การหาปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำเม่า โดยสเปกโทรฟลูออโรโฟโทเมทรี

Determination of Anthocyanin in Mao Juice by Spectrofluorophotometry

ศศิธร อุดชาชน (Sasithorn Udchachon)[1]* ดร.ศักดิ์สิทธิ์ จันทร์ไทย (Dr.Saksit Chanthai)**

บทคัดย่อ

ในการหาปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำเม่า โดยสเปกโทรฟลูออโรโฟโทเมทรีภายใต้สภาวะที่เหมาะสมนั้น จะใช้ความยาวคลื่นกระตุ้น 340 นาโนเมตร และความยาวคลื่นวาวแสง 450 นาโนเมตร สำหรับตัวอย่างน้ำเม่าที่เจือจาง 100 เท่า ขณะที่ใช้ความยาวคลื่นกระตุ้น 390 นาโนเมตร และความยาวคลื่นวาวแสง 460 นาโนเมตร สำหรับสารละลายเพลาร์โกนิดินได้ศึกษาผลของค่าพีเอช (pH 1-11) ของสารละลายน้ำเม่าที่มีต่อความเข้มแสงฟลูออเรสเซ็นซ์เช่นกัน พบว่า ให้ความเข้มแสงสูงสุดเมื่อใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6 กราฟมาตรฐานของสารละลายเพลาร์โกนิดินในช่วงความเข้มข้น 2.0-10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สมการเส้นตรงคือ y = 66.076x+121.33 และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.9906 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด 0.93 มิลลิกรัมต่อลิตรและขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณ 3.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร้อยละการคืนกลับของวิธีอยู่ในช่วง 79.65-90.45 จากนั้นจึงประยุกต์ใช้หาปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำเม่าจากแหล่งผลิตต่างกันห้าชนิด พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินมีค่าใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 305.60-347.13 มิลลิกรัมต่อลิตรได้แก่ น้ำเม่าหลวงภูพาน (347.13±14.67 mg/L) น้ำเม่าไทรทอง (341.10±22.99 mg/L) น้ำเม่าช้างพลังสอง (321.43±26.54 mg/L) น้ำเม่าโคกศรีสุพรรณ (336.77±12.82 mg/L) และน้ำเม่าจากชัยภูมิ (305.60±29.58 mg/L)

ABSTRACT

This study was aimed to determine anthocyanins in Mao juice by spectrofluorophotometry under optimum conditions. The excitation wavelength of the Mao juice (diluted 100-fold solution) occurs at 340 nm and the emission wavelength is at 450 nm. The excitation wavelength of pelargonidin solution occurs at 390 nm with the emission wavelength of 460 nm, which is slightly different from those of the sample solution. The variation of pH value (pH 1-11) of the sample solution was also evaluated. The maximum relative fluorescence intensity was obtained using phosphate buffer solution at pH 6. Standard curve of pelargonidin solution (2-10 mg/L) was linearly constructed with y = 66.076x + 121.33 (R^2 = 0.9906). The limits of detection and quantification were found to be 0.93 mg/L and 3.1 mg/L, respectively. The

[1]*Correspondent author : Sasisawatsri@gmail.com*

** นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีสำหรับครู คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

*** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

method recoveries of the Mao juice were found ranging from 79.65-90.45%. The developed method was applied to determine anthocyanins in the samples from different five production sources. From the results, the contents of anthocyanins were found in the range of 305.60-347.13 mg/L including Mao juice Luang Phuphan (347.13±14.67 mg/L), Mao juice Saithong (341.10±22.99 mg/L), Mao juice Chang Palungsong (321.43±26.54 mg/L), Mao juice Khok Srisuphan (336.77±12.82 mg/L), and Mao juice from Chaiyaphum (305.60±29.58 mg/L).

คำสำคัญ : แอนโทไซยานิน น้ำเม่า สเปกโทรฟลูออโรโฟโทเมทรี
Keywords : Anthocyanin, Mao juice, Spectrofluorophotometry

บทนำ

ในปัจจุบันพฤติกรรมของผู้บริโภคมีการเปลี่ยนแปลงเป็นอย่างมาก โดยหันมาสนใจในการรักษาสุขภาพมากขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากธรรมชาติที่มีคุณภาพดี มีประโยชน์ต่อสุขภาพ จึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก ผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้เพื่อสุขภาพก็เป็นอีกอย่างหนึ่งที่ผู้บริโภคให้ความสนใจ ซึ่งตลาดผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้มีแนวโน้มการผลิตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเม่า หรือ หมากเม่า เป็นผลไม้ไทยที่จัดอยู่ในตระกูลเบอร์รี่ ส่วนใหญ่พบมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย ซึ่งอุดมด้วยคุณค่าทางอาหาร แร่ธาตุและวิตามิน เช่น แคลเซียม เหล็ก วิตามิน บี 1 บี 2 วิตามินซี วิตามินอี นอกจากนี้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยให้อายุยืน สุขภาพแข็งแรง ลดความเสี่ยงจากโรคมะเร็ง ใช้เป็นยาระบายและบำรุงสายตา เนื่องจากผลสุกของเม่ามีสีม่วงแดง ซึ่งมีส่วนประกอบของสารแอนโทไซยานิน ที่เป็นแหล่งสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ โดยแอนโทไซยานิน มีคุณสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity) สามารถลดอาการอักเสบ (anti-inflammatory) ช่วยปกป้องหลอดเลือด ลดโคเลสเตอรอลในเลือด ลดความเสี่ยงของโรคมะเร็งและต้านไวรัส แต่คุณสมบัติเด่นที่สุดของแอนโทไซยานินคือ ประสิทธิภาพในการต้าน อนุมูลอิสระ โดยแอนโทไซยานินมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีและวิตามินอีถึง 2 เท่า จากคุณสมบัติเหล่านี้ หมากเม่าจึงได้รับความสนใจและถูกนำมาแปรรูปเป็นน้ำผลไม้พร้อมดื่ม น้ำผลไม้สกัดเข้มข้น (100%) หรือ ไวน์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์น้ำเม่าในเขตจังหวัดสกลนครและจังหวัดชัยภูมิ โดยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรโฟโทเมทรีและเพื่อเป็นแนวทางในการเลือกบริโภคน้ำเม่าให้เกิดความพึงพอใจสูงสุด และเป็นแนวทางสำหรับการควบคุมของหน่วยงานที่เกี่ยวข้องต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์แอนโทไซยานินในน้ำเม่าโดยสเปกโทรฟลูออโรโฟโทเมทรี

2. เพื่อหาปริมาณแอนโทไซยานินในตัวอย่างน้ำเม่าที่มีจำหน่ายทั่วไปจากแหล่งผลิตต่างกันห้าชนิด

หลักการและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เม่า หรือ หมากเม่า (*Antidesma thwaitesanum* Müell.Arq) เป็นไม้ผลกลุ่มเบอร์รี่ พบกระจายอยู่ในประเทศไทย พบมากที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีประมาณ 18 ชนิด (species) จำนวน 10 สายพันธุ์ [1] เม่าเป็นไม้ยืนต้น ไม่ผลัดใบ ความสูงประมาณ 12-15 เมตร ออกดอกในช่วงเดือนมีนาคมถึงพฤษภาคม และผลจะสุกในช่วงเดือนสิงหาคมถึง

กันยายน ผลหมากเม่าเมื่อสุกมีสีแดงไปจนถึงม่วงเข้ม มีปริมาณแอนโทไซยานิน (anthocyanin) สารประกอบฟีนอลิค (phenolic) สูง และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ หมากเม่า จึงเป็นที่สนใจและถูกส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกในหลายพื้นที่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดสกลนคร นครพนม หนองคาย และ มุกดาหาร จากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลเม่าสุก พบว่า ในผลเม่าสุกมีสารอาหารและแร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกายของมนุษย์หลายชนิดด้วยกัน เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต แคลเซียม เหล็ก วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 และวิตามินอี และที่สำคัญมีกรดอะมิโนมากถึง 18 ชนิด และยังอุดมไปด้วยวิตามินซี และสารแอนโทไซยานินซึ่งให้สีม่วงแดง มีฤทธิ์ทำให้เส้นเลือดมีความยืดหยุ่นดี และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันการแก่ชราของเซลล์และเพิ่มภูมิคุ้มกันอีกด้วย

แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุ หรือสารสีที่พบได้ในผัก ผลไม้ และดอกไม้บางชนิด เช่น กะเพรา โหระพา ใบแมงลัก แครนเบอรรี่ องุ่น พลัม บลูเบอร์รี่ หว้า ดอกอัญชัน กลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และอื่น ๆ ที่มีสีม่วงแดง แอนโทไซยานิน จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ละลายน้ำได้แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว ไม่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) เช่น อีเทอร์ อะซีโตน คลอโรฟอร์ม และเบนซีน เป็นต้น โดยสีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-เบส แอนโทไซยานินมีโครงสร้างเป็นแบบ C6-C3-C6 ซึ่งเป็นไกลโคไซด์ของ 2-phenylbenzopyrylium หรือ flavylium cation ที่มีหลายชนิด แต่มีอยู่ 6 ชนิดเท่านั้นที่พบมาก ได้แก่ pelargonidin, cyanidin, delphinidin, peonidin, petunidin และ malvidin ในธรรมชาติจะพบแอนโทไซยานินมากกว่า 15 ชนิดซึ่งเรียกชื่อแตกต่างกันขึ้นอยู่กับตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่เมทอกซิล

การแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซี (OH) และหมู่เมทอกซี (OCH_3) ของ flavylium ring จะทำให้เกิดสีของแอนโทไซยานิดิน กล่าวคือ การเพิ่มจำนวนของหมู่ไฮดรอกซีจะทำให้เกิดแถบของสีฟ้า ส่วนการเพิ่มจำนวนของหมู่เมทอกซีจะทำให้เกิดสีแดง การเพิ่มจำนวนของหมู่ไฮดรอกซีจะทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) เพิ่มขึ้น ซึ่งสีและการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานิดินแต่ละชนิด และเนื่องจากการแทนที่ของกรดและเบสเกิดขึ้นได้ในหลายตำแหน่งจึงทำให้จำนวนของแอนโทไซยานินมีมากกว่าแอนโทไซยานิดิน 15-20 เท่า โมเลกุลของน้ำตาลที่ต่อกับแอนโทไซยานิดินได้แก่ กลูโคส กาแลกโทส แรมโนส อะราบิโนส ไดแซ็กคาไรด์ และไตรแซ็กคาไรด์โดยแอนโทไซยานินที่พบมากที่สุดคือ 3-monoside, 3-biosides, 3, 5-diglycosides และ 3, 7- diglycosides

จากการศึกษาค้นคว้าปัจจัยที่มีผลต่อความเสถียรของแอนโทไซยานิน พบว่า ปัจจัยทางเคมีและฟิสิกส์ที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัวของแอนโทไซยานินมีผลต่อความเสถียรของแอนโทไซยานินคือ ความเป็นกรด-เบส [2] ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินที่สกัดจากเปลือกมังคุด ได้แก่ พีเอช อุณหภูมิ แสง จากการทดลองพบว่า ที่พีเอชต่ำ (pH 1.0) จะมีความคงตัวมากกว่าที่พีเอชสูง (pH 4.0) ที่อุณหภูมิต่ำ (4°C) จะมีสภาพคงตัวมากกว่าที่อุณหภูมิสูง (30°C) ในสภาพที่ไม่มีแสงแอนโทไซยานินจะคงตัวมากกว่าที่มีแสง [3] ศึกษาผลของกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาต่อเสถียรภาพของแอนโทไซยานินในน้ำเม่า พบว่า น้ำคั้นมีค่า pH 3.5 ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 17.6° Brix แอนโทไซยานินทั้งหมด 17.62 mg/100 mL สารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด 311 mg/100 mL ตรวจพบ polyphenol oxidase (PPO) ซึ่งมีแอ็กติวิตี้ (activity) 2,734 unit/mg protein ตรวจไม่พบวิตามินซี โดยส่วนสกัดหยาบของ PPO จากผลเม่า มีค่าพีเอชที่เหมาะสม pH 6.5 เสถียรภาพของเอนไซม์ต่ำเมื่อบ่มในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ช่วง pH 3.0-9.0 อุณหภูมิ 0°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง อุณหภูมิที่เหมาะสม 20°C และมีเสถียรภาพ

ต่อความร้อนดีเมื่อบ่มในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7.0 ที่อุณหภูมิ 0-60°C เป็นเวลา 10 นาที โดยที่อุณหภูมิ 60°C ยังมี PPO activity เหลืออยู่ถึง 82.39%

วิธีการวิจัย

การหาปริมาณการคืนกลับ

การหาค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (% recovery) โดยใช้ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน (spiked sample) ซึ่งมีข้อจำกัดที่ว่าค่าความถูกต้องที่ได้นั้นจะครอบคลุมเฉพาะขั้นตอนที่วิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานเท่านั้น

$$\text{การคืนกลับ (\%)} = \frac{\text{(ความเข้มข้นจากตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน) - (ความเข้มข้นจากตัวอย่างที่ไม่เติมสารมาตรฐาน)}}{\text{(ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม)}} \times 100$$

เกณฑ์การยอมรับของการคืนกลับขึ้นกับวิธีทดสอบตามมาตรฐานที่ระบุไว้ เช่น เกณฑ์การยอมรับได้สำหรับโลหะหนักในน้ำอยู่ในช่วง 85-115% ถ้าไม่ระบุไว้ให้พิจารณาจากค่าที่ทำได้ทั้งหมดจำนวนมากแล้วจึงตั้งเกณฑ์ขึ้นมาจากค่าที่ดีที่สุด และพิสูจน์ด้วยค่ามาตรฐานที่วิเคราะห์ได้จากวัสดุมาตรฐานอ้างอิง (certified reference materials)

การหาค่า LOD และ LOQ

LOD (limit of detection) หมายถึง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถตรวจวัดได้

LOQ (limit of quantitation) หมายถึง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถหาปริมาณ หรือ รายงานผลควบคู่กับค่าความถูกต้องและค่าความเที่ยงที่ยอมรับได้

ตัวอย่างน้ำเม่า

ตัวอย่างน้ำเม่าที่นำมาวิเคราะห์เป็นน้ำเม่าที่ได้จากผลิตภัณฑ์พื้นบ้านจากแหล่งผลิตต่าง ๆ ในหลายพื้นที่จำนวน 5 ตัวอย่าง

การวิเคราะห์ข้อมูล มีดังนี้

1. การหาค่าความยาวคลื่นสูงสุดของสภาวะกระตุ้น (λ_{max}) และสภาวะการวาวแสง (λ_{max}) ที่เหมาะสม
2. การศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม
3. การสร้างกราฟมาตรฐาน เพื่อหาปริมาณรวมแอนโทไซยานิน
4. การศึกษาปริมาณการคืนกลับ
5. การหาค่า LOD และ LOQ

ผลการวิจัย

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน

ในงานวิจัยนี้ ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำเม่าโดยใช้เครื่องสเปกโทรฟลูออโรโฟโทมิเตอร์ ซึ่งเป็นการตรวจวัดโดยตรงจากสารละลายของน้ำเม่าที่เจือจางแล้วได้ผลการศึกษาดังนี้

การหาสเปกตรัมการกระตุ้น λ_{max} และสเปกตรัมการวาวแสง λ_{max} ของตัวอย่างน้ำเม่าที่เจือจาง 100 เท่า ได้สเปกตรัมดังภาพที่ 1 และภาพที่ 2 พบว่า ค่า λ_{ex} และค่า λ_{em} ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารละลายน้ำเม่า ให้ค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซ็นซ์สัมพัทธ์สูงสุดที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร และ 450 นาโนเมตร ตามลำดับ จึงเลือกใช้ข้อมูลนี้ในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำเม่าด้วยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรโฟโทเมทรี อย่างไรก็ตาม การหาสเปกตรัมการกระตุ้น λ_{max} และสเปกตรัมการวาวแสง λmax ของสารละลายเพลาร์โกนิดินคลอไรด์ (pelargonidin chloride) ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรากฏสเปกตรัมทั้งสองแบบดัง

ภาพที่ 3 และภาพที่ 4 พบว่าค่า λ_{ex} และค่า λ_{em} ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานนี้ให้ค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซ็นซ์สัมพัทธ์สูงสุดที่ความยาวคลื่น 390 นาโนเมตร และ 460 นาโนเมตร ตามลำดับ ดังนั้น จึงเลือกใช้ข้อมูลนี้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน

ผลการศึกษาค่า pH ที่เหมาะสม

ในการศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสมเพื่อวิเคราะห์ปริมาณรวมของแอนโทไซยานินในน้ำเม่าโดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 11 จากผลการทดลองในภาพที่ 5 พบว่า สารละลายบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอช 6 มีค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซ็นซ์สัมพัทธ์สูงสุด ดังนั้น จึงเลือกใช้สารละลายบัฟเฟอร์นี้ในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำเม่า

ผลการศึกษาปริมาณการคืนกลับ

ในการศึกษาอิสระในครั้งนี้ได้ทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธี โดยการหาปริมาณสารคืนกลับของแอนโทไซยานินในตัวอย่างน้ำเม่าจากแหล่งผลิตต่างกัน โดยเจือจางน้ำเม่าด้วยน้ำปราศจากไอออนในอัตราส่วน 1 ต่อ 100 เท่า 25 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดฟลูออเรสเซ็นซ์ด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรโฟโทมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นกระตุ้น 340 นาโนเมตร และความยาวคลื่นวาวแสง 450 นาโนเมตร โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานซึ่งผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่า ร้อยละการคืนกลับของน้ำเม่า M1 จากชัยภูมิจะมีค่าค่อนข้างสูง ถัดมาคือ M2 น้ำเม่าหลวงภูพาน จ.สกลนคร M4 น้ำเม่าไทรทอง จ.สกลนคร M5 น้ำเม่าโคกศรีสุพรรณ จ.สกลนคร และ M3 น้ำเม่าช้างพลังสอง จ.สกลนคร ตามลำดับ โดยวิธีนี้มีค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วง 79.65-90.45

ผลการหาค่า LOD และ LOQ

ในการหาค่า LOD และ LOQ เป็นการศึกษาความใช้ได้ของวิธีการทดลองอีกอย่างหนึ่ง โดยวิธีหาค่า LOD และ LOQ ได้จากการเลือกใช้ความเข้มข้นของสารละลายเพลาร์โกนิดินที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากเป็นความเข้มข้นที่อยู่ในช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน และเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ศึกษากราฟมาตรฐาน โดยทดลองวัดค่าซ้ำความเข้มแสงฟลูออเรสเซ็นซ์สัมพัทธ์สูงสุดที่ความเข้มข้นนี้จำนวน 10 ซ้ำ ผลการตรวจวัดหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด เมื่อนำค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซ็นซ์สัมพัทธ์ของสารละลายเพลาร์โกนิดินไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นเทียบกับกราฟมาตรฐานดังกล่าว พบว่า ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดคือ 0.93 มิลลิกรัมต่อลิตร และขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณคือ 3.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ผลการหาปริมาณรวมแอนโทไซยานินในน้ำเม่า

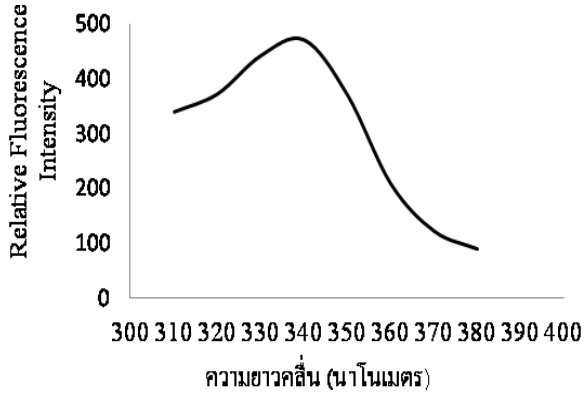
การหาปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำเม่า 100% จากแหล่งผลิตต่าง ๆได้แก่ น้ำเม่าจากจังหวัดชัยภูมิ น้ำเม่าหลวงภูพาน น้ำเม่าช้างพลังสอง น้ำเม่าไทรทอง และน้ำเม่าโคกศรีสุพรรณ จังหวัดสกลนคร ด้วยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรโฟโทเมทรีนั้น โดยการหาปริมาณแอนโทไซยานินจากกราฟมาตรฐานของสารละลายเพลาร์โกนิดินโดยใช้ช่วงความเข้มข้น 2-10 มิลลิกรัมต่อลิตร และนำไปวัดความเข้มแสงฟลูออเรสเซ็นซ์สัมพัทธ์ที่ความยาวคลื่นสูงสุดของการกระตุ้นและการวาวแสงที่ 390 นาโนเมตรและ 460 นาโนเมตร ตามลำดับ จะได้กราฟมาตรฐานดังภาพที่ 6 สมการเส้นตรงคือ $y = 66.076x + 121.33$ และให้ค่าสหสัมพันธ์เชิงเส้น (R^2) 0.9906 จากกราฟมาตรฐานสามารถคำนวณปริมาณรวมแอนโทไซยานินในน้ำเม่าที่ผลิตจากแหล่งต่าง ๆ จำนวน 5 แหล่งผลิต (ตารางที่ 1) พบว่า ปริมาณแอนโทไซยานินในตัวอย่างน้ำเม่าทั้ง 5 แหล่งผลิตมีค่าไม่แตกต่างกัน อยู่ในช่วง 305.60 ถึง 347.13 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยน้ำเม่า M2 เม่าหลวงภูพาน จ.สกลนคร มีปริมาณสูงที่สุด ถัดมาคือ M4 น้ำเม่าไทรทอง จ.สกลนคร M5 น้ำเม่าโคกศรีสุพรรณ จ.สกลนคร M3 น้ำเม่าช้างพลังสอง จ.สกลนคร และ M1 น้ำเม่าจาก จ.ชัยภูมิ

บทสรุป

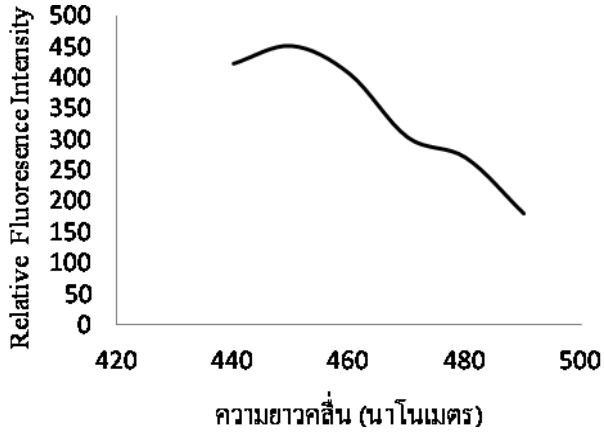
การศึกษานี้ได้ศึกษาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำเม่าโดยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรโฟโทเมทรี ซึ่งได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหาปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำเม่า สภาวะที่ใช้ศึกษาคือ การหาสเปกตรัมการกระตุ้น λ_{max} และสเปกตรัมการวาวแสง λ_{max} ที่เหมาะสม การหาค่า pH ที่เหมาะสมเพื่อใช้การหาปริมาณรวมแอนโทไซยานินในน้ำเม่า การสร้างกราฟมาตรฐาน การศึกษาร้อยละการคืนกลับ และการหาค่า LOD และ LOQ จากการศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม พบว่าสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 6 จะให้ค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซ็นซ์สัมพัทธ์สูงสุด ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 6 เป็นตัวทำละลาย ส่วนการหาปริมาณรวมแอนโทไซยานินจากกราฟมาตรฐานของสารละลายเพลาร์โกนิดินนั้น ให้นำไปวัดค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซ็นซ์สัมพัทธ์สูงสุดที่ความยาวคลื่นสูงสุดของการกระตุ้นและการวาวแสงที่ 390 นาโนเมตรและ 460 นาโนเมตร ตามลำดับ เมื่อหาปริมาณแอนโทไซยานินโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน พบว่า น้ำเม่าจากเม่าหลวงภูพาน จ. สกลนคร มีปริมาณแอนโทไซยานินค่อนข้างสูง 347.13 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนน้ำเม่า จ.ชัยภูมิ มีปริมาณแอนโทไซยานินค่อนข้างต่ำ 305.60 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เมื่อพิจารณาปริมาณรวมแอนโทไซยานินในน้ำเม่าทั้ง 5 แหล่งผลิตนั้นจะมีค่าแตกต่างกันไม่มากนัก

เอกสารอ้างอิง

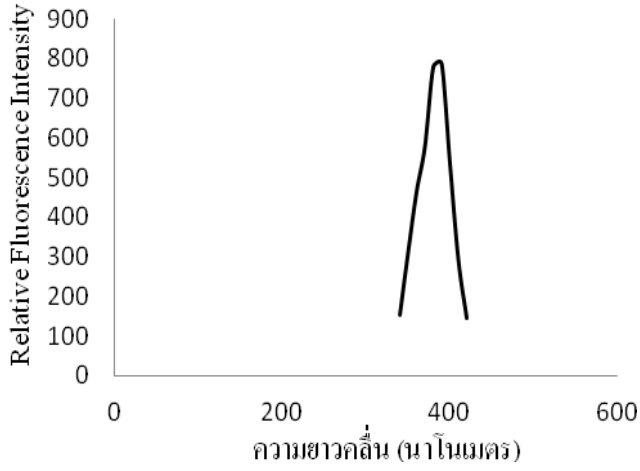
1. Hoffmann P. Checklist of the Genus Antidesma (*Euphorbiaceae*) in Thailand. Thai. For. Bull, 2000 ; 28: 139– 156.
2. Palakajornsak Y. Extraction and Stability of Anthocyanins fron Mangosteen peel. [MSc thesis]. Bangkok: Silpakorn University, 2004.
3. Wongsiri S. Effects of processing and storage on anthocyanins stability in the juice of MAO Antidesma sp. [MSc thesis]. Bangkok: Chulalongkorn University, 2003.



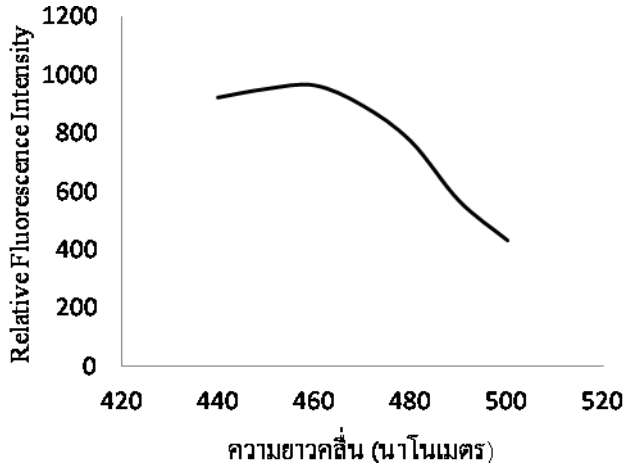
ภาพที่ 1 สเปกตรัมการกระตุ้นของน้ำเม่าที่เจือจาง 100 เท่า



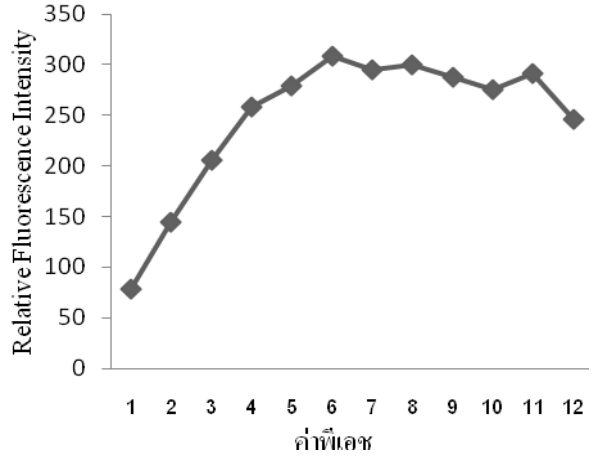
ภาพที่ 2 สเปกตรัมการวาวแสงของน้ำเม่าที่เจือจาง 100 เท่า



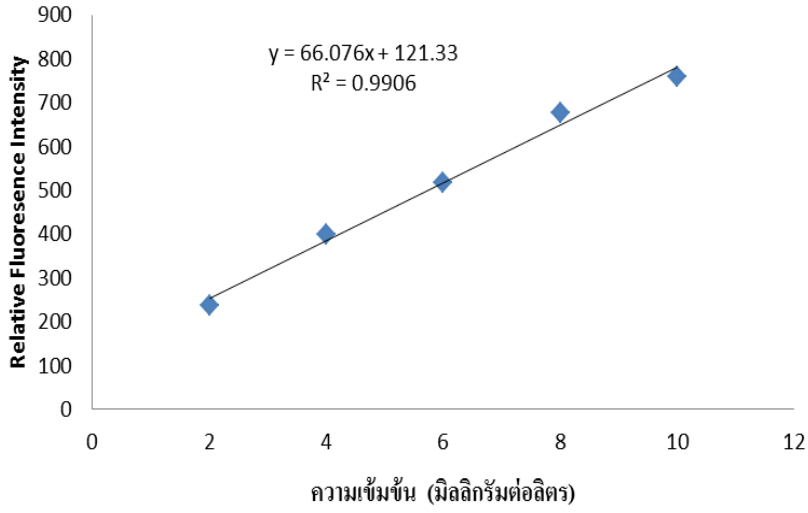
ภาพที่ 3 สเปกตรัมการกระตุ้นของสารละลายเพลาร์โกนิดิน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4 สเปกตรัมการวาวแสงของสารละลายเพลาร์โกนิดิน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 5 ผลของค่าพีเอชที่มีต่อความเข้มของฟลูออเรสเซ็นซ์ของแอนโทไซยานินในน้ำเม่าที่เจือจาง 100 เท่า เมื่อกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตรและวาวแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร



ภาพที่ 6 กราฟมาตรฐานของสารละลายเพลาร์โกนิดิน เมื่อกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 390 นาโนเมตร และวาวแสงที่ความยาวคลื่น 460 นาโนเมตร

ตารางที่ 1 ปริมาณและการคืนกลับของแอนโทไซยานินในตัวอย่างน้ำเม่า 5 ชนิด

สารตัวอย่าง	ปริมาณ (mg/L)	การคืนกลับ
M 1	305.60±29.58	90.53 ± 5.08
M 2	347.13±14.67	89.43 ± 0.50
M 3	321.43±26.54	79.97 ± 1.26
M 4	341.10±22.99	87.62 ± 2.79
M 5	336.77±12.82	82.02 ± 2.81