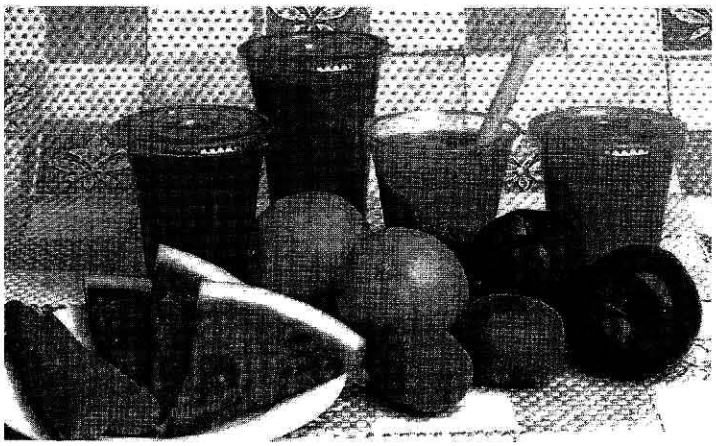
วิตามินซีในน้ำผลไม้ กับการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลาโรกราฟี



ปัจจุบัน สื่อต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นสิ่งพิมพ์ วิทยุ โทรทัศน์ หรืออินเตอร์เน็ต ต่างออกมากระตุ้นให้ผู้บริโภคตระหนักถึงอันตรายต่างๆ ที่มากับอาหาร ควบคู่ไปกับการเสนอทางเลือกของอาหารเพื่อสุขภาพหรือผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพต่างๆ ออกมาในหลายรูปแบบ/ประเภท ซึ่งหนึ่งในนั้นก็คือ "วิตามินซี" นั่นเอง แล้วเราจะทราบได้อย่างไรว่าผลิตภัณฑ์เหล่านั้น มีปริมาณวิตามินซีอยู่เท่าไหร่? ตรงตามในฉลากที่บอกหรือไม่? ในบทความนี้ผู้เขียนจะได้แนะนำให้ผู้อ่านได้รู้จักกับเทคนิคโพลาโรกราฟี ซึ่งเป็นเทคนิคทางเครื่องมือชนิดหนึ่งที่ได้รับความนิยมในการใช้ตรวจวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในน้ำผลไม้ให้ได้ทราบกัน

เรียบเรียงโดย อาสาพห์ จิตรแจ่ม

เอกสารอ้างอิง

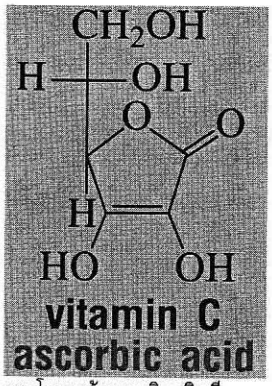
1. http://www.metrohm.co.uk/news_analysis_vitaminc_orange.asp
2. http://www.grad.cmu.ac.th/abstract/2000/sci/abstract/sci07010.html

อาสาพห์ จิตรแจ่ม. "วิตามินซีในน้ำผลไม้กับการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลาโรกราฟี" *LAB TODAY* 4, 31 (ต.ค. 2548)

บทนำ

วิตามินซี หรือกรดแอสคอร์บิค (ascorbic acid) ถูกค้นพบเป็นครั้งแรกในปี 1928 โดย Albert Szent-Gyorgyi (นักชีวเคมีชาวฮังการี) วิตามินชนิดนี้พบมากในผักและผลไม้หลายชนิดและเป็นประโยชน์อย่างมากต่อร่างกายมนุษย์ ตัวอย่างแหล่งอาหารที่อุดมด้วยวิตามินซี เช่น ผัก/ผลไม้สดที่มีรสเปรี้ยว (เช่น ส้ม มะขามป้อม มะเขือเทศ สัปปะรด มะนาว และฝรั่ง เป็นต้น) และผักใบเขียวต่างๆ

อย่างไรก็ตาม ด้วยสภาพสังคมเศรษฐกิจแห่งการแข่งขันในปัจจุบันส่งผลให้สินค้าทางการเกษตรถูกนำเข้าสู่กระบวนการแปรรูปในระดับอุตสาหกรรมออกมาเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทต่างๆ และหลายขั้นตอนในระหว่างการแปรรูปนี้เองที่ทำให้วิตามินซีเกิดการสลายตัว นอกจากนี้ระยะเวลาการจัดเก็บที่นานเกินไป และสภาวะแวดล้อมของผลิตภัณฑ์ (ความร้อน แสง และออกซิเจน) ก็เป็นอีกเหตุผลสำคัญที่ทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลง ดังนั้นถึงแม้เราจะทราบว่าวิตามินซีดีอย่างไร และควรบริโภคเท่าไหร่ แต่บางครั้งก็ไม่อาจช่วยให้เราแน่ใจได้ว่าผลิตภัณฑ์อาหารเหล่านั้นมีเพียงพอกับความต้องการหรือไม่ การจะให้คำตอบเหล่านี้ต้องอาศัยการวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์เทคนิคหนึ่งที่สามารถทำได้และจะกล่าวถึงต่อไปนี้เป็นหนึ่งในเทคนิคทางโวลแทมเมตรี (voltammetry) ที่ชื่อว่าโพลาโรกราฟี



สูตรโครงสร้างของวิตามินซี

ความสำคัญของวิตามินซี

1. วิตามินซีมีความสำคัญต่อปฏิกิริยาการสร้างโปรตีนประเภท collagen ทั้งในและนอกเซลล์ ซึ่งจะ active เมื่ออยู่ในเซลล์และจะเกิดปฏิกิริยา hydroxylation กับกรดอะมิโน proline และ lysine ได้เป็นสารตั้งต้น (precursor) ที่เรียกว่า "procollagen" และต่อมาจะเปลี่ยนไปเป็น collagen ภายนอกเซลล์ ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการบำรุงรักษา กระดูก เส้นเลือด และช่วยในการสมานแผล

2. วิตามินซีช่วยในการเกิดเซลล์เม็ดเลือดแดง เพื่อช่วยชดเชยเลือดจากอาการตกเลือด และป้องกันการติดเชื้อของแบคทีเรียได้

3. วิตามินซีสามารถใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ได้ โดยการอาศัยอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว (donating electrons) และ hydrogen ions เข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ (free radicals) หรือกลุ่มสาร reactive oxygen species ก่อนที่สารเหล่านี้จะทำอันตรายต่อสารพันธุกรรม (DNA) เพื่อเป็นการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง

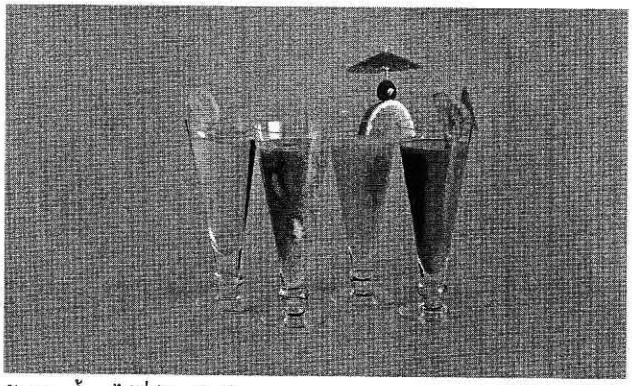
4. วิตามินซีช่วยในการดูดซึมธาตุเหล็กในร่างกาย โดยการเปลี่ยน ferric iron ให้ไปอยู่ในรูป ferrous ซึ่งใช้ในการบำบัดผู้ป่วยที่มีปัญหาขาดธาตุเหล็ก (iron deficiency anemia)

5. วิตามินซีมีส่วนสำคัญต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทำงานของเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocytes

6. วิตามินซีช่วยบรรเทาอาการหวัด

7. วิตามินซีช่วยป้องกันการเกิดโรคลักปิดลักเปิด หรือเลือดออกตามไรฟัน ซึ่งเป็นสาเหตุของอาการเหงือกบวม ฟันโยก และหากไม่ได้รับการบำบัดรักษาอาจส่งผลร้ายแรงต่อความผิดปกติของกระดูกในทารกได้

8. วิตามินซีช่วยลดความดันเลือดในผู้ป่วยโรคความดันโลหิตสูงได้ หากรับประทานวิตามินซีเสริมเป็นประจำ (ประมาณ 500 มิลลิกรัม/วัน)


ตัวอย่างน้ำผลไม้ที่มีวิตามินซีสูง

ปริมาณบริโภค

ความต้องการบริโภควิตามินซีในแต่ละคนมีมากน้อยแตกต่างกันขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ซึ่งสหภาพยุโรป หรือ EU ได้กำหนดปริมาณบริโภคที่เหมาะสมเอาไว้ดังแสดงในตารางตัวอย่างด้านล่าง

ผู้ใหญ่	60 มิลลิกรัม
หญิงมีครรภ์	70 มิลลิกรัม
หญิงระยะให้นมบุตร	95 มิลลิกรัม
ผู้สูบบุหรี่	100 มิลลิกรัม
เด็กเล็ก	40 มิลลิกรัม
เด็กโต	50 มิลลิกรัม

ตัวอย่างตารางแสดงความต้องการบริโภคปริมาณวิตามินซีต่อวันของคนในแต่ละสภาวะ ปริมาณวิตามินซี ที่ร่างกายต้องการต่อวัน (RDA ; Recommend Daily Allowance)

โวลแทมเมตรี

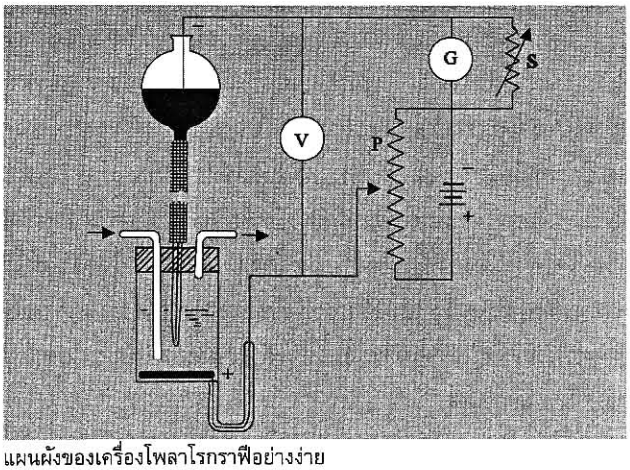
โวลแทมเมตรี เป็นวิธีการวิเคราะห์ทางไฟฟ้าเคมี (electrochemistry) ที่อาศัยความสัมพันธ์ระหว่างศักย์และกระแสไฟฟ้า โดยการเปลี่ยนศักย์ไฟฟ้าที่ให้กับ working electrode ขนาดเล็ก (มีพื้นที่ผิวระดับตารางมิลลิเมตร) โดยไม่มีการคนสารละลาย จะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกระแสไฟฟ้าขึ้น เนื่องจากการเกิดโพลาไรเซชัน (polarization) ซึ่งกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นนี้จะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารละลาย โวลแทมเมตรีสามารถแยกประเภทได้หลายเทคนิคตามการประยุกต์ใช้งาน เช่น ดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์โพลาโรกราฟี (differential pulse polarography) ไซคลิกโวลแทมเมตรี (cyclic voltammetry) และโครโนโพเทนชิโอเมตรี (chronopotentiometry) เป็นต้น ซึ่งบทความนี้จะกล่าวถึงการนำ เทคนิคโพลาโรกราฟีไปใช้ประยุกต์ในการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

โพลาโรกราฟี

โพลาโรกราฟี เป็นหนึ่งในเทคนิคของโวลแทมเมตรีที่ใช้หลักการเดียวกัน โดยเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้ประกอบด้วยส่วนประกอบที่สำคัญ 2 ส่วน คือ

1. โพลาโลกราฟิกเซลล์ (polarographic cell) เป็นส่วนที่บรรจุสารละลายตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ และขั้วไฟฟ้า 2 ขั้ว คือ Dropping Mercury Electrode (D.M.E) และ reference electrode เพื่อใช้สำหรับการตรวจวัด

2. วงจรไฟฟ้าเพื่อทำหน้าที่ให้ศักย์ไฟฟ้าแก่เซลล์ และอ่านค่ากระแสที่เกิดขึ้นจากเซลล์



แผนผังของเครื่องโพลาโรกราฟีอย่างง่าย

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีโดยเทคนิคโพลาโรกราฟี

เทคนิคโพลาโรกราฟีเป็นเทคนิคหนึ่งที่เหมาะสมกับการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารอินทรีย์ทั้งในรูปสารโมเลกุลเดี่ยว (organic substances) และสารประกอบ (organic compounds) ที่สามารถเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ได้ ดังนั้นเทคนิคนี้จึงเป็นเทคนิคหนึ่งที่เหมาะสมกับการตรวจวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในน้ำผลไม้ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ เพราะเป็นเทคนิคที่ให้ผลการวัดรวดเร็ว (น้อยกว่า 10 นาที) และให้ขีดจำกัดการตรวจวัดสูง (ระดับ ppm)

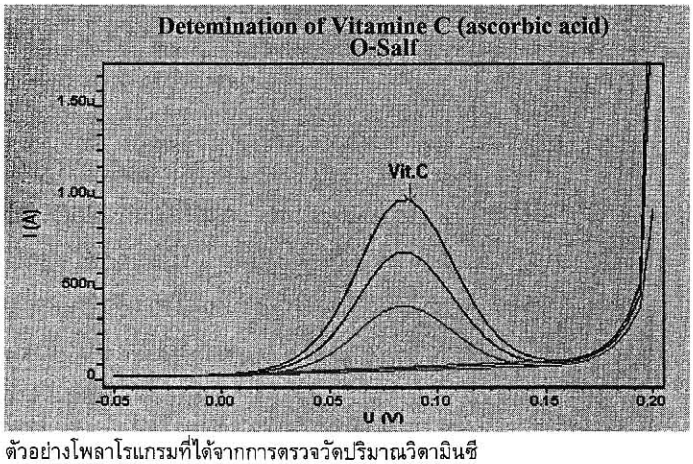
ปฏิกิริยา oxidation ของวิตามินซี แล้วได้เป็น dehydroascorbic acid

$$C_6H_8O_6 \longrightarrow C_6H_6O_6 + 2e + 2H^+$$

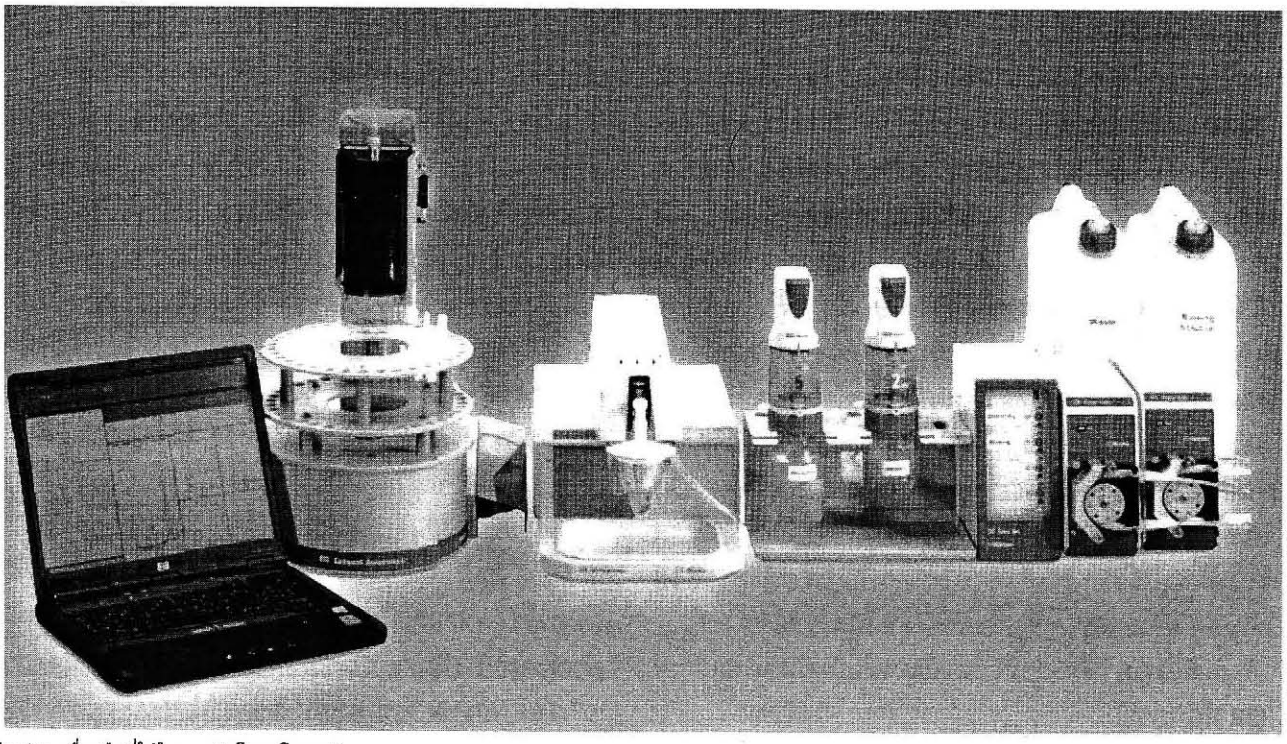
การตรวจวัดปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม ด้วยโพลาโรกราฟี

1. ผสมน้ำส้มตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร กับ acetate buffer (pH 4.64) 1 มิลลิลิตร และน้ำปราศจากไอออน (deionised water) 10 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน โดยสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เติมลงไปจะมีความสำคัญอย่างมากกับเทคนิคโวลแทมเมตรี เพราะค่า pH จะส่งผลต่อสารอิเล็กโทรไลต์ที่ต้องการวิเคราะห์ในด้านความนำไฟฟ้า (conductivity) และความเลือกจำเพาะ

2. จากนั้นกำจัดออกซิเจนออกด้วยการนำสารละลายที่ได้เข้าสู่ขั้นตอนการกำจัดก๊าซ (degassed) โดยใช้ก๊าซไนโตรเจนเป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีด้วยเทคนิคโพลาโรกราฟี (D.M.E) เพื่อเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

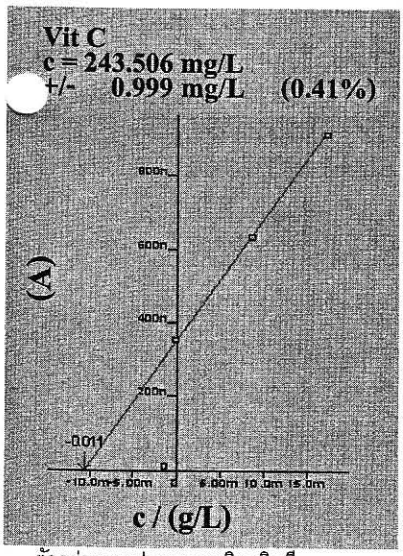


ตัวอย่างโพลาโรแกรมที่ได้จากการตรวจวัดปริมาณวิตามินซี



ตัวอย่างเครื่องมือที่ใช้ในเทคนิคโพลาโรกราฟี

3. ในการวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมาก การใช้เทคนิคโวลแทมเมตรีที่เชื่อมอุปกรณ์หลายส่วนเข้าด้วยกันจะช่วยให้การทำงานสามารถทำได้อย่างอัตโนมัติ ซึ่งมีประโยชน์อย่างมาก เพราะจะช่วยให้สามารถทำงานได้อย่างรวดเร็ว โดยตัวอย่างอุปกรณ์ที่นำมาต่อร่วม ได้แก่ autosampler pump และตัวจ่ายของเหลว (liquid dosing unit) เป็นต้น ระบบอัตโนมัตินี้จะช่วยให้การตรวจวิเคราะห์สามารถดำเนินไปได้อย่างรวดเร็ว และต่อเนื่อง



ตัวอย่างกราฟมาตรฐานวิตามินซี

ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อเทคนิคโพลาโรกราฟี

เนื่องจากเทคนิคโพลาโรกราฟีเป็นเทคนิคทางไฟฟ้าเคมี ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้จึงต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีไฟฟ้าของเซลล์ เช่น ค่า pH ตัวทำละลาย และปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นที่ working electrode เป็นต้น ปัจจัยเหล่านี้จะส่งผลรบกวนต่อการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของ functional group ของสารอินทรีย์ที่ต้องการวิเคราะห์ที่ working electrode อันจะนำไปสู่การให้สัญญาณทางไฟฟ้าที่ผิดพลาด

สรุป

วิตามินซีมีประโยชน์ต่อมนุษย์ แต่ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ จึงจำเป็นต้องรับจากภายนอก เช่น จากอาหารที่บริโภค อย่างไรก็ตามปริมาณวิตามินซีในอาหารประเภทใดๆ จะมีมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับประเภทอาหาร และกระบวนการแปรรูปอาหาร ซึ่งการตรวจวัดปริมาณวิตามินซีด้วยเทคนิคโพลาโรกราฟีถือเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้ทำการวิเคราะห์ ซึ่งจะช่วยให้ทราบถึงปริมาณวิตามินซี และนำไปปรับปรุงกระบวนการผลิตอาหารเพื่อช่วยให้คุณค่าของอาหารที่มีการแปรรูปมีประโยชน์ต่อผู้บริโภคมากที่สุด

LAB.TODAY