



การผลิตผลิตภัณฑ์อาหารจากแคโรทีนอยด์ในเนื้อตาลสุก



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การผลิตสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ในเนื้อตาลสุก

โดย  
นางสาวไอลดา ปิงสุแสน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร

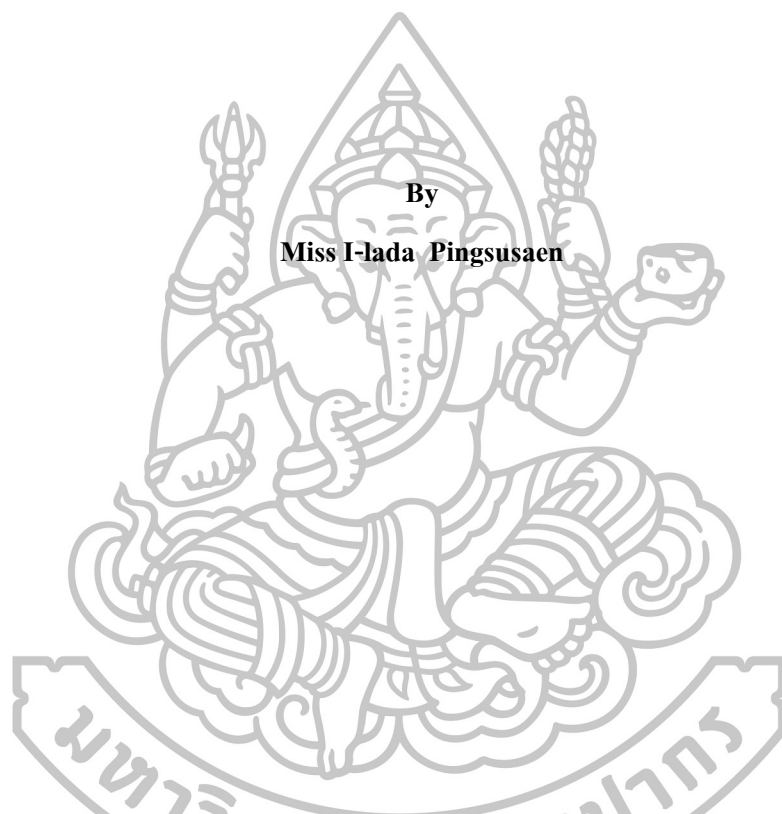
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

**PRODUCTION OF FOOD COLORANT FROM CAROTENOIDS IN PALMYRA PULP**

**By  
Miss I-lada Pingsusaen**



**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree**

**Master of Science Program in Food Technology**

**Department of Food Technology**

**Graduate School, Silpakorn University**

**Academic Year 2015**

**Copyright of Graduate School, Silpakorn University**

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “ การผลิตสีผสมอาหาร จากแคโรทีนอยด์ในเนื้อตาลสุก ” เสนอโดย นางสาวไอลดา ปิงสุแสน เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ธารทัศนวงศ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศรี ลีจිරจำเนียร

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประสงค์ ศิริวงศ์โลชาติ)

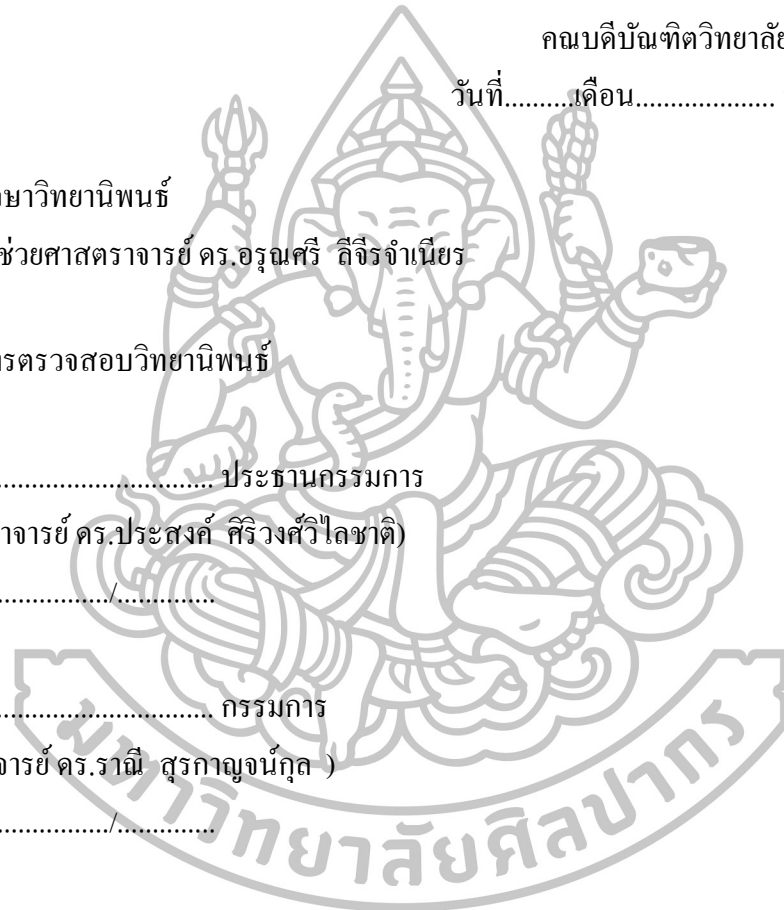
...../...../.....

..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ราณี สุรกาญจน์กุล )

...../...../.....

..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศรี ลีจिरจำเนียร)

...../...../.....



57403220 : สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

คำสำคัญ : แครโรทีนอยด์/อิมัลชัน/เนื้อตาล

โอลดา ปิงสุแสน : การผลิตสีผสมอาหารจากแครโรทีนอยด์ในเนื้อตาลสุก. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผศ.ดร. อรุณศรี ลีจิระจันทร์. 106 หน้า.

ลูกตาล (*Borassus flabellifer* Linn.) เป็นพรรณไม้ที่นิยมปลูกมากทางภาคตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศไทย ซึ่งมีการศึกษาพบว่าเนื้อลูกตาลสุกนั้นประกอบด้วยแครโรทีนอยด์อยู่หลายชนิด จึงมีแนวโน้มที่จะสามารถนำมาผลิตเป็นสีผสมอาหารจากธรรมชาติได้ ในการศึกษาครั้งนี้เปรียบเทียบวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างชนิดกันคือเอทานอล เอธิลอะซิเตทและเอธิลอะซิเตทผสมเอทานอลในอัตราส่วน 3:4 (v/v) จากการทดลองพบว่าสกัดได้ปริมาณของแครโรทีนอยด์ 1893.78, 490.52 และ 2,204.3  $\mu\text{g/g}$  dried wt และได้น้ำตัวอย่างลูกตาลไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียสก่อนการสกัด เพื่อศึกษาสภาวะการสกัดแครโรทีนอยด์จากเนื้อตาลสุกที่มีประสิทธิภาพสูงสุด การทดลองพบว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้งวัตถุดิบก่อนนำไปสกัดที่เหมาะสมที่สุดคือ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 55 นาที โดยเฉพาะเมื่อใช้ตัวทำละลายเอธิลอะซิเตทผสมเอทานอลสามารถเพิ่มการสกัดแครโรทีนอยด์เป็น 3,682.23 ( $\mu\text{g/g}$  dried wt) และมีประสิทธิภาพในการสกัดเป็นร้อยละ 94.6 ดังนั้นการใช้เทคนิคการอบแห้งเนื้อตาลก่อนนำมาสกัดร่วมกับการใช้ตัวทำละลายจึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดแครโรทีนอยด์จากเนื้อตาลสุกมากขึ้น อย่างไรก็ตามการสกัดแครโรทีนอยด์มีข้อจำกัดในการนำไปใช้งานคือไม่ละลายน้ำและไม่คงตัวต่อออกซิเจน แสงและความร้อน ยกที่จะประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อที่จะเอาชนะข้อจำกัดเหล่านี้จึงมีการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการกักเก็บแครโรทีนอยด์ให้อยู่ในรูปของอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (O / W) ซึ่งอิมัลชันเป็นวิธีที่ช่วยเพิ่มการกระจายตัว เพิ่มความคงตัว และรักษาที่มีคุณค่าทางโภชนาการ ในงานวิจัยครั้งนี้ศึกษาเปรียบเทียบผลของชนิดและความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์ อิมัลซิไฟเออร์ที่ใช้ได้แก่สแตร์ชคัดเปร์ OSA (octenyl succinic anhydride) คือ OSA1, OSA2 และเวย์ไอโซเลท (WPI) โดยความเข้มข้นของ OSA ที่ใช้ร้อยละ 5, 10, 15, 20 และ 25 และความเข้มข้นของเวย์ไอโซเลทที่ใช้ร้อยละ 1, 5, 10, 15 และ 20 หลังจากผ่านการทำอิมัลชันแล้วจะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 35 และ 5 องศาเซลเซียส แล้ววัดความคงตัว ปริมาณแครโรทีนอยด์ที่ถูกกักเก็บ การเปลี่ยนแปลงของสี ขนาคอนุภาค เป็นดัชนีตัดสินชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมของอิมัลซิไฟเออร์ จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมและทำให้อิมัลชันคงตัว คือ OSA1 ร้อยละ 15-25, OSA2 ร้อยละ 20-25 และเวย์ไอโซเลทร้อยละ 25 นอกจากนี้การเก็บอิมัลชันไว้ที่ 5 องศาเซลเซียสจะช่วยเพิ่มความคงตัวให้กับอิมัลชันได้มากกว่าที่ 35 องศาเซลเซียส ส่วนการศึกษาชนิดของน้ำมันที่เหมาะสมในการทำอิมัลชันระหว่างน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว รวมทั้งอัตราส่วนของเฟสน้ำมันคือเฟสน้ำ จากการทดลองพบว่าน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าวมีความสามารถในการกักเก็บแครโรทีนอยด์ที่ใกล้เคียงกัน โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 อีกทั้งยังให้ความคงตัวกับอิมัลชันในระหว่างการเก็บรักษา 30 วัน อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากความแตกต่างของค่าสีพบว่าน้ำมันถั่วเหลืองมีอัตราการเปลี่ยนแปลงของสีที่น้อยกว่าน้ำมันมะพร้าว จึงเลือกน้ำมันถั่วเหลืองมาใช้ในการศึกษาอัตราส่วนของเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำ ในการทำอิมัลชันพบว่าการใช้อัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ 1:9, 2:8 และ 3:7 ทุกอัตราส่วนมีความสามารถในการกักเก็บแครโรทีนอยด์ใกล้เคียงกัน แต่ที่อัตราส่วนที่ 1:9 และ 2:8 ระบบอิมัลชันที่ได้มีความคงตัวมากกว่าที่อัตราส่วน 3:7 เมื่อพิจารณาจากความแตกต่างของค่าสี พบว่าที่อัตราส่วน 1:9 มีความแตกต่างของค่าสีน้อยที่สุด ดังนั้นในการทำอิมัลชันแครโรทีนอยด์จึงต้องคำนึงถึงวิธีการเตรียมอิมัลชันและอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่เหมาะสม จากการศึกษาพบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะใช้สารสกัดแครโรทีนอยด์ที่ได้จากเนื้อตาลสุกมาผลิตเป็นสีผสมอาหารจากธรรมชาติได้

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2558

57403220 : MAJOR : FOOD TECHNOLOGY

KEY WORD : CAROTENOIDS/EMULSION/PALMYRA PULP

I-LADA PINGSUSAEN : PRODUCTION OF FOOD COLORANT FROM CAROTENOIDS IN PALMYRA PULP. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. ARUNSRI LEEJEERAJUMNEAN. 106 pp.

Palmyra (*Borassus flabellifer* Linn.) is a plant that commonly grown in the west of Thailand. Many studies reported that the yellow color of palmyra pulp had many different types of carotenoids. This study was aimed to compare the extraction processes using different food grade solvents which were ethanol, ethyl acetate and ethyl acetate: ethanol (3:4, v/v) to extract carotenoids from palmyra pulp. The results showed that the carotenoid content were 1893.78, 490.52 and 2,204.33  $\mu\text{g/g}$  dried wt. The carotenoids content was the highest by extraction with mixing solvent (ethyl acetate: ethanol, 3:4, v/v). Palmyra pulp was also dried at varying temperature, 40, 50 and 60°C before extraction. The results showed that drying of raw materials at 50°C for 175 min before extraction gave the highest carotenoids content, 3,682.23  $\mu\text{g/g}$  dried wt with extraction yield of 94.6 %. So, drying palmyra pulp before extraction with food grade solvents increased the efficiency carotenoid extraction. However, the carotenoids structure have high degree of unsaturation and it is difficult for applications in food industry because carotenoids is insoluble in water and also sensitive to oxygen light and temperature. To overcome these limitations, a useful method is to entrap carotenoids into vehicle oil-in-water (O/W) emulsion system which is a way to increase the dispersibility, stability and bioavailability. The purpose of this study was to investigate the types and concentration of emulsifiers between modified starch OSA (OSA1 and OSA2) and whey protein isolate (WPI). The concentrations of OSA 5, 10, 15, 20 and 25% while WPI 1, 5, 10, 15 and 20 % were added in the emulsion system. After that the carotenoid were kept at 5 and 35°C, then stability, carotenoid retention, the change of color and particle size were used as indicator for types and concentration of emulsifier selection. The results found that the suitable emulsifiers were OSA1 15-25%, OSA2 20-25% and whey protein 25% and the suitable keeping temperature was 5 °C. Then the effect of oil types between soybean oil and coconut oil in oil phase of emulsion and the ratio of oil:water were investigated. 15% of OSA1 was used as the emulsifier for investigation the effect of types of oil. The result found that there was no difference ( $p>0.05$ ) in the percentage of carotenoid retention and % creaming between those two kinds. However, the emulsion with soybean oil had the color difference less than coconut oil. Then, soybean oil was used as oil phase for investigation the effect of the ratio of oil:water. The oil: water phase was at 1:9, 2:8 and 3:7. The results showed that the tested ratio had no difference ( $p>0.05$ ) in term of carotenoid retention. However, the emulsion with the ratio of 3:7 showed the highest percentage of creaming in the first 5 days storage. The emulsions with the ratio of 1:9 and 2:8 showed differently, because their emulsions still stable during keeping for 30 days. Although the emulsion with the ratio of 1:9 had the color difference less than 2:8. Overall these results gave useful information for preparation of carotenoid emulsion of yellow colorant from palmyra pulp.

Department of Food Technology  
Student's signature .....  
Thesis Advisor's signature .....

Graduate School, Silpakorn University  
Academic Year 2015

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรุณศรี ลีจิระจำเนียร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่เสียสละเวลาคอยให้คำแนะนำ ให้คำปรึกษา ช่วยเหลือ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลงได้อย่างสมบูรณ์ รวมทั้งผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.ราณี สุรกาญจน์กุล ผู้ทรงคุณวุฒิ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และข้อเสนอแนะ ที่เป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัย ส่งผลให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณในความกรุณาของท่านเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัวทุกคนที่คอยให้กำลังใจ ให้ความช่วยเหลือ และให้การสนับสนุนในทุกๆ ด้านด้วยดีเสมอมา

ขอขอบพระคุณนายสุทธิพงษ์ โพธิ์สุขสิริกุล และนางสาวนางสาววิภา ชัยพงษา ที่คอยให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือในการทำวิจัยในครั้งนี้มาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณเพื่อนๆ ปริญญาโททุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา และสุดท้ายขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร สำหรับสิ่งอำนวยความสะดวกทั้งเครื่องมือและอุปกรณ์ รวมถึงสถานที่ในการทำวิจัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง .....	ญ
สารบัญภาพ .....	ฎ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย .....	2
1.3 สมมติฐานของการศึกษา.....	3
1.4 ขอบเขตการศึกษา.....	3
2 เอกสารที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย .....	4
2.1 แคโรทีนอยด์ (carotenoids) .....	4
2.1.1 แคโรทีนอยด์ .....	4
2.1.2 ชนิดของแคโรทีนอยด์.....	4
2.1.3 การสลายตัวของแคโรทีนอยด์ .....	7
2.2 ตาล (Palmyra) .....	8
2.2.1 การวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ในเนื้อตาลสุก .....	10
2.2.2 ชนิดของแคโรทีนอยด์ที่พบในเนื้อตาลสุก .....	12
2.3.การสกัดแคโรทีนอยด์ (carotenoids extraction).....	13
2.3.1 การสกัด .....	14
2.3.2 การแยกส่วนแคโรทีนอยด์.....	14
2.3.3 สaponification.....	14
2.4 การทำอิมัลชันของแคโรทีนอยด์ (carotenoids emulsion).....	16



บทที่	หน้า
2.4.1 อิมัลชัน .....	16
2.4.2 ความไม่คงตัวของอิมัลชัน .....	17
2.5 การทำอิมัลชันของแคโรทีนอยด์ .....	18
2.5.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำอิมัลชันแคโรทีนอยด์ .....	18
2.6 สตาร์ชตัดแปร (modified starch).....	21
2.7 สตาร์ชตัดแปรออกทีนิลซัคซินิกแอนไฮไดรด์ (octenyl succinic anhydride modified starches).....	22
2.7.1 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสตาร์ชด้วยออกทีนิลซัคซินิกแอนไฮไดรด์ ..	23
2.7.2 ชนิดของสตาร์ชตัดแปร OSA.....	23
2.7.3 แหล่งกำเนิดพฤกษศาสตร์ของสตาร์ช .....	24
2.7.4 การใช้สตาร์ชตัดแปรเป็นอิมัลซิไฟเออร์.....	25
2.8 เวย์ (whey).....	26
2.8.1 การแบ่งประเภทของเวย์ .....	26
2.8.2 กระบวนการแยกเวย์ด้วยเมมเบรน .....	27
2.8.3 การนำเวย์มาใช้ในระบบอิมัลชัน .....	29
3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง .....	30
3.1 วัตถุประสงค์ สารเคมี เครื่องมือ และอุปกรณ์ในการวิจัย .....	30
3.1.1 วัตถุประสงค์.....	30
3.1.2 สารเคมี .....	30
3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ .....	30
3.2 วิธีการทดลอง .....	32
3.2.1 การศึกษากระบวนการสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยตัวทำละลายจากเนื้อลูกตาล..	32
3.2.2 การศึกษากระบวนการทำอิมัลชันสารสกัดแคโรทีนอยด์.....	35

บทที่	หน้า
4 ผลและการอภิปรายผลการทดลอง .....	43
4.1 การศึกษากระบวนการสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยตัวทำละลายจากเนื้อลูกตาล .....	43
4.1.1 ผลของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด .....	43
4.1.2 ผลของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดต่อค่าสีของสารสกัดแคโรทีนอยด์ (L*a*b*) .....	44
4.1.3 ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการอบต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด .....	46
4.1.4 สรุปผลการทดลอง .....	47
4.2 การศึกษากระบวนการทำอิมัลชันสารสกัดแคโรทีนอยด์ .....	48
4.2.1 การศึกษาหาชนิดอิมัลซิไฟเออร์และอัตราส่วนที่เหมาะสม .....	48
4.4.2 การศึกษาหาชนิดน้ำมัน .....	62
4.4.3 การศึกษาหาอัตราส่วนของเฟสน้ำมันและเฟสน้ำ .....	69
5 สรุปผลการทดลอง .....	76
รายการอ้างอิง .....	78
ภาคผนวก .....	88
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ค่าทางเคมี .....	89
ภาคผนวก ข แสดงค่าสีการวิเคราะห์ค่าสีของตัวอย่างในฐานะ CIE L*a*b .....	92
ภาคผนวก ค แสดงผลการวิเคราะห์ค่าทางเคมีทางสถิติ .....	102
ประวัติผู้วิจัย .....	106

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 องค์ประกอบทางเคมี (โดยเนื้อตาลแห้ง) ของวัตถุดิบเนื้อตาลสุก .....	10
2 ชนิดของแคโรทีนอยด์ที่พบในตาลทั้ง 5 ชนิด จาก คาลพิทยา ประเทศศรีลังกา.....	11
3 องค์ประกอบหลักที่พบในเวย์แต่ละชนิด.....	27
4 ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (carotenoids content) ( $\mu\text{g/g}$ dried wt) และประสิทธิภาพการสกัด (%recovery) .....	44
5 ค่าสีของสารสกัดแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากเนื้อตาลก่อนการนำไปประเหย ( $L^*a^*b^*$ ).....	44
6 ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (carotenoids content) ( $\mu\text{g/g}$ dried wt) และประสิทธิภาพการสกัด (recovery).....	47
7 การกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชตัดแปร OSA1 และ WPI.....	48
8 น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย ( $M_w$ ), รัศมีเฉลี่ยของโมเลกุล ( $R_z$ ), and ความหนาแน่นของโมเลกุล ( $\rho$ ) ของสตาร์ชตัดแปร .....	52
9 การเก็บกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว.....	63
10 การกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้อัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ 1:9 2:8 และ 3:7 .....	69
11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเมื่อเปรียบเทียบตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล เอธิลอะซิเตทและเอธิลอะซิเตทผสมเอทานอลในอัตราส่วน 4:3 (v/v) .....	102
12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละประสิทธิภาพการสกัดเมื่อเปรียบเทียบตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล เอธิลอะซิเตทและเอธิลอะซิเตทผสมเอทานอลในอัตราส่วน 4:3 (v/v) .....	102
13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีของสารสกัดแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากเนื้อตาลก่อนการนำไปประเหย ( $L^*a^*b^*$ ) .....	103

14	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเมื่อเปรียบเทียบตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล เอธิลอะซิเตทและเอธิลอะซิเตทผสมเอทานอลในอัตราส่วน 4:3 (v/v) เมื่อใช้อุณหภูมิที่ในการอบเนื้อตาลก่อนนำมาสกัดที่ 40 50 และ 60 องศาเซลเซียส.....	103
15	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชดัดแปร OSA1 .....	104
16	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชดัดแปร OSA2 .....	104
17	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้เวย์ไอโซเลท.....	104
18	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชดัดแปร OSA1 และ OSA2 .....	105
19	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการเก็บกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว .....	105
20	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชดัดแปร OSA1 และ OSA2 .....	105



สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1	โครงสร้างของแคโรทีนอยด์ทั้ง 6 กลุ่ม.....6
2	การถูกทำลายของแคโรทีนอยด์.....7
3	พันธุ์ตาลโตนดที่นิยมปลูกในประเทศไทย.....9
4	ชนิดของอิมัลชัน.....16
5	การเกิดความไม่คงตัวทางกายภาพของอิมัลชันในลักษณะต่างๆ.....17
6	โครงสร้างของสตาร์ชตัดแปร OSA.....23
7	สัดส่วนของแป้ง OSA ที่พบในการค้าเชิงพาณิชย์.....24
8	การสกัดแคโรทีนอยด์จากเนื้อตาลอบแห้ง.....33
9	การเตรียมอิมัลชันเพื่อศึกษาชนิดอิมัลซิไฟเออร์และอัตราส่วนที่เหมาะสม.....35
10	การเตรียมอิมัลชันจากเวย์โปรตีน ไอโซเลทเพื่อหาชนิดอิมัลซิไฟเออร์และอัตราส่วนที่เหมาะสม.....36
11	การเตรียมอิมัลชันเพื่อศึกษาชนิดของน้ำมันที่เหมาะสม.....39
12	การเตรียมอิมัลชันเพื่อศึกษาอัตราส่วนของเฟสน้ำมันและเฟสน้ำที่เหมาะสม.....41
13	สารสกัดและกากที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย.....45
14	ความคงตัวของอิมัลชัน (creaming) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชตัดแปร OSA1 ..50
15	ความคงตัวของอิมัลชัน (creaming) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชตัดแปร OSA2.....51
16	ความคงตัวของอิมัลชัน (creaming) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้เวย์โปรตีน ไอโซเลท....51
17	ความแตกต่างของค่าสี (color difference; Delta E) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชตัดแปร OSA1 .....54
18	ความแตกต่างของค่าสี (color difference; Delta E) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้เวย์โปรตีน ไอโซเลท.....54
19	ความแตกต่างของค่าสี (color difference; Delta E) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชตัดแปร OSA1 .....55
20	ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชตัดแปร OSA1 .....56
21	ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชตัดแปร OSA2 .....57
22	ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่ได้จากการใช้เวย์โปรตีน ไอโซเลท.....58

ภาพที่	หน้า
23	ลักษณะโครงสร้างของเม็ดอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชคัดแปร OSA1 .....59
24	ลักษณะโครงสร้างของเม็ดอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชคัดแปร OSA2 .....60
25	ลักษณะโครงสร้างของเม็ดอิมัลชันที่ได้จากการใช้เวย์โปรตีนไอโซเลท.....61
26	ความคงตัวของอิมัลชัน (creaming) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองและ น้ำมันมะพร้าว .....64
27	ความแตกต่างของค่าสี (color difference; Delta E) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมัน ถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว.....65
28	ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว.....67
29	ความคงตัวของอิมัลชัน (creaming) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้อัตราส่วนเฟสน้ำมัน ต่อเฟสน้ำที่ 1:9 2:8 และ 3:7.....70
30	ความแตกต่างของค่าสี (color difference; Delta E) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้ อัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ 1:9 2:8 และ 3:7 .....71
31	ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่ได้จากการใช้อัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ 1:9 2:8 และ 3:7 .....72
32	ขนาดอนุภาคเฉลี่ยและการกระจายตัวของอนุภาค .....75
33	ค่าสี L* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชคัดแปร OSA1 .....92
34	ค่าสี a* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชคัดแปร OSA1 .....92
35	ค่าสี b* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชคัดแปร OSA1 .....93
36	ค่าสี L* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชคัดแปร OSA2 .....94
37	ค่าสี a* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชคัดแปร OSA2 .....94
38	ค่าสี b* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชคัดแปร OSA2 .....95
39	ค่าสี L* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้เวย์โปรตีนไอโซเลท .....96
40	ค่าสี a* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้เวย์โปรตีนไอโซเลท.....96
41	ค่าสี b* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้เวย์โปรตีนไอโซเลท.....97
42	ค่าสี L* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองและมะพร้าวเป็นเฟสน้ำมัน .....98
43	ค่าสี a* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองและมะพร้าวเป็นเฟสน้ำมัน .....98
44	ค่าสี b* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองและมะพร้าวเป็นเฟสน้ำมัน .....99

ภาพที่	หน้า
45	ค่าสี $L^*$ ของของอิมัลชันที่ได้จากการของอิมัลชันที่ได้จากการใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำมัน และน้ำที่ต่างกัน .....100
46	ค่าสี $a^*$ ของของอิมัลชันที่ได้จากการของอิมัลชันที่ได้จากการใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำมัน และน้ำที่ต่างกัน .....100
47	ค่าสี $b^*$ ของของอิมัลชันที่ได้จากการของอิมัลชันที่ได้จากการใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำมัน และน้ำที่ต่างกัน .....101



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันผู้บริโภคหันมาใส่ใจเรื่องสุขภาพมากขึ้น โดยเฉพาะการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติเพื่อทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ ในอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้สีผสมอาหารสังเคราะห์ซึ่งเป็นอันตรายและอาจก่อให้เกิดการสะสมพิษในร่างกาย ดังนั้นจึงมีการพัฒนาการสกัดสีจากธรรมชาติเพื่อทดแทนสีสังเคราะห์ เช่น การสกัดคลอโรฟิลล์ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ให้สีเขียวจากใบชา การสกัดแอนโทไซยานินรงควัตถุที่ให้สีม่วงจากดอกอัญชัน เป็นต้น แคลโรทีนอยด์เป็นอีกหนึ่งรงควัตถุสำคัญที่ให้สีเหลือง พบได้ในแครอท ฟริก พืคทอง ซึ่งในปัจจุบันมีความต้องการใช้สีที่สกัดจากธรรมชาติมากขึ้นเพราะไม่เพียงแต่ให้สีที่ปลอดภัยแล้วยังให้คุณประโยชน์แก่ร่างกายด้วย เกือบทั้งหมดของแคลโรทีนอยด์มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกันและชะลอการเกิดโรค เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน การเสื่อมสภาพของกล้ามเนื้อ และ อาการต่อกระดูก นอกจากนี้แคลโรทีนอยด์ยังได้รับการระบุว่ามีประสิทธิภาพในการช่วยรักษาโรคอัลไซเมอร์ได้ (Berman และคณะ, 2014; Fernández-García และคณะ, 2012; Stephen และคณะ, 2012) อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าปัจจุบันจะมีการผลิตแคลโรทีนอยด์โดยวิธีการสังเคราะห์แต่ผู้บริโภคส่วนใหญ่ยังคงให้ความสำคัญกับการสกัดจากธรรมชาติมากกว่า แต่เนื่องจากความยุ่งยากในการสกัดทำให้ยังไม่ค่อยมีการศึกษาการผลิตสีเหลืองจากแคลโรทีนอยด์ในประเทศไทยมากนัก

สำหรับสีธรรมชาติที่สกัดจากแคลโรทีนอยด์นั้นมีข้อจำกัดคือละลายได้เฉพาะในไขมัน จึงมักใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เช่น ไดคลอโรมีเทนหรือเตตระไฮโดรฟูเรนมาใช้ในการสกัดแคลโรทีนอยด์ ปัญหาของการใช้งานคือสารเหล่านี้ก่อให้เกิดสารพิษตกค้างในร่างกาย เพื่อประโยชน์ของผู้บริโภคจึงต้องพัฒนากระบวนการสกัด เช่น การสกัดด้วย Supercritical Fluid Extraction (SFE) การสกัดโดยใช้วิธีการดูดซับ การสกัดโดยใช้เอนไซม์ ในการศึกษาการสกัดสีเหลืองของแคลโรทีนอยด์ในงานวิจัยครั้งนี้จะใช้วิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย อย่างไรก็ตามแม้ว่าการใช้สารละลายในการสกัดจะเสี่ยงต่อปัญหาการเกิดสารตกค้างในร่างกาย แต่เนื่องจากเป็นวิธีที่มีต้นทุนต่ำจึงเป็นที่นิยมมากที่สุด



และเหมาะแก่การนำไปสกัดเพื่อใช้กับอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อหลีกเลี่ยงตัวทำละลายที่อาจก่อให้เกิดการตกค้างจึงจำเป็นที่จะต้องเลือกตัวทำละลายที่มีความปลอดภัยและเหมาะสมในการสกัดแคโรทีนอยด์

อาหารทั่วไปที่พบจะเป็นเฟสน้ำเสียส่วนใหญ่ ปัญหาหลักของแคโรทีนอยด์ต่อการนำมาใช้กับอุตสาหกรรมอาหารคือไม่สามารถละลายน้ำได้ หนึ่งในวิธีการที่สามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงการละลายและดูดซึมของแคโรทีนอยด์คือทำเป็นอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (O/W) ปัจจุบันมีการพัฒนาความรู้เรื่องนาโนเทคโนโลยีอย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นหนึ่งในแนวโน้มที่น่าสนใจ และมีศักยภาพเพียงพอในการปรับปรุงการละลายและการดูดซึมของสารพวกที่ไม่ละลายในน้ำ นอกจากนี้การทำอิมัลชันยังช่วยเพิ่มความคงตัวให้กับแคโรทีนอยด์ด้วย เพราะแคโรทีนอยด์เป็นสารที่ละลายในไขมัน มีโมเลกุลไม่อิ่มตัวจึงความไวต่อออกซิเจน ความร้อน และแสง ทำให้แคโรทีนอยด์เกิดการสลายตัว ดังนั้นการทำอิมัลชันจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง นอกจากนี้จะมีประโยชน์ต่อการทำสีผสมอาหารแล้วยังช่วยลดคุณค่าทางโภชนาการของแคโรทีนอยด์ด้วย

ตาลเป็นไม้ที่นิยมปลูกมากในจังหวัดเพชรบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม จากการศึกษาพบว่าเนื้อลูกตาลสุกนั้นประกอบด้วยแคโรทีนอยด์อยู่หลายชนิด จึงมีแนวโน้มที่จะสามารถนำมาผลิตเป็นสีผสมอาหารได้ อย่างไรก็ตามยังมีการศึกษาการผลิตสีเหลืองจากเนื้อลูกตาลสุกไม่มากนัก ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะและกระบวนการผลิตที่เหมาะสมในการผลิตสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ในเนื้อตาลสุก โดยเปรียบเทียบการใช้ตัวทำละลายที่ต่างชนิดกันในการสกัดร่วมกับการศึกษากระบวนการทำอิมัลชัน ได้แก่ชนิดและความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์ การคัดเลือกเฟสน้ำมันและอัตราส่วนระหว่างเฟสน้ำและน้ำมันอย่างเหมาะสมต่อความคงตัวของอิมัลชันในระหว่างการเก็บรักษาใน 30 วัน

## 1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษากระบวนการการสกัดแคโรทีนอยด์จากเนื้อตาลด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม
2. เพื่อศึกษาการทำอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำที่เหมาะสมในการผลิตสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์

### 1.3 สมมติฐานของการศึกษา

1. วิธีการสกัดแคโรทีนอยด์รวมถึงการอบแห้งตัวอย่างก่อนนำมาสกัดและชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้
2. ชนิดของอิมัลซิไฟเออร์ ความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์ ชนิดของน้ำมัน อัตราส่วนระหว่างน้ำมันและน้ำ ที่อาจส่งผลต่อความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ สีของอิมัลชัน และความคงตัวของอิมัลชันในระหว่างการเก็บรักษา

### 1.4 ขอบเขตการศึกษา

1. ศึกษากระบวนการการสกัดแคโรทีนอยด์จากเนื้อตาล
  - 1.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย เปรียบเทียบตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ เอทานอลร้อยละ 95 เอธิลอะซิเตท และเอทานอลผสมเอธิลอะซิเตทอัตราส่วน 4:3 (v/v)
  - 1.2 อุณหภูมิที่ใช้ในการอบเนื้อตาลก่อนนำมาสกัด เปรียบเทียบอุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้งเนื้อตาลสุกโดยใช้เครื่องอบลมร้อน (hot air oven) ที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง, 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง 55 นาที และ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 50 นาที วัดความชื้นตามวิธีของ AOAC (1990) ความชื้นของเนื้อตาลจะอยู่ในช่วงร้อยละ 82-84
2. ศึกษาการทำแคโรทีนอยด์อิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ
  - 2.1 เปรียบเทียบชนิดของอิมัลซิไฟเออร์ทั้ง 3 ชนิดคือ สตาร์ชตัดแปรออกทีนิลซัคซินิก แอนไฮไดรด์ (octenyl succinic anhydride modified starches; OSA) ได้แก่ OSA1 และ OSA2 เปรียบเทียบกับการใช้เวย์โปรตีนไอโซเลท (WPI)
  - 2.2 เปรียบเทียบอัตราส่วนของอิมัลซิไฟเออร์ โดยสตาร์ชตัดแปร OSA จะใช้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5, 10, 15, 20 และ 25 และเวย์โปรตีนไอโซเลทจะใช้ที่ร้อยละ 1, 5, 10, 15 และ 20
  - 2.3 เปรียบเทียบอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาอิมัลชันคือที่ 35 องศาเซลเซียส และ 5 องศาเซลเซียส
  - 2.4 เปรียบเทียบชนิดของน้ำมันที่ใช้เป็นเฟสน้ำมัน คือ น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว
  - 2.5 เปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่างน้ำมันและน้ำ คือ 1:9, 2:8 และ 3:7

## บทที่ 2

### เอกสารที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

#### 2.1 แครอทินอยด์ (carotenoids)

##### 2.1.1 แครอทินอยด์

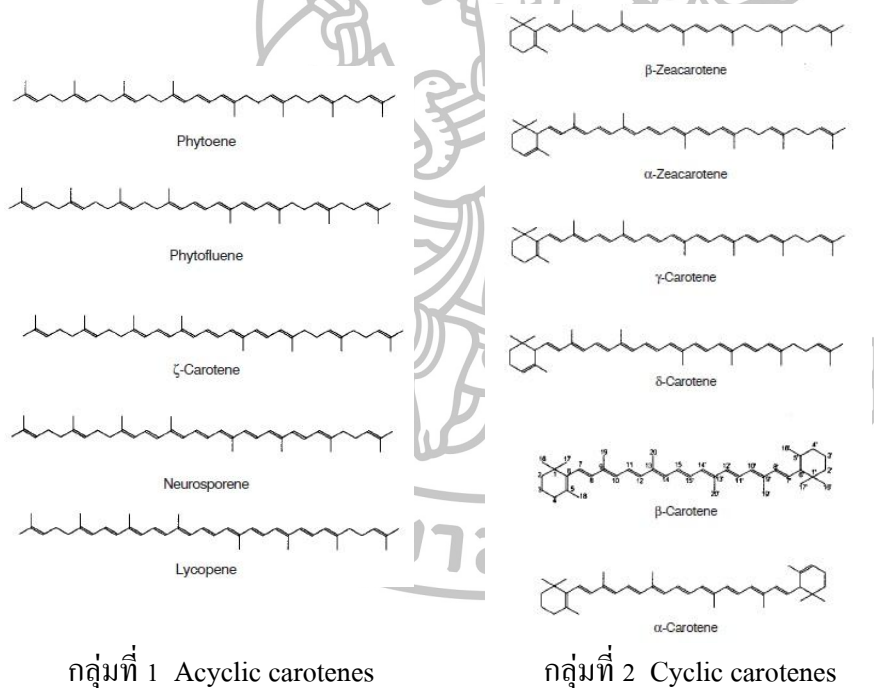
แครอทินอยด์เป็นรงควัตถุกลุ่มใหญ่พบอยู่ร่วมกับคลอโรฟิลล์ในคลอโรพลาสต์และคลอโมพลาสต์ ให้สีแดง ส้มและเหลือง ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของใบไม้ในฤดูใบไม้ร่วง (autumn leaf pigmentation) นอกจากนี้ยังมีประโยชน์ในเชิงสุขภาพเนื่องจากแครอทินอยด์บางส่วนเป็นโปรวิตามินเอ (pro-vitamin A) ซึ่งสามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ในภายหลัง ปัจจุบันมีการค้นพบแครอทินอยด์ประมาณ 700 ชนิดที่พบในธรรมชาติ แต่มีเพียงประมาณ 50 ชนิดเท่านั้นที่เป็นโปรวิตามินเอ และที่พบมากที่สุด คือ แอลฟาแครอทิน ( $\alpha$ -carotene) เบต้าแครอทิน ( $\beta$ -carotene) และเบต้าคริปโตแซนทีน ( $\beta$ -cryptoxanthin)

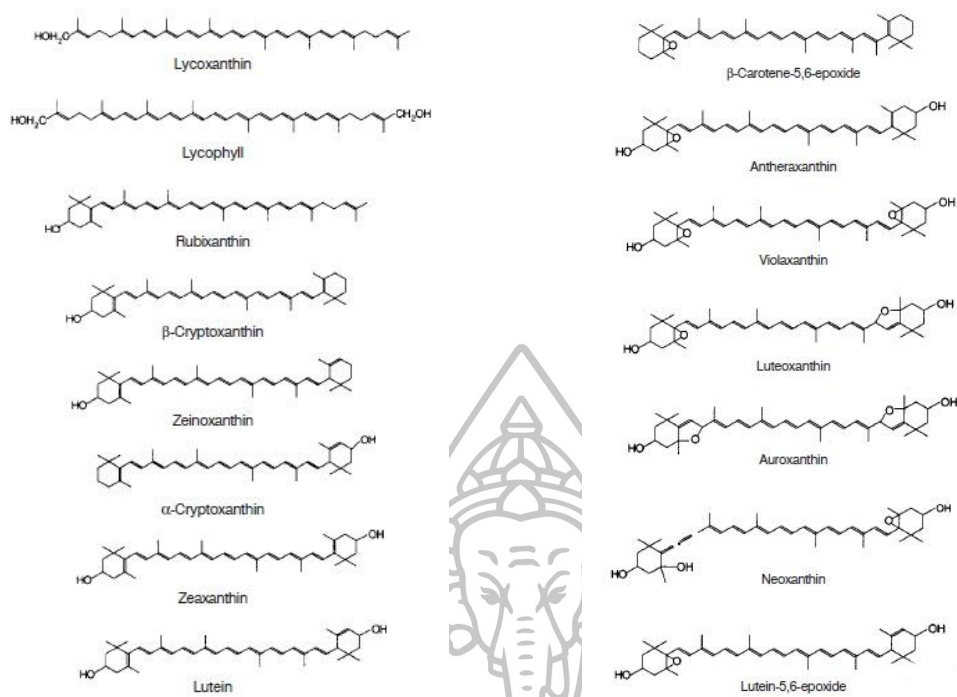
แครอทินอยด์มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกันและชะลอการเกิดโรค เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน การเสื่อมสภาพของกล้ามเนื้อและอาการต่อกระดูก นอกจากนี้แครอทินอยด์ยังได้รับการระบุว่ามีประสิทธิภาพในการช่วยรักษาโรคอัลไซเมอร์ได้ (Berman และคณะ, 2014; Fernández-García และคณะ, 2012; Stephen และคณะ, 2012)

##### 2.2.2 ชนิดของแครอทินอยด์

แครอทินอยด์เป็นสารประกอบเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) ประกอบด้วย 40 คาร์บอนอะตอม ซึ่งมีสายโซ่หลักเป็นไอโซพรีนอยด์ (isoprenoid) โดยปลายสายอาจมีโครงสร้างวงแหวนหรือไม่ก็ได้ โครงสร้างส่วนใหญ่ของแครอทินอยด์จะประกอบด้วย 40 คาร์บอนอะตอม (unsaturated hydrocarbon) แบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือกลุ่มไฮโดรคาร์บอนแครอทิน (hydrocarbon carotenes) ในโครงสร้างประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจน เช่น เบต้าแครอทิน และกลุ่มที่สองคือออกซิจิเนตแซนโทฟิลล์ (oxygenated xanthophylls) ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีการเติมออกซิเจนในโครงสร้าง (oxygenated derivatives) ทั้งสองกลุ่มนี้ไม่ละลายในน้ำแต่แครอทินมีคุณสมบัติในการไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) มากกว่า แซนโทฟิลล์

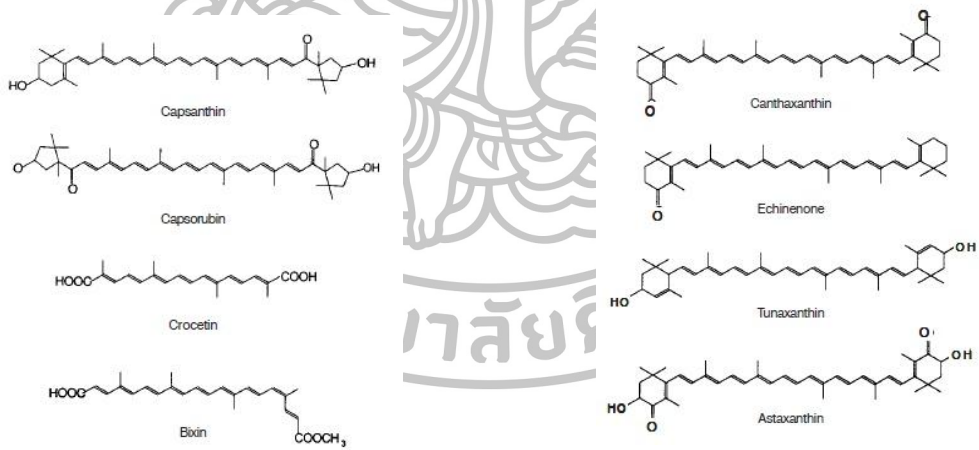
แคโรทีนอยด์ที่พบตามธรรมชาติมีหลากหลายชนิด เมื่อแบ่งชนิดของแคโรทีนอยด์ตามโครงสร้างจะแบ่งได้ทั้งหมด 6 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 คืออนุพันธ์พื้นฐาน (acyclic carotenenes) มีลักษณะเป็นเส้นตรงไม่มีวงแหวน ได้แก่ Phytoene, Phytofluene Lycopene  $\zeta$ -carotene และ Neurosporene กลุ่มที่ 2 อนุพันธ์เบต้าแคโรทีน (cyclic carotenenes) จะมีโครงสร้างวงแหวนอยู่ที่ปลายของสายโซ่หลัก ได้แก่  $\beta$ -carotene,  $\beta$ -zeacarotene,  $\alpha$ -zeacarotene,  $\gamma$ -carotene,  $\delta$ -carotene และ  $\alpha$ -carotene กลุ่มที่ 3 อนุพันธ์ของแคโรทีนอยด์ (hydroxycarotenoids) ได้แก่ Lycoxanthin, Lycophyll Rubixanthin,  $\beta$ -Cryptoxanthin, Lutein, Zeaxanthin และ  $\alpha$ -Cryptoxanthin กลุ่มที่ 4 อนุพันธ์อีพอกซีแคโรทีนอยด์ (epoxycarotenoids) เช่น Violaxanthin และ Neoxanthin กลุ่มที่ 5 คืออนุพันธ์ที่มีลักษณะเฉพาะมีโครงสร้างที่ไม่เข้ากับกลุ่มกับโครงสร้างอื่นๆ (unique carotenoids) เช่น Crocetin, Capsanthin และ Bixin เป็นต้น และกลุ่มที่ 6 เป็นแคโรทีนอยด์ที่พบในสัตว์ (animal carotenoids) คือ Canthaxanthin, Echinenone, Tunaxanthin และ Astaxanthin (Rodriguez-Amaya ,2004) ภาพที่ 1





กลุ่มที่ 3 Carotenols (hydroxycarotenoids)

กลุ่มที่ 4 Epoxycarotenoids



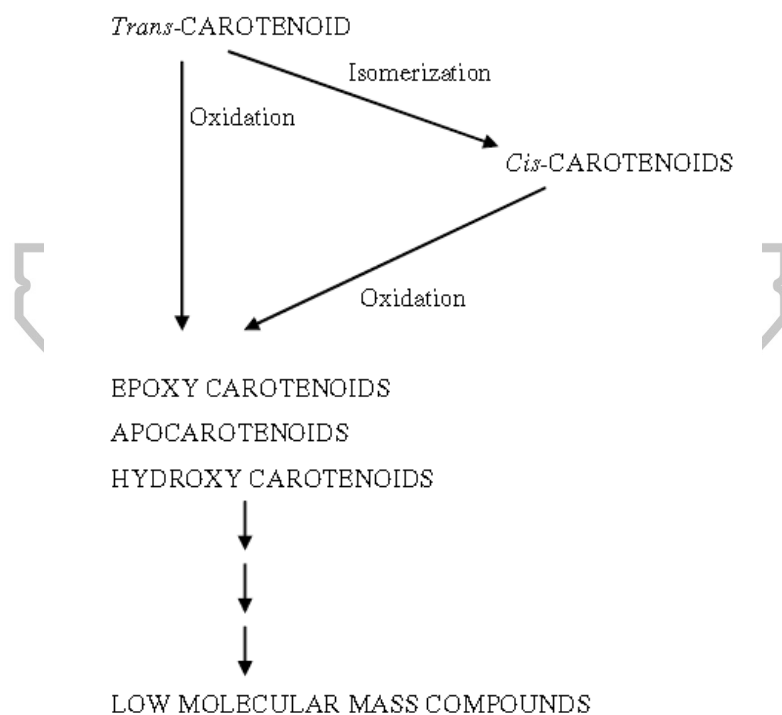
กลุ่มที่ 5 Unique carotenoids

กลุ่มที่ 6 Animal carotenoids

ภาพที่ 1 โครงสร้างของแคโรทีนอยด์ทั้ง 6 กลุ่ม  
ที่มา : Rodriguez-Amaya (2004)

### 2.1.3 การสลายตัวของแคโรทีนอยด์

การสลายตัวของแคโรทีนอยด์ตามธรรมชาติ เกิดจากปัจจัยต่างๆ เช่น ลักษณะและองค์ประกอบของอาหาร กระบวนการผลิต การบรรจุ และสภาพแวดล้อมในการเก็บรักษา การทำงานของเอนไซม์ไลพอกซิจีเนส (lipoxygenase) และเอนไซม์อื่นๆ และการเกิดออกซิเดชันของไขมัน ความเป็นไปได้ที่แคโรทีนอยด์ถูกทำลายแสดงไว้ในภาพที่ 2 พอลิอิน (polyenes) เป็นสารอินทรีย์ที่ไม่อิ่มตัวซึ่งเป็นสาเหตุของความไม่คงตัวของแคโรทีนอยด์ รวมทั้งไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันและสามารถในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากไอโซเมอร์หนึ่งไปเป็นอีกไอโซเมอร์หนึ่งโดยมีความร้อน แสง และกรด เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปจาก *trans*-form ไปเป็น *cis*-form การเกิดออกซิเดชันขึ้นอยู่กับปริมาณของออกซิเจน แคโรทีนอยด์ และลักษณะของสภาพแวดล้อม แคโรทีนอยด์ที่ถูกทำลายจะกระจายตัวเป็นสารโมเลกุลต่ำคล้ายกับกรดไขมันที่เกิดจากการออกซิเดชัน ซึ่งผลที่ได้จะนำไปสู่ความพึงพอใจต่อกระบวนการผลิตไวน์และชา แต่ให้ผลในทางตรงข้ามกับผักหรือผลไม้ที่ผ่านการทำแห้ง (Dutta และคณะ, 2005)



ภาพที่ 2 การถูกทำลายของแคโรทีนอยด์

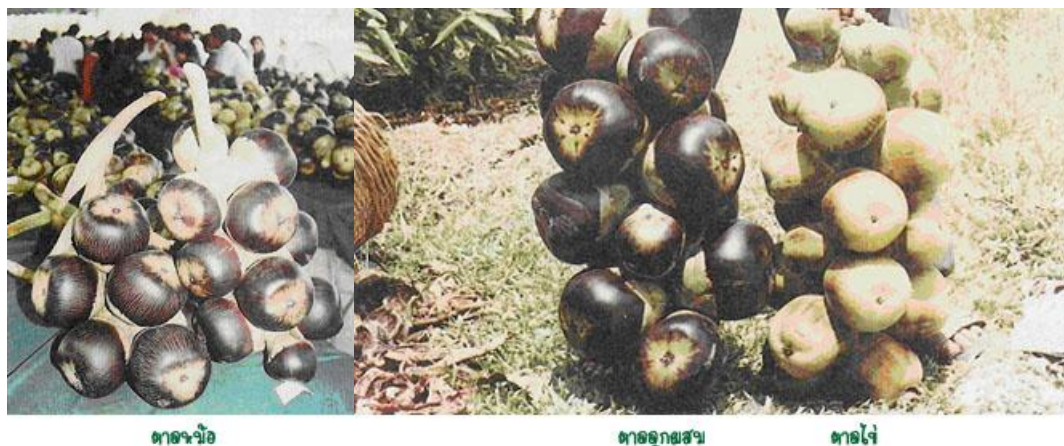
ที่มา : Dutta และคณะ (2005)

Tang และคณะ (2000) ศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาสารสกัดแคโรทีนอยด์ที่อุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษามีผลต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ โดยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลง สอดคล้องกับการศึกษาของ Chen และ Tang (1998) นอกจากนี้ Cinar (2004) ได้ศึกษาผลของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกันในสภาวะที่มีแสงและไม่มีแสง ต่อปริมาณของแคโรทีนอยด์ที่สกัดจากเปลือกส้ม มันทเทศ และแครอท ที่ทำการแช่เยือกแข็งก่อนนำมาสกัด พบว่าการแช่เยือกแข็งช่วยให้แคโรทีนอยด์มีความคงตัวมากขึ้น และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำจะมีอัตราการลดลงของแคโรทีนอยด์น้อยกว่าการเก็บไว้ที่อุณหภูมิสูง เมื่อเปรียบเทียบการเก็บรักษาในที่มืดและสว่างพบว่าปริมาณของแคโรทีนอยด์ที่ลดลงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในกรณีที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ

## 2.2 ตาล (Palmyra)

ตาล หรือ โหนด ในภาษาไทย (อังกฤษ: Asian Palmyra palm, Toddy palm, Sugar palm, Cambodian palm) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Borassus flabellifer* Linn. เป็นพันธุ์ไม้พุ่มปาล์มขนาดใหญ่สกุล *Borassus* จัดอยู่ในวงศ์ ARECACEAE หรือในชื่อเดิมคือ PALMAE ตาล เป็นไม้ยืนต้น ใบเดี่ยวเดี่ยว มีอายุยืน ลำต้นไม่แตกกิ่งก้าน มีใบออกที่ยอด ใบเป็นใบเดี่ยว รูปพัด ช่อดอกมีสีเหลืองนวล ดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่คนละต้น ผลกลมอยู่รวมกันเป็นทะลาย เปลือกผลแข็งมีสีน้ำตาลดำ ตาลโตจนน่าจะมิล้นกำเนิดทางฝั่งตะวันออกของอินเดียขยายไปสู่ศรีลังกา สหภาพเมียนมาร์ ไทย อินโดนีเซีย กัมพูชา ส่วนในประเทศไทยพบมากที่จังหวัดเพชรบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม ส่วนภาคใต้พบมากที่อำเภอสติงพระ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา (จรุงศักดิ์, 2557)

พันธุ์ตาลโตจนที่นิยมปลูกมี 3 พันธุ์ด้วยกันคือ ตาลหม้อ เป็นตาลที่มีลำต้นแข็งแรง แบ่งออกเป็น ตาลหม้อใหญ่ ให้ผลใหญ่ ผิวค้ำมันแทบไม่มีสีอื่นปนเลย เวลาแก่มีรอยขีดตามแนวยาวของผล และตาลหม้อเล็ก ลักษณะคล้ายตาลหม้อใหญ่แต่มีขนาดเล็กสีดำและจะมีรอยขีดเมื่อแก่ ตาลไข่ ลำต้นแข็งแรง ลูกมีขนาดเล็กสีค่อนข้างเหลืองแบ่งออกเป็น 2 ชนิดด้วยกันคือ ตาลไข่เล็ก ลูกค่อนข้างเล็ก ใน 1 ทะลายจะมีผล 1-20 ผล และตาลไข่ใหญ่ ผลมีขนาดใหญ่กว่าไข่เล็ก สีค่อนข้างเหลือง ใน 1 ทะลายจะมีผล 1-10 ผล และสุดท้าย ตาลพันธุ์ลูกผสม ลำต้นตรงใหญ่แข็งแรง ลูกค่อนข้างใหญ่เกือบเท่าตาลพันธุ์หม้อ สีดำผสมน้ำตาล (เหลืองดำเป็นตาลที่มีจำนวนมากที่สุดในประเทศไทย เพชรบุรี ภาพที่ 3 (จรุงศักดิ์, 2557)



ภาพที่ 3 พันธุ์ตาลโตเต็มที่นิยมปลูกในประเทศไทย

ที่มา : จรุงศักดิ์ (2557)

ลูกตาลเมื่อโตเต็มที่ จะมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-20 เซนติเมตร ผิวเหลือง จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจนถึงดำ ยังมีสีเขียวเข้มจนถึงสีน้ำตาล บริเวณก้นเป็นปุ่มเล็กน้อย มีสีเหลืองจนถึงสีส้ม เรียกว่าลูกตาลสุก เมื่อผลตาลแก่จัดจะมีกลิ่นหอม เมื่อแกะเอาเปลือกออกจะพบเส้นใยลูกตาลและเนื้อสีเหลืองจนถึงสีส้มห่อหุ้มเมล็ดไว้ 3-4 เมล็ด ตรงกลางระหว่างเมล็ดจะมีแกนกลางเป็นเส้นใย รวมกันเป็นกลุ่มชาวบ้านเรียกว่า ดีตาล เป็นส่วนที่เชื่อมระหว่างขั้วกับผลตาล ซึ่งดีตาลมีรสขมมาก จะต้องกำจัดออกก่อนใช้ เมื่อนำลูกตาลสุกมายีจะได้เนื้อสีเหลือง

จากการศึกษาของมนัสนันท์ (2544) พบว่าในเนื้อตาลมีแคโรทีนอยด์อยู่ถึง 17.65 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัมของเนื้อตาลสุก (ตารางที่ 1) นอกจากนี้ Pathberiy และคณะ (2006) ได้ศึกษาผลของสารประกอบที่อยู่ในเนื้อปาล์มต่อการลดระดับคอเลสเตอรอลในหนู โดยนำเนื้อตาลที่ไม่ทราบชนิด 4 ชนิดมาสกัดเป็นอาหารหนู พบว่าในเนื้อตาลมีแคโรทีนอยด์เป็นองค์ประกอบทำให้มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถลดคอเลสเตอรอลในเลือดของหนูได้ นอกจากนี้ความสามารถในการลดระดับ HDL จะแตกต่างกันไปตามชนิดของตาล



**ตารางที่ 1** องค์ประกอบทางเคมี (โดยเนื้อตาลแห้ง) ของวัตถุดิบเนื้อตาลสุก

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณในวัตถุดิบเนื้อตาลสุก (ร้อยละ)
ความชื้น*	94.52
โปรตีน	9.85
ไขมัน	4.38
เถ้า	7.12
เส้นใยหยาบ	45.07
คาร์โบไฮเดรต	33.58
แคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	17.65
ปริมาณกรด	14.60

หมายเหตุ : \* หมายถึงน้ำหนักเปียก  
ที่มา : มนัสนันท์ (2544)

ดังนั้นการนำสารสกัดจากเนื้อตาลมาทำเป็นสัพสมอาหารจึงเป็นทางเลือกหนึ่งเนื่องด้วยประโยชน์ทางด้านสุขภาพที่มีศักยภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและให้ความปลอดภัยมากกว่าสัพสมอาหารที่สังเคราะห์ทางเคมี (Priyadarshani และคณะ, 2009a)

### 2.2.1 การวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ในเนื้อตาลสุก

Wijemanne และคณะ (2006) ได้ทำการศึกษาชนิดของแคโรทีนอยด์ในเนื้อตาล โดยนำลูกตาลที่ไม่ทราบพันธุ์มา 5 ชนิดที่พบได้ทั่วไปในประเทศศรีลังกา ประกอบด้วย Type I, IIA, III และ IV (ชนิด IV พบเฉพาะในประเทศศรีลังกาเท่านั้น) ที่มีผลขนาดเล็ก และ IIB ที่มีผลขนาดใหญ่สีดำ และมีเส้นสีส้ม ทำการสกัดด้วยอะซิโตนในปิโตรเลียมที่อุณหภูมิ 40 - 60 องศาเซลเซียสจนกระทั่งไม่มีสี จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค High-performance liquid chromatography (HPLC) พบว่าเนื้อตาล Type I, IIA, IIB, III และ IV แต่ละชนิดมีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 3.27, 9.26, 7.80, 5.34 และ 5.9 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของเนื้อลูกตาลตามลำดับ และเมื่อนำมาแยกชนิดของแคโรทีนอยด์พบว่า Type I ส่วนใหญ่ประกอบด้วยแคโรทีนอยด์ชนิด violaxanthin และ neoxanthin, Type IIA ประกอบด้วย neoxanthin, Beta-zeacarotene, violaxanthin และ phytofluene, Type IIB ประกอบด้วย phytoene, phytofluene, violaxanthin และ neoxanthin Type III ประกอบด้วย phytoene และ violaxanthin และตาล Type IV ประกอบด้วย phytofluene และ zeta-carotene (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ชนิดของแคโรทีนอยด์ที่พบในตาลทั้ง 5 ชนิด จากเมืองกาลพิทียา ประเทศศรีลังกา

Type	I	IIA	IIIB	III	IV
Carotenoid	Content (mg 100 g <sup>-1</sup> fresh weight basis)				
Phytoene	-	0.76	2.49	2.19	-
Phytofluene	0.15	1.47	1.58	0.94	1.88
β-carotene	0.11	0.07	0.19	0.09	0.20
Zeta-carotene	0.31	0.85	0.43	0.40	1.15
Croctin	0.38	0.23	0.44	0.33	0.98
β-zeacarotene	-	1.73	-	0.07	-
Violaxanthin	1.60	1.67	1.39	1.19	0.59
Neoxanthin	0.72	2.49	1.28	0.21	0.92
β-catotene	-	-	-	-	0.26

ที่มา : Wijemanne และคณะ (2006)

การศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่าเนื้อตาลมีสารประกอบแคโรทีนอยด์ในตาลแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน และจากแคโรทีนอยด์ไอโซเลททั้งหมด 9 ชนิด พบว่ามีเพียง β-carotene และ β-zeacarotene ที่เป็นโปรวิตามินเอ ดังนั้นตาลที่มีโปรวิตามินเอจึงมีเพียงชนิดที่ IIA และ III เพียงเล็กน้อยเท่านั้น จากการพบแคโรทีนอยด์ในเนื้อตาลทำให้มีนักวิจัยพยายามที่จะศึกษาต่อในหัวข้อนี้ Priyadarshani และคณะ (2009b) ได้ทำการศึกษานชนิดของแคโรทีนอยด์ที่สามารถละลายน้ำได้ในเนื้อตาล (*Borassus flabellifer* L) type IIB (อ้างอิงจากการทดลองของ Wijemanne และคณะ, 2006) โดยทดลองสกัดแคโรทีนอยด์ในเนื้อตาล แล้วนำไปผ่านกระบวนการย่อยด้วย ไดเอทิลอีเทอร์ร้อยละ 1 ในปิโตรเลียมอีเทอร์ที่อุณหภูมิ 60-80 องศาเซลเซียส แล้วนำไปวิเคราะห์ผลด้วย HPLC เปรียบเทียบกับเนื้อตาลที่นำไปย่อยด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (amylglucosidase) พบว่าแคโรทีนอยด์ที่พบในเนื้อตาลส่วนใหญ่จะไม่สามารถละลายในน้ำได้ แต่เมื่อนำมาย่อยด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสจะทำให้มีส่วนที่สามารถละลายน้ำมากขึ้น จากการศึกษาจึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตสีผสมอาหารในโรงงานได้

## 2.2.2 ชนิดของแคโรทีนอยด์ที่พบในเนื้อตาลูก

### 1. ไฟโทอิน (phytoene)

เป็นสารมัธยันตร์ (intermediate) ในการสังเคราะห์สารประกอบแคโรทีนอยด์ โครงสร้างประกอบด้วยคาร์บอน 40 อะตอม การสังเคราะห์ไฟโทอินนั้นเป็นขั้นตอนแรกในการสังเคราะห์สารประกอบแคโรทีนอยด์ในพืช

### 2. ไฟโทฟลูอิน (phytofluene)

เป็นสารประกอบแคโรทีนอยด์ที่พบได้ทั่วไปในมะเขือเทศหรือผักผลไม้อื่นๆ ไฟโทฟลูอินเป็นผลผลิตลำดับที่สองในการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ซึ่งเปลี่ยนแปลงมาจากไฟโทอิน จากการศึกษาพบว่าทั้งไฟโทอินและไฟโทฟลูอินเป็นสารประกอบแคโรทีนอยด์ที่พบได้ในผลไม้และผัก เช่น แดงโม แคนตาลูป ฟักทอง มะม่วง มะละกอ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในมะเขือเทศ จากการศึกษาคุณสมบัติทางชีววิทยา พบว่าสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) (Aust และคณะ, 2005; Fuller และคณะ, 2006) อย่างไรก็ตามสารประกอบทั้งสองเป็นแคโรทีนอยด์ที่ไม่ให้สีและไม่ใช่โปรวิตามินเอ (engelmann, 2011) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้การศึกษาสารประกอบไฟโทอินและไฟโทฟลูอินถูกมองข้ามไป

### 3. เบต้าแคโรทีน ( $\beta$ -carotene)

เบต้าแคโรทีนเป็นรงควัตถุที่ให้สีแดง – ส้ม ในพืชผักและผลไม้ ประกอบด้วยคาร์บอน 40 อะตอม โดยมีวงแหวนเบต้า (beta ring) อยู่ที่ปลายทั้งสองด้านของโครงสร้างทำให้เบต้าแคโรทีนอยด์มีคุณสมบัติที่สามารถละลายในไขมันได้ แคโรทีนเป็นสารประกอบแคโรทีนอยด์ที่พบมากใน แครอท ฟักทอง เป็นต้น ซึ่งเป็นที่รู้จักกันดีในการนำมาประยุกต์ใช้เป็นสีผสมอาหารจากธรรมชาติ (E160a) เบต้าแคโรทีนเป็น โปรวิตามินเอหรือสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามินเอที่ช่วยในการบำรุงสายตา และนอกจากนี้เบต้าแคโรทีนยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งช่วยในการลดความเสี่ยงต่อภาวะมะเร็งและชะลอความแก่ได้ (Druesne-Pecollo และคณะ, 2009)

### 4. ซีตาแคโรทีน (zeta-carotene; $\zeta$ -Carotene)

ปัจจุบันเริ่มเป็นที่รู้จักมากขึ้นอย่างไรก็ตามยังพบในปริมาณที่น้อยมาก ยกเว้นเสาวรสบราซิลและมะเฟืองซึ่งเป็นรงควัตถุให้สีที่สำคัญ ซีตาแคโรทีนจะมีโครงสร้างที่แตกต่างจากแอลฟาแคโรทีนและเบต้าแคโรทีนเนื่องจากไม่มีวงแหวนเบต้าอยู่ที่ปลายทั้งสองด้าน ซึ่งมีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกับไลโคปีนแต่มีจำนวนไฮโดรเจนอะตอมมากกว่าไลโคปีนอยู่ 4 ตัว (Rodriguez-Amaya, 2001)

### 5. โครซีติน (crocetin)

โครซีตินเป็นสารประกอบแคโรทีนอยด์ที่ทำหน้าที่เป็นรงควัตถุให้สีในหญ้าฝรั่น (saffron) จากโครงสร้างที่สมมาตรและมีพันธะคู่อยู่ถึง 7 คู่และ 4 กลุ่มเมทิล ทำให้โครซีตินมีความสามารถในการช่วยแพร่กระจายออกซิเจนในของเหลว เช่น น้ำเลือด นอกจากนี้โครซีตินยังช่วยเพิ่มอัตราการขนถ่ายออกซิเจนและปริมาณออกซิเจนด้วย จากการศึกษาของ Giaccio (2004) พบว่าโครซีตินจะทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระและป้องกันการอักเสบของเนื้อเยื่อในสมองและตับและยังช่วยในการชะลอการเกิดเซลล์มะเร็งได้ (Gutheil และคณะ, 2012) อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ยังเป็นเพียงแค่การศึกษาของสัตว์เท่านั้น

### 6. เบต้าซีแซนทีน (β-zeaxanthin)

เป็นแคโรทีนอยด์ที่พบในยีสต์บางชนิดเช่น *Rhodotorula glutinis* หรือ *Phycomyces blakesleeanus* หรือในผักผลไม้เช่น ข้าวโพด (Simpson และ Goodwin, 1965)

### 7. วิโอลาแซนทีน (violaxanthin)

เป็นแคโรทีนอยด์กลุ่มแซนโทฟิลล์ทำหน้าที่เป็นรงควัตถุให้สีส้มในพืชผักและผลไม้หลายชนิด นอกจากนี้ยังอาจพบได้ในพลาสมาพร้อมกับซีแซนทีน วิโอลาแซนทีนถูกนำมาผลิตเป็นวัตถุแต่งเติมอาหารจำพวกสีผสมอาหารจากธรรมชาติ (E161e)

### 8. นีโอแซนทีน (neoxanthin)

เป็นแคโรทีนอยด์กลุ่มแซนโทฟิลล์พบในพืชผักใบเขียว เช่น ผักขม ซึ่งเปลี่ยนรูปมาจากวิโอลาแซนทีนด้วยปฏิกิริยาการสังเคราะห์นีโอแซนทีน มีรายงานว่านีโอแซนทีนนั้นสามารถชะลอการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมากได้ ซึ่งทำหน้าที่ในการยับยั้งการเพิ่มขึ้นของเซลล์มะเร็ง (Asai และคณะ, 2004)

## 2.3. การสกัดแคโรทีนอยด์ (carotenoids extraction)

ในปัจจุบันผู้คนหันมาใส่ใจเรื่องสุขภาพมากขึ้น การเลือกใช้สารประกอบที่มาจากธรรมชาติเป็นส่วนผสมในอาหารจึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก แคโรทีนอยด์เป็นหนึ่งในสารประกอบที่สามารถทดแทนการใช้สารเคมีเป็นสีผสมอาหารได้ นอกจากนี้สีเหลืองที่ได้มาจากธรรมชาติแล้ว แคโรทีนอยด์ยังเพิ่มประโยชน์และคุณค่าแก่ผลิตภัณฑ์อาหารด้วยคุณสมบัติในการเป็นโปรวิตามินเอและแอนติออกซิแดนท์ (antioxidant) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ จึงมีงานวิจัยหลายงานที่ศึกษาเกี่ยวกับการสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยวิธีต่างๆ อย่างไรก็ตามการสกัดแต่ละวิธีจะให้ข้อดีและข้อเสียที่ต่างกัน

การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายจะใช้หลักการที่เรียกว่า “like dissolve like” คือการที่ตัวถูกละลายจะละลายในตัวทำละลายใดนั้น สารทั้งสองชนิดจะต้องมีสมบัติเหมือนกัน กล่าวคือตัวถูกละลายที่มีขี้้วจะสามารถละลายในตัวทำละลายที่มีขี้้ว และตัวถูกละลายที่ไม่มีขี้้วจะละลายได้ในตัวทำละลายที่ไม่มีขี้้ว โดยในการสกัดแคโรทีนอยด์จากพืชจะเลือกใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสมบัติความขี้้วที่เหมือนแคโรทีนอยด์ ถึงแม้ว่าการใช้ตัวทำละลายในการสกัดจะเป็นวิธีที่ค่อนข้างยุ่งยากแต่นิยมใช้กันมากที่สุดเนื่องด้วยเป็นวิธีการที่มีต้นทุนต่ำ แบ่งขั้นตอนการสกัดได้ดังนี้ (Rodriguez-Amaya, 2004)

### 2.3.1 การสกัด

ขั้นตอนการสกัดที่ดีจะต้องสกัดแคโรทีนอยด์ออกมาให้หมด โดยอยู่ในรูปของสารละลายซึ่งในพืชผักและผลไม้แต่ละชนิดควรเลือกชนิดของตัวทำละลายอย่างไรให้เหมาะสม เนื่องจากพืชแต่ละชนิดมีชนิดของแคโรทีนอยด์ที่แตกต่างกัน ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดหรือแยกส่วนจะต้องถูกกำจัดออกโดยการระเหยดังนั้นควรเลือกตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำ (35-60 องศาเซลเซียส) เพื่อหลีกเลี่ยงการให้ความร้อนเป็นเวลานาน โดยขั้นตอนการสกัดจะเริ่มจากการปั่นตัวอย่างร่วมกับตัวทำละลายประมาณ 1-2 นาที ในการสกัดแคโรทีนอยด์จากส่วนใบจะสกัดได้ยากกว่าส่วนอื่นอาจต้องแช่ไว้ในสารละลายถึง 15 นาที หลังจากนั้นนำไปกรองเพื่อกำจัดกากที่ไม่ต้องการ กากที่เหลือจะถูกนำกลับไปสกัดใหม่อีกครั้งด้วยตัวทำละลายใหม่ซึ่งจะสกัดจนกว่าตัวทำละลายจะไม่มีสี

### 2.3.2 การแยกส่วนแคโรทีนอยด์

สารละลายที่ได้จากการสกัดจะมีปริมาณน้ำอยู่มากซึ่งเป็นส่วนที่แยกชั้นจากตัวทำละลาย เช่น เฮกเซน ปีโตรเลียมอีเทอร์ ไดเอทิลอีเทอร์ หรือไดคลอโรมีเทน การแยกส่วนจะทำให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อมีการเพิ่มความขี้้วเพียงเล็กน้อยจากสารละลายพวก อะซิโตน เมทานอล หรือเตตระไฮโดรฟูแรนในปิโตรเลียมอีเทอร์ เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดอิมัลชันจะปล่อยให้ส่วนของน้ำไหลออกมาโดยไม่มีการกวน สารสกัดทั้งหมดจะอยู่ในส่วนของตัวทำละลาย ล้างสารสกัดด้วยน้ำอีก 4-5 ครั้งเพื่อกำจัดอะซิโตนหรือเมทานอลที่เหลือออก

### 2.3.3 สaponification

เป็นวิธีการที่สกัดสารคลอโรฟิลล์หรือไขมันที่ไม่ต้องการออกจากสารสกัดแคโรทีนอยด์โดยใช้เมทานอลิกโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์แช่ไว้ข้ามคืน หลังจากนั้นกำจัดด่างโดยการล้างน้ำ 4-5 ครั้ง อย่างไรก็ตามหากเป็นไปได้ควรหลีกเลี่ยงขั้นตอนนี้เนื่องจากอาจส่งผลต่อปริมาณของแคโรที

นอยด์โดยเฉพาะแซนโทฟิลล์ หลังกำจัดส่วนของสปอนนิฟิเคชันแล้วสารสกัดที่ได้จะถูกทำให้แห้งด้วยการเติมแอนไฮดริสโซเดียมซัลเฟตหรือระเหยให้แห้งเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณและชนิดของแคโรทีนอยด์ต่อไป

วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายนับว่าเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุด Chen และคณะ (2004) สกัดมะม่วงโดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซน:เอทานอล:อะซิโตน:ทูลอีนในอัตราส่วน 10:6:7:7 (v:v:v:v) Wen-ping และคณะ (2008) ใช้ตัวทำละลายในการสกัดเมล็ดเก๋ากี้ คือ อะซิโตนต่อปิโตรเลียมอีเธอร์ ในอัตราส่วน 1:2 เช่นเดียวกับการสกัดก่อนหน้านี้ของ Sadler และ Davis (1990) ที่ใช้ตัวทำละลายเป็นอะซิโตนผสมกับปิโตรเลียมอีเธอร์ Suzuki และคณะ (2007) สกัดแคโรทีนอยด์จากดอกบัว (*Lotus japonicas*) โดยใช้ตัวทำละลายเป็นอะซิโตนผสมกับเมทานอลในอัตราส่วน 70:30 (v:v) Lee และคณะ (2011) สกัดแคโรทีนอยด์จากแครอทโดยใช้ตัวทำละลายเป็นอะซิโตนผสมกับเฮกเซนเช่นเดียวกับ Mai และคณะ (2013) สกัดแกกพุดด้วยอะซิโตนผสมกับเฮกเซนอัตราส่วน 3:2 (v:v) ร่วมกับร้อยละ 0.1 BHT เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน Tang และ Chen (2000) ได้ทำการสกัดแครอทด้วยอะซิโตนและเฮกเซน Georg และคณะ (2011) สกัดมะเขือเทศสีแดงเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์ โดยใช้สารตัวทำละลายคือ เฮกเซน:อะซิโตน:เอทานอล 50:25:25 (v:v:v) Wijemanne และคณะ (2006) ใช้อะซิโตนในปิโตรเลียมที่อุณหภูมิ 40-60 องศาเซลเซียสในการสกัดเนื้อลูกตาลสุกเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมี รวมถึงการวิจัยของ Priyadarshani และคณะ (2009b) ได้ทำการศึกษาแคโรทีนอยด์ที่สามารถละลายน้ำได้ในเนื้อตาล และ Pathberiy และ Jansz (2006) ศึกษาผลของสารประกอบที่อยู่ในเนื้อตาลต่อการลดระดับคลอโรฟิลล์ในหนู โดยอ้างอิงวิธีการสกัดมาจาก Wijemanne และคณะ (2006)

ในการสกัดแคโรทีนอยด์ในอุตสาหกรรมอาหาร โดยส่วนใหญ่จะนิยมใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วน 3:4 (Buret, 1991) อย่างไรก็ตามยังมีความเสี่ยงต่อการตกค้างของตัวทำละลายเฮกเซนแม้ว่าจะมีการกำจัดออกด้วยการระเหย โดยเฉพาะตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น ไคคลอโรมีเทนหรือเตตระไฮโดรฟูแรนจะมีผลให้เกิดการระคายเคืองต่อตา และระบบทางเดินหายใจ นำไปสู่การก่อให้เกิดสารก่อมะเร็ง (Wackerbarth, 2009)

ดังนั้นเพื่อให้วิธีสกัดด้วยตัวทำละลายมีความปลอดภัยมากขึ้นจึงต้องหาตัวทำละลายที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย ซึ่งในบางอุตสาหกรรมอาหารเอทิลอะซิเตทถูกนำมาใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดแคโรทีนอยด์เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่สามารถพิสูจน์แล้วว่าเอทิลอะซิเตทสามารถสกัดแคโรทีนอยด์ได้ โดย Beer-sheva (2002) ได้ทำการสกัดมะเขือเทศด้วยเอทิลอะซิเตท เช่นเดียวกับ Ishida และคณะ 2009 ได้ทำการสกัดแครอทโดยใช้ตัวทำ

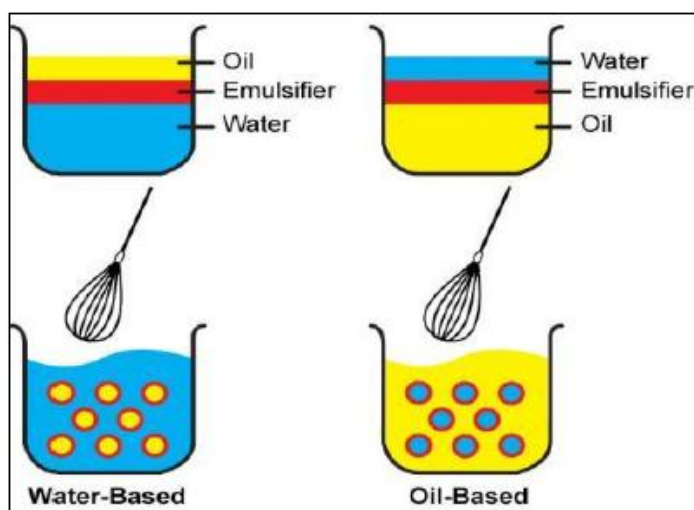
ละลายเป็นเอทิลอะซิเตทเช่นเดียวกัน ดังนั้นการใช้เอทิลอะซิเตทจึงอาจเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำมาใช้สกัดแคโรทีนอยด์ในลูกตาลเพื่อความปลอดภัยได้

## 2.4 การทำอิมัลชันของแคโรทีนอยด์ (carotenoids emulsion)

### 2.4.1 อิมัลชัน

อิมัลชันเป็นระบบที่เกิดจากระบบที่แตกต่างกันสองระบบผสมกัน โดยจะมีของเหลวที่อนุภาคขนาดเล็กกระจายตัวอยู่ในอีกระบบหนึ่ง ปกติอิมัลชันจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคอยู่ที่ 0.25-25 ไมโครเมตร อย่างไรก็ตามเมื่อเวลาผ่านไประบบของอิมัลชันที่ไม่คงตัวจะเริ่มแยกตัวออกจากกันและเกิดการรวมตัวระหว่างสารชนิดเดียวกันจนมีขนาดใหญ่ขึ้น และเมื่อมีความแตกต่างของความหนาแน่นของเฟสน้ำมันและน้ำจะทำให้เกิดการแยกชั้นในระบบที่เรียกว่าการเกิดครีมนม (creaming) เพื่อชะลอการเกิดการแยกเฟสระหว่างน้ำและน้ำมันจึงมีการใช้สารอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) เพื่อลดแรงตึงผิวของโมเลกุลระหว่างน้ำมันและน้ำ โดยอิมัลซิไฟเออร์จะมีทั้งส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว ทำหน้าที่ดูดซับอยู่บริเวณพื้นผิวสัมผัสร่วม โดยหันข้างที่มีขั้วเข้าหาน้ำและหันข้างที่ไม่มีขั้วเข้าหาเฟสน้ำมัน ลดแรงตึงผิวที่ผิวสัมผัสทำให้อนุภาคของไขมันสามารถกระจายตัวอยู่ในน้ำได้

โดยอิมัลชันจะสามารถแยกได้เป็นระบบน้ำในน้ำมัน (W/O) คือการที่อนุภาคของน้ำกระจายตัวอยู่ในเฟสของน้ำมัน เช่น เนย มายองเนส สลัด และระบบน้ำมันในน้ำ (O/W) คืออนุภาคของน้ำมันกระจายตัวในเฟสของน้ำ เช่น นม เป็นต้น (ภาพที่ 4)



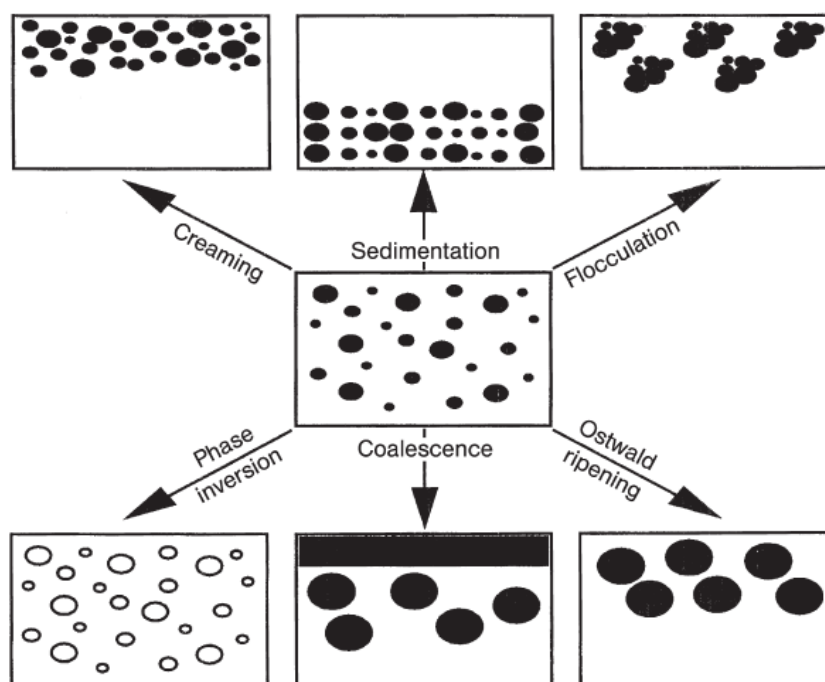
ภาพที่ 4 ชนิดของอิมัลชัน

ที่มา : Madaan และคณะ (2014)

## 2.4.2 ความไม่คงตัวของอิมัลชัน

### 2.4.2.1 ความไม่คงตัวทางกายภาพ

ความไม่คงตัวของอิมัลชันในระหว่างการเก็บรักษาเกิดได้จากหลายสาเหตุขึ้นอยู่กับ การกระจายขนาดของอนุภาคและความหนาแน่นที่ต่างกันของอนุภาคกับสารตัวกลาง หรือจากแรงดึงดูดระหว่างขั้ว ซึ่งทำให้เกิดการแยกชั้นทางกายภาพ (ภาพที่ 5) เช่น การแยกชั้นของระบบที่เกิดจากการเคลื่อนที่เข้ามาหากันของอนุภาค (creaming หรือ sedimentation) การจับกลุ่มกันของอนุภาค (flocculation) การเข้ารวมตัวกันของอนุภาคขนาดเล็กจนเกิดเป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้น (ostwald ripening) การรวมตัวกันของอนุภาคแบบผันกลับไม่ได้ (coalescence) และการกลับวัฏภาคของระบบเช่นจากอิมัลชันระบบน้ำในน้ำมัน (w/o) กลายเป็นน้ำมันในน้ำ (o/w) (phase inversion)



ภาพที่ 5 การเกิดความไม่คงตัวทางกายภาพของอิมัลชันในลักษณะต่างๆ

ที่มา : Tharwat (2009)



### 2.4.2.2 ความไม่คงตัวของอิมัลชัน

ความไม่คงตัวของอิมัลชันเกิดจากการรวมตัวกันของอนุภาคซึ่งมีสาเหตุมาจากแรงปฏิสัมพันธ์ของอนุภาคหรือการเปลี่ยนค่าพีเอชที่ทำให้เกิดการแยกชั้นของอิมัลชันได้ นอกจากนี้สภาพแวดล้อมในระหว่างการเก็บรักษาอาจนำไปสู่ความไม่คงตัวของอิมัลชันได้เช่นกัน เช่น แสง อากาศ และการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ โดยแสงจะนำไปสู่การเกิดออกซิเดชันของเฟสไขมัน เนื่องจากไขมันหรือน้ำมันที่ใช้ในเฟสไขมันนั้นจะมาจากพืชและสัตว์ซึ่งก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ นอกจากจะทำให้เกิดความไม่คงตัวของระบบแล้วสิ่งที่อาจเกิดตามมาก็คือ การเกิดแก๊สในระบบ การสูญเสียกลิ่น สี และรสชาติของผลิตภัณฑ์และที่สำคัญอาจเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ (Madaan และคณะ, 2014)

## 2.5 การทำอิมัลชันของแคโรทีนอยด์

เนื่องจากโครงสร้างที่เป็นไฮโดรเจน-คาร์บอนและมีความไม่อิ่มตัวสูงของแคโรทีนอยด์ จึงเกิดข้อจำกัดในการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร อย่างแรกคือแคโรทีนอยด์ไม่ละลายในน้ำและละลายในน้ำมันได้ที่อุณหภูมิห้อง สองคือมีความไวต่อออกซิเจน แสงและอุณหภูมิ ซึ่งมีผลให้แคโรทีนอยด์เกิดการสลายตัวเช่นปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยมีแสงเป็นตัวกระตุ้นหรือในกระบวนการผลิตและเก็บรักษา และสุดท้ายแคโรทีนอยด์มีโครงสร้างในรูปของผลึกซึ่งมีผลต่อการดูดซึมในบริเวณช่องปาก เพื่อที่จะเอาชนะข้อจำกัดเหล่านี้ จึงมีการศึกษาและพัฒนาเกี่ยวกับการกักเก็บแคโรทีนอยด์ให้อยู่ในรูปของนาโนอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (O/W) ซึ่งถือว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มการกระจายตัว ความเสถียรและการดูดซึมสาร (Liang และคณะ, 2013b)

### 2.5.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำอิมัลชันแคโรทีนอยด์

#### 2.5.1.1 ชนิดและความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์

อิมัลซิไฟเออร์สามารถแบ่งตามค่า Hydrophile-lipophile balance (HLB) หรือสัดส่วนระหว่างส่วนที่ชอบน้ำกับส่วนที่ชอบน้ำมัน (McClement, 2005) อิมัลซิไฟเออร์ที่มีค่า HLB เท่ากับ 7 จะสามารถละลายได้ทั้งในน้ำและน้ำมัน ในขณะที่ค่า HLB ต่ำกว่าจะละลายในน้ำมันได้ดีกว่าและค่า HLB ที่มากกว่า 7 อิมัลซิไฟเออร์นั้นจะละลายในน้ำได้ดีกว่า (Walstra, 1996) ตามกฎของ Bancroft (Davis, 1994; Bergenstahl, 2008) อิมัลซิไฟเออร์ที่ละลายในน้ำจะนิยมใช้ในอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำและอิมัลซิไฟเออร์ที่ละลายในน้ำจะใช้ในอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมันในการทดลองนี้จะมุ่งเน้นไปที่อิมัลซิไฟเออร์ที่ละลายในน้ำมันเนื่องจากระบบอิมัลชันเป็นแบบน้ำมันในน้ำ

การทำอิมัลชันในอุตสาหกรรมอาหารอิมัลซิไฟเออร์ที่นิยมใช้ในการทำอิมัลชันของแคโรทีนอยด์นั้นมีหลายชนิด เช่น เวย์โปรตีน, Tween, สตาร์ชตัดแปร OSA (Ribeiro และคณะ,

2006; Liang และคณะ, 2013A) อย่างไรก็ตามอิมัลชันไฟเออร์แต่ละชนิดนั้นจะมีความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ที่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากลักษณะของโครงสร้างและโมเลกุลที่แตกต่างกันของอิมัลชันไฟเออร์ นอกจากนี้การที่อิมัลชันไฟเออร์แต่ละชนิดมีคุณสมบัติและโครงสร้างที่ความแตกต่างกันจะส่งผลต่อความคงตัวของแคโรทีนอยด์ในระหว่างการเก็บรักษาด้วย

จากการศึกษาของ Yuan และคณะ (2008) ได้เปรียบเทียบผลของอิมัลชันไฟเออร์ต่อขนาด การกระจายตัวของอนุภาคและความคงตัวของระบบอิมัลชัน โดยใช้ Tween 20 40 60 และ 80 พบว่าการใช้ Tween 20 เป็นอิมัลชันไฟเออร์จะให้ขนาดอนุภาคที่เล็กที่สุดและการกระจายของขนาดมีช่วงที่แคบ นอกจากนี้ความเข้มข้นของอิมัลชันไฟเออร์ที่ใช้ยังส่งผลต่อขนาดของอิมัลชันไฟเออร์ด้วย โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของอิมัลชันไฟเออร์จะขึ้นอยู่กับชนิดของอิมัลชันไฟเออร์นั้นๆ จากการศึกษาของ Qian และคณะ (2012a) ประสบความสำเร็จในการทำอิมัลชันต่อความสามารถในการปลดปล่อยของสารออกฤทธิ์ (bioaccessibility) โดยใช้ Tween 20 ต่อมาจึงได้เปรียบเทียบชนิดของสารห่อหุ้มต่อความคงตัวของเบต้าแคโรทีนในอิมัลชันพบการใช้เบต้าแลคโตไกลบูลินจะลดการสลายตัวของเบต้าแคโรทีนมากกว่าการใช้ Tween 20 (Qian และคณะ, 2012b) นอกจากนี้จากการศึกษาของ Dimakou และ Oreopoulou (2012) ศึกษาผลของการใช้ Tween 20 เปรียบเทียบกับการใช้ Tween 20 ร่วมกับ โซเดียมเคซีเนต (50:50) ต่อการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในระหว่างการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน พบว่าการใช้ Tween 20 เพียงอย่างเดียวจะทำให้สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มที่มีความมีขี้และไม่ขี้สามารถทำงานได้ในทางกลับกันเมื่อใช้โซเดียมเคซีเนตร่วมด้วยจะลดการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มที่มีขี้ Ribeiro และคณะ (2006) เปรียบเทียบอิมัลชันไฟเออร์ผสมระหว่างเวย์โปรตีน 2 ชนิดคือ (BiPro และ BioZate) sucrose laurate (L-1695) และ Tween 20 ต่อการชะลอการถูกทำลายของแคโรทีนอยด์ พบว่าอิมัลชันไฟเออร์ผสมระหว่าง BioZate และ Tween 20 ช่วยรักษาความคงตัวของแอสตาแซนทีนได้ดีที่สุด Liang และคณะ (2013a) ได้เปรียบเทียบชนิดของสตาร์ชตัดแปร OSA ต่อความคงตัวของระบบอิมัลชันและการสลายตัวของแคโรทีนอยด์พบว่าคุณสมบัติที่ต่างกันของสตาร์ชตัดแปรจะส่งผลต่อความคงตัวของระบบและการกักเก็บ

แคโรทีนอยด์และการป้องกันการถูกทำลายของแคโรทีนอยด์ อิมัลชันไฟเออร์มีผลต่อความคงตัวของแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดไม่เหมือนกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปฏิสัมพันธ์ของอิมัลชันไฟเออร์และสารตัวตั้งต้น ดังนั้นจะเห็นว่าการเลือกใช้อิมัลชันไฟเออร์จึงเป็นปัจจัยสำคัญต่อความคงตัวของแคโรทีนอยด์

ความเข้มข้นของอิมัลชันไฟเออร์มีผลต่อคุณสมบัติในการกักเก็บแคโรทีนอยด์และขนาดอนุภาคของแคโรทีนอยด์ผสม โดยที่หากความเข้มข้นของอิมัลชันไฟเออร์ที่ใช้น้อยเกินไปจะทำให้กักเก็บแคโรทีนอยด์ได้น้อย (Esther และคณะ, 2012) นอกจากนี้การเพิ่มความเข้มข้นอิมัลชันไฟเออร์จะทำให้ระบบมีความเสถียรมากขึ้น โดยลดการเกิดการแยกชั้นของระบบได้ซึ่งอาจเกิดจากการ

สร้างพันธะระหว่างโมเลกุลของสตราซ์ทำให้ขนาดของไมเซลล์เพิ่มขึ้นและส่งผลกระทบต่อความหนืดของระบบที่เพิ่มขึ้น (Dokic และคณะ, 2012) อย่างไรก็ตามหากเพิ่มความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์มากเกินไปจะส่งผลกระทบต่อความหนืดของระบบอิมัลชันที่มากเกินไปด้วย

### 2.5.1.2 ชนิดของเฟสไขมัน

ชนิดของน้ำมันสามารถส่งผลกระทบต่อคุณลักษณะของอิมัลชันได้หลายหลายแบบ การใช้น้ำมันต่างชนิดกันรวมถึงความเข้มข้นที่ใช้จะส่งผลกระทบต่อกลิ่นรสและกลิ่นของอิมัลชันซึ่งเป็นผลจากการที่น้ำมันบรรจุสารให้กลิ่นรสบางอย่างอยู่ (McClement, 2005) คุณลักษณะทางกายภาพของน้ำมันหรือไขมันมีความสำคัญอย่างมากต่อลักษณะทางกายภาพ (texture) ความรู้สึกในช่องปาก (mouthfeel) ความคงตัว (stability) และลักษณะปรากฏ (appearance) ของอิมัลชัน

ชนิดของไขมันที่นิยมนำมาใช้เป็นเฟสไขมันสามารถแบ่งได้ตามลักษณะของโครงสร้างทางเคมี องค์ประกอบและคุณสมบัติของไขมัน เช่น กลุ่มกรดไขมันที่มีขนาดยาว (LCT; เช่น น้ำมันถั่วเหลือง) กลุ่มกรดไขมันที่มีขนาดโมเลกุลปานกลาง (MCT; น้ำมันมะพร้าว, Captex 200, Captex 355) กลุ่มโพรพิลีนไกลคอลของกรดไขมัน (โมโนหรือไดกลีเซอไรด์ เช่น Capmul PG-8, Capmul MCM, Captex 200) กลุ่มกรดไขมัน (เช่นกรดโอเลอิก กรดปาล์มมิติก กรดลิโนเลอิก) และกลุ่มไขมันผสม (Gelucire 33/01, Phosal 53MCT) (Cannon และ Long, 2008) โดยทั่วไปแล้วไขมันที่นิยมใช้ในการทำอิมัลชันมักเป็นกลุ่มกรดไขมันที่มีขนาดยาว (Flanagan และคณะ, 2006) อย่างไรก็ตามไขมันกลุ่มนี้มีขนาดใหญ่เกินกว่าที่จะฟอร์มตัวอยู่ที่ชั้นผิวของหยดอิมัลชันที่มีขนาดเล็กได้ (Gaonkar และ Bagwe, 2002)

เนื่องจากคุณสมบัติที่แตกต่างกันตามชนิดของไขมันจึงส่งผลอย่างมากต่อการกักเก็บสารสกัดและความคงตัวทางกายภาพของอิมัลชัน โดยน้ำมันแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการละลายแคโรทีนอยด์ได้แตกต่างกัน จากการศึกษาเปรียบเทียบชนิดของน้ำมันได้แก่น้ำมันถั่วเหลืองและกลุ่มกรดไขมันที่มีขนาดโมเลกุลปานกลางร่วมกับการใช้สารหล่อหุ้ม Tween 20,40 และ 80 พบว่าการใช้กลุ่มกรดไขมันที่มีขนาดโมเลกุลปานกลางร่วมกับ Tween 80 จะมีประสิทธิภาพในการกักเก็บสารได้มากที่สุด (Roohinejad และคณะ, 2015) นอกจากนี้ชนิดของไขมันที่แตกต่างกันยังมีผลต่อความสามารถในการปลดปล่อยของสารออกฤทธิ์ในอิมัลชันด้วย (Ahmed และคณะ, 2012; Qian และคณะ, 2012B)

### 2.5.1.3 อัตราส่วนของเฟสน้ำมันและเฟสน้ำ

จากการศึกษาพบว่าอัตราส่วนของเฟสน้ำและน้ำมันผลต่อขนาดอนุภาค ปริมาณการกักเก็บของแคโรทีนอยด์ (Tan และ Nakajima, 2005) และความคงตัวของระบบอิมัลชัน (Dokic และคณะ, 2012) โดยการเพิ่มความเข้มข้นของเฟสน้ำมันจะช่วยเพิ่มความเสถียรให้กับระบบ

อิมัลชันซึ่งเกิดจากความหนืดที่เพิ่มขึ้นทำให้อิมัลชันเคลื่อนตัวมาจับกันได้ช้าลง ทำให้ชะลอการเกิดแยกชั้นของอิมัลชัน อย่างไรก็ตามพบว่าการเพิ่มปริมาณของเฟสไขมันให้มากขึ้นไม่มีผลต่อการควบคุมปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นการปรับโครงสร้างอิมัลชันจึงมีผลต่อการกระจายตัวในระบบอิมัลชันเท่านั้น (Kiokias และคณะ, 2009)

#### 2.5.1.4 ความเร็วรอบและจำนวนรอบในการทำโฮโมจิไนเซชัน

แรงดันที่ใช้และจำนวนรอบในการ โฮโมจิไนเซชันมีผลต่อขนาดอนุภาคและประสิทธิภาพในการกักเก็บสาร โดยขนาดอนุภาคที่ลดลงจะแปรผกผันกับการเพิ่มความดันในกระบวนการทำโฮโมจิไนเซชัน และความคงตัวจะมากขึ้นเมื่อเพิ่มความดันและจำนวนรอบในกระบวนการโฮโมจิไนเซชัน (Yuan และคณะ, 2008; Anarjan และคณะ, 2011) โดยอิมัลชันที่มีขนาดเล็กจะให้สารละลายที่โปร่งใสและช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มากกว่า (McClements และคณะ, 2011)

## 2.6 สตาร์ชดัดแปร (modified starch)

อุตสาหกรรมอาหารในปัจจุบันสตาร์ชดัดแปรถือว่าเป็นหนึ่งในทางเลือกในการนำมาใช้เพื่อแก้ไขและปรับปรุงผลิตภัณฑ์ให้มีลักษณะที่ต้องการมากขึ้น เช่นสำหรับมันฝรั่ง ฮาลาล โคเชอร์ ผลิตภัณฑ์ไขมันต่ำ หรือสำหรับผู้แพ้อาหารบางอย่างในแป้ง นอกจากนี้สตาร์ชปกติมีปัญหาในเรื่องของความสามารถในการละลายที่จำกัด จึงต้องมีการปรับปรุงคุณสมบัติของสตาร์ชให้ตรงกับความต้องการนำไปใช้ ซึ่งวิธีที่ใช้ในการปรับปรุงสตาร์ชมีด้วยกัน 4 วิธีคือ (i) การแทนที่ด้วยหมู่ทางเคมี (ii) การใช้เอนไซม์ (iii) การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ (iv) และการใช้หลายวิธีร่วมกัน อนุพันธ์ของสตาร์ชดัดแปรเกิดจากการตัดพันธะไกลโคซิดิก การสร้างกลุ่มใหม่ หรือการแทนที่หมู่ทางเคมีที่หมู่ไฮดรอกซิลของสตาร์ช หรือการเชื่อมข้ามพันธะ (cross-linking) เมื่อแบ่งชนิดของการดัดแปลงสตาร์ชจะแบ่งได้ 2 วิธีหลักคือ การดัดแปลงทางเคมีที่รวมไปถึงสตาร์ชที่ดัดแปรแบบเชื่อมข้าม การแทนที่หมู่ทางเคมี โดยทั่วไปโครงสร้างของสตาร์ชมักจะตอบสนองกับหมู่ทางเคมีที่มีขนาดเล็ก การแทนที่ของหมู่ทางเคมีสามารถเรียกแทนว่าระดับการแทนที่ (degree of substitute; DS) โดยตำแหน่งที่แทนที่ในโมเลกุลของแป้งจะมีผลต่อคุณสมบัติของสตาร์ชดัดแปรและการดัดแปลงโครงสร้างทางกายภาพโดยใช้ความร้อน แรงกด แรงเฉือนและความชื้น เพื่อเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของแป้ง มีสองวิธีคือการทำสตาร์ชดัดแปรพรีเจลาติไนเซชัน (pre-gelatinization) และการใช้ความร้อน (heat-treatment) การดัดแปลงโครงสร้างของสตาร์ชสามารถดำเนินการได้ในขณะที่มีสถานะเป็นของแข็งแห้งหรือผสมกับน้ำ

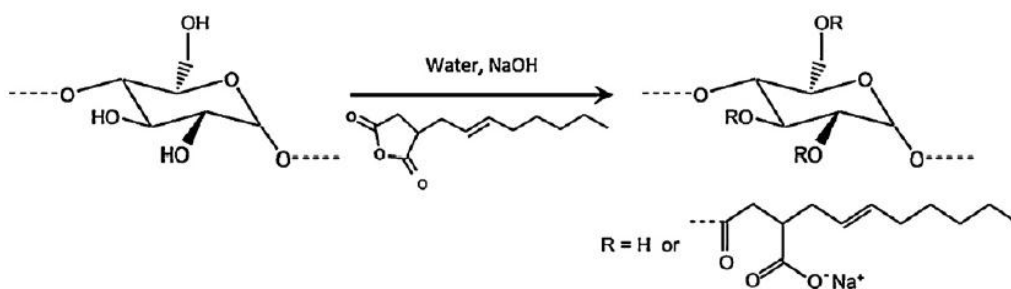
## 2.7 สตาร์ชดัดแปรออกทีนิลซัคซินิกแอนไฮไดรด์ (octenyl succinic anhydride modified starches)

การทำงานของสตาร์ชดัดแปรออกทีนิลซัคซินิกแอนไฮไดรด์ (OSA) เป็นการเพิ่มความเสถียรให้กับอิมัลชัน โดยสตาร์ชดัดแปร OSA จะถูกดูดซับที่พื้นผิวสัมผัสร่วมช่วยป้องกันการเข้ามาจับตัวกันของอนุภาคที่ก่อให้เกิดการแยกชั้นของระบบ นอกจากนี้ยังเหมาะสมที่จะใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์เนื่องจากเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ไม่ให้สีและรสชาติกับผลิตภัณฑ์และทนต่อค่าความเป็นกรดต่างมากกว่าโปรตีน แม้ว่าพีเอชอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างแต่นับว่าส่งผลน้อยมากเมื่อเทียบกับการใช้เวย์โปรตีน จากการศึกษาพบว่าความคงตัวของแป้งดัดแปรจะขึ้นอยู่กับค่าพีเอช เกลือและอุณหภูมิ อย่างไรก็ตามความคงตัวของระบบอิมัลชันและแคโรทีนอยด์จะขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของสตาร์ชดัดแปร OSA ซึ่งมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องเช่นความเข้มข้นที่ใช้ ชนิดของสตาร์ชต่อความคงตัวของระบบอิมัลชันและแคโรทีนอยด์ในระหว่างการเก็บรักษา

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแป้งด้วยการทำปฏิกิริยาการแทนที่ (esterification) ร่วมกับการใช้กรดดิคาร์บอกซิลิก (dicarboxylic) ได้รับการจดสิทธิบัตรในปี 1953 โดย Caldwell และ Wurzburg โดยแป้งดัดแปรที่พบบ่อยคือการใช้กรดออกทีนิลซัคซินิกแอนไฮไดรด์ (anhydrous octenyl succinic acid; OSA) ภายใต้สภาวะความเป็นด่างเรียกว่าสตาร์ชดัดแปร OSA ซึ่งได้รับการอนุญาตให้ใช้ในสหภาพยุโรป ภายใต้ E-number 1450

การแทนที่ของออกทีนิลซัคซินิกแอนไฮไดรด์สามารถแทนที่หมู่ไฮดรอกซิลในโครงสร้างของกลูโคสที่ตำแหน่ง 2, 3 และ 6 โดยส่วนใหญ่ หมู่ออกทีนิลซัคซินิกแอนไฮไดรด์จะอยู่ที่ส่วนอัดแน่นของอะไมโลเพคตินมากกว่า (ภาพที่ 6) ระดับการแทนที่มีค่าประมาณ 0.02 เป็นเรื่องปกติสำหรับสตาร์ชดัดแปรในเชิงพาณิชย์ นอกจากนี้ระดับการแทนที่ที่สูงขึ้น ไม่มีประโยชน์ในการปรับปรุงการทำอิมัลชัน

สตาร์ชดัดแปร OSA ที่แตกต่างกันตามกันขึ้นอยู่กับแหล่งกำเนิดของวัตถุดิบที่นำมาใช้และระดับการแทนที่ อย่างไรก็ตามการแทนที่ที่เพิ่มขึ้นจะช่วยลดความหนืดและอุณหภูมิในการเกิดเจลของแป้ง และมีผลต่อความคงตัวของระบบอิมัลชันในกระบวนการให้ความร้อน การแช่แข็งแล้วละลาย นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารทดแทนไขมันได้ด้วยเนื่องจากให้ความรู้สึกคล้ายกับไขมันแล้วยังพบว่าเมื่อทำการดัดแปรสตาร์ชแล้วจะช่วยลดอัตราการย่อยของแป้งในระบบทางเดินอาหารด้วย



## ภาพที่ 6 โครงสร้างของสตาร์ชตัดแปร OSA

ที่มา : Sweedman และคณะ (2013)

### 2.7.1 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสตาร์ชด้วยออกทีนิลซัคซินิกแอนไฮไดรด์

ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลง โครงสร้างทางเคมีของสตาร์ชเริ่มจากการเตรียมสตาร์ชดั้งเดิม ละลายในน้ำกลั่นที่มีการปรับค่าพีเอชของระบบอยู่ตลอดเวลาด้วยสารละลายร้อยละ 3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ จากนั้นเติมออกทีนิลซัคซินิกแอนไฮไดรด์ (ร้อยละ 3 w/w) อย่างช้าๆ ในระยะเวลา 2 ชั่วโมงอย่างต่อเนื่อง สุดท้ายปรับค่าพีเอชให้เป็น 6.5 ด้วยร้อยละ 3 กรดไฮโดรคลอริก ส่วนผสมทั้งหมดจะถูกปั่นให้เข้ากันและล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง และร้อยละ 70 แอลกอฮอล์อีก 2 ครั้ง จากนั้นนำไปทำแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วผ่านตะแกรงไนลอนขนาด 180 เมช จะได้ผลิตภัณฑ์ของสตาร์ชตัดแปร OSA

ปกติแล้วสตาร์ชจะมีส่วนที่ชอบน้ำมาก แต่เมื่อทำการตัดแปรสตาร์ชด้วยหมู่ออกทีนิลซัคซินิกแอนไฮไดรด์ จะไปเพิ่มความไม่ชอบน้ำให้กับสตาร์ชทำให้มีทั้งส่วนที่ชอบน้ำ (amphiphilic) และไม่ชอบน้ำ (lipophilic) จึงทำให้สตาร์ช OSA มีคุณสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ นอกจากนี้ยังใช้ในการเอนแคปซูลเซลล์ชีวหรือเจลอีกด้วย

### 2.7.2 ชนิดของสตาร์ชตัดแปร OSA

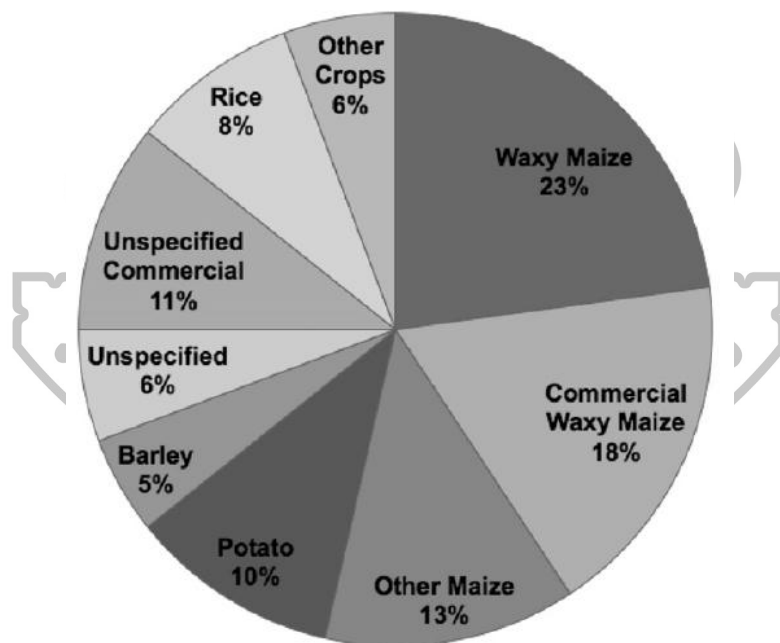
การประยุกต์ใช้งานสตาร์ชตัดแปรจะพิจารณาที่คุณสมบัติของสตาร์ชตัดแปรนั้นๆ คุณสมบัติของสตาร์ชตัดแปรจะขึ้นอยู่กับโครงสร้างของสตาร์ชตัดแปรซึ่งมีความซับซ้อนมาก เนื่องจากโครงสร้างที่แตกต่างกันของสตาร์ชแต่ละชนิดจะแตกต่างกันตามแหล่งพฤกษศาสตร์ที่นำมาใช้

แหล่งพฤกษศาสตร์สำหรับการผลิตสตาร์ชตัดแปรทางการค้ามีการค้นพบชนิดของสตาร์ชตัดแปรมากกว่าที่มีการศึกษาไว้ โดยที่นิยมนำมาใช้ตัดแปรมากที่สุดคือข้าวโพดข้าวเหนียว (waxy maize) (ตัวอย่างเช่น N-Creamer<sup>TM</sup>, Purity Gum<sup>TM</sup>, CAPSUL<sup>TM</sup>, Hi-CAPT<sup>TM</sup> [National Starch])

Mira-Cap™ [Tate and Lyle] หรือข้าวโพดปกติ (DRYFLOTM [National Starch]) และจากแหล่งอื่นๆเช่น มันสำปะหลัง (Clearam™ [Roquette]) อย่างไรก็ตามผู้ผลิตบางคนไม่สามารถที่จะเปิดเผยแหล่งที่มาของสตาร์ชตัดแปรเหล่านี้ได้ ทั้งนี้อาจส่งผลกระทบต่อในเชิงการค้า

### 2.7.3 แหล่งกำเนิดพฤกษศาสตร์ของสตาร์ช

ประมาณครึ่งหนึ่งของงานวิจัยที่มีอยู่ในขณะนี้พบว่าแหล่งกำเนิดพฤกษศาสตร์ของสตาร์ชที่พบมากคือข้าวโพดหรือแป้งข้าวโพด ซึ่งส่วนใหญ่จะระบุว่าเป็นข้าวโพดข้าวเหนียว ดังแสดงในภาพที่ 7 มีหลายงานวิจัยที่ศึกษาเปรียบเทียบแหล่งพฤกษศาสตร์ของสตาร์ชโดยมุ่งเน้นไปที่ผลที่ได้หลังจากมีการดัดแปลงสตาร์ชด้วย OSA ในขณะที่งานวิจัยอื่นนั้นศึกษาในเรื่องคุณสมบัติและการทำงานซึ่งมีแนวโน้มมาจากแหล่งพฤกษศาสตร์ โดยการคัดเลือกแหล่งพฤกษศาสตร์ที่มีความแตกต่างกันจะส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการใช้งาน เนื่องจากความแตกต่างของอัตราส่วนของอะไมโลสและอะไมโลเพคตินของแหล่งพฤกษศาสตร์



ภาพที่ 7 สัดส่วนของแป้ง OSA ที่พบในการค้าเชิงพาณิชย์

ที่มา : Sweedman และคณะ (2013)

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าชนิดของสตาร์ชตัดแปร OSA จึงมีหลากหลายชนิดทั้งที่มีให้เห็นในงานวิจัยและในทางการค้า โดยชนิดของสตาร์ชตัดแปร OSA จะขึ้นอยู่กับแหล่งพฤกษศาสตร์และระดับการแทนที่ของหมู่ OSA ซึ่งทำให้คุณสมบัติของสตาร์ชตัดแปรมีความแตกต่างกันไป

#### 2.7.4 การใช้สตาร์ชตัดแปรเป็นอิมัลซิไฟเออร์

การเลือกของวัสดุห่อหุ้มที่เหมาะสมควรมีคุณสมบัติที่ดีของการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ และสามารถปกป้องสารในระหว่างกระบวนการผลิต อย่างไรก็ตามไม่ใช่สารลดแรงตึงผิวบางตัวทุกตัวจะสามารถนำมาใช้ในการทำนาโนอิมัลชันได้ เนื่องจากข้อจำกัดมากมายเช่น ทวิน สเปน เลซิทีน และ เดคคาทิลเซอรอลอาจเหมาะในการทำนาโนอิมัลชันแต่ก็ยังไม่เหมาะกับการทำแห้งโดยการพ่นฝอยในกรณีที่ต้องการนำไปทำเป็นผงเพื่อให้ง่ายต่อการนำไปใช้ หรือการใช้ไบโอโพลิเมอร์เป็นอิมัลซิไฟเออร์ เช่น กัมอาราบิกและเวย์โปรตีน อาจมีข้อจำกัดเมื่อให้ความเข้มข้นมากเกินไปจะทำให้มีความหนืดเพิ่มขึ้นซึ่งจะลดประสิทธิภาพของการทำแห้งแบบพ่นฝอยได้ แต่การใช้สตาร์ชตัดแปรพบว่าที่มีศักยภาพในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดี มีความหนืดต่ำและมีความสามารถในการกักเก็บน้ำมันด้วยเหตุผลนี้จึงถูกเลือกให้นำมาใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (David และคณะ, 2008) ในปัจจุบันมีหลายงานวิจัยที่ได้มีการนำสตาร์ชตัดแปร OSA มาใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ Esther และคณะ (2012) ศึกษาผลของความเข้มข้นของสตาร์ชตัดแปร OSA ที่ตัดแปรจากแป้งข้าวโพดข้าวเหนียวต่อความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ (% encapsulate) และขนาดของอนุภาค ต่อมา Dokic และคณะ (2012) ได้ศึกษาผลความเข้มข้นของสตาร์ชตัดแปร OSA ต่อความคงตัวของอิมัลชันโดยวัดการเกิดการแยกชั้น (% Creaming) นอกจากนี้จากที่กล่าวไปข้างต้นชนิดของสตาร์ชตัดแปร OSA มีความหลากหลายซึ่งแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไป โดยในการศึกษาของ Liang และคณะ (2013A) ได้ศึกษาชนิดของสตาร์ชตัดแปร OSA ต่อความคงตัวของระบบอิมัลชันและการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าคุณสมบัติที่ต่างกันของสตาร์ชตัดแปรจะส่งผลต่อความคงตัวของระบบและการกักเก็บแคโรทีนอยด์ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้มีการเปรียบเทียบความเข้มข้นและชนิดของสตาร์ชตัดแปร OSA ที่เหมาะสมเพื่อประยุกต์ใช้ในอิมัลชัน



## 2.8 เวย์ (whey)

เวย์เป็นผลผลิตที่ได้จากกระบวนการผลิตชีสและเคซีนในโรงงานอุตสาหกรรมนม หลังจากการแยกเคซีนออกจากนมโดยการทำให้โปรตีนเคซีนเกิดการจับตัวกันด้วยเอนไซม์ไคโมซิน (chymosin หรือ rennet) หรือการใช้แร่ธาตุ/กรดธรรมชาติ ของเหลวส่วนใสที่เหลือจากกระบวนการนี้จะเรียกว่าเวย์ (Zadow, 1994) โดยร้อยละของโปรตีนที่พบในนมเป็นเวย์โปรตีนถึงร้อยละ 20 (Marshall, 2004) เวย์ที่ได้จะมีสีเหลือง/เขียว หรือบางครั้งจะออกสีฟ้า ซึ่งสีที่ได้นั้นจะขึ้นอยู่กับคุณภาพและประเภทของนมที่นำมาใช้ด้วย ในทางทฤษฎีจะมีรสหวาน แต่เกิดการออกซิไดส์อย่างรวดเร็ว เวย์มีปริมาณเกือบครึ่งหนึ่งของของแข็งทั้งหมดที่พบในนม (Pasin และ Miller 2000) เวย์สามารถผลิตได้จากนมทุกชนิด โดยเฉพาะนมวัวที่ถูกนำมาใช้เป็นส่วนใหญ่

เวย์ถูกค้นพบเมื่อประมาณ 3000 ปีที่ผ่านมา ในสมัยก่อนนิยมใช้กระเพาะลูกวัวในการบรรจุและขนส่งนมซึ่งในระหว่างการขนส่งจะเกิดการทำงานของเอนไซม์ไคโมซิน (rennet) ที่เป็นเอนไซม์ธรรมชาติพบในท้องลูกวัว นมจะเกิดการจับกันเป็นลิ่มก้อนในระหว่างการเก็บรักษาและขนส่ง ผลที่ได้คือลิ่มโปรตีนและเวย์โปรตีน ซึ่งสาเหตุนี้จึงเป็นจุดเริ่มต้นของอุตสาหกรรมการทำชีส

ปัจจุบันเวย์เป็นผลผลิตหลักสำคัญที่ได้จากกระบวนการผลิตชีสและเคซีน โดยเฉลี่ยทั่วโลกพบว่าอัตราการเติบโตของผลิตภัณฑ์เวย์มีความใกล้เคียงกับอัตราการเพิ่มขึ้นของนม (ร้อยละ 42 ต่อปี; FAO, 2006) เนื่องจากปริมาณที่เพิ่มขึ้นของนมนั้นส่งผลต่อการเติบโตของอุตสาหกรรมการผลิตชีสและเคซีนที่ใหญ่ขึ้น (Smithers, 2008)

### 2.8.1 การแบ่งประเภทของเวย์

เวย์สามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภทตามกระบวนการแยกเวย์ได้แก่ เวย์ผง (whey powder) เวย์เข้มข้น (whey concentrate) และ เวย์ไอโซเลท (whey isolate) ซึ่งองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์เวย์จะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการรวมถึงแหล่งที่มาของนม วิธีการผลิต ประเภทของชีสและข้อกำหนดของผู้ผลิต (Shankar และ Bansal, 2013) ตารางที่ 3

ตารางที่ 3 องค์ประกอบหลักที่พบในเวย์แต่ละชนิด

องค์ประกอบที่พบในเวย์แต่ละชนิด (ร้อยละ)			
องค์ประกอบของเวย์	เวย์ผง	เวย์โปรตีน เข้มข้น	เวย์โปรตีน ไอโซเลท
โปรตีน	11-14.5	25-89	>90
แลคโตส	63-75	10-55	0.5
ไขมันนม	1-1.5	2-10	0.5

ที่มา : Geiser (2003)

### 1. เวย์ผง (whey powder)

เวย์ผงมีการนำมาประยุกต์ใช้ที่หลากหลายในอุตสาหกรรมอาหาร เวย์ผงมักถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารสำหรับผลิตภัณฑ์นมและเบเกอรี่ เวย์ผงปกติจะมีหลากหลายประเภท เช่นเวย์กรด (acid whey) เวย์ผงชนิดลดแร่ธาตุ (demineralized whey) เวย์หวาน (sweet whey) และเวย์ในรูปแบบลดขนาด (reduced forms)

### 2. เวย์เข้มข้น (whey concentrate)

การผลิตเวย์เข้มข้น ได้จากการกำจัดแลคโตส เกล็ดบางส่วนและน้ำ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับเวย์ไอโซเลทแล้วเวย์เข้มข้นจะคงเหลือสารทางชีวภาพออกฤทธิ์มากกว่า

### 3. เวย์ไอโซเลท (whey isolate)

เวย์ไอโซเลทเป็น โปรตีนบริสุทธิ์ ซึ่งมีความเข้มข้นของโปรตีนประมาณร้อยละ 90 หรือสูงกว่านั้น โดยในระหว่างขั้นตอนการผลิตเวย์ไอโซเลทจะมีการกำจัดแลคโตสและไขมันออกด้วย

## 2.8.2 กระบวนการแยกเวย์ด้วยระบบเมมเบรน

ระบบเมมเบรนเป็นที่นิยมใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมนมเพื่อใช้ในการควบคุมปริมาณของ โปรตีน ไขมันและแลคโตส ระบบเมมเบรนนี้ถือว่าเป็นระบบที่ประสบความสำเร็จเพราะสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพและประหยัดขั้นตอนการดำเนินการในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ที่มีความจำเป็นในการในการใช้ผลิตภัณฑ์นมในปริมาณมาก ระบบเมมเบรนเป็นระบบที่มีเทคนิคพื้นฐานทั่วไปคือการกรองผ่านเยื่อที่มีรูพรุนขนาดเล็ก ซึ่งขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางจะเป็นตัวแยกแยกชิ้นส่วนที่เป็นของแข็งออกจากของเหลว กระบวนการเหล่านี้ได้มีการนำมาใช้สำหรับ

การปรับปรุงเว็ยนับตั้งแต่ช่วงปลายปี 1970 จนถึงต้นปี 1980 โดยใช้เยื่อเซลลูโลสอะซิเตทในการกรอง ซึ่งต่อมาถูกแทนที่โดยเยื่อที่มีความทนทานมากกว่าคือ โพลีซัลโฟน (poly sulfones) หรือโพลีเอเธโรซัลโฟน (polyethero-sulphones) โดยแรงที่เข้ากระทำเพื่อผลิตเวย์โปรตีนเข้มข้นและไอโซเลทที่มีย้อนกลับคือ แรงดันออสโมซิส (osmosis) อัลตราฟิลเตรชัน (Ultrafiltration) ไมโครฟิลเตรชัน (microfiltration) และ นาโนฟิลเตรชัน (nanofiltration) แรงทางไฟฟ้าที่ใช้ในระบบคือ อิเล็กโตรไดอะไลซิส (electrodialysis) และ อิเล็กโตรอิเล็กโตรไดอะไลซิส (electroelectrodeionization) (Tsakali และคณะ, 2010)

### 2.8.2.1 เวย์เข้มข้น (whey concentrate; WPC)

วิธีที่ใช้กันมากที่สุดในการผลิตของ WPCS คืออัลตราฟิลเตรชัน จะใช้เทคนิคนี้เพียงอย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับเมมเบรนอื่น ๆ เช่นเมมเบรนไมโครฟิลเตรชันหรือนาโนฟิลเตรชัน จุดมุ่งหมายหลักของการกรองด้วยอัลตราฟิลเตรชันของเวย์คือทำให้เวย์มีความเข้มข้นมากขึ้นและลดปริมาณของแลคโตสและแร่ธาตุอื่นๆ (Da Costa และคณะ, 1993; Huffman, 1996 Marshall, 1982) อัลตราฟิลเตรชันใช้เยื่อพอลิเมอร์หรือเซรามิกเพื่อยืดเวย์โปรตีนและกำจัดแลคโตสและแร่ธาตุอื่นๆ เวย์โปรตีนที่ได้จะถูกนำไประเหยและทำสเปรย์คราย ผลผลิตที่ได้จะเป็นเวย์โปรตีนที่มีปริมาณโปรตีนประมาณร้อยละ 60 โดยน้ำหนัก แลคโตสและแร่ธาตุในเวย์สามารถทำให้มีปริมาณลดลงได้อีกโดยใช้ไดอะฟิลเตรชัน (diafiltration) โดยจะใช้น้ำกลั่นเข้าล่างส่วนของเวย์โปรตีนที่กรองได้ในขณะที่แลคโตสและเกลือแร่จะถูกกำจัดออกพร้อมกันในการกรองครั้งนี้ การประยุกต์ใช้ระบบเมมเบรนอัลตราฟิลเตรชันและไดอะฟิลเตรชันจะทำให้เวย์มีปริมาณของโปรตีนสูงถึงร้อยละ 85 นอกจากนี้ นาโนฟิลเตรชันยังสามารถนำมาใช้เพื่อทำให้เวย์มีความเข้มข้นของโปรตีนได้ถึงร้อยละ 20-24

### 2.8.2.2 เวย์ไอโซเลท (whey isolate; WPI)

เวย์ไอโซเลทในทางพาณิชย์มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 88-95 สำหรับกระบวนการผลิตนี้เวย์จะต้องมีปริมาณไขมันต่ำโดยการใช้นาโนฟิลเตรชันและกำจัดแร่ธาตุโดยการแลกเปลี่ยนไอออนด้วยอิเล็กโตรไดอะไลซิสหรือนาโนฟิลเตรชัน เพื่อทำให้เวย์โปรตีนมีความบริสุทธิ์มากขึ้น จะต้องมีการใช้ไดอะฟิลเตรชันก็เพื่อกำจัดสารโมเลกุลที่ไม่ต้องการออกจนกระทั่งได้เวย์โปรตีนที่มีความเข้มข้นบริสุทธิ์จึงนำไปทำแห้งแบบผลด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย อีกทางเลือกหนึ่งในการผลิตเวย์ไอโซเลทสามารถทำได้โดยการใช้นาโนฟิลเตรชันแลกเปลี่ยนไอออนร่วมกับการใช้โครมาโทกราฟีและอัลตราฟิลเตรชัน (Morr, 1989) โปรตีนจำพวกเวย์ไอโซเลทเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณโปรตีนในสัดส่วนที่สูงกว่าเวย์โปรตีนปกติ การผลิตเวย์เข้มข้นโดยปกติที่ใช้ทั่วไปจะใช้สารดูดซับที่ไม่

เฉพาะเจาะจงในการจับเว็โปรตีนตามด้วยกระบวนการชะโปรตีนออกจากตัวดูดซับด้วยสารละลายที่เฉพาะเจาะจง ตัวดูดซับที่มีการใช้ในเชิงพาณิชย์ ได้แก่ คาร์บอกซิลเมทิลเซลลูโลส (carboxy-methyl-cellulose)

### 2.8.3 การนำเว็มาใช้ในระบบอิมัลชัน

โปรตีนจัดว่าเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่สำคัญในระบบอุตสาหกรรมอาหาร ด้วยความที่ตัวมันเป็นแอมฟิฟิลิก (มีทั้งส่วนที่ชอบน้ำและชอบน้ำมัน) สารลดแรงตึงผิวและมีความสามารถในการสร้างความแข็งแรงให้กับเยื่อเมมเบรนรอบคอรอปเลท ทำให้สามารถรักษาเสถียรภาพของหยดอิมัลชันได้ (Lam และ Nickerson, 2013) โปรตีนส่วนใหญ่สามารถสร้างความคงตัวให้กับอิมัลชันได้โดยอาศัยแรงผลักทางไฟฟ้าจากประจุที่อยู่บนพื้นผิวของโปรตีนที่เรียกว่าผลของความเกะกะ (Steric effect) โปรตีนเช่นเคซีน (Relkin และคณะ, 2009; Relkin และคณะ 2008) เว็โปรตีนไอโซเลท (Sinha และคณะ, 2007; Lee และ McClements, 2010; Relkin และคณะ, 2011; Donhowe และคณะ, 2014; Yi และคณะ, 2014; Xu และคณะ, 2016;) เว็โปรตีนเข้มข้น (Jafaric และคณะ, 2006) และโปรตีนถั่วและถั่วเหลือง (Chu และคณะ, 2007; Donsi และคณะ, 2012) ได้ถูกนำมาใช้ในการทำนาโนอิมัลชันสำหรับอุตสาหกรรมอาหาร (Adjonu และคณะ, 2014)



**บทที่ 3**  
**อุปกรณ์และวิธีการทดลอง**

**3.1 วัตถุประสงค์ สารเคมี เครื่องมือ และอุปกรณ์ในการวิจัย**

**3.1.1 วัตถุประสงค์**

- เนื้อตาล (*Borassus flabellifer* Linn.) จากจังหวัดเพชรบุรี
- น้ำกรอง (ซิลปากร)
- สตาร์ชตัดแปร์ OSA1 และ OSA2 (บริษัท National Starch, ประเทศไทย)
- เวย์โปรตีนไอโซเลท (*Glanbia*, ประเทศไอร์แลนด์)
- น้ำมันถั่วเหลือง (อู๋น, ประเทศไทย)
- น้ำมันมะพร้าว (*Tropicana*, ประเทศไทย)

**3.1.2 สารเคมี**

- เอธิลอะซิเตท (*Ajax Finechem*, ประเทศออสเตรเลีย)
- เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 (*Better Syndicate*, ประเทศไทย)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (*Ajax Finechem*, ประเทศออสเตรเลีย)
- โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (*Ajax Finechem*, ประเทศออสเตรเลีย)
- อะซิโตน (*Better Syndicate*, ประเทศไทย)
- เฮกเซน (*Better Syndicate*, ประเทศไทย)

**3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ**

- เครื่องชั่งน้ำหนักดิจิทัล
- ผ้าขาวบาง
- หลอดเซนติฟิว (*cesor50*)
- ถาดสแตนเลสสี่เหลี่ยมขนาด 12 x 10 นิ้ว
- Cuvette Quartz
- Stand และ Oring
- Forceps
- ขวดก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร
- หลอดหยดสาร
- กรวยกรองแก้ว

- หลอดทดลองและฝาปิด
- หลอดฝาเกลียวและฝาปิด
- ถังอลูมิเนียมฟอยด์และเครื่องปิดผนึก
- ปีกเกอร์
- กระจบอทดวง
- ขวดคูแรนและฝาปิด
- ปีเปตและลูกยาง
- ตู้แช่แข็ง ยี่ห้อ Haier ประเทศอังกฤษ
- ตู้อบลมร้อน ยี่ห้อ BINDER ประเทศเยอรมนี
- เครื่องระเหยตัวทำละลาย ยี่ห้อ Buchi ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
- อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Memmert ประเทศไทย
- เครื่อง Autoclave ยี่ห้อ Tomy Seiko ประเทศญี่ปุ่น
- ตู้เย็น ยี่ห้อ Hitachi
- เครื่องปั่นมือถือ Hand mixer ยี่ห้อ Thermofisher ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ ULTRA-TURRAX ยี่ห้อ IKA ประเทศเยอรมนี
- เครื่อง High Pressure Homogenizer ยี่ห้อ APV รุ่น Lab 2000 ประเทศอังกฤษ
- เครื่องวัดขนาดอนุภาค LASER SCATERING (LA-950) ยี่ห้อ HORIBA ประเทศญี่ปุ่น
- เครื่องวัดสี Tintometer ยี่ห้อ Lovibond ประเทศอังกฤษ



## 3.2 วิธีการทดลอง

### 3.2.1 การศึกษากระบวนการสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยตัวทำละลายจากเนื้อลูกตาล

#### 3.2.1.1 ตัวอย่างและสารเคมี

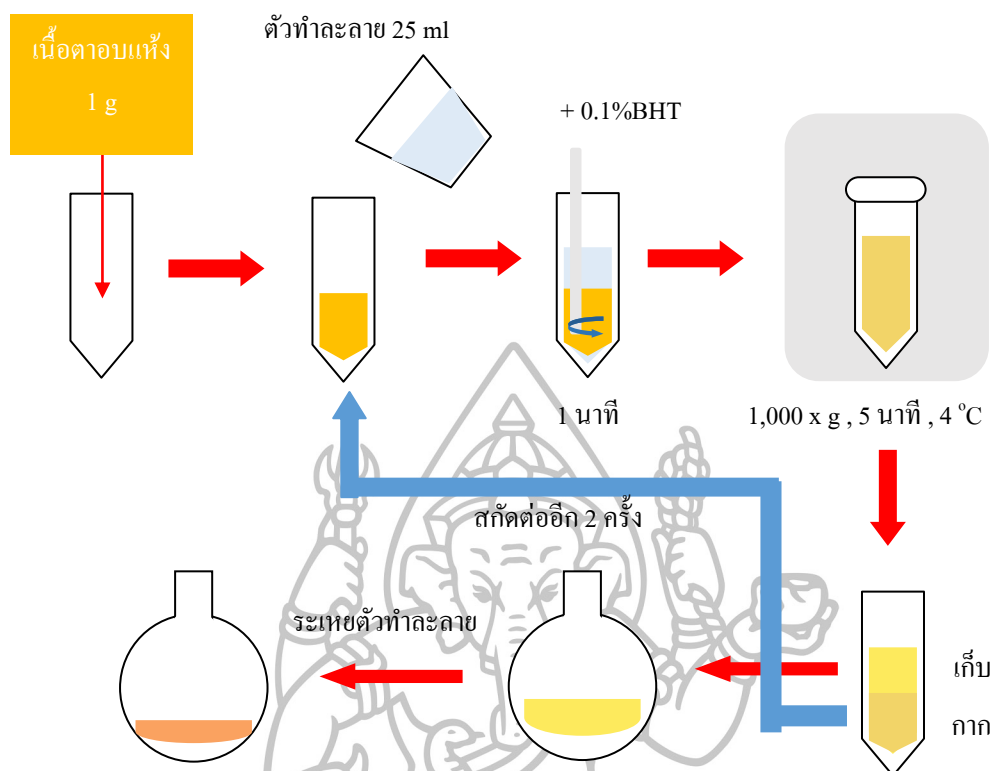
เนื้อตาลสุก (*Borassus flabellifer* Linn.) จากจังหวัดเพชรบุรีเก็บเกี่ยวในช่วงเดือน พฤษภาคม-มิถุนายนปี 2558 ก่อนนำมาใช้เนื้อตาลจะถูกเก็บรักษาไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส (Chest Freezer Haier), เอธิลอะซิเตท (Ajax Finechem) เอทานอล (Better Syndicate) น้ำกลั่น (Better Syndicate), BHT (Chemipan)

#### 3.2.1.2 การเตรียมตัวอย่าง

เนื้อตาลสุก 250 กรัมบรรจุลงในภาชนะแบนเลตสี่เหลี่ยมขนาด 12 x 10 นิ้ว นำไปทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน WTB BINDER (Tuttlingen, Germany) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง, 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง 55 นาที และ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 50 นาที วัดความชื้นด้วยวิธีของ (AOAC, 1990) ความชื้นของเนื้อตาลจะอยู่ในช่วงร้อยละ 78-80

#### 3.2.1.3 การสกัดแคโรทีนอยด์จากเนื้อตาลอบแห้ง

นำเนื้อตาลสุกอบแห้ง 1 กรัม (dry basis) บรรจุลงในหลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร ทำการสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยตัวทำละลาย 25 มิลลิลิตร ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้เปรียบเทียบกับด้วยกัน 3 ชนิดคือเอทานอล เอธิลอะซิเตท และสารละลายผสมระหว่างเอทานอลและเอธิลอะซิเตท (3:4, v/v) ป้องกันการเกิดออกซิเดชัน โดยเติมร้อยละ 0.1 BHT ผสมตัวอย่างและตัวทำละลายเป็นเวลา 1 นาทีที่อุณหภูมิห้องหลังจากนั้นนำเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง (Thermofisher, USA) โดยกำหนดความเร็วรอบที่ 1,000 x g เป็นเวลา 5 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สารสกัดที่ได้จะถูกแยกออกไปและกากที่เหลือจะถูกนำมาสกัดใหม่ด้วยตัวทำละลาย 25 มิลลิลิตรทำซ้ำประมาณ 3 ครั้งจนกระทั่งกากไม่มีสี สารสกัดทั้งหมดจะถูกเก็บรวบรวมและนำมากรองด้วยกระดาษกรอง (whatman 1) ก่อนจะนำไปกำจัดตัวทำละลายโดยการระเหยที่ 40 องศาเซลเซียส (Buchi, Flawil, Switzerland) (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 การสกัดแคโรทีนอยด์จากเนื้อตาลอบแห้ง

### 3.2.1.4 การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ (carotenoids content) ตัดแปลงจาก Davey และคณะ (2006)

1. เจือจางสารสกัดที่ได้หลังจากการระเหยตัวทำละลายด้วยเอทิลอะซิเตท
2. วิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมโดยใช้ spectrophotometer (Spectronic Unicam, UK) ที่ช่วงความยาวคลื่นที่ 450 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐานแคโรทีนอยด์ (ภาคผนวก ก) โดยค่าที่วิเคราะห์ได้จะอยู่ในรูปของแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัม) ต่อน้ำหนักของเนื้อตาล (กรัมฐานแห้ง)

### 3.2.1.5 การวัดค่าสีในระบบ $L^*a^*b^*$

1. ใช้เครื่อง Tintometer (LC 100 & SV 100, Lovibond, UK) ในการวัดสีหลังการสกัด โดยค่าสีที่ได้จะอยู่ในฐาน  $CIE L^*a^*b^*$  ซึ่งเป็นระบบมาตรฐานที่ใช้ในการวัดสีโดย Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) เมื่อ L คือค่าความสว่าง/ความมืด a คือค่าสีแดง/เขียว และ b คือค่าสีเหลือง/น้ำเงิน
2. นำตัวอย่างบรรจุในคิวเวตก่อนจะนำไปวัดค่าสี



### 3.2.1.6 ประสิทธิภาพการสกัด (%recovery)

1. สกัดแคโรทีนอยด์ทั้งหมดจากเนื้อตาลโดยใช้ตัวละลายผสมระหว่างเอทานอลและเอทิลอะซิเตทมาทำการสกัดจนตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดไม่มีสี (ประมาณ 5 รอบ)
2. วัดปริมาณแคโรทีนอยด์ที่พบในเนื้อตาลทั้งหมดพบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด 3,892 ไมโครกรัม/กรัมเนื้อตาล
3. จำนวนประสิทธิภาพการสกัดคำนวณได้จากอัตราส่วนของแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้ต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ที่พบในเนื้อตาลทั้งหมดโดยใช้สูตร

$$\text{ร้อยละประสิทธิภาพการสกัด} = \frac{\text{ปริมาณของแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้}}{\text{ปริมาณของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดที่พบในเนื้อตาล}} \times 100$$

### 3.2.1.7 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยโปรแกรม XLSTAT เวอร์ชัน Version 2016.02.28261 สำหรับวินโดวส์ วิเคราะห์ข้อมูล Analysis of Variance (ANOVA) ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

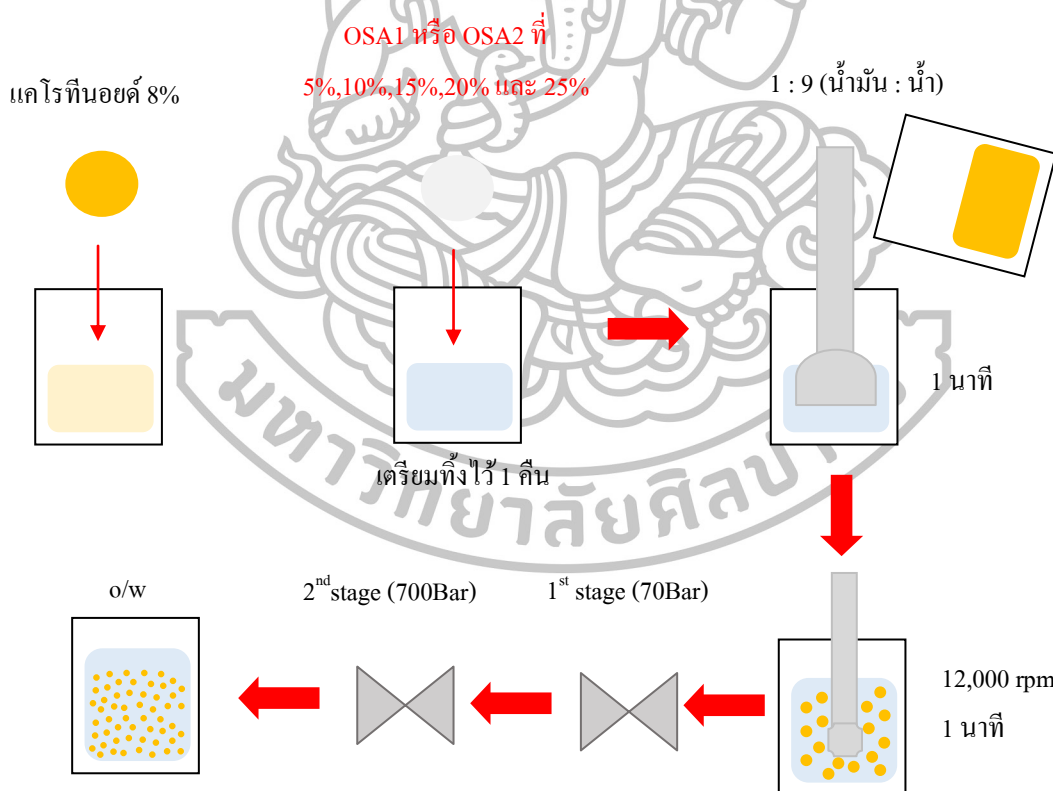


### 3.2.2 การศึกษากระบวนการทำอิมัลชันสารสกัดแคโรทีนอยด์

#### 3.2.2.1 การศึกษาชนิดอิมัลซิไฟเออร์และอัตราส่วนที่เหมาะสม

##### 3.2.2.1.1 การเตรียมอิมัลชันจากสตาร์ชตัดแปร OSA

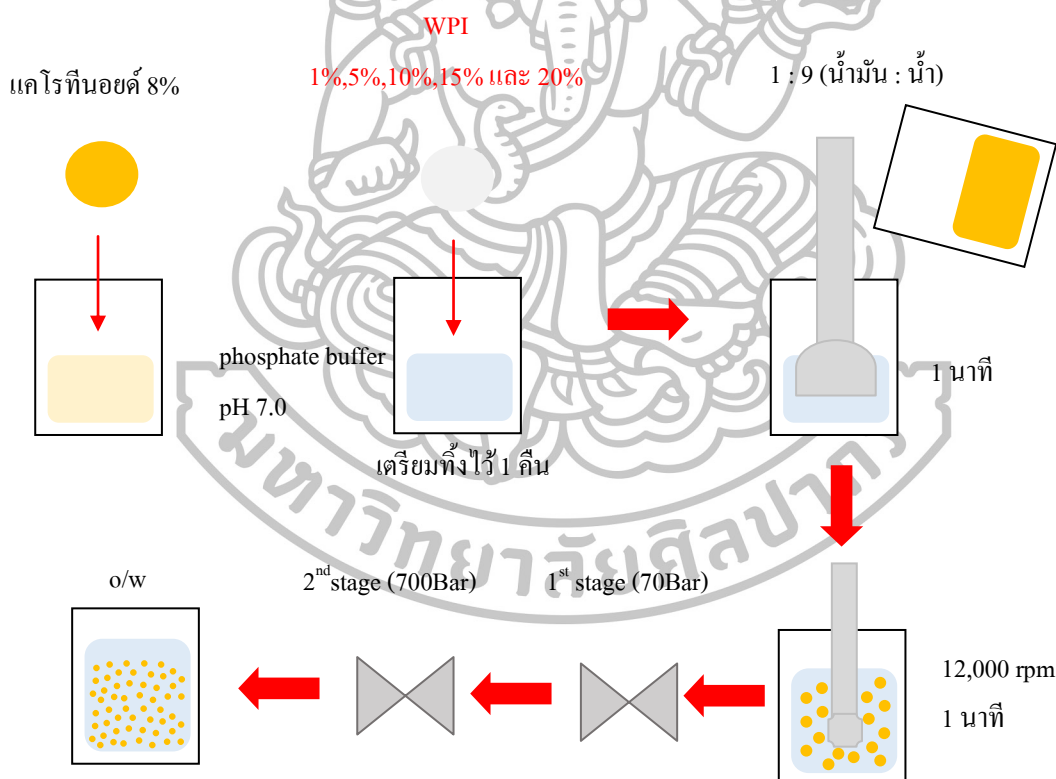
วิธีการทำอิมัลชันเริ่มจากการเตรียมสารออกเป็นสองส่วนคือส่วนที่เป็นเฟสน้ำมัน และส่วนที่เป็นเฟสน้ำ ในส่วนที่เป็นเฟสน้ำมันเตรียมได้จากแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้ร้อยละ 8 ผสมกับน้ำมันถั่วเหลือง (กรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมน้ำมัน) และส่วนที่เป็นน้ำใช้น้ำกรองผสมกับสตาร์ชตัดแปร OSA ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5, 10, 15, 20 และ 25 (กรัมสตาร์ชตัดแปรต่อกรัมน้ำกรอง) ที่เตรียมทิ้งไว้ 1 คืน หลังจากนั้นนำเฟสน้ำมันผสมลงในเฟสน้ำในอัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อน้ำ 1:9 ด้วย Hand mixer และโดยทำให้เกิดอิมัลชันรอบแรกที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาทีด้วยเครื่อง ULTRA-TURRAX (IKA, Germany) หลังจากนั้นโฮโมจิไนเซชัน โดยใช้แรงดันสูงเพื่อทำให้เกิดนาโนอิมัลชันที่ 700 บาร์ 3 รอบ จนกระทั่งได้ส่วนที่เป็นแคโรทีนอยด์อิมัลชัน หลังจากนั้นนำอิมัลชันที่ได้ไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 35 และ 10 องศาเซลเซียสในภาชนะที่ปิดสนิท (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 การเตรียมอิมัลชันจากสตาร์ชตัดแปร OSA เพื่อศึกษาชนิดอิมัลซิไฟเออร์และอัตราส่วนที่เหมาะสม

### 3.2.2.1.2 การเตรียมอิมัลชันจากเวย์โปรตีนไอโซเลท

วิธีการทำอิมัลชันเริ่มจากการเตรียมสารออกเป็นสองส่วนคือส่วนที่เป็นเฟสน้ำมัน และส่วนที่เป็นเฟสน้ำ ในส่วนที่เป็นเฟสน้ำมันเตรียมได้จากแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้ร้อยละ 8 ผสมกับน้ำมันถั่วเหลือง (กรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมน้ำมัน) และส่วนที่เป็นเฟสน้ำใช้สารละลาย 10 มิลลิโมลฟอสเฟตบัฟเฟอร์ค่าพีเอช 7.0 ผสมกับเวย์โปรตีนไอโซเลทที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 5, 10, 15 และ 20 (กรัมเวย์ต่อกรัมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์) ที่เตรียมทิ้งไว้ 1 คืน หลังจากนั้นนำเฟสน้ำมันผสมลงในเฟสน้ำในอัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำ 1:9 ด้วย Hand mixer และโดยทำให้เกิดอิมัลชันรอบแรกที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาทีด้วยเครื่อง ULTRA-TURRAX (IKA, Germany) หลังจากนั้นโฮโมจิไนเซชันโดยใช้แรงดันสูงเพื่อทำให้เกิดนาโนอิมัลชันที่ 700 บาร์ 3 รอบจนกระทั่งได้ส่วนที่เป็นแคโรทีนอยด์อิมัลชัน หลังจากนั้นนำอิมัลชันที่ได้ไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 35 และ 10 องศาเซลเซียสในภาชนะที่ปิดสนิท (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 การเตรียมอิมัลชันจากเวย์โปรตีนไอโซเลทเพื่อศึกษาชนิดอิมัลชันไฟเออร์และอัตราส่วนที่เหมาะสม

### 3.2.2.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในอิมัลชัน

การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในอิมัลชันคัดแปลงจากวิธีการของ Ax, และคณะ (2003)

1. นำตัวอย่างอิมัลชัน 1 กรัมมาทำการสกัดด้วยเอทานอล 0.5 มิลลิลิตร อะซิโตน 2 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องวอร์เทคเป็นเวลา 5 วินาที

2. ผสมเฮกเซน 3 มิลลิลิตรแล้วเขย่าต่ออีก 20 ครั้ง ปล่อยให้ไว้นสารละลายเกิดการแยกชั้นให้เก็บส่วนที่เป็นเฮกเซน

3. สกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วยตัวทำละลายเฮกเซน หลังจากนั้นนำส่วนสารละลายเฮกเซนที่สกัดได้มารวมกันแล้วนำไปประเหยตัวทำละลายออกที่ 40 องศาเซลเซียส

4. ทำการเจือจางสารสกัดที่ได้หลังจากการระเหยด้วยเอทิลอะซิเตท แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดด้วย Tintometer ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร

5. คำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดด้วยสมการที่ได้จากการหาเสตนดาร์ด์เบต้าแคโรทีน (ภาคผนวก ก)

### 3.2.2.1.4 การทดสอบความคงตัวของอิมัลชัน (creaming)

การวิเคราะห์การแยกชั้นของอิมัลชันอ้างอิงจากวิธีการของ Yuan และคณะ (2008)

1. นำตัวอย่างอิมัลชัน 5 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดทดลองที่มีฝาปิด

2. ตั้งทิ้งแล้ววัดปริมาณของเหลวที่แยกออกมา โดยวัดจากความสูงแล้วนำมาคำนวณหาร้อยละการแยกชั้นของน้ำ

$$\text{ร้อยละความคงตัว} = \frac{\text{ความสูงของชั้นครีม}}{\text{ความสูงของตัวอย่าง}} \times 100$$

### 3.2.2.1.5 วัดค่าสีในระบบ L\*a\*b\*

การวัดค่าสีในระบบ L\*a\*b\* โดยใช้เครื่อง Tintometer (LC 100 & SV 100, Lovibond, UK) ในการวัดสีของอิมัลชันตามการวิเคราะห์ในข้อ 3.2.1.5

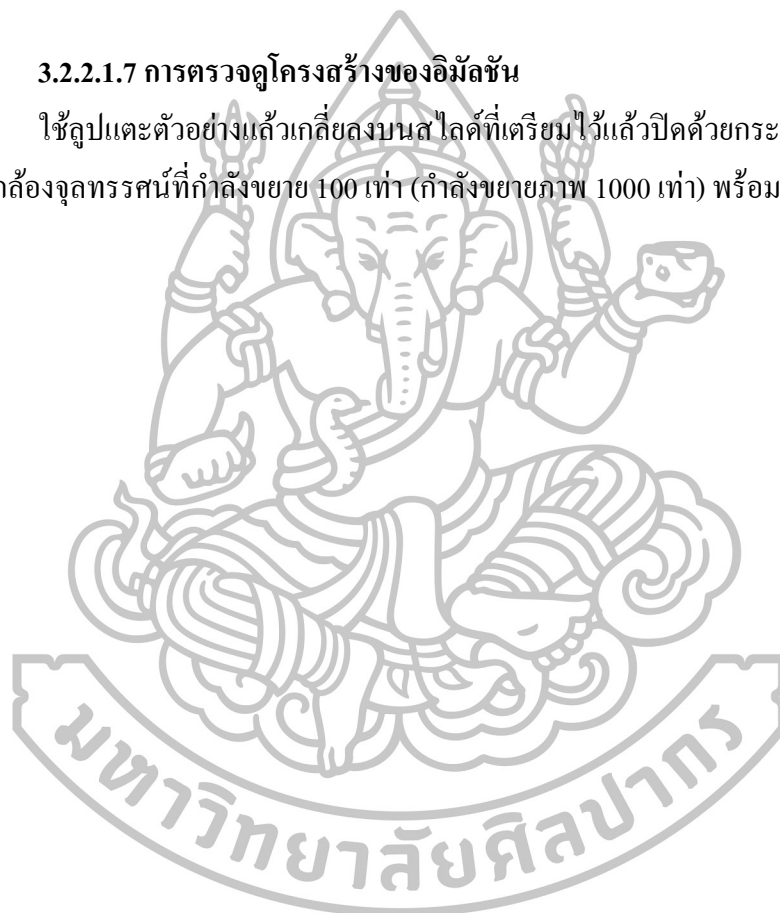
### 3.2.2.1.6 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าสี (color difference; Delta E)

การวิเคราะห์ค่าสีของตัวอย่างจะใช้ Tintometer (LC 100 & SV 100, Lovibond, UK) ในการวัดสีหลังการสกัด โดยค่าสีที่ได้จะอยู่ในฐาน CIE L\*a\*b หลังจากนั้นนำไปคำนวณค่าความแตกต่างของค่าสี โดยเปรียบเทียบสีของอิมัลชันเริ่มต้นและสีของอิมัลชันที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างการเก็บรักษา

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

### 3.2.2.1.7 การตรวจดูโครงสร้างของอิมัลชัน

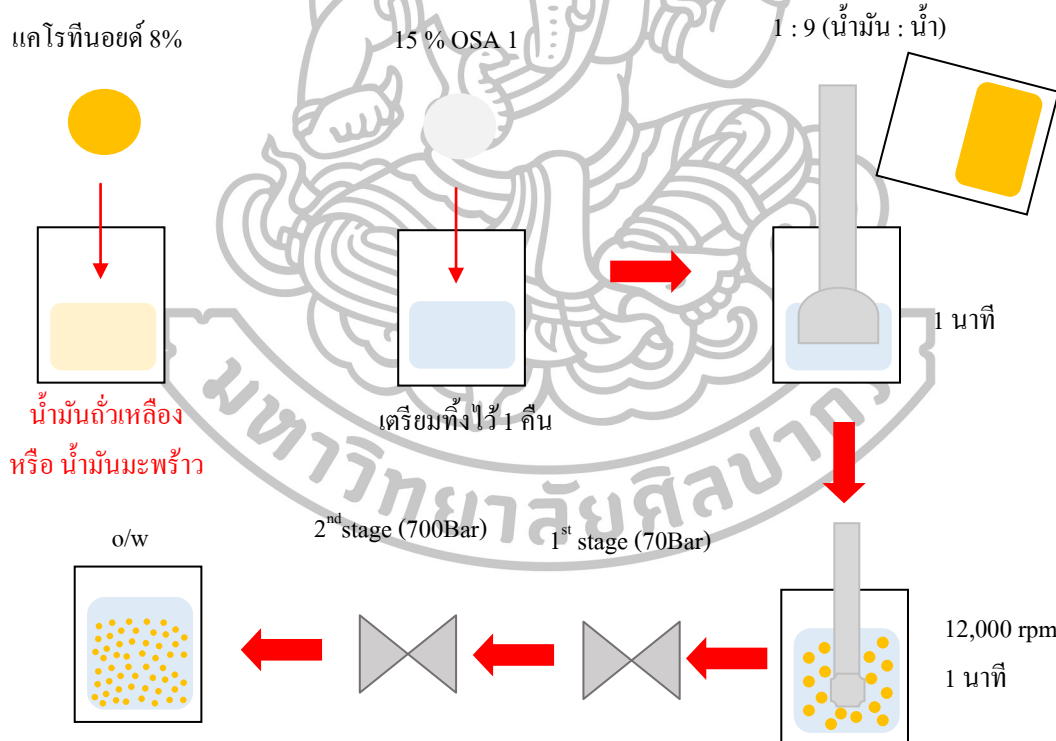
ใช้ลูบตะตัวอย่างแล้วเกลี่ยลงบนสไลด์ที่เตรียมไว้แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์นำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า) พร้อมถ่ายภาพด้วยกล้องดิจิทัล



### 3.2.2.2 การศึกษาชนิดของน้ำมัน

#### 3.2.2.2.1 การเตรียมอิมัลชัน

วิธีการทำอิมัลชันเริ่มจากการเตรียมสารออกเป็นสองส่วนคือส่วนที่เป็นเฟสน้ำมัน และส่วนที่เป็นเฟสน้ำ ในส่วนที่เป็นเฟสน้ำมันเตรียมได้จากแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้ร้อยละ 8 ผสมกับน้ำมันสองชนิด คือ น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว (กรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมน้ำมัน) และส่วนที่เป็นน้ำใช้น้ำกรองผสมกับสตาร์ชตัดแปร OSA1 (ที่เตรียมทิ้งไว้ 1 คืน) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 (กรัมสตาร์ชตัดแปรต่อกรัมน้ำกรอง) หลังจากนั้นนำเฟสน้ำมันผสมลงในเฟสน้ำในอัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อน้ำ 1:9 ด้วย Hand mixer และโดยทำให้เกิดอิมัลชันรอบแรกที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาทีด้วยเครื่อง ULTRA-TURRAX (IKA, Germany) หลังจากนั้นโฮโมจิไนเซชัน โดยใช้แรงดันสูงเพื่อทำให้เกิดนาโนอิมัลชันที่ 700 บาร์ 3 รอบ จนกระทั่งได้ส่วนที่เป็นแคโรทีนอยด์อิมัลชัน หลังจากนั้นนำอิมัลชันที่ได้ไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสในภาชนะที่ปิดสนิท (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 การเตรียมอิมัลชันเพื่อหาชนิดของน้ำมันที่เหมาะสม

### 3.2.2.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในอิมัลชัน

การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในอิมัลชันตามการวิเคราะห์ข้อ

3.2.2.1.3

### 3.2.2.2.3 การทดสอบความคงตัวของอิมัลชัน (creaming)

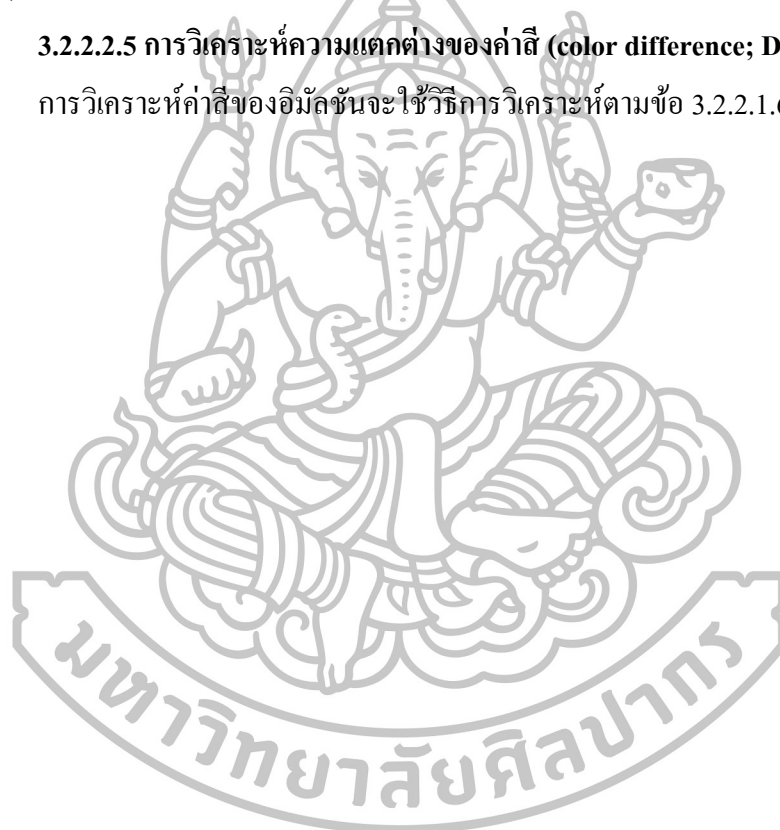
การวิเคราะห์การแยกชั้นของอิมัลชันตามการวิเคราะห์ในข้อ 3.2.2.1.4

### 3.2.2.2.4 วัดค่าสีในระบบ $L^*a^*b^*$

การวัดค่าสีในระบบ  $L^*a^*b^*$  โดยใช้เครื่อง Tintometer (LC 100 & SV 100, Lovibond, UK) ในการวัดสีของอิมัลชันตามการวิเคราะห์ในข้อ 3.2.1.5

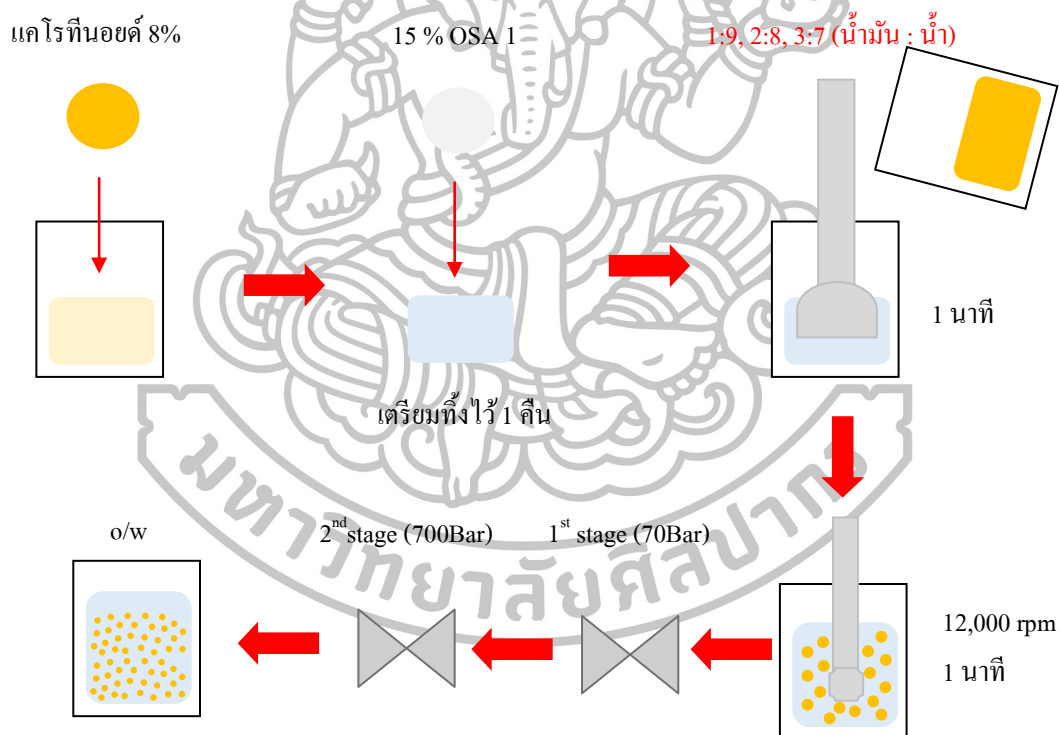
### 3.2.2.2.5 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าสี (color difference; Delta E)

การวิเคราะห์ค่าสีของอิมัลชันจะใช้วิธีการวิเคราะห์ตามข้อ 3.2.2.1.6



### 3.2.2.3.1 การเตรียมอิมัลชัน

วิธีการทำอิมัลชันเริ่มจากการเตรียมสารออกเป็นสองส่วนคือส่วนที่เป็นเฟสน้ำมัน และส่วนที่เป็นเฟสน้ำ ในส่วนที่เป็นเฟสน้ำมันเตรียมได้จากแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้ร้อยละ 8 ผสมกับน้ำมันถั่วเหลือง (กรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมน้ำมัน) และส่วนที่เป็นน้ำใช้น้ำกรองผสมกับสตาร์ชคัดแปร OSA1 (ที่เตรียมทิ้งไว้ 1 คืน) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 (กรัมสตาร์ชคัดแปรต่อกรัมน้ำกรอง) หลังจากนั้นนำเฟสน้ำมันผสมลงในเฟสน้ำในอัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อน้ำ 1:9, 2:8 และ 3:7 ด้วย Hand mixer และโดยทำให้เกิดอิมัลชันรอบแรกที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาทีด้วยเครื่อง ULTRA-TURRAX (IKA, Germany) หลังจากนั้นโฮโมจิไนเซชันโดยใช้แรงดันสูงเพื่อทำให้เกิดนาโนอิมัลชันที่ 700 บาร์ 3 รอบ จนกระทั่งได้ส่วนที่เป็นแคโรทีนอยด์อิมัลชัน หลังจากนั้นนำอิมัลชันที่ได้ไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 35 และ 10 องศาเซลเซียสในภาชนะที่ปิดสนิท (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 การเตรียมอิมัลชันเพื่อหาอัตราส่วนของเฟสน้ำมันและเฟสน้ำที่เหมาะสม



### 3.2.2.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในอิมัลชัน

การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในอิมัลชันตามการวิเคราะห์ข้อ

3.2.2.1.3

### 3.2.2.3.3 การทดสอบความคงตัวของอิมัลชัน (creaming)

การวิเคราะห์การแยกชั้นของอิมัลชันตามการวิเคราะห์ในข้อ 3.2.2.1.4

### 3.2.2.3.4 วัดค่าสีในระบบ L\*a\*b\*

การวัดค่าสีในระบบ L\*a\*b\* โดยใช้เครื่อง Tintometer (LC 100 & SV 100, Lovibond, UK) ในการวัดสีของอิมัลชันตามการวิเคราะห์ในข้อ 3.2.1.5

### 3.2.2.3.5 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าสี (color difference; Delta E)

การวิเคราะห์ค่าสีของอิมัลชันจะใช้วิธีการวิเคราะห์ตามข้อ 3.2.2.1.6

### 3.2.2.3.7 การวิเคราะห์อนุภาคเฉลี่ยและการกระจายตัวของอนุภาค

การวิเคราะห์อนุภาคเฉลี่ยและการกระจายตัวของอนุภาคอิมัลชันด้วยเครื่อง LASER SCATERING (LA-950) ตัวอย่างควรประกอบด้วยอนุภาคที่กระจายตัวในของเหลวได้ดี หลังจากเปิดเครื่องที่ไว้ประมาณ 15-20 นาที และนำตัวอย่างใส่ในช่องใส่ตัวอย่างโดยต้องมีค่าอยู่ภายในช่วงที่เครื่องมือสามารถตรวจวัดได้



## บทที่ 4

### ผลและการอภิปรายผลการทดลอง

#### 4.1 การศึกษากระบวนการสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยตัวทำละลายจากเนื้อลูกตาล

##### 4.1.1 ผลของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด

แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุกลุ่มใหญ่พบอยู่ร่วมกับคลอโรฟิลล์ในคลอโรพลาสต์และคลอโมพลาสต์ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีความเป็นขี้ด้า จากการศึกษาการสกัดแคโรทีนอยด์จากเนื้อตาลโดยใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกันคือเอทานอล เอธิลอะซิเตทและเอธิลอะซิเตทผสมเอทานอลในอัตราส่วน 4:3 (v/v) ในทางอุตสาหกรรมอาหารเริ่มมีการใช้เอธิลอะซิเตทมาใช้ในการสกัดแคโรทีนอยด์เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นขี้ด้าและมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมด้วย (Gimeno และคณะ, 2000; Strati และ Oreopoulou, 2011)

จากการศึกษาพบว่าการใช้เอทานอลผสมเอธิลอะซิเตทในอัตราส่วน 4:3 (v/v) จะให้ปริมาณของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดคือ 2,204.33 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเนื้อตาล รองมาคือเอทานอล 1,893.78 และเอธิลอะซิเตท 490.52 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเนื้อตาล (ตารางที่ 4) เมื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพการสกัด (recovery) จากการศึกษพบว่าประสิทธิภาพการสกัดของตัวทำละลายแต่ละชนิดมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยการใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมเอธิลอะซิเตทในอัตราส่วน 4:3 (v/v) จะมีประสิทธิภาพในการสกัดมากที่สุดคือร้อยละ 56.63 รองลงมาคือเอทานอลและเอธิลอะซิเตทมีประสิทธิภาพการสกัดเป็นร้อยละ 48.66 และ 14.73 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตามปกติแล้วแคโรทีนอยด์เป็นสารประกอบไฮโดรโฟบิกที่ละลายได้ในตัวทำละลายที่ไม่มีขี้ด้าและมีการละลายที่ค่อนข้างจำกัดในน้ำ อย่างไรก็ตามแคโรทีนอยด์ที่พบตามธรรมชาติที่มีความแตกต่างกันทางโครงสร้างที่อาจส่งผลต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของตัวทำละลายที่แตกต่างกัน จากการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาเปรียบเทียบการสกัดของเอทานอลและเอธิลอะซิเตทจากเปลือกมะเขือเทศของ Calvo และคณะ (2007) พบว่าการใช้เอทานอลจะช่วยสกัดสารประกอบแคโรทีนอยด์ได้มากกว่า ทั้งนี้การเข้าสกัดแคโรทีนอยด์ที่อยู่ภายในเซลล์ที่มีองค์ประกอบของผนังเซลล์ที่

ชั้นซ้อนนั้น การใช้เอทานอลจะสามารถเข้าทำลายผนังเซลล์ได้ดีกว่า

ตารางที่ 4 ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ( $\mu\text{g/g}$  dried wt) และประสิทธิภาพการสกัด (% recovery)

ตัวทำละลาย	ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ( $\mu\text{g/g}$ dried wt)	ร้อยละประสิทธิภาพ การสกัด
เอทานอล	$1,893.78 \pm 71.26^b$	$48.66 \pm 1.83^b$
เอธิลอะซิเตท	$490.52 \pm 72.88^c$	$14.73 \pm 0.19^c$
เอทานอล: เอธิลอะซิเตท (4:3)	$2,204.33 \pm 147.67^a$	$56.63 \pm 3.79^a$

<sup>a,c</sup> ค่าความแตกต่างทางสถิติที่ค่อนข้างน้อย (P < 0.05) โดยใช้โมเดล Duncan's multiple-range ทำการทดสอบสามซ้ำ (n=3) (ค่าทางสถิติจากตารางที่ 11-12)

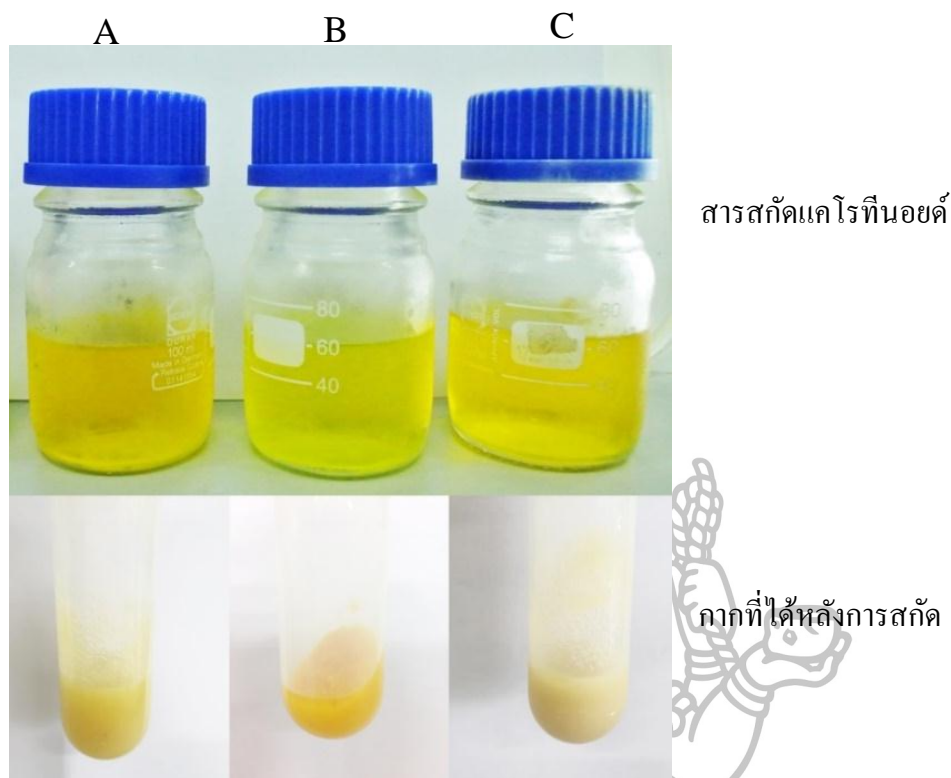
#### 4.1.2 ผลของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดต่อค่าสีของสารสกัดแคโรทีนอยด์ ( $L^*a^*b^*$ )

พิจารณาค่าสีของสารสกัดที่วัดในระบบค่าสีมาตรฐาน  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  เมื่อ  $L^*$  คือค่าความสว่าง 0 มีด และ 100 สว่าง  $a^*$  คือ แดง-เขียว + สีแดง และ - สีเขียว และ  $b^*$  คือ เหลือง-น้ำเงิน + สีเหลือง และ - สีน้ำเงิน จากการศึกษพบว่าค่า  $a^*$  และ  $b^*$  ของสารสกัดที่สกัดจากเอทานอลและตัวทำละลายผสมมีค่าสูงกว่าสารสกัดที่สกัดจากเอธิลอะซิเตท (ตารางที่ 5) สอดคล้องกับภาพที่ 12 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดที่สกัดจากเอทานอลผสมเอธิลอะซิเตท 4:3 (v/v) และเอทานอลจะแสดงความเป็นสีเหลืองที่มากกว่าอย่างเห็นได้ชัดสอดคล้องกับภาพที่เหลืองจากการสกัดพบว่าการใช้เอทานอลผสมเอธิลอะซิเตท 4:3 (v/v) และเอทานอลจะสามารถสกัดเอาสารสีเหลืองของแคโรทีนอยด์ออกจากเนื้อตาลได้มากกว่าจนกระทั่งภาพที่เหลืองไม่มีสี (ภาพที่ 13)

ตารางที่ 5 ค่าสีของสารสกัดแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากเนื้อตาลก่อนการนำไปประเหย ( $L^*a^*b^*$ )

ตัวทำละลาย	$L^*$	$a^*$	$b^*$
เอทานอล	$49.3 \pm 0.21^b$	$1.9 \pm 0.21^b$	$78.2 \pm 1.31^a$
เอธิลอะซิเตท	$58.6 \pm 0.14^a$	$-3.7 \pm 0.00^c$	$45.2 \pm 1.34^b$
เอทานอล: เอธิลอะซิเตท (4:3)	$48.9 \pm 0.21^b$	$3.2 \pm 0.00^a$	$79.9 \pm 0.07^a$

<sup>a,c</sup> ค่าความแตกต่างทางสถิติที่ค่อนข้างน้อย (P < 0.05) โดยใช้โมเดล Duncan's multiple-range ทำการทดสอบสามซ้ำ (n=3) (ค่าทางสถิติจากตารางที่ 13)



ภาพที่ 13 สารสกัดและกากที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย (A) เอทานอล, (B) เอธิลอะซิเตท และ (C) เอธิลอะซิเตทผสมเอทานอลอัตราส่วน 4:3

Wijemanne และคณะ (2006) ได้ทำการสกัดแคโรทีนอยด์จากเนื้อลูกตาลที่พบในประเทศไทยศรีลังกา จากการศึกษาพบว่าชนิดของแคโรทีนอยด์ที่พบมากในเนื้อตาลได้แก่ phytoene, phytofluene, neoxanthin, Beta-zeacarotene, violaxanthin, Zeta-carotene, Crocetin และ Beta-carotene อย่างไรก็ตามเนื้อตาลแต่ละสายพันธุ์จะมีปริมาณองค์ประกอบที่แตกต่างกันออกไปด้วยความสำคัญของปฏิสัมพันธ์ระหว่างตัวทำละลายผสมจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดมากกว่าการใช้ตัวทำละลายเดี่ยวๆ เนื่องจากจะช่วยในการละลายสารประกอบหลายๆสารประกอบหรือสารประกอบที่มีที่โครงสร้างซับซ้อน (Salari และคณะ, 2012) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเมื่อใช้ตัวทำละลายผสมจะให้ปริมาณแคโรทีนอยด์และร้อยละประสิทธิภาพการสกัดได้ดีที่สุด

#### 4.1.3 ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการอบต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด

เนื้อตาลเป็นวัตถุดิบที่มีความชื้นสูง (ร้อยละ 90-92) ทำให้เกิดการปัญหาในการสกัดเนื่องจากน้ำมีจุดเดือดที่สูงทำให้ต้องใช้พลังงานในการระเหยมากกว่าตัวทำละลายอื่นๆ ดังนั้นการทำแห้งเนื้อตาลก่อนนำมาสกัดจึงถูกนำมาใช้เพื่อแก้ไขปัญหานี้ จากการศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้งเนื้อตาลก่อนนำมาสกัดต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ เปรียบเทียบอุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้งที่ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง, 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นาที่ 55 และ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 50 นาที โดยความชื้นสุดท้ายของตัวอย่างก่อนนำไปสกัดจะอยู่ที่ประมาณร้อยละ 78-80 ตัวอย่างควบคุมที่ใช้เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเตรียมตัวอย่างเป็นเนื้อตาลสดที่ไม่ผ่านการอบแห้ง พิจารณาที่ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดพบว่าการนำเนื้อตาลไปอบแห้งก่อนนำมาสกัดจะช่วยเพิ่มปริมาณแคโรทีนอยด์ โดยเนื้อตาลที่อบแห้งก่อนนำมาสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสมีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุดในทุกชนิดของตัวทำละลาย โดยเฉพาะเมื่อทำการสกัดด้วยตัวทำละลายจะได้ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมเท่ากับ 3,682.23 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเนื้อตาล

จากผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของ Mai และคณะ (2013) ที่ได้ทำการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการอบฟักข้าวก่อนนำมาสกัด พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการอบแห้งคือ 50 องศาเซลเซียสและ 60 องศาเซลเซียสเพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงของสี ปริมาณ carotenoid และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Durante และคณะ (2014) ได้ศึกษาการสกัดแคโรทีนอยด์จากเนื้อฟักทอง พบว่าการอบแห้งวัตถุดิบก่อนนำมาสกัดจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดมากขึ้นเนื่องจากความร้อนสามารถเข้าไปทำลายพันธะที่ยึดแคโรทีนอยด์ไว้ได้ จึงทำให้ตัวทำละลายสามารถเข้าไปทำการสกัดแคโรทีนอยด์ออกมาได้มากขึ้น นอกจากนี้แคโรทีนอยด์บางชนิดสามารถทนความร้อนได้ในระดับหนึ่ง ดังนั้นถ้าให้ความร้อนที่ไม่มากเกินไปแคโรทีนอยด์ก็จะไม่เกิดการสลายตัวและแคโรทีนอยด์บางชนิดความร้อนจะสามารถกระตุ้นการปลดปล่อย แคโรทีนอยด์ออกจากเซลล์พืชได้อีกด้วย (Siriamornpun และคณะ, 2012; Urrea และคณะ, 2011; Zepka และคณะ, 2009)

ดังนั้นการใช้เทคนิคการอบแห้งวัตถุดิบก่อนนำมาสกัดร่วมกับการใช้ตัวทำละลายจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดมากขึ้น จากตารางที่ 6 จะเห็นว่าการใช้เอทานอลผสมเอธิอะซิเตท 4:3 (v/v) เป็นตัวทำละลายและวัตถุดิบที่อบแห้งที่ 50 องศาเซลเซียสก่อนนำมาใช้จะให้ร้อยละผลผลิตมากที่สุด

ตารางที่ 6 ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (carotenoids content) ( $\mu\text{g/g}$  of dried wt) และประสิทธิภาพการสกัด (recovery)

ตัวทำละลาย	อุณหภูมิ	ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ( $\mu\text{g/g}$ dried wt)	ร้อยละประสิทธิภาพ การสกัด
เอทานอล	สด	$1,893.78 \pm 71.26^f$	$48.66 \pm 1.83^f$
	40	$2,802.66 \pm 64.77^c$	$72.01 \pm 1.66^c$
	50	$2,865.03 \pm 95.03^c$	$73.61 \pm 2.44^c$
	60	$2,482.93 \pm 94.12^d$	$63.79 \pm 2.41^d$
เอซิลอะซิเตท	สด	$490.52 \pm 72.88^g$	$12.60 \pm 1.87^c$
	40	$2,148.70 \pm 64.77^c$	$55.20 \pm 1.44^c$
	50	$2,264.53 \pm 31.11^a$	$58.18 \pm 0.80^{de}$
	60	$2,158.60 \pm 81.67^c$	$55.46 \pm 2.10^c$
เอทานอล:เอซิลอะซิเตท	สด	$2,204.33 \pm 147.67^c$	$56.63 \pm 3.79^c$
	40	$3,135.81 \pm 94.17^b$	$80.57 \pm 2.42^b$
	50	$3,682.23 \pm 59.75^a$	$94.60 \pm 1.53^a$
	60	$3,191.60 \pm 120.64^b$	$82.00 \pm 3.01^b$

<sup>a-f</sup> ค่าความแตกต่างทางสถิติที่คอลัมน์เดียวกัน ( $P < 0.05$ ) โดยใช้โมเดล Duncan's multiple-range ทำการทดสอบสามซ้ำ ( $n=3$ ) (ค่าทางสถิติจากตารางที่ 14)

#### 4.1.4 สรุปผลการทดลอง

เมื่อถูกตาลสุกนั้นประกอบด้วยแคโรทีนอยด์อยู่หลายชนิด โดยพบว่าการใช้ตัวทำละลายผสมจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดมากขึ้น นอกจากนี้การใช้เทคนิคการอบแห้งวัตถุดิบก่อนนำมาสกัดร่วมกับการใช้ตัวทำละลายจะมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้เนื้อตาลสด โดยความร้อนที่ให้อาจจะช่วยทำลายพันธะที่ยึดแคโรทีนอยด์จึงทำให้ตัวทำละลายสามารถเข้าไปทำการสกัดแคโรทีนอยด์ ออกมาได้มากขึ้น อย่างไรก็ตาม ไม่ควรใช้ความร้อนที่สูงจนเกินไป ดังนั้นการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดแคโรทีนอยด์จากตัวอย่างแต่ละชนิดจึงมีความสำคัญมาก อย่างไรก็ตามควรคำนึงถึงความปลอดภัยและความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมด้วย

## 4.2 การศึกษากระบวนการทำอิมัลชันสารสกัดแคโรทีนอยด์

### 4.2.1 การศึกษาชนิดอิมัลซิไฟเออร์และอัตราส่วนที่เหมาะสม

การทำอิมัลชันในอุตสาหกรรมอาหารอิมัลซิไฟเออร์ที่นิยมใช้ในการทำอิมัลชันของแคโรทีนอยด์นั้นมีหลายชนิด อย่างไรก็ตามอิมัลซิไฟเออร์แต่ละชนิดนั้นจะมีความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากลักษณะของโครงสร้างและโมเลกุลที่แตกต่างกันของอิมัลซิไฟเออร์ นอกจากนี้การที่อิมัลซิไฟเออร์แต่ละชนิดมีคุณสมบัติและโครงสร้างที่ความแตกต่างกันจะส่งผลต่อความคงตัวของแคโรทีนอยด์ในระหว่างการเก็บรักษาด้วย ในการทดลองครั้งนี้ใช้สแตร์ชตัดแปร OSA เป็นอิมัลซิไฟเออร์โดยเปรียบเทียบการใช้ OSA1 และ OSA2 และเวย์โปรตีนไอโซเลท โดยใช้ความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์ที่ต่างกันต่อการกักเก็บแคโรทีนอยด์ ความคงตัวและการเปลี่ยนแปลงทางด้านสีของอิมัลชัน

#### 4.2.1.1 การกักเก็บแคโรทีนอยด์ (carotenoids retention)

การศึกษาความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สแตร์ชตัดแปร 2 ชนิด คือ OSA1 และ OSA2 และเวย์โปรตีนไอโซเลท พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์จะทำให้อิมัลชันที่ได้มีร้อยละการกักเก็บแคโรทีนอยด์ได้มากขึ้น ซึ่งเป็นไปในแนวโน้มนเดียวกันของทั้ง 3 อิมัลซิไฟเออร์ อย่างไรก็ตามอิมัลชันที่ได้จากการใช้สแตร์ชตัดแปร OSA1 มีร้อยละการเก็บรักษาแคโรทีนอยด์มากกว่าอิมัลชันที่ได้จากการใช้สแตร์ชตัดแปร OSA2 และเวย์โปรตีนไอโซเลทในทุกความเข้มข้น จากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ (ตารางที่ 15-18) อิมัลชันที่ได้จากการใช้สแตร์ชตัดแปร OSA1 และ OSA2 มีค่าความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 การกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สแตร์ชตัดแปร OSA และ WPI

Emulsifier	% Carotenoids Retention				
	5%	10%	15%	20%	25%
OSA1	32.4±4.08 <sup>e,c</sup>	60.0±1.57 <sup>d,c</sup>	74.6±0.88 <sup>c,b</sup>	86.2±1.83 <sup>b,a</sup>	91.60±0.64 <sup>a,a</sup>
OSA2	14.4±2.56 <sup>e,f</sup>	30.3±2.13 <sup>d,c</sup>	51.5±6.41 <sup>c,d</sup>	64.9±3.51 <sup>b,c</sup>	77.3±3.08 <sup>a,b</sup>
	1%	5%	10%	15%	20%
WPI	9.5±1.51 <sup>d,f</sup>	12.2±1.29 <sup>d,f</sup>	29.6±0.92 <sup>c,e</sup>	49.6±1.23 <sup>b,d</sup>	61.2±1.64 <sup>a,c</sup>

<sup>a-f</sup> ตัวแรกค่าความแตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05 โดยใช้โมเดล Fisher LSD's multiple-range ทำการทดสอบสามซ้ำ (n=3) ภายในแถวเดียวกัน

<sup>a-f</sup> ตัวที่สองค่าความแตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05 โดยใช้โมเดล Fisher LSD's multiple-range ทำการทดสอบสามซ้ำ (n=3) ข้องมูลทั้งหมด

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Esther และคณะ (2012) ที่ได้ศึกษาผลของความเข้มข้นของสตาร์ชตัดแปร OSA ที่ตัดแปรจากแป้งข้าวโพดข้าวเหนียวต่อความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ พบว่าความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์ที่น้อยเกินไปจะมีร้อยละความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ที่ต่ำ ซึ่งหมายความว่าแคโรทีนอยด์ส่วนที่เหลือที่ไม่ได้ถูกห่อหุ้มจะเคลื่อนที่เข้ามาจับเกาะกันและตกตะกอนในที่สุด และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสตาร์ชจะทำให้ร้อยละความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์สูงขึ้นด้วย อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของสตาร์ชที่สูงมากจะทำให้ขนาดของอนุภาคใหญ่ไปด้วย ซึ่งจะมีผลต่อความคงตัวของระบบอิมัลชันด้วย อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองการเพิ่มความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์ที่มากขึ้นยังคงทำให้ระบบอิมัลชันมีความคงตัว แสดงว่าความเข้มข้นที่ใช้ยังคงอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการทำอิมัลชัน

#### 4.2.1.2 การทดสอบความคงตัวของอิมัลชัน (creaming)

ในการทดลองได้ศึกษาผลความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์และชนิดของอิมัลซิไฟเออร์ต่อความคงตัวของอิมัลชัน โดยวัดการเกิดการแยกชั้น (% creaming) ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 35 และ 5 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 วัน โดยเปรียบเทียบสตาร์ชตัดแปร OSA ที่ใช้คือ OSA1 และ OSA2 ที่ความเข้มข้นของสตาร์ชตัดแปรร้อยละ 5, 10, 15, 20 และ 25 และเวย์โปรตีนไอโซเลตที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 5, 10, 15 และ 20

พิจารณาที่สตาร์ชตัดแปร OSA1 เมื่อที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้สตาร์ชตัดแปร OSA1 ที่ความเข้มข้นของสตาร์ชตัดแปรร้อยละ 5 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 5 วัน ที่ร้อยละ 10 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 15 วัน และความเข้มข้นของสตาร์ชตัดแปรร้อยละ 15-25 เมื่อเวลาผ่านไป 30 วันระบบอิมัลชันยังมีความเสถียรอยู่ แต่เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสจะช่วยรักษาความคงตัวของอิมัลชันมากขึ้น โดยที่ความเข้มข้นของสตาร์ชตัดแปร OSA1 ร้อยละ 5 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 5 วัน ที่ร้อยละ 10 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 25 วัน และความเข้มข้นของสตาร์ชตัดแปรร้อยละ 15-25 เมื่อเวลาผ่านไป 30 วันระบบอิมัลชันยังมีความเสถียร ภาพที่ 14

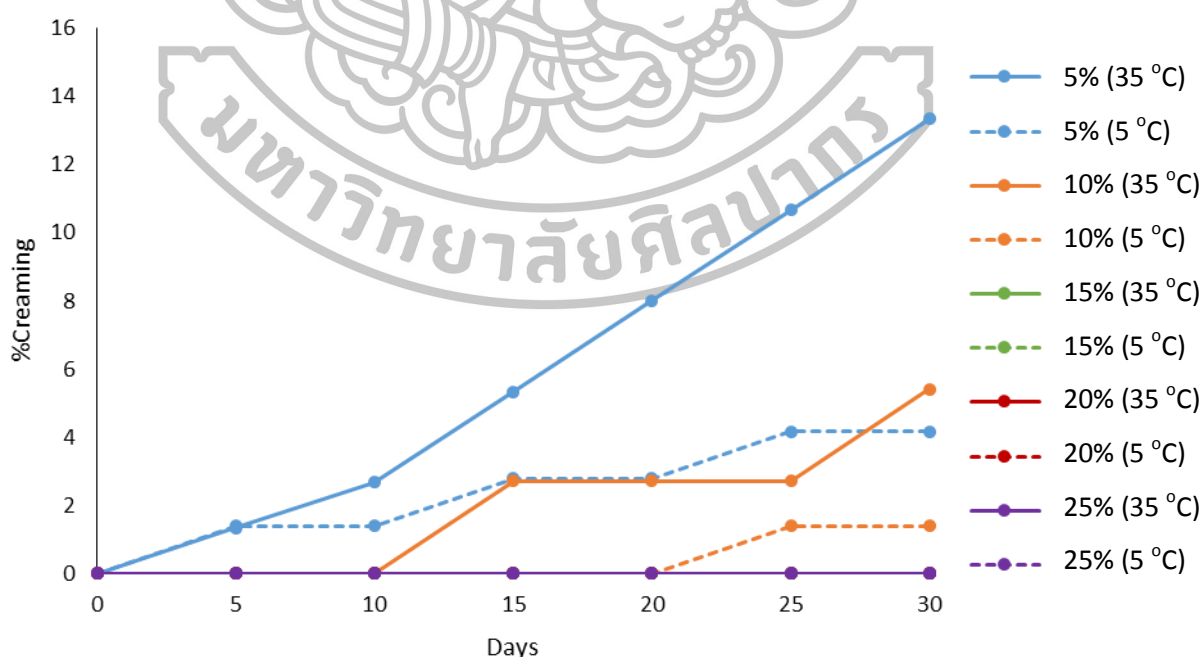
พิจารณาที่สตาร์ชตัดแปร OSA2 เมื่อที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้สตาร์ชตัดแปร OSA1 ที่ความเข้มข้นของสตาร์ชตัดแปรร้อยละ 5 และ 10 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 5 วัน ที่ร้อยละ 15 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 10 วัน ที่ร้อยละ 20 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 15 วัน และความเข้มข้นของสตาร์ชตัดแปรร้อยละ 25 เมื่อเวลาผ่านไป 30 วันระบบอิมัลชันยังมีความเสถียรอยู่ แต่เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นของร้อยละ 5 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 5 วัน ที่ร้อยละ 10 และ 15 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 10 วัน ที่



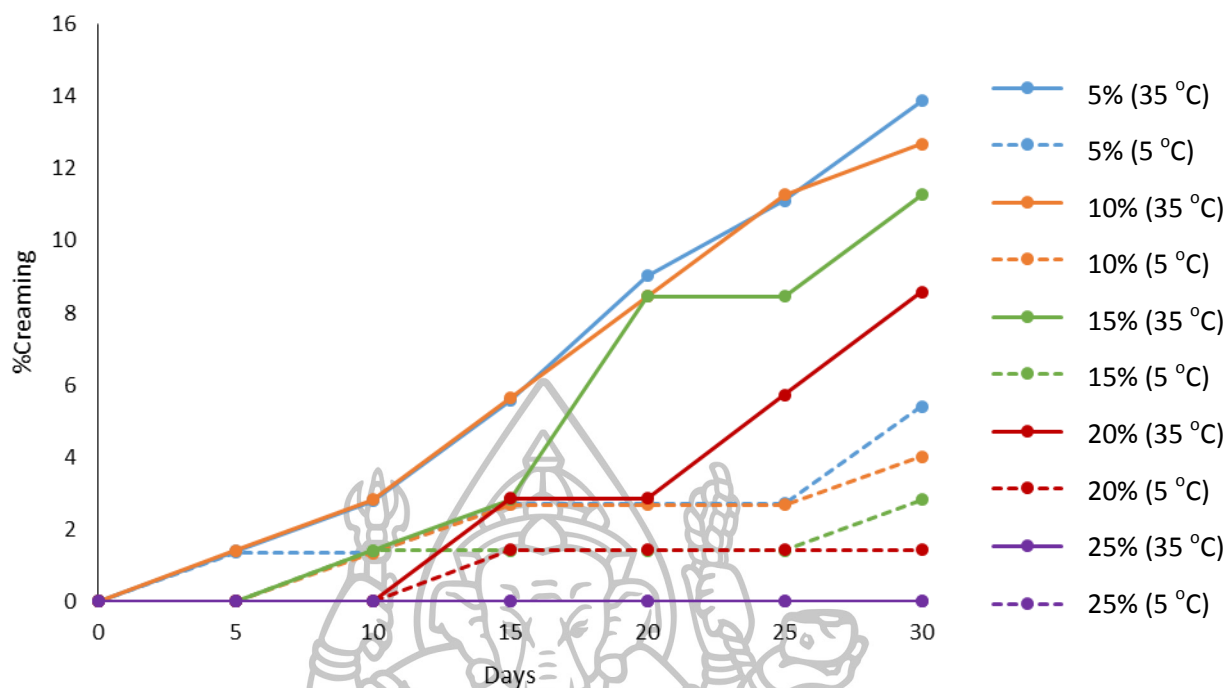
ร้อยละ 20 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 15 วัน และความเข้มข้นของสตาร์ชตัดแปรร้อยละ 25 เมื่อเวลาผ่านไป 30 วันระบบอิมัลชันยังมีความเสถียรอยู่ ภาพที่ 15

พิจารณาที่และเวย์โปรตีนไอโซเลท ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้เวย์โปรตีนไอโซเลทที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 10 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 5 วัน ที่ร้อยละ 15 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 10 วัน และที่ร้อยละ 20 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 15 วัน แต่เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นของร้อยละ 1 และ 5 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 5 วัน ที่ร้อยละ 10 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 10 วัน ที่ร้อยละ 15 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 15 วัน และความเข้มข้นของเวย์โปรตีนไอโซเลทร้อยละ 20 เมื่อเวลาผ่านไป 30 วันระบบอิมัลชันยังมีความเสถียรอยู่ ภาพที่ 16

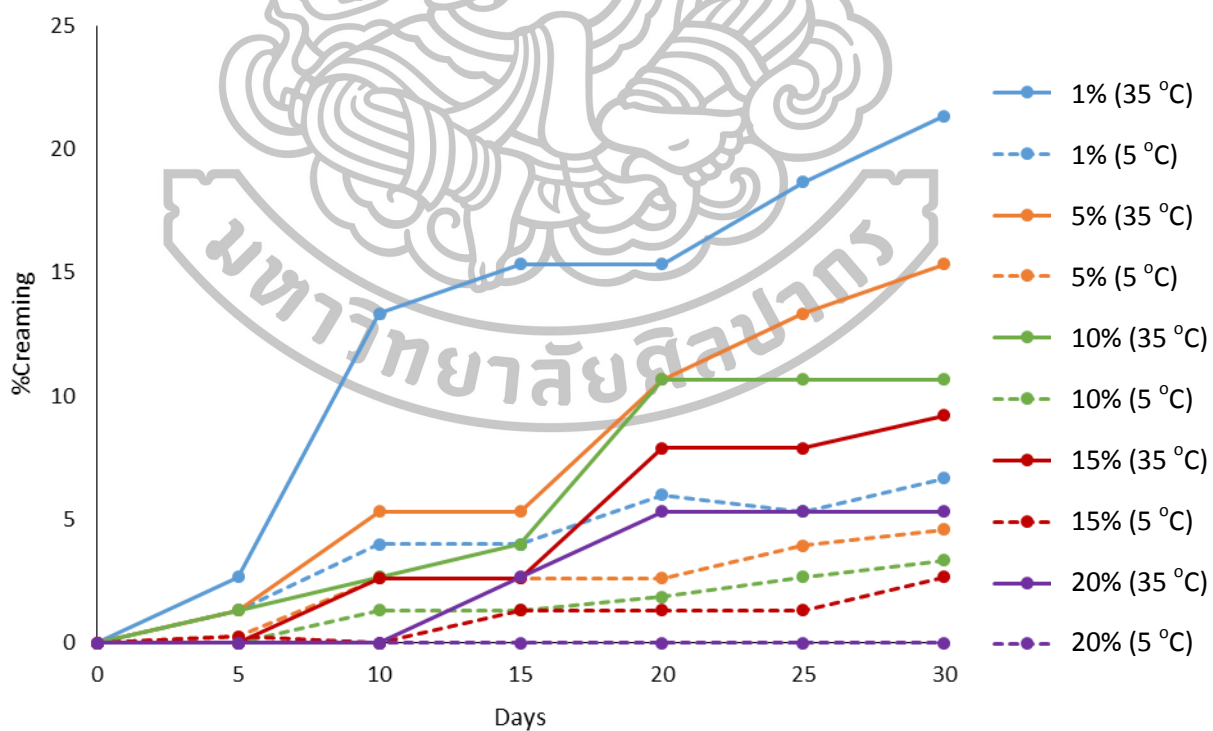
จากการศึกษาอุณหภูมิในการเก็บรักษาอิมัลชัน พบว่าอิมัลชันที่ถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสจะช่วยรักษาความคงตัวของอิมัลชันได้มากกว่าเก็บไว้ที่ 35 องศาเซลเซียส จากผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่าอุณหภูมิการเก็บรักษาเป็นปัจจัยปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อเสถียรภาพทางของระบบอิมัลชัน การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Liang และคณะ (2013a) ที่ได้ชี้ให้เห็นว่าอิมัลชันแคโรทีนอยด์จะมีความคงตัวที่ดีกว่าเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังพบว่าความไม่คงตัวของอิมัลชันจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้น เป็นผลมาจากการสูญเสียความหนืดและการที่อิมัลชันภายในระบบสามารถเคลื่อนที่ได้มากขึ้นด้วย



ภาพที่ 14 ความคงตัวของอิมัลชัน (Creaming) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชตัดแปรร OSA1



ภาพที่ 15 ความคงตัวของอิมัลชัน (Creaming) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชคัดแปร OSA2



ภาพที่ 16 ความคงตัวของอิมัลชัน (Creaming) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้เว็โปรตีนไอโซเลท

จากการศึกษาชนิดของอิมัลชันไฟเออร์และความเข้มข้นของอิมัลชันไฟเออร์ที่ใช้ พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของอิมัลชันไฟเออร์จะทำให้ระบบมีความเสถียรมากขึ้น ทั้งนี้อาจเกิดจากการสร้างพันธะระหว่างโมเลกุลของอิมัลชันไฟเออร์ทำให้ความหนืดของระบบเพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตามชนิดของอิมัลชันไฟเออร์มีประสิทธิภาพต่อความคงตัวของอิมัลชันไม่เท่ากันซึ่งอาจเป็นผลมาจากลักษณะทางโครงสร้างและลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันไฟเออร์ด้วย

ผลการศึกษานิตของสตาร์ชตัดแปร OSA ต่อความคงตัวของอิมัลชัน พบว่ามีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Liang และคณะ (2013a) โดยพวกเขาได้อธิบายถึงลักษณะทางกายภาพของสตาร์ชตัดแปร OSA1 และ OSA2 โดยเมื่อวัดลักษณะทางกายภาพของโมเลกุลของสตาร์ชตัดแปร OSA ทั้ง 2 ชนิด ได้แก่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดย (Mw) และ z-average radius of gyration (Rz) หรือรัศมีเฉลี่ยของโมเลกุล โดยการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค high-performance size-exclusion chromatography ร่วมกับ multiangle laser light และ refractive index detectors (HPSEC—MALLS—RI) พิจารณาที่สตาร์ชตัดแปร OSA2 พบว่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยจะมีค่าอยู่ที่  $9.4 \times 10^5$  กรัมต่อโมล สำหรับสตาร์ชตัดแปร OSA1 มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยต่ำกว่าที่ต่ำกว่า OSA2  $8.3 \times 10^4$  กรัมต่อโมล ตารางที่ 8

ค่า Rz หรือรัศมีเฉลี่ยของโมเลกุล แสดงให้เห็นถึงความยาวของสายโซ่และรูปแบบของโครงสร้าง พบว่ามีค่า Rz ของสตาร์ชตัดแปร OSA2 และ OSA1 เป็น 32.3 และ 18.7 นาโนเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (Mw), รัศมีเฉลี่ยของโมเลกุล (Rz), and ความหนาแน่นของโมเลกุล ( $\rho$ ) ของสตาร์ชตัดแปร

Modified Starch	av $M_w$ ( $10^4$ g/mol)	$R_z$ (nm)	$\rho$ (g/mol.nm <sup>3</sup> )
OSA1	$8.29 \pm 0.02$	$18.7 \pm 0.5$	$12.7 \pm 1.4$
OSA2	$94.2 \pm 0.03$	$32.3 \pm 0.1$	$28.0 \pm 0.3$

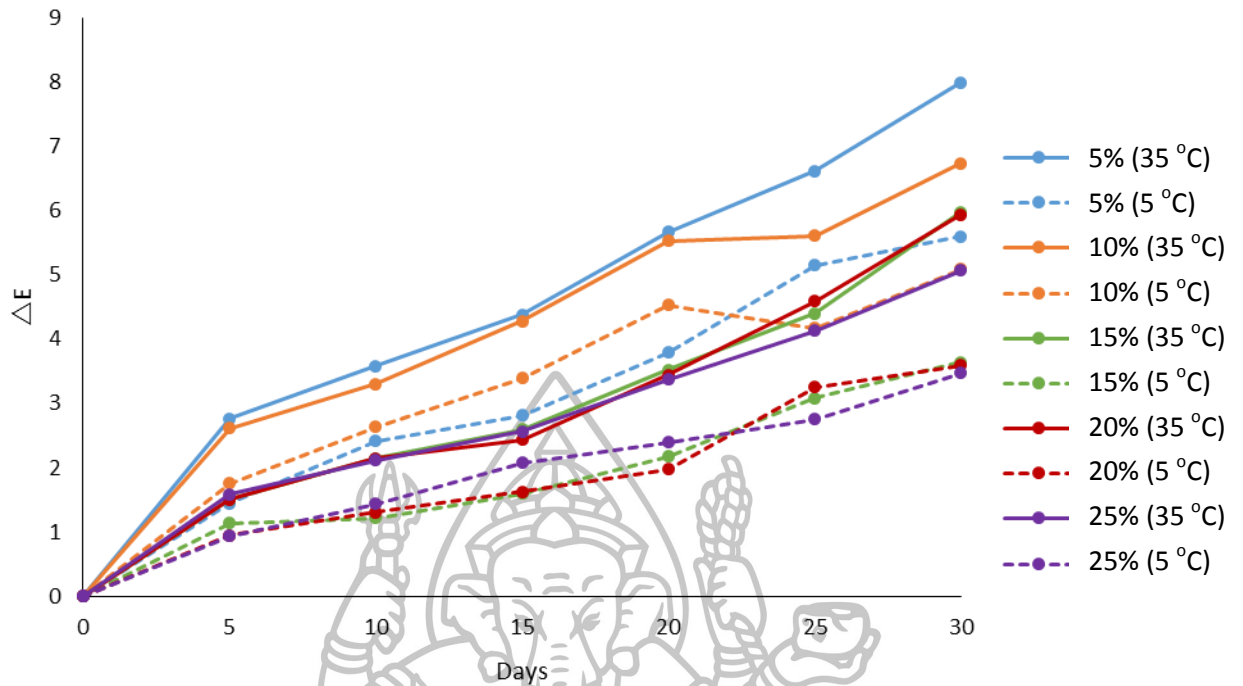
ที่มา : Liang และคณะ (2013a)

ความหนาแน่นของโมเลกุล ( $\rho$ , g / mol  $\cdot$  nm<sup>3</sup>) คำนวณได้จาก  $\rho = M_w / R_z^3$  (ตารางที่ 8) ความหนาแน่นของโมเลกุลของสตาร์ชตัดแปร OSA2 จะมากกว่า OSA1 จากการศึกษา งานวิจัยของ Liang และคณะ (2013a) พบว่าสตาร์ชที่มีค่าความหนาแน่นมากแสดงว่าโซ่กิ่งมาก ส่งผลให้มีความหนาแน่นของโมเลกุลมากขึ้น ดังนั้นสตาร์ชตัดแปร OSA2 ที่มีค่าความหนาแน่นมาก แสดงให้เห็นว่าโมเลกุลของสตาร์ชตัดแปร OSA2 มีโซ่กิ่งและมีความหนาแน่นมากกว่า OSA1 ความแตกต่างโครงสร้างสตาร์ชจึงส่งผลต่อคุณสมบัติและความคงตัวของนาโนอิมัลชันด้วย การที่ โมเลกุลของสตาร์ชตัดแปร OSA2 มีโซ่กิ่งและมีความหนาแน่นมากกว่า OSA1 จึงทำให้ขนาดของ อิมัลชันมีขนาดใหญ่มากกว่าและง่ายต่อการเคลื่อนที่เข้ามาจับกันของเม็ดอิมัลชันซึ่งก่อให้เกิดการแยก ชั้นภายในระบบอิมัลชัน

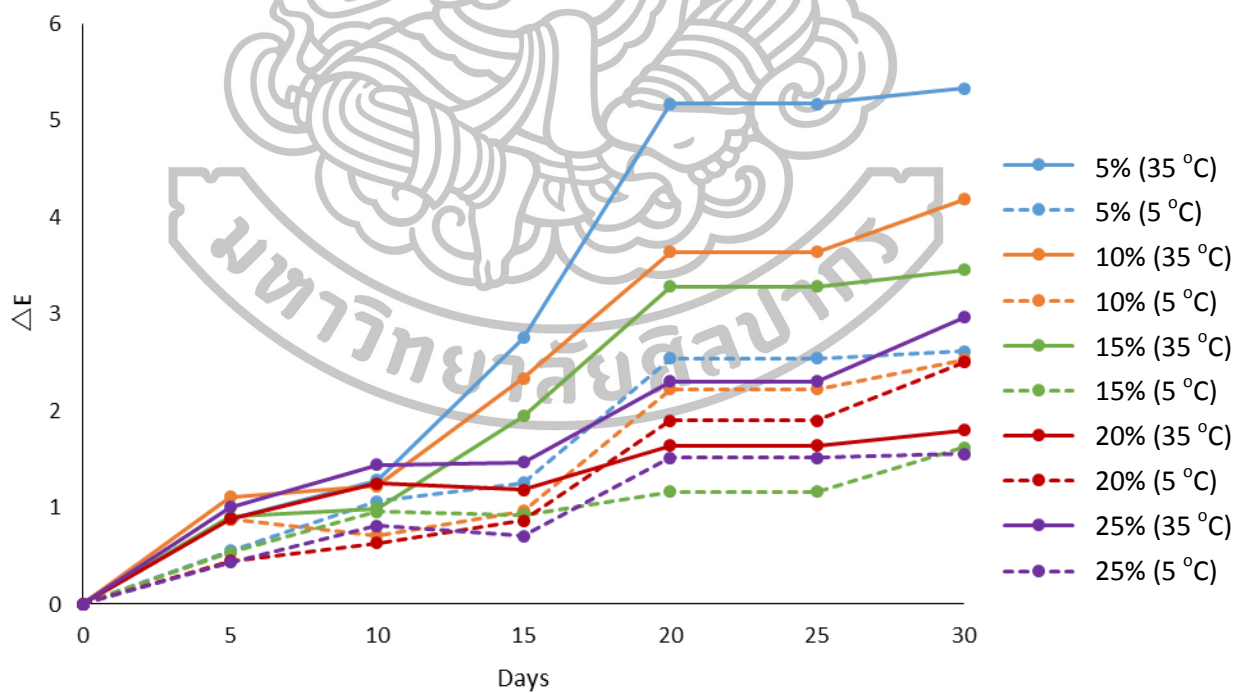
เมื่อเปรียบเทียบความคงตัวของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชตัดแปร OSA และเวย์ไอโซเลทพบว่าสตาร์ชตัดแปร OSA จะให้ความคงตัวของอิมัลชันมากกว่าเวย์โปรตีน ไอโซเลททั้งนี้เนื่องจากเวย์โปรตีน ไอโซเลทมีแรงตึงผิว (Surface tensions) และแรงกระทำระหว่าง ชั้นของอิมัลชัน (interfacial tensions) ที่น้อยกว่า OSA ทำให้ระบบอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ช ตัดแปร OSA มีความคงตัวมากกว่าการใช้เวย์โปรตีน ไอโซเลท (Mao และคณะ, 2009)

#### 4.2.1.3 ความแตกต่างของค่าสี (color difference; Delta E)

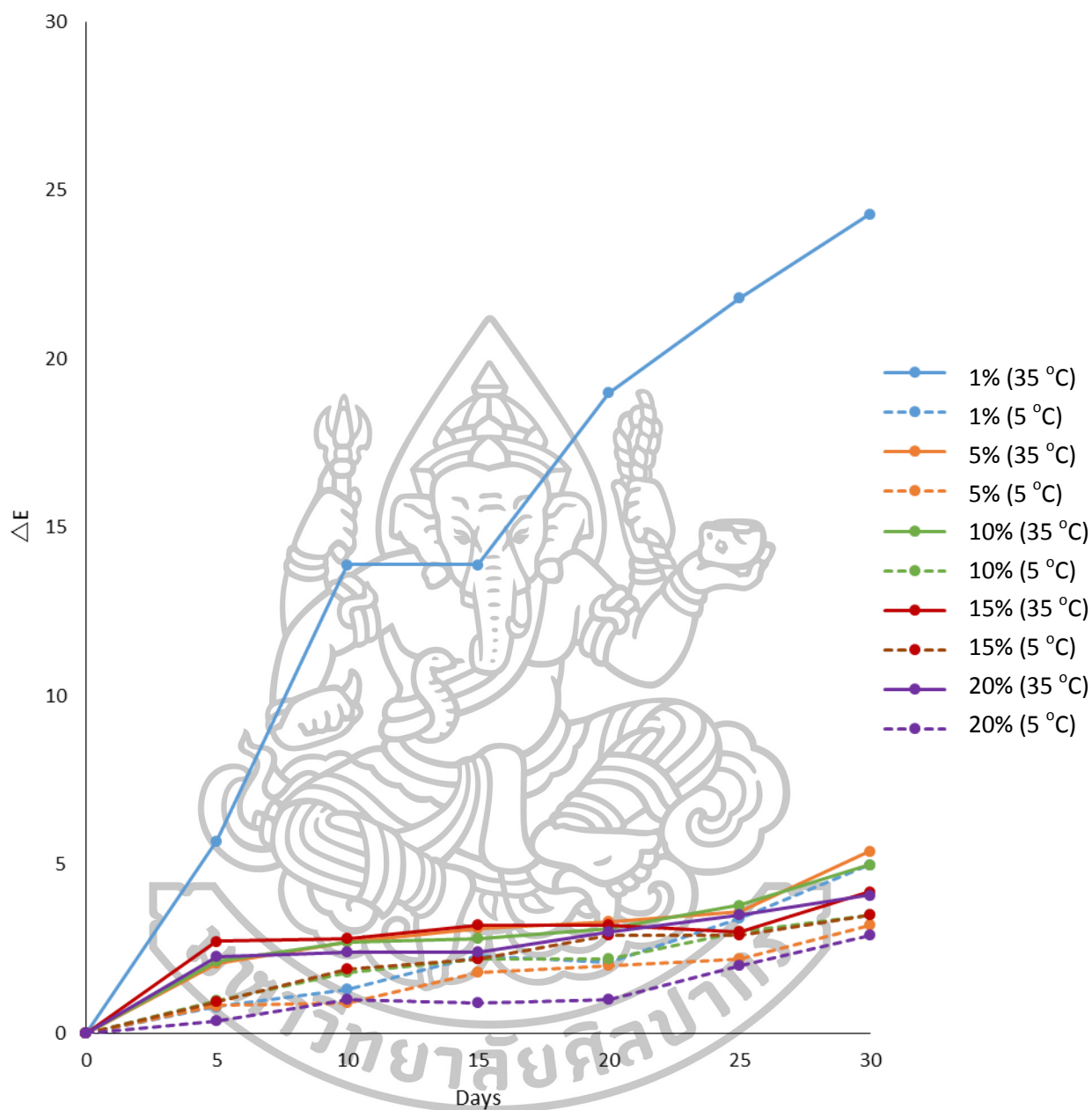
การวิเคราะห์ค่าสีของตัวอย่างจะใช้ Tintometer (LC 100 & SV 100, Lovibond, UK) ในการวัดสีหลังการสกัด โดยค่าสีที่ได้จะอยู่ในฐาน CIE L\*a\*b ซึ่ง เป็นระบบมาตรฐานที่ใช้ในการวัดสีโดย Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) (ภาพที่ 33-41) หลังจากนั้นจะนำมา วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าสี (color difference; Delta E) จากการศึกษาพบว่าค่าความแตกต่าง ของค่าสีจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาเก็บรักษาแสดงว่าสีของอิมัลชันจะเปลี่ยนแปลงไปเรื่อย ๆ ใน ระหว่างการเก็บรักษา โดยเฉพาะเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสพบว่าจะมีการ เปลี่ยนแปลงของสีอิมัลชันที่เร็วกว่าการเก็บไว้ที่ 5 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ความเข้มข้นของ อิมัลชันไฟเออร์ที่ใช้ยังมีผลต่อค่าสีที่เปลี่ยนแปลงไปด้วยโดยความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลง ของสีที่น้อยลงกล่าวคือมีความเสถียรของสีในระบบอิมัลชันมากขึ้น ภาพที่ 17 18 และ 19 ซึ่ง สอดคล้องกับภาพถ่ายของอิมัลชันในรูปที่ 20 21 และ 22



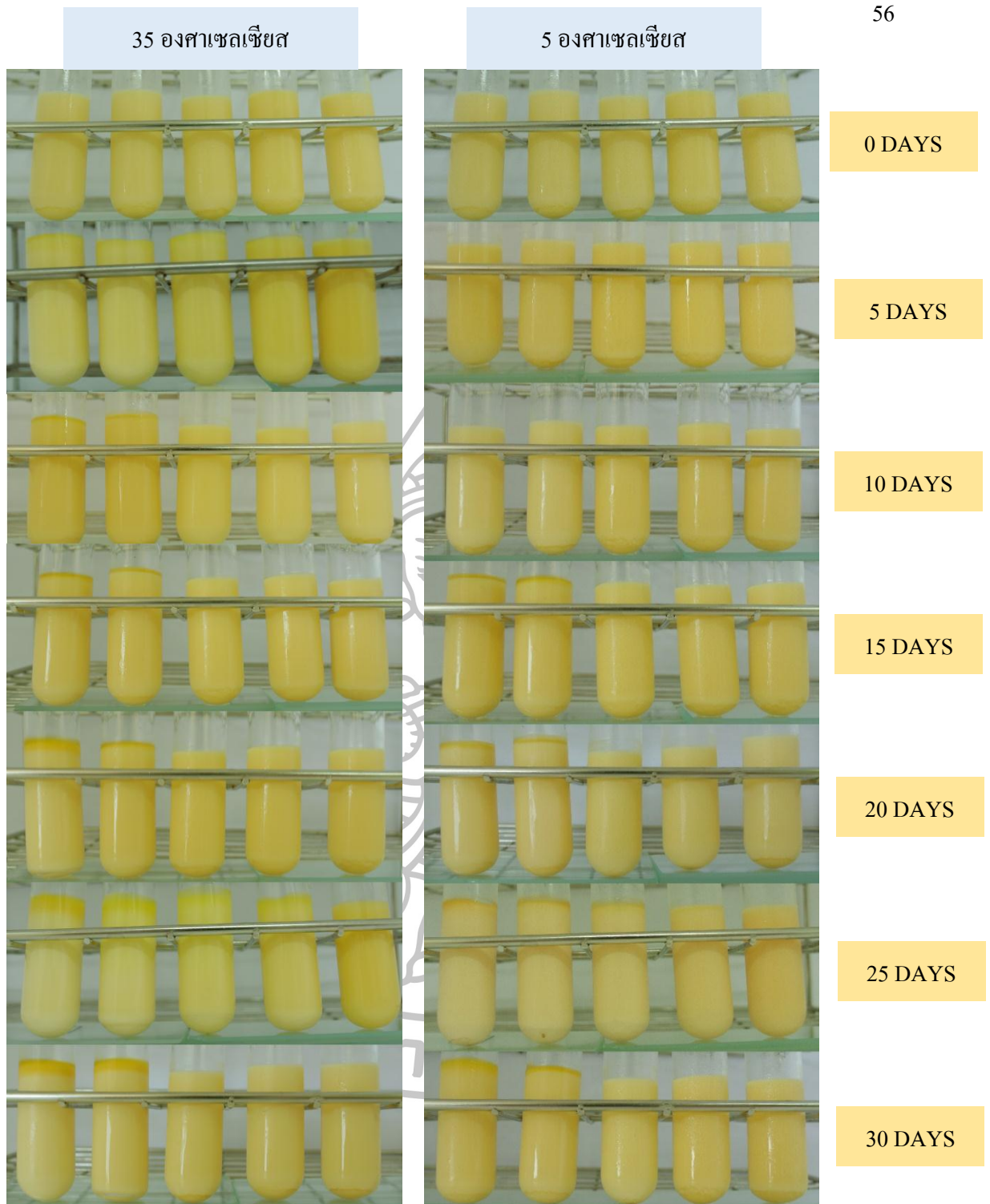
ภาพที่ 17 ความแตกต่างของค่าสี (color difference ;Delta E) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้  
สตาร์ชคัดแปร OSA1



ภาพที่ 18 ความแตกต่างของค่าสี (color difference ;Delta E) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้  
สตาร์ชคัดแปร OSA2



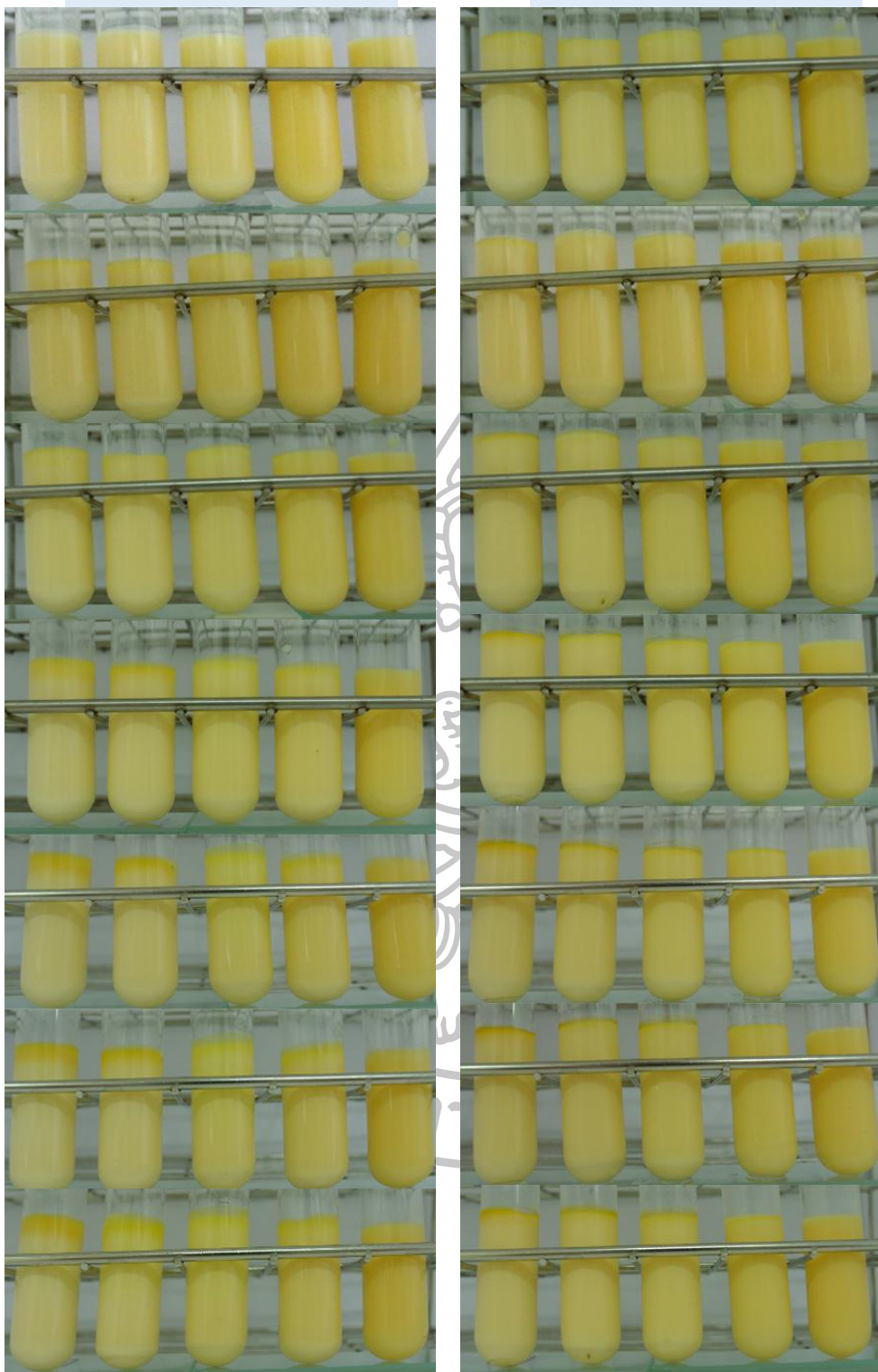
ภาพที่ 19 ความแตกต่างของค่าสี (color difference ;Delta E) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้ เวย์โปรตีนไอโซเลท



ภาพที่ 20 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชตัดแปร OSA1

35 องศาเซลเซียส

5 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 21 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สไตร์ชตัดแปร OSA2

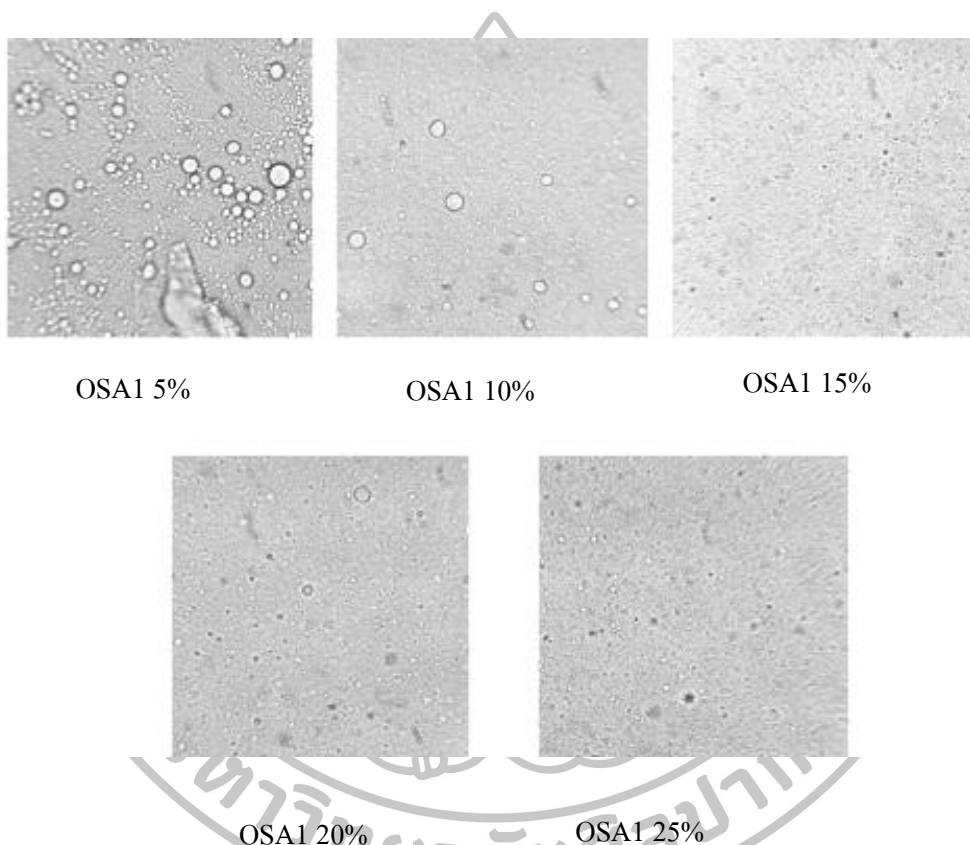




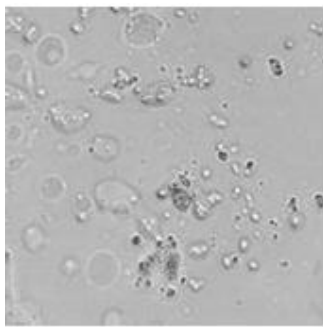
ภาพที่ 22 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่ได้จากการใช้เวย์โปรตีน ไอโซเลต

#### 4.2.1.4 การตรวจดูโครงสร้างของอิมัลชัน

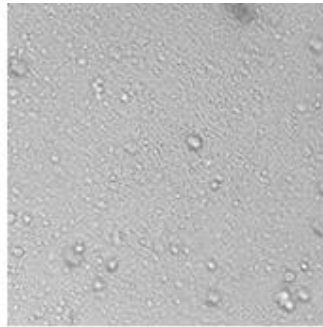
การศึกษาลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันโดยการส่องกล้องจุลทรรศน์ตรวจดูโครงสร้างของเม็ดอิมัลชันที่กำลังขยาย 1000 เท่าพบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์จะทำให้เกิดการฟอร์มตัวเป็นเม็ดอิมัลชันและเกิดการกระจายตัวได้ดีขึ้นจึงเป็นเหตุผลที่ทำให้เกิดความเสถียรของระบบอิมัลชัน โดยโครงสร้างของอิมัลชันที่ได้จากการใช้ OSA1 OSA2 และเวย์โปรตีนไอโซเลทแสดงในภาพที่ 23 24 และ 25



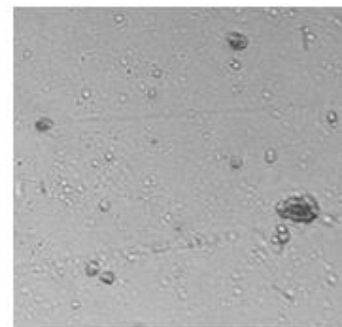
ภาพที่ 23 ลักษณะโครงสร้างของเม็ดอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชตัดแปร OSA1



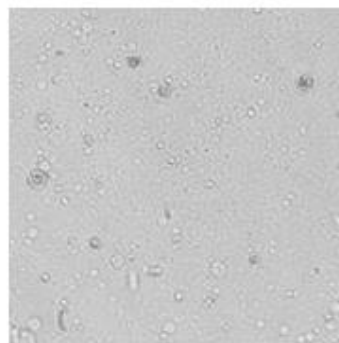
OSA2 5%



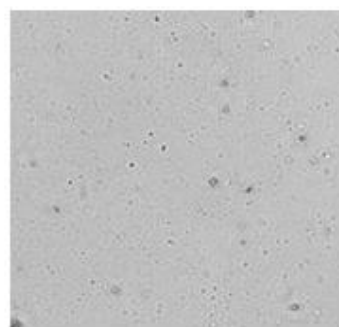
OSA2 10%



OSA2 15%

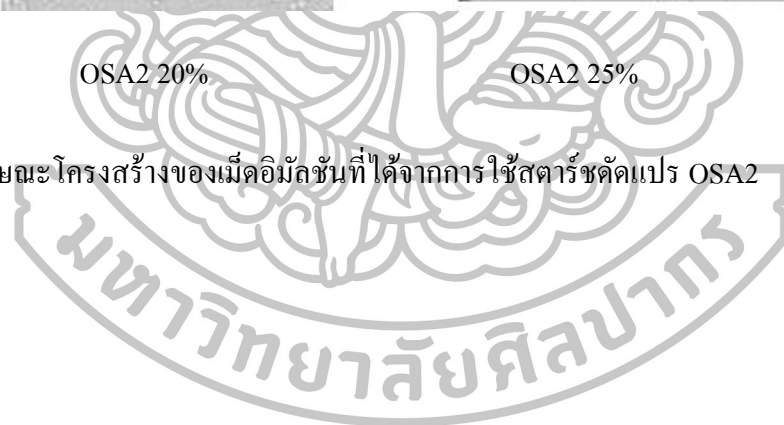


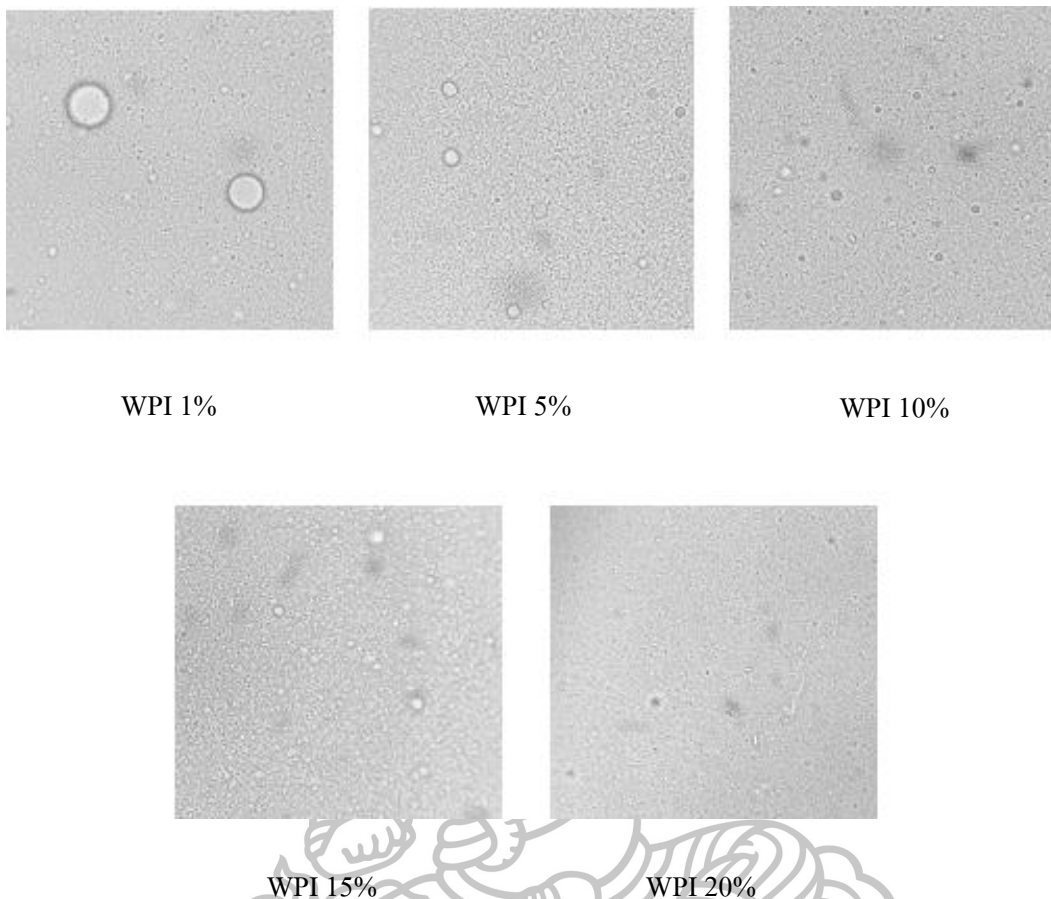
OSA2 20%



OSA2 25%

ภาพที่ 24 ลักษณะ โครงสร้างของเม็คมีลชั้นที่ได้จากการใช้สตาร์ชดัดแปร OSA2





ภาพที่ 25 ลักษณะโครงสร้างของเม็ดอิมัลชันที่ได้จากการใช้เวย์โปรตีนไอโซเลต

#### 4.2.1.5 สรุปผลการทดลอง

ในการศึกษาการผลของอิมัลซิไฟเออร์ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ สตาร์ชตัดแปร OSA1 OSA2 และเวย์โปรตีนไอโซเลต และความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์ที่แตกต่างกันต่อร้อยละการกักเก็บ แคลโรทีนอยด์และความคงตัวของอิมัลชันหลังจากผ่านการทำอิมัลชันเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 35 และ 10 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่าการเก็บรักษาแคลโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ใช้สตาร์ชตัดแปร OSA1 มีความสามารถในการกักเก็บแคลโรทีนอยด์มากกว่า OSA2 และเวย์โปรตีนไอโซเลตในทุกความเข้มข้น และความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ทำให้อิมัลชันคงตัวของ OSA1 คือ ร้อยละ 15-25 OSA2 คือ ร้อยละ 25 และเวย์ไอโซเลตที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 นอกจากนี้การเก็บอิมัลชันไว้ที่ 5 องศาเซลเซียสจะช่วยเพิ่มความคงตัวให้กับอิมัลชันได้มากกว่าการเก็บไว้ที่ 35 องศาเซลเซียส

#### 4.4.2 การศึกษาชนิดของเฟสน้ำมัน

จากการทดลองการศึกษาหาชนิดของอิมัลซิไฟเออร์และอัตราส่วนที่เหมาะสม พบว่า อิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาบิไลเซอร์ OSA1 มีความคงตัวมากกว่า OSA2 และอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส มีความคงตัวมากกว่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ดังนั้นในการศึกษาหาชนิดของน้ำมันจึงเลือกใช้สตาบิไลเซอร์ OSA1 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

โดยปกติแล้วไขมันที่นิยมนำมาใช้เป็นเฟสไขมันสามารถแบ่งได้ตามลักษณะของโครงสร้างทางเคมี องค์ประกอบและคุณสมบัติของไขมัน เช่น กลุ่มกรดไขมันที่มีขนาดยาว (LCT; เช่น น้ำมันถั่วเหลือง) กลุ่มกรดไขมันที่มีขนาดโมเลกุลปานกลาง (MCT; น้ำมันมะพร้าว, Captex 200, Captex 355) กลุ่มโพธิ์ลิน ไกลคอลของกรดไขมัน โมโนหรือไดกลีเซอไรด์ เช่น Capmul PG-8, Capmul MCM, Captex 200 กลุ่มกรดไขมัน เช่น กรดโอเลอิก กรดปาล์มมิติก กรดลิโนเลอิก และกลุ่มไขมันผสม เช่น Gelucire 33/01, Phosal 53MCT (Cannon และ Long, 2008) โดยทั่วไปแล้วไขมันที่นิยมใช้ในการทำอิมัลชันมักเป็นกลุ่มกรดไขมันที่มีขนาดยาว (Flanagan และคณะ, 2006) จากการศึกษาพบว่าชนิดของไขมันที่แตกต่างกันจะส่งผลต่อการกักเก็บสารสกัดและความคงตัวของกายภาพของอิมัลชัน ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้เลือกชนิดของไขมันที่แตกต่างกัน 2 ชนิดมาทำการทดลองเพื่อหาชนิดของเฟสไขมันที่เหมาะสมในการทำอิมัลชัน โดยใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นไขมันชนิดสายยาว (LCT) และน้ำมันมะพร้าวเป็นไขมันชนิดที่มีความยาวสายปานกลาง (MCT)

##### 4.4.2.1 การกักเก็บแคโรทีนอยด์ (carotenoids retention)

การศึกษาศักยภาพในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว พบว่าอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันทั้งสองชนิดมีความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ที่ไม่แตกต่างกัน จากตารางที่ 9 จะเห็นได้ว่า จากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ (ตารางที่ 19) อิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

**ตารางที่ 9** การเก็บกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว โดยเตรียมจากสตาร์ชตัดแปร OSA ร้อยละ 15

Type of oil	% Carotenoids Retention
Soy bean	71.35% ± 0.72
Coconut	66.26% ± 2.07

ไม่มีความแตกต่างแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่  $P < 0.05$  โดยใช้โมเดล Fisher LSD's multiple-range ทำการทดสอบสามซ้ำ (n=3)

เมื่อพิจารณาที่ร้อยละการกักเก็บพบว่าน้ำมันถั่วเหลืองสามารถกักเก็บ แคโรทีนอยด์ได้มากกว่าน้ำมันมะพร้าว ผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของ Qian และคณะ(2012) ได้อธิบายไว้ว่าน้ำมันชนิดที่มีโครงสร้างสายยาว (LCT) จะมีความสามารถในการเข้าจับโมเลกุลของแคโรทีนอยด์ได้มากกว่าไขมันที่มีโครงสร้างสายสั้น (MCT) ซึ่งเป็นผลมาจากความเป็นไฮโดรโฟบิกที่มากกว่านั่นเอง อย่างไรก็ตามแม้ว่าความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์จะไม่แตกต่างกัน แต่อาจส่งผลต่อความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันในระหว่างการเก็บรักษาได้ ดังนั้นจึงต้องมีการพิจารณาถึงปัจจัยการเปลี่ยนแปลงอื่นๆ เช่นความคงตัวของอิมัลชันและค่าเปลี่ยนแปลงสีของอิมัลชันต่อไป

#### 4.4.2.2 การทดสอบความคงตัวของอิมัลชัน (creaming)

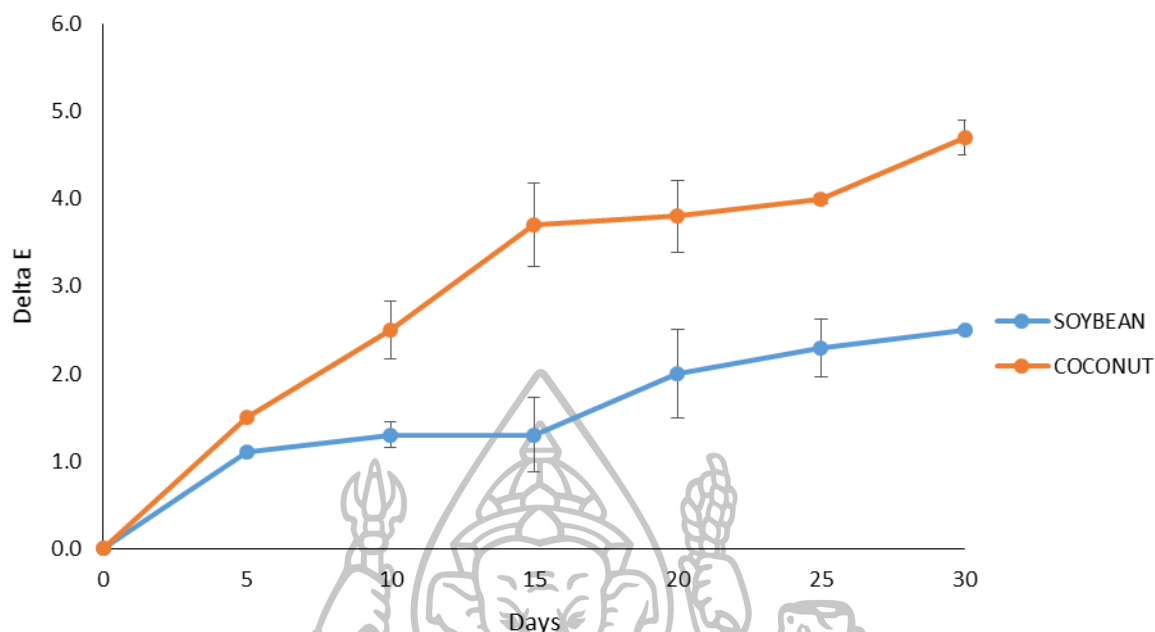
ในการทดลองได้ศึกษาผลของชนิดน้ำมันต่อความคงตัวของอิมัลชัน โดยวัดการเกิดการแยกชั้น (% creaming) ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน โดยเปรียบเทียบชนิดของน้ำมัน 2 ชนิด คือ น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว โดยผสมเฟสน้ำมันและเฟสน้ำที่อัตราส่วน 1:9 ซึ่งเฟสน้ำใช้สตาร์ชตัดแปร OSA1 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 จากภาพที่ 26 พบว่าน้ำมันทั้ง 2 ชนิด เมื่อเวลาผ่านไป 30 วัน ไม่เกิดการแยกชั้น กล่าวคือน้ำมันทั้ง 2 ชนิด มีความสามารถในการทำให้ระบบอิมัลชันยังคงมีความเสถียรที่ใกล้เคียงกัน



ภาพที่ 26 ความคงตัวของอิมัลชัน (creaming) ที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว

#### 4.2.2.3 ความแตกต่างของค่าสี (color difference; Delta E)

การวิเคราะห์ค่าสีของตัวอย่างจะใช้ Spectrocolorimeter (LC 100 & SV 100, Lovibond, UK) ในการวัดสีหลังการสกัด โดยค่าสีที่ได้จะอยู่ในฐาน CIE L\*a\*b ซึ่งเป็นระบบมาตรฐานที่ใช้ในการวัดสีโดย Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) (ภาพที่ 42-44) หลังจากนั้นจะนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าสี (color difference; Delta E) จากการศึกษาพบว่า ค่าความแตกต่างของค่าสีจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาเก็บรักษาแสดงว่าสีของอิมัลชันจะเปลี่ยนแปลงไปเรื่อยๆ ในระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้ชนิดของน้ำมันที่ใช้ยังมีผลต่อค่าสีที่เปลี่ยนไปด้วย โดยน้ำมัน ถั่วเหลืองจะมีการเปลี่ยนแปลงของสีที่น้อยลงกว่าน้ำมันมะพร้าว ดังภาพที่ 27 ซึ่งสอดคล้องกับภาพถ่ายของอิมัลชันในรูปที่ 28



ภาพที่ 27 ความแตกต่างของค่าสี (color difference ;Delta E) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว

Chung และคณะ (2001) ได้ศึกษาชนิดน้ำมันที่แตกต่างกันต่อขนาดของอิมัลชันเริ่มต้นและความคงตัวของระบบอิมัลชันเพื่อหาความสัมพันธ์ของขนาดอิมัลชันเริ่มต้นต่อความคงตัวของอิมัลชัน พบว่าขนาดของอิมัลชันเริ่มต้นเมื่อใช้น้ำมันมะพร้าวเป็นเฟสน้ำมันมีความใกล้เคียงกับอิมัลชันที่ใช้น้ำมันถั่วเหลือง แต่เมื่อเก็บรักษาไป 20 วันพบว่าขนาดอนุภาคของอิมัลชันที่มีน้ำมันมะพร้าวเป็นเฟสน้ำมันกลับมีอัตราการเพิ่มขึ้นของอนุภาคที่มากกว่าน้ำมันถั่วเหลือง ซึ่งอาจเป็นผลให้นำไปสู่ความไม่เสถียรของระบบอิมัลชันได้

Jumaa และ Muller (1998) ได้อธิบายผลของชนิดน้ำมันที่แตกต่างกันต่อขนาดอิมัลชันเริ่มต้นและความคงตัวของอิมัลชันด้วยค่าแรงตึงผิวระหว่างชั้นของอิมัลชัน (o/w interfacial) พบว่าน้ำมันที่มีแรงตึงผิวมากจะทำให้ขนาดของอิมัลชันมีขนาดเล็ก แม้จะมีระยะเวลาการเก็บรักษามากขึ้นขนาดของอนุภาคจะไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมมาก ซึ่งแรงตึงผิวจะแปรผันตรงกับค่าความเป็นไฮโดรโฟบิกของน้ำมัน กล่าวคือน้ำมันที่มีความเป็นไฮโดรโฟบิกมากจะมีแรงตึงผิวมากและสามารถรักษารูปร่างของอนุภาคได้ดี

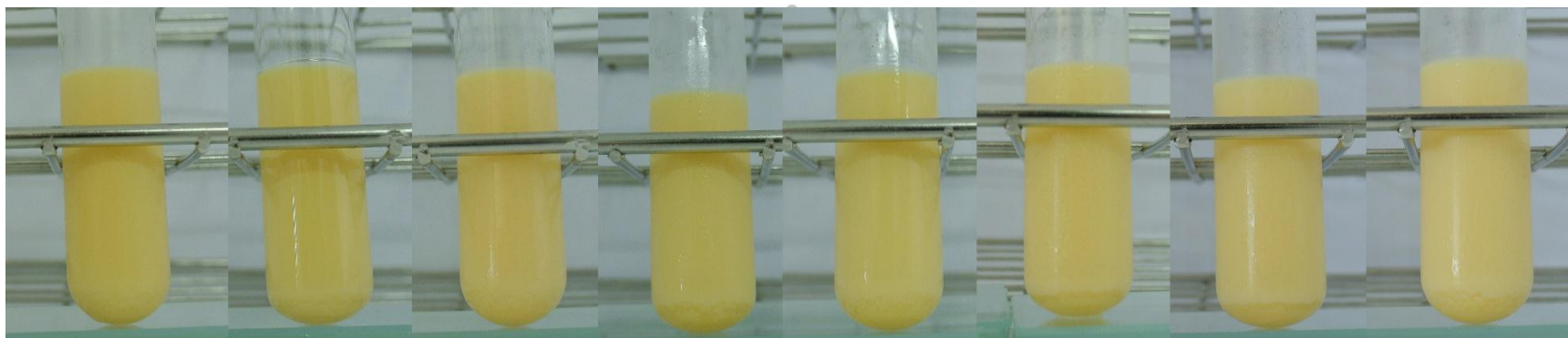


จากเหตุผลที่ได้กล่าวไปข้างต้นจึงสามารถกล่าวได้ว่าน้ำมันถั่วเหลืองที่เป็นไขมันชนิดสายยาว (LCT) มีความเป็นไฮโดรโฟบิกที่มากกว่าน้ำมันมะพร้าวจึงทำให้สามารถกักเก็บแคโรทีนอยด์ที่มีความไม่ขี้วเหมือนกัน ได้มากกว่า นอกจากนี้การที่มีแรงดึงผิวมากเป็นผลให้อิมัลชันที่ใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นเฟสน้ำมันสามารถขนาของอนุภาคได้มากกว่าทำให้ระบบอิมัลชันมีความเสถียรมากกว่าอิมัลชันที่ใช้น้ำมันมะพร้าว เนื่องจากแคโรทีนอยด์ที่ถูกกักเก็บไว้ในอิมัลชันอาจเกิดการปลดปล่อยออกมาอย่างรวดเร็วเมื่ออิมัลชันนั้นไม่เสถียรซึ่งเป็นการเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของอิมัลชันได้

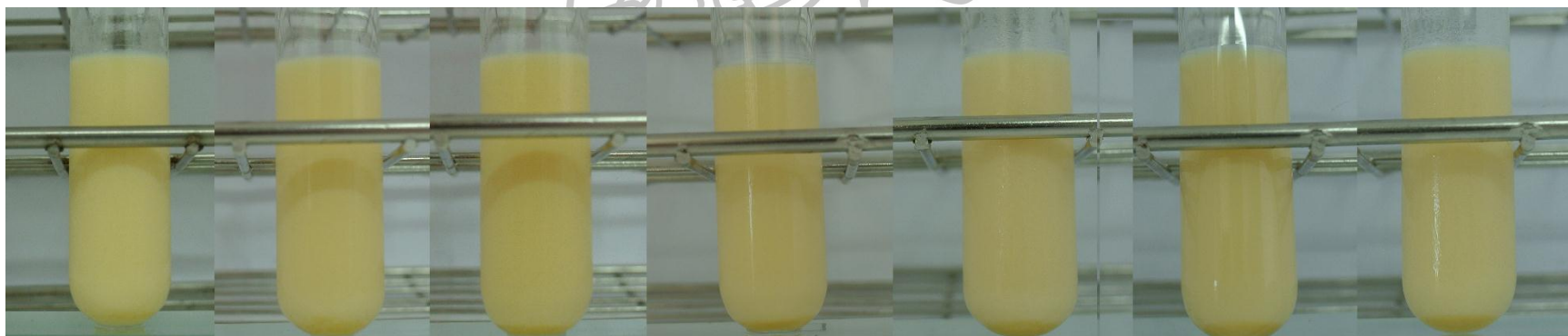
นี่เมื่อเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของอิมัลชัน พบว่าสีของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นเฟสน้ำมันนั้นจะให้สีของอิมัลชันที่เข้มและเหลืองกว่าการใช้น้ำมันมะพร้าว ภาพที่ 23 ซึ่งลักษณะของอิมัลชันที่เห็นภายนอกนั้นนับว่ามีความสำคัญต่อการยอมรับของผู้บริโภคด้วย



- น้ำมันถั่วเหลือง



- น้ำมันมะพร้าว



วันที่ 0 5 10 15 20 25 30

ภาพที่ 28 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว

#### 4.2.2.4 สรุปผลการทดลอง

ในการศึกษาการหาชนิดของน้ำมันในการทำระบบอิมัลชัน โดยได้เปรียบเทียบผลของชนิดน้ำมัน คือ น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว หลังจากผ่านการทำอิมัลชันแล้วจะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่า การเก็บรักษาแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ใช้ น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าวมีความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ได้ใกล้เคียงกัน อีกทั้งน้ำมันทั้ง 2 ชนิดมีความสามารถทำให้ระบบอิมัลชันมีความคงตัวได้เหมือนกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าสี น้ำมันถั่วเหลืองมีการเปลี่ยนแปลงของค่าสีที่น้อยกว่าน้ำมันมะพร้าว และเมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพภายนอกพบว่าสีที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองจะให้สีอิมัลชันที่เข้มกว่า



#### 4.4.3 การศึกษาอัตราส่วนของเฟสน้ำมันและเฟสน้ำ

จากการทดลองการศึกษาหาชนิดของน้ำมัน พบว่าอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันมะพร้าวมีความสามารถแตกต่างกันตรงค่าสี ซึ่งในการทำวิจัยนี้ระบบอิมัลชันจะถูกนำไปใช้ในการทำสีผสมอาหารเราจึงต้องการเลือกน้ำมันที่มีความเปลี่ยนแปลงของค่าสีน้อยที่สุด และให้สีเหลืองของแคโรทีนอยด์มากที่สุด อีกทั้งน้ำมันถั่วเหลืองยังมีต้นทุนที่ต่ำกว่าน้ำมันมะพร้าว ดังนั้นเราจึงใช้น้ำมันถั่วเหลืองในการทำการทดลองหาอัตราส่วนของเฟสน้ำมันและเฟสน้ำ

จากการศึกษาในหลายงานวิจัยพบว่าอัตราส่วนของเฟสน้ำและน้ำมันผลต่อขนาดอนุภาค ปริมาณการกักเก็บของแคโรทีนอยด์และความคงตัวของระบบอิมัลชัน โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเฟสน้ำมันจะช่วยเพิ่มความเสถียรให้กับระบบอิมัลชันด้วย (Tan และ Nakajima, 2005; kiokias และคณะ, 2009 และ Dokic และคณะ, 2012) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อหาอัตราส่วนของเฟสน้ำมันและน้ำที่เหมาะสมต่อการทำอิมัลชัน โดยพิจารณาจากความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ ความคงตัวของอิมัลชัน การเปลี่ยนแปลงของค่าสีและขนาดอนุภาคของอิมัลชันเริ่มต้น

##### 4.4.3.1 การกักเก็บแคโรทีนอยด์ (carotenoids retention)

จากการศึกษาความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้อัตราส่วนของเฟสน้ำมันและเฟสน้ำที่ 1:9, 2:8 และ 3:7 พบว่ามีการเก็บรักษาแคโรทีนอยด์ที่ใกล้เคียงกัน จากตารางที่ 10 จะเห็นได้ว่า จากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ (ตารางที่ 20) แต่อิมัลชันที่ได้จากการใช้อัตราส่วนเฟสน้ำมันและเฟสน้ำที่ 1:9 จะมีร้อยละการกักเก็บแคโรทีนอยด์ที่มากกว่าอัตราส่วน 2:8 และ 3:7

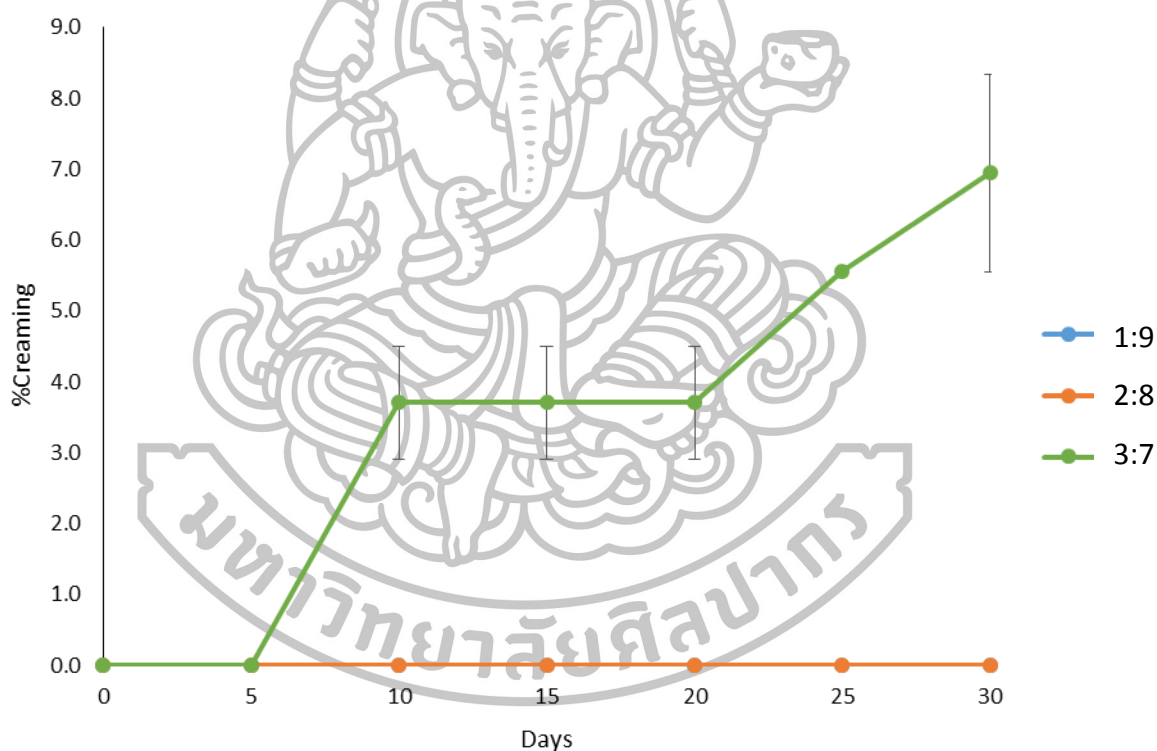
ตารางที่ 10 การกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้อัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ 1:9, 2:8 และ 3:7

Ratio (oil/water)	% Carotenoids Retention
1:9	74.15% ± 1.63 <sup>a</sup>
2:8	72.41% ± 0.99 <sup>ab</sup>
3:7	70.60% ± 1.28 <sup>b</sup>

<sup>a-b</sup> ค่าความแตกต่างทางสถิติที่  $P < 0.05$  โดยใช้โมเดล Fisher LSD's multiple-range ทำการทดสอบสามซ้ำ (n=3)

#### 4.4.3.2 การทดสอบความคงตัวของอิมัลชัน (creaming)

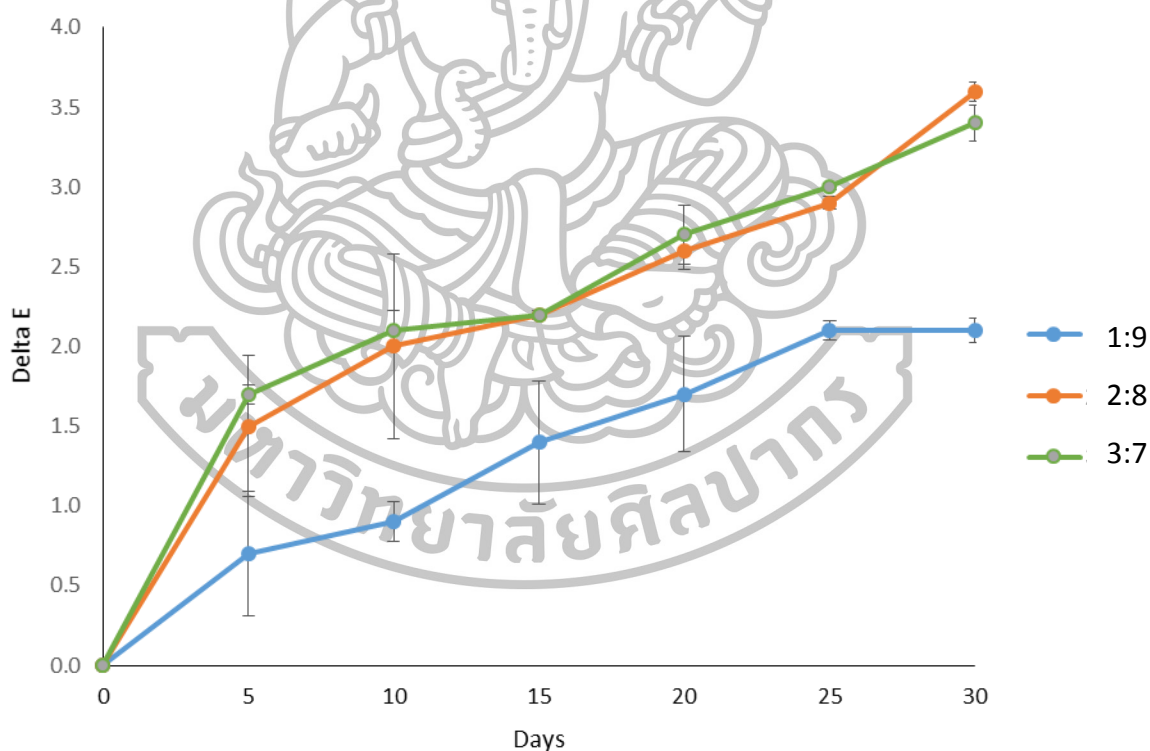
ในการทดลองได้ศึกษาผลของอัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำต่อความคงตัวของอิมัลชัน โดยวัดการเกิดการแยกชั้น (% creaming) ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 วัน โดยเปรียบเทียบอัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ 1:9, 2:8 และ 3:7 พบว่าที่อัตราส่วน 3:7 เกิดการแยกชั้นหลังผ่านไป 10 วัน และที่อัตราส่วน 1:9 และ 2:8 เมื่อเวลาผ่านไป 30 วัน ระบบอิมัลชันยังคงความเสถียร ดังภาพที่ 29 เนื่องจากอัตราส่วนของน้ำมันที่มากขึ้นนั้นจะส่งผลต่อความคงตัวของระบบอิมัลชัน โดยหยดไขมันที่มากขึ้นที่กระจายตัวอยู่ในเฟสของน้ำที่น้อยลง จะทำให้หยดไขมันมาเกาะรวมตัวกันได้ง่ายขึ้นกว่าการใช้อัตราส่วนของเฟสน้ำมันที่น้อย ดังนั้นอัตราส่วนที่ 3:7 จึงเกิดการแยกชั้นขึ้น



ภาพที่ 29 ความคงตัวของอิมัลชัน (creaming) ที่ได้จากการใช้อัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ 1:9, 2:8 และ 3:7

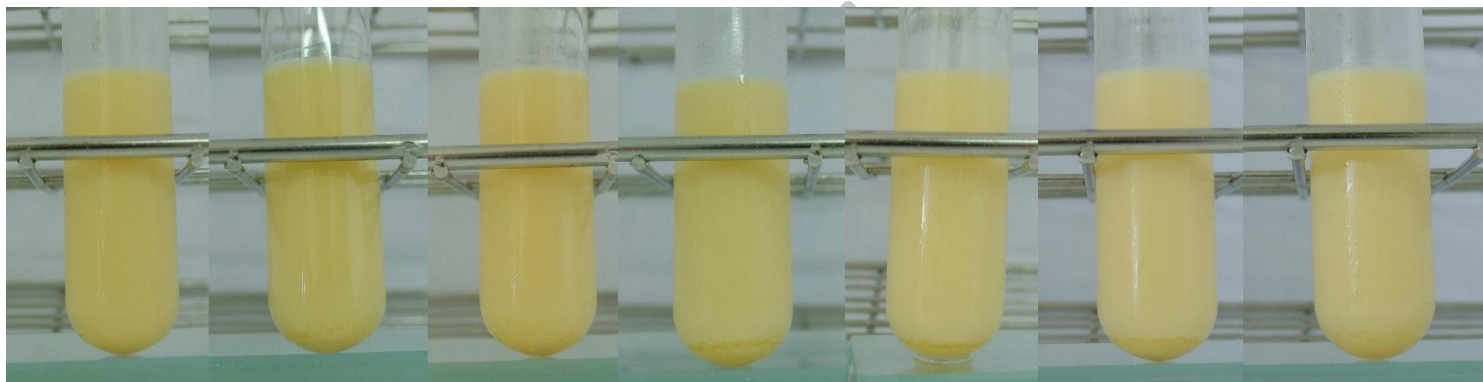
#### 4.4.3.3 ความแตกต่างของค่าสี (color difference; Delta E)

การวิเคราะห์ค่าสีของตัวอย่างจะใช้ Spectrocolorimeter (LC 100 & SV 100, Lovibond, UK) ในการวัดสีหลังการสกัด โดยค่าสีที่ได้จะอยู่ในฐาน CIE L\*a\*b ซึ่งเป็นระบบมาตรฐานที่ใช้ในการวัดสีโดย Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) (ภาพที่ 45-47) หลังจากนั้นจะนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าสี (color difference; Delta E) จากการศึกษพบว่า ค่าความแตกต่างของค่าสีจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาเก็บรักษาแสดงว่าสีของอิมัลชันจะเปลี่ยนแปลงไปเรื่อย ๆ ในระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้อัตราส่วนของเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ใช้ยังมีผลต่อค่าสีที่เปลี่ยนแปลงไปด้วย โดยความเข้มข้นของเฟสน้ำมันที่เพิ่มขึ้น คือ 2:8 และ 3:7 จะมีการเปลี่ยนแปลงของสีที่มากขึ้นกว่าการใช้อัตราส่วน 1:9 ที่มีความเปลี่ยนแปลงของค่าสีที่น้อยกว่า ดังนั้นอัตราส่วนของเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ 1:9 จึงมีความเสถียรของสีในระบบอิมัลชันมากกว่า ดังภาพที่ 30 ซึ่งสอดคล้องกับภาพถ่ายของอิมัลชันในรูปที่ 31

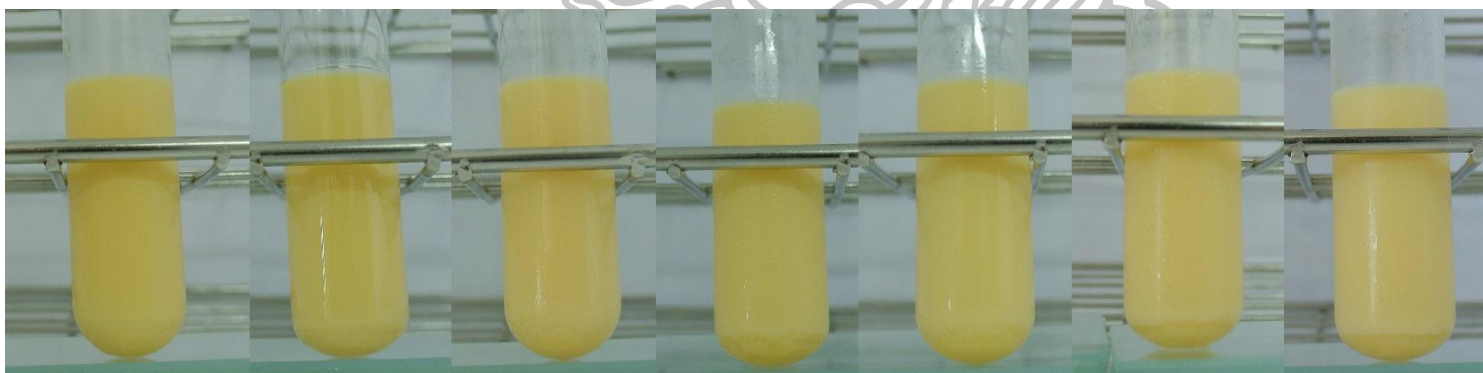


ภาพที่ 30 ความแตกต่างของค่าสี (color difference ;Delta E) ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้อัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ 1:9, 2:8 และ 3:7

- อัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ 1:9



- อัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ 2:8



วันที่

0

5

10

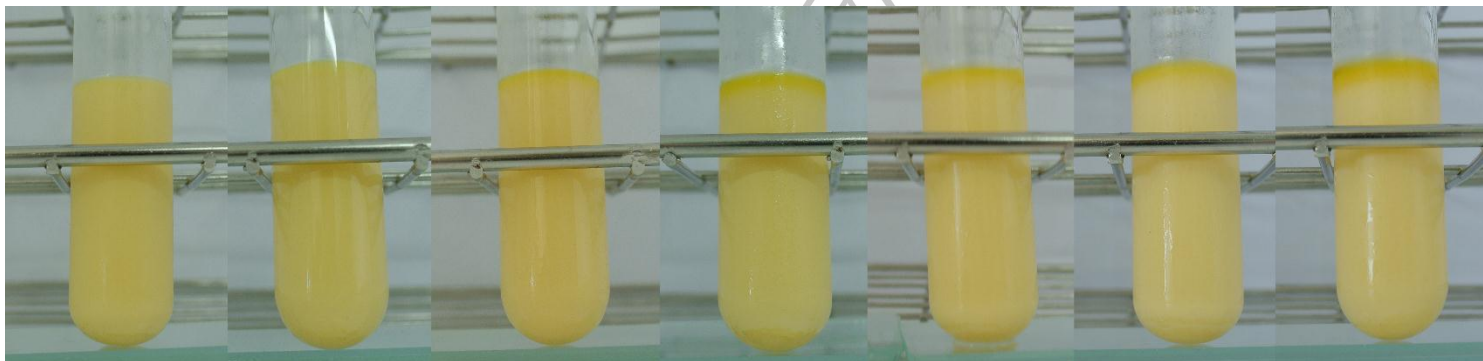
15

20

25

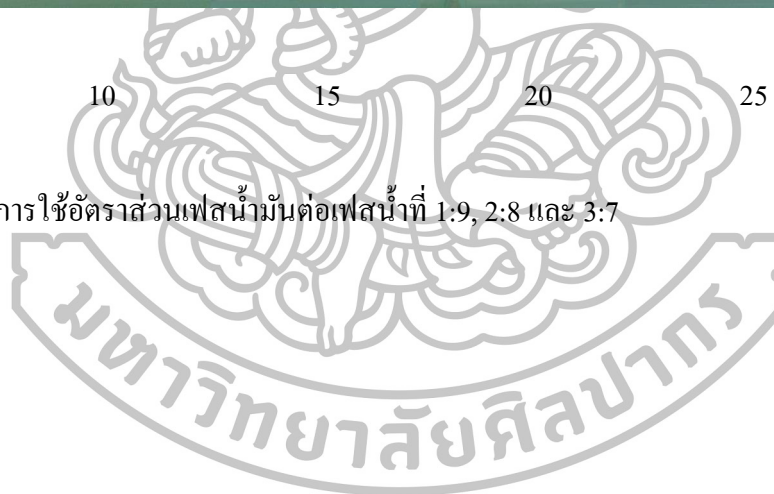
30

- อัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ 3:7



วันที่                    0                    5                    10                    15                    20                    25                    30

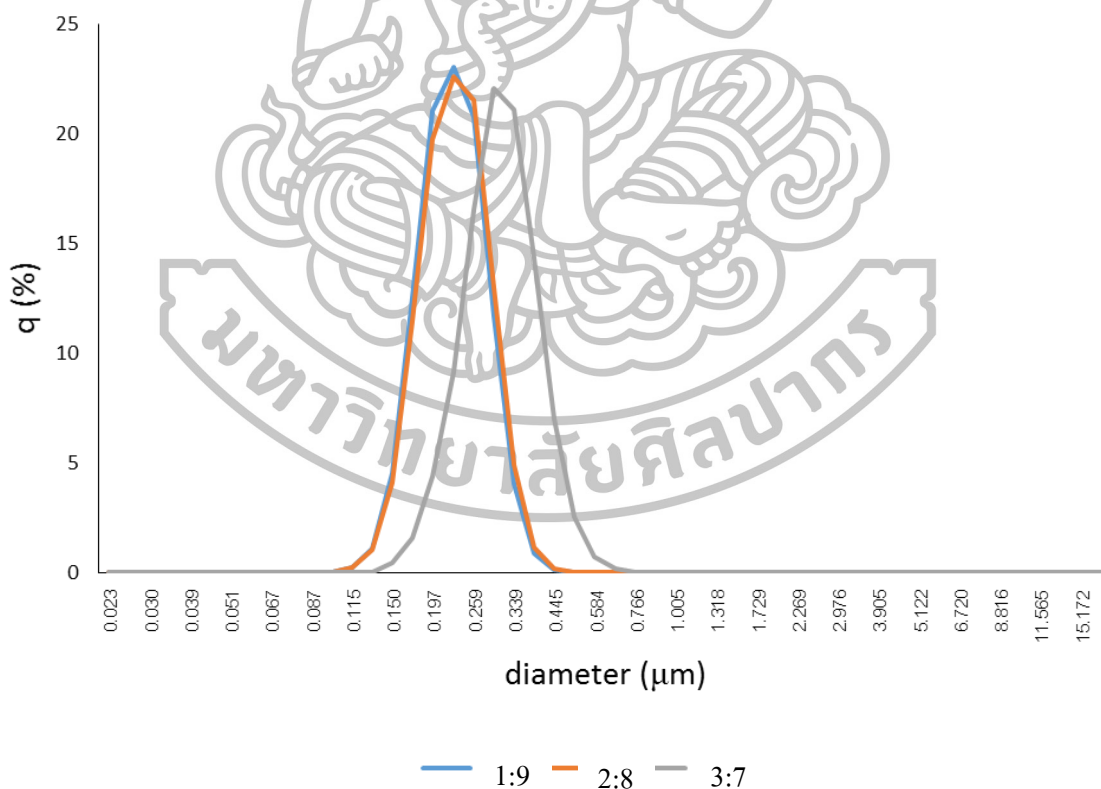
ภาพที่ 31 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่ได้จากการใช้อัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ 1:9, 2:8 และ 3:7





#### 4.4.3.4 การวิเคราะห์อนุภาคเฉลี่ยและการกระจายตัวของอนุภาค

จากการวัดขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง LASER SCATERING (LA-950) โดยการวัดขนาดของอนุภาคนั้นจะวัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางของเฟสชั้นในสุดของอนุภาค (Harrison และ Cunningham, 1985) จากการทดลองพบว่าขนาดเฉลี่ยของอนุภาคที่ได้จากการใช้อัตราส่วนของเฟสน้ำมันต่อน้ำที่ 1:9 จะให้ขนาดอนุภาคที่เล็กที่สุดคือ 0.215 ไมโครเมตร รองลงมาคือ 2:8 ขนาดของอนุภาคคือ 0.219 ไมโครเมตร และอัตราส่วน 3:7 ให้ขนาดของอนุภาคที่สุดคือ 0.297 ไมโครเมตร ขนาดของอนุภาคได้จากการใช้อัตราส่วนอิมัลชันที่ต่างกันพบว่ามีความใกล้เคียงและมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคในช่วงแคบ ภาพที่ 32 ขนาดของอนุภาคนั้นมีความสำคัญอย่างมากต่อระบบอิมัลชันซึ่งจะส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพ สี และความคงตัวของอิมัลชัน (McClement, 2005) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบความคงตัวของอิมัลชัน พบว่าอัตราส่วน 3:7 ที่มีขนาดของอนุภาคที่ใหญ่ส่งผลให้ครอปเลทเคลื่อนที่เข้ามาจับกันและเกิดการแยกชั้นของอิมัลชันได้เร็วกว่าอิมัลชันที่มีขนาดอนุภาคที่เล็ก



ภาพที่ 32 ขนาดอนุภาคเฉลี่ยและการกระจายตัวของอนุภาค

#### 4.4.3.5 สรุปผลการทดลอง

ในการศึกษาการหาอัตราส่วนของเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำในการทำระบบอิมัลชัน โดยได้เปรียบเทียบอัตราส่วนของเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำ คือ 1:9, 2:8 และ 3:7 หลังจากผ่านการทำอิมัลชันแล้วจะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่าการเก็บรักษาแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันทั้ง 3 อัตราส่วนมีความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ได้ใกล้เคียงกัน และระบบอิมัลชันของอัตราส่วนของเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ 1:9 และ 2:8 มีความคงตัวมากกว่าที่อัตราส่วน 3:7 ส่วนความแตกต่างของค่าสีนั้น ที่อัตราส่วน 1:9 มีการเปลี่ยนแปลงของค่าสีน้อยที่สุด



## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาสภาวะและกระบวนการผลิตที่เหมาะสมในการผลิตสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ในเนื้อตาลสุก โดยใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์และทำอิมัลชันโดยใช้อิมัลซิไฟเออร์เป็นสารหล่อหุ้มเพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายในเฟสน้ำและผลของการทำอิมัลชันแคโรทีนอยด์ต่ออายุการเก็บรักษา พบว่าการใช้เอธิลอะซิเตทผสมเอทานอลในอัตราส่วน 3:4 (v/v) จะให้ปริมาณของแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 2,204.33 ( $\mu\text{g/g}$  dried wt) เมื่อพิจารณาอุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้งวัตถุดิบก่อนนำไปสกัดที่เหมาะสมที่สุดคือ 50 องศาเซลเซียส โดยเฉพาะเมื่อใช้ตัวทำละลายเอธิลอะซิเตทผสมเอทานอลจะช่วยเพิ่มปริมาณของแคโรทีนอยด์เป็น 3,682.23 ( $\mu\text{g/g}$  dried wt)

ในการศึกษาการผลของอิมัลซิไฟเออร์ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ สตาร์ชคัดแปร OSA1 OSA2 และเวียโอ โซเลทและความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์ที่แตกต่างกันต่อร้อยละการกักเก็บแคโรทีนอยด์และความคงตัวของอิมัลชันหลังจากผ่านการทำอิมัลชันเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 35 และ 10 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่าการเก็บรักษาแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ใช้สตาร์ชคัดแปร OSA1 มีความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์และให้ความคงตัวกับอิมัลชันมากที่สุด และความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ทำให้อิมัลชันคงตัวของ OSA1 อยู่ในช่วงร้อยละ 15-25 นอกจากนี้การเก็บอิมัลชันไว้ที่ 5 องศาเซลเซียสจะช่วยเพิ่มความคงตัวให้กับอิมัลชันได้มากกว่าการเก็บไว้ที่ 35 องศาเซลเซียส

ในการศึกษาเปรียบเทียบผลของชนิดน้ำมัน คือ น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว จากการทดลองพบว่าการเก็บรักษาแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ใช้น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าวมีความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ได้ใกล้เคียงกันและมีความสามารถทำให้ระบบอิมัลชันมีความคงตัวได้เหมือนกัน อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาค่าความแตกต่างของค่าสีพบว่าน้ำมันถั่วเหลืองมีการเปลี่ยนแปลงของค่าสีที่น้อยกว่าน้ำมันมะพร้าว ดังนั้นน้ำมันถั่วเหลืองจึงถูกนำมาใช้ในการเป็นเฟสน้ำมันของระบบอิมัลชันต่อไป

ในการศึกษาอัตราส่วนของเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำในการทำระบบอิมัลชัน โดยได้เปรียบเทียบอัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำ คือ 1:9 2:8 และ 3:7 พบว่าการเก็บรักษาแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันทั้ง 3 อัตราส่วนมีความสามารถในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ได้ใกล้เคียงกัน และระบบอิมัลชันของอัตราส่วนของเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ 1:9 และ 2:8 มีความคงตัวมากกว่าที่อัตราส่วน 3:7 ส่วนความแตกต่างของค่าสีนั้น ที่อัตราส่วน 1:9 มีการเปลี่ยนแปลงของค่าสีน้อยที่สุด ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าการใช้สตาร์ช OSA1 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 โดยใช้ไขมันถั่วเหลืองเป็นเฟสน้ำมันและอัตราส่วนของน้ำมันและน้ำเป็น 1:9 มีความเหมาะสมในการทำเป็นอิมัลชันมากที่สุด

#### ข้อเสนอแนะ

- งานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองยืดอายุการเก็บรักษาจนถึง 30 วัน ควรทำการทดลองการเก็บรักษาต่อไปอีก 1-2 เดือน
- ควรทำการศึกษาการฆ่าเชื้อก่อนการเก็บรักษา เช่นการพาสเจอร์ไรซ์
- เพื่อเพิ่มอายุการเก็บรักษาอิมัลชันที่ได้ อาจมีการนำไปทำเป็นผงต่อไป
- การทำให้สีของอิมัลชันเข้มขึ้น โดยการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดแคโรทีนอยด์
- การประยุกต์ใช้สีผสมอาหารที่ได้ในอาหารที่มีเฟสน้ำเป็นเฟสหลัก เช่น เครื่องดื่มบะหมี่ ก๋วยเตี๋ยว เป็นต้น
- เนื่องจากข้อจำกัดของวัตถุดิบผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงนำไปประยุกต์เป็นอาหารประเภท functional food

### รายการอ้างอิง

- จรุงศักดิ์ ธรรมรักษ์. 2557. ตาลเมืองเพชร [http://www.phetchaburi.doae.go.th/pb2013/tan\\_phet/menu\\_tan.htm](http://www.phetchaburi.doae.go.th/pb2013/tan_phet/menu_tan.htm). 12 มิถุนายน 2557
- มนัสนันท์ บุญทราพงษ์. (2544). การพัฒนาแป้งข้าวเจ้าและส่วนผสมสำเร็จรูปในการผลิตขนมตาลเพื่ออุตสาหกรรมขนาดเล็ก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Adjonu, R., Doran, G., Torley, P. and Agboola, S. 2013. Screening of whey protein isolate hydrolysates for their dual functionality: influence of heat pre-treatment and enzyme specificity. *Food Chemistry*. 136(3-4): 1435-1443.
- Ahmed, K., Li, Y., McClements, D.J. and Xiao, H. 2012. Nanoemulsion- and emulsion-based delivery systems for curcumin: Encapsulation and release properties. *Food Chemistry*. 132: 799-807.
- Anarjan, N., Mirhosseini, H., Baharin, B.S. and Tan, C.P. 2011. Effect of processing conditions on physicochemical properties of sodium caseinate-stabilized astaxanthin nanodispersions. *Food Science and Technology*. 44(7): 1658-1665.
- A.O.A.C. 1990. Official Method of Analysis 15<sup>th</sup> Edition, Association of Official Analytical Chemists Washington, D. U.S.A.
- Asai, A., Terasaki, M. and Nagao A. 2004. An epoxide-furanoid rearrangement of spinach neoxanthin occurs in the gastrointestinal tract of mice and in vitro: formation and cytostatic activity of neochrome stereoisomers. *Journal of Nutrition*. 134(9): 2237-2243.
- Aust, O., Stahl, W., Sies, H., Tronnier, H. and Heinrich, U. 2005. Supplementation with Tomato Based Products Increases Lycopene, Phytofluene, and Phytoene Levels in Human Serum and Protects Against UV-light-induced Erythema. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 75(1): 54-60.
- Ax, K., Mayer-Miebach, E., Link, B., Schuchmann, H. and Schubert, H. 2003. Stability of lycopene in oil in water emulsions. *Engineering in Life Sciences* 34; 199–201.
- Beer-Sheva. "CAROTENOID EXTRACTION PROCESS" U.S.A. Patent No. EP1423020 B1 Nov 11, 2009.
- Bergenshtahl, B. 2008. Physicochemical aspects of an emulsifier functionality. In: Hasanhuettl GL, Hartel RW, editors. *Food Emulsifiers and Their Applications*. New York: Springer.

- Berman, J., Zorrilla-Lo'pez, U., Farre', G., Zhu, C., Sandmann, G., Twyman, R.M., Capell, T. and Christou, P. 2014. Nutritionally important carotenoids as consumer products. *Phytochem Rev.*
- Buret, M. 1991. Tomato sampling for quality assessment. Milano: IVTPA.
- Calvo, M.M., Dado, D. and Santa-Mar'ia, G. 2007. Influence of extraction with ethanol or ethyl acetate on the yield of lycopene,  $\beta$ -carotene, phytoene and phytofluene from tomato peel powder. *European Food Research and Technology*, 224: 567-571.
- Cannon, J. B. and Long, M. A. 2008. Emulsions, microemulsions, and lipid-based drug delivery systems for drug solubilization and delivery—Part II: Oral applications. In R. Liu (Ed.), *Water-insoluble drug formulation* (pp. 227–253). Boca Raton, FL, USA: CRC Press.
- Chen, J.P., Tai, C.Y. and Chen, B.H. 2004. Improved liquid chromatographic method for determination of carotenoids in Taiwanese mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Chromatography A*. 1054: 261–268.
- Chen, B. H., & Tang, Y. C. 1998. Processing and stability of carotenoid powder from carrot pulp waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 2312-2318.
- Chu, B.-S., Ichikawa, S., Kanafusa, S. and Nakajima, M. 2007. Preparation of protein-stabilised  $\beta$ -carotene nanodispersions by emulsification-*in situ* evaporation method. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 84(11): 1053-1062.
- Chung, H., Kim, T.W., Kwon, M., Kwon, I.C. and Jeong, S.Y. 2001. Oil components modulate physical characteristics and function of the natural oil emulsions as drug or gene delivery system. *Journal of Controlled Release*. 71: 339-350.
- Cinar, I. 2004. Carotenoid pigment loss of freeze-dried plant samples under different storage conditions. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*. 37: 363–367.
- Da Costa A. R., Fane, A.G. and Wiley, D.E. 1993. Ultrafiltration of heavy protein solutions in spacer-filled flat channels. *Journal of Membrane Science*. 76(2-3): 245-254.
- Davey, M.W., Keulemans, J. and Swennen, R. 2006. Methods for the effect quantification of fruit provitamin A content. *Journal of Chromatography A*. 1136: 176-184.
- David, S. and Christian, S. "Process for the manufacture of a powder containing carotenoids" Paris. Patent No. EP1967081 A1 Oct 9, 2008.

- Davis, H.T. 1994. Factors determining emulsion type: hydrophile-lipophile balance and beyond. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 91: 9-24.
- Dimakou, C. and Oreopoulou, V. 2012. Antioxidant activity of carotenoids against the oxidative destabilization of sunflower oil-in-water emulsions. *Food Science and Technology*. 46: 393 – 400.
- Dokic, L., Krstonosic, V. and Nikolic, I. 2012. Physicochemical characteristics and stability of oil-in-water emulsions stabilized by OSA starch. *Food Hydrocolloids*. 29: 185-192.
- Donhowe, E.G., Flores, F.P., Kerr, W.L., Wicker, L. and Kong, F. 2014. Characterization and in vitro bioavailability of b-carotene: Effects of microencapsulation method and food matrix. *LWT - Food Science and Technology*. 57: 42-48.
- Donsì, F., Annunziata, M., Vincensi, M. and Ferrari, G. 2012. Design of nanoemulsionbased delivery systems of natural antimicrobials: effect of the emulsifier. *Journal of Biotechnology*. 159(4): 342-350.
- Druesne-Pecollo, N., Latino-Martel, P., Norat, T., Barrandon, E., Bertrais, S., Galan, P. and Hercberg, H. 2009. Beta-carotene supplementation and cancer risk: a systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *International Journal of Cancer*. 127(1): 172-184.
- Durante, M., Lenucci, M.S., D'Amico, L., Piro, G. and Mita, G. (2014). Effect of drying and co-matrix addition on the yield and quality of supercritical CO<sub>2</sub> extracted pumpkin (*Cucurbita moschata Duch.*) oil. *Food Chemistry*, 148, 314-320.
- Dutta, D., Chaudhuri, U.R. and Chakraborty, R. 2005. Structure, health benefits, antioxidant property and processing and storage of carotenoids. *African Journal of Biotechnology*. 4: 1510-1520.
- Engelmann, N.J., Clinton, S.K. and Erdman Jr, J.W. 2011. Nutritional Aspects of Phytoene and Phytofluene, Carotenoid Precursors to Lycopene. *American Society for Nutrition*. 2: 51–61.

- Esther, D.P., Martín, A., Estrella, A., Rodríguez-Rojo, S., Matias, A.A., Duarte, C.M.M. and Cocero, M.J. 2012. Formulation of b-carotene by precipitation from pressurized ethyl acetate-on-water emulsions for application as natural colorant. *Food Hydrocolloids*. 26: 17-27.
- FAO. 2006. Food outlook no. 2, December 2006 /<http://www.fao.org/docrep/009/j8126e/j8126e11.htmS>.
- Flanagan, J., Kortegaard, K., Neil Pinder, D., Rades, T. and Singh, H. 2006. Solubilisation of soybean oil in microemulsions using various surfactants. *Food Hydrocolloids*. 20(2-3): 253-260.
- Fernández-García, E., Carvajal-Lérída, I., Jarén-Galán, M., Garrido-Fernández, J., Pérez- Gálvez, A. and Hornero-Méndez, D. 2012. Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. *Food Research International*. 46: 438-450.
- Fuller, B., Smith, D., Howerton, A. and Kern, D. 2006. Anti-inflammatory effects of CoQ10 and colorless carotenoids. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 5(1): 30-38.
- Geiser, M. 2003. The wonders of whey protein. *NSCA's Performance Training*. 2: 13-15.
- Gaonkar, A. G. and Bagwe, R. P. 2002. Microemulsions in foods: Challenges and applications. In K. L. Mittal & D. O. Shah (Eds.), *Adsorption and aggregation of surfactants in solution* (pp. 368-388). New York, NY, USA: Marcel Dekker.
- Georgé, S., Tourniaire, F., Gautier, H., Goupy, P., Rock, E. and Caris-Veyrat, C. 2011. Changes in the contents of carotenoids, phenolic compounds and vitamin C during technical processing and lyophilisation of red and yellow tomatoes. *Food Chemistry*. 124: 1603-1611.
- Giaccio, M. 2004. Crocetin from saffron: an active component of an ancient spice. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 44(3):155-72.
- Gimeno, E., Calero, E., Castellote, A.I., Lamuela-Raventos, R.M., de la Torre, M.C. and Lopez-Sabater, M.C. 2000. Simultaneous determination of a-tocopherol and b-carotene in olive oil by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 881: 255.



- Gutheil, W.G., Reed, G., Ray, A., Anant, S. and Dhar, A. 2012. Crocetin: an agent derived from saffron for prevention and therapy for cancer. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 13(1): 173-9.
- Huffman, L.M. 1996. Processing whey protein for use as food ingredient. *Food Technology*. 50
- Ishida, B.K., chfpnlan, M.H. and Randhava, S.S. "EXTRACTION OF CAROTENOIDS FROM PLANT MATERIAL" U.S.A. Patent No. US7572,468 B1 Aug 11, 2009.
- Jafari, S., He, Y. and Bhandari, B. 2006. Nano-emulsion production by sonication and microfluidisation: A comparison. *International Journal of Food Properties*. 9(3): 475-485.
- Jumaa, M. and Muller B.W. 1998. The effect of oil components and homogenization conditions on the physicochemical properties and stability of parenteral fat emulsions, *International Journal of Pharmaceutics*. 163: 81-89.
- Kiokias, S., Dimakou, C. and Oreopoulou, V. 2009. Activity of natural carotenoid preparations against the autoxidative deterioration of sunflower oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*. 114: 1278-1284.
- Lam, R. S. H. and Nickerson, M. T. 2013. Food proteins: a review on their emulsifying properties using a structure-function approach. *Food Chemistry*. 141(2): 975-984.
- Lee, S. and McClements, D. 2010. Fabrication of protein-stabilised nanoemulsions using a combined homogenisation and amphiphilic solvent dissolution/evaporation approach. *Food Hydrocolloids*. 24(6-7): 560-569.
- Lee, E.J., Yoo, K.S. and Patil, B.S. 2011. Total Carotenoid, Anthocyanin, and Sugar Contents in Sliced or Whole Purple (cv. BetaSweet) and Orange Carrots during 4-week Cold Storage. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. 52(4): 402-407.
- Liang, R., Shoemaker, C.F., Yang, X., Zhong, F. and Huang, Q. 2013a. Stability and Bioaccessibility of  $\beta$ -Carotene in Nanoemulsions Stabilized by Modified Starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61: 1249-1257.
- Liang, R., Huang, Q., Ma, J., Shoemaker, C.F. and Zhong, F. 2013b. Effect of relative humidity on the store stability of spray-dried betacarotene nanoemulsions. *Food Hydrocolloids*. 33: 225-233.

- Mai, H.C., Truong, V., Haut, B. and Debaste, F. 2013. Impact of limited drying on *Momordica cochinchinensis* Spreng. aril carotenoids content and antioxidant activity. Journal of Food Engineering. 118(4): 358–364.
- Mao, L., Xu, D., Yang, J., Yuan, F., Gao, Y. and Zhao, J. 2009. Effects of Small and Large Molecule Emulsifiers on the Characteristics of b-Carotene Nanoemulsions Prepared by High Pressure Homogenization. Biotechnol. 47(3): 336–342.
- Marshall, K.R. 1982. 1. Proteins. In Fox P F (Ed), Developments in dairy chemistry. London & New York: Applied Science Publishers
- Marshall, K. 2004. Therapeutic Applications of Whey Protein. Alternative Medicine Review. 9(2): 136-156.
- McClement DJ. 2005. Food Emulsion: Principles, Practices and Techniques. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Madaan, V., Chanana, A., Kataria, M.K. and Bilandi, A. 2014. Emulsion technology and recent trends in emulsion applications. International Research Journal of Pharmacy. 5(7): 553-542.
- Mai, H.C., Truong, V., Haut, B. and Debaste, F. 2013. Impact of limited drying on *Momordica cochinchinensis* Spreng. Aril carotenoids content and antioxidant activity. Journal of Food Engineering. 118: 358–364.
- McClements, D.J. and Rao, J. 2011. Food-Grade Nanoemulsions: Formulation, Fabrication, Properties, Performance, Biological Fate, and Potential Toxicity. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 51(4): 285-330.
- Morr, C.V. 1989. Whey proteins: Manufacture. In :Developments in Dairy Chemistry-4 Fox P F (Ed), Elsevier Applied Science, London
- Pathberiya, L. and Jansz, E.R. 2006. The effect of the fruit pulp of four cultivars of palmyrah on serum cholesterol levels in mice. Vidyodaya Journal of Science. 13: 41-47
- Pasin, G. and S.L. Miller, 2000. U.S. Whey Products and Sports Nutrition.
- Priyadarshanl. A. M.B, Jansz. E.R. and Peiris. H. 2009a. The carotenoids of the fruit pulp of palmyrah (*Borassus flabellifer*) from Hambantota. Vidyodaya Journal of Science. 14: 29-34.

- Priyadarshani, A.M.B., Jansz, E.R. and Peiris, H. 2009b. A novel water soluble carotenoid derivative from palmyrah (*Borassus flabellifer* L) fruit pulp. *Vidyodaya Journal of Science*. 14: 111-116.
- Qian, C., Decker, E.A., Decker, H. and McClements, D.J. 2012a. Nanoemulsion delivery systems: Influence of carrier oil on b-carotene bioaccessibility. *Food Chemistry*. 135: 1440–1447.
- Qian, C., Decker, E.A., Xiao, H. and McClements, D.J. 2012b. Inhibition of  $\beta$ -carotene degradation in oil-in-water nanoemulsions: influence of oil-soluble and water-soluble antioxidants. *Food Chemistry*. 135(3):1036-1043.
- Relkin, P., Jung, J. M. and Ollivon, M. 2009. Factors affecting vitamin degradation in oil-in-water nanoemulsions. *Journal of Thermal Analysis & Calorimetry*. 98(1): 13-18.
- Relkin, P., Shukat, R., Bourgaux, C. and Meneau, F. 2011. Nanostructures and polymorphisms in protein stabilised lipid nanoparticles, as food bioactive carriers: contribution of particle size and adsorbed materials. *Procedia Food Science*. 1: 246-250.
- Riberiro, H.S., Guerrero, J.M., Briviba, K., Rechkemmer, G., Schuchmann, H.P. and Schuchmann, H. 2006. Cellular Uptake of Carotenoid-Loaded Oil-in-Water Emulsions in Colon Carcinoma Cells in Vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 9366-9369.
- Rodriguez-Amaya, D.B and Kimura, M. 2004. General Procedure for Carotenoid Analysis. *HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis*. pp. 8-20. Washington, DC. International Center for Tropical Agriculture
- Roohinejad, S., Oey, N., Wen, J. and Lee, S.J. 2015. Formulation of oil-in-water b-carotene microemulsions: Effect of oil type and fatty acid chain length. *Food Chemistry* 174: 270–278.
- Sadler, G. and Davis, J. 1990. Rapid extraction of lycopene and beta-carotene from reconstituted tomato paste and pink grapefruit homogenates. *Journal of Food Science*. 55: 1460–1461.
- Salari, H., Rohani, H., Elahifard, M.R., Hosseini, M., Gholami, M.R. 2012. Solvents Design on the Basis of Molecular-Microscopic Properties of Binary Mixtures for Lycopene Extraction. *American Journal of Chemistry*. 2(2), 94-98.

- Shankar, J.R. and Bansal, G.K. 2013. A Study on Health Benefits of Whey Proteins. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*. 4(1): 15-19.
- Simpson, K.L. and Goodwin, T.W., 1965. A comparison of synthetic  $\beta$ -zeacarotene and samples obtained from *Rhodotorula glutinis* and yellow corn. *Phytochemistry*. 4(1): 193-195.
- Sinha, R., Radha, C., Prakash, J. and Kaul, P. 2007. Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. *Food Chemistry*. 101: 1484–1491.
- Siriamornpun, S., Kaisoon, O. and Meeso, N. 2012. Changes in colour, antioxidant activities and carotenoids (lycopene,  $\beta$ -carotene, lutein) of marigold flower (*Tagetes erecta* L.) resulting from different drying processes. *Journal of Functional food*. 4: 757-766.
- Smithers, G.W. 2008. Whey and whey proteins—From ‘gutter-to-gold’. *International Dairy*. 18: 695– 704.
- Stephen, I.D., Coetzee, V. and Perrett, D.I. 2011. Carotenoid and melanin pigment coloration affect perceived human health. *Evolution and Human Behavior*. 32: 216-227.
- Strati, I. F. and Oreopoulou, V. 2011. Effect of extraction parameters on the carotenoid recovery from tomato waste. *International Journal of Food Science and Technology*. 46: 23-29.
- Suzuki, S., Nishihara, M., Nakatsuka, T., Misawa, N., Ogiwara, I. and Yamamura, S. 2007. Flower color alteration in *Lotus japonicus* by modification of the carotenoid biosynthetic Pathway. *Plant Cell Reports*. 26: 951–959.
- Sweedman, M.C., Tizzotti, M.J., Schäfer, C. and Gilbert, R.G. 2013. Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches. *Carbohydrate Polymers*. 92: 905– 920.
- Tan, C. P. and Nakajima, M. 2005. Effect of polyglycerol esters of fatty acids on physicochemical properties and stability of b-carotene nanodispersions prepared by emulsification/evaporation method. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85: 121–126.

- Tang, Y.C. and Chen, B.H. 2000. Pigment change of freeze-dried carotenoid powder during storage. *Food Chemistry*. 69: 11-17.
- Tharwat, F.T. 2009. *Emulsion Science and Technology*. pp.1-3. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Tsakali, E., Petrotos, W., Alessandro, A.D. and Goulas, P. 2010. Conference: 6th International Conference on Simulation and Modelling in the Food and Bio-Industry FOODSIM 2010, At CIMO Research Centre, Braganca, Portugal.
- Urrea, D., Eim, V.S., González-Centeno, M.R., Minjares-Fuentes, R., Castell-Palou, A., Juárez, M.D. and Rosselló, C. 2011. Conference: European Drying, 2011 Conference on Effects of Air Drying Temperature on Antioxidation Activity and Carotenoids Content of Carrots (*Daucus carota*), At Palma, Balearic Island, Spain.
- Walstra P. 1996. Dispersed systems: basic considerations. In: Fennema OR, editor. *Food Chemistry*. 3rd ed. New York: Marcel Dekker. P95-155.
- Wen-ping, M.A., Zhi-jing, N.I., He, L.I. and Min, C. 2008. Changes of the Main Carotenoid Pigment Contents During the Drying Processes of the Different Harvest Stage Fruits of *Lycium barbarum* L. *Agricultural Sciences in China*. 7(3): 363-369.
- Wackerbarth, H., Stoll, T., Gebken, S., Pelters, C. and Bindrich, U. 2009. Carotenoid-protein interaction as an approach for the formulation of functional food emulsions. *Food Research International*. 42(9): 1254-1258.
- Wijemanne. P.R., Niluka. R.A., Rajapaksha. K. and Buddhika Priyadarshanl. A. M. 2006. Variations in carotenoid profiles of pulp morphological fruit types of palmyrah from Kalpitiya. *Vidyodaya Journal of Science*. 13: 33-39.
- Xu, D., Aihemaiti, Z., Cao, Y., Teng, C. and Li, X. 2016. Physicochemical stability, microrheological properties and microstructure of lutein emulsions stabilized by multilayer membranes consisting of whey protein isolate, flaxseed gum and chitosan. *Food Chemistry*. 202: 156-164.

- Yi, J., Lam, T.I., Yokoyama, W., Cheng, L.W. and Zhong, F. 2014. Cellular Uptake of  $\beta$ -Carotene from Protein Stabilized Solid Lipid Nanoparticles Prepared by Homogenization–Evaporation Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62: 1096–1104.
- Yuan, Y., Gao, Y., Zhao, J. and Mao, L. 2008. Characterization and stability evaluation of b-carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization under various emulsifying conditions. *Food Research International*. 41: 61–68.
- Zadow, J. G. 1994. Utilization of milk components: Whey. In R. K. Robinson (Ed.), *Modern dairy technology, advances in milk processing*, Vol. 1 (2nd ed.) (pp. 313–373). London, UK: Chapman & Hall.
- Zepka, L.Q. and Mercadante, A.Z. 2009. Degradation compounds of carotenoids formed during heating of a simulated cashew apple juice. *Food Chemistry*. 117: 28–34.
- Zhou, C. and Barth M. 1996. Response surface model for supercritical fluid extraction of carotenoids from carrot tissue. *IFT Annual Meeting & Food Expo: Book of abstracts*, 94.





ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ก  
การวิเคราะห์ค่าทางเคมี

1. หาปริมาณความชื้น

1. อบจานโลหะให้แห้งสนิทในตู้อบประมาณ 20–30 นาที ทำให้เย็นใน desiccators แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของจานโลหะนั้น

2. ชั่งตัวอย่างแคโรทีนอยด์ที่ผ่านการทำแห้งแบบผงแล้วให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 5 กรัม ใส่ในจานโลหะที่ผ่านการอบ และทราบน้ำหนักแล้ว

3. นำจานโลหะจากข้อ 2 ไปอบในตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้อย่างแน่นอน ให้อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียสนานประมาณ 12 ชั่วโมง

4. นำจานโลหะออกมาจากตู้อบและปล่อยให้เย็นใน desiccators แล้วชั่งน้ำหนัก นำไปอบซ้ำหลายๆครั้ง จนได้น้ำหนักคงที่ ซึ่งค่าที่ได้จะต้องแตกต่างกันไม่เกิน 0.05 กรัม

5. ชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างแคโรทีนอยด์ผงที่เหลืออยู่

6. คำนวณหาน้ำหนักของน้ำที่หายไป และคำนวณหาร้อยละความชื้นได้ ดังนี้

$$\text{ร้อยละความชื้น (Dry basis)} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}} \times 100$$





## 2.หาปริมาณแคโรทีนอยด์รวมโดยเทคนิค spectrophotometer

### 2.1 เตรียมเสตนคาร์คเบต้าแคโรทีน

2.1.1 ละลายเสตนคาร์คเบต้าแคโรทีน 0.01 กรัมด้วยเอทิลอะซิเตทและปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

2.1.2 คูณสารละลายเบต้าแคโรทีนมา 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตรด้วยเอทิลอะซิเตท

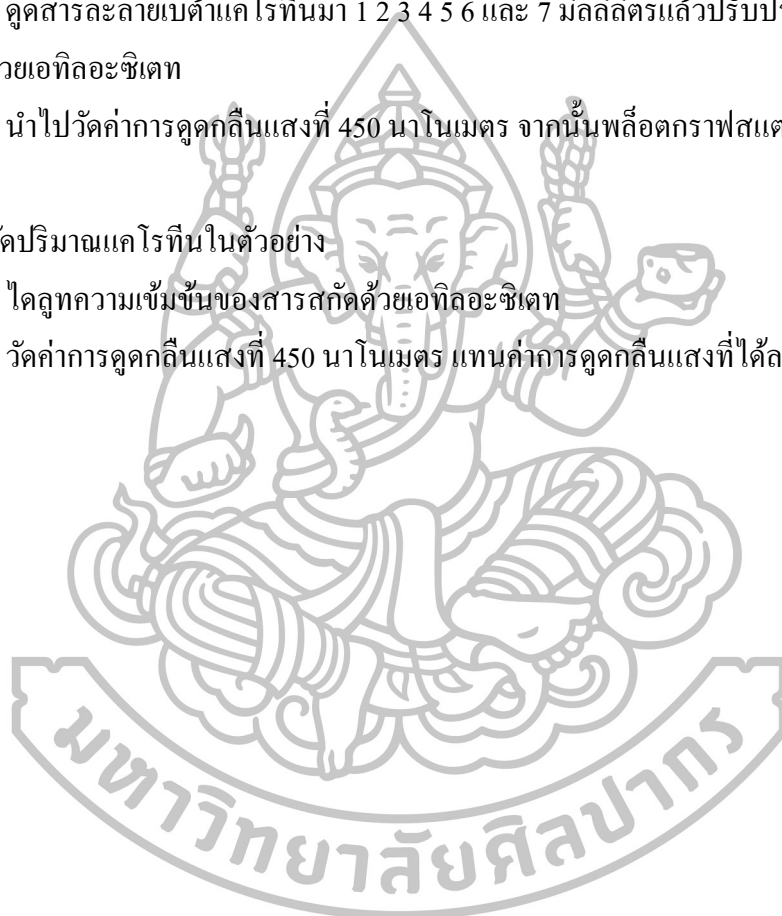
2.1.3 คูณสารละลายเบต้าแคโรทีนมา 1 2 3 4 5 6 และ 7 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตรด้วยเอทิลอะซิเตท

2.1.4 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร จากนั้นพล็อตกราฟสแตนคาร์ค  
หาสมการ

### 2.2 วัดปริมาณแคโรทีนในตัวอย่าง

2.2.1 ใคดูทความเข้มข้นของสารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท

2.2.2 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร แทนค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ลงในสมการ  
ของข้อ 2.1.4



### 3.หาคำนวนหาปริมาณร้อยละของผลิตภัณฑ์ที่ได้

ต้องการเตรียมอิมัลชัน 1000 มิลลิลิตร (โดยใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำมันและน้ำที่ 1:9)

แสดงว่า

- เฟสน้ำมัน 100 มิลลิลิตร
- เฟสน้ำ 900 มิลลิลิตร

ในการเตรียมเฟสน้ำมันจะใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์ร้อยละ 8

แสดงว่าถ้าต้องการเตรียมเฟสน้ำมัน 100 ml จะต้องใช้สารสกัด 8 กรัม

จากการสกัดแคโรทีนอยด์ในเนื้อตาลสุกพบว่าที่ 1 กรัม (เนื้อตาลแห้ง) จะสามารถสกัดแคโรทีนอยด์ได้ประมาณ 0.3 กรัม

แสดงว่าในถ้าต้องการใช้สารสกัด 8 กรัมจะต้องใช้เนื้อตาลประมาณ 27 กรัม

อย่างไรก็ตามเนื้อตาลมีปริมาณความชื้นประมาณร้อยละ 80

แสดงว่าในถ้าต้องการใช้สารสกัด 8 กรัมจะต้องใช้เนื้อตาลที่ต้องซั้งมาจริงๆ ประมาณ 135 กรัม

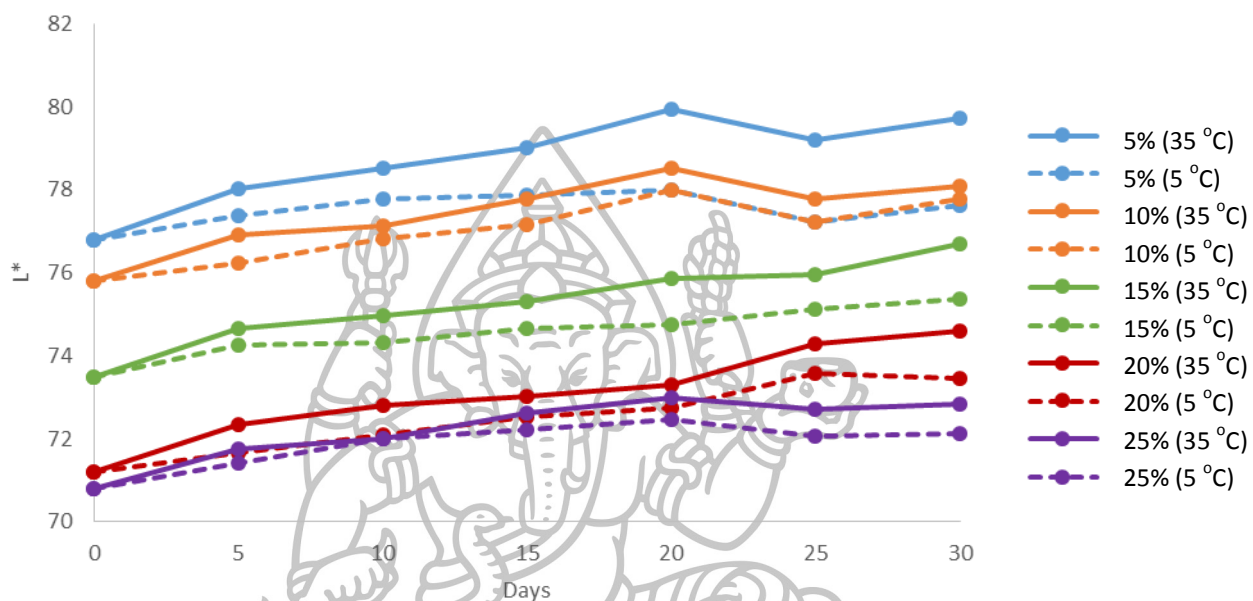
ดังนั้นการเตรียมอิมัลชัน 1000 มิลลิลิตรจะเตรียมได้จากการใช้เนื้อตาลสุก 135 กรัม



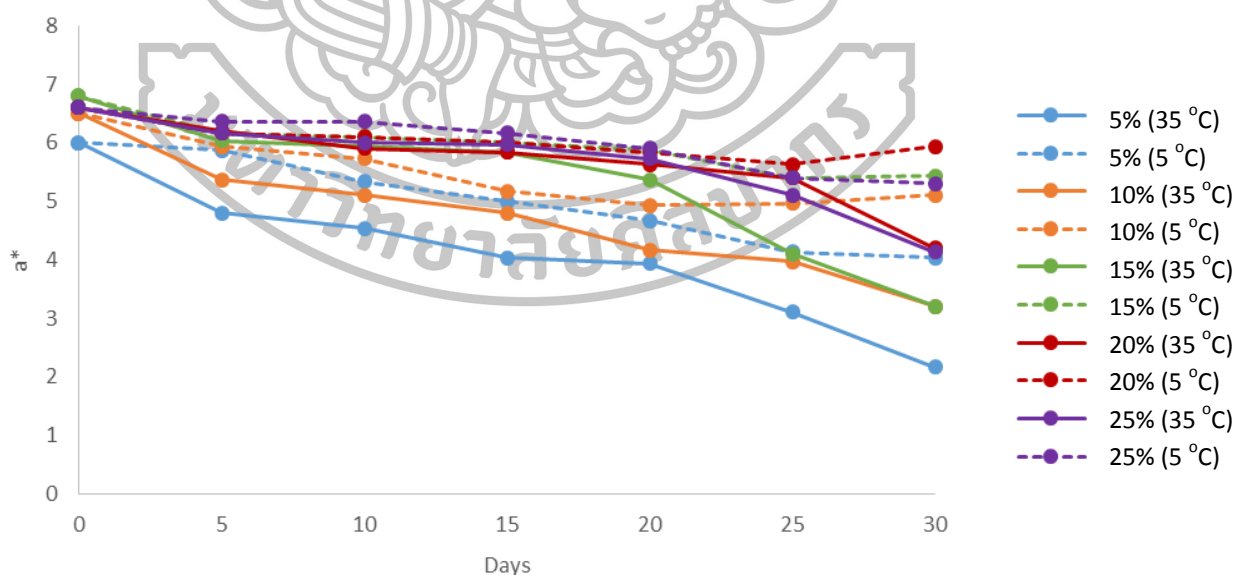
ภาคผนวก ข

แสดงค่าสีการวิเคราะห์ค่าสีของตัวอย่างในฐาน CIE L\*a\*b

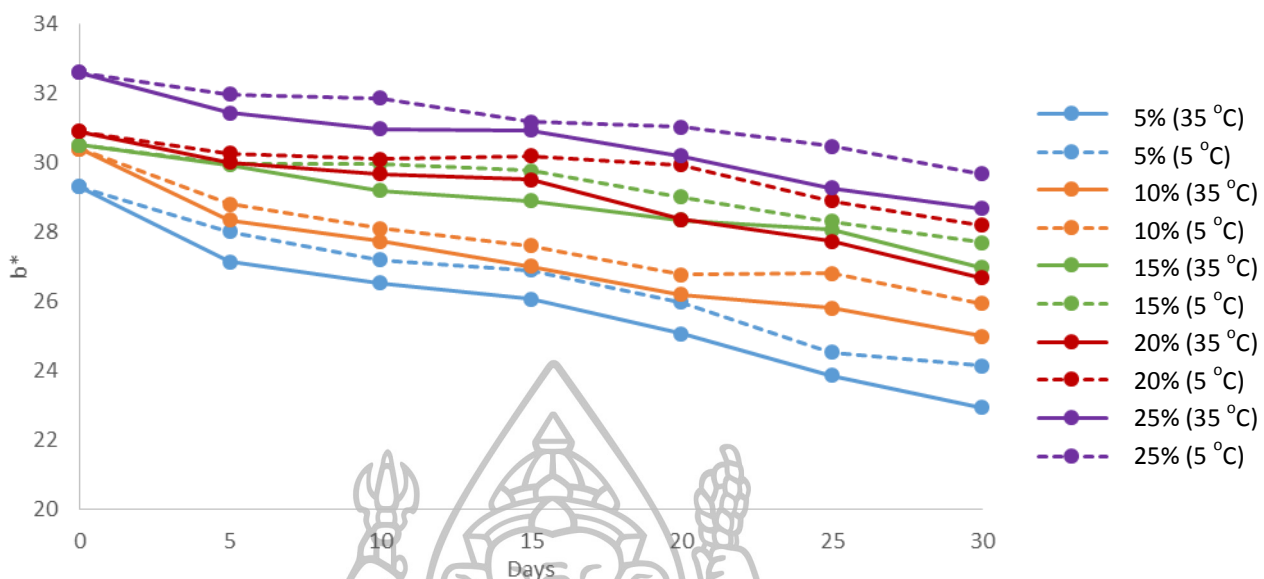
1. ค่าสี L\*a\*b\* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชตัดแปร OSA1



ภาพที่ 33 ค่าสี L\* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชตัดแปร OSA1



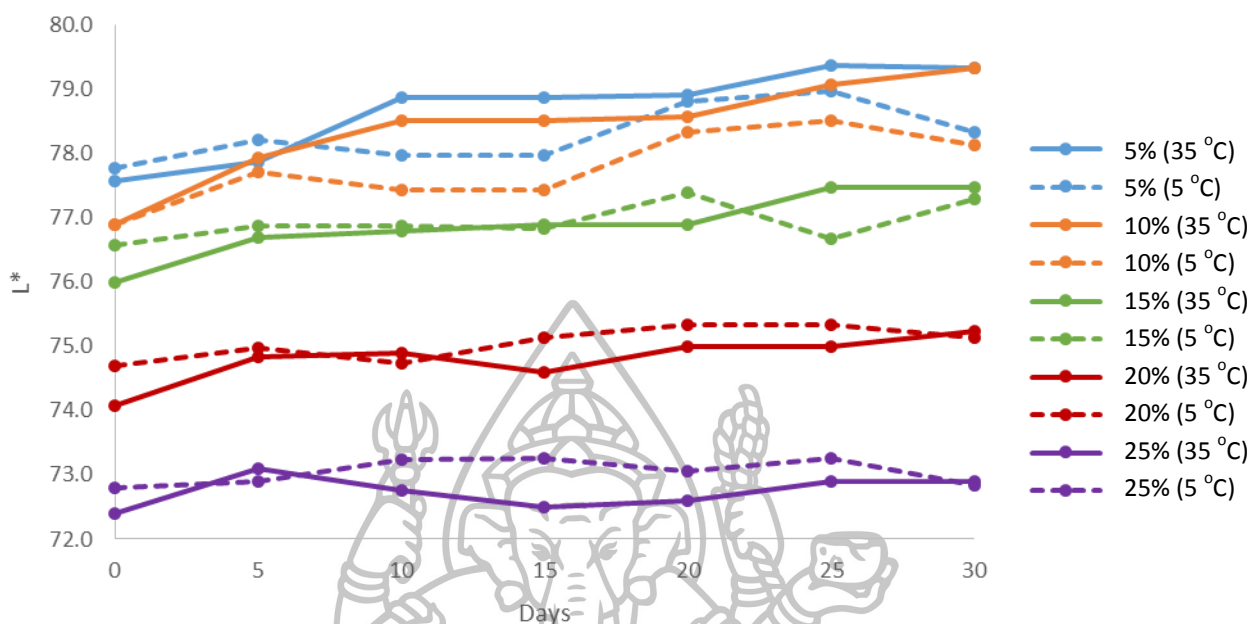
ภาพที่ 34 ค่าสี a\* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชตัดแปร OSA 1



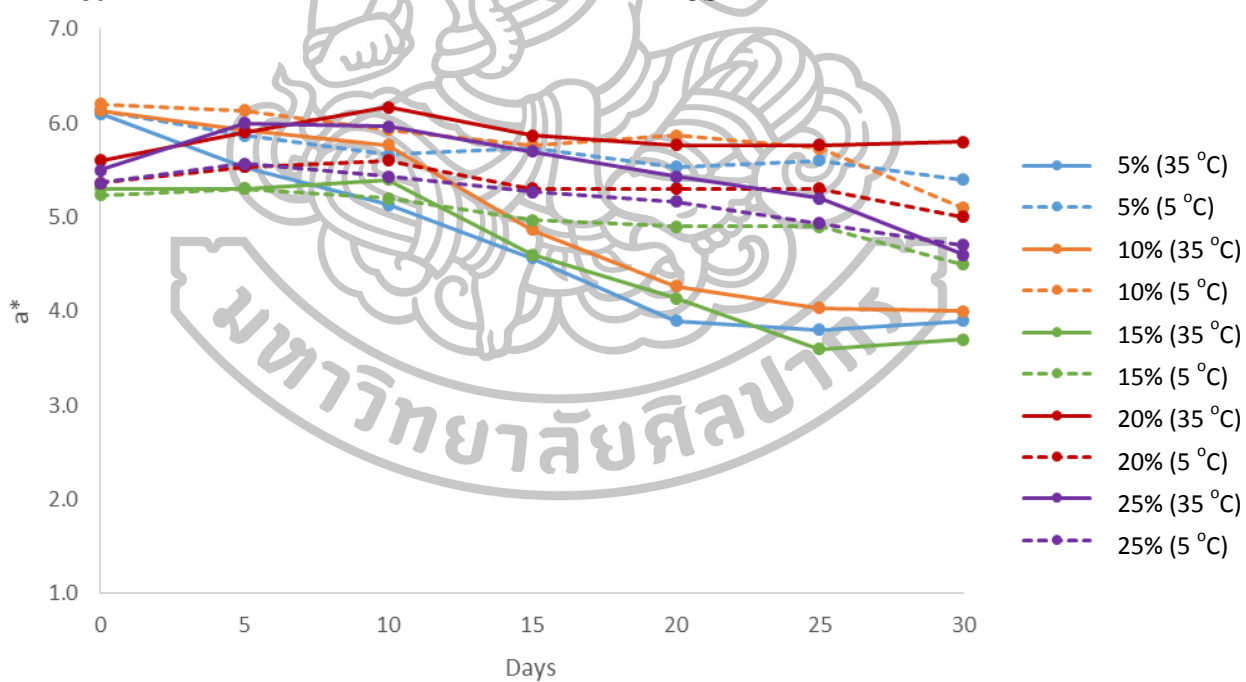
ภาพที่ 35 ค่าสี b\* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตาร์ชตัดแปร OSA 1



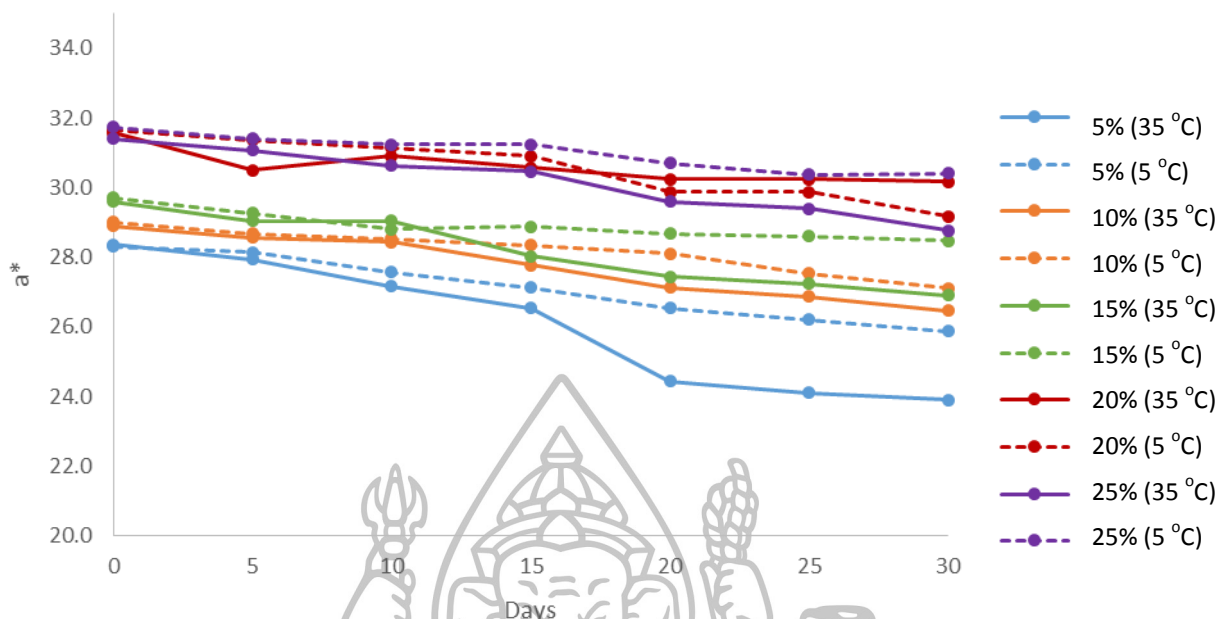
2. ค่าสี L\*a\*b\* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตราซัคดแปร OSA2



ภาพที่ 36 ค่าสี L\* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตราซัคดแปร OSA2



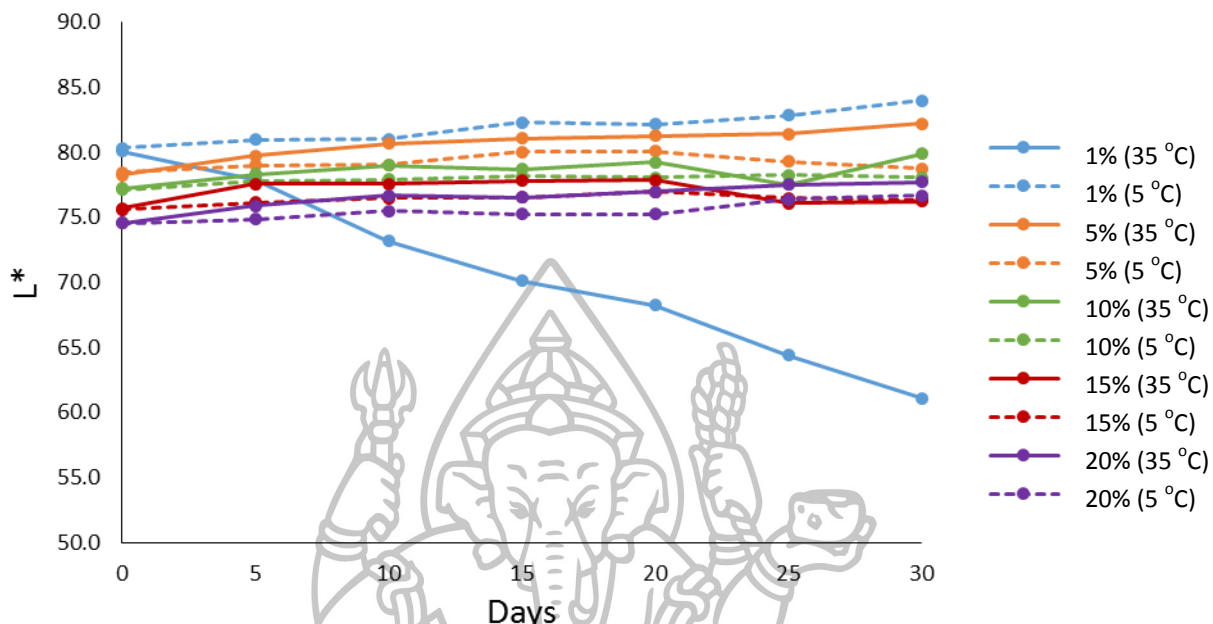
ภาพที่ 37 ค่าสี a\* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สตราซัคดแปร OSA2



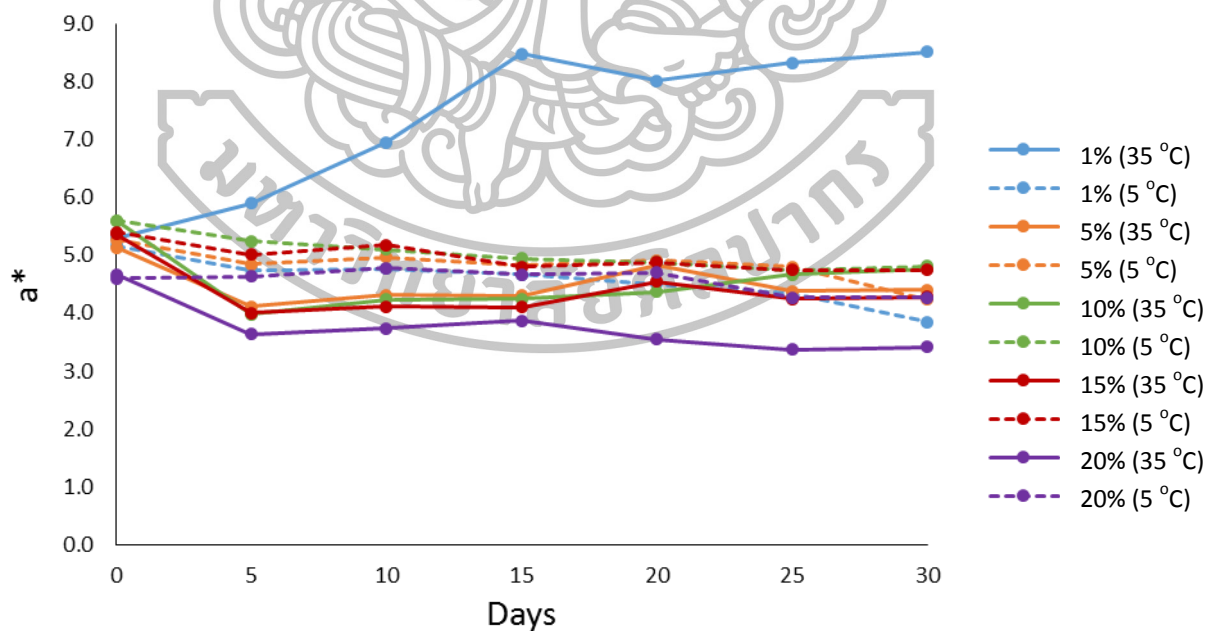
ภาพที่ 38 ค่าสี b\* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้สสารขั้วตแปร OSA 2



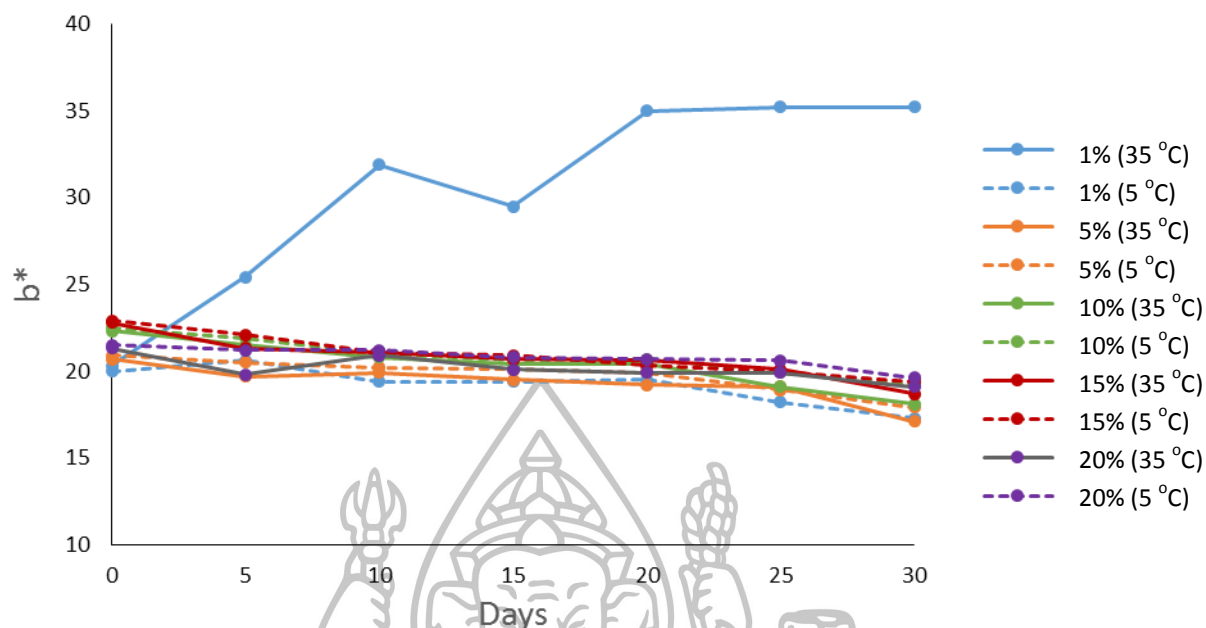
3. ค่าสี L\*a\*b\* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้เวย์โปรตีนไอโซเลต



ภาพที่ 39 ค่าสี L\* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้เวย์โปรตีนไอโซเลต



ภาพที่ 40 ค่าสี a\* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้เวย์โปรตีนไอโซเลต

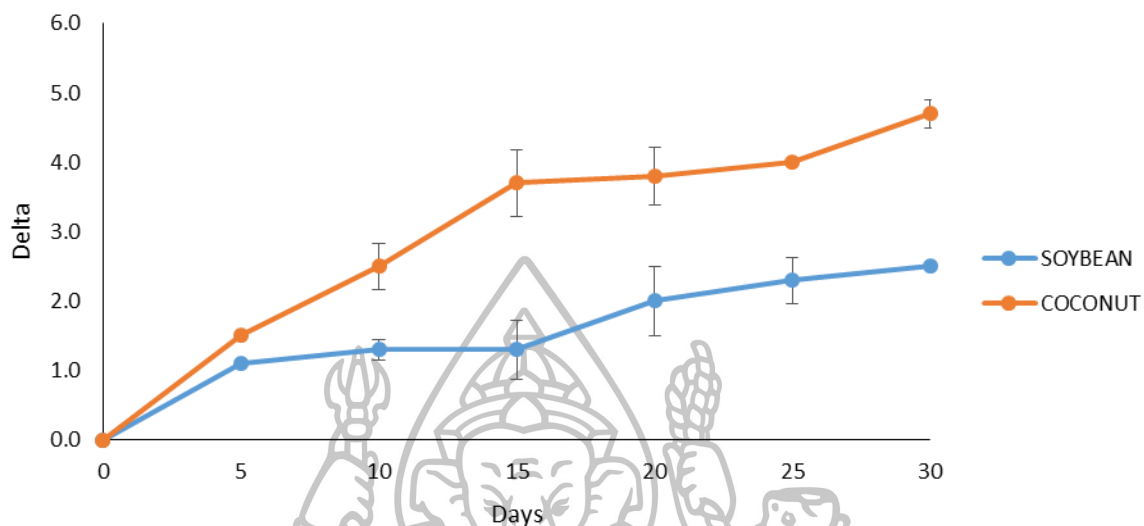


ภาพที่ 41 ค่าสี  $b^*$  ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้เวย์โปรตีนไอโซเลต

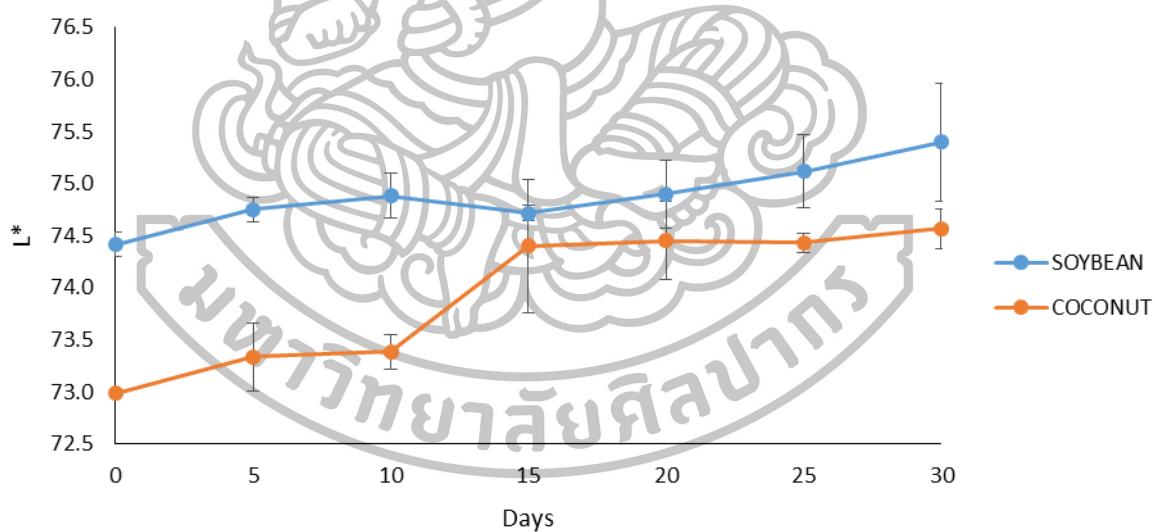




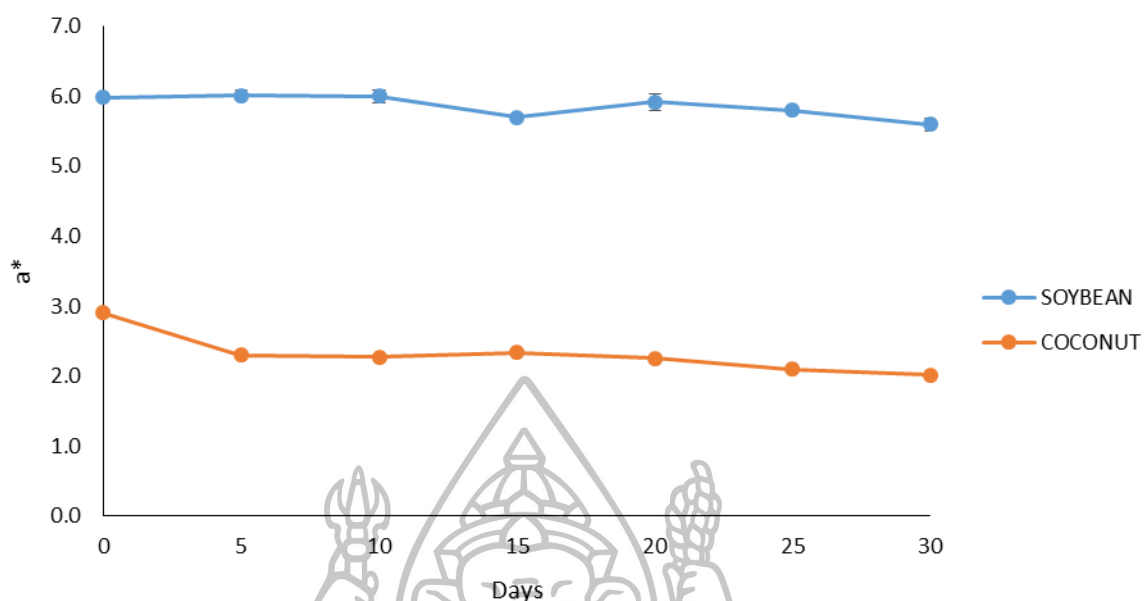
#### 4. ค่า $L^*a^*b^*$ ของอิมัลชันที่ได้จากการชนิดของเฟสน้ำมันที่ต่างกัน



ภาพที่ 42 ค่า  $L^*$  ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองและมะพร้าวเป็นเฟสน้ำมัน



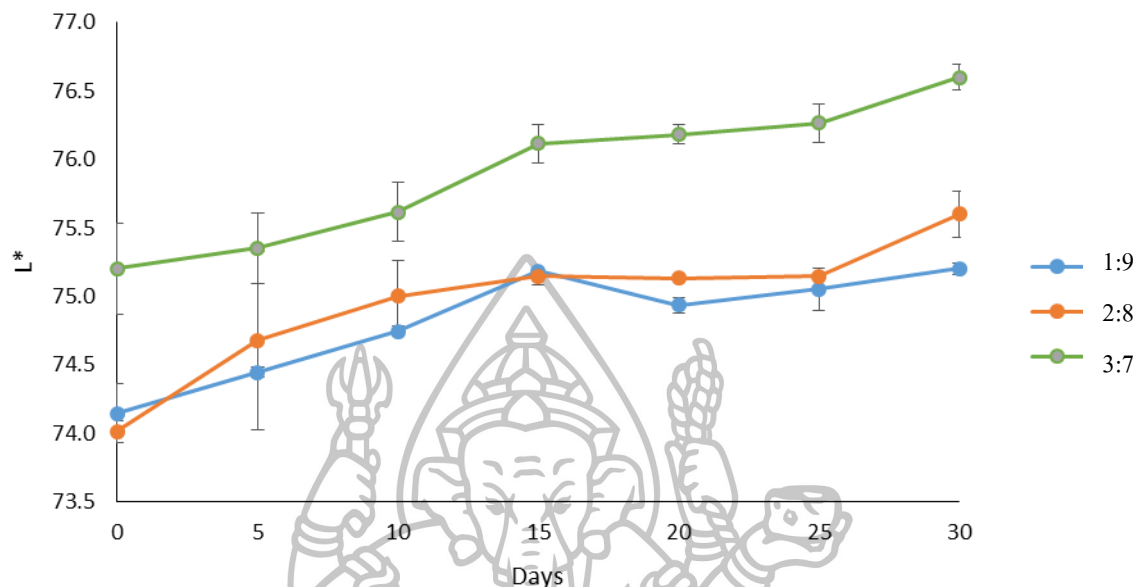
ภาพที่ 43 ค่า  $a^*$  ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองและมะพร้าวเป็นเฟสน้ำมัน



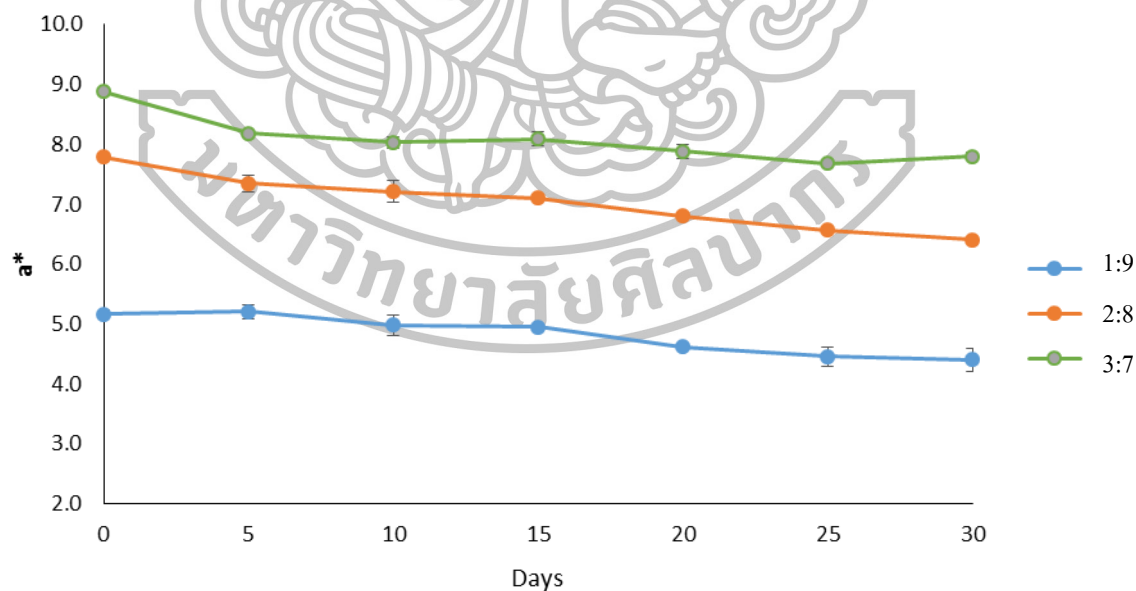
ภาพที่ 44 ค่าสี b\* ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันถั่วเหลืองและมะพร้าวเป็นเฟสน้ำมัน



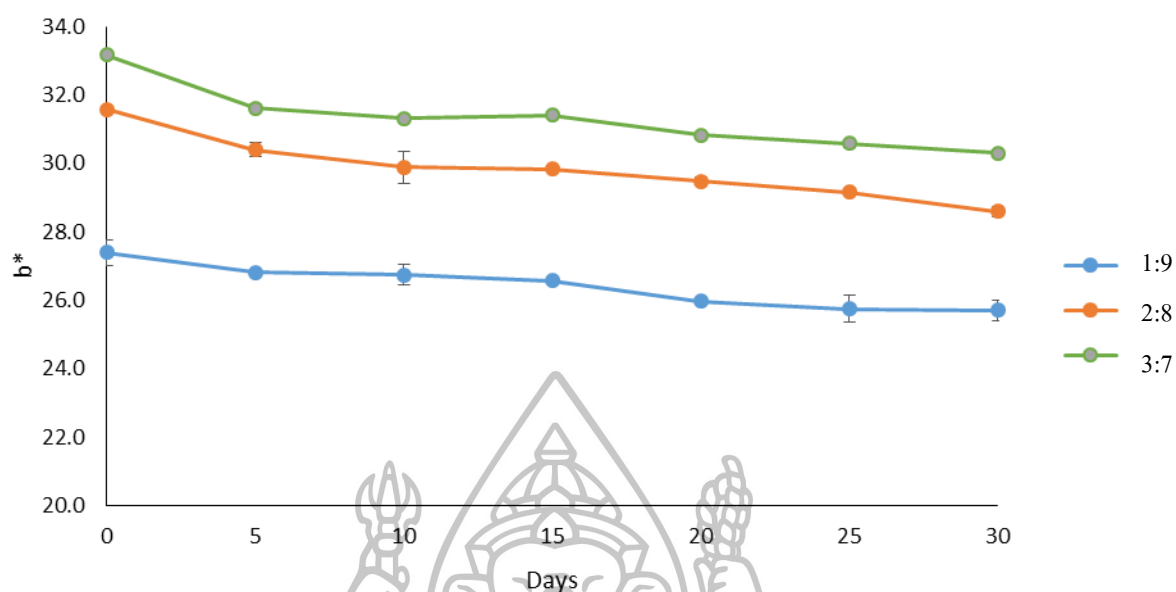
### 5. ค่าสี $L^*a^*b^*$ ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำมันและน้ำที่ต่างกัน



### ภาพที่ 45 ค่าสี $L^*$ ของอิมัลชันที่ได้จากการของอิมัลชันที่ได้จากการใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำมันและน้ำที่ต่างกัน



### ภาพที่ 46 ค่าสี $a^*$ ของอิมัลชันที่ได้จากการของอิมัลชันที่ได้จากการใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำมันและน้ำที่ต่างกัน



ภาพที่ 47 ค่าสี  $b^*$  ของอิมัลชันที่ได้จากการของอิมัลชันที่ได้จากการใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำมัน และน้ำที่ต่างกัน



**ภาคผนวก ค**  
**แสดงผลการวิเคราะห์ค่าทางเคมีทางสถิติ**

**ตารางที่ 11** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเมื่อเปรียบเทียบตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล เอธิลอะซิเตทและเอธิลอะซิเตทผสมเอทานอลในอัตราส่วน 4:3 (v/v)

ANOVA					
Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F
Model	2	5002755.268	2501377.634	233.084	< 0.0001
Error	6	64389.872	10731.645		
Corrected Total	8	5067145.140			

Computed against model Y=Mean(Y)

**ตารางที่ 12** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละประสิทธิภาพการสกัดเมื่อเปรียบเทียบตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล เอธิลอะซิเตทและเอธิลอะซิเตทผสมเอทานอลในอัตราส่วน 4:3 (v/v)

ANOVA					
Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F
Model	2	3302.268	1651.134	233.084	< 0.0001
Error	6	42.503	7.084		
Corrected Total	8	3344.771			

**ตารางที่ 13** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีของสารสกัดแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากเนื้อตาลก่อนการนำไปประเหย (L\*a\*b\*)

ANOVA						
	Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F
L*	Model	3	181.337	60.446	2417.830	< 0.0001
	Error	5	0.125	0.025		
	Corrected Total	8	181.462			
a*	Model	3	80.417	26.806	2978.416	< 0.0001
	Error	5	0.045	0.009		
	Corrected Total	8	80.462			
b*	Model	3	2291.484	763.828	902.514	< 0.0001
	Error	5	4.232	0.846		
	Corrected Total	8	2295.716			

**ตารางที่ 14** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเมื่อเปรียบเทียบตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล เอธิลอะซิเตทและเอธิลอะซิเตทผสมเอทานอลในอัตราส่วน 4:3 (v/v) เมื่อใช้อุณหภูมิในการอบเนื้อตาลก่อนนำมาสกัดที่ 40 50 และ 60 องศาเซลเซียส

ANOVA						
	Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F
	Model	11	21765833.138	1978712.103	257.911	< 0.0001
	Error	24	184129.872	7672.078		
	Corrected Total	35	21949963.010			

ตารางที่ 15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้  
สตาร์ชคัดแปร OSA1

ANOVA

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F
Model	4	6766.575	1691.644	357.436	< 0.0001
Error	10	47.327	4.733		
Corrected Total	14	6813.903			

ตารางที่ 16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้  
สตาร์ชคัดแปร OSA2

ANOVA

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F
Model	4	7805.606	1951.402	131.934	< 0.0001
Error	10	147.908	14.791		
Corrected Total	14	7953.514			

ตารางที่ 17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้  
เวย์โปรตีนไอโซเลท

ANOVA

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F
Model	4	6188.477	1547.119	860.725	< 0.0001
Error	10	17.975	1.797		
Corrected Total	14	6206.451			

**ตารางที่ 18** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้  
สตาร์ชตัดแปร OSA1, OSA2 และเวย์โปรตีนไอโซเลท

ANOVA

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F
Model	5	30860.547	2204.325	310.163	< 0.0001
Error	24	213.209	7.107		
Corrected Total	29	31073.756			

**ตารางที่ 19** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จาก  
การใช้น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะพร้าว

ANOVA

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F
Model	1	161.733	161.733	5.055	0.088
Error	4	127.986	31.996		
Corrected Total	5	289.719			

**ตารางที่ 20** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการกักเก็บแคโรทีนอยด์ของอิมัลชันที่ได้จากการใช้  
อัตราส่วนเฟสน้ำมันต่อเฟสน้ำที่ 1:9 2:8 และ 3:7

ANOVA

Source	DF	Sum of squares	Mean squares	F	Pr > F
Model	2	18.857	9.429	5.378	0.046
Error	6	10.520	1.753		
Corrected Total	8	29.377			



## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – สกุล นางสาวไอลดา ปิงสุแสน  
 ที่อยู่ 3 หมู่ 4 ตำบลสบบง ถนนพิศาล อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา  
 ประวัติการศึกษา  
 พ.ศ. 2556 สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร  
 มหาวิทยาลัยศิลปากร อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม  
 พ.ศ. 2557 ศึกษาต่อระดับปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีอาหาร  
 มหาวิทยาลัยศิลปากร อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม

## ผลงานทางวิชาการ

- Pingsusaen, I. and Leejeerajumnean, A. Effect of banana ripeness and water activity during drying on the sensory acceptance of dried bananas. Proceedings of the Food Innovation Asia Conference 2015; 18-19 June 2015; BITEC. Bangkok. Thailand.
- Pingsusaen, I. and Leejeerajumnean, A. Effects of drying and solvent extraction on the carotenoid content from palmyra pulp. Proceedings of the 9<sup>th</sup> Silpakorn university international conference on academic research and creative arts : integration of art and science; 11-21 February 2016; Silpakorn University. Nakhon pathom. Thailand.

