abst

ข้อมูลข่าวสาร วศ.

ข้อมูลข่าวสารของกรมวิทยาศาสตร์บริการ
ตาม พ.ร.บ. ข้อมูลข่าวสารของราชการ พ.ศ. 2540

วศ
กช
อว 5

เอกสารผลงานที่เสนอให้ประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่ง

นักวิทยาศาสตร์ 6 ว

เรื่องที่ 1

การศึกษาเปรียบเทียบสารละลายที่ใช้ในการสกัดวิตะมินซี จากตัวอย่างน้ำผลไม้

โดย

นางสาวนงนุช เมธียนต์พิริยะ

นักวิทยาศาสตร์ 5

กลุ่มงานชีวเคมี

กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อม

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

เลขหมู่ วท
ว25
เลขทะเบียน 9870
วันที่ 4 มิ.ย. 44

บทคัดย่อ

ด้วยอภินันทนาการ
จาก
วท.

การวิเคราะห์ปริมาณวิตะมินซีมีหลายวิธี แต่จะให้ได้ผลที่แม่นยำนั้นนอกจากวิธีวิเคราะห์จะต้องมีประสิทธิภาพสูงแล้ว การสกัดวิตะมินซีจากตัวอย่างก็มีความสำคัญมาก เพราะวิตะมินซีไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงได้ทำการศึกษาสารละลายที่ใช้สกัดวิตะมินซีจากตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์ด้วยสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ โดยเปรียบเทียบกัน 3 ชนิด คือ สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 6% สารละลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติกและอีดีทีเอ และสารละลายกรดออกซาลิก 5%

จากการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารละลายทั้งสามชนิดที่ใช้สกัดตัวอย่างน้ำส้ม 25% ด้วยวิธี spike พบว่าปริมาณที่คืนกลับของวิตะมินซีที่ใช้สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกและสารละลายกรดออกซาลิกได้ใกล้เคียงกันคือ ร้อยละ 99.17 และร้อยละ103 ตามลำดับ ส่วนของสารละลายผสมนั้นได้ค่าปริมาณที่คืนกลับต่ำกว่าคือ ร้อยละ 97.5 และจากการทดสอบทางสถิติด้วยวิธีแบบเอฟ (F-test) พบว่าสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกและสารละลายกรดออกซาลิกไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่สารละลายลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติกและอีดีทีเอ กับสารละลายกรดออกซาลิกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ได้นำสารละลายทั้งสามมาศึกษาเปรียบเทียบความแม่นยำในการสกัดวิตะมินซีจากตัวอย่าง พบว่าสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกและสารละลายกรดออกซาลิกมีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.8623 และ 0.9403 ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่าให้ค่าความแม่นยำกว่าสารละลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติกและอีดีทีเอ ที่มีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.3290 ดังนั้นจึงใช้สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกและสารละลายกรดออกซาลิกเป็นสารสกัดตัวอย่างน้ำผลไม้ชนิดต่างๆจำนวน 11 ตัวอย่าง เพื่อหาปริมาณวิตะมินซี พบว่าปริมาณของวิตะมินซีในน้ำผลไม้อยู่ในช่วง 0.16 - 20.48 มิลลิกรัม/100กรัม และเมื่อเปรียบเทียบข้อดี-ข้อเสียของสารละลายทั้งสามชนิดแล้ว จึงสรุปได้ว่าสารสกัดตัวอย่างที่สามารถสกัดวิตะมินซีในตัวอย่างน้ำผลไม้ได้ดีที่สุดคือ สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก สารละลายกรดออกซาลิกรองลงมา และสารละลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติก และอีดีทีเอ ต่ำที่สุด

ข้อมูลข่าวสารของกรมวิทยาศาสตร์บริการ
ตาม พ.ร.บ. ข้อมูลข่าวสารของราชการ พ.ศ. 2540

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	i
สารบัญ	ii
สารบัญรูปและตาราง	iii
สารบัญภาคผนวก	iv
บทนำ	1
- วัตถุประสงค์	5
- ประโยชน์ที่ได้รับ	5
- ระยะเวลาดำเนินการ	5
วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	6
ผลการทดลอง	11
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	16
กิตติกรรมประกาศ	19
เอกสารอ้างอิง	20
ภาคผนวก	22

สารบัญรูปและตาราง

หน้า

รูปที่ 1 ปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันและรีดักชันของวิตะมินซี 1

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณที่คืนกลับเมื่อเติมสารละลายมาตรฐานวิตะมินซี 5 ไมโครกรัม ในตัวอย่างน้ำส้ม 25% 13

ตารางที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบความแม่นยำในการหาปริมาณวิตะมินซีในตัวอย่างน้ำส้ม 25% เมื่อใช้สารละลายที่ใช้ในการสกัดวิตะมินซี 3 ชนิด 14

ตารางที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบวิตะมินซีในตัวอย่างน้ำผลไม้ต่างๆ เมื่อใช้สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกและสารละลายกรดออกซาลิกที่ใช้ในการสกัดวิตะมินซี 15

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบข้อดี- ข้อเสีย ของสารละลายที่ใช้ในการสกัดวิตะมินซี 17

สารบัญภาคผนวก

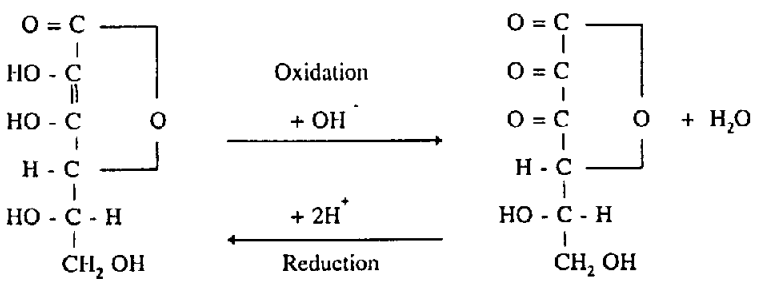
หน้า

รูปที่ 2	กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานวิตะมินซี	23
ตารางที่ 2	ตารางค่า F	24
รูปที่ 3	กราฟแสดงปริมาณวิตะมินซีในตัวอย่างน้ำผลไม้เมื่อใช้สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกและสารละลายกรดออกซาลิก	25

บทนำ

วิตะมินซีหรือกรดแอสคอร์บิค (ascorbic acid) มีสูตรทางเคมี $C_6H_8O_6$ (MW 176.12) ลักษณะเป็นผลึกหรือผงสีขาว ละลายได้ดีในน้ำ และในเอทานอลบริสุทธิ์ ไม่ละลายในคลอโรฟอร์ม ในสภาพของสารละลาย 0.5% จะเป็นกรดแก่ [1,2] (ค่าความเป็นกรด-ด่าง 2.2-2.55) นิยมใช้ในรูปของเกลือโซเดียมหรือแคลเซียม เช่น โซเดียมแอสคอร์เบต (sodium ascorbate) ซึ่งละลายได้ดีในน้ำ แต่ไม่ละลายในเอทานอล อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.6-7.0 แอสคอร์บิลพาลมิเตท (ascorbyl palmitate) จะคงสภาพและละลายได้ดีในไขมันและไม่ละลายในน้ำ ละลายในเอทานอล และละลายได้เล็กน้อยในอีเทอร์ การละลายในน้ำมันพืชที่อุณหภูมิห้องจะช้ามากแต่จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น [1]

ในธรรมชาติวิตะมินซีจะมีอยู่หลายรูปแบบ (ไอโซเมอร์) แต่มีอยู่เพียงสองรูปแบบเท่านั้นที่มีสมบัติทางชีวเคมี [3] คือ L-ascorbic acid (reduced form) และ L-dehydroascorbic acid (oxidized form) เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของวิตะมินซีนั้น มี di-enol group ตำแหน่งที่ 2 และ 3 ของคาร์บอนอะตอม จึงมีความไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน เปลี่ยนกรดแอสคอร์บิกเป็น diketo group คือ L-dehydroascorbic acid ปฏิกิริยาของการออกซิเดชันในขั้นนี้เป็นปฏิกิริยาชนิดย้อนได้ (reverse oxidation) (ดูรูปที่ 1) ดังนั้นในธรรมชาติ L-ascorbic acid และ L-dehydroascorbic acid มักจะอยู่ในสภาพที่สมดุลกันในอาหาร



รูปที่ 1 ปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันและรีดักชันของวิตะมินซี

วิตะมินซีทั้งสองรูปแบบนี้ร่างกายสามารถใช้ประโยชน์ได้เหมือนกัน หน้าที่สำคัญในร่างกายคือ [1,2,3,4]

1. เป็นสารจำเป็นในการเปลี่ยนโปรลีน (proline) ให้เป็นไฮดร็อกซีโปรลีน (hydroxy-proline) ที่ใช้ในขบวนการสร้างคอลลาเจน (collagen) ซึ่งมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการสมานแผล
2. เป็นสารจำเป็นในการเปลี่ยนกรดโฟลิก (folic acid) เป็นกรดเตตราไฮโดรโฟลิก (tetrahydrofolic acid) ซึ่งใช้ในการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก
3. ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมธาตุเหล็กในอาหาร โดยการเปลี่ยน Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} ซึ่งร่างกายสามารถดูดซึมได้ที่ลำไส้เล็ก
4. เป็นสารที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสังเคราะห์ฮอร์โมน epinephrine จากต่อมหมวกไต
5. เป็นสารจำเป็นในกระบวนการเมตาบอลิซึมของกรดอะมิโนบางตัว เช่น ทริปโตเฟน (tryptophan) และไทโรซีน (tyrosine)

ปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับบทบาทของสารอาหารต่อหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกันอย่างกว้างขวางขึ้น จากรายงานการทดลองที่แสดงผลการเสริมซึ่งกันและกันของวิตะมินซีและวิตะมินอีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกในมนุษย์และสัตว์ จึงมีข้อเสนอแนะว่าการเสริมวิตะมินซีและวิตะมินอีอาจเป็นผลในการลดความจำเป็นที่จะใช้วิธีรักษาทางเคมีหรือการฉายรังสีของผู้เป็นโรคเนื้องอกหรือโรคมะเร็งได้

ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร วิตะมินซึ่งถูกนำมาใช้ในกระบวนการผลิตโดยมีวัตถุประสงค์ที่สำคัญคือ [2,3]

(1) ในอุตสาหกรรมอาหารประเภทผัก เนื้อสัตว์ อาหารทะเล เบียร์ เหล้าไวน์ การเติมวิตะมินซีลงไปจะช่วยให้สีและความสดของอาหารเปลี่ยนแปลงน้อยลง

(2) วิตะมินซีสามารถชะลอการเกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ หรือมีกลิ่นหืน ในอาหารน้ำมันและไขมันบริโภค และผลิตภัณฑ์นม

(3) ช่วยทำให้แป้งที่นวดแล้ว (dough) ขึ้นฟูดีขึ้น

(4) วิตะมินซีจะช่วยป้องกันการเกิดสารไนโตรซามีน (nitrosamine เป็นสารก่อมะเร็ง) ซึ่งมีสาเหตุจากการใช้ไนไตรท์และไนเตรทในผลิตภัณฑ์เนื้อ

(5) การเติมวิตะมินซีในเครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้จะช่วยทดแทนวิตะมินซีที่มีตามธรรมชาติที่สลายไปในระหว่างกระบวนการผลิต

แม้ว่าวิตะมินซีจะมีประโยชน์หลายประการแต่มนุษย์ไม่สามารถสร้างเองได้ จะต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น ความต้องการวิตะมินซีของคนนั้นแตกต่างกันตามอายุและเพศ ตาม Food and Nutrition Board[5] กำหนดว่า ผู้ใหญ่ควรรับประทานอาหารที่มีวิตะมินซี 70-75 มิลลิกรัม/วัน คนหนุ่ม-สาว 70-100 มิลลิกรัม/วัน เด็ก 30-36 มิลลิกรัม/วัน และ 100-150 มิลลิกรัม/วัน สำหรับหญิงมีครรภ์และหญิงให้นมลูก การที่วิตะมินซีมีความสำคัญต่อสุขภาพจึงได้มีการเติมวิตะมินซีในอาหารหลายประเภท โดยเฉพาะเครื่องดื่ม เช่น น้ำผลไม้ ซึ่งในต่างประเทศได้มีการกำหนดให้แจ้งปริมาณของวิตะมินซีในน้ำผลไม้ แต่ในประเทศไทยยังไม่มีข้อกำหนดในเรื่องนี้ ในปัจจุบันคนไทยมีความสนใจในเรื่องอาหารเพื่อสุขภาพมากขึ้น มีการนิยมดื่มน้ำผลไม้ที่มีวิตะมินซีเพิ่มมากขึ้น

การวิเคราะห์ปริมาณของวิตะมินซีนั้นมีหลายวิธี เช่น วิธีการไทเตรทวิตะมินซีกับสารละลาย 2,6 - dichlorophenolindophenol[6] (2,6-DCP) ในทางปฏิบัติวิธีนี้ไม่ยุ่งยาก อุปกรณ์และเครื่องมือไม่ซับซ้อน 2,6-DCP เป็นสารสีน้ำเงินเข้ม แต่ไม่มีสีเมื่ออยู่ในสภาพรีดิวส์ ดังนั้นเมื่อนำสารละลายที่มีวิตะมินซีมาไทเตรทกับ 2,6-DCP จนถึงจุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน วิธีนี้มีข้อเสียคือ[3] มีสารหลายชนิดที่รบกวนปฏิกิริยาระหว่างการไทเตรท เช่น เหล็ก ทองแดง ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เม็ดสี แทนนิน เป็นต้น วิธีป้องกันมิให้มีการรบกวนปฏิกิริยา เช่น กรณีที่ตัวอย่างมีสารซัลเฟอร์ไดออกไซด์อยู่ จะเติมอะซีโตนเพื่อให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนของอะซีโตนไบซัลไฟท์ก่อนที่จะนำไปไทเตรท

จากสมบัติของ 2,6-DCP ที่เมื่ออยู่ในรูปของออกซิไดส์จะมีสีน้ำเงินอมม่วงในสารละลายที่เป็นกลางหรือด่าง และมีสีชมพูในสารละลายที่เป็นกรด และไม่มีสีเมื่อถูกรีดิวส์ ในวิธีการไทเตรทหาปริมาณวิตะมินซีใช้หลักการ คือ เมื่อไทเตรทสารละลายตัวอย่างที่อยู่ในสารละลายที่เป็นกรดด้วย 2,6-DCP ที่ทราบค่าความเข้มข้นแล้ว เมื่อถึงจุดยุติ จะเกิดสีชมพูของ 2,6-DCP ซึ่งเป็นส่วนเกินที่ไม่ถูกรีดิวส์ (ไม่ทำปฏิกิริยา) จากสมบัติข้อนี้ เราสามารถนำมาดัดแปลงหาปริมาณวิตะมินซีโดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสาร 2,6-DCP ส่วนเกินที่ไม่ถูกรีดิวส์ในสารละลายตัวอย่างที่เป็นกรด ที่เป็นสี

ชมพู โดยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร กล่าวคือสามารถหาความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสาร 2,6-DCP ภายหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานวิตะมินซีที่ค่าความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างสารทั้งสอง จากนั้นเมื่อนำสารละลายตัวอย่างมาทำปฏิกิริยากับ 2,6-DCP แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร นำมาคำนวณหาปริมาณของวิตะมินซีในสารละลายตัวอย่างได้จากกราฟมาตรฐาน วิธีนี้นอกจากจะไม่ยุ่งยากแล้ว ยังสามารถขจัดปัญหาของสารละลายตัวอย่างที่มีสีได้ โดยการทำ blank ของตัวอย่าง นำค่าการดูดกลืนแสงของ blank ลบออกจากค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างจะได้ค่าที่แท้จริงของตัวอย่าง

อีกวิธีหนึ่งที่ค่อนข้างจะเฉพาะเจาะจงสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณวิตะมินซีทั้งหมด คือ Fluorimetric method[7] ซึ่งได้พัฒนาโดย Deutsch and Weeks (1965)[8] วิธีนี้มีหลักการของปฏิกริยาควบคู่ (coupling reaction) ของ o-phenylenediamine ต่อ cis hydroxyl group ของ L - dehydroascorbic acid (DHAA) ได้สารประกอบที่อยู่ในรูปของ fluorescent quinoxaline derivative

ปัจจุบันได้มีการนำเครื่องมือ High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) มาใช้ในการวิเคราะห์วิตะมินซี[9,10,11,112] วิธีนี้จะได้ผลดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น การเลือกสารละลายที่เหมาะสม สามารถสกัดวิตะมินซีจากตัวอย่างได้อย่างสมบูรณ์ การเลือกใช้คอลัมน์ ตลอดจนการใช้สารละลายเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นต้น วิธีนี้มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างแพง และยังต้องมีการปรับปรุงวิธีการวิเคราะห์อีกมาก

การวิเคราะห์วิตะมินซีให้ได้ผลที่แม่นยำนั้นนอกจากวิธีที่ใช้วิเคราะห์จะต้องมีประสิทธิภาพสูงแล้วจุดสำคัญอีกประการหนึ่งคือวิธีการสกัดวิตะมินซีจากตัวอย่างนั่นเอง[13] ในธรรมชาติวิตะมินซี (ascorbic acid, AA) จะถูกออกซิไดส์เป็น L - dehydro ascorbic acid (DHAA) และในที่สุดจะถูกเปลี่ยนเป็น non-biologically active diketo dulonic acid ดังนั้นในการสกัดวิตะมินซีจะต้องป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือให้เกิดได้น้อยที่สุด นอกจากนั้นสารอาหารหรือส่วนประกอบของอาหารบางชนิดจะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น เอนไซม์ออกซิเดสจะเป็นตัวย่อยสลายวิตะมินซีในระหว่างการเตรียมตัวอย่าง และแร่ธาตุบางชนิดที่มีอยู่ในวัตถุดิบก็จะช่วยเร่งให้เกิดการออกซิไดส์ให้เร็วขึ้นด้วย การใช้สารสกัดชนิดใดก็ตาม สารนั้นจะต้องสามารถทำให้วิตะมินซีมีความคงตัว ไม่สูญสลายง่ายระหว่างการวิเคราะห์ การใช้สารสกัดต่างๆยังมิ

ได้มีการศึกษาเปรียบเทียบไว้เป็นแนวทางสำหรับให้นักวิเคราะห์ปฏิบัติตาม ดังนั้นจึงเป็นสาเหตุจูงใจให้ได้ทำการศึกษาทดลองในเรื่องนี้ สำหรับนำมาใช้เป็นวิธีการวิเคราะห์วิตะมินซีในหน่วยงานต่อไป

วัตถุประสงค์

ศึกษาเปรียบเทียบสารละลายที่ใช้ในการสกัดวิตะมินซีจากตัวอย่างน้ำผลไม้

ประโยชน์ที่ได้รับ

-ได้สารละลายที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัดวิตะมินซีในน้ำผลไม้

-ได้ข้อมูลเกี่ยวกับปริมาณวิตะมินซีในน้ำผลไม้ที่มีจำหน่ายทั่วไปและไม่มีการระบุปริมาณไว้บนฉลาก

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี

เดือน ธันวาคม 2539 - พฤศจิกายน 2540

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

1 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาทดลอง

1.1 ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารละลาย 3 ชนิดที่ใช้สกัดตัวอย่างเพื่อ วิเคราะห์วิตะมินซี ตัวอย่างที่ใช้ทดลองคือ น้ำส้ม 25% จำนวน 6 ชุด แต่ละการทดลองในแต่ละชุดตัวอย่างทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

1.2 ในการเปรียบเทียบความแม่นยำในการวิเคราะห์วิตะมินซี ตัวอย่างที่ใช้ทดลองคือ น้ำส้ม 25% จำนวน 6 ชุด แต่ละการทดลองในแต่ละชุดตัวอย่างทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

1.3 ในการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ จำนวน 11 ตัวอย่างและทุกตัวอย่างทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (ตัวอย่าง 11 ตัวอย่างนี้เป็นตัวอย่างน้ำผลไม้บรรจุกระป๋อง ซื้อจากร้านค้าในกรุงเทพมหานคร)

(1) น้ำส้ม 100 % ตรามาลี
(2) น้ำส้ม 25% ตรามาลี
(3) น้ำแอปเปิ้ล25% ตรามาลี
(4) น้ำสับปะรด 50 % ตรามาลี
(5) น้ำเสาวรส 25 % ตรามาลี
(6) น้ำเสาวรส 25% ตราดอยคำ
(7) น้ำสับปะรด 25% ตรา ซีไซด์
(8) น้ำองุ่น 30 % ตรายูเอฟซี
(9) น้ำมะม่วง 30% ตรา ยูเอฟซี
(10) น้ำฝรั่ง 25% ตรา ยูเอฟซี
(11) น้ำส้ม 20 % ตรา คาปริ-ซอน

2. เครื่องมือและอุปกรณ์

2.1 UV-VIS Spectrophotometer (JASCO) ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร พร้อม cuvette cell ชนิดควอทซ์เซล ขนาด 10 มิลลิลิตร และความกว้างแสงผ่าน 10 มิลลิเมตร

2.2 เครื่องชั่งชนิดชั่งได้ละเอียด 0.0001 กรัม

2.3 ขวดปริมาตร 25 50 และ 100 มิลลิลิตร

2.4 ปิเปตต์ขนาด 1 5 และ 10 มิลลิลิตร

2.5 ขวดรูปชมพู่ขนาด 25 มิลลิลิตร

2.6 บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร

3. สารเคมีและวิธีเตรียม (สารเคมีทุกชนิด ชั้นคุณภาพวิเคราะห์)

3.1 สารละลายสำหรับสกัดวิตะมินซีในตัวอย่าง ใช้สารละลาย 3 ชนิด

3.1.1 สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 6%

3.1.2 สารละลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติกและอีดีทีเอ

3.1.3 สารละลายกรดออกซาลิก 5%

3.2 สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 6% (น้ำหนัก/ปริมาตร)

ชั่งกรดเมตาฟอสฟอริก (ชนิดแท่ง) 60.0 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดปริมาตร ทำเป็น 1 ลิตร

3.3 สารละลายกรดฟอสฟอริก 3% (น้ำหนัก/ปริมาตร)

เจือจางสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก (3.2) ด้วยน้ำกลั่น (1+1) เตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนใช้

3.4 สารละลายบัฟเฟอร์ซิเตรท (citrate buffer solution , pH 4.5)

ชั่งไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 142 กรัม และกรดซิตริก 126 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดปริมาตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร แล้วปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 4.5

3.5 สารละลาย 2,6- dichlorophenolindophenol dye (Stock solution)

ชั่ง 2,6- dichlorophenolindophenol dye 0.0900 กรัม ละลายด้วยน้ำร้อนประมาณ 50 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายลงในขวดแก้วปริมาตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น กรองด้วยกระดาษกรองวัตต์แมน เบอร์ 54 ใส่ขวดสีชา เก็บในตู้เย็น 4-8 องศาเซลเซียส ใช้ได้ไม่เกิน 1 เดือน

3.6 สารละลายเจือจาง 2,6- dichlorophenolindophenol dye

ปิเปตต์สารละลายข้อ 3.5 จำนวน 3 มิลลิลิตร ใส่ขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.7 สารละลายมาตรฐานวิตะมินซีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร

ชั่งสารมาตรฐานวิตะมินซีความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 99.0 % จำนวน 0.0025 กรัม ละลายด้วยสารละลายข้อ 3.2 ถ่ายใส่ขวดปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายข้อ 3.2 จนถึงขีดปริมาตร

3.8 สารละลายมาตรฐานวิตะมินซีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร

ปิเปตต์สารละลายข้อ 3.7 จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายข้อ 3.3 จนถึงขีดปริมาตร

3.9 สารละลายมาตรฐานวิตะมินซีความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร

ปิเปตต์สารละลายข้อ 3.8 จำนวน10 มิลลิลิตร ใส่ขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายข้อ 5.2 จนถึงขีดปริมาตร

3.10 สารละลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติก และอีดีทีเอ

ผสมสารละลายผสมเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติก (ก) กับสารละลายอีดีทีเอ (ข) อัตราส่วน 1: 1 เมื่อต้องการใช้

(ก) สารละลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติก

ชั่งกรดเมตาฟอสฟอริกเข้มข้น (85%) จำนวน 15 กรัมใส่ในขวดปริมาตร 250 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดอะซีติก 40 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

(ข) สารละลายอีดีทีเอ

ชั่ง อีดีทีเอ 0.9000 กรัมละลายด้วยน้ำกลั่นใส่ในขวดปริมาตร 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.11 สารละลายกรดออกซาลิก 5%

ชั่งกรดออกซาลิก 50.00 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ในขวดแก้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

4. การดำเนินงาน

4.1 วิธีเตรียมกราฟมาตรฐาน

-ปิเปตต์สารละลายข้อ 3.9 ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 25 มิลลิลิตร 6 ใบ จำนวน 0.0 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ปริมาณวิตะมินซี 0 5 10 15 20 และ 25 ไมโครกรัม) เติมสารละลายข้อ 3.3 ให้ได้ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เท่ากันทุกขวด ในแต่ละขวดเติมสารละลาย (โดยใช้ปิเปตต์) จำนวนต่างๆ ดังนี้

สารละลายข้อ 3.4	4 มิลลิลิตร
สารละลายข้อ 3.6	3 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสง (A)โดยใช้เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ใช้ควอทซ์เซลขนาด 10 มิลลิลิตร และช่องแสง 10 มิลลิเมตร ทั้งนี้จะต้องทำให้เสร็จภายใน 10 วินาทีภายหลังจากเติมสารละลายข้อ 3.6

-วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย blank ของสารละลายมาตรฐานโดยปิเปตต์สารละลายมาตรฐานวิตะมินซีข้อ 3.9 จำนวน 2.5 มิลลิลิตรลงในขวดชมพู่ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมสารละลายข้อ 3.7 จำนวน 0.5 มิลลิลิตร สารละลายข้อ 3.4 จำนวน 4 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายข้อ 3.6 จำนวน 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร (B)

$$A \text{ corrected} = (A - B)$$

เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของวิตะมินซี (แกน x) และ A corrected (แกน y) (ดูรูปที่ 2)

4.2 การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 10 กรัมใส่ในขวดปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายสกัดวิตะมินซีข้อ 3.2 จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน กรองสารละลายตัวอย่างด้วยกระดาษกรองวัตต์แมนเบอร์ 2

4.3 การวิเคราะห์วิตะมินซีในตัวอย่าง

-ปิเปตต์สารละลายตัวอย่าง 2.5 มิลลิลิตรจากข้อ 4.2 ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 25 มิลลิลิตร ติมสารละลายข้อ 3.3 จำนวน 0.5 มิลลิลิตร สาร

ละลายข้อ 3.4 จำนวน 4 มิลลิลิตร แล้วผสมสารละลายข้อ 3.6 จำนวน 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสง (A) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

-วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย blank ของตัวอย่างโดยปิเปตต์สารละลายตัวอย่าง 2.5 มิลลิลิตรใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 3.7 จำนวน 0.5 มิลลิลิตร สารละลายข้อ 3.4 จำนวน 4 มิลลิลิตร และสารละลายข้อ 3.6 จำนวน 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร (B)

-นำค่าการดูดกลืนแสงที่แท้จริง (A corrected)มาคำนวณหาปริมาณวิตะมินซีจากกราฟมาตรฐาน

4.4 ใช้สารสกัดข้อ 3.10 และข้อ 3.11 แล้วดำเนินการตั้งแต่ ข้อ 4.2 - 4.3

4.5 การทดลองหาร้อยละของปริมาณที่คืนกลับได้ของสารละลายมาตราฐานวิตะมินซี (% Recovery) เมื่อใช้สารละลายสกัดวิตะมินซี 3 ชนิด

-เตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 4.2 แต่เติมสารมาตรฐานวิตะมินซีจำนวน 5 ไมโครกรัมก่อนปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร โดยใช้สารละลายสกัดตัวอย่างข้อ 3.2 3.10 และ 3.11 ตามลำดับ แล้วดำเนินการต่อไปตามข้อ 4.3

-เปรียบเทียบปริมาณวิตะมินซีที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารมาตรฐานวิตะมินซีและเมื่อเติมสารมาตรฐานวิตะมินซี แล้วคำนวณเป็นค่า % recovery

4.6 การวิเคราะห์หาความแม่นยำ

ดำเนินการวิเคราะห์วิตะมินซีในตัวอย่างน้ำส้ม 25% (ตามข้อ 4.2 - 4.3)โดยใช้สารละลายที่ใช้ในการสกัดวิตะมินซีจากตัวอย่าง 3 ชนิด (สารละลายข้อ 3.2 3.10 และ 3.11) แต่ละชนิดจำนวน 6 ซ้ำ แล้วดำเนินตามข้อ 4.2 - 4.3 นำปริมาณวิตะมินซีที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.7 การวิเคราะห์วิตะมินซีในตัวอย่าง 11 ตัวอย่าง

ดำเนินการวิเคราะห์วิตะมินซีในตัวอย่าง 11 ตัวอย่าง โดยใช้สารละลายที่ใช้สกัดวิตะมินซีจากตัวอย่าง 2 ชนิด (สารละลายข้อ 3.2 และ 3.11) แต่ละตัวอย่างจำนวน 3 ซ้ำ แล้วดำเนินตามข้อ 4.2 - 4.3

ผลการทดลอง

จากการทดลองใช้สารละลายที่ใช้สกัดตัวอย่าง 3 ชนิดและวิเคราะห์วิตะมินซีในตัวอย่างน้ำส้ม 25% ได้ปริมาณสารที่ได้คืนกลับเมื่อใช้สารละลายที่ใช้สกัดตัวอย่างสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกเท่ากับ 99.17% สารละลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติก และอีดีทีเอ 97.5% และสารละลายกรดออกซาลิก 103% ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 นอกจากนี้ได้ทำการทดสอบทางสถิติเพื่อทดสอบว่าทั้งสามวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ โดยใช้วิธีทดสอบแบบซึ่งพิจารณาจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเป็นเกณฑ์ F เป็นอัตราส่วนของแวเรียนซ์ (variance) หรือ S ยกกำลังสอง (กำลังสองของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

$F = S_1^2 \div S_2^2$ โดยที่ $S_1^2 > S_2^2$

เมื่อ S_1^2 เป็นค่าแวเรียนซ์ของผลการทดลองโดยวิธีที่1

S_2^2 เป็นค่าแวเรียนซ์ของผลการทดลองโดยวิธีที่2

V1 เป็นค่า degree of freedom ของผลการทดลองโดยวิธีที่ 1 = n_1-1

V2 เป็นค่า degree of freedom ของผลการทดลองโดยวิธีที่ 2 = n_2-1

นำค่าที่ได้จากการคำนวณมาเปรียบเทียบกับค่าในตารางที่ 2 พบว่าเมื่อนำสารละลายที่ใช้สกัดวิตะมินซีจากตัวอย่างที่หนึ่งคือสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกมาเปรียบเทียบกับสารละลายที่สองคือสารละลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติก และอีดีทีเอ จะได้ค่า F เท่ากับ 2.259 และเมื่อนำสารละลายที่หนึ่งมาเปรียบเทียบกับสารละลายที่สาม คือสารละลายกรดออกซาลิก ได้ค่า F เท่ากับ 3.437 และเมื่อนำสารละลายที่สองมาเปรียบเทียบกับสารละลายที่สามจะได้ค่า F เท่ากับ 7.76 แต่ค่า F จากตารางที่ 2 เมื่อ V1 เท่ากับ 5 และ V2 เท่ากับ 5 จะได้ค่า F เท่ากับ 5.05 ดังนั้นจะพบว่า ค่า F จากการคำนวณเมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองโดยใช้สารละลายที่สองกับสารละลายที่สามจะได้ค่า F ที่มากกว่าค่า F จากตารางที่ 2 จึงสรุปได้ว่าการวิเคราะห์โดยการใช้สารละลายกรดออกซาลิกและสารละลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติก และอีดีทีเอแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกและสารละลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติกและอีดีทีเอไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกกับสารละลายกรดออกซาลิกก็ไม่มีความแตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกันในการวิเคราะห์ปริมาณวิตะมินซีโดยการใช้สารละลายทั้งสองชนิด

ตารางที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบความแม่นยำในการวิเคราะห์ปริมาณวิตะมินซีในตัวอย่างน้ำส้ม 25% เมื่อใช้สารละลายที่ใช้สกัดวิตะมินซีจากตัวอย่าง 3 ชนิดพบว่าเมื่อใช้สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกเป็นสารละลายที่ใช้สกัดตัวอย่างได้ค่าเฉลี่ยของปริมาณวิตะมินซี 33.90 มิลลิกรัม/100 กรัม มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.8623 ส่วนสารละลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติกและอีดีทีเอ ได้ค่าเฉลี่ยวิตะมินซี 34.16 มิลลิกรัม/ 100 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.3290 และเมื่อใช้สารละลายออกซาลิกจะได้ค่าเฉลี่ยวิตะมินซี 34.27 มิลลิกรัม/100 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.9403

เมื่อนำสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกและสารละลายกรดออกซาลิกมาใช้เป็นสารสกัดตัวอย่างน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ คือ น้ำส้ม น้ำมะม่วง น้ำเสาวรส น้ำสับปะรด น้ำองุ่น น้ำฝรั่ง ความเข้มข้นต่างๆ จำนวน 11 ตัวอย่าง เพื่อหาปริมาณวิตะมินซี พบว่าปริมาณของวิตะมินซีอยู่ในช่วง 0.16 - 20.48 มิลลิกรัม/100 กรัม (ตารางที่ 4 และรูปที่ 3)

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณที่คืนกลับเมื่อเติมสารละลายมาตรฐานวิตะมินซี 5 ไมโครกรัม ในตัวอย่างน้ำส้ม 25 %

	วิธีที่ 1		วิธีที่ 2		วิธีที่ 3	
ลำดับที่	ปริมาณที่วัดได้ จริง (ไมโครกรัม)	% recovery	ปริมาณที่วัดได้ จริง (ไมโครกรัม)	% recovery	ปริมาณที่วัดได้ จริง (ไมโครกรัม)	% recovery
1	5.00	100	4.90	98	4.80	96
2	5.35	107	3.90	78	5.45	109
3	5.00	100	4.80	96	5.00	100
4	4.75	95	6.15	123	5.05	101
5	5.50	110	4.70	94	5.05	101
6	4.15	83	4.80	96	5.55	111
ค่าเฉลี่ย	4.958	99.17	4.875	97.5	5.15	103
S	0.4792		0.7202		0.2584	
S^2	0.2296		0.5187		0.0668	

ค่า F จากตารางที่ 2 (เมื่อ V1 เท่ากับ 5 และ V2 เท่ากับ 5)

= 5.05

ค่า F จากการคำนวณ

วิธีที่ 2 ÷ วิธี ที่1 = 0.5187 ÷ 0.2296 = 2.259

วิธีที่ 2 ÷ วิธี ที่3 = 0.5187 ÷ 0.0668 = 7.760

วิธีที่ 1 ÷ วิธี ที่3 = 0.2296 ÷ 0.0668 = 3.437

ตารางที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบความแม่นยำในการหาปริมาณวิตะมินซีในตัวอย่างน้ำส้ม 25% เมื่อใช้สารละลาย 3 ชนิดในการสกัดวิตะมินซี

ลำดับที่	ปริมาณวิตะมินซี (มิลลิกรัม / 100 กรัม)		
	วิธีที่ 1	วิธีที่ 2	วิธีที่ 3
1	32.21	32.45	33.61
2	34.31	32.85	35.47
3	34.02	34.84	34.10
4	34.14	35.98	35.43
5	34.07	34.02	33.50
6	34.67	34.79	33.51
ค่าเฉลี่ย	33.90	34.16	34.27
ค่า S	0.8623	1.3290	0.9403

ตารางที่ 4 แสดงเปรียบเทียบปริมาณวิตะมินซีในตัวอย่างน้ำผลไม้ต่างๆ เมื่อใช้สารละลาย 2 ชนิดในการสกัดวิตะมินซี

ตัวอย่างที่	ปริมาณวิตะมินซี (มิลลิกรัม / 100 กรัม)	
	สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก	สารละลายกรดออกซาลิก
1	2.11 ± 0.05	1.87 + 0.31
2	0.78 + 0.02	0.87 + 0.19
3	0.16 + 0.07	0.23 ± 0.07
4	2.84 ± 0.05	2.54 ± 0.09
5	0.90 ± 0.11	0.35 ± 0.09
6	0.93 ± 0.02	0.49 ± 0.11
7	0.49 ± 0.06	0.31 + 0.05
8	7.33 + 0.86	6.85 ± 0.06
9	15.16 ± 0.32	12.95 ± 0.26
10	20.48 ± 0.62	18.51 + 1.62
11	0.91 ± 0.11	0.61 ± 0.05

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ทำซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง)

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองหาปริมาณที่คืนกลับ (% recovery)ของวิตะมินซีในตัวอย่างน้ำส้ม 25% เมื่อใช้สารละลายที่ใช้สกัดตัวอย่าง 3 ชนิด คือ สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก สารละลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติกและอีดีทีเอ สารละลายกรดออกซาลิก พบว่า สารสกัดทั้งสามชนิดให้ค่า % recovery คือ 99.17 97.5 และ 103 ตามลำดับ แสดงว่าวิธีที่หนึ่งและวิธีที่สามสามารถสกัดวิตะมินซีจากตัวอย่างได้ดีกว่าวิธีที่สอง และเมื่อนำมาทำการทดสอบทางสถิติด้วยวิธีแบบเอฟ พบว่าวิธีที่สองคือสารละลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติกและอีดีทีเอ จะให้ผลที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสารละลายกรดออกซาลิก นอกจากนี้เมื่อทดลองเปรียบเทียบความแม่นยำในการวิเคราะห์วิตะมินซี (ตารางที่ 3) พบว่าสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกจะให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานน้อยที่สุด

จากผลการทดลองเปรียบเทียบการใช้สารละลายที่ใช้สกัดสกัดตัวอย่าง 3 ชนิดที่ใช้ในการวิเคราะห์วิตะมินซี (ตารางที่ 1) และการทดสอบความแม่นยำในการหาปริมาณวิตะมินซีโดยใช้สารสกัดตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด (ตารางที่ 3) ดังนั้นจึงได้ใช้สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกและสารละลายกรดออกซาลิกซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อทดสอบทางสถิติด้วยวิธีทดสอบแบบเอฟและให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ต่ำมาใช้เป็นสารสกัดตัวอย่างน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ เพื่อหาปริมาณวิตะมินซีในตัวอย่างดังกล่าว จากผลการทดลอง (ตารางที่ 4 และรูปที่ 3) พบว่า ปริมาณของวิตะมินซีอยู่ในช่วง 0.16 - 20.48 มิลลิกรัม/100 กรัม

เนื่องจากสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกและสารละลายกรดออกซาลิกสามารถสกัดวิตะมินซีจากตัวอย่างได้ดีกว่าสารละลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติกและอีดีทีเอ จึงได้ทำการทดลองวิเคราะห์หาปริมาณวิตะมินซีในตัวอย่างน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ โดยใช้สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกและสารละลายกรดออกซาลิก ผลการทดลองในตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่า เมื่อนำสารละลายที่ใช้สกัดตัวอย่างทั้งสองชนิดมาใช้ในการวิเคราะห์วิตะมินซีในตัวอย่างน้ำผลไม้ พบว่าปริมาณวิตะมินซีที่วิเคราะห์ได้เมื่อใช้สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกจะมีค่าสูงกว่าเมื่อใช้สารละลายกรดออกซาลิก เนื่องจากสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกนอกจากสามารถทำลายเอนไซม์ที่มีอยู่ในน้ำผลไม้ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่จะทำลายวิตะมินซีแล้วยังป้องกันการเกิดออกซิเดชันของวิตะมินซีจากแร่ธาตุ

บางชนิดได้[13] จึงทำให้ปริมาณวิตะมินซีที่วิเคราะห์ได้สูงกว่าเมื่อใช้สารละลายกรดออกซาลิกเป็นสารละลายที่ใช้สกัดตัวอย่าง

จากการเปรียบเทียบข้อดี-ข้อเสียของสารละลายที่ใช้สกัดตัวอย่างทั้งสามชนิดแล้ว (ตารางที่ 5) สรุปได้ว่า สารละลายที่ใช้สกัดตัวอย่างที่สามารถสกัดวิตะมินซีจากตัวอย่างได้เหมาะสมที่สุด คือ สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก โดยที่สารละลายกรดออกซาลิกให้ผลที่ต่ำกว่า และสารละลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติกและอีดีทีเอสามารถสกัดได้ต่ำที่สุด

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของสารละลายที่ใช้สกัดตัวอย่าง 3 ชนิด

ชนิดของสารละลาย	ข้อดี	ข้อเสีย
1. สารละลายกรดเมตาฟอส-ฟอริก	- สามารถสกัดวิตะมินซีในตัวอย่างได้ดีมาก - ปริมาณวิตะมินซีที่วิเคราะห์ได้มีความแม่นยำสูง - เนื่องจากใช้สารละลายเพียงชนิดเดียวจึงทำให้สามารถประหยัดรายจ่ายของสารเคมี - การเตรียมสารเคมีไม่ยุ่งยากซับซ้อน ทำให้สะดวกและไม่เสียเวลา - สามารถทำลายเอนไซม์ในน้ำผลไม้ซึ่งเป็นตัวทำลายวิตะมินซี ทำให้ค่าที่วิเคราะห์ได้ใกล้เคียงกับค่าที่แท้จริง	
2. สารละลายผสมกรดเมตาฟอสฟอริก กรดอะซีติก และอีดีทีเอ	- การสกัดวิตะมินซีจากตัวอย่างได้ดี - ปริมาณวิตะมินซีที่วิเคราะห์ได้มีความแม่นยำ	- เนื่องจากใช้สารเคมีหลายชนิดทำให้ค่าใช้จ่ายสูง - เสียเวลาในการเตรียมสารเคมีหลายชนิด
3. สารละลายกรดออกซาลิก	- สามารถสกัดวิตะมินซีในตัวอย่างได้ดี - ปริมาณวิตะมินซีที่วิเคราะห์ได้มีความแม่นยำ - เนื่องจากใช้สารละลายเพียงชนิดเดียวจึงทำให้สามารถประหยัดค่าสารเคมีได้ - การเตรียมสารเคมีชนิดเดียวไม่ยุ่งยากซับซ้อน ทำให้สะดวกและไม่เสียเวลา	- ไม่สามารถทำลายเอนไซม์ในน้ำผลไม้ซึ่งเป็นตัวทำลายวิตะมินซี ทำให้ได้ค่าที่วิเคราะห์ได้ต่ำว่าค่าที่แท้จริง

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบคุณ ผู้อำนวยการกอง กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ (คุณสุจินต์ ศรีคงศรี) และหัวหน้ากลุ่มงานชีวเคมี (คุณสุนทรี เปรื่องการ) ที่กรุณาให้คำแนะนำและข้อมูลที่เป็นประโยชน์กับการศึกษาทดลองครั้งนี้ และขอขอบคุณเพื่อนร่วมงานทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและความร่วมมือเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

1. G.F.M. Ball. Chemical and biological nature. In : Water-soluble vitamin assays in human nutrition Chapman & Hall. London, New York. 1994, p.79-89
2. U. Moser and A. Bendich. Vitamin C. In : Handbook of vitamins edited by L.J.Machlin 2nd ed. Marcel Dekker, Inc. New York and Basel. 1991, p.195-232
3. I.D. Lumley. Vitamin analysis in foods. In : The technology of vitamins in food edited by P.B. Ottaway. Chapman & Hall. England. 1993, p.224-232
4. J. Florent. Vimtamins. In : Biotechnology edited by H.-J. Rehm and G. Reed. Vol. 4 : Microbial products II vol.Eds. : H.Pape and H.-J.Rehm. Weinheim: Deerfield Beach, FL : VCH. 1986, p.115-158
5. Committee on Dietary Allowasnces, Food and Nutrition Board. Water-soluble vitamins. In : Recommended dietary allowances ninth edition. National Academy of Sciences. Washington, D.C. 1980, p.73-82
6. AOAC 1995 16th edition, section 45.1.4
7. M.J. Deutsch and C.E.Weeks. Microfluorimetric assay for vitamin C. J.Assoc.Off.Anal.Chem. 1965, 48 (6), p.1249-1256
8. AOAC 1995 16th edition, section 45.1.15
9. C.W. Wilson III and P.E. Shaw. High-performance liquid chromatographic determination of ascorbic acid in aseptically packaged orange juice using ultraviolet and electrochemical detectors. J.Agric.Food Chem 1987, 35, p.329-331
10. S.H. Ashoor, W.C.Monte and J.Welty. Liquid chromatographic determination of ascorbic acid in foods. J.Assoc.Off.Anal.Chem 1984, vol.67, No.1, p.78-80

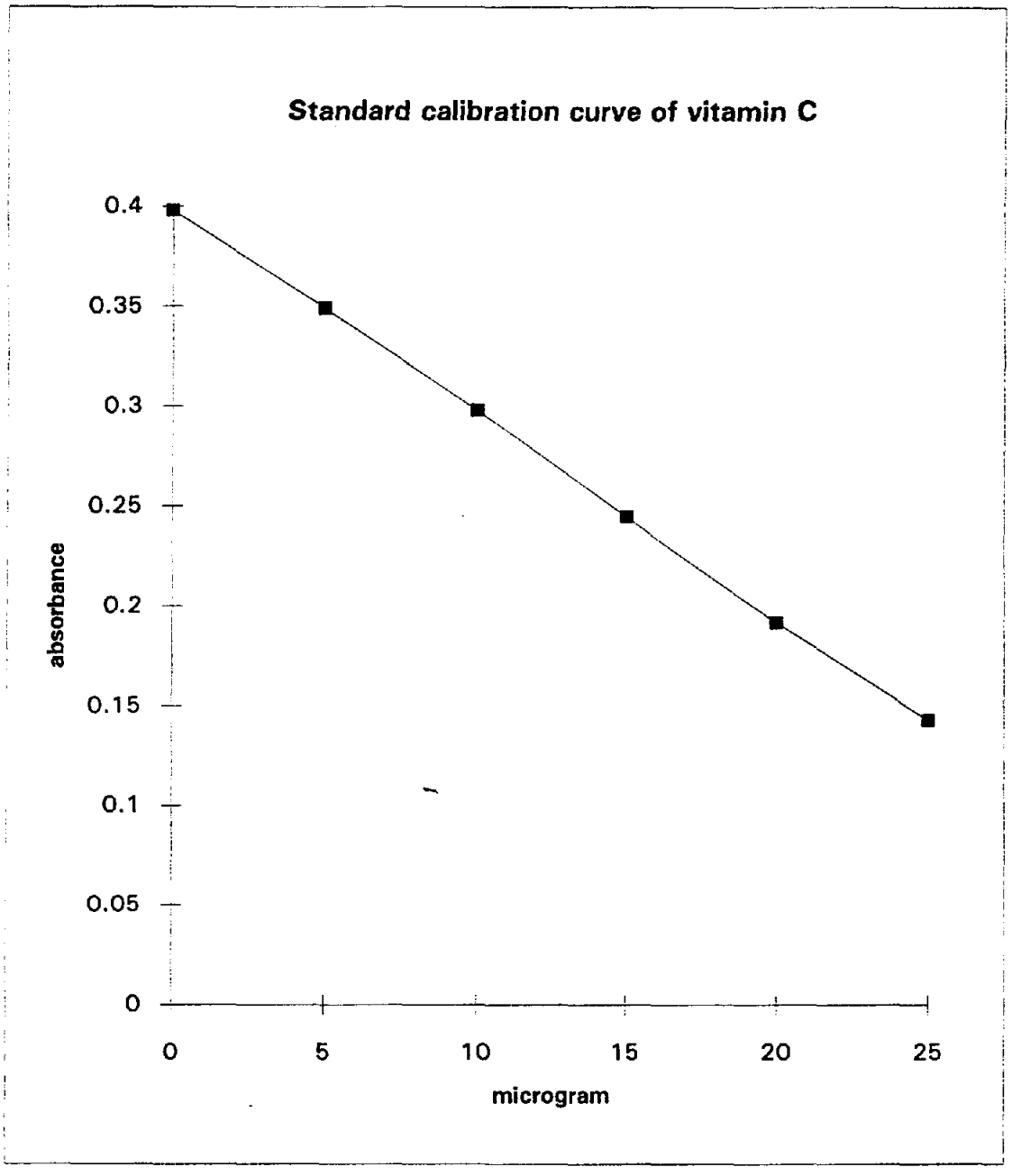
11. K.Y. Dodson, E.R. Young and A-G. M. Soliman. Determination of total vitamin C in various food matrixes by liquid chromatography and fluorescence detection. J. of AOAC Inter 1992, vol.75, No.5, p.887-891

12. M. Hoare, S. Jones and J. Linsay. Total vitamin C analysis of orange juice. Food Austria 1993, vol.45 (7), p.341-345

13. G.F.M. Ball. Physicochemical methods (excluding HPLC) determination thiamine, riboflavin, niacin, vitamin B6, pantothenic acid and vitamin C. In : Water - soluble vitamin assays in human nutrition Chapman & Hall. London, New York. 1994, p.114

14. ศุภชัย ใช้เทียมวงศ์. ปฏิบัติการเคมีปริมาณวิเคราะห์. พิมพ์ครั้งที่ 5, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร. 2539, หน้า 6-42

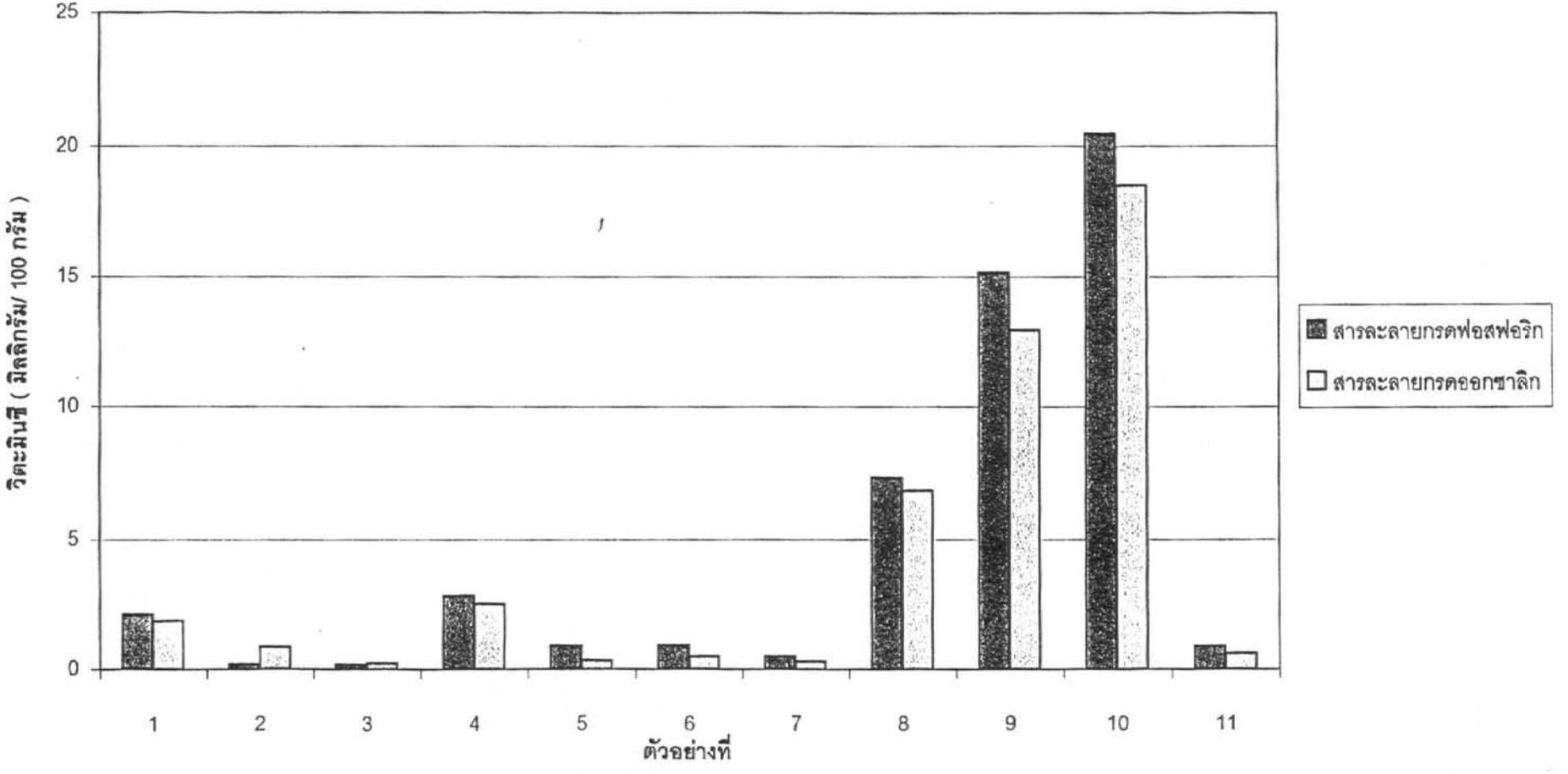
ภาคผนวก



รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานวิตะมินซี

ตารางที่ 2 ค่า F ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 [14]

V2 \ V1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	19.0	19.2	19.2	19.3	19.3	19.4	19.4	19.4	19.4
3	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79
4	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96
5	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74
6	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06
7	4.74	4.36	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64
8	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35
9	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14
10	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98



รูปที่ 3 กราฟแสดงปริมาณวิตะมินซีในตัวอย่างน้ำผลไม้เมื่อใช้สารละลายกรดฟอสฟอริกและสารละลายกรดออกซาลิก