

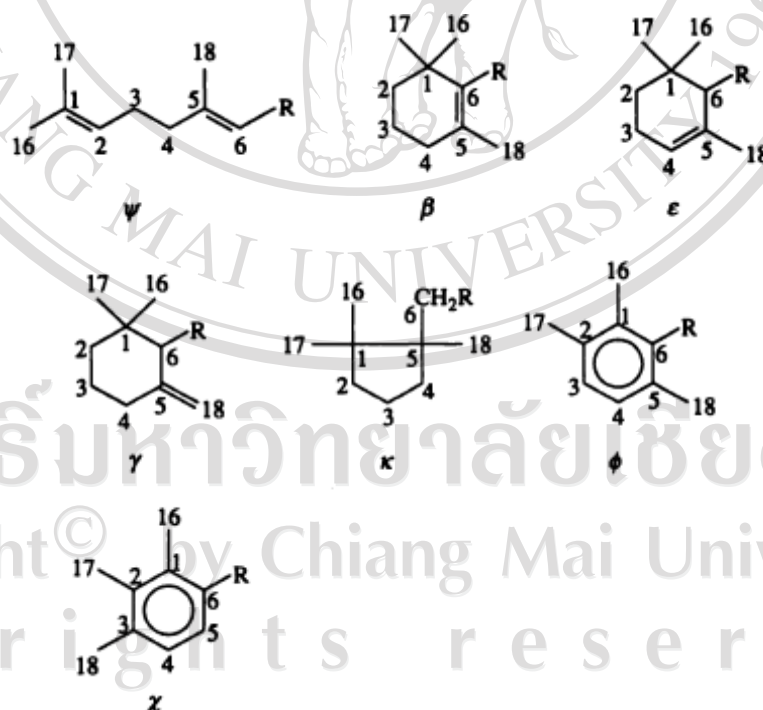
บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โครงสร้างของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็น C_{40} tetraterpenoids ที่เกิดจาก C_5 isoprenoid จำนวน 8 หน่วยรวมตัวกันแบบหัวต่อหาง (Head-to-tail) ยกเว้นตรงส่วนกลางที่มีการจับกันแบบ หางต่อหาง (Tail-to-tail) ทำให้ได้โมเลกุลที่มีลักษณะสมมาตร (Rodriguez-Amaya and Kimura, 2004) สายคาร์บอนนี้สามารถเปลี่ยนแปลงไปได้โดยวิธีต่างๆ ดังนี้ (Britton, 1995)

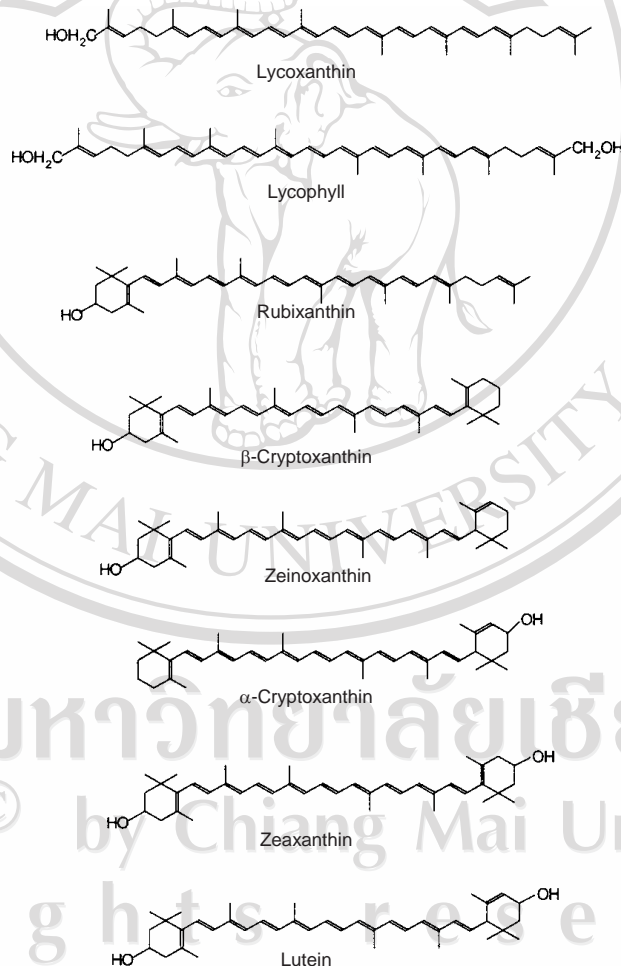
- 1) กระบวนการไซโคลเซชัน (Cyclization) ที่ปลายด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านของโมเลกุล ทำให้เกิดโครงสร้างของหมู่ปลายแบบต่างๆ 7 แบบ ดังภาพ 2.1
- 2) กระบวนการไฮโดรจีเนชัน (Hydrogenation) ที่ระดับต่างๆ
- 3) การเพิ่มหมู่ฟังก์ชันที่มีออกซิเจน



ภาพ 2.1 หมู่ปลายที่พบในแคโรทีนอยด์ธรรมชาติแบบต่างๆ ทั้ง 7 แบบ

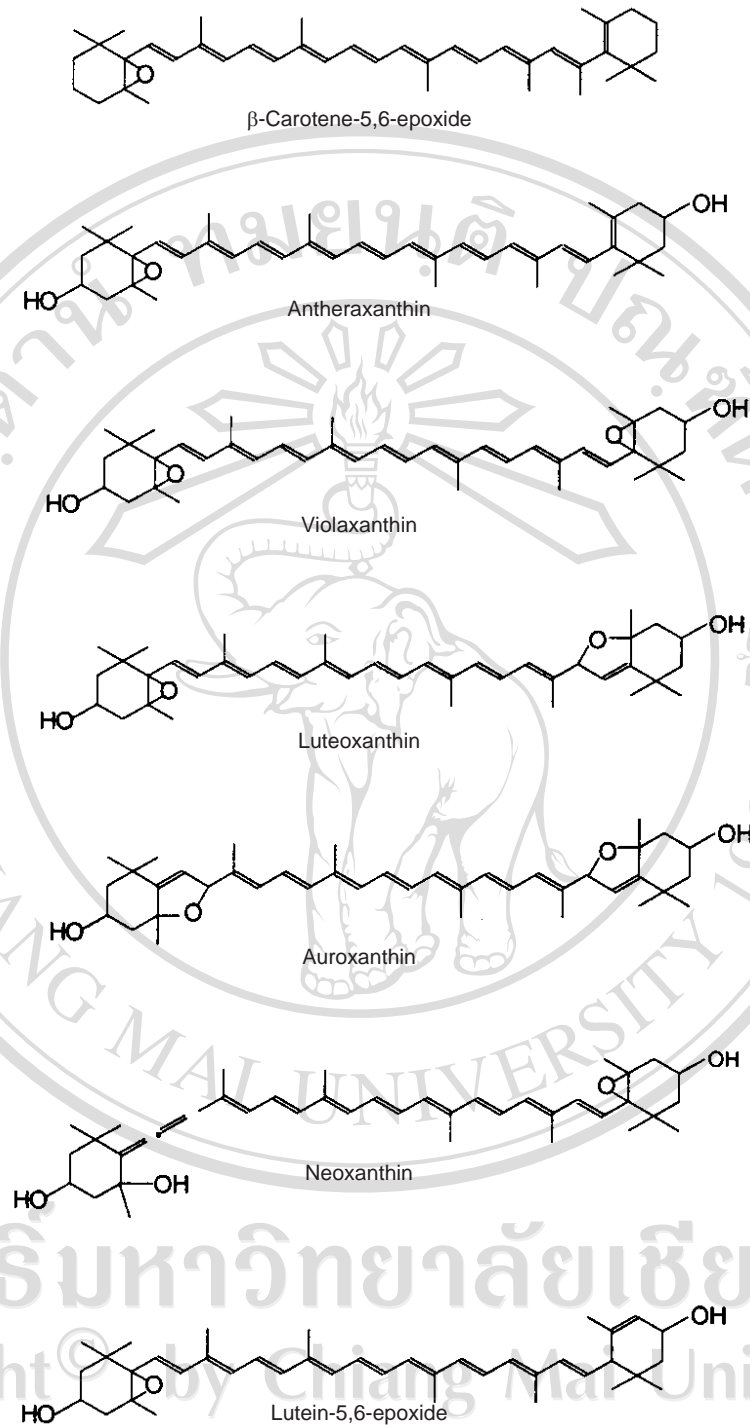
ที่มา: Britton, 1995

แคโรทีนอยด์ที่ประกอบด้วยไฮโดรเจนและคาร์บอน มีชื่อเรียกว่าแคโรทีน (Carotenes) เช่น บีตาแคโรทีนและไลโคพีน และเรียกอนุพันธ์ที่มีออกซิเจนว่าแซนโทฟิล (Xanthophylls) ได้แก่ หมูไฮดรอกซี (ภาพ 2.2) หมูอีพอกซี (ภาพ 2.3) หมูคีโต (ภาพ 2.4) และหมูแอลดีไฮด์ แคโรทีนอยด์อาจมีโครงสร้างทั้งแบบอะไซคลิก (ภาพ 2.5) โมโนไซคลิกหรือไดไซคลิก (ภาพ 2.6) (Rodriguez-Amaya and Kimura, 2004) แคโรทีนอยด์บางตัวมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยคาร์บอนน้อยกว่า 40 อะตอม ซึ่งเกิดจากการสูญเสียบางส่วนของสาย C₄₀ ไป โดยเราจะเรียกลำดับประกอบที่มีการสูญเสียอะตอมของคาร์บอนที่ส่วนปลายของโมเลกุลว่า อะโปแคโรทีนอยด์ (Apocarotenoids) และเรียกลำดับประกอบที่มีการสูญเสียอะตอมของคาร์บอนที่ภายในสายคาร์บอนว่านอร์แคโรทีนอยด์ (Norcarotenoids) (Britton, 1995)



ภาพ 2.2 โครงสร้างของไฮดรอกซี แคโรทีนอยด์ (Hydroxy carotenoids) บางชนิด

ที่มา: Rodriguez-Amaya, 2001

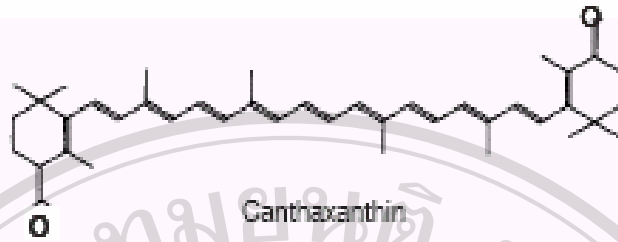


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

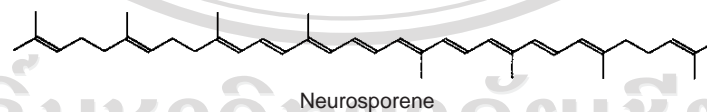
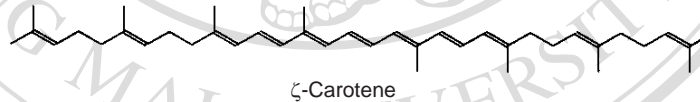
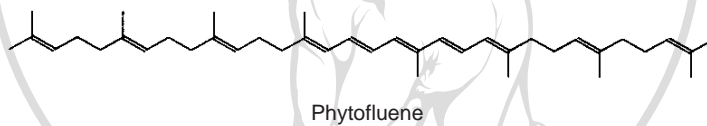
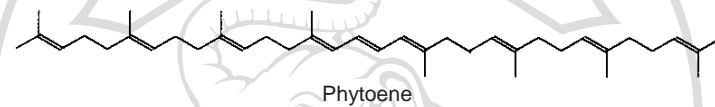
ภาพ 2.3 โครงสร้างของอีพอกซี แคโรทีนอยด์ (Epoxy carotenoids) บางชนิด

ที่มา: Rodriguez-Amaya, 2001



ภาพ 2.4 โครงสร้างของแคนทาแซนทิน (Canthaxanthin)

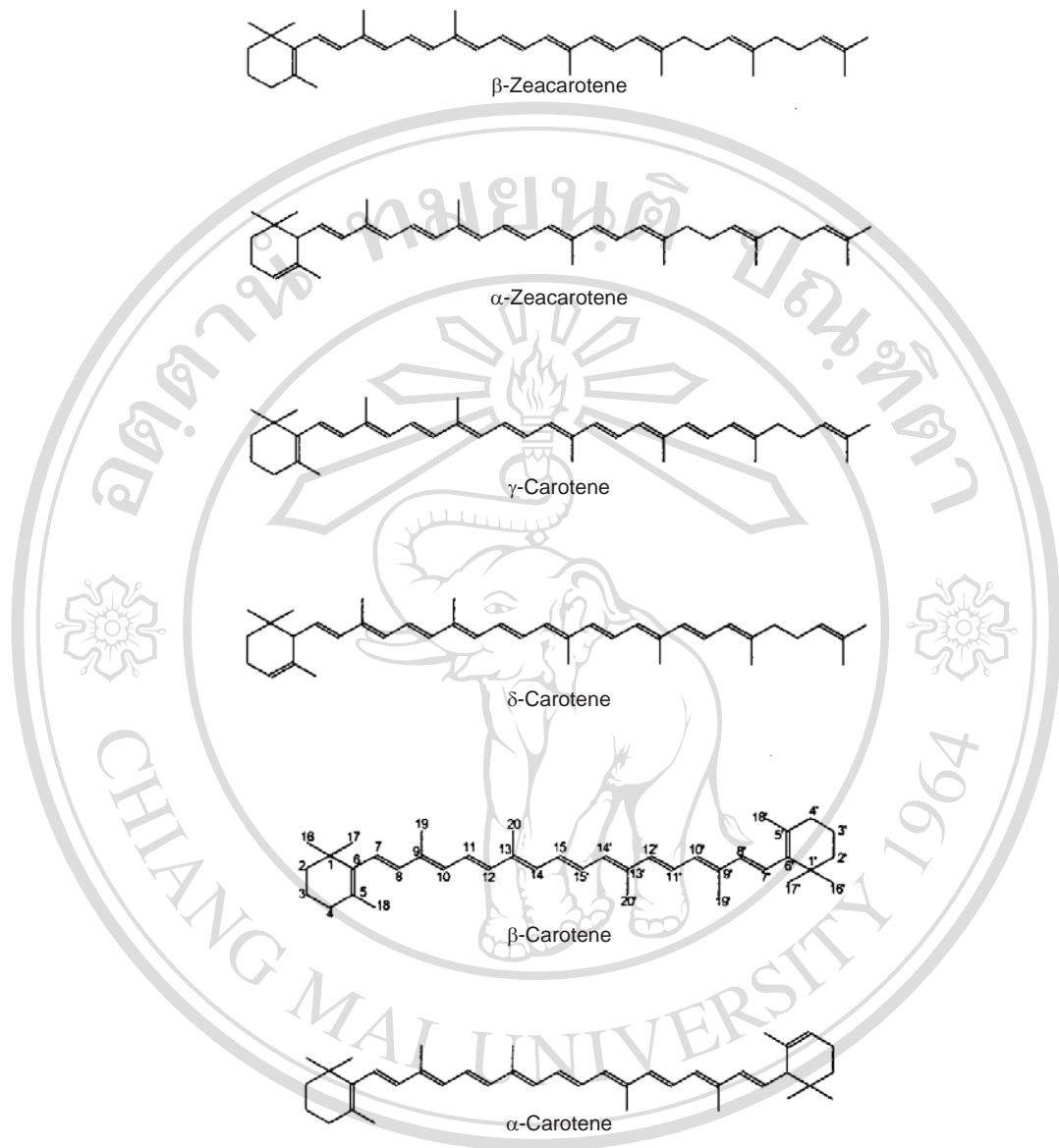
ที่มา: Rodriguez-Amaya, 2001



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 2.5 โครงสร้างของแคโรทีนอยด์แบบอะไซคลิก (Acyclic) บางชนิด

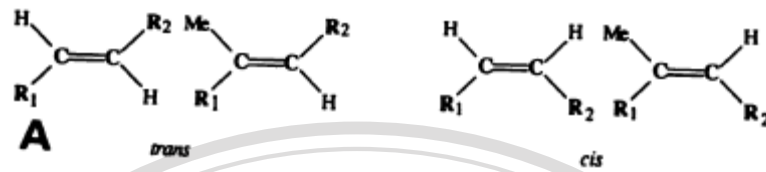
ที่มา: Rodriguez-Amaya, 2001



ลิขสิทธิ์ภาพนี้โดย Chiang Mai University
ภาพ 2.6 โครงสร้างของแคโรทีนอยด์แบบไซคลิก (Cyclic) บางชนิด
 ที่มา: Rodriguez-Amaya, 2001

Copyright © by Chiang Mai University
 A All rights reserved

โครงสร้างที่เป็นพันธะคู่ของแคโรทีนอยด์สามารถมีรูปแบบไอโซเมอร์ได้ 2 รูปแบบ คือ
 ทรานส์ (*trans* หรือ E-isomers) และซิส (*cis* หรือ Z-isomers) ดังภาพ 2.7 โดยแคโรทีนอยด์ที่
 เกิดขึ้นตามธรรมชาติส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปแบบทรานส์ทั้งหมด ส่วนรูปแบบซิสมักพบในปริมาณ
 น้อย (Britton, 1996)



ภาพ 2.7 พันธะคู่ของแคโรทีนอยด์รูปทรานส์และซิส

ที่มา: Britton, 1995

Yap *et al.* (1991) พบว่าแคโรทีนอยด์ในน้ำมันปาล์มมีทั้งหมด 11 ชนิด ได้แก่ ไฟโตอิน (Phytoene), บีตาแคโรทีน (β -Carotene), ฟิโตฟลูอิน (Phytofluene), แอลฟาแคโรทีน (α -Carotene), ซิกมาแคโรทีน (ζ -Carotene), แกมมาแคโรทีน (γ -Carotene), เดลต้าแคโรทีน (δ -Carotene), นิวโรสปอรีน (Neurosporene), บีตาซีแคโรทีน (β -Zeaxarotene), แอลฟาซีแคโรทีน (α -Zeaxarotene) และไลโคพีน (Lycopene) โดยร้อยละ 90 ของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเป็นแอลฟา และบีตาแคโรทีน

2.2 สมบัติทางเคมีและกายภาพของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์มีสมบัติทางเคมีและกายภาพที่สำคัญ ดังนี้

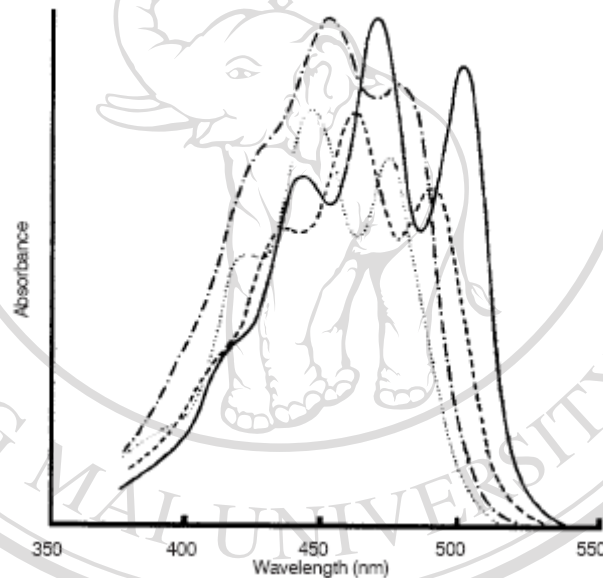
1. ความสามารถในการละลาย

แคโรทีนอยด์เป็นไลโปฟิลิก (Lipophilic) ซึ่งจะไม่สามารถละลายได้ในน้ำ แต่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น อะซีโตน (Acetone), แอลกอฮอล์ (Alcohol), เอทิลอีเทอร์ (Ethyl ether), คลอโรฟอร์ม (Chloroform), และเอทิลอะซิเตต (Ethyl acetate) โดยแคโรทีนสามารถละลายได้อย่างรวดเร็วในปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether), เฮกเซน (Hexane) และโทลูอิน (Toluene) ส่วนเมทานอลสามารถละลายในเมทานอล (Methanol) และเอทานอล (Ethanol) ได้ดี (Rodriguez-Amaya, 2001)

2. การดูดกลืนแสง

ระบบ Conjugated double-bond ประกอบกันขึ้นเป็นโครโมฟอร์ (Chromophore) ให้สเปกตรัมที่ดูดกลืนแสงในช่วงที่มองเห็นได้ ทำให้แคโรทีนอยด์มีสี ซึ่งใช้เป็นหลักพื้นฐานในการบ่งชี้ และหาปริมาณของแคโรทีนอยด์ สีสามารถใช้ในการวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ที่ระดับต่างๆ โดยสีที่เปลี่ยนแปลงหรือสูญเสียไปที่เวลาต่างๆ ในระหว่างการวิเคราะห์จะช่วยให้สามารถทราบว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ ซึ่งช่วงความยาวคลื่นที่ดูดกลืนได้มากที่สุด (λ_{max}) และรูปร่างของสเปกตรัมเป็นสิ่งที่แสดงลักษณะของโครโมฟอร์ ทั้งนี้

แคโรทีนอยด์ส่วนใหญ่จะดูดกลืนแสงได้มากที่สุดที่ 3 ช่วงความยาวคลื่น ทำให้เกิดเส้นกราฟที่มี 3 ยอดดังภาพ 2.8 โดยเมื่อจำนวน Conjugated double-bond มีมากขึ้น ค่า λ_{\max} ก็จะสูงขึ้นด้วย ดังนั้นไลโคพีน ซึ่งเป็นแคโรทีนอยด์แบบอะไซคลิกที่ไม่มีตัวสูงที่สุด โดยมี 11 Conjugated double-bond และมีสีแดง จะดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 444, 470 และ 502 นาโนเมตร ตามลำดับ แคโรทีนอยด์จะต้องมี Conjugated double-bond อย่างน้อย 7 แห่ง จึงจะมีสีที่เห็นได้ชัดเจน เช่น ซิกมาแคโรทีน ซึ่งเป็นแคโรทีนอยด์แบบอะไซคลิกที่มี 7 Conjugated double-bond มีสีเหลือง และดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 378, 400 และ 425 นาโนเมตร (ภาพ 2.9) ซึ่งต่ำกว่าไลโคพีน ส่วนไฟโตอิน และไฟโตฟลูอิน ซึ่งมี 3 และ 5 Conjugated double-bond ตามลำดับนั้นจะไม่มีสี (Rodriguez-Amaya, 2001)

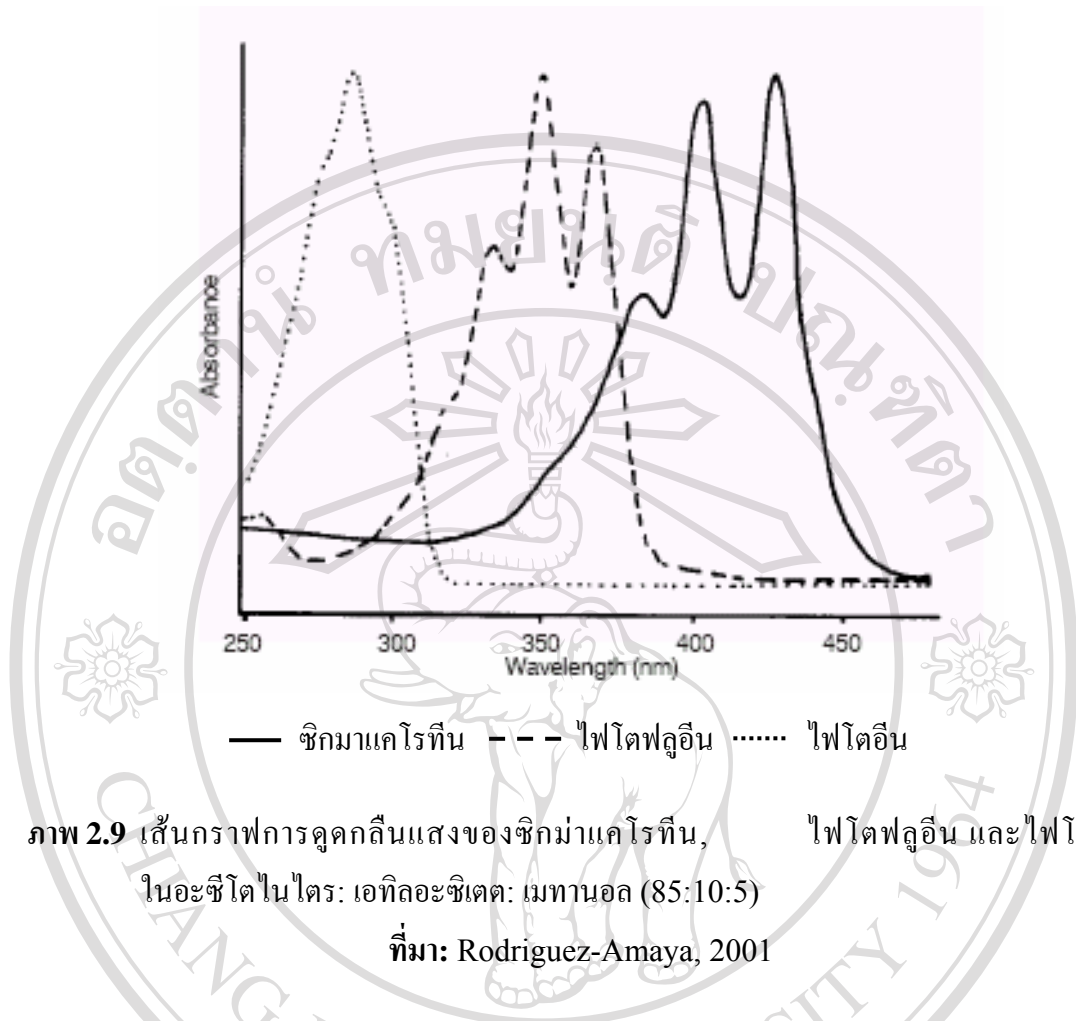


— ไลโคพีน - - - แกมมาแคโรทีน - · - · บีตาแคโรทีน ······ แอลฟาแคโรทีน

ภาพ 2.8 เส้นกราฟการดูดกลืนแสงในช่วงที่มองเห็นได้ของไลโคพีน, แกมมาแคโรทีน,

บีตาแคโรทีน และแอลฟาแคโรทีนในปิโตรเลียมอีเทอร์

ที่มา: Rodriguez-Amaya, 2001



ภาพ 2.9 เส้นกราฟการดูดกลืนแสงของชิคมาแคโรทีน, ไฟโตฟลูอิน และไฟโตอิน
 ในอะซีโตนไตร: เอทิลอะซิเตต: เมทานอล (85:10:5)
 ที่มา: Rodriguez-Amaya, 2001

2.3 การสลายตัวของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นสารที่มีความไม่อึดตัวสูง จึงไวต่อการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและกระบวนการทางความร้อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งภายใต้สภาวะการเก็บรักษาและกระบวนการที่ไม่เหมาะสม (Bonnie and Choo, 1999)

1. การสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นสาเหตุหลักของการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ (Bonnie and Choo, 1999) เนื่องจากโซ่โพลีอิน ซึ่งเต็มไปด้วยอิเล็กตรอน จึงไวต่อการเข้าชนของสารอิเล็กโตรฟิลิก (Electrophilic reagents) จึงทำให้แคโรทีนอยด์ไม่เสถียรเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Britton, 1995)

แคโรทีนอยด์บริสุทธิ์ที่สกัดออกมา แม้กระทั่งในรูปผลึกก็จะมี ความไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน และอาจจะสลายตัวได้อย่างรวดเร็ว ถ้าเก็บตัวอย่างไว้ในที่มีออกซิเจน ถึงแม้จะมีออกซิเจนอยู่เพียงเล็กน้อยก็ตาม สำหรับในร่างกาย แคโรทีนอยด์มักจะคงตัว โดยจะจับอยู่กับโปรตีนและโมเลกุลอื่นๆ ที่อยู่ติดกัน แต่อย่างไรก็ตามแคโรทีนอยด์ก็ยังไวต่อการสลายตัวเนื่องจาก

ปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ถ้าไปสัมผัสกับตัวออกซิไดส์หรืออนุมูลอิสระ (Free radicals) ทั้งนี้สิ่งที่บ่งชี้ถึงการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ก็คือ สีที่จางลงเนื่องจากการแตกตัวของโครโมฟอร์ (Britton, 1995) การสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ยังเกิดจากปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ เช่น Hydroxyl radicals (Krinsky, 1989) หรือ Peroxy radicals (Yamamoto *et al.*, 1984) และอนุมูลอิสระเหล่านี้จะกลับมาทำปฏิกิริยากับแคโรทีนอยด์ ซึ่งปฏิกิริยาของแคโรทีนอยด์กับตัวออกซิไดส์ อนุมูลอิสระเปอร์ออกซี (Peroxy radicals) และอื่นๆ เป็นสิ่งสำคัญในการวิเคราะห์การสลายตัวของแคโรทีนอยด์ เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Britton, 1995)

Carotenoid radicals ไม่เสถียรเกิดขึ้นได้หลายวิธี (Britton, 1995) ดังนี้

- 1) ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) โดยOxidizing radicals ที่มี Redox potential สูงสามารถดึงอิเล็กตรอน 1 ตัวออกจากโมเลกุลของแคโรทีนอยด์ ได้อนุมูลอิสระที่มีประจุบวก ดังสมการ (2.1) และ (2.2)



- 2) ปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction) การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัวให้กับโมเลกุลของแคโรทีนอยด์ จะได้อนุมูลที่มีประจุลบ ดังสมการ (2.3)



- 3) การแยกตัวของไฮโดรเจน (Hydrogen abstraction) เมื่ออะตอมของไฮโดรเจนแยกตัวออกจากอะตอมของคาร์บอนที่อิ่มตัว จะทำให้เกิดอนุมูลอิสระที่เป็นกลางเนื่องจาก Homolytic cleavage ของพันธะ C-H ตัวอย่างเช่นสมการ (2.4)



- 4) การเพิ่มอนุมูลอิสระ (Addition) เช่น การเพิ่ม Peroxy radicals (ROO^\bullet) หรือ Hydroxyl radicals (HO^\bullet) ให้กับโซโพลีอิน จะได้ Carotenoid-adduct radicals ตัวอย่างเช่นสมการ (2.5)



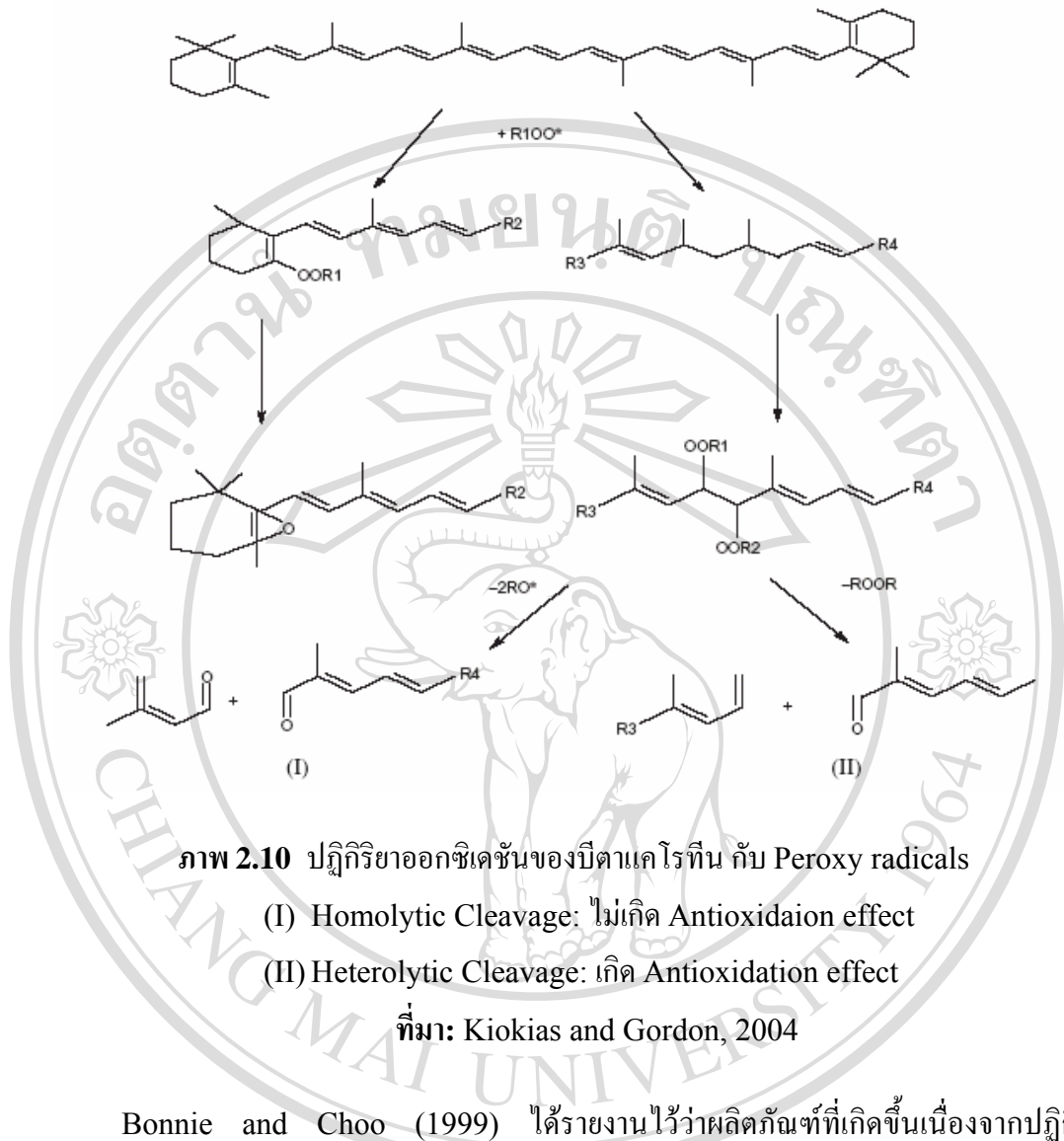
อิเล็กตรอนที่ไม่มีคู่ใน Carotenoid radicals จะเคลื่อนย้ายตลอดสายโพลีอิน ซึ่งยังทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อไปได้ในหลายๆ ส่วนของโมเลกุล เช่น Addition เป็นต้น (Britton, 1995)

Burton and Ingold (1984) ได้อธิบายไว้ว่า เมื่อบีตาแคโรทีนทำปฏิกิริยากับ Peroxy radicals ในขั้นแรกจะเป็นการเพิ่ม Peroxy radicals (ROO•) ให้กับพันธะคู่ของแคโรทีนอยด์ (CAR) ทำให้เกิด Carbon-centered radical (ROO-CAR•) ดังสมการ (2.6) หลังจากนั้นจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนอย่างรวดเร็ว ได้ Peroxyl radicals (ROO-CAR-OO•) ดังสมการ (2.7) เรียกว่าออกซิเดชัน (Autooxidation) ซึ่งแคโรทีนอยด์จะสลายตัวโดยไม่มีสารจับกับอนุมูลอิสระใดๆ แต่ในกรณีที่มีความดันของออกซิเจนต่ำ (น้อยกว่า 150 ทอร์) สมดุลของสมการ (2.7) จะเปลี่ยนไปทางซ้าย ทำให้ Peroxyl radicals ลดลง ส่วน Carbon-centered radicals จะทำปฏิกิริยากับ Peroxy radicals ดังสมการ (2.8) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระของแคโรทีนอยด์ โดยปฏิกิริยานี้จะทำให้ Peroxy radicals ลดลง



Woodall *et al.* (1997) ได้รายงานไว้ว่า การกระจายตัวของอิเล็กตรอนภายในโซ่โพลีอินที่แตกต่างกัน เนื่องจากโครโมฟอร์ที่แตกต่างกันนั้น จะทำให้ความไวในการเพิ่มอนุมูลอิสระให้กับ Conjugated double-bond นั้นแตกต่างกัน ซึ่งทำให้ปฏิกิริยาระหว่างแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดกับอนุมูลอิสระมีความแตกต่างกัน Mortensen *et al.* (1997) พบว่าการแทนที่อะตอมไฮโดรเจนด้วยหมู่คาร์บอนิลในตำแหน่งที่ 4 ของโมเลกุลแคโรทีนอยด์ จะทำให้แคโรทีนอยด์สามารถจับกับ Peroxy radical ได้ดีขึ้น หรือเกิด Antioxidant effect ได้ดีกว่านั่นเอง สำหรับแคนทาแซนทิน แอสทาแซนทิน และแคโรทีนอยด์อื่นๆ ที่ประกอบด้วย Oxo-groups ในตำแหน่งที่ 4 ของ β -ionone ring พบว่าจะเกิด Antioxidant effect ได้ดีกว่าบีตาแคโรทีน (Mortensen and Skibsted, 1997)

Liebler and McClure (1996) พบว่าปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดโฮลิติก (Homolytic Cleavage) จะปล่อย Alkoxy radicals ออกมาและไม่เกิด Antioxidant effect ส่วน Heterolytic Cleavage จะทำให้เกิด Carbonyl fragments, Dialkyl peroxides และ Nonradical products อื่นๆ ซึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของบีตาแคโรทีนที่เกิดขึ้นในลักษณะนี้ จะมีการใช้ Peroxy radicals 2 ตัว ดังภาพ 2.10



ภาพ 2.10 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของปีตาแคโรทีน กับ Peroxy radicals

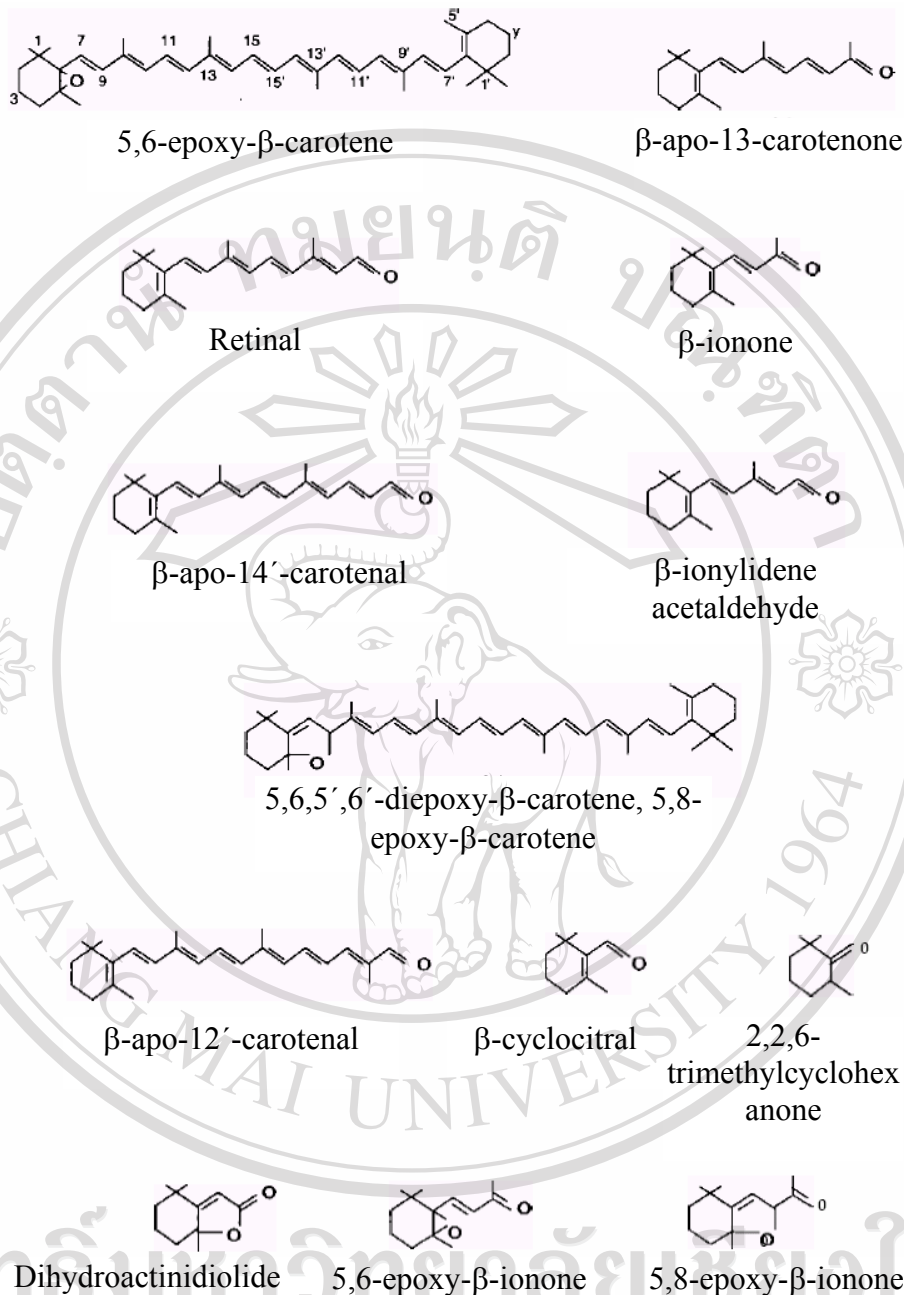
(I) Homolytic Cleavage: ไม่เกิด Antioxidation effect

(II) Heterolytic Cleavage: เกิด Antioxidation effect

ที่มา: Kiokias and Gordon, 2004

Bonnie and Choo (1999) ได้รายงานไว้ว่าผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้แก่ อีพอกไซด์ (Epoxides) อะโปแคโรทีนอยด์ และสารประกอบไฮดรอกซี

ภาพ 2.11 แสดงผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยา Autooxidation ของปีตาแคโรทีน

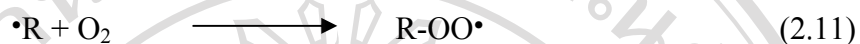


ภาพ 2.11 ผลลัพธ์ที่เกิดจากปฏิกิริยา Autooxidation ของบีตาแคโรทีน

ที่มา: Bonnie and Choo, 1999

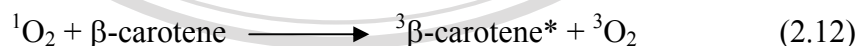
บางกรณีแคโรทีนอยด์อาจจะเปลี่ยนเป็นโปรออกซิแดนท์ (Prooxidant) ซึ่งจะไปเร่งอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และทำให้แคโรทีนอยด์สลายตัวเร็วขึ้น โดยส่วนใหญ่ มักเกิดในกรณีที่ความดันออกซิเจนสูงขึ้น แต่ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ด้วย (Van den Berg *et al.*, 2000) โดยเมื่อระดับของออกซิเจนสูง Carotenoid radicals อาจจะทำ

ปฏิกิริยากับออกซิเจน ได้ Carotenoid peroxy radical (CAR-OO•) ดังสมการ (2.9) ซึ่งจะเป็นตัวกลางของปฏิกิริยาที่ทำหน้าที่เป็นโปรออกซิแดนซ์ ยกตัวอย่างเช่น กระบวนการ Lipid peroxidation ดังสมการ (2.10) และ (2.11) (Kiokias and Gordon, 2004)



Niki *et al.* (1995) พบว่าในสถานะที่ไม่มีออกซิเจน บีตาแคโรทีนจะเกิด Antioxidant effect ได้ดีกว่าในสถานะที่ความดันออกซิเจนเพิ่มขึ้น สำหรับผลของความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์นั้นพบว่าเมื่อความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์สูง (มากกว่า 5 มิลลิโมลาร์) โดยทั่วไปแคโรทีนอยด์มักจะแสดงลักษณะเป็น Prooxidant (Farombi and Britton, 1999; Zhang and Omaye, 2000) และในระหว่างการเกิดออกซิเดชันที่มีความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของน้ำมันเมล็ดดอกคำฝอย ซึ่งมีความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์มากกว่า 500 ไมโครกรัมต่อกรัม พบว่าทั้งบีตาแคโรทีนและไลโคพีน แสดงลักษณะเป็น Prooxidant (Henry *et al.*, 1998)

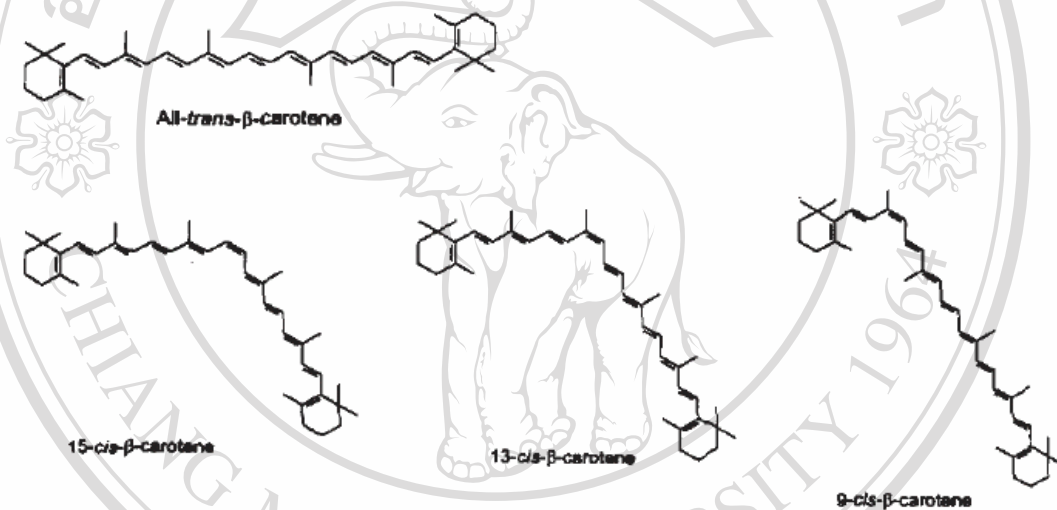
แคโรทีนอยด์ยังสามารถทำปฏิกิริยากับ Singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) ได้อีกด้วย โดย Singlet oxygen จะแลกเปลี่ยนพลังงานกับแคโรทีนอยด์ ได้ Triplet-state carotene ($^3\beta\text{-carotene}^*$) ขณะที่ออกซิเจนจะกลับเข้าสู่สถานะพื้น (Ground state) และหยุดทำงาน ดังสมการ (2.12) จากนั้น Triplet-state carotene จะปล่อยพลังงานออกมาในรูปของพลังงานความร้อน และแคโรทีนอยด์จะกลับเข้าสู่สภาวะปกติ ดังสมการ (2.13) (Kiokias and Gordon, 2004)



ถึงแม้ว่าสุดท้ายจะได้แคโรทีนอยด์ในสภาวะปกติ แต่โดยทั่วไปปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นมักจะทำลายโมเลกุลของแคโรทีนอยด์ (Krinsky, 1989) โดย Liebler (1993) กล่าวว่า การเกิดปฏิกิริยาอาจแตกต่างกันออกไป โดยผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างแคโรทีนอยด์กับ Singlet oxygen ส่วนใหญ่จะเป็นอะโปกแคโรทีนอยด์ นอกจากนี้อาจมีการเพิ่ม Singlet oxygen ให้กับพันธะคู่ ทำให้เกิดไดออกซีเทน (Dioxetane) ซึ่งไม่คงตัว และแตกตัวออกได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นคาร์บอนิล

2. การสลายตัวเนื่องจากความร้อน

Bonnie and Choo (1999) รายงานไว้ว่า ความร้อนทำให้โมเลกุลของแคโรทีนอยด์เกิดการไอโซเมอไรเซชัน ออกซิเดชัน และโมเลกุลเสียหาย Rodriguez-Amaya (1999) รายงานว่าเมื่อแคโรทีนอยด์ผ่านกระบวนการทางความร้อน จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากรูปแบบทรานส์เป็นรูปแบบซิส (*trans* to *cis*-isomerization) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างนี้จะทำให้สีและความสามารถในการเปลี่ยนเป็นวิตามินเอสูญเสียไป (Rodriguez-Amaya, 2001) ซิสไอโซเมอร์ของบีตาแคโรทีนที่วิเคราะห์ได้ส่วนใหญ่แสดงดังภาพ 2.12



ภาพ 2.12 โครงสร้างไอโซเมอร์ทั่วไปของบีตาแคโรทีน

ที่มา: Rodriguez-Amaya, 1999

Updike and Schwartz (2003) ได้ศึกษาการเพิ่มขึ้นของลูเทอิน และซีแซนทีนในรูปแบบซิส ที่พบในผักที่ผ่านกระบวนการทางความร้อน พบว่า *all-trans* isomer ในผักที่ผ่านกระบวนการทางความร้อนจะลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับผักสด ดังตาราง 2.1 และตาราง 2.2 ซึ่งผักคะน้าที่ผ่านกระบวนการทางความร้อน จะเกิดซิสไอโซเมอร์ของลูเทอินเพิ่มขึ้นมากที่สุด รองลงมา คือข้าวโพด ผักโขม ถั่ว และบลอคโคลี่ โดยเพิ่มขึ้นร้อยละ 22, 12, 11, 6 และ 3 ตามลำดับ ส่วนซิสไอโซเมอร์ของซีแซนทีน ในข้าวโพดที่ผ่านกระบวนการทางความร้อนจะเพิ่มขึ้นร้อยละ 17 ทั้งนี้โครงสร้างของลูเทอิน และซีแซนทีนที่พบแสดงดังภาพ 2.13 โดยซีแซนทีน

ที่มีลักษณะโครงสร้างแบบสมมาตรนั้นจะเกิดซิสไอโซเมอร์ 2 แบบ คือ 13-*cis* และ 9-*cis* ส่วน
ลูเทออินที่มีลักษณะโครงสร้างแบบอสมมาตรจะเกิดซิสไอโซเมอร์หลายแบบ

ตาราง 2.1 ปริมาณของลูเทออินแบบต่างๆ และความชื้น ในผักสดและผักที่ผ่านการให้ความร้อน

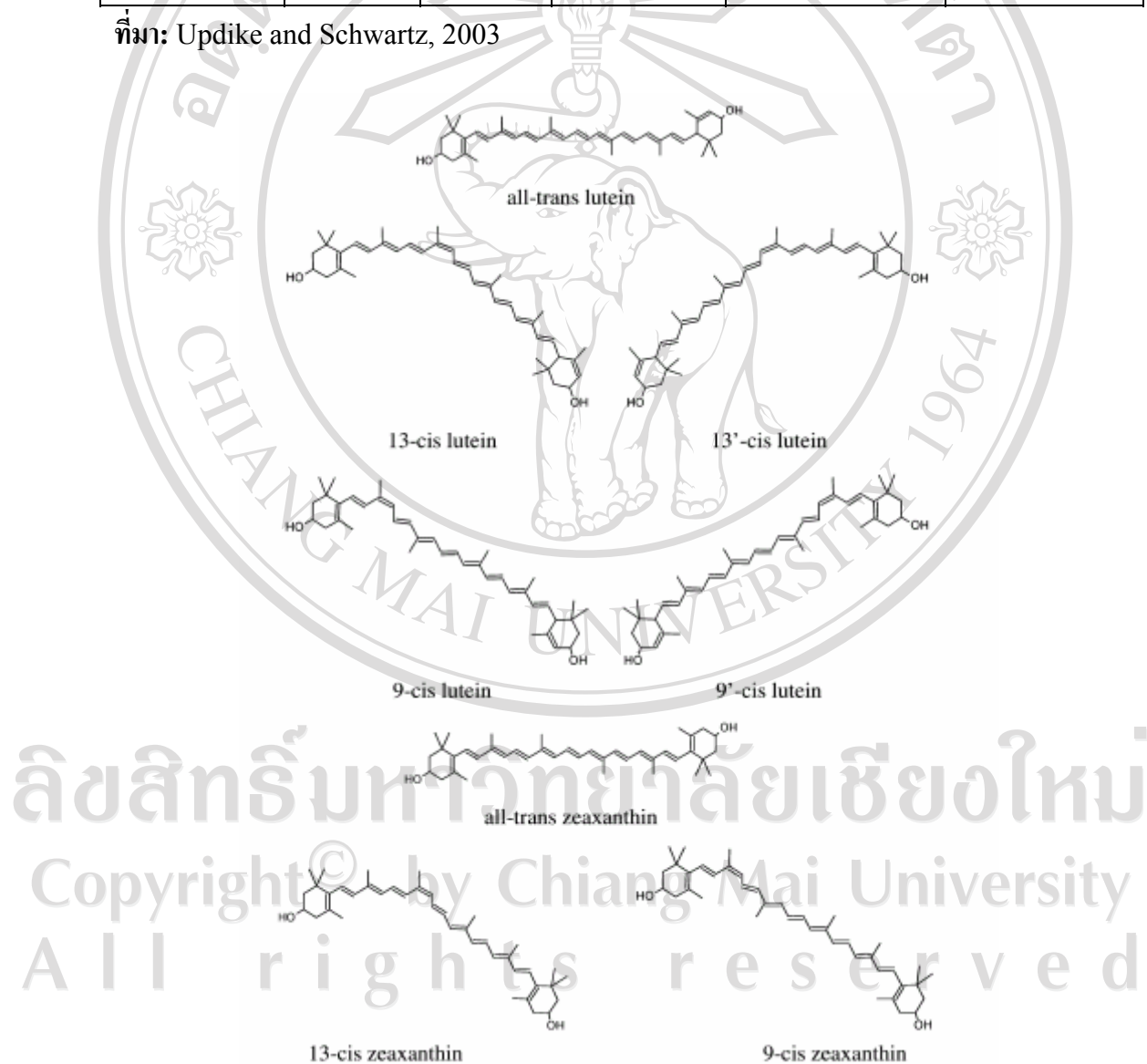
สารสกัดจากผัก	ความเข้มข้นของลูเทออิน (ไมโครกรัมต่อกรัม)					ปริมาณ ลูเทออิน รวม	ความชื้น (ร้อยละ)	
	all- trans	13- cis	9- <i>cis</i>	9'- <i>cis</i>	รูป <i>cis</i> รวม			
บล็อกโคลี	สด	83.0	0.6	-	-	0.6	83.6	87.8
	ผ่านการให้ความร้อนด้วย ไมโครเวฟ	101.8	3.9	-	-	3.9	106.7	87.1
ข้าวโพด	สด	12.0	เล็กน้อย	-	-	เล็กน้อย	12.0	77.2
	บรรจุกระป๋อง	11.0	1.4	0.2	-	1.6	12.6	82.2
คะน้า	สด	515.4	-	-	-	-	515.4	85.9
	บรรจุกระป๋อง	489.8	58.6	42.7	35.9	137.2	627.0	87.5
ถั่ว	สด	40.7	0.7	-	-	0.7	41.4	76.2
	บรรจุกระป๋อง	54.3	2.4	1.4	0.8	4.6	58.9	83.1
ผักโขม	สด	853.9	27.1	-	-	27.1	881.0	93.5
	บรรจุกระป๋อง	793.6	56.2	44.4	28.9	129.5	923.1	90.6

ที่มา: Updike and Schwartz, 2003

ตาราง 2.2 ปริมาณของซีแซนทีนแบบต่างๆ และความชื้นในข้าวโพดสดและข้าวโพด
บรรจุกระป๋อง

ข้าวโพด	ความเข้มข้นของซีแซนทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม)			ปริมาณซีแซนทีน รวม	ความชื้น (ร้อยละ)
	<i>all-trans</i>	<i>13-cis</i>	รูป <i>cis</i> รวม		
สด	23.8	0.1	0.1	23.9	77.2
บรรจุกระป๋อง	19.8	4.2	4.2	24.0	82.2

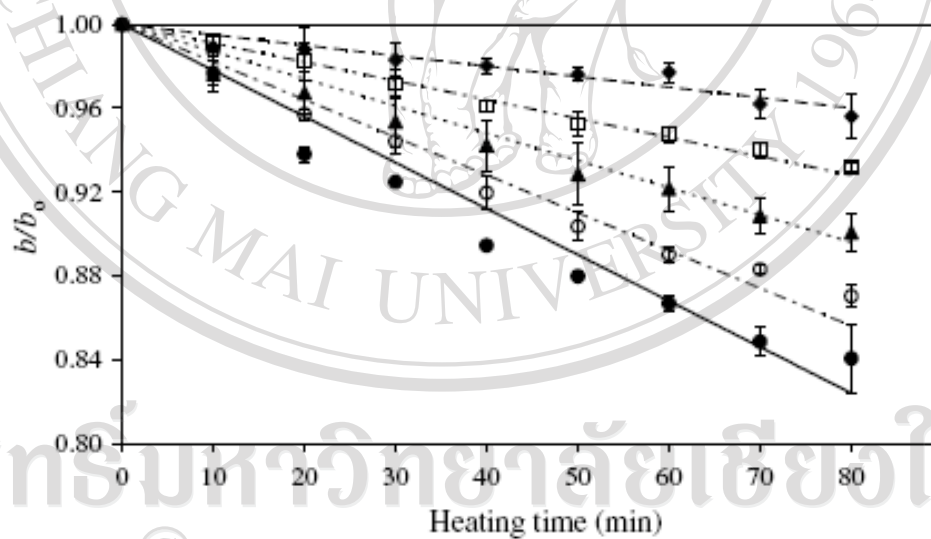
ที่มา: Updike and Schwartz, 2003



ภาพ 2.13 โครงสร้างทางเคมีของลูเทินและซีแซนทีน

ที่มา: Updike and Schwartz, 2003

Marx *et al.* (2003) ได้ศึกษาผลของกระบวนการทางความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากรูปแบบทรานส์เป็นซิสของบีตาแคโรทีนในน้ำแครอท พบว่าเมื่อให้ความร้อนในขั้นตอนการลวกแครอทเพิ่มขึ้น ที่ระดับ 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10, 30 และ 60 นาที ตามลำดับ พบว่าปริมาณ 13-*cis*- β -carotene ในน้ำแครอทพาสเจอไรส์จะเพิ่มขึ้นร้อยละ 1.8-10 ส่วนการพาสเจอไรส์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 วินาที และการสเตอริไลเซชันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 นาที ทำให้ปริมาณ 13-*cis*- β -carotene เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำแครอทที่ไม่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อ สำหรับการสเตอริไลเซชันที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เมื่อให้ความร้อนเป็นระยะเวลาเพิ่มขึ้นจาก 20 เป็น 40 นาที พบว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเกิดเพิ่มขึ้น และยังคงเกิด 9-*cis*- β -carotene เพิ่มขึ้นด้วย ทั้งนี้ Rattanathanalerk *et al.* (2005) ได้พบค่า *b* value ซึ่งแสดงถึงการสลายตัวของรงควัตถุในน้ำสับประรดผ่านความร้อนที่ระดับต่างๆ ได้แก่ 55, 65, 75, 85 และ 95 องศาเซลเซียส นั้นมีค่าลดลง โดยอัตราของการลดลงจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ดังภาพ 2.14 เนื่องจากแคโรทีนอยด์ซึ่งเป็นรงควัตถุที่มีในน้ำสับประรดเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง

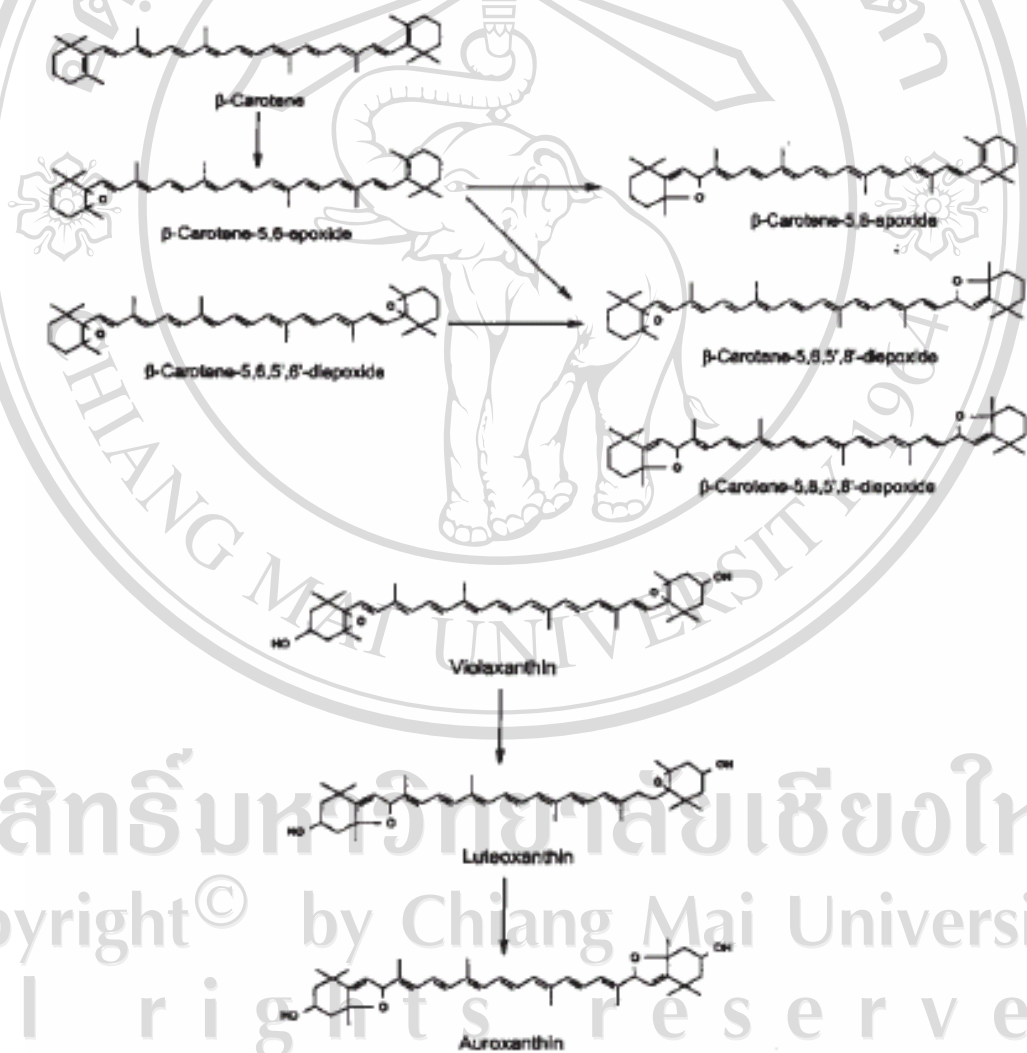


ภาพ 2.14 การเปลี่ยนแปลงของสี (b/b_0) ในตัวอย่างน้ำสับประรดผ่านความร้อนที่ระดับต่างๆ

ที่มา: Rattanathanalerk *et al.*, 2005

Rodriguez-Amaya (1999) พบว่านอกจากการไอโซเมอไรเซชันแล้ว ในระหว่างที่มีการให้ความร้อนแคโรทีนอยด์ยังเกิดการอีพอกซิเดชัน (Epoxidation) และทรานส์ฟอร์มชัน (Transformation) ของหมู่ 5,6-Epoxyde ไปเป็น 5,8-Furanoid oxide ดังภาพ 2.15

Bonnie and Choo (1999) ยังได้รายงานว่า ผลกระทบที่เกิดจากการสลายตัวเนื่องจากความร้อนของแคโรทีนอยด์แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ระเหยได้และส่วนที่ไม่ระเหย ซึ่งส่วนที่ระเหยได้จะประกอบด้วยโมเลกุลที่มีมวลโมเลกุลต่ำ และส่วนที่ไม่ระเหยจะเป็นส่วนที่เหลือจากการระเหยของส่วนที่ระเหยได้



ภาพ 2.15 การเกิดอีพอกซิแคโรทีนอยด์จากบีตาแคโรทีน และทรานส์ฟอร์มชันของไวโอลาแซนทิน ในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาอาหาร

ที่มา: Rodriguez-Amaya, 1999

การศึกษาความคงตัวของแคโรทีนอยด์ ในน้ำมันมะเขือเทศขณะทำการเก็บรักษา พบว่าเมื่อเก็บรักษาน้ำมันมะเขือเทศบรรจุกระป๋องไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ปริมาณของบีตาแคโรทีนรูปแบบทรานส์ลดลงตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นปริมาณของบีตาแคโรทีนทั้งหมดก็จะสลายตัวเร็วขึ้นด้วย ทั้งนี้ลูทีนและไลโคพีนก็มีลักษณะการสลายตัวเช่นเดียวกันกับบีตาแคโรทีน (Lin and Chen, 2005) นอกจากนี้ Pérez-Gálvez and Mínguez-Mosquera (2004) ยังพบว่าเมื่อให้ความร้อนปาปริก้าโอลิโอะเรซิน (Paprika oleoresins) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 600 ชั่วโมง ปริมาณบีตาแคโรทีน และบีตาคริปโตแซนทิน จะลดลงประมาณร้อยละ 63 และอัตราส่วนแคปแซนทินรูปแบบซิสต่อทรานส์ จะเพิ่มขึ้นในช่วงแรก จนถึงระดับสมดุลอัตราส่วนก็จะคงที่ โดย Pérez-Gálvez *et al.* (2005) ยังพบการเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนบีตาแคโรทีนรูปแบบซิสต่อทรานส์ในลักษณะเดียวกันนี้ เมื่อทำการให้ความร้อนกับปาปริก้าโอลิโอะเรซิน ที่ระดับ 373, 383 และ 393 เคลวิน เป็นระยะเวลานานขึ้น และเมื่อให้ความร้อนเพิ่มขึ้นแล้ว อัตราการสลายตัวของบีตาแคโรทีนและบีตาคริปโตแซนทิน จะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นด้วย โดยการสลายตัวของบีตาแคโรทีนจะมากกว่าบีตาคริปโตแซนทิน ดังตาราง 2.3

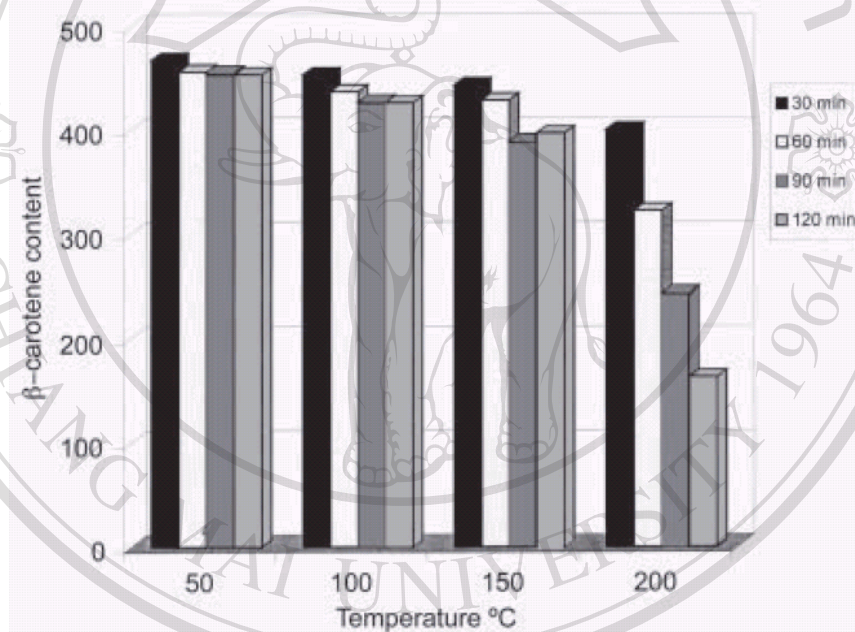
ตาราง 2.3 อัตราการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ที่เป็นโปรวิตามินเอ (บีตาแคโรทีน และบีตาคริปโตแซนทิน) ในตัวอย่างโอลิโอะเรซิน 4 ชนิด ที่ได้รับความร้อน 3 ระดับ

อุณหภูมิ (เคลวิน)	อัตราการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ ($\times 10^{-4}$) (ต่อชั่วโมง)			
	1	2	3	4
β -cryptoxanthin				
373	7.958 \pm 0.392	14.82 \pm 0.494	14.49 \pm 0.636	9.015 \pm 0.452
383	11.43 \pm 0.776	22.50 \pm 0.866	22.23 \pm 1.074	10.73 \pm 1.021
393	24.27 \pm 1.868	41.56 \pm 1.725	37.67 \pm 1.864	22.44 \pm 1.868
All- <i>trans</i> - β -carotene				
373	12.05 \pm 0.585	19.80 \pm 1.014	19.64 \pm 0.722	10.16 \pm 1.049
383	15.91 \pm 1.537	29.29 \pm 1.610	24.66 \pm 1.481	13.48 \pm 1.216
393	28.31 \pm 2.179	44.54 \pm 2.860	50.67 \pm 2.864	27.69 \pm 3.101

ที่มา: Pérez-Gálvez *et al.*, 2005

การศึกษาของ Alyas *et al.* (2006) เรื่องการเปลี่ยนแปลงของปริมาณบีตาแคโรทีนใน Red palm olein ระหว่างที่มีการให้ความร้อน พบว่าปริมาณของบีตาแคโรทีนลดลงตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น และระยะเวลาในการให้ความร้อนที่ยาวนานขึ้น โดยเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 100, 150 และ 200 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 นาที ปริมาณบีตาแคโรทีนลดลงร้อยละ 3, 6, 10 และ 59 ตามลำดับเมื่อเทียบกับปริมาณบีตาแคโรทีนขณะให้ความร้อนเป็นระยะเวลา 30 นาที

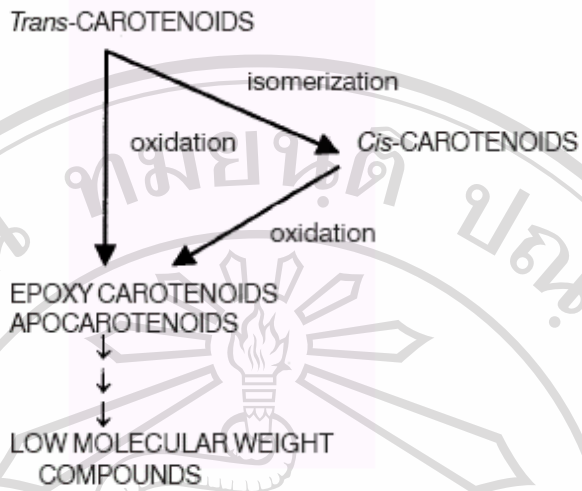
ดั่งภาพ 2.16 ทั้งนี้จากการศึกษาผลของพาสเจอไรเซชันและการทำน้ำส้มเข้มข้นต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ (Gama and Sylos, 2007) พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในน้ำส้มพาสเจอไรส์และน้ำส้มเข้มข้นลดลงร้อยละ 13 และ 18 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในน้ำส้มสด โดยพาสเจอไรเซชันจะทำให้เกิดการสูญเสียไวโอลาแซนทิน ลูเทอีน ซิกมาแคโรทีน แอลฟาแคโรทีน บีตาแคโรทีน และซีแซนทินไปร้อยละ 38, 20, 14, 13, 11 และ 9 ตามลำดับ แต่ปริมาณของบีตาคริปโตแซนทินกลับเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่วนกระบวนการทำน้ำส้มเข้มข้นจะทำให้สูญเสียไวโอลาแซนทิน ซิกมาแคโรทีน ซีแซนทิน ลูเทอีน แอลฟาแคโรทีน บีตาคริปโตแซนทิน และบีตาแคโรทีนไปร้อยละ 31, 29, 24, 17, 12, 5 และ 3 ตามลำดับ



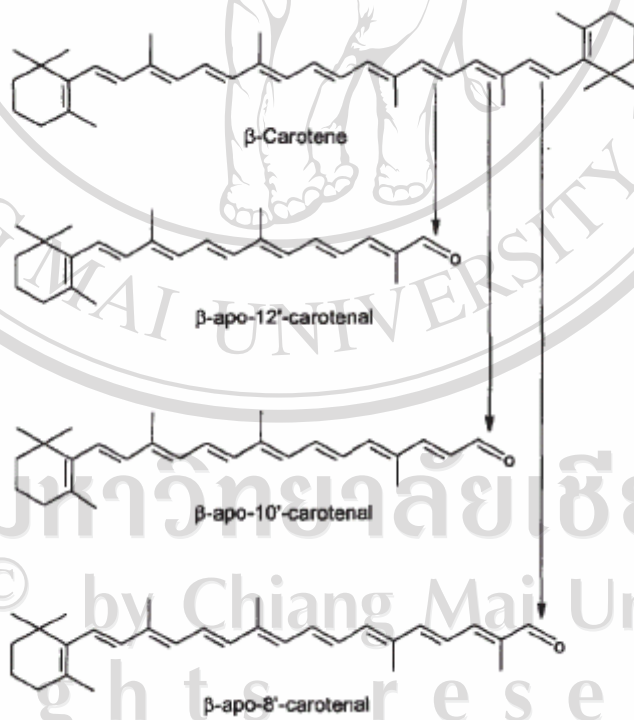
ภาพ 2.16 ปริมาณบีตาแคโรทีนของ Red palm olein ที่ได้รับความร้อน

ที่มา: Alyas *et al.*, 2006

สรุปได้ว่าปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ ได้แก่ โครงสร้างของแคโรทีนอยด์ ชนิดของวัตถุดิบที่ทำการศึกษา ปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่ การสัมผัสโดนแสง ปริมาณน้ำหรือวอเตอร์แอกติวิตี อุณหภูมิ บรรยากาศ การมีสารต้านอนุมูลอิสระ โปรออกซิแดนซ์ อนุมูลอิสระ และสารยับยั้ง (Rodriguez-Amaya, 1999) ทั้งนี้กลไกการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ในขั้นตอนแรกจะเกิดอีพอกไซด์ และอะโปแคโรทีนอยด์ จากนั้นจะเกิดการแตกตัวเป็นสารประกอบที่มีมวลโมเลกุลต่ำ ดังภาพ 2.17 และ 2.18 ทำให้เกิดการสูญเสีย และการทำงานทางชีววิทยาไปในที่สุด (Rodriguez-Amaya, 2001)



ภาพ 2.17 กลไกการสลายตัวของแคโรทีนอยด์
ที่มา: Rodriguez-Amaya, 2001



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

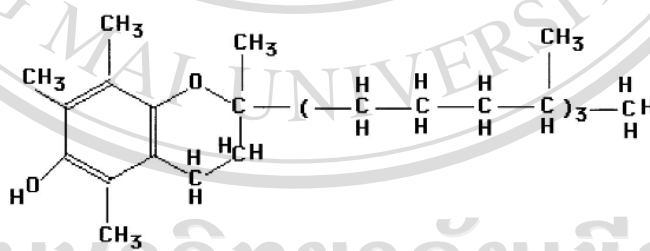
ภาพ 2.18 การเกิดอะโปแคโรทีนอยด์จากบีตาแคโรทีน
ที่มา: Rodriguez-amaya, 1999

2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ (German, 2002)

1. สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ

สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ เช่น กรดซิตริก กรดแอสคอร์บิก โทโคเฟอรอล และฟลาโวนอยด์ เป็นต้น ซึ่งเมื่อมีความเข้มข้นต่ำจะสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดี แต่เมื่อมีความเข้มข้นสูงจะเปลี่ยนเป็นโปรออกซิแดนท์ ซึ่งโทโคเฟอรอลหรือวิตามินอีชนิดแอลฟา (ภาพ 2.19) บีตา แกมมา และเดลต้าเป็นชนิดที่นิยมใช้มากที่สุด (นิธิยา, 2548) โดย Khan and Shahidi (2001) พบว่า เดลต้าโทโคเฟอรอล สามารถต้านอนุมูลอิสระใน Borage และ Evening primrose triacylglycerols ได้ดีกว่าแกมมาโทโคเฟอรอล นอกจากนี้ยังมีสารที่สกัดได้จากพืชหรือสมุนไพร เช่น สารสกัดโรสแมรี่ เป็นต้น Gordon *et al.* (2001) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากน้ำมันมะกอก ได้แก่ Hydroxytyrosol acetate, Hydroxytyrosol, Oleuropein, 3,4-DHPEA-EA (ไอโซเมอร์ของ Oleuropein aglycon) และ แอลฟาโทโคเฟอรอล มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ โดย Hydroxytyrosol สามารถต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันได้ดีที่สุด รองลงมาคือ Hydroxytyrosol acetate, 3,4-DHPEA-EA, แอลฟาโทโคเฟอรอล และ Oleuropein ตามลำดับ ส่วนในอิมัลชัน พบว่าแอลฟาโทโคเฟอรอลจะสามารถให้ผลในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด รองลงมาคือ 3,4-DHPEA-EA, Oleuropein, Hydroxytyrosol acetate และ Hydroxytyrosol ตามลำดับ



ภาพ 2.19 โครงสร้างของแอลฟาโทโคเฟอรอล (α -Tocopherol)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Biacs and Daood (2000) ได้ศึกษาการสลายตัวของแคโรทีนอยด์จากมะเขือเทศ ในสถานะที่มีวิตามินซีและวิตามินอี ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ กรดแอสคอร์บิกจนถึง 1.8 มิลลิโมลาร์ สามารถช่วยลดการสลายตัวของไลโคพีนและไลโคแซนทีน ได้เพิ่มขึ้น ซึ่งจะลดการสลายตัวได้สูงสุดถึงร้อยละ 93 และ 79 ตามลำดับ แต่การสลายตัวของ บีตาแคโรทีนนั้นจะลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น สำหรับการเติมแอลฟาโทโคเฟอรอลอะซิเตดที่

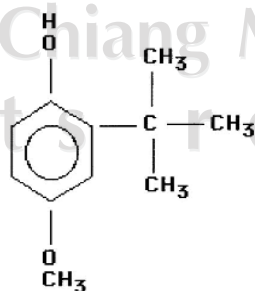
ความเข้มข้นต่างๆ จนถึง 7.5 มิลลิโมลาร์ สามารถช่วยลดการสลายตัวของบีตาแคโรทีนได้ดีกว่าไลโคพีนและไลโคแซนทีน นอกจากนี้การเติมทั้งกรดแอสคอร์บิก 0.6 มิลลิโมลาร์ และแอลฟาโทโคเฟอรอลอะซีเตต 2.5 มิลลิโมลาร์ นั้นพบว่าสามารถช่วยลดการสลายตัวของไลโคพีนได้ดีกว่าการใช้แอลฟาโทโคเฟอรอลอะซีเตตเพียงอย่างเดียว และยังทำให้ความคงตัวของบีตาแคโรทีนในระบบลดลงอีกด้วย

2. สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์

สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์สามารถทนต่อสภาวะของกระบวนการผลิต เช่น การทอดหรือการอบได้ดี ในขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาตินั้นจะไม่สามารถทนต่อสภาวะของกระบวนการผลิตดังกล่าวได้ (German, 2002) ทั้งนี้สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์นั้นมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด แต่ชนิดที่นิยมใช้เติมลงในอาหารกันอย่างแพร่หลาย และได้รับการรับรองจาก Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA, 2005) มี 4 ชนิดดังต่อไปนี้

1) Butylated Hydroxyanisole (BHA)

BHA มีลักษณะเป็นขี้ผึ้ง สีขาว สามารถละลายได้ดีในน้ำมันและไขมัน แต่ไม่สามารถละลายได้ในน้ำ มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 180.24 จุดเดือด 264-270 องศาเซลเซียส และจุดหลอมเหลว 48-55 องศาเซลเซียส BHA เป็นส่วนผสมของ 2-*tert*-butyl-4-methoxyphenol และ 3-*tert*-butyl-4-methoxyphenol ซึ่งมากกว่าร้อยละ 90 จะอยู่ในรูป 3-isomer (ภาพ 2.20) ด้วยโครงสร้างที่เป็นหมู่ *tert*-butyl ซึ่งเชื่อมต่อกับหมู่ไฮดรอกซิลนั้นทำให้ BHA มีความคงตัวดีและไม่สลายตัวเมื่อผ่านกระบวนการผลิตด้วยความร้อนโดยเฉพาะกระบวนการอบ แม้ว่าจะทำให้ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของ BHA ลดลงไปบ้าง นอกจากนี้ BHA ยังอาจให้กลิ่นฟีนอลิก เมื่อได้รับอุณหภูมิสูง เช่น ผ่านกระบวนการทอดหรืออบ โดยทั่วไปมักใช้ BHA ร่วมกับสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่นๆ เช่น BHT, Propyl Gallate, Lecithin, Hydroquinone หรือ Methionine เป็นต้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ

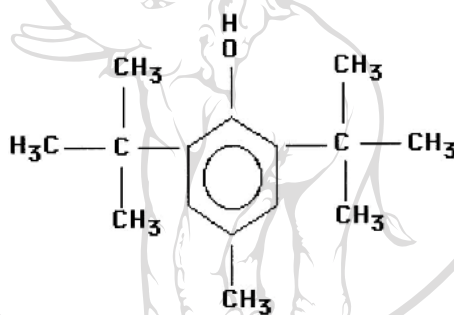


ภาพ 2.20 โครงสร้างของ BHA

ที่มา: German, 2002

2) Butylated Hydroxytoluene (BHT)

BHT (2,6-di-*tert*-butyl-*p*-cresol หรือ 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methylphenol) (ภาพ 2.21) มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ไม่สามารถละลายได้ในน้ำ แต่สามารถละลายในน้ำมันและไขมันได้ดีกว่า BHA มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 220.34 มีจุดเดือดและจุดหลอมเหลวเท่ากับ 265 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ทั้งนี้ BHT ยังสามารถละลายได้ใน โทลูอีน เมทานอล เอทานอล ไอโซโพรพานอล อะซีโตน เบนซีน และตัวทำละลายไฮโดรคาร์บอนอื่นๆ ด้วย นอกจากนี้ BHT ยังสามารถทนต่ออนุมูลอิสระและไม่สลายตัวเมื่อผ่านกระบวนการอบ แต่อย่างไรก็ตาม BHT จะให้ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ต่ำกว่า BHA เนื่องจากมีหมู่ *tert*-butyl อยู่รอบหมู่ไฮดรอกซีถึง 2 หมู่ อีกทั้งในสภาวะที่มีเหล็กอยู่ด้วย BHT ก็อาจจะทำให้เกิดสีเหลืองในผลิตภัณฑ์ เนื่องจากเกิดการสังเคราะห์ Stilbenequinone ขึ้น โดยทั่วไปมักใช้ BHT ร่วมกับสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่นๆ เช่น BHA เป็นต้น

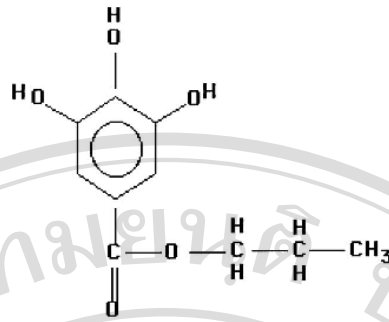


ภาพ 2.21 โครงสร้างของ BHT

ที่มา: German, 2002

3) Tertiary Butylhydroquinone (TBHQ)

TBHQ (2-(1,1-dimethylethyl)-1,4-benzenediol) (ภาพ 2.22) มีลักษณะเป็นผลึกสีขาวถึงสีน้ำตาลอ่อน มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 166.22 มีจุดเดือด 300 องศาเซลเซียส และจุดหลอมเหลว 126.5-128.5 องศาเซลเซียส สามารถละลายในน้ำมันและไขมันได้ปานกลาง ประมาณร้อยละ 5-10 และสามารถละลายในน้ำได้เล็กน้อยประมาณร้อยละ 1 ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ TBHQ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมนำไปใช้กันมาก นอกจากนี้ TBHQ ยังมีความคงตัวดี ไม่สลายตัวเมื่อผ่านกระบวนการผลิต และให้ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารตัวอื่นๆ ด้วย ทั้งนี้อาจมีการใช้กรดซิตริกร่วมด้วยเพื่อเพิ่มความคงตัว แต่ห้ามใช้ TBHQ ร่วมกับ Propyl Gallate

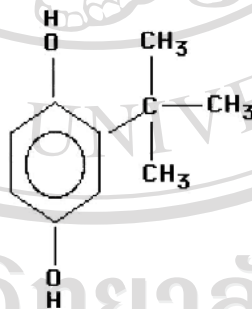


ภาพ 2.22 โครงสร้างของ TBHQ

ที่มา: German, 2002

4) Propyl Gallate (PG)

PG (3,4,5-trihydroxybenzoic acid propyl ester) (ภาพ 2.23) มีลักษณะเป็นผลึกสีขาวถึงสีเทาอ่อน มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 212.20 มีจุดหลอมเหลว 150 องศาเซลเซียส และละลายตัวที่อุณหภูมิสูงกว่า 148 องศาเซลเซียส สามารถละลายได้บางส่วนในน้ำ แอลกอฮอล์ อีเทอร์ และสามารถละลายในน้ำมันได้ดี ทั้งนี้เนื่องจาก PG มีจุดหลอมเหลวต่ำ จึงทำให้ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระต่ำ เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 190 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ PG ยังไวต่อความร้อนทำให้สลายตัวไปเมื่อผ่านกระบวนการทางความร้อนอีกด้วย โดยทั่วไปจึงมักใช้ PG ร่วมกับ BHA หรือ BHT เพื่อเพิ่มความคงตัวและประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ

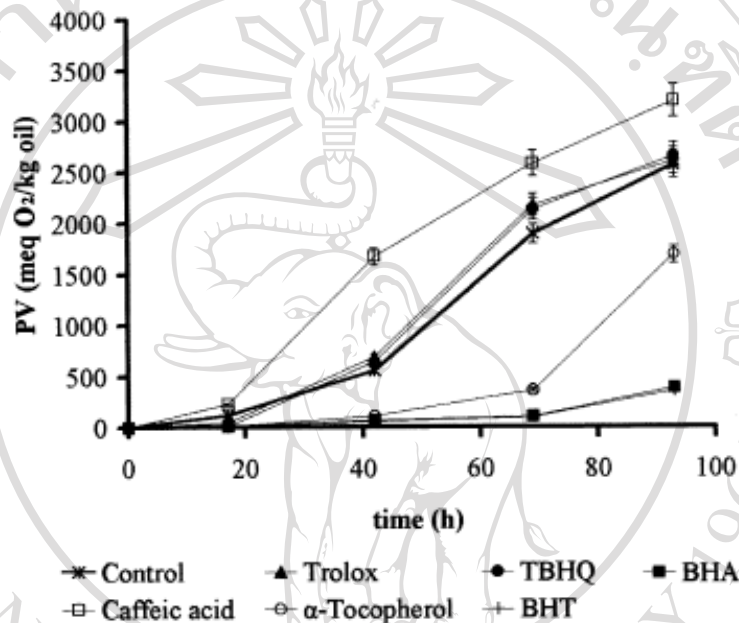


ภาพ 2.23 โครงสร้างของ PG

ที่มา: German, 2002

Khan and Shahidi (2001) ได้ศึกษาผลของสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ และสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ต่อความคงตัวของ Borage และ Evening primrose triacylglycerols พบว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ โดย TBHQ มีประสิทธิภาพดีที่สุด รองลงมาคือ BHA และ BHT ตามลำดับ ทั้งนี้ Nenadis *et al.* (2003) ได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพของ

สารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้ในอาหารทั่วไป ได้แก่ BHA, BHT, TBHQ, Caffeic acid, Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetra-methyl-chroman-2-carboxylic acid) และแอลฟาโทโคเฟอรอล ในระบบอิมัลชัน พบว่า BHA และ BHT มีประสิทธิภาพดีที่สุด (ภาพ 2.24) รองลงมาคือ แอลฟาโทโคเฟอรอล สำหรับ TBHQ และ Trolox นั้นมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน ส่วน Caffeic acid นั้นอาจจะเป็นโปรออกซิแดนท์หรือสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่ใช้



ภาพ 2.24 ค่าเพอร์ออกไซด์ (PV) ของ O/W Emulsion ร้อยละ 10 ที่เติมสารต้านอนุมูลอิสระ ชนิดต่างๆ 50 ไมโครโมลาร์ และเก็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ที่มา: Nenadis *et al.*, 2003

Gülçin *et al.* (2004) ได้ศึกษาสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดอะซีโตนและคลอโรฟอร์ม ที่ได้จาก Clary Sage (CS) เปรียบเทียบกับ BHA, BHT และแอลฟาโทโคเฟอรอล พบว่า BHT สามารถกำจัดไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ได้ดีที่สุด ซึ่งเมื่อเติม BHT 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกำจัดไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ได้ถึงร้อยละ 86 รองลงมาคือ แอลฟาโทโคเฟอรอล สารสกัดคลอโรฟอร์ม สารสกัดอะซีโตน ส่วน BHA มีประสิทธิภาพต่ำที่สุด ส่วนการศึกษาสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของชาที่ได้จาก Oregano, Thyme และ Wild Thyme เปรียบเทียบกับ BHA, BHT และแอลฟาโทโคเฟอรอล โดยวิธี β -carotene bleaching (BCB) (Kulišić *et al.*, 2006) พบว่า BHA สามารถรักษาสีของบีตาแคโรทีนไว้ได้มากที่สุด

รองลงมาคือ BHT, แอลฟาโทโคเฟอรอล ซาที่ได้จาก Oregano, Thyme และ Wild Thyme ตามลำดับ Iqbal and Bhangar (2007) ยังพบว่า การเติม BHT 200 ไมโครกรัมต่อกรัม ในน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวันสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีเทียบเท่ากับการเติมสารสกัดด้วยเมทานอล ที่สกัดได้จากกระเทียมถึง 1,000 ไมโครกรัมต่อกรัม ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระฟีนอลิก (Phenolic antioxidant) ในการป้องกันการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ในปาปริก้า (Cuvelier and Berset, 2005) โดยสารต้านอนุมูลอิสระที่ศึกษา ได้แก่ BHT, α -Tocopherol, Epigallocatechin gallate, Quercetin, Rosmarinic acid, Caffeic acid, Ferulic acid, *p*-Coumaric acid และ Catechin พบว่า BHT ให้ผลในการป้องกันการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุด และ Catechin ให้ผลในการป้องกันการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ต่ำที่สุด ดังตาราง 2.4

ตาราง 2.4 ค่า Power ของสารประกอบฟีนอลิก ในการป้องกันการซีดจางของสี

สารประกอบฟีนอลิก	1/C ($10^{-3} \text{ L mol}^{-1}$)	R ²
BHT	126.4	0.9861
α -Tocopherol	97.7	0.8996
Epigallocatechin gallate	50.9	0.9854
Quercetin	34.3	0.9866
Rosemarinic acid	13.7	0.9939
Caffeic acid	11.5	0.9955
Ferulic acid	10.1	0.9513
<i>p</i> -Coumaric acid	6.0	0.9728
Catechin	1.7	0.8711

ที่มา: Cuvelier and Berset, 2005

2.5 ปฏิกริยาทางจลนพลศาสตร์

อาหารต่างๆ มีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางเคมีและชีวภาพระหว่างการแปรรูปและการเก็บรักษา ซึ่งวัตถุประสงค์หลักของการแปรรูปและการเก็บรักษา คือ ต้องการควบคุมตัวแปรต่างๆ ซึ่งทำให้ปฏิกริยาต่างๆ เกิดขึ้นอย่างเหมาะสม โดยปฏิกริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการแปรรูปและการเก็บรักษาจะเกิดขึ้นด้วยอัตราที่แตกต่างกัน ปฏิกริยาเหล่านี้ (รุ่งนภา, 2540) ได้แก่

- 1) การเปลี่ยนแปลงทางเคมี เช่น ออกซิเดชัน และไฮโดรไลซิส
- 2) การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ เช่น การเกิดกลิ่นรสผิดปกติ
- 3) การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เช่น การเปลี่ยนสี และแยกชั้นของครีม
- 4) การเปลี่ยนแปลงทางคุณค่าอาหาร เช่น การสูญเสียวิตามิน
- 5) การเปลี่ยนแปลงทางด้านประสาทสัมผัส เช่น การสูญเสียกลิ่นรส

1. จลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยา

การศึกษาและควบคุมจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยานั้นจะต้องมีการวัดว่าปฏิกิริยาดำเนินไป ด้วยความเร็วระดับใด อะไรคืออัตราของปฏิกิริยาและจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยา ซึ่งมีสมการ พื้นฐานสำหรับการเปลี่ยนแปลงทั้งหมดในระหว่างการแปรรูปและการเก็บรักษา ดังนี้

$$\frac{dC}{dt} = f(C, T) \quad (2.1)$$

เมื่อ $\frac{dC}{dt}$ เป็นอัตราการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้น
 C เป็นความเข้มข้นของสารที่เวลาหนึ่งๆ
 T เป็นอุณหภูมิ

สมการนี้จะมีประโยชน์อย่างมากถ้าทราบ $f(C, T)$ ในกระบวนการใดๆ ที่สนใจ เพื่อให้มี รายละเอียดข้อมูลเพียงพอต่อการคำนวณ

การเปรียบเทียบอัตราของปฏิกิริยาในตัวอย่างง่ายๆ เช่น ในการผลิตแยม ปฏิกิริยาที่ พิจารณา ดังนี้



เมื่อควบคุมความเป็นกรดต่างและอุณหภูมิให้คงที่ การเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยของซูโครส เทียบกับเวลา ดังนี้

$$\frac{\Delta C_A}{C_A} = -k\Delta t \quad (2.2)$$

ถ้าเวลาสั้นมาก จะได้สมการอัตราดังนี้

$$\frac{dC_A}{dt} = -k \cdot C_A$$

ซึ่งเป็นกรณีพิเศษของสมการที่ขึ้นกับความเข้มข้น (C_A) เรียกปฏิกิริยานี้ว่า ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ค่าคงที่อัตรา (k) หาได้จากการนำข้อมูลของกราฟที่เกี่ยวข้องกับความเข้มข้นเริ่มต้นของ A เทียบกับเวลาในหน่วยของนาที่ มาเขียนกราฟระหว่าง $\ln(C_A/C_{A0})$ เทียบกับเวลาซึ่งจะให้กราฟเส้นตรงและมีความชันเป็น k ซึ่งเรียกว่า Rate constant

จลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาเกี่ยวข้องกับรูปของ $f(C)$ โดยหลักการแล้วจลนพลศาสตร์เป็นค่าที่ได้จากการทดลองซึ่งอธิบายสิ่งที่เกิดขึ้นจริงในอาหาร แม้ว่าจะมีความพยายามที่จะใช้ทฤษฎีในการอธิบายก็ตาม แต่ในที่สุดก็ต้องใช้การทดลองช่วยสรุปในขั้นสุดท้าย เมื่อได้ค่าทางจลนพลศาสตร์แล้วขั้นตอนต่อไปคือ การใช้ค่าเหล่านี้แทนลงในสมการทางคณิตศาสตร์ แล้วทำการแก้สมการออกมา โดยทั่วไปแล้วปฏิกิริยาเหล่านี้มักเกิดขึ้นในระบบที่กำหนด ซึ่งอาจเรียกระบบทางกายภาพที่ปฏิกิริยาเหล่านี้เกิดขึ้นว่า Reactor

สมการพื้นฐานที่สำคัญมี 2 สมการ คือ Rate of reaction และการใช้ผลของความเข้มข้นและอุณหภูมิต่อปฏิกิริยา ดังต่อไปนี้

1) Reaction kinetic equation

$$-r_A = \frac{-dC_A}{dt} = f(C_A, C_B, \dots, T) \quad (2.3)$$

เมื่อ $C_A, C_B, \dots,$ เป็นความเข้มข้นขององค์ประกอบต่างๆ ของอาหารในสูตร
 T เป็นอุณหภูมิ

2) ผลของอุณหภูมิและ/หรือความเข้มข้นต่ออัตราของปฏิกิริยา (Rate of reaction) โดยอุณหภูมิและความเข้มข้นไม่ขึ้นต่อกัน

$$\frac{-dC_A}{dt} = k(T) f(C_A)$$

หรือ

$$\frac{-dC_A}{f(C_A)} = k(T) dt \quad (2.4)$$

การออกแบบ วางแผนและควบคุมกระบวนการต่างๆ สมการพื้นฐาน (2.3) และ (2.4) สามารถอินทิเกรตเทียบกับเวลาเพื่อหาความเข้มข้นขององค์ประกอบที่ต้องการ ที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพอาหารในผลิตภัณฑ์สุดท้าย โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์อาหารจะมีหลายองค์ประกอบ บางองค์ประกอบก็มีความสำคัญกว่าองค์ประกอบอื่นๆ บางองค์ประกอบก็อาจเป็นองค์ประกอบ

วิกฤติ ดังนั้นถ้าเราทราบข้อมูลทางจลนพลศาสตร์ ผลของอุณหภูมิร่วมกับกระบวนการ เราก็สามารถควบคุมกระบวนการหรือปฏิกิริยานั้นๆ ให้เป็นไปตามที่เราต้องการได้

Arrhenius ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิ และพบสมการหนึ่งซึ่งกล่าวว่า Rate of reaction ที่อุณหภูมิหนึ่งเกี่ยวข้องกับ Rate of reaction ที่อีกอุณหภูมิหนึ่ง ดังนี้

$$k = Ae^{-E_a/RT} \quad (2.5)$$

หรือ

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT}$$

เมื่อ

- k เป็นค่าคงที่อัตรา
- A เป็น Arrhenius constant
- E_a เป็นพลังงานก่อกัมมันต์
- R เป็นค่าคงที่แก๊ส เท่ากับ 8.314 จูลต่อโมล เคลวิน
- T เป็นอุณหภูมิสัมบูรณ์

นั่นคือ อัตราของปฏิกิริยามีความสัมพันธ์กับส่วนกลับของอุณหภูมิสัมบูรณ์ทางเอกซ์โปเนนเชียล เราสามารถหาอัตราของปฏิกิริยาที่ 2 อุณหภูมิ แล้วแทนค่าในสมการ (2.5) จะได้ค่า E_a/R (รุ่งนภา, 2540)

2. อันดับของปฏิกิริยา

โมเลกุลที่เข้าทำปฏิกิริยากับ โมเลกุลอื่นๆ บางครั้งอาจทำปฏิกิริยากับสารเดียวกัน อัตราที่สารเหล่านี้เข้าทำปฏิกิริยากันเกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ของโมเลกุลที่อยู่ติดกัน ซึ่งก็คือความเข้มข้นนั่นเอง การแสดงความสัมพันธ์เป็นสมการสำหรับองค์ประกอบ A ตามสมการต่อไปนี้

$$-r_A = \frac{-dC_A}{dt} = f(C_A, C_B, \dots) k(T) \quad (2.6)$$

เมื่อ

C_B, \dots เป็นความเข้มข้นของโมเลกุลอื่น นอกเหนือจากโมเลกุล A

สัญลักษณ์ที่ติดลบ มาจากความจริงที่ว่าสารที่เข้าทำปฏิกิริยากันซึ่งเป็นความเข้มข้นขององค์ประกอบเริ่มต้นจะลดลงเมื่อเวลาผ่านไป

ถ้าความเข้มข้นของโมเลกุลอื่นๆ มีค่าคงที่ และถ้าเราตั้งสมมติฐานว่าเป็นสัดส่วนของ Power law ดังนั้นที่อุณหภูมิกงที่ จะได้สมการต่อไปนี้

$$-r_A = \frac{-dC_A}{dt} = k \cdot C_A^n \quad (2.7)$$

เมื่อ k เป็นค่าคงที่อัตรา
 n เป็นอันดับของปฏิกิริยา

สมการที่ (2.7) นี้กล่าวว่า อัตราที่องค์ประกอบ A ของอาหารเปลี่ยนแปลงจะเป็นค่าคงที่
 ควบคู่กับความเข้มข้นของ A ที่ยกกำลัง n ซึ่งเป็นอันดับของปฏิกิริยา ส่วนค่าคงที่อัตรานั้นขึ้นอยู่กับ
 ปัจจัยต่างๆ เช่น อุณหภูมิและความเข้มข้นขององค์ประกอบอื่นๆ ของอาหาร

จะเห็นว่า วิธีดังกล่าวเป็นการแสดงปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการแปรรูปอาหารหรือใน
 ระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งทำให้ผู้แปรรูปอาหารทราบว่าองค์ประกอบของอาหารหนึ่งๆ ทำปฏิกิริยา
 หรือเปลี่ยนรูปไปมากน้อยแค่ไหนในช่วงเวลาหนึ่ง ซึ่งอาจเป็นเวลาของการฆ่าเชื้อ หรือสูญเสีย
 วิตามินระหว่างการเก็บ โดยการทำอินทิเกรตในช่วงเวลาหนึ่ง แล้วทำการรวมมวลที่ทำปฏิกิริยาใน
 ช่วงเวลาที่เพิ่มขึ้นทีละน้อยเหล่านี้ การอินทิเกรต Rate equation เป็นวิธีการมาตรฐานทาง
 คณิตศาสตร์ โดยรูปการอินทิเกรตจะแปรเปลี่ยนไปตามค่าของ n ดังนี้

สำหรับ $n = 1$;

$$\frac{dC_A}{dt} = -k C_A$$

หรือ

$$\frac{dC_A}{C_A} = -k dt \quad (2.8)$$

ดังนั้นถ้า k ไม่เป็นฟังก์ชันกับเวลา t หมายความว่าอุณหภูมิคงที่ และองค์ประกอบอื่นๆ
 ไม่ได้ทำปฏิกิริยา ดังนั้นถ้าความเข้มข้นเริ่มต้นขององค์ประกอบ A เป็น C_{A0} ที่เวลา $t=0$ และ C_A ที่
 เวลา t เมื่ออินทิเกรตสมการ (2.8) จะได้สมการต่อไปนี้

$$\ln\left(\frac{C_A}{C_{A0}}\right) = -k \cdot t \quad (2.9)$$

$$C_A = C_{A0} e^{-kt} \quad (2.10)$$

สำหรับ $n \neq 1$;

$$\frac{-dC_A}{C_A^n} = k C_A^n$$

$$\frac{-dC_A}{C_A^n} = k dt$$

เมื่อทำการอินทิเกรตจะได้
$$\int_{C_A}^{C_{A0}} \frac{dC_A}{C_A^n} = \int_0^t k dt = -k \int_0^t dt$$

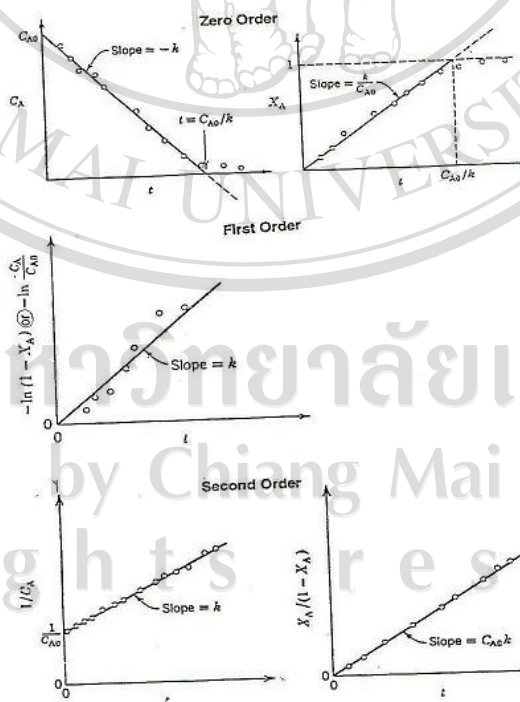
ดังนั้น
$$C_A^{1-n} - C_{A0}^{1-n} = (n-1)kt$$

สำหรับ $n=2$;
$$C_A^{-1} - C_{A0}^{-1} = (2-1)kt \tag{2.11}$$

$$\frac{1}{C_A} - \frac{1}{C_{A0}} = (2-1)kt$$

$$\frac{1}{C_A} - \frac{1}{C_{A0}} = kt \tag{2.12}$$

สมการ (2.9) และ (2.11) แสดงให้เห็นถึงความก้าวหน้าของปฏิกิริยาหนึ่งๆ ซึ่งองค์ประกอบอาหาร A ที่มีความเข้มข้น C_A เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเทียบกับเวลา t ตามสมการทั้งสองขึ้นกับค่า n และ k ถ้าเขียนกราฟระหว่าง $\ln(C_A/C_{A0})$ หรือ $C_A^{1-n} - C_{A0}^{1-n}$ เทียบกับเวลา t กราฟที่ได้ควรเป็นกราฟเส้นตรงดังแสดงในภาพ 2.25 โดยที่ค่า $X_A = 1 - (C_A/C_{A0})$ นอกจากนี้ค่า n ไม่จำเป็นต้องเป็นเลขจำนวนเต็ม แต่ในระบบของอาหารมักมีค่า n อยู่ระหว่าง 0 ถึง 2 ($0 \leq n \leq 2$)



ภาพ 2.25 กราฟเส้นตรงของปฏิกิริยาอันดับต่างๆ

ที่มา: รุ่งนภา, 2540

การหาค่าคงที่อัตราและอันดับของปฏิกิริยาในทางทฤษฎี จำเป็นต้องหาข้อมูลจากการทดลอง โดยทำการวัดความเข้มข้นขององค์ประกอบต่างๆ ในระบบอาหารหนึ่งๆ เทียบกับเวลา ภายใต้สภาวะคงที่ เช่น อุณหภูมิ เทคนิคในการวิเคราะห์จะใช้ความสอดคล้องของข้อมูลจากการทดลองกับสมการที่ใช้อธิบายผลการทดลอง เช่น ถ้าผลการทดลองสอดคล้องกับปฏิกิริยาอันดับ 0 ($n = 0$) ก็จะใช้สมการอันดับ 0 เพื่ออธิบายหรือทำนายการเปลี่ยนแปลงในอาหาร (รุ่งนภา, 2540)

3. ผลของอุณหภูมิ

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างการแปรรูปและการเก็บรักษา จะเห็นว่าอุณหภูมิมิผลต่ออัตราของปฏิกิริยาก่อนข้างมาก ที่อุณหภูมิต่ำปฏิกิริยาจะดำเนินไปได้ช้ากว่า และที่อุณหภูมิสูงปฏิกิริยาจะดำเนินไปได้เร็วกว่า เดิมนักเคมีได้สังเกตว่าอัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นประมาณสองเท่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิทุก 10 องศาเซลเซียส

Arrhenius ได้ศึกษาปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของซูโครสพบว่าเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง จากนั้นจึงทำการวัดค่าคงที่ของอัตราที่อุณหภูมิต่างๆ เมื่อสร้างกราฟระหว่าง $\log k$ เทียบกับส่วนกลับของอุณหภูมิสัมบูรณ์ ($1/T$) จะได้กราฟเส้นตรง ดังนี้

$$\ln k = \ln A - \left(\frac{S}{T} \right) \quad (2.13)$$

$$k = Ae^{-(S/T)} \quad (2.14)$$

เมื่อ A และ S เป็นค่าคงที่
 T เป็นอุณหภูมิสัมบูรณ์ (K)

A เป็นค่าคงที่ทางคณิตศาสตร์ที่เท่ากับค่า k เมื่อ $T = \text{Frequency factor}$ และเมื่อเทียบทางเทอร์โมไดนามิกส์ ความชัน S ของเส้นตรงสามารถเทียบได้เป็น $-E_a/R$

เมื่อ E_a เป็นพลังงานก่อกัมมันต์
 R เป็นค่าคงที่แก๊สมีค่าเท่ากับ 8.314 จูลต่อโมล เคลวิน

ดังนั้นจากสมการ (2.14) จะได้

$$k = Ae^{-E_a/RT} \quad (2.15)$$

เรียกสมการ (2.15) ว่าสมการ Arrhenius และอาจเขียนได้ว่า

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (2.16)$$

ค่าพลังงานก่อกัมมันต์ จะบอกให้ทราบว่าอัตราของปฏิกิริยาเปลี่ยนแปลงไปอย่างไร เมื่อเทียบกับอุณหภูมิ ขณะที่ค่าคงที่อัตรา จะบอกให้ทราบว่าปฏิกิริยาเร็วหรือช้าอย่างไร (รุ่งนภา, 2540)

Decimal reduction time (ค่า D) หมายถึงเวลาที่ปริมาณความเข้มข้นของสารจะลดลงไปร้อยละ 90 ซึ่งมีความสัมพันธ์กับค่าคงที่อัตรา (Vikram *et al.*, 2005) ดังสมการ 2.17

$$D = \frac{2.303}{k} \quad (2.17)$$

และค่า D จะมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิ และค่า z (Vikram *et al.*, 2005) ดังสมการ 2.18

$$\ln\left(\frac{D_1}{D_2}\right) = \frac{(T_2 - T_1)}{z} \quad (2.18)$$

เมื่อ D_1 และ D_2 เป็นค่า Decimal reduction time ที่อุณหภูมิ T_1 และ T_2 ตามลำดับ
 z เป็นค่าอุณหภูมิที่ทำให้ค่า D ลดลงไป 1 log cycle