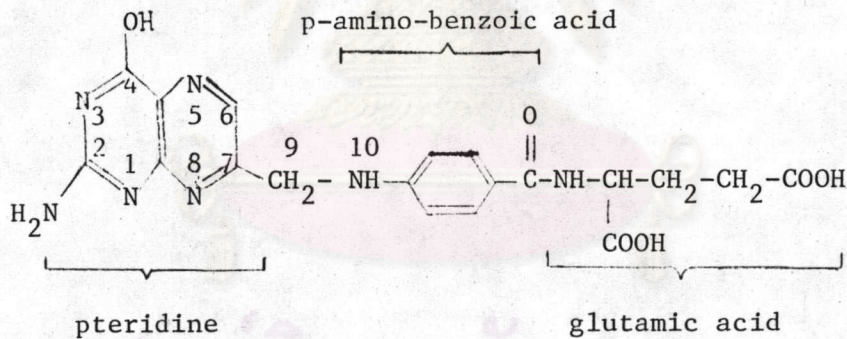




2.1 กรดโฟลิก

กรดโฟลิก เป็นอนุพันธ์รูปหนึ่งของโฟลาซินที่จัดอยู่ในวิตามินบีรวม เป็นวิตามินที่ละลายน้ำได้ พบในอาหารและสังเคราะห์ขึ้นได้ง่ายในทางเคมี โฟลาซิน หรือ โฟเลท (folate) แต่เดิมมีชื่อเรียกหลายชื่อ เช่น วิตามิน M, factor U, วิตามิน B<sub>C</sub> และ Lactobacillus casei factor โครงสร้างของกรดโฟลิกเป็น basic structural unit ของสารในกลุ่มโฟลาซิน ซึ่งประกอบด้วย 3 ส่วน คือ pteridine, p-amino-benzoic acid และ glutamic acid ดังแสดงในรูปที่ 2.1 (Guthrie, 1975, Rodriguez 1978)



รูปที่ 2.1 สูตรโครงสร้างของกรดโฟลิก (C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub>, MW.= 441.41)

ชื่อของกรดโฟลิกตามระบบ IUPAC (The International Union of Pure and Applied Chemistry) คือ pteroylglutamic acid โฟลาซินมีอนุพันธ์หลายรูป อนุพันธ์เหล่านี้จะแตกต่างกันที่จำนวน glutamate residues มีผู้ประมาณไว้ว่ามีได้ถึง 150 รูปถ้ามี glutamate residues ไม่เกิน 6 residues กรดโฟลิกจัดเป็น monoglutamate folate แต่ถ้าเติม glutamate residues เข้าไปในโมเลกุลของกรดโฟลิก



ก็จะเป็น polyglutamate folate ซึ่งเป็นโฟลาซินที่มีโมเลกุลยาว นอกจากนี้ โฟลาซิน  
 ยังอาจแบ่งเป็น oxidized folacin กับ reduced folacin กรดโฟลิกจัดเป็น  
 oxidized folacin ถ้า N ตำแหน่งที่ 5 ของกรดโฟลิกถูก reduced ก็จะถูกกลาย  
 เป็น reduced folacin (Rodriguez, 1978) ปัจจุบันสามารถแยกอนุพันธ์ของโฟลาซิน  
 ได้ถึง 30 รูปแล้ว (Tannenbaum, 1979)

โฟลาซินที่พบในอาหารอาจแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ free folate (เป็น  
 monoglutamate.) กับ bound folate (เป็น polyglutamate) ส่วนใหญ่เป็น  
 reduced folacin และมี methyl group หรือ formyl group เกาะอยู่ที่ N  
 ตำแหน่งที่ 5 หรือ 10 free folate สามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ทันที แต่  
 bound folate ต้องถูกย่อยโดยเอนไซม์ conjugase จากลำไส้เล็กกลายเป็น  
 monoglutamate folate ก่อน จึงดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ โฟลาซินที่เข้าสู่ร่างกายจะมี  
 บทบาทเกี่ยวข้องกับการสร้างเซลล์ใหม่ กระบวนการสร้างฮีโมโกลบินและเซลล์เม็ดเลือดแดง  
 (Guthrie, 1975, Wilson และคณะ, 1979) ความต้องการโฟลาซินจะแตกต่างกัน  
 ตามวัยและสภาวะ ในเด็กทารกต้องการโฟลาซินวันละ 30-45 ไมโครกรัม ผู้ใหญ่ทั้งชายและ  
 หญิงต้องการวันละ 400 ไมโครกรัม ในหญิงตั้งครรภ์ต้องการวันละ 600 ไมโครกรัม และ  
 ในหญิงมีครรภ์ต้องการเพิ่มขึ้นเป็นวันละ 800 ไมโครกรัม (Food and Nutrition Board,  
 1980)

ในจุลินทรีย์และพวกสัตว์กระเพาะเดี่ยวรวมทั้งมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์กรดโฟลิก  
 ได้เอง จึงจำเป็นต้องได้รับจากอาหาร (Food and Nutrition Board, 1980) อาหาร  
 ซึ่งเป็นแหล่งของโฟลาซินได้แก่ ยีสต์ (4,090 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม) ตับ (219  
 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม) ผักใบเขียว เช่น ผักขม (193 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม)  
 ในผลไม้มีมากในส้ม (46 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม) มะเขือเทศ (39 ไมโครกรัมต่อ 100  
 กรัม) แต่ในอาหารพวกเนื้อและนมมีโฟลาซินน้อย (Perloff และคณะ, 1977)  
 ร่างกายสามารถใช้โฟลาซินในอาหารซึ่งอยู่ในอนุพันธ์รูปต่าง ๆ ได้ถ้า subunit คือ กรดโฟลิก  
 ยังไม่ถูกทำลาย แต่ถ้ากรดโฟลิกสลายตัวเป็น pteridine, p-amino-benzoic acid



และ glutamic acid คุณค่าทางอาหารของกรดโฟลิกก็จะสูญเสียไป (Food and Nutrition Board, 1980)

ในการศึกษาเกี่ยวกับกรดโฟลิกมีข้อจำกัดบางอย่าง เนื่องจากปัญหาในการวิเคราะห์หาปริมาณและการแยกศึกษาโฟลาซินแต่ละรูปที่พบในอาหาร ทำให้ข้อมูลบางอย่างยังมีน้อย เช่น ตัวเลขแสดงปริมาณโฟลาซินในอาหาร (Perolff, 1977, Rodriguez, 1978) โดยเฉพาะตัวเลขที่บอกถึงปริมาณโฟลาซินแต่ละรูปที่มีอยู่ในอาหาร ปัจจุบันมีผู้สังเคราะห์อนุพันธ์ของโฟลาซินบางตัวที่เป็น polyglutamates จึงมีข้อมูลเกี่ยวกับโฟลาซินในอาหารต่าง ๆ เพิ่มขึ้น (Food and Nutrition Board, 1980) และมีผู้ใช้ HPLC แยกหาอนุพันธ์ของโฟลาซินในอาหารหลายชนิด เช่น นมข้น นมผง ถั่วลิสง (Clifford และ Clifford, 1977) ตับวัว (Day และ Gregory, 1981) ตับหมู กะหล่ำปลี นม และน้ำส้ม (Gregory และคณะ, 1984)

#### 2.1.1 การวิเคราะห์หาปริมาณของกรดโฟลิก

ในการหาปริมาณโฟลาซินในอาหารแต่ละชนิด และการแยกศึกษาโฟลาซินแต่ละรูปในอาหารมีปัญหายุ่งยาก เนื่องจากโฟลาซินที่พบในอาหารมีปริมาณน้อยและยังมีอยู่ด้วยกันหลายรูป โฟลาซินแต่ละรูปมีการเปลี่ยนแปลงและการสลายตัว เนื่องจากความร้อน แสง ออกซิเจน และ pH แตกต่างกัน นักวิทยาศาสตร์ได้พยายามปรับปรุงวิธีเดิม และพัฒนาวิธีใหม่เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์ที่ดีและคลาดเคลื่อนน้อยที่สุด วิธีวิเคราะห์หาปริมาณกรดโฟลิกที่มีผู้ทดลองทำกันมามีหลายวิธี เช่น วิธีทางเคมี (Chemical method) วิธีทางจุลชีววิทยา (Microbiological assay) (Association of Vitamin Chemists, 1966) วิธีทางโครมาโตกราฟี (Chromatographic method) (Reed และ Archer, 1967, Clifford และ Clifford, 1977, Allen และ Newman, 1980, Day และ Gregory, 1981 )

วิธีทางเคมีให้ผลการทดลองที่คลาดเคลื่อนมาก sensitivity ไม่ดี จึงไม่นิยมใช้ (Rodriguez, 1978) วิธีที่นิยมใช้มานานและได้ปรับปรุงให้ดีขึ้น คือ วิธีทางจุลชีววิทยา โดยใช้เชื้อ Lactobacillus casei ซึ่งเป็นเชื้อที่ใช้อุพันธ์โฟลาซินเป็นอาหารได้หลายรูป



วิธีนี้ sensitivity ดี แต่การวิเคราะห์ต้องใช้เวลาและต้องระมัดระวังหลายขั้นตอน ทำให้มีโอกาสผิดพลาดได้ง่าย ผลที่ได้มักขาดความแม่นยำ วิธีนี้จะหาปริมาณโฟลาซินออกมาในรูปของโฟลาซินทั้งหมด (total folacin) แต่จะหาปริมาณโฟลาซินแต่ละรูปในอาหารไม่ได้ (Perry และ Chanarin, 1968) ปัจจุบันยังพบอีกว่าวิธีนี้มีปัญหาเนื่องจาก growth response ของเชื้อ L. casei ที่มีต่อโฟลาซินแต่ละรูปไม่เท่ากันจึงจำเป็นต้องพัฒนาวิธีอื่นมาใช้แทนวิธีนี้ (Reingold และ Picciano, 1982) ได้มีการใช้ Paper, Thin-layer และ Ion-exchange chromatography พบว่า ไม่สามารถแยกโฟลาซินแต่ละรูปได้และใช้เวลา (Day และ Gregory, 1981) ตั้งแต่ปี 1976 เป็นต้นมา นักวิจัยได้หันมาใช้ HPLC วิเคราะห์หาปริมาณของโฟลาซิน โดยใช้วิธีแยกโฟลาซินจากสารผสมต่าง ๆ กัน เช่น ใช้ anion exchange (Reed และ Archer, 1976, Clifford และ Clifford, 1977, Chapman และคณะ, 1978) paired-ion reverse-phase (Branfman และ Mc.Comish, 1978, Allen และ Newman, 1980, Reingold และคณะ, 1980, Reingold และ Picciano, 1982) และ reverse-phase (Day และ Gregory, 1981, Gregory และคณะ, 1982) ซึ่งการใช้ HPLC เพื่อหาปริมาณโฟลาซินทั้งหมดในอาหารจำเป็นต้องเปลี่ยนโฟลาซินในอาหารให้อยู่ในรูป monoglutamate folate ก่อน โดยใช้เอนไซม์ conjugase ดังเช่นวิธีของ Clifford และ Clifford, (1977), Day และ Gregory (1981), Reingold และ Picciano (1982), Gregory และคณะ, (1984) แม้ว่าจะมีการพัฒนาระบบ HPLC จนสามารถแยก polyglutamate folate ได้บ้างรูปแล้ว (Bush และคณะ, 1979, Shane, 1982) แต่ก็ยังมี polyglutamate folate อีกหลายรูปที่พบในอาหารและยังไม่สามารถแยกหาปริมาณได้ นอกจากนี้การใช้ HPLC เพื่อแยกและหาปริมาณโฟลาซินรูปต่าง ๆ ในอาหารชนิดหนึ่ง ๆ จะนำไปใช้กับอาหารทุกชนิดไม่ได้ และจำเป็นต้องมีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณโฟลาซินในอาหารแต่ละชนิดด้วย HPLC ต่อไป (Day และ Gregory, 1981, Gregory และคณะ, 1982)

ในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้วิธีวิเคราะห์หาปริมาณกรดโฟลิกด้วย HPLC โดยใช้วิธีแยกแบบ paired-ion reverse-phase ตามวิธีของ Allen และ Newman (1980) เพราะสามารถแยกหาปริมาณกรดโฟลิกได้รวดเร็วกว่าวิธีอื่น และมี sensitivity ในการแยกกรดโฟลิกดีกว่าวิธีของ Branfman และ Mc.Comish (1978) ซึ่งสามารถแยกได้รวดเร็ว



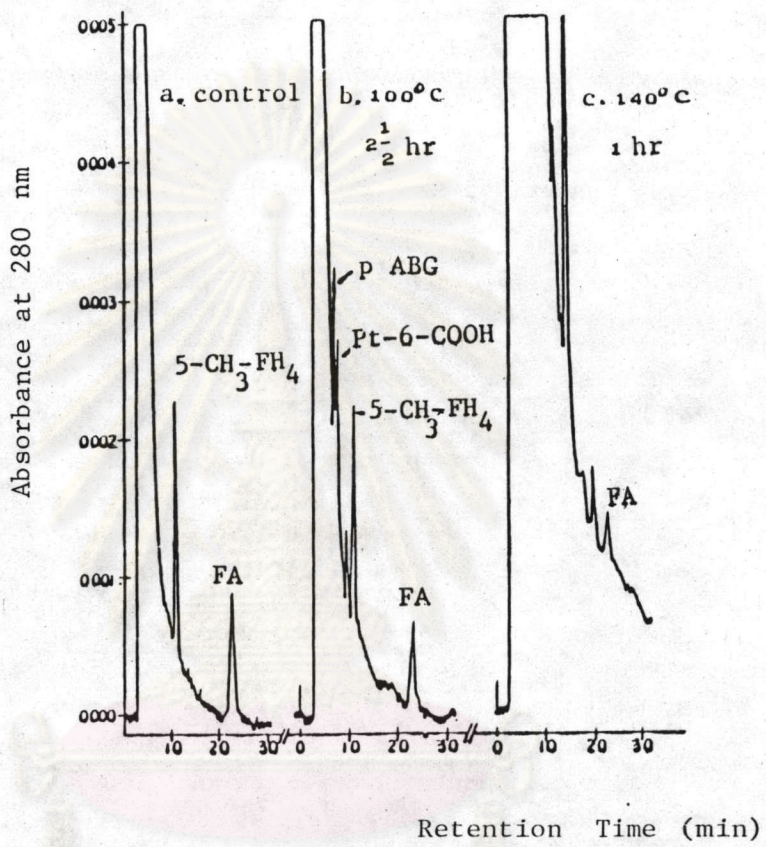
เท่ากับโดยใช้วิธีแยกแยะเดียวกันแต่ใช้ชนิดและความยาวของ column ต่างกัน วิธีของ Allen และ Newman (1980) นี้ได้พัฒนาขึ้นสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณโฟลาซินที่เป็น monoglutamate โดยเฉพาะ เช่น กรดโฟลิก (FA) และ 5-methyltetrahydrofolic acid (5-Methyl.FH<sub>4</sub>) รวมทั้ง p-amino-benzoyl glutamic acid (pABG) ซึ่งเป็น degradation product ของโฟลาซิน จึงเหมาะสมที่จะเลือกมาใช้ในงานวิจัยนี้ ซึ่งต้องการวิเคราะห์หาปริมาณโฟลาซินในรูปของกรดโฟลิกเพียงอย่างเดียว

### 2.1.2 ผลที่ได้จากการสลายตัวของกรดโฟลิก

กรดโฟลิกจะถูกแยกออกที่ตำแหน่ง C-9 กับ N-10 โดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน กลายเป็น สารใหม่ที่ไม่แสดงสมบัติของสารอาหารเดิม (Stokstad และคณะ, 1984) การสลายตัวของกรดโฟลิกเช่นนี้ ทำให้คุณค่าทางอาหารสูญเสียไป (Food and Nutrition Board, 1980) Herbert (1968) ได้สรุปว่า โฟลาซินประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ในอาหารได้สลายตัวไปเนื่องจากออกซิเดชันในระหว่างการให้ความร้อน Day และ Gregory (1983) ได้ศึกษาการสลายตัวของโฟลาซินจากอนุพันธ์ 2 รูป คือ 5-Methyl.FH<sub>4</sub> กับกรดโฟลิกใน model food system ซึ่งประกอบด้วย D(+) lactose (7 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) กับ potassium caseinate (1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ใน potassium phosphate pH 7.0 นำไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 100 และ 140 องศาเซลเซียส เป็นเวลา  $2\frac{1}{2}$  ชั่วโมง และ 1 ชั่วโมง ตามลำดับ และสรุปว่ากรดโฟลิกจะสลายตัวให้สารใหม่ 2 ชนิด คือ pteridine-6-carboxylic acid (Pt-6-COOH) กับ pABG ดังโครมาโตแกรมในรูปที่ 2.2 ซึ่งกรดโฟลิกจะมีความสูง peak ลดลงที่ 100 และ 140 องศาเซลเซียส ในขณะที่ peak ของสารใหม่กลับสูงขึ้น ส่วนความสูง peak ของ 5-Methyl.FH<sub>4</sub> ไม่เปลี่ยนแปลงจากการวิเคราะห์ด้วย TLC ก็พบว่า pABG มีค่า Rf = 0.94 แต่ตัวอย่างของ 5-Methyl.FH<sub>4</sub> ซึ่งผ่านความร้อนที่ 140 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ไม่ให้ผลใด ๆ ที่ตำแหน่งนั้น จึงสรุปว่า กรดโฟลิกสลายตัวเนื่องจากความร้อนได้ง่ายกว่า 5-Methyl.FH<sub>4</sub>

กลไกที่จะอธิบายการสลายตัวของกรดโฟลิกและอนุพันธ์ของโฟลาซินในระหว่างกระบวนการให้ความร้อนยังไม่ชัดเจนนัก แต่โฟลาซินจำนวนหนึ่งได้สลายตัวไปเนื่องจากความร้อน ในการพาสเจอร์ไรส์น้ำนมที่ 92 องศาเซลเซียส 2-3 วินาที Total folacin จะลดไป 12 เปอร์เซ็นต์ ถ้าต้มน้ำนม 2-3 นาที Total folacin จะลดไป 17 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าใช้น้ำหนักนมบรรจุขวดผ่านกระบวนการสเตอริไลเซชันที่ 119-120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 13-15 นาที Total folacin จะลดไปมากถึง 39 เปอร์เซ็นต์ (Tannenbaum, 1979)





รูปที่ 2.2 โครมาโตแกรมของกรดโฟลิก ซึ่งสลายตัวเนื่องจากความร้อน ที่อุณหภูมิ 100 และ 140 องศาเซลเซียส (Day และ Gregory, 1983)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## 2.2 ทฤษฎีจลนศาสตร์ (Kinetic Theory)

การให้ความร้อนในกระบวนการผลิต ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกับสารอาหาร โดยเฉพาะวิตามินหลายตัวได้สลายไปทำให้คุณค่าทางอาหารลดลง (Lund, 1977) นอกจากนี้ อุณหภูมิ ปัจจัยบางอย่างก็มีผลให้วิตามินสลายตัวเร็วขึ้น เช่น pH แสง และการเกิด ออกซิเดชัน (Hurt, 1979) การเลือกสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณภาพ เป็นที่ยอมรับและมีคุณค่าทางอาหารสูง เป็นสิ่งสำคัญ และจำเป็นต้องอาศัยข้อมูลเกี่ยวกับอัตราเร็วของการสลายตัวของสารอาหาร (Lund, 1979) ซึ่งต้องใช้ทฤษฎีจลนศาสตร์มาอธิบาย (Labuza, 1980)

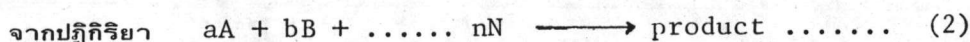
### 2.2.1 อัตราเร็วของปฏิกิริยาทางจลนศาสตร์ (Kinetic Reaction Rate)

อัตราเร็วของปฏิกิริยา (Reaction rate) คือ การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารต่อเวลา ซึ่งสามารถเขียนเป็นสมการแสดงความสัมพันธ์ได้ดังนี้

$$r_A = \frac{d c_A}{dt} = \frac{\text{จำนวนโมลของสารที่เปลี่ยนแปลงไป/ปริมาตร} \dots (1)}{\text{เวลา}}$$

จากสมการที่ 1 ถ้าเป็นผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยา อัตราเร็ว  $r_A$  ก็จะมีค่าเป็นบวก แต่ถ้าเป็นสารตั้งต้น อัตราเร็วก็จะมีค่าเป็นลบ

จาก Law of Mass Action อัตราเร็วของการสลายตัวของสารตั้งต้นที่อุณหภูมิใด ๆ จะเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับความเข้มข้นของสารตั้งต้นยกกำลังด้วยตัวเลขที่แสดงจำนวนโมลของสารตั้งต้นในปฏิกิริยานั้น ซึ่งเป็นเลขลงตัว หนึ่ง สอง หรือสาม (Levenspiel, 1972)



$$r_A = \frac{d c_A}{dt} = - k c_A^a c_B^b \dots c_N^n \dots (3)$$



- เมื่อ A, B, .... N = สารตั้งต้นของปฏิกิริยา
- a, b, .... n = จำนวนโมลของสารตั้งต้นในปฏิกิริยา
- $c_A, c_B, \dots c_N$  = ความเข้มข้นของสารตั้งต้นในปฏิกิริยา
- k = อัตราเร็วของปฏิกิริยาที่อุณหภูมิคงที่  
(Reaction rate constant)

อันดับของปฏิกิริยา (Order of Reaction) มีค่าจำกัดความว่า เป็นกำลังของความเข้มข้นของสารตั้งต้น จากสมการที่ 3 อันดับของปฏิกิริยา คือ ผลบวกของกำลังของความเข้มข้นของสารตั้งต้นทั้งหมด ซึ่งจะเท่ากับ  $a + b + \dots + n$  ค่าอันดับของปฏิกิริยาอาจเป็น เลขจำนวนเต็มหรือ เลข เศษส่วนก็ได้ (Levenspiel, 1972)

สำหรับการสลายตัวของสารอาหารชนิดใดชนิดหนึ่งที่เนื่องจากปัจจัยต่าง ๆ เช่น ความร้อน แสง pH และออกซิเจน จะมีอัตราเร็วของการสลายตัวซึ่งเขียนแทนด้วยสมการทั่วไปได้ดังนี้

$$\frac{d c_A}{dt} = - k c_A^n \dots\dots\dots (4)$$

- เมื่อ  $c_A$  = ความเข้มข้นของสาร A
- n = อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัว

จากสมการที่ 4 เขียนใหม่ได้เป็น

$$c_A^{1-n} - c_{A_0}^{1-n} = (n-1) kt \text{ เมื่อ } n \neq 1 \dots\dots\dots (5)$$

ถ้าปฏิกิริยาการสลายตัวของสารอาหารดำเนินตามปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง

$$\ln \frac{c_A}{c_{A_0}} = - kt \text{ เมื่อ } n = 1 \dots\dots\dots (6)$$



เมื่อ  $c_{A_0}$  = ความเข้มข้นของสารอาหาร A ที่เวลาเริ่มต้น

$c_A$  = ความเข้มข้นของสารอาหาร A ที่เวลา t

จากสมการที่ 6 เมื่อพลอต  $\ln c_A$  กับ เวลา t จะได้กราฟเส้นตรงที่มีความชันเท่ากับ  $-k$  และมีจุดตัดบนแกนตั้งที่  $\ln c_{A_0}$

ในทำนองเดียวกันถ้าปฏิกิริยาการสลายตัวของสารอาหารดำเนินตามปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (Zero order reaction) จากสมการ 5 เมื่อ  $n = 0$  จะได้

$$c_A - c_{A_0} = -kt \quad \dots\dots\dots (7)$$

เมื่อพลอตกราฟระหว่าง  $c_A$  กับ เวลา t จะได้กราฟเส้นตรงมีความชันเท่ากับ  $-k$  และมีจุดตัดบนแกนตั้งที่  $c_{A_0}$

ในทำนองเดียวกันถ้าปฏิกิริยาการสลายตัวของสารอาหารดำเนินตามปฏิกิริยาอันดับสอง (Second order reaction) จากสมการ 5 จะได้

$$\frac{1}{c_A} - \frac{1}{c_{A_0}} = kt \quad \dots\dots\dots (8)$$

เมื่อพลอตกราฟระหว่าง  $\frac{1}{c_A}$  กับ เวลา t จะได้กราฟเส้นตรงมีความชันเท่ากับ  $k$  และมีจุดตัดบนแกนตั้งที่  $1/c_{A_0}$

สำหรับปฏิกิริยาอันดับศูนย์ อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของสารตั้งต้น เมื่อสารตั้งต้นมีความเข้มข้นสูง ถ้าความเข้มข้นของสารตั้งต้นลดลง อัตราเร็วของปฏิกิริยาก็จะขึ้นกับความเข้มข้น แสดงว่า อันดับของปฏิกิริยาก็จะเริ่มสูงขึ้นด้วย (Garrett, 1956)

#### 2.2.2 ผลของอุณหภูมิต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยา

อัตราเร็วของการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยา ( $r_A$ ) สามารถอธิบายในรูปของฟังก์ชันที่ขึ้นกับอุณหภูมิและองค์ประกอบ (Levenspiel, 1972)

$$r_A = f_1 (\text{อุณหภูมิ}) f_2 (\text{องค์ประกอบ})$$





โดยฟังก์ชันที่ขึ้นกับอุณหภูมิก็คือ อัตราเร็วของปฏิกิริยาที่อุณหภูมิกงที่ (Reaction rate constant) ซึ่งพบว่าสามารถอธิบายได้จากสูตรของ Arrhenius ดังนี้

$$k = Ae^{-E_a/RT} \dots\dots\dots (9)$$

เมื่อ A = แฟคเตอร์แห่งความถี่ (Frequency factor)

$E_a$  = พลังงานแอกติเวชัน (Activation energy)

R = ค่าคงที่ของก๊าซ (Gas constant)

T = อุณหภูมิสัมบูรณ์ (Absolute temperature)

จากสมการที่ 9 เขียนใหม่ได้เป็น

$$\ln k = \ln A - E_a/RT \dots\dots\dots (10)$$

เมื่อพลอตระหว่าง  $\ln k$  กับ  $\frac{1}{T}$  จะได้กราฟเส้นตรงที่มีความชัน =  $-E_a/R$

### 2.2.3 ผลของตัวแปรอื่นต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยา

อัตราเร็วของปฏิกิริยานอกจากขึ้นกับอุณหภูมิแล้ว ยังขึ้นกับตัวแปรอื่น ๆ เช่น แสง แหล่งที่ให้ความร้อน ความเป็นกรดและด่าง ปริมาณออกซิเจน ความชื้น water activity ปริมาณ trace elements เช่น เหล็ก ทองแดง และ เอนไซม์ เป็นต้น (Labuza, 1972) Lee และคณะ (1977) ได้ใช้ least square technique สร้างสมการเพื่ออธิบายผลของ pH และปริมาณความชื้น ต่อ อัตราเร็วของปฏิกิริยาที่อุณหภูมิกงที่ ของ วิตามินซีในน้ำมะ เชื้อ เทส

### 2.3 ข้อมูลทางจลศาสตร์และข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัวของกรดโฟลิก

การเปลี่ยนแปลงของกรดโฟลิกระหว่างการให้ความร้อนในกระบวนการผลิตขึ้นกับ ปัจจัยหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิ กับ เวลา (Garrett, 1956, Connor และ Keagy, 1981) pH และ buffer ion (Dick และคณะ, 1948, O'Broin และคณะ 1975,



Paine - Wilson และ Chen, 1979, Mnkeni และ Beveridge, 1982, Day และ Gregory, 1983) โลหะบางชนิด เช่น เหล็ก และสารพวก antioxidant เช่น ascorbic acid (Day และ Gregory, 1983)

Dick และคณะ (1948) ได้สรุปว่ากรดโฟลิกจะถูกทำลายมากขึ้น เมื่อ pH ลดต่ำลง โดยถูกทำลายไป 50, 20 และ 5-10 เปอร์เซ็นต์ ที่ pH 1.0, 3.0 และ 4.0 ตามลำดับ ที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

Garrett (1956) ได้ศึกษาการสลายตัวของกรดโฟลิกในวิตามินรวม ที่ช่วงอุณหภูมิ 50-70 องศาเซลเซียส pH 3.2 ให้ค่า  $E_a = 16.8 \text{ kcal mole}^{-1}$

O'Broin และคณะ (1975) ได้ทดลองให้ผลสอดคล้องกัน คือ กรดโฟลิกจะสลายตัวมากขึ้นที่ pH ต่ำกว่า 5.0 แต่ค่อนข้างอยู่ตัวที่ pH 5.0 - 12.0 โดยปฏิกิริยาการสลายตัวอาจอธิบายได้ด้วยปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง

Paine - Wilson และ Chen (1979) ได้ศึกษาผลของ pH ที่มีต่อการสลายตัวของกรดโฟลิก ที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง พบว่าที่ pH 5.0 - 11.0 กรดโฟลิกจะสลายตัวช้ากว่าที่ pH ต่ำกว่า 5.0 ปฏิกิริยาการสลายตัวอาจอธิบายได้ด้วยปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง โดยให้ค่า  $k$  และ half life ( $t_{1/2}$ ) ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ศูนย์วิทยพัชกร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางที่ 2.1 ผลของ pH ที่มีต่อค่า k และ  $t_{1/2}$  ของกรดฟิสิก ที่ 100

องศาเซลเซียส

เอกสารอ้างอิง	pH	k (hr <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (hr)
Paine - Wilson และ Chen, 1979	1.1	0.470	1.5
	2.0	0.397	1.7
	2.6	0.079	8.8
	3.0	0.069	10.00
	4.0	0.031	22.4
	5.0	0.010	69.3
	6.0	0.006	115.5
	7.0	0.006	-
	8.0	0.007	99.0
	9.0	0.008	86.6
	10.0	0.019	36.5
	11.0	0.001	693.0
12.0	0.011	63.0	

Mnkeni และ Beveridge (1982) ได้ศึกษาการสลายตัวของกรดฟิสิก  
ใน citrate buffer ที่ pH 3.0-6.0 ในน้ำแอมเปิล pH 3.4 และในน้ำ  
มะเขือเทศกระป๋อง pH 4.3 โดยใช้ช่วงอุณหภูมิ 100-140 องศาเซลเซียส พบว่าปฏิกิริยา  
การสลายตัวของกรดฟิสิกอธิบายได้ด้วยปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ให้ค่า k และ  $E_a$  ดังแสดงใน



ตารางที่ 2.2 และ 2.3 โดยค่า  $k$  ของน้ำแอปเปิลและน้ำมะเขือเทศกระป๋องไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p = 0.05$ ) และค่า  $E_a$  ของน้ำผลไม้ทั้งสองชนิดนี้มีค่าใกล้เคียงกับค่า  $E_a$  ของกรดโฟลิก ใน citrate buffer ที่ pH 3.0-4.0

ตารางที่ 2.2 ค่า  $k$  และ  $E_a$  ของกรดโฟลิกใน citrate buffer ที่ pH 3.0-6.0

เอกสารอ้างอิง	ตัวอย่าง	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	$k$ ( $\text{hr}^{-1}$ )			
			pH 3.0	pH 4.0	pH 5.0	pH 6.0
Mnkeni และ Beveridge, 1982	folic acid (Pteroylglu- tamic acid)	100	0.145	0.074	0.021	0.015
		110	0.293	0.128	0.031	0.026
		121	0.744	0.234	0.053	0.049
		130	1.66	0.580	0.112	0.076
		140	2.36	0.840	0.207	0.133
		$E_a$ kcal/mole	22.6	19.5	17.8	16.8

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางที่ 2.3 ค่า  $k$  และ  $E_a$  ของกรดโฟลิกในน้ำแอปเปิล (pH 3.4) กับน้ำมะเขือเทศ (pH 4.3)

เอกสารอ้างอิง	ตัวอย่าง	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	$k$ ( $hr^{-1}$ )	$E_a$ (kcal/mole)
Mnkeni และ Beveridge, 1982	น้ำแอปเปิล (pH 3.4)	100	0.063	20.0
		110	0.121	
		121	0.281	
		130	0.475	
		140	0.822	
	น้ำมะเขือเทศ- กระป๋อง (pH 4.3)	100	0.056	19.7
		110	0.104	
		121	0.205	
		130	0.394	
		140	0.723	

Day และ Gregory (1983) ได้ทดลองการสลายตัวของกรดโฟลิกในสารผสมระหว่าง D (+) Lactose 7 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร กับ Potassium caseinate 15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใน citrate-phosphate buffer (pH 7.0) แต่ข้อมูลไม่เพียงพอจึงไม่ได้สรุปว่าปฏิกิริยาการสลายตัวเป็นอย่างไร คาดว่าน่าจะเป็นปฏิกิริยาอันดับสอง นอกจากนี้ยังศึกษาผลของเหล็กในรูปของ Ferrous sulphate heptahydrate และผลของ Ascorbate ในรูปของ Sodium ascorbate พบว่าสารสองตัวนี้ทำให้กรดโฟลิกสลายตัวช้าลง เมื่อได้รับความร้อน