Fat, Oil and other Materials." *Chemistry and Industry.* 20 (12) : 394.

Rozzi, N.L., Singh, R.K., Vierling, R.A. and Watkins, B.A. 2002. "Supercritical fluid extraction lycopene from tomato processing by product." *J. Agri. Food Chem.* 50 : 2638-2643.

Sharma, S.K. and Le Maguer, M. 1996. "Lycopene in tomatoes and tomoto pulp fraction." *J. Food Sci.* 2 : 107-113.

Shi, J., Le Maguer, M., Kakuda, Y. and Liptay, A. 1999. "Lycopene degradation and isomerization in to mato dehydration." *Food Res. Intl.* 32(1) : 15-21.

Spanos, G.A., Chen, and H., Schwartz, S.J. 1993. "Supercritical CO_2 extraction of β-carotene from sweet potatoes." *J. Food Sci.* 58 : 817-820.

Sweeney, J.P. and Marsh, A.C. 1971. "Effect of processing on provitamin A in vegetable." *J. Dietet.* Assoc. 59 : 238.

Supercritical Fluid Extraction. [Online]. Available. http://sunny.vemt.bme.hu/sfe/angol/supercritical.html. (Accessed: 23/01/2008).

Vasapollo Giuseppe, Longo Luigia, Rescio Leonardo and Ciurlia Loredana. 2004 . "Innovative supercritical extraction of lycopene from tomato in the presence of vegetable oil as co- solvent." *J. of Supercritical Fluids.* 29 : 87 -96.

ภาคผนวก ก

การสกัดไลโคพีนด้วยเครื่อง SFE

1 อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 เครื่องสกัด SFE

1.2 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

1.3 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง

1.4 ชุดอุปกรณ์เครื่องสกัด SFE

1.5 สารละลายเอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์

1.6 สาร wet support 1.5 กรัม

2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

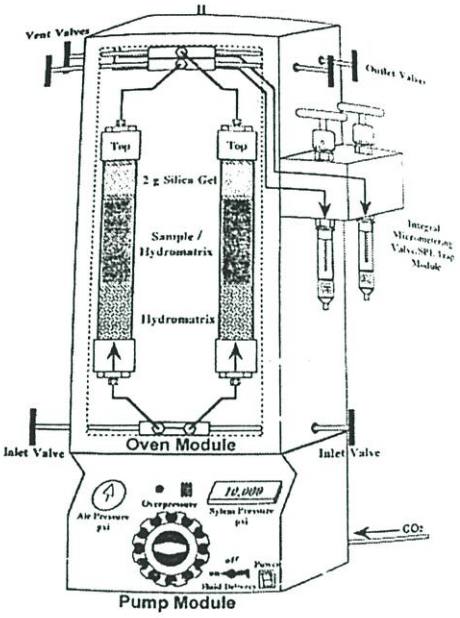
2.1 ตั้งสภาวะที่ต้องการสกัด ได้แก่ ค่าอุณหภูมิ ความดัน เวลา และอัตราการไหลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

2.2 ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 3 กรัม ใส่ในชุดอุปกรณ์ cartridge ของเครื่องสกัด SFE

2.3 ดำเนินการสกัดเก็บสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ด้วยสารละลายเอทธานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 7 มิลลิลิตร

2.4 นำสารละลายที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 472 นาโนเมตร โดยเครื่องสเปกโตรโฟโตเมทรี ใช้สารละลายเอทธานอลเป็นแบลงค์

3 ขั้นตอนการสกัดด้วยเครื่อง SFE



รูป ก1 เครื่องสกัด SFE

- ตั้งค่าอุณหภูมิสำหรับการสกัดที่ Temperature controller
- ตั้งค่าสภาวะต่างๆที่ใช้ในการสกัด เช่น เวลา ความดัน และ ปริมาตรของไหล
- เริ่มทำการสกัด

การตั้งค่าอุณหภูมิสำหรับการสกัด

เปิดสวิทซ์ “ON” ของ เครื่อง SFX controller หน้าจอแสดงอุณหภูมิขณะนั้นๆของเครื่องไฟหน้า PV (present value) จะติด กดปุ่ม PV/SV (present value/set value) แล้วปล่อย ไฟหน้า SV จะติด กดปุ่ม ∧ หรือ ∨ เพื่อตั้งค่าอุณหภูมิที่ต้องการ จากนั้นกด enter สามารถตรวจสอบ อุณหภูมิของเครื่องว่าได้ตรงตามที่ตั้งไว้แล้วหรือไม่ โดยกดแล้วปล่อยปุ่ม PV/SV ซ้ำอีกครั้ง ไฟที่หน้า PV แสดง

ตั้งค่าสภาวะต่างๆที่ใช้ในการสกัด เช่น เวลา ความดัน และปริมาตรของไหล

หลังจากการตั้งค่าอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดแล้ว ทำการปั๊ม Solvent A (ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์) ไปที่ Menu, Multi pump (6), Modifier (3), previous (D), return (D), ตั้งค่า pressure, enter, กดปุ่ม refill แป้นสีฟ้า, A refill pump A, รอจนกระทั้งหน้าจอขึ้น Cylender full ในกรณีที่ต้องการใช้สารละลายร่วมด้วยในการสกัดจะต้องทำการ refill pump B

Refill pump B เปิดวาล์ว (B) หมุนทวนเข็มนาฬิกาไปที่ Menu, multi pump, Independent, previous (D), return (D), select pump (D), B (cp B), ตั้งค่า pressure, enter, D select pump, กด refill แป้นสีฟ้า, pump B, รอจนกระทั้ง หน้าจอขึ้นว่า Cylender full, และทำการปิดวาล์ว B ขวามือ (ตามเข็มนาฬิกา)

การตั้งค่าสภาวะต่างๆเบื้องต้นที่ใช้ในการสกัด

ที่หน้าจอ Run Screen กดปุ่ม C, program หน้าจอจะแสดง Dynamic Extraction Menu

SFX DYNAMIC EXTRACTION			STORE TO EXIT
1. TIME : 20 MIN		3. PRESSURE : 5000 PSI	
2. VOL: 999 ML		4. % MOD : 10.00	
	OPTION	VALUE	PREV
A	B	C	D

รูป ก2 Dynamic Extraction Menu

กด 1 เพื่อเลือก TIME จากนั้นใส่เวลาที่ต้องการใช้ในการการสกัด แล้วกดปุ่ม enter
กด 2 เพื่อเลือก VOL จากนั้นใส่ปริมาตรของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต้องการใช้ในการสกัดแล้วกดปุ่ม enter

กด 3 เพื่อเลือก press จากนั้น ใส่ค่าความดันที่ต้องการใช้ในการสกัดแล้วกดปุ่ม enter
กด 4 เพื่อเลือกเปอร์เซ็นต์ MOD จากนั้นใส่ปริมาณเป็นเปอร์เซ็นต์ของสารที่ต้องการใช้เป็นตัว Modifier สำหรับการสกัด (เช่น เมทธานอล) แล้วกดปุ่ม enter (สามารถใส่ค่าสูงสุดได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์) กดปุ่ม store หรือปุ่ม D, Prev เพื่อ save ข้อมูล

โปรแกรมการสกัด

หลังจากตั้งค่าสภาวะต่างๆที่ใช้ในการสกัดเรียบร้อยแล้ว ให้กลับไปที่หน้าจอ RUN Screen จากนั้นกดปุ่ม A เพื่อเริ่มทำการสกัดที่ Chamber 1 กดปุ่ม B เพื่อเริ่มทำการสกัดที่ Chamber 2 หรือกดทั้งปุ่ม A และ B เมื่อต้องการสกัดทั้ง 2 Chamber ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ MODE ที่เลือกสกัดไว้ แล้วเลือกที่ option (B), Mode menu (2) Mode 1 Alternating (สกัดที่ละ Chamber เริ่มจาก 1 ไป 2) Mode 2 Simultaneous (สกัดพร้อมกัน ทั้ง 1 และ 2), กด1 Alternating, Prev, Auto refill Menu, กด previous (D), return (D), select pump (D) จบการการตั้งค่า program,ใส่ตัวอย่างที่ชั่งไว้ในอุปกรณ์ Sample cartridge (ไฟเขียว), เปิดปั้ม A และปั้ม B ซ้ายมือ (หมุนทวนเข็มนาฬิกา), หน้าจอแสดง Extract, เมื่อกด Start หน้าจอจะแสดงคำว่า stop เมื่อต้องการหยุดการทำงาน, ส่วนที่สารสกัดออก Dinamic นำหลอดทดลองมาเก็บสารสกัดที่ได้ จนกว่าจะสิ้นสุดการสกัดเสร็จ

การปิดเครื่อง

หลังจากการสกัดเสร็จทุกครั้งจะต้องทำการรันด้วย cartridge ที่ปราศจากตัวอย่างเพื่อล้างเครื่องให้สะอาดจากนั้นเมื่อสกัดเสร็จทำการปิดเครื่อง โดยการรัน Solvent และ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกจาก Cylender เริ่มจากการไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ Pump B ปิด value ซ้าย (หมุนตามเข็มนาฬิกา) เปิด value ขวา (หมุนทวนเข็มนาฬิกา), Menu, Multi pump (6), Independent (4), previous (D), return (D), Pump program, select pump (D), กด B (cp B, จนกระทั้ง หน้าจอแสดง Cylender Empty), Zero pressure, ปิดวาล์วปั้ม B (หมุนตามเข็มนาฬิกา) ขั้นตอนการไล่ คาร์บอนไดออกไซด์ ปิดวาล์วที่ถัง คาร์บอนไดออกไซด์ไปที่หน้าจอกดปุ่ม extraction program, program (c), value (c), กดปุ่มที่แสดงหน้าจอ

1. Supply 1 จาก close ให้แสดง open
2. Analyte 1 จาก close ให้แสดง open
3. Vent 1 จาก close ให้แสดง open การกดปุ่มเหล่านี้จะช่วยให้การไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เร็วขึ้น ส่วนปั้ม A โดยการเปิดปั้ม A ปิดปั้ม B, กดปุ่ม previous (D), return (D), เข้าที่หน้าจอหลัก เลือก S-Mode, รอจนกระทั้ง Zero press Value, และปิดสวิทซ์

ภาคผนวก ข

ข1 การวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนทั้งหมดโดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมททรี (เยาวภา, 2545)

อุปกรณ์และสารเคมี

3.5.2.1 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

3.5.2.2 กรวยแยก (Separating funnel)

3.5.2.3 ปิโตรเลียมอีเทอร์ (จุดเดือด 80 °C – 100 °C)

วิธีวิเคราะห์

ชั่งน้ำหนักกากมะเขือเทศอบแห้ง 0.1000 กรัม เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เทใส่กรวยแยก เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ 25 มิลลิลิตร เขย่านาน 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น นำส่วนของปิโตรเลียมอีเทอร์วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 472 นาโนเมตร โดยมีปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นแบลงค์ ทดลองซ้ำ 6 ครั้ง

ข2 การคำนวณปริมาณไลโคพีนทั้งหมดจากการวิเคราะห์โดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมททรี

ตัวอย่างการคำนวณ

จากสูตรคำนวณ $A = E^{1\%}_{1\,cm}\, bc$

A = คือค่าการดูดกลืนแสง

$E^{1\%}_{1\,cm}$ = คือ ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสง เท่ากับ 3450 (ค่าคงที่) หมายความว่า ถ้าวัดค่าการดูดกลืนแสงได้เท่ากับ 3450 โดยใช้คิวเวตต์กว้าง 1 เซนติเมตร แสดงว่าสารละลายนั้นมีความเข้มข้นของไลโคพีนเท่ากับ 1 %

b คือ ความกว้างของคิวเวตต์เท่ากับ 1 เซนติเมตร

c คือ ความเข้มข้นของไลโคพีนเปอร์เซ็นต์

แทนค่า A ในสูตรเพื่อหาค่า c

$0.1270 = 3450 \times 1 \times c$

$c = 3.68 \times 10^{-5}$ เปอร์เซ็นต์

คำนวณปริมาณไลโคพีนเป็นมิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักกากมะเขือเทศอบแห้ง

สารสกัด 100 มิลลิลิตร มีไลโคพีน 3.68×10^{-5} กรัม

สารสกัด 25 มิลลิลิตรมีไลโคพีน $((3.68 \times 10^{-5}) \times 25)$ ต่อ 100 เท่ากับ 9.20×10^{-6} กรัม

ในการสกัดใช้ตัวอย่าง 0.1006 กรัม ดังนั้นมีไลโคพีน 9.20×10^{-6} กรัมต่อ 0.1006 กรัม น้ำหนักกากมะเขือเทศอบแห้งหรือ 9.15 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักกากมะเขือเทศอบแห้งตัวอย่าง

ภาคผนวก ค

วิเคราะห์หาปริมาณไลโคพีนโดยวิธี HPLC
(ดัดแปลงจากวิธีของเยาวภา สิริวัฒนานุกูล, 2545)

อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 HPLC

1.2 คอลัมน์ C18 (P/N 00G-4053-EO 5 μ 200 A° 250 ×4.6 mm)

1.3 การ์ดคอลัมน์ (Guard column)

1.4 ชุดกรองเชื้อ (syring filter)

1.5 Acetonitrile

1.6 Hexane

1.7 Methanol

1.8 2- propanol

1.9 สารมาตรฐานไลโคพีน (จาก Sigma)

1.10 เครื่องเขย่าสารด้วยคลื่นความถี่เสียง Sonicate

1.11 ก๊าซไนโตรเจน comercial grade

วิธีเตรียมเฟสเคลื่อนที่

2.1 เตรียม acetonitrile, methanol และ 2- propanol ตามปริมาตรที่ต้องการใช้ตามอัตราส่วน (44:54:2 v/v/v)

2.2 กรองด้วยชุดกรองเชื้อ โดยใช้กระดาษกรองไนลอน 0.2 ไมครอน

2.3 ไล่อากาศโดยการดูดอากาศออกด้วยเครื่องเครื่องเขย่าสารด้วยคลื่นความถี่เสียง Sonicate

วิธีการเตรียมตัวอย่าง

สารที่ได้จากการสกัด 7 มิลลิลิตร

↓

ระเหยแห้งด้วยก๊าซไนโตรเจน

↓

เติมสารละลาย เฮกเซน 4 มิลลิลิตร

↓

ผสมให้เข้ากัน

↓

วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

วิธีการเตรียมสารมาตรฐานไลโคพีน

สารมาตรฐานไลโคพีน (จาก Sigma) 1 มิลลิกรัม

↓

ละลายด้วยสารละลาย hexane ปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร

↓

ทำการเจือจางในแต่ละความเข้มข้น ตั้งแต่ 0.001- 0.020 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

↓

กรองด้วย Syring filter ประมาณ 1 มิลลิลิตรเก็บในขวดสีชา

↓

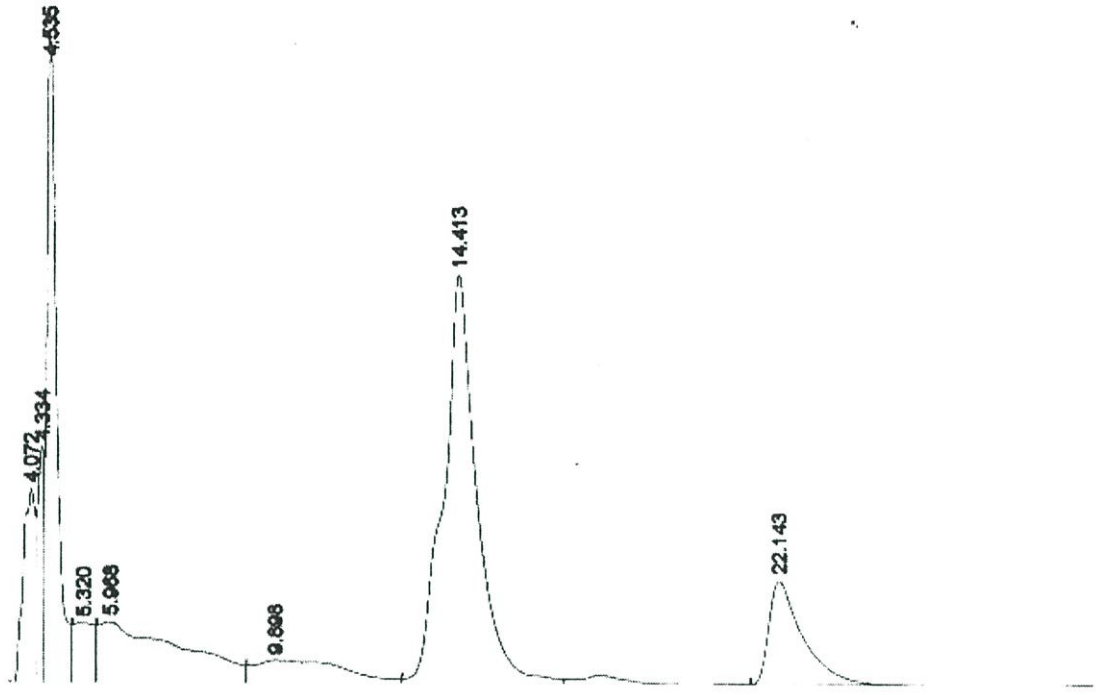
ใช้เฟสเคลื่อนที่ผสม (acetonitire : methano : 2-propanol) ในอัตราส่วน 54 : 44 : 2

↓

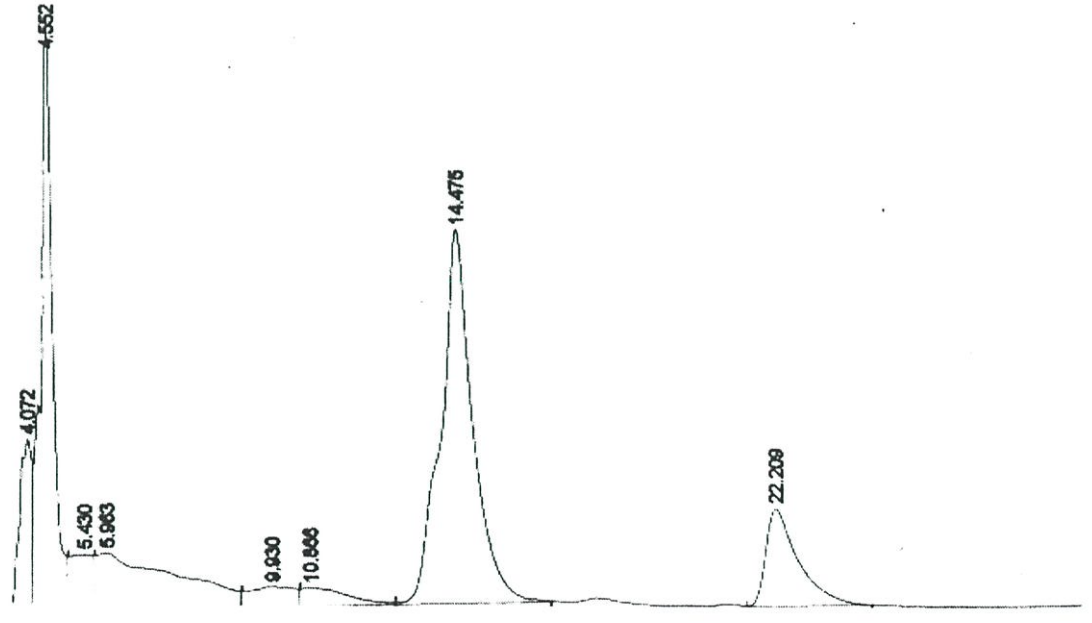
ฉีดเข้าเครื่องที่ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที (ปริมาตร 20 ไมโครลิตร)

ตาราง ค1 พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไลโคพีนที่ความเข้มข้น 0.001-0.020 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

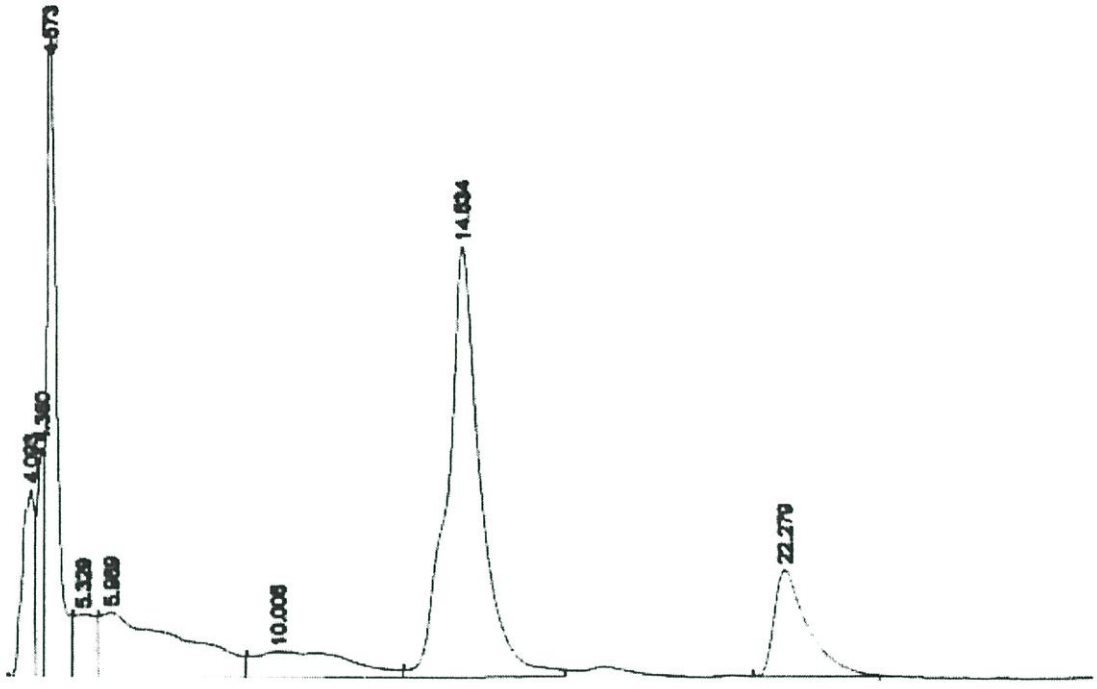
ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไลโคพีน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	พื้นที่ใต้พีค		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย
0.001	156.4	159.2	157.8
0.002	319.3	343.9	331.6
0.004	515.6	527.4	521.5
0.008	967.0	985.0	977.0
0.010	1069.7	1118.6	1094.1
0.020	2775.4	2876.4	2825.9



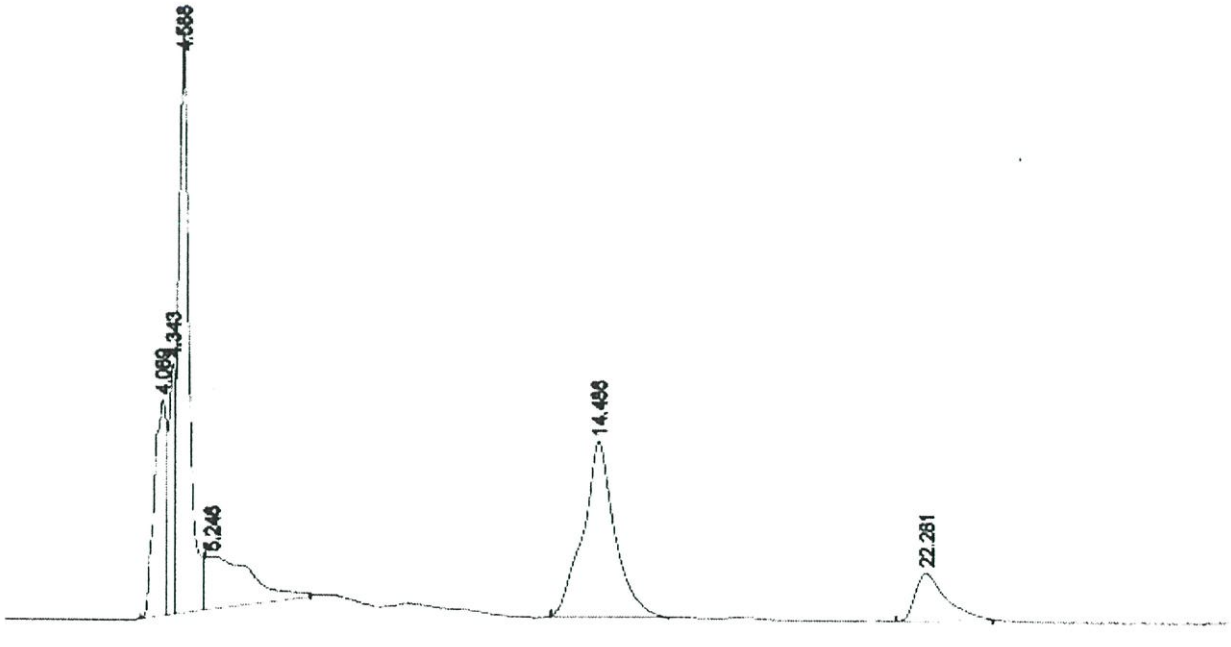
รูป ค1 โครมาโตแกรมสารสกัดไลโคพีนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เวลา 60 นาที สกัดซ้ำที่ 1



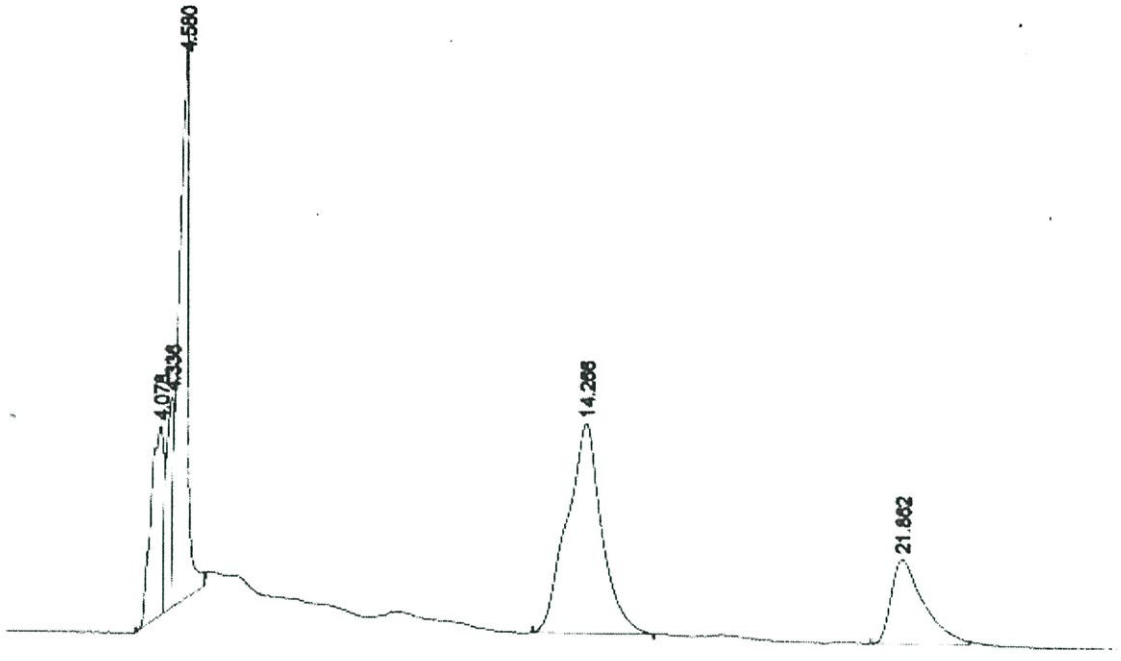
รูป ค2 โครมาโตแกรมสารสกัดไลโคพีนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เวลา 60 นาที สกัดซ้ำที่ 2



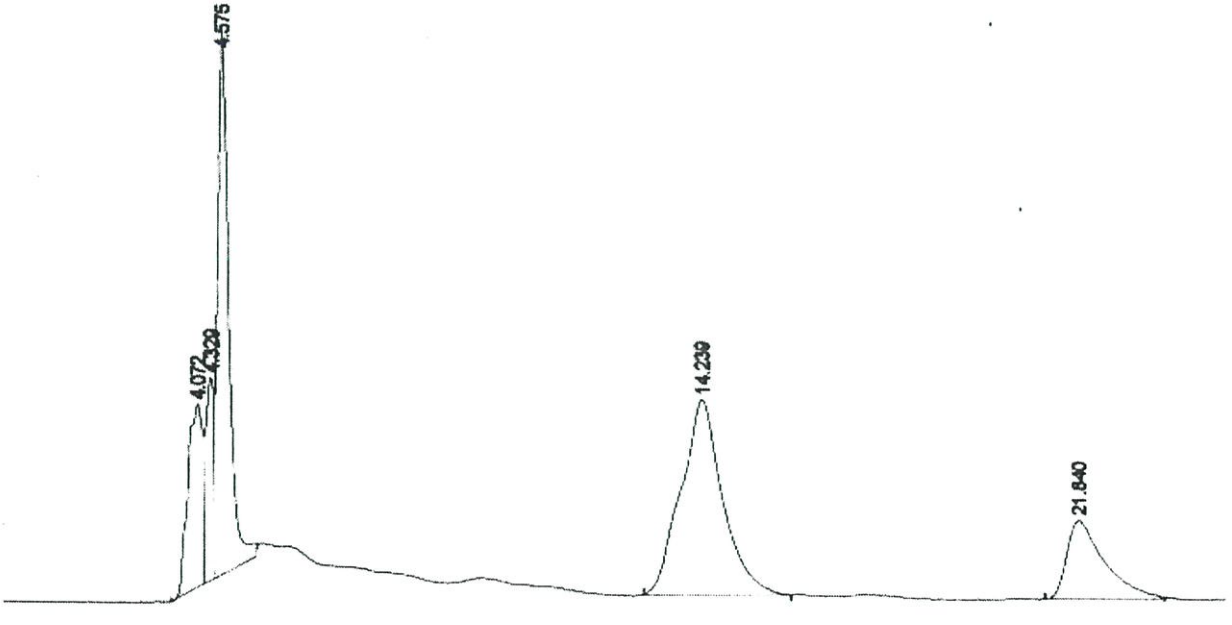
รูป ค3 โครมาโตแกรมสารสกัดไลโคพีนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เวลา 60 นาที สกัดซ้ำที่ 3



รูป ค4 โครมาโตแกรมสารสกัดไลโคพีนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เวลา 60 นาที สกัดซ้ำที่ 1



รูป ค5 โครมาโตแกรมสารสกัดไลโคพีนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เวลา 60 นาที สกัดซ้ำที่ 2



รูป ค6 โครมาโตแกรมสารสกัดไลโคพีนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 5500 พีเอสไอ เวลา 60 นาที สกัดซ้ำที่ 3

ตัวอย่างการคำนวณปริมาณไลโคพีน

จากสมการ y = ax ที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

y = พื้นที่ใต้พีคที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

a = ค่าคงที่จากการคำนวณกราฟมาตรฐานไลโคพีน

สมการ y = 133645x จากรูปที่ 4.1 กราฟสารละลายมาตรฐาน

แทนค่า y ในสูตรเพื่อหาค่า x

1468.67= 133645x

x = 0.011 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดเฮกเซน 4 มิลลิลิตรมีไลโคพีน 0.011 × 4 เท่ากับ 0.044 มิลลิกรัมในตัวอย่าง 3 กรัม หรือ 1.46 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง

ประวัติผู้เขียน

นางสาวอัมพร ยุวรรณศิริ เกิดวันที่ 3 มกราคม พ.ศ. 2526 ที่จังหวัดราชบุรี สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม กรุงเทพฯ ในปีการศึกษา 2547 ต่อมาเข้าทำงานที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ (สมุทรสงคราม) ในตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ปีพ.ศ. 2548 และศึกษาต่อในระดับบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังในปีพ.ศ. 2548 และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2551