บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

2.1 สีของเนื้อ (colour of meat)

เนื่องจากโครงสร้างเซลล์เมมเบรนของเนื้อสัตว์มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวและฟอสโฟลิปิดเป็นองค์ประกอบอยู่มาก จึงทำให้เนื้อสัตว์ถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย และผนังเซลล์ถูกทำลาย คุณสมบัติการผ่านเข้า-ออกของสาร (permeability) เสียไป ลักษณะดังกล่าวจะมีผลกระทบต่อคุณภาพเนื้อและคุณภาพซาก เช่น การสูญเสียน้ำของเนื้อ (drip loss) หรือการทำให้เนื้อมีสีซีดลดลง (Warriss, 2000)

สีของเนื้อเกิดจากสารสีในกล้ามเนื้อ (haem proteins) แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ ไมโอโกลบิน (myoglobin) และฮีโมโกลบิน (haemoglobin) ในเซลล์กล้ามเนื้อและเซลล์เนื้อเยื่ออื่นๆ ของสัตว์จะมีไมโอโกลบินอยู่ประมาณ 80-90% ซึ่งทำหน้าที่รับออกซิเจนจากฮีโมโกลบินมาเก็บไว้ที่เซลล์ เพื่อใช้ในขบวนการเมตาบอลิซึม (Hutchings, 1994) ไมโอโกลบินเป็นโปรตีนที่มีโครงสร้างแบบตติยภูมิ (tertiary structure) ไมโอโกลบิน 1 โมเลกุล ประกอบด้วยฮีม 1 โมเลกุลและโกลบิน 1 โมเลกุลโดยที่มีธาตุเหล็กอยู่ตรงกลางโมเลกุลของฮีม (Murray *et al.*, 1996; Voet and Voet, 1995) แสดงใน Figure 3 (Hutchings, 1994) สีของไมโอโกลบิน คือ สีม่วงแดง (purple red) (Lawarie, 1979) โดยทั่วไปกล้ามเนื้อที่ทำงานหนัก จะมีปริมาณไมโอโกลบินอยู่ในกล้ามเนื้อมาก ความแตกต่างของปริมาณไมโอโกลบินขึ้นอยู่กับ สปีชีส์ (species) สายพันธุ์ (breed) เพศ (sex) อายุ (age) ชนิดของกล้ามเนื้อ (Hutchings, 1994; Price and Schweigert, 1971) และการทำงาน (Lawrie, 1979) ลักษณะดังกล่าวทำให้สีของกล้ามเนื้อแตกต่างกัน เช่น สีของเนื้อวัวจะมีสีเข้มกว่าเนื้อแกะ และเนื้อสุกร ตามลำดับ (Walters, 1975) สีเนื้อสุกรปกติ คือ สีชมพูอมเทา (grayish pink) ถึงสีชมพู (Cunningham and Acker, 2001) ดังแสดงใน Figure 4 (Price and Schweigert, 1971)

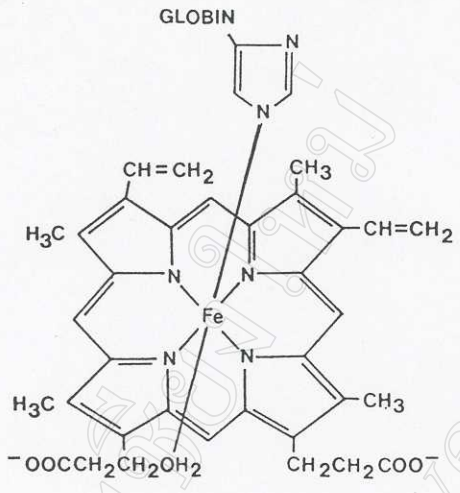

Figure 3 Structure of myoglobin (Hutchings, 1994).

Figure 4 Nature of pork colour (Price and Schweigert, 1971).

ในสภาวะปกติเมื่อเนื้อเยื่อได้รับออกซิเจน ไมโอโกลบินจะเปลี่ยนเป็นออกซีไมโอโกลบิน (oxymyoglobin) ซึ่งมีสีแดงสด (bright red) โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงสถานะของธาตุเหล็ก ส่วนเมทไมโอโกลบิน (metmyoglobin) ซึ่งมีสีน้ำตาล (brown) เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสถานะของธาตุเหล็กในโมเลกุลของไมโอโกลบิน หรือออกซีไมโอโกลบิน จากเฟอร์รัสไอออน (ferrous ion,

Fe^{2+}) เป็นเฟอร์ริคไอออน (ferric ion, Fe^{3+}) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชั่นและรีดักชั่น (oxidation and reduction) ของไมโอโกลบิน (Warriss, 2000) การเกิดลิปิดออกซิเดชั่นจะกระตุ้นให้ไมโอโกลบินและออกซีไมโอโกลบินเปลี่ยนเป็นเมทไมโอโกลบิน ทำให้เนื้อมีสีน้ำตาล (Sheehy, 1994) แสดงใน Figure 5 (ดัดแปลงจาก Ockerman, 1978) นอกจากนั้นไมโอโกลบินยังสามารถทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyse) ให้เกิดลิปิดออกซิเดชั่น (Morrissey *et al.*, 1998)

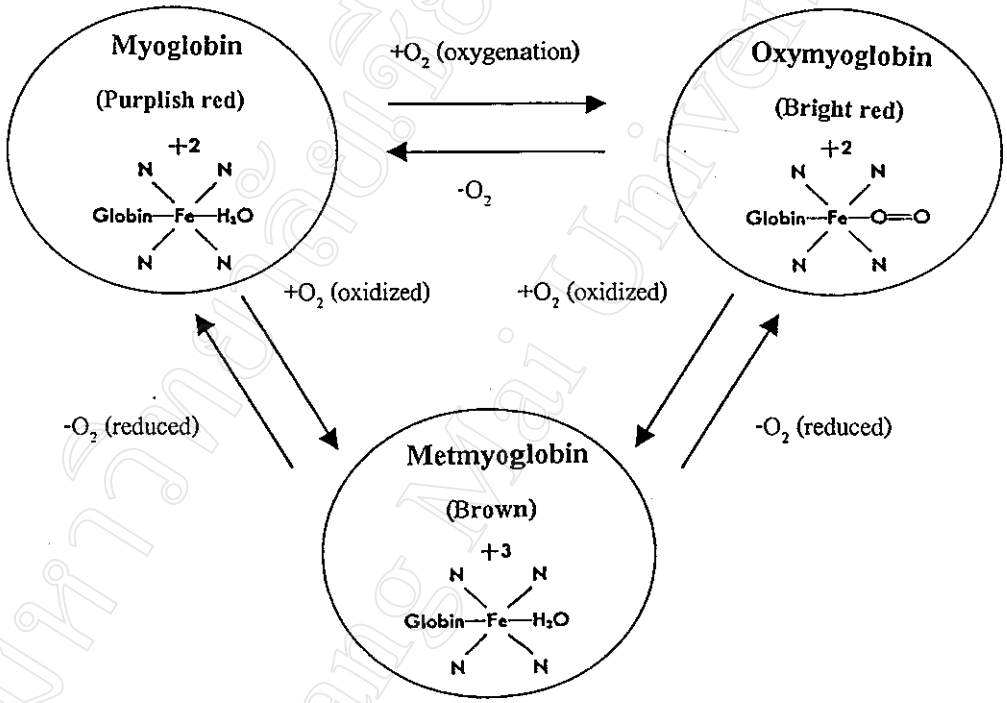

Figure 5 Discolouration of fresh meat (adapted from Ockerman, 1978).

ลักษณะภายนอก (appearance) ความหยาบละเอียดของเนื้อ (texture) และรสชาติ (flavour) เป็นสิ่งที่ผู้บริโภคใช้พิจารณาเลือกซื้อเนื้อ ลักษณะภายนอกของเนื้อเป็นสิ่งสำคัญต่อการตัดสินใจของผู้บริโภค (Lawrie, 1979) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สีของเนื้อ ซึ่งสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าและให้ความรู้สึกได้ในครั้งแรก (first impression) เมื่อมองเห็น (Renrre, 2000) ในคนและสัตว์บางชนิดสีมีความสำคัญต่อการเลือกอาหาร (Gwyther, 1993) และยังให้ความรู้สึกถึงคุณภาพในการบริโภค (Sheehy, 1994) ดังนั้นสีของเนื้อจึงเป็นสิ่งแรกที่ผู้บริโภคใช้เป็นเกณฑ์พิจารณาในการตัดสินใจเลือกซื้อเนื้อ

เนื่องจากไมโอโกลบินเป็นสารสีที่มีปริมาณมากที่สุดในเนื้อ ดังนั้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไมโอโกลบินหรือดีออกซีไมโอโกลบินจึงมีผลโดยตรงกับการเปลี่ยนแปลงสีเนื้อ การเกิดลิปิดออกซิเดชั่นของเซลล์เมมเบรนสามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาดังกล่าวได้ และนอกจากนี้ไมโอโกลบินยังทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาให้เกิดลิปิดออกซิเดชั่นได้อีกด้วย ถ้าเนื้อและผลิตภัณฑ์มีสีน้ำตาล ผู้บริโภคจะไม่ให้การยอมรับเนื้อหรือผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลกระทบโดยตรงต่อการตัดสินใจของผู้บริโภค

2.2 โครงสร้างของเซลล์เมมเบรนในกล้ามเนื้อ (structure of cell membrane in muscle)

เซลล์เมมเบรนเป็นโครงสร้างที่ซับซ้อน ประกอบด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรท และลิปิด สารดังกล่าวจะมีปริมาณแตกต่างกันทั้งภายในเซลล์และระหว่างเซลล์ ลิปิดจัดได้ว่ามีปริมาณมากที่สุด และมีการจัดเรียงตัวเป็นแบบลิปิดไบเลเยอร์ (lipid bilayer) มีกรดไขมัน (fatty acid) เป็นองค์ประกอบ ซึ่งอยู่ในรูปของฟอสโฟลิปิด (phospholipids) แสดงใน Figure 6 (Voet and Voet, 1995) กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของฟอสโฟลิปิดในเซลล์เมมเบรนและออร์แกนเนลเมมเบรน (organelle membranes) เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ซึ่งมีอยู่ปริมาณมาก (Gwyther, 1993) ในเนื้อสัตว์แต่ละชนิดจะมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวแตกต่างกัน เช่น เนื้อไก่มี 65% เนื้อสุกรมี 60% เนื้อวัวมี 55% เนื้อแกะมี 47%ของปริมาณไขมันทั้งหมด (Warriss, 2000) ลักษณะดังกล่าวจะทำให้เซลล์เมมเบรนถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายจากสารออกซิแดนท์ (oxidants) โปรออกซิแดนท์ (prooxidants) และอนุมูลอิสระ (free radicals) โดยเฉพาะอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในไซโตพลาสซึม (cytoplasm) และไมโตคอนเดรีย (mitochondria) ยกตัวอย่างเช่น ซุปเปอร์ออกไซด์แรดิคอล (superoxide radical, $O_2^{-\bullet}$) ไฮดรอกซิลแรดิคอล (hydroxyl radical $HO^{\bullet}$) เป็นต้น ซึ่งจะทำลายเซลล์เมมเบรน และกระตุ้นให้เกิดการออกซิไดซ์แบบปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ต่อไปได้ (Marks *et al.*, 1996; Murray *et al.*, 1996)

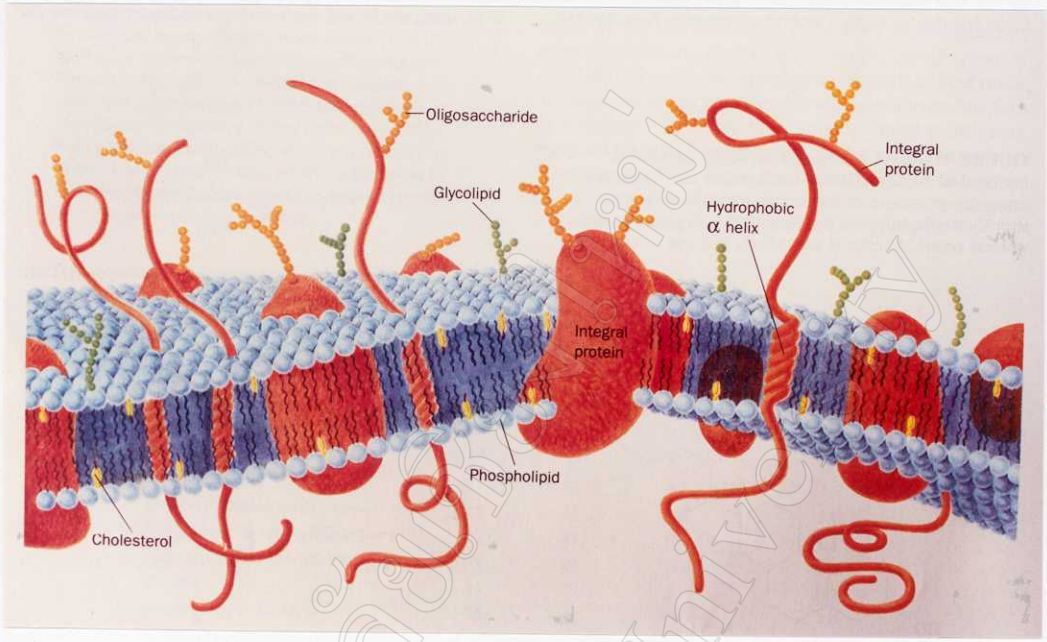

Figure 6 A schematic diagram of plasma membrane (Voet and Voet, 1995).

2.3 อนุมูลอิสระ (free radicals)

คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเลคตรอนที่อยู่รอบนอกสุดของออร์บิทอล (orbital) ซึ่งไม่ได้เข้าคู่ (unpaired electron) จำนวน 1 หรือมากกว่า 1 อิเลคตรอน (Roberfroid and Caldern, 1994) อนุมูลอิสระเกิดจากการแตกของพันธะโควาเลนท์ (covalent bond) แบบโฮโมไลติค บอนด์ ฟิชชั่น (homolytic bond fission) ของโมเลกุลที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ ทำให้โมเลกุลสูญเสียอิเลคตรอนเดี่ยว (single electron) หรือได้รับอิเลคตรอนเดี่ยวเพิ่ม ยกตัวอย่างเช่น การแตกตัวของน้ำแบบโฮโมไลติค บอนด์ ฟิชชั่น (homolytic bond fission) แสดงใน Figure 7 (Halliwell and Gutteridge, 1999) ส่วนมากโมเลกุลของอนุมูลอิสระจะมีประจุรวม (net charge) เท่ากับศูนย์ แต่ก็มีบางโมเลกุลที่ประจุรวมเป็นบวก หรือลบ ซึ่งจะเรียกว่า แรดิคอล แคทไอออน (radical cations) หรือ แรดิคอล แอนไอออน (radical anion) ตามลำดับ (Ternay and Sorokin, 1997) ลักษณะดังกล่าวบางครั้งจะทำให้เกิดการดึงดูดกันกับสนามแม่เหล็กไฟฟ้า โมเลกุลของอนุมูลอิสระไม่เสถียร และมีความว่องไวในการทำปฏิกิริยา โดยจะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นที่อยู่ข้างเคียง เพื่อให้โมเลกุลของมันเสถียรขึ้น โดยรับเอาอิเลคตรอนมาจากโมเลกุลข้างเคียง ทำให้โมเลกุลนั้นเกิดเป็นอนุมูลอิสระ และทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ ต่อไป เรียกว่าปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ซึ่งจะเกิดเป็นปฏิกิริยาที่ต่อเนื่อง (Halliwell and Gutteridge, 1999; Marks *et al.*, 1996; Roberfroid and Caldern, 1994)

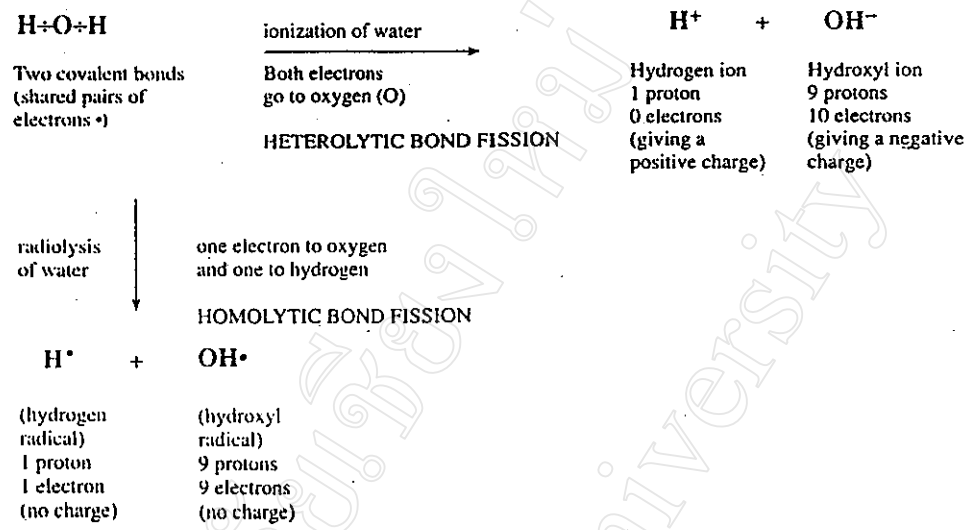

Figure 7 Homolytic bond fission of hydrogendioxide (Halliwell and Gutteridge, 1999).

ในสภาวะทั่วๆไปร่างกายมีโอกาสได้รับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายนอกร่างกาย เช่น อาหาร ยา แร่ธาตุ และแสงแดด เป็นต้น นอกจากนี้ขบวนการเมตะบอลิซึมแบบใช้ออกซิเจน (aerobic metabolism) ที่เกิดขึ้นภายในร่างกายเป็นขบวนการที่มีความสำคัญมาก แต่สามารถทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นได้เช่นเดียวกัน โดยออกซิเจนที่ร่างกายหายใจเข้าไปเพื่อใช้ในขบวนการเมตะบอลิซึมบางส่วน ประมาณ 1-5% ของออกซิเจนทั้งหมด เกิดเป็นอนุมูลอิสระ (free radical) ในขบวนการอิเลคตรอนทรานสปอร์ต (electron transport system) ได้แก่ ซุปเปอร์ออกไซด์ แรดิคอล (superoxide radicals, $O_2^{\bullet}$) และ ไฮดรอกซิล แรดิคอล (hydroxyl radical, $HO^{\bullet}$) และสารที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ แต่เป็นพิษต่อเซลล์ คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxides, H_2O_2) กลุ่มของอนุมูลอิสระนี้ เรียกว่า รีแอคทีฟออกซิเจน สปีชีส์ (reactive oxygen species) ทั้งนี้รวมถึงอนุมูลอิสระจากแหล่งอื่นๆ ที่อยู่ภายนอกร่างกาย เช่น อาหาร ยา แร่ธาตุ แสงอัลตราไวโอเลต เป็นต้น ที่ร่างกายคนและสัตว์มีโอกาสได้รับ

ในสภาวะที่ระบบป้องกันอนุมูลอิสระในร่างกายบกพร่อง และไม่ได้รับสารต้านการเกิดออกซิเดชั่นจากภายนอกร่างกาย อนุมูลอิสระที่ไม่ถูกกำจัดจะทำให้เกิดลิปิดออกซิเดชั่น (lipid oxidation) ซึ่งจะทำลายเซลล์เมมเบรน ทำให้คุณสมบัติการผ่านเข้า-ออกของสารเสียไป และยังเกิดสารประกอบที่เป็นพิษ เช่น ลิปิดเปอร์ออกไซด์ (lpid peroxides) เป็นต้น และทำให้เซลล์ตาย (Marks *et al.*, 1996) นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังสามารถทำให้เกิดโปรตีนออกซิเดชั่น (protein oxidation) ซึ่งจะก่อให้เกิดการทำลายโปรตีนเมมเบรน (protein membrane) และยังทำให้เกิดดีเอนเอออกซิเดชั่น (DNA oxidation) โดยจะทำลายเบสในโมเลกุลของดีเอนเอ ทำให้สายของดีเอนเอ

แตก (DNA strand break) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการตายของเซลล์ นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutation) และสามารถก่อให้เกิดมะเร็ง (carcinogenesis) ซึ่งทั้งหมดเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคต่างๆ เช่น โรคผนังหลอดเลือดหนาขึ้น (atherogenesis) โรคขาดเลือด (ischemia) โรคเกี่ยวกับความผิดปกติในการสร้างภูมิคุ้มกัน (autoimmune diseases) เป็นต้น (Murry *et al.*, 1996; Davies, 1995; Roberfroid and Caldern, 1994) ส่วนประโยชน์ของอนุมูลอิสระ คือ กระตุ้นเม็ดเลือดขาวให้ผลิตซูเปอร์ออกไซด์ แรดิคอล ซึ่งเป็นขบวนการหนึ่งที่ใช้สำหรับทำลายแบคทีเรีย (Murry *et al.*, 1996)

การกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นของร่างกาย มี 2 วิธี คือ โดยใช้สารต้านการเกิดออกซิเดชั่นที่ไม่ใช่เอนไซม์ที่อยู่ภายในร่างกาย (endogenous nonenzymatic antioxidatins) ได้แก่ ไวตามินอี ไวตามินซี ไวตามินเอ กลูตาไธโอน (glutathione) กรดยูริค (uric acid) และใช้สารต้านการเกิดออกซิเดชั่นที่เป็นเอนไซม์ที่อยู่ภายในร่างกาย (endogenous enzymatic antioxidatins) ได้แก่ ซุปเปอร์ออกไซด์ ดีสมิวเตส (superoxide dismutase) คะตะเลส (catalase) กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) ซึ่งทั้งสองวิธีที่กล่าวมาจะช่วยทำให้ร่างกายควบคุมและกำจัดอนุมูลอิสระได้ (Somani *et al.*, 1997) โดยที่การทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านการเกิดออกซิเดชั่นแต่ละตัวจะมีความจำเพาะต่ออนุมูลอิสระแต่ละตัวแตกต่างกัน ดังแสดงใน Table 1 (Murry *et al.*, 1996)

Table 1 Reactive oxygen species and their antioxidants. (Murry *et al.*, 1996)

Reactive Species	Antioxidants
$^1O_2$ (Singlet oxygen*)	Vitamin A, β-carotene, vitamin E
$O_2^{-\bullet}$ (Superoxide free radical)	Superoxide dismyutase, vitamin E, β-carotene
$OH^\bullet$ (Hydroxyl free radical)	
$RO^\bullet$ (Alkoxyl free radical)	
$ROO^\bullet$ (Peroxyl free radical)	Vitamin E, vitamin C
H_2O_2 (Hydrogen peroxide)	Catalase, glutathione peroxidase
LOOH (Lipid peroxides)	Glutathione peroxidase

* Electrons in the the O_2 molecule are at a higher energy level.

เนื่องจากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น จะทำลายเซลล์ ทำลายสารชีวโมเลกุลที่อยู่ภายในเซลล์ และทำให้เซลล์ตาย ซึ่งจะทำให้เกิดโรคต่างๆ เช่น โรคผนังหลอดเลือดหนา โรคขาดเลือด โรคชรา เป็นต้น ทำให้เซลล์กลายพันธุ์ และเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็ง ดังนั้นถ้าร่างกายมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นมาก สารต้านออกซิเดชั่นที่มีอยู่ในร่างกายจะไม่สามารถควบคุมหรือกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้ทั้งหมด ด้วยเหตุนี้ร่างกายจึงจำเป็นต้องได้รับสารต้านการเกิดออกซิเดชั่นจากภายนอก เช่น ไวตามินอี ไวตามินซี เป็นต้น

2.4 ลิปิดออกซิเดชั่น (lipid oxidation)

เนื่องจากผนังเซลล์ของสัตว์มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid แทนด้วยสัญลักษณ์ LH ในสมการ) เป็นองค์ประกอบอยู่มาก จึงทำให้มีโอกาสเกิดลิปิดออกซิเดชั่น (lipid oxidation) ได้ง่าย ซึ่งเป็นการทำปฏิกิริยาระหว่างกรดไขมันไม่อิ่มตัวกับออกซิแดนท์ (oxidants) เกิดเป็นอนุมูลอิสระ (free radical, $R^{\bullet}$) และสารประกอบต่างๆ เช่น ลิปิดเปอร์ออกไซด์ (lipid peroxides) แอลดีไฮด์ (aldehydes) คีโตน (ketones) เป็นต้น อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัวตัวอื่นๆ ต่อไป การเกิดลิปิดออกซิเดชั่นแบ่งออกได้เป็น 3 ขั้น คือ ขั้นต้น (initiation) ขั้นกระจาย (propagation) และขั้นสุดท้าย (termination) ซึ่งขั้นต้นจะเริ่มจากโมเลกุลของกรดไขมันไม่อิ่มตัว (LH) สูญเสียไฮโดรเจนอะตอมที่ตำแหน่งเมททิลคาร์บอน (methyl carbon, $-CH_2$) ในโมเลกุลของกรดไขมัน (Monahan, 2000; Morrissey *et al.*, 1998; Murray *et al.*, 1996) เนื่องจากถูกออกซิไดซ์ด้วยตัวออกซิแดนซ์ เช่น ออกซิเจน แสง อุณหภูมิ ไอออนของโลหะ เป็นต้น หรืออนุมูลอิสระ ($R^{\bullet}$) ทำให้เกิดลิปิดแรดิคอล (lipid radical, $L^{\bullet}$) นอกจากนี้กรดไขมันไม่อิ่มตัวยังแตกพันธะแบบโฮโมไลติค (homolytic bond fission) ซึ่งเป็นออโตคะตะไลติค (autocatalytic) เกิดเป็นอนุมูลอิสระ (Warriss, 2000) ขั้นกระจายตัวจะเริ่มจากอนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับออกซิเจน เกิดเป็นลิปิดเปอร์ออกซิลแรดิคอล (lipid peroxyl radical, $LOO^{\bullet}$) และ $LOO^{\bullet}$ ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่อยู่ข้างเคียง เกิดเป็นลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (lipid hydroperoxides, LOOH) และอนุมูลอิสระ ($R^{\bullet}$) ขั้นสุดท้ายเป็นการทำปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระกับอนุมูลอิสระตัวอื่นๆ เกิดเป็นสารประกอบที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ แต่มีความเสถียร (Monahan, 2000; Warriss, 2000; Morrissey *et al.*, 1998; Murrey *et al.*, 1996) ขั้นตอนทั้งหมดแสดงเป็นสมการได้ดังนี้ (ดัดแปลงจาก Monahan, 2000; Warriss, 2000)

สมการ 1 ขั้นต้น (Initiation)

$$LH + R^{\bullet} \rightarrow L^{\bullet} + RH$$

polyunsaturated fatty acid — free radical — lipid radical — hydrogen complex

$$LH \rightarrow L^{\bullet} + H^{\bullet}$$

polyunsaturated fatty acid — lipid radical — hydrogen radical

สมการ 2 ขั้นกระจาย (Propagation)

$$L^{\bullet} + O_2 \rightarrow LOO^{\bullet}$$

lipid radical — oxygen — lipid peroxyl radical

$$LOO^{\bullet} + LH \rightarrow LOOH + L^{\bullet}$$

lipid peroxyl radical — polyunsaturated — lipid hydrogen peroxide — lipid radical

สมการ 3 ขั้นสุดท้าย (Termination)

$$LOO^{\bullet} + LOO^{\bullet} \rightarrow LOOL + O_2$$

lipid peroxyl radical — lipid peroxyl radical — complex compound — oxygen

$$LOO^{\bullet} + L^{\bullet} \rightarrow LOOL$$

lipid peroxyl radical — lipid radical — complex compound

$$L^{\bullet} + L^{\bullet} \rightarrow LL$$

lipid radical — lipid radical — complex compound

ลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นในขั้นกระจายตัว อาจแตกตัวแบบโฮโมไลติค ซึ่งจะทำให้เกิดแอลคอคซิลแรดิคอล (alkoxly radical, $LO^{\bullet}$) ไฮดรอกซิลแรดิคอล (hydroxyl radical, $OH^{\bullet}$) และลิปิดเปอร์ออกซิลแรดิคอล ($LOO^{\bullet}$) แสดงในสมการ 1 และ 2 ส่วน $LOO^{\bullet}$ ที่เกิดขึ้นในขั้นตอนนี้สามารถย้อนกลับมาเกิดปฏิกิริยาในขั้นกระจายได้อีก (Monahan *et al.*, 2000) ส่วน $LO^{\bullet}$ จะทำปฏิกิริยากับ LH เกิดเป็นแอลกอฮอล์ (alcohol, LOH) และอนุมูลอิสระ ($L^{\bullet}$) หรือแตกตัวเป็นแอลคิลแรดิคอล (alkyl radical, $L'CH_2^{\bullet}$) และแอลดีไฮด์ (aldehyde, L''CHO) ซึ่งขึ้นอยู่กับไฮโดรเปอร์ออกไซด์แสดงในสมการ 3 และ 4 (Morrissey *et al.*, 1998)

LOOH	→	$LO^{\bullet}$	+	$OH^{\bullet}$			(1)
lipid hydroperoxides		alkoxly radical		hydroxyl radical			
2 LOOH	→	$LOO^{\bullet}$	+	$LO^{\bullet}$	+	H_2O	(2)
lipid hydroperoxides		lipid peroxyl radical		alkoxly radical		hydrogen dioxide	
$LO^{\bullet}$	+	LH	→	LOH	+	$L^{\bullet}$	(3)
alkoxly radical		polyunsaturated		alcohol		lipid radical	
$LO^{\bullet}$	→	$L'CH_2^{\bullet}$	+	L''CHO			(4)
alkoxly radical		alkyl radical		aldehyde			

การเกิดลิปิดออกซิเดชั่นเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อการกำหนดคุณภาพและการยอมรับเนื้อและผลิตภัณฑ์จากเนื้อของผู้บริโภค โดยขบวนการดังกล่าวทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวกลาง (free radical mediated) และเกิดเป็นปฏิกิริยาแบบลูกโซ่ (chain reaction) ซึ่งเป็นสาเหตุที่นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของสี (discolouration) การสูญเสียน้ำ (drip losses) เกิดกลิ่นและรสชาติที่ผิดปกติ (off-odour and off-flavour) เกิดสารประกอบที่เป็นพิษ (toxic compounds) และคุณค่าทางอาหารลดลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นมีผลต่อการตัดสินใจหรือการยอมรับของผู้บริโภค (Gray *et al.*, 1996; Sheehy, 1994)

2.5 ไวตามินอีกับการป้องกันลิปิดออกซิเดชั่น

2.5.1 คุณสมบัติทางเคมีของไวตามินอี (chemistry of vitamin E)

ไวตามินอีเป็นแอลกอฮอล์ชนิดไม่อิ่มตัว ในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนโครมานอล (chromanol ring) และสายโซ่ไอโซพรีนอยด์ (isoprenoid side chain) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ โทโคเฟอร์รอล (tocopherol) และ โทโคไตรอีนอล (tocotrienol) ทั้งสองกลุ่มมีความแตกต่างกันที่สายโซ่ไอโซพรีนอยด์ โดยโทโคเฟอร์รอลจะเป็นชนิดอิ่มตัว ส่วนโทโคไตรอีนอลจะเป็นชนิดไม่อิ่มตัว ซึ่งในแต่ละกลุ่มยังแบ่งออกเป็น 4 ชนิด คือ แอลฟา (α), เบต้า (β), แกมมา (γ) และเดลต้า (δ) ซึ่งแต่ละชนิดจะแตกต่างกันที่จำนวนและตำแหน่งของเมธิล (CH_3) ที่ต่อกับวงแหวนเบนซีน แสดงใน Figure 8 (Groff *et al.*, 2000) แอลฟา-โทโคเฟอร์รอล (α-tocopherol) มีฤทธิ์ของไวตามินอีแรงที่สุด และทำงานได้ว่องไวที่สุด ส่วนของไอโซพรีนอยด์และวงแหวนอะโรมาติค (aromatic ring) ทำหน้าที่

เป็นสารต้านออกซิเดชั่น (antioxidant) ให้กับไวตามิน ส่วนที่เป็นวงแหวนเบนซีน (benzene ring) จะเป็นตัวคอยจับกับอนุมูลอิสระ และมีส่วนช่วยในการป้องกันเปอร์ออกซิเดชั่น (peroxidation) ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่เซลล์เมมเบรน (Mark, 1996; Comb, 1992)

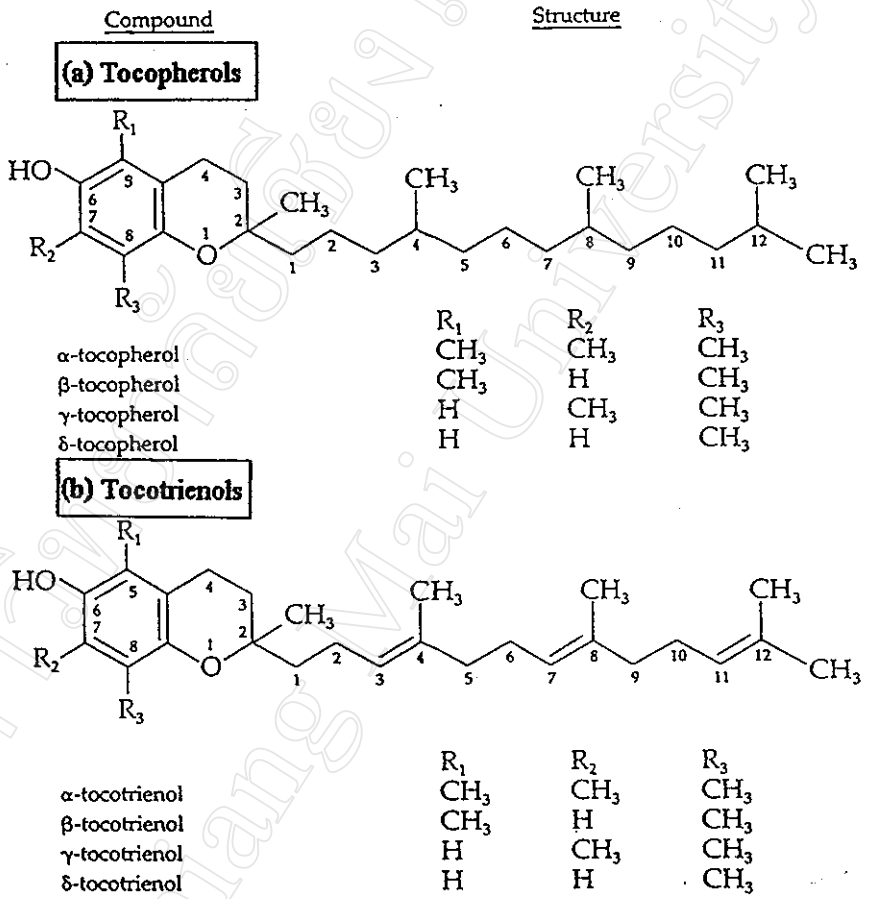

Figure 8 Structure of vitamin E (Groff *et al.*, 2000).

ไวตามินอี สังเคราะห์ได้แต่ในพืชเท่านั้น มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลือง คงทนต่อความร้อนและกรด แต่จะถูกทำลายเมื่อสัมผัสกับด่าง รังสีอัลตราไวโอเลต ออกซิเดชั่น การสัมผัสกับไขมันที่เหม็นหืน ตะกั่ว และเหล็ก แต่ในปัจจุบันทางการค้ามีการสังเคราะห์ไวตามินอีในรูปของ ดีแอล-แอลฟา-โทโคเฟอร์รอลอะซิเตรท (*dl*-α-tocopherol acetate) และ ดี-แอลฟา-โทโคเฟอร์รอลอะซิเตรท (*d*-α-tocopherol acetate) เพื่อให้ไวตามินอีมีความเสถียรมากขึ้น (Cheeke, 1999)

หน้าที่หลักของไวตามินอี คือ เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนเมตะบอลิสมส์และเป็นสารต้านออกซิเดชั่นที่ละลายได้ในไขมัน (Murray *et al.*, 1996; Voet and Voet, 1990) ซึ่งมีบทบาท

ทำงานที่ว่องไวในคนและสัตว์ เนื่องจากสามารถจับกับรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ (reactive oxygen species, ROS) ได้ดี ทำให้ป้องกันการเกิดเปอร์ออกซิเดชั่นของกรดไขมันไม่อิ่มตัวของเซลล์เมมเบรน ช่วยให้เซลล์เมมเบรนไม่ถูกทำลาย และยังมีคุณสมบัติพิเศษ คือ เป็นสารป้องกันการออกซิเดชั่นของสารอื่น เช่น ไวตามินเอ และแคโรทีน โดยการที่ไวตามินอีจะถูกออกซิไดซ์ (ได้ง่าย) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 (Mark *et al.*, 1996; Comb, 1992)

2.5.2 ไวตามินอีกับลิปิดออกซิเดชั่น

ไวตามินอีเป็นสารต้านการออกซิไดซ์ที่ละลายได้ในไขมัน อยู่รวมกันภายในเซลล์เมมเบรน ทำหน้าที่ป้องกันการออกซิไดซ์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวและฟอสโฟลิปิด โดยแอลฟา-โทโคเฟอร์รอล (α-tocopherol) จะถูกออกซิไดซ์ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ด้วยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย แล้วเปลี่ยนเป็นแอลฟา-โทโคเฟอร์รอลแรดิคอล (α-tocopheroxyl radical) ซึ่งจะทำปฏิกิริยาต่อกับอนุมูลอิสระอีกตัว แล้วจึงเปลี่ยนเป็นแอลฟา-โทโคเฟอร์รอลควินอน (α-tocopherolquinone) แสดงใน Figure 9 (Mark *et al.*, 1994)

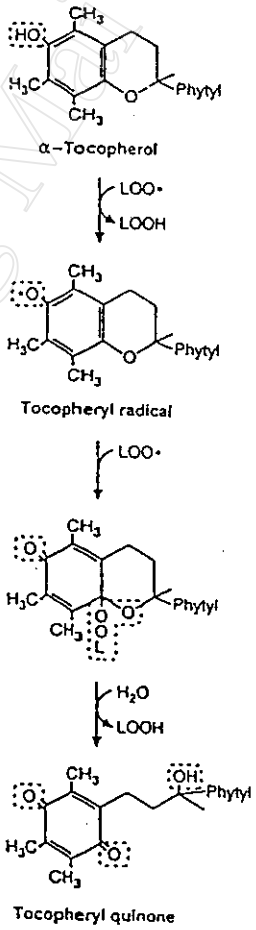

Figure 9 Reaction of vitamin E to free radicals (Mark *et al.*, 1994).

ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงจากแอลฟา-โทโคเฟอร์รอลไปเป็นแอลฟา-โทโคเฟอร์รอลแรดิคอล (α-tocopheroxyl radical) เป็นปฏิกิริยาที่ย้อนกลับได้ (reversible) แต่แอลฟา-โทโคเฟอร์รอลควินอนไม่สามารถเปลี่ยนกลับเป็นแอลฟา-โทโคเฟอร์รอล แต่สามารถเปลี่ยนเป็นแอลฟา-โทโคเฟอร์ริลไฮโดรควินอน (α-tocopherylhydroquinone) เป็นปฏิกิริยาที่ย้อนกลับได้ สารประกอบควินอนที่เกิดขึ้นจะไม่มีฤทธิ์ของไวตามินอี เมื่อสารนี้จับกับกรดกลูคูโลนิค (glucuronic acid) จะถูกขับออกทางน้ำดีและอุจจาระ ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่ร่างกายขับถ่ายไวตามินอีออกจากร่างกาย นอกจากนี้ แอลฟา-โทโคเฟอร์ริลไฮโดรควินอนยังสามารถเปลี่ยนเป็นผลิตผลตัวอื่นๆ ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ดังแสดงใน Figure 10 (Comb, 1992)

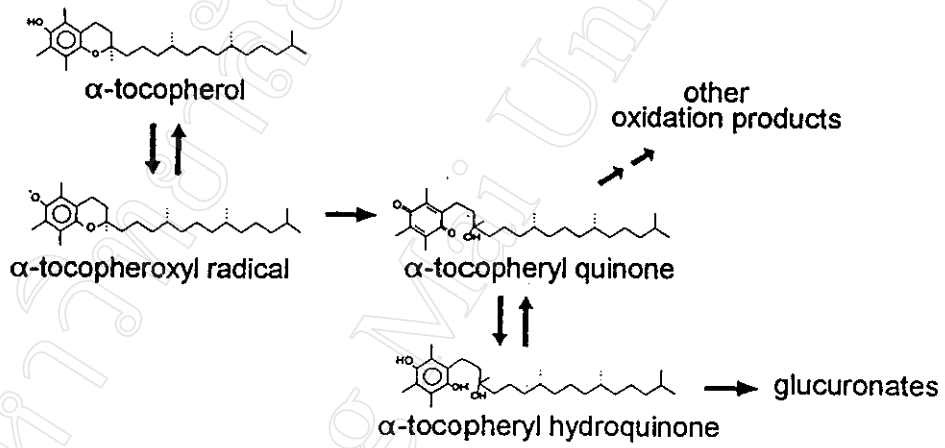

Figure 10 Metabolism of vitamin E (Comb, 1992).

กลไกการเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับของแอลฟา-โทโคเฟอร์รอลแรดิคอล เพื่อให้ได้แอลฟา-โทโคเฟอร์รอลกลับคืนมา สามารถเกิดได้ 2 วิธี คือ วิธีแรกเป็นการรีดิวส์ด้วยกรดแอสคอร์บิค (ascorbic acid) ส่วนวิธีที่สองใช้กลูตาไธโอน (glutathione, GSH) และแอลฟา-โทโคเฟอร์ออกซิลรีดัทเดส (tocopheroxyl reductase) ที่อยู่ในเอนโดพลาสมิคเรติคิวลัม (endoplasmic reticulum) และในไมโตคอนเดรีย (mitochondria) ไปรีดิวส์แอลฟา-โทโคเฟอร์ออกซิลแรดิคอล (α-tocopheroxyl radical) แสดงใน Figure 11 (Packer and Fuchs, 1993)

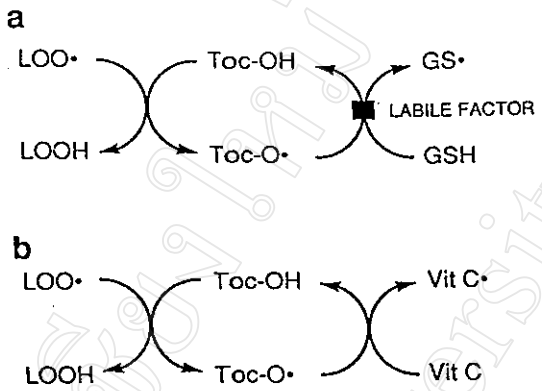

Figure 11 Antioxidation interactions: (a) regeneration of vitamin E (Toc-OH) via GSH-dependent labile factor; (b) ascorbic acid (Vit C) regeneration of vitamin E. $LOO^{\bullet}$: lipid peroxyl radical; LOOH: lipid hydroperoxide. (Packer and Fuchs, 1993).

เนื่องจากโครงสร้างของเซลล์เมมเบรนมีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งสามารถถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย ไวตามินอีซึ่งมีคุณสมบัติละลายได้ในไขมันจะทำหน้าที่ป้องกันเซลล์เมมเบรนไม่ให้ถูกออกซิไดซ์ โดยจะทำงานร่วมกับเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione reductase) แสดงใน Figure 12 (Scott *et al.*, 1982)

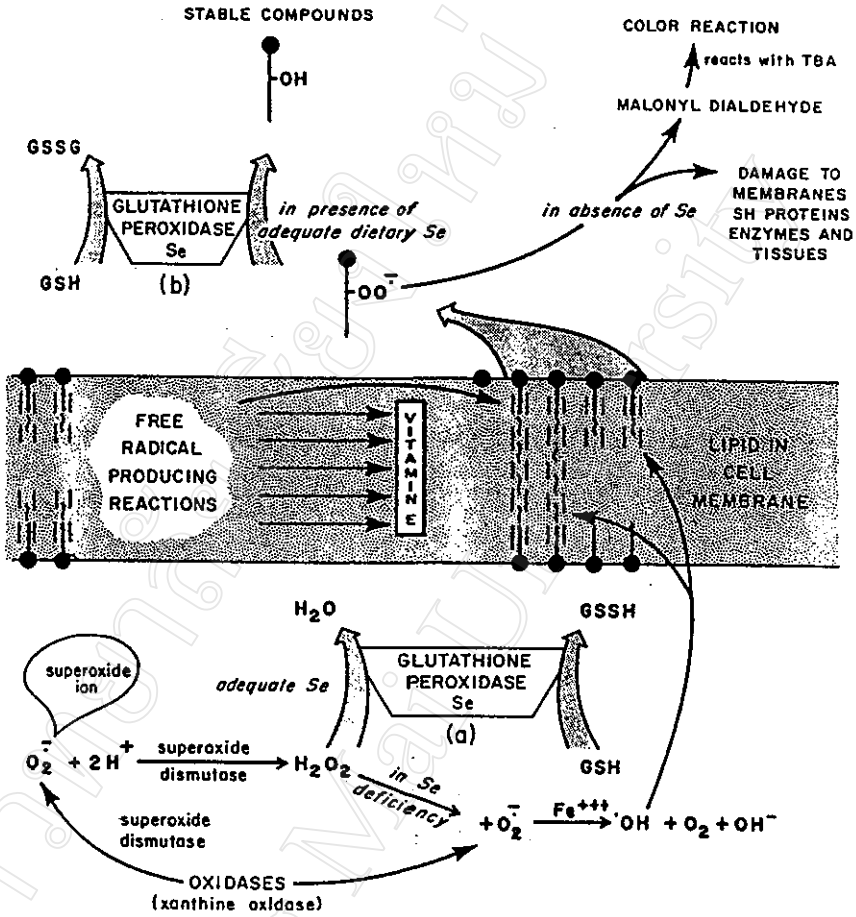

Figure 12 Protection of lipid membranes by vitamin E and glutathione peroxidase. (a) prevents formation of membrane-destructive $OH^{\bullet}$; (b) destroys any hydroperoxides which may form (Scott *et al.*, 1982).

2.5.3 ผลของไวตามินอีต่อการยับยั้งการเกิดลิปิดออกซิเดชั่น

ไวตามินอีเป็นสารต้านการออกซิเดชั่นและทำหน้าที่เป็นสารต้านการออกซิเดชั่นที่ละลายได้ในไขมัน มีคุณสมบัติสามารถระงับการเกิดอนุมูลอิสระและป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นของฟอสโฟลิปิด ดังนั้นอัตราและปริมาณการเกิดลิปิดออกซิเดชั่นในเนื้อจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแอลฟา-โทโคเฟอร์รอลในเนื้อเยื่อ ถ้าในเนื้อเยื่อสัตว์ขาดไวตามินอี จะทำให้มีผลต่อความเสถียรของไขมันในเนื้อระหว่างการเก็บรักษา (Buckley and Monahan, 1994) ผลของการเสริมไวตามินอีในอาหาร ซึ่งประเมินเป็นความเข้มข้นของไวตามินอีในเซลล์เมมเบรน โดยเฉพาะในไมโตคอนเดรีย (mitochondria) และไมโครโซม (microsomes) พบว่าทำให้ลดการเกิดลิปิดออกซิเดชั่นในเซลล์เมมเบรนได้อย่างมีนัยสำคัญ (Gray *et al.*, 1996) Wen *et al.* (1997) รายงานว่าการเสริม

ไวตามินอี 200 หรือ 1000 มก.แอลฟา-โทโคเฟอร์รอลอะซิเตทต่ออาหาร 1 กก. ในสุกรน้ำหนัก 30-35 กก. เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จะทำให้มีปริมาณของแอลฟา-โทโคเฟอร์รอลในกล้ามเนื้อไมโตคอนเดรีย และไมโครโซม เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ไวตามินอี 30 มก./กก.) Cannon *et al.* (1996) พบว่าสุกรที่ได้รับไวตามินอี 100 มก./กก.อาหาร เป็นเวลา 84 วันก่อนฆ่า จะสามารถลดการออกซิไดซ์ของไขมันในเนื้อสุกรสภาพสด (fresh pork) ได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Cannon *et al.* (1995) นอกจากนี้ Monahan *et al.* (1990) รายงานว่าการเสริมไวตามินอี 200 มก./กก.อาหารของสุกร ทำให้ค่า TBA ของเนื้อบด (ground pork) เนื้อดิบ (raw meat) หรือเนื้อที่สุกแล้ว (cooked meat) และเนื้ออบ (pork patties) ที่อยู่ในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับรายงานของ Asghar *et al.* (1991b) ซึ่งพบว่าเนื้อที่ตัดเป็นชิ้น (pork chop) ของสุกรที่ได้รับอาหารที่เสริมไวตามินอี 200 มก./กก.อาหาร มี TBA-values เพิ่มขึ้นน้อยมาก เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์เป็นเวลาสูงถึง 10 วัน สอดคล้องกับรายงานของ Morissey *et al.* (1996); Cheah *et al.* (1995); Pfalzgraf *et al.* (1995); Ayala *et al.* (1994) และ Buckley *et al.* (1989) ที่พบว่าไวตามินอีมีผลต่อความเสถียรของเนื้อสุกร โดยทำให้ TBA-values มีค่าต่ำระหว่างการเก็บ Monahan *et al.* (1994) พบว่าการเสริมไวตามินอีที่ระดับสูงถึง 200 มก.ของแอลฟา-โทโคเฟอร์รอลอะซิเตทในอาหาร 1 กก. สามารถปรับปรุงความเสถียรของเนื้อสุกรที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลานาน 8 วัน ทั้งก่อนปรุงอาหารและหลังปรุงอาหาร นอกจากนี้ในสุกรอายุ 4-12 สัปดาห์ก่อนฆ่า เมื่อได้รับไวตามินอี 200 มก./กก. จะปรับปรุงความเสถียรของกล้ามเนื้อสันนอกที่ตัดเป็นชิ้น (pork chop) ได้ (Cheah *et al.*, 1995; Pfalzgraf *et al.*, 1995; Ayala *et al.*, 1994; Monahan *et al.*, 1992; Asghar *et al.*, 1991b) นอกจากนี้ Mitsumoto *et al.* (1991) พบว่ามีการปรับปรุงความเสถียรของไขมันในกล้ามเนื้อสันของวัวที่ได้รับไวตามินอี 1200 มก./ตัว/วัน เป็นเวลา 67 วัน และการจุ่มเนื้อสันลงในไวตามินซีข้น 1% เป็นเวลา 20 วินาที จะเพิ่มความความเสถียรของไขมันมากกว่ากลุ่มควบคุม โดยเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 16 วัน เช่นเดียวกับการรายงานของ Hoving-Bolink *et al.* (1998) ซึ่งพบว่าการเสริมไวตามินอี 200 มก./กก.อาหาร ทำให้ TBA-values ของกล้ามเนื้อสันนอกในสภาพสดต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ในวันที่ 3 และ 6 ของการเก็บที่อุณหภูมิ 7 °C และกล้ามเนื้อสันนอกหลังจากเก็บที่อุณหภูมิ –25 °C เป็นเวลา 100 วัน มี TBA-values ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมในวันที่ 0, 3 และ 6 ของการเก็บที่อุณหภูมิ 7 °C

2.5.4 ผลของไวตามินอีต่อความเสถียรของสีเนื้อแดง

สีของเนื้อเป็นปัจจัยหลักที่มีบทบาทสำคัญในการยอมรับและการเลือกซื้อของผู้บริโภค ซึ่งมีการใช้สีเป็นตัวบ่งชี้คุณภาพเนื้อ เช่น ลักษณะเนื้อซีด เหลว เละ (pale soft and exudative, PSE) เป็นต้น อัตราการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อ เชื่อว่ามีความสัมพันธ์กับผลของขบวน

การออกซิเดชั่นและการลดลงของระบบเอนไซม์ที่ควบคุมระดับเมทไมโอโกลบินในเนื้อ และการทำหน้าที่โดยตรงของไวตามินอีในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของลิปิดเมมเบรนอาจมีผลทางอ้อมต่อการชะลอการเกิดออกซีไมโอโกลบินออกซิเดชั่น (oxymyoglobin oxidation) และการเปลี่ยนแปลงของเนื้อ (Gray *et al.*, 1996) เช่นเดียวกับ Faustman *et al.* (1989) และ Arnold *et al.* (1993) ซึ่งพบว่าการเสริมไวตามินอีในอาหารวัวสามารถชะลอการเกิดออกซิเดชั่นของไมโอโกลบิน สอดคล้องกับรายงานของ Wood and Enser (1997) Asghar *et al.* (1991b) พบว่าการเสริมไวตามินอี 200 มก./กก.อาหาร เป็นเวลา 14 สัปดาห์ จะทำให้ค่าความแดงของเนื้อ (a-values) สูงขึ้น เช่นเดียวกับการรายงานของ Monahan *et al.* (1994) และการเสริมไวตามินอี 200 มก./กก.อาหารยังช่วยเพิ่มความเสถียรของสี (colour stability) ของเนื้อที่ตัดเป็นชิ้น (pork chop) (Cheah *et al.*, 1995; Pflazgraf *et al.*, 1995; Ayala *et al.*, 1994; Monahan *et al.*, 1992)

2.5.5 ผลของไวตามินอีต่อการลดการสูญเสียน้ำของเนื้อ

การสูญเสียน้ำของเนื้อ จะมีผลกระทบต่อความนุ่มหรือความชุ่มฉ่ำของเนื้อ ซึ่งเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพเนื้อ เพราะปริมาณน้ำที่มีอยู่ในเนื้อ มีส่วนช่วยทำให้เนื้อมีความนุ่มและฉ่ำน้ำ มีความอร่อยเวลารับประทาน นอกจากนั้นปริมาณน้ำที่มีอยู่ในซากหรือเนื้อ ยังช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักอีกด้วย Asghar *et al.* (1991b) รายงานว่ากล้ามเนื้อสันที่ตัดเป็นชิ้น (pork chop) ของสุกรที่ได้รับไวตามินอี 200 มก./กก.อาหาร มีการสูญเสียน้ำ (drip loss) น้อยกว่า ($P < 0.05$) กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมไวตามินอี 100 มก./กก.อาหาร ในระหว่างขบวนการละลายน้ำแข็ง (thawing) ที่อุณหภูมิ 4 °C ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนท์ เป็นระยะเวลา 3, 6 และ 10 วัน และการศึกษาของ Monahan *et al.* (1994) พบว่า การเสริมไวตามินอีในอาหารที่ระดับ 200 มล./กก.อาหาร จะลดการสูญเสียน้ำได้ ซึ่งให้ผลเหมือนกับการศึกษาของ Cheah *et al.* (1995) และ Ayala *et al.* (1994) การเสริมไวตามินอีที่ระดับ 500 มก./กก.อาหาร จะป้องกันการเกิด PSE และปรับปรุงความสามารถในการอุ้มน้ำ (water-holding capacity) ของเนื้อสุกร (Cheah *et al.*, 1995)

2.5.6 ผลของไวตามินอีต่อสมรรถนะการผลิต

Asghar *et al.* (1991b) พบว่าสุกรที่ได้รับอาหารที่เสริมไวตามินอี 100 และ 200 มก./กก.อาหาร มีการปรับปรุงอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (average daily gain) อัตราการเปลี่ยนอาหาร (feed conversion ratio) และปริมาณอาหารที่กิน (feed intake) เพิ่มขึ้นในช่วง 4 สัปดาห์แรกของการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Gray (1990) (อ้างโดย Ayala *et al.*, 1994) แต่ Ayala *et al.* (1994) พบว่าการเสริมไวตามินอีในระดับสูง (200 มก./กก.อาหาร) ไม่มีความแตกต่างกันของอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม Cannon *et al.* (1996) พบว่าการเสริมไวตามินอี

ที่ระดับ 100 มก./กก.อาหาร เป็นระยะเวลา 84 วัน ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของสุกร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เสริม แต่มีแนวโน้มดีกว่ากลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับ Garber *et al.* (1996) ที่ทำการศึกษาการเสริมไวตามินอีในวัว พบว่าไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต

2.6 ไวตามินซีกับการป้องกันลิปิดออกซิเดชั่น

2.6.1 คุณสมบัติทางเคมีของไวตามินซี

ไวตามินซี หรือ กรดแอสคอร์บิค (ascorbic acid) มีลักษณะโมเลกุลคล้ายกับน้ำตาลกลูโคส เป็นผลึกสีขาว มีรสเปรี้ยว ละลายน้ำมีฤทธิ์เป็นกรด ธรรมชาติของไวตามินซีจะอยู่ในรูปแอล-แอสคอร์บิค แอซิด (L-ascorbic acid) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารที่มีฤทธิ์รีดิวส์อย่างแรง เมื่อถูกออกซิไดซ์จะเปลี่ยนเป็นแอล-ดีไฮโดรแอสคอร์บิค แอซิด (L-dehydroascorbic acid) ไวตามินซีที่อยู่ในร่างกายจะอยู่ในสภาพรีดิวซ์ ซึ่งทั้งแอสคอร์บิค แอซิด และ ดีไฮโดรแอสคอร์บิค แอซิด มีฤทธิ์เป็นไวตามินเหมือนกัน และสามารถเปลี่ยนกลับไปกลับมาระหว่างสารประกอบทั้ง 2 ชนิดได้ โดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชั่น-รีดัคชั่น (oxidation–reduction) ซึ่งใช้เอนไซม์ดีไฮโดรแอสคอร์บิค รีดัคเทส (dehydroascorbic reducdase) และ กลูตาไธโอน (glutathione) แสดงใน Figure 13 (Groff *et al.*, 2000)

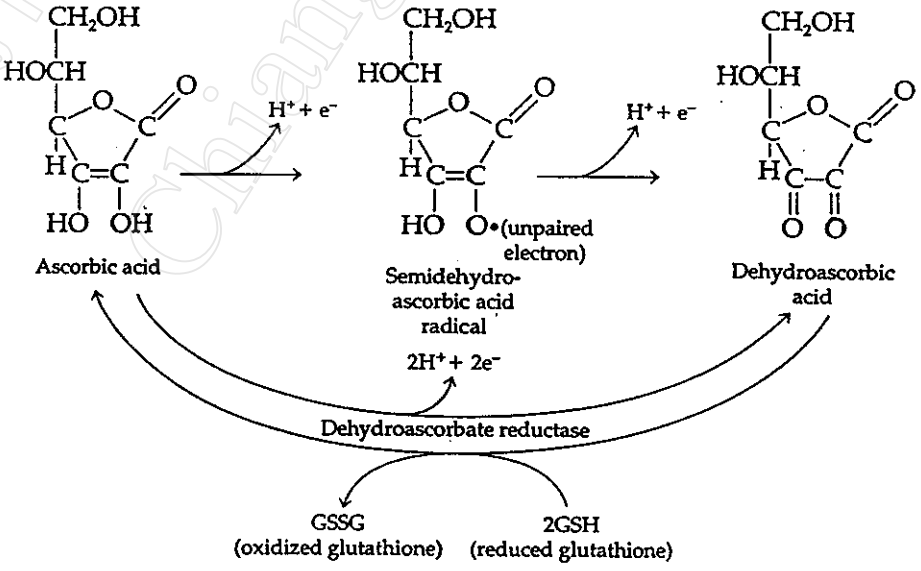

Figure 13 The inter conversion of ascorbate and dehydroascorbate (Groff *et al.*, 2000).

พืชและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมบางชนิด รวมทั้งสุกร สามารถสังเคราะห์ไวตามินซีได้จาก ดี-กลูโคส (D-glucose) หรือ ดี-กาแลคโตส (D-galactose) โดยทางขบวนการกลูคูโลนิค (glucuronic acid pathway) ซึ่งเริ่มต้นโดย ดี-กลูโคสเปลี่ยนเป็น ดี-กลูคูโลนิค แอซิด (D-glucuronic acid) และถูกรีดิวส์เป็น แอล-กลูโลเนท (L-gulonate) แล้วจึงเปลี่ยนเป็นแอล-กลูโลโน-แกมมา-แลคโตน (L-gulono-γ-lactone) ซึ่งจะถูกออกซิไดซ์ไปเป็น 2-คีโต-แอล-กลูโลโนแลคโตน (2-keto-L-gulonolactone) โดยมีเอนไซม์ควบคุมการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (rate limiting enzyme) คือ แอล-กลูโลโน-แกมมา-แลคโตน ออกซิเดส (L-gulono-γ-lactone oxidase) จากนั้นจะถูกไอโซเมอร์ไรซ์ (isomerized) ไปเป็นแอล-แอสคอร์บิค แอซิด (Groff *et al.*, 2000; Hunson, 1990)

พวกไพรเมท (primate) รวมทั้งคน ลิง หนูตะเภา และค้างคาว ไม่สามารถสังเคราะห์ไวตามินซีขึ้นเองได้ เพราะว่าขาดเอนไซม์ แอล-กลูโลโน-แกมมา-แลคโตน ออกซิเดส ที่ใช้เปลี่ยน 2-คีโต-แอล-กลูโลโนแลคโตน ไปเป็นแอสคอร์บิค แอซิด ดังนั้นจึงจำเป็นต้องได้รับไวตามินซีจากภายนอก (Cheeke, 1999)

2.6.2 ไวตามินซีกับลิปิดออกซิเดชั่น

ไวตามินซี ทำหน้าที่เป็นโคแฟคเตอร์ (cofactor) ของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในขบวนการไฮดรอกซิเลชั่น (hydroxylation) และเป็นสารที่มีฤทธิ์รีดิวส์สูง และมีฤทธิ์เป็นแอนตี้ออกซิแดนท์ที่มีผลต่อปฏิกิริยาออกซิเดชั่น-รีดัคชั่น (redox–potential) ของร่างกาย จึงทำให้ไวตามินซีมีหน้าที่สำคัญหลายประการ จากคุณสมบัติที่เป็นแอนตี้ออกซิแดนท์จึงทำให้ไวตามินซีทำหน้าที่เป็นตัวกำจัดอนุมูลอิสระ (free–radical scavenger) โดยเมื่อกรดแอสคอร์บิคถูกออกซิไดซ์ จะเปลี่ยนเป็นดีไฮโดรแอสคอร์เบท (dehydroascorbate) และ อนุมูลอิสระแอสคอร์เบท (ascorbate free-radical) หรือที่เรียกว่า โมโนไฮโดรแอสคอร์บิค แอซิด (monohydroascorbic acid) ถึงแม้ว่าสารตัวนี้จะเป็นอนุมูลอิสระ แต่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ ดังนั้นไวตามินซีจึงป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระทำลายเนื้อเยื่อ ขั้นตอนการทำงานแสดงไว้ในสมการดังนี้ (Comb, 1992)

AH^- = กรดแอสคอร์บิค $A^{-\bullet}$ = ascorbate free-radical A = dehydroascorbate

$$AH^- + OH^\bullet \longrightarrow H_2O + A^{-\bullet}$$

$$AH^- + O_2^- + H^+ \longrightarrow H_2O_2 + A^{-\bullet}$$

$$AH^- + R^\bullet \longrightarrow RH + A^{-\bullet}$$

$$AH^- + H_2O_2 + H^+ \longrightarrow 2H_2O + A$$

ฤทธิ์ของกรดแอสคอร์บิคจะเพิ่มขึ้นและทำให้ปฏิกิริยานี้เกิดได้ดี จะต้องมีรีดิวซิ่งเอเจนท์ (reducing agent) ชนิดอื่นมาทำปฏิกิริยาด้วย เช่น กลูตาไธโอน (GSH) และนิโคตินามายด์ อะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์ ฟอสเฟต (nicotinamide adenosine phosphate, $NADPH.H^+$) ดังสมการ (Comb, 1992)

$$2A^{-\bullet} + 2\,GSH \longrightarrow GSSG + 2AH^-$$

$$2A^{-\bullet} + NADPH.H^+ \longrightarrow NADP^+ + 2AH^-$$

2.7 ความสัมพันธ์ระหว่างไวตามินอีกับซีในการป้องกันลิปิดออกซิเดชั่น

คุณสมบัติพิเศษของไวตามินซีนอกจากทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นแล้ว ยังช่วยให้ไวตามินอีที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระเปลี่ยนกลับมาอยู่ในรูปปกติ เพื่อทำหน้าที่เป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชั่นได้อีกครั้ง ซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดอนุมูลอิสระให้กับไวตามินอี ส่วนไวตามินซีที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยานี้จะอยู่ในรูปอนุมูลอิสระ และสามารถเปลี่ยนกลับมาอยู่ในรูปปกติได้โดยทำปฏิกิริยากับกลูตาไธโอน แสดงใน Figure 14 (Groff *et al.*, 2000)

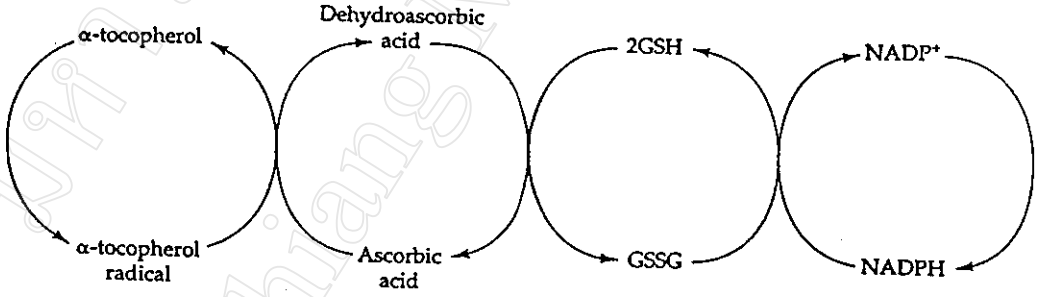

Figure 14 The regeneration of vitamin E by vitamin C and cooperated with glutathione and NDPH (Groff *et al.*, 2000).

เนื่องจากขั้นตอนการกำจัดอนุมูลอิสระจะทำให้สารต้านการเกิดออกซิเดชั่นเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระ ซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ แต่จะสูญเสียคุณสมบัติการต้านการเกิดออกซิเดชั่น เช่น กรณีของไวตามินอี เป็นต้น แต่พบว่าไวตามินซีสามารถเปลี่ยนไวตามินอีอนุมูลอิสระให้กลับมาอยู่ในรูปไวตามินอีปกติได้ ซึ่งจะทำให้ไวตามินอีกลับมาทำหน้าที่ได้ตามปกติอีกครั้ง ดังนั้นถ้าใช้ไวตามินอีร่วมกับไวตามินซี ก็จะทำให้เกิดประสิทธิภาพสูงในการป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นของลิปิด

2.8 ผลของไวตามินอีร่วมกับซีในการป้องกันลิปิดออกซิเดชั่นและความเสถียรของสีเนื้อ

Mitsumoto *et al.* (1991a) พบว่าการเสริมไวตามินอี 6 มก./กก.เนื้อวัวบดร่วมกับกรดแอสคอร์บิค 500 มก./กก.ของเนื้อวัวบด ทำให้ไขมันที่ทิ้งไว้นานวันมีความเสถียรมากขึ้น โดยมีค่า TBA ต่ำกว่ากลุ่มที่เสริมกรดแอสคอร์บิค (500 มก./กก.เนื้อวัวบด) ไวตามินอี (6 มก./กก.เนื้อวัวบด) และกลุ่มควบคุม ตามลำดับ ทำให้เม็ดสีในกล้ามเนื้อเสถียรขึ้น โดยมีปริมาณของเมทไมโอโกลบินลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เสริมกรดแอสคอร์บิค (500 มก./กก.เนื้อวัวบด) กลุ่มที่เสริมไวตามินอี (6 มก./กก.เนื้อวัวบด) และกลุ่มควบคุม ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า Mitsumoto *et al.* (1991b) รายงานว่ามีการปรับปรุงความเสถียรของไขมันในกล้ามเนื้อสันของวัวที่ได้รับไวตามินอี 1200 มก./ตัว/วัน เป็นเวลา 67 วัน และการจุ่มเนื้อสันใน 1% ของไวตามินซี เป็นเวลา 20 วินาที และนอกจากนี้ยังพบว่ามีการปรับปรุงสีกล้ามเนื้อสันของวัวด้วยเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Leung *et al.* (1981) ส่วน Yin *et al.* (1993) ได้รายงานเกี่ยวกับการทดลองแบบ *in vitro* พบว่าการเสริมไวตามินอี 14 μmol/l ร่วมกับกรดแอสคอร์บิค 140 μmol/l จะลดการเกิดลิปิดออกซิเดชั่น และลดการเกิดออกซิเดชั่นของออกซีไมโอโกลบินเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม