

545.896

ม 572.7

๖.3

การวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบบางชนิดและวัดอุณหภูมิตกค้างใน เกลสรผึ้ง

ห้องสมุดนักศึกษาคณะ
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ปริญญาโท

ของ

บุญศรี อู่สุธรรม

๖๖ พ.ค. 2535

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

เพื่อ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาค้นคว้า

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

กุมภาพันธ์ 2532

178777

การวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบบางชนิดและวัดหมู่ฟังก์ชันค้ำใน เกลสรผึ้ง

ปริญญานิพนธ์

ของ

บุญศรี คู่สุขธรรม

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

กุมภาพันธ์ 2532

น้ำผึ้งและผลิตภัณฑ์จากผึ้งได้มีการผลิตขึ้นเป็นอุตสาหกรรมเกษตรในประเทศไทย เกสรผึ้งจัดเป็นผลิตภัณฑ์จากผึ้งชนิดหนึ่ง ซึ่งเกสรผึ้งที่ได้จากดอกไม้ต่างชนิดกันพบว่าองค์ประกอบแตกต่างกัน ในการศึกษานี้ได้วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและองค์ประกอบเคมีบางชนิดจากตัวอย่างเกสรผึ้งที่ได้จากดอกไม้ชนิดต่าง ๆ ซึ่งพบว่า ความเป็นกรด-เบส อยู่ในช่วง 3.20-7.40 ความชื้น 2.50-11.50% โปรตีน 3.91-22.40% แคลโรทีน 0.03-0.09 มก./100ก. วิตามินบี 1 0.02-1.09 มก./100ก. วิตามินบี 2 0.28-3.66 มก./100ก. วิตามินบี 3 5.44-11.11 มก./100ก. วิตามินซี 2.47-12.75 มก./100ก. สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณของวัตถุพิษที่ตกค้างในเกสรผึ้งโดยใช้แก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟี ที่มีเฟลมไอออนไนเซชันดีเทคเตอร์ ผลปรากฏว่าพบเมทิลพาราไทออน อะโซดริน ไดอะซินอน และแอลดริน เกินค่าปลอดภัย (MRL) ที่ FAO/WHO กำหนดไว้

QUANTITATIVE ANALYSIS OF SOME COMPOSITION AND PESTICIDE RESIDUES
IN BEE POLLENS

AN ABSTRACT

BY

BOONSRI KUSUKTHAM

Presented in partial fulfillment of the requirement
for the Master of Education degree
at Srinakharinwirot University
February 1989

Honey and other bee's products have been produced from various flora in Thailand for the commercial scale. Bee Pollens is a kind of bee product. Bee pollens have been produced from different flora which appeared to be different in some composition. This research was conducted by some of the physical properties and chemical composition of bee pollens samples produced from different flora. It was found that pH, moisture, protein, vitamin B₁, vitamin B₂, vitamin B₃ and vitamin C were in the ranges of 3.20-7.40, 2.50-11.50%, 3.91-22.40%, 0.03-0.09 mg./100 g., 0.02-1.09 mg./100 g., 0.28-3.66 mg./100 g., 5.44-11.11 mg./100 g., 2.47-12.75 mg./100 g. respectively.

Quantitative analysis of the amount of pesticide residues in bee pollens samples produced from different flora has been done by method of gas - liquid chromatography with the flame ionization detector. It was found that the residues of methyl parathion 1.40 ppm azodrin 6.12 ppm diazinon 2.26-5.17 ppm and aldrin 0.56-7.81 ppm higher than Maximum Residue Limits (MRL) that FAO/WHO have established.

คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวนิสิตและกรรมการสอบ ได้พิจารณาปัญหานี้แล้ว
ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต
รองมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

คณะกรรมการที่ปรึกษา

..... ประธาน
..... กรรมการ
..... กรรมการ

คณะกรรมการสอบ

..... ประธาน
..... กรรมการ
..... กรรมการ

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลงได้โดยได้รับความช่วยเหลือและคำแนะนำอย่างดียิ่ง
จาก รองศาสตราจารย์ ดร.สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประธานกรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุวลิ จันทร์กระจ่าง และ
ดร.สุพันธ์ ชุนชาติประเสริฐ กรรมการ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์โกสม พิระมาน ภาควิชาพฤกษศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาตรวจสอบชนิดของเกสร ในการวิจัยครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ชัยมุตต ัตถพิทยากุล รองศาสตราจารย์
ดร.พัชรี ปานกุล และอาจารย์ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องฟลูออโรมิเตอร์ และคำแนะนำ
ต่าง ๆ เป็นอย่างดียิ่ง

ขอขอบพระคุณ ดร.วิสูตร ศักดิ์สูง และ คุณพิทยาภรณ์ พัฒนผลไพบุลย์ ศูนย์วิจัยและ-
ควบคุมคุณภาพ บริษัทเจียไต๋ ที่กรุณาให้คำแนะนำในการใช้เครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟีเป็นอย่างดี

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในหน่วยวิจัยไบโอโพลีเมอร์ ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร และ ดร.มาลิสา จินะคิษฐ์
ภาควิชาเคมี วิทยาลัยเทคนิคกรุงเทพฯ ที่กรุณาให้คำแนะนำอย่างดียิ่งในการวิเคราะห์ปริมาณวิตามิน
ชนิดต่าง ๆ

ท้ายที่สุดผู้วิจัยขอขอบคุณญาติมิตร และที่ ๆ ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือจนกระทั่งปริญญานิพนธ์
ฉบับนี้สำเร็จลงด้วยดี

บุญศรี กุสุขธรรม

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
คำนำ	1
ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า	4
ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า	4
ขอบ เขตของการศึกษาค้นคว้า	4
คำนิยามศัพท์เฉพาะ	6
2 เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย	7
การศึกษาองค์ประกอบในเกสรผึ้ง	7
การศึกษาเกี่ยวกับวัดภูมิพิษ	14
3 วิธีดำเนินการทดลอง	16
การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน	16
การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามิน	18
การหาความเป็นกรด-เบสของ เกสรผึ้ง	33
การหาความชื้นของ เกสรผึ้ง	33
การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของวัดภูมิพิษ	33
4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	36
ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางชนิดในเกสรที่ได้จาก	
พรรณไม้ต่าง ๆ	36
ผลการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของวัดภูมิพิษที่ตกค้าง	
ในเกสรผึ้ง	41
5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	62
ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า	62
ขอบ เขตของการศึกษาค้นคว้า	62

บทที่	หน้า
5	วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า และรวบรวมข้อมูล
	สรุปผลการศึกษาค้นคว้า
	อภิปรายผล
	ข้อเสนอแนะ
บรรณานุกรม	67
ภาคผนวก	71

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 สภาวะของเครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟีที่ใช้ในการวิเคราะห์	5
2 ชนิดและปริมาณองค์ประกอบที่พบในเกสรผึ้ง	8
3 ค่าเฉลี่ยของกรดอะมิโนในเกสรผึ้ง	9
4 ปริมาณคุณค่าทางอาหารบางชนิดในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ	13
5 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลาย	
มาตรฐานไนโตรเจน	36
6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลาย	
มาตรฐานแคโรทีน	38
7 ปริมาณองค์ประกอบบางชนิดในเกสรผึ้งที่ได้จากพรรณไม้ชนิดต่าง ๆ	40
8 ปริมาณและเวลารีเทนชันของวิตามินมาตรฐาน	41
9 ผลการหาเปอร์เซ็นต์รีทิพเวอร์ของวิตามินทั้ง 8 ชนิด ที่เติมลงใน	
เกสรผึ้งชนิดอัดเม็ด ^{4,ก}	43
10 ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่พีคกับความเข้มข้นของวิตามินมาตรฐาน	45
11 ผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของวิตามินที่ตกค้างในเกสรผึ้ง	
ที่ได้จากพรรณไม้ชนิดต่าง ๆ	55
12 เปรียบเทียบปริมาณวิตามินที่ตรวจพบในเกสรผึ้งกับค่า	
Maximum Residue Limits	61

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 แผนภูมิการหาปริมาณวิตามินบี 1	23
2 แผนภูมิการหาปริมาณวิตามินบี 2	26
3 แผนภูมิการหาปริมาณวิตามินบี 3	29
4 แผนภูมิการหาปริมาณวิตามินซี	32
5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้น ของสารละลายมาตรฐานไนโตรเจน	36
6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้น ของสารละลายมาตรฐานแคโรทีน	39
7 แสดงพีคที่วิเคราะห์ด้วย เครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟีของ วัตถุดิบมาตรฐานปริมาณตั้งแต่ 0.1220 - 0.1469 ไบโครกรัม/ไมโครลิตร	42
8 แสดงพีคที่วิเคราะห์ด้วย เครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟีของ วัตถุดิบมาตรฐานที่เติมลงใน เกลสรังชนิด เกลสรัดเม็ด ^{4,ก}	44
9 กราฟมาตรฐานของไดอะซินอน	47
10 กราฟมาตรฐานของเมทิลพาราไทออน	48
11 กราฟมาตรฐานของมาลาไทออน	49
12 กราฟมาตรฐานของอะโซดริน	50
13 กราฟมาตรฐานของ p,p - DDT	51
14 กราฟมาตรฐานของ o,p - DDT	52
15 กราฟมาตรฐานของแอลดริน	53
16 กราฟมาตรฐานของเฮปตาคลอร์	54
17 แสดงพีคที่วิเคราะห์ด้วย เครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟีของ วัตถุดิบใน เกลสรัด ^{1,ก}	56

ภาพประกอบ	หน้า
18 แสดงพืชที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟีของ วัดภูมิพิษใน เกสรสด ^{2,ข}	57
19 แสดงพืชที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟีของ วัดภูมิพิษใน เกสรสด ^{3,ข}	58
20 แสดงพืชที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟีของ วัดภูมิพิษใน เกสรอัดเม็ด ^{5,ข}	59
21 แสดงพืชที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟีของ วัดภูมิพิษใน เกสรอัดเม็ด ^{6,ข}	60

บทที่ 1

บทนำ

คำนำ

การเลี้ยงผึ้ง เป็นอุตสาหกรรมในประเทศไทย เริ่มต้นเมื่อปี พ.ศ. 2520 โดยเฉพาะในจังหวัดทางภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และเชียงราย มีการเลี้ยงผึ้งพันธุ์ *Apis mellifera* ประมาณ 1000 รัง และ เพิ่มมากถึง 40,000 รังในปี พ.ศ. 2528 ผึ้งเป็นแมลงที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์ ทั้งในด้านช่วยเพิ่มผลผลิตของพืชผลโดยช่วยในการผสมเกสร และให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจหลายชนิดโดยเฉพาะน้ำผึ้ง ในปี พ.ศ. 2527 ประเทศไทยมีการส่งออกน้ำผึ้งปริมาณ 160,424 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 2.3 ล้านบาท (Wongsiri and others, 1987 : 34-35)

ผลิตภัณฑ์ของผึ้งมีหลายชนิด ถ้าวัดตามธรรมชาติตามกำเนิดของผลิตภัณฑ์สามารถแยกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ (Atkin. and others. 1976 : 531)

1. ผลิตภัณฑ์ซึ่งเกิดจากวัตถุดิบซึ่งผึ้งนำมาจากภายนอกรัง ได้แก่ น้ำผึ้ง เกสรผึ้ง (bee pollen) และ พรอพอลิส (propolis) หรือยางไม้ ที่ผึ้งเก็บสะสมไว้ในรังผึ้ง
2. ผลิตภัณฑ์ซึ่งเกิดได้ภายในตัวของผึ้งเอง ซึ่งเป็นผลจากกระบวนการเมตาโบลิซึมในร่างกายของผึ้ง ได้แก่ รอยัลเจลลี่ (royal jelly) ขี้ผึ้ง (wax) และ พิษของผึ้ง (bee venom)

เกสรผึ้ง เป็นละอองเรณู (pollen grain) ผสมกับน้ำหวานของดอกไม้มีลักษณะเป็นเม็ดเล็ก ๆ อยู่ในรังผึ้ง โดยผึ้งเข้าไปคลุกเคล้ากับอับเรณู (anther) ให้เกสรติดตามตัว และใช้ขาบิดเขี่ยรวมกันเป็นก้อนติดไว้ที่ขาหลังบริเวณอวัยวะที่เรียกว่า ตะกร้าเก็บเกสร (pollen basket) ละอองเรณูนี้ไม่เพียงแต่จะมีความสำคัญสำหรับพืชเท่านั้น แต่ยังมีความสำคัญต่อผึ้งด้วย เพราะเป็นแหล่งอาหารจำเป็นในการเจริญเติบโตและพัฒนาการสืบพันธุ์ของผึ้ง (Stanley and Linskens. 1974 : 307)

พิทยา ถาวงค์ (พิทยา ถาวงค์. 2528 : 1-5) ได้ศึกษาพฤติกรรมของผึ้งในการเก็บเกสร จากต้นข้าวโพดพบว่า ในช่วงเช้าผึ้งพันธุ์เก็บก้นเกสรสูงสุดเฉลี่ย 2,212 ก้อน ต่อรังต่อวันในพื้นที่ทดลอง ที่มีขนาด 25 ไร่ และเก็บได้เฉลี่ย 1,594 ก้อนต่อรังต่อวันในพื้นที่ทดลองขนาด 7.8 ไร่ ผู้ที่เลี้ยงผึ้ง เป็นอุตสาหกรรมจึงนิยมเก็บเกสรที่ผึ้งเก็บเข้ารังแล้วนำไปอัดเป็นเม็ดเรียกว่า เกสรผึ้ง ส่วนประกอบ ทางเคมีและคุณค่าทางอาหารของเกสรผึ้งที่ได้จากดอกไม้ต่างชนิดกันย่อมแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช นั้น ๆ เช่น ในเกสรของพืชจำพวกสน มีโปรตีนเฉลี่ยร้อยละ 7.02 ในขณะที่เกสรจากดอกอินทผาลัม มีโปรตีนสูงร้อยละ 35.5 คุณค่าอาหารของเกสรผึ้งนอกเหนือจากโปรตีน ยังพบว่ามีไขมัน กรดอะมิโน คาร์โบไฮเดรต น้ำตาล แป้ง และ เซลลูโลส แร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับร่างกายที่พบในเกสรผึ้ง ได้แก่ แคลเซียม เหล็ก โซเดียม โพแทสเซียม ทองแดง และวิตามินต่าง ๆ (กรมวิทยาศาสตร์บริการ. 2530 : 34-35) ในปัจจุบันจึงพบว่ามีผู้นิยมบริโภคเกสรผึ้งกันมาก ปาร์คฮิล (Parkhill. 1982 : 180) รายงานว่าเกสรผึ้งช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ โดยให้ความชุ่มชื้นต่อผิวหนังที่แห้ง จึงสามารถใช้บำรุงรักษาผิวหนัง ลดการเหี่ยวย่น และกระตุ้นให้เลือด หมุนเวียนหล่อเลี้ยงเซลล์ได้อย่างทั่วถึง

จากการวิเคราะห์ความเป็นพิษของสารเคมีที่ใช้ในการกำจัดศัตรูพืชในรัฐวอชิงตัน สหรัฐอเมริกาพบว่า สารเคมีที่มีพิษสูงต่อผึ้งมีร้อยละ 20 และสารเคมีพวกนี้เป็นกลุ่มสารเคมีที่ใช้มากที่สุดทางการเกษตร สำหรับสารเคมีที่มีพิษปานกลางต่อผึ้งมีร้อยละ 15 และ ที่เหลืออีกร้อยละ 65 ของสารเคมีทั้งหมดเป็นสารที่มีพิษต่อผึ้งน้อย (Gojmerac. 1980 : 192) โจฮันเซน (Johansen. 1966 : 9-25) พบว่าส่วนใหญ่ผึ้งพันธุ์ได้รับอันตรายจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืช เมื่อใช้ในฤดูดอกไม้บาน โดยผึ้งพันธุ์บินไปสัมผัสกับสารเคมีที่ตกค้างอยู่บนดอกไม้เหล่านั้นแล้วเก็บเอา เกสรที่ปนเปื้อนด้วยสารดังกล่าวไปด้วย หรือ โดยการดูดกินน้ำหวานที่มีสารพิษเหล่านั้นปนอยู่

ชนิดของดอกไม้บานที่ผึ้งอาจจะได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนนั่นแบ่งเป็น 3 กลุ่ม (สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ และ เพ็ญศรี ตั้งคณะสิงห์. 2529 : 109)

1. ดอกไม้บานที่มีสารของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชสูง ได้แก่ ดอกฝ้าย ดอกกาแพ ดอกข้าวโพด ดอกสตรอเบอรี่ ดอกลิ้นจี่ ดอกเงาะ ดอกลำไย
2. ดอกพืชพิษ ได้แก่ ดอกไมยราบ ดอกพืชตระกูลถั่ว และ ดอกหญ้าในบริเวณสวนผลไม้

ที่ทำการฉีดยาฆ่าแมลงเคมี พบว่ามีสาร เป็นพิษตกค้างปานกลาง เป็นอันตรายต่อผึ้งได้

3. ดอกไม้บานที่พบว่ามีความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชน้อยมากและค่อนข้างปลอดภัยต่อผึ้ง ได้แก่ ดอกสาบเสือ ดอกแคฝรั่ง ดอกพิกุล ดอกยางพารา ดอกมะพร้าว

ข้อมูลจากการสำรวจปัญหาความเป็นพิษที่เกิดจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มีต่อการเลี้ยงผึ้งในประเทศไทย พบว่ามากกว่าร้อยละ 90 ผึ้งจะได้รับอันตรายจากพิษสารเคมีทางการเกษตรในฤดูดอกไม้บาน ซึ่งเกิดจากผึ้งบินไปสัมผัสกับสารพิษตกค้างบนดอกไม้และวัชพืช

การแบ่งวัดภูมิพิษตามลักษณะโครงสร้างของสารเคมี สามารถแยกได้เป็น 2 ประเภท คือ

1. ประเภทสารอินทรีย์

1.1 สารประกอบประเภทคลอรีเนตเตดไฮโดรคาร์บอน (chlorinated hydrocarbon) เช่น ดีดีที (DDT) เคลเทน (kethane) ลินเดน (lindane) แอลดริน (aldrin) ดีลดริน (dielldrin) สารประกอบประเภทนี้มีประสิทธิภาพในการฆ่าแมลงได้ดีสลายตัวช้า จึงทำให้เกิดปัญหาการสะสมสารพิษตกค้าง

1.2 สารประกอบประเภทออร์แกนโนฟอสเฟต (organophosphate) เช่น ไดเมโทเอท (dimethoate) มาลาไทออน (malathion) เมทิลพาราไทออน (methyl parathion) ฟอสดริน (phosdrin) ไดซิสตอน (disyston) สารประกอบประเภทนี้มีประสิทธิภาพสูงในการฆ่าแมลง สลายตัวได้เร็ว จึงมีพิษตกค้างอยู่น้อยมากในสิ่งแวดล้อม ยาบางชนิดในจำพวกนี้เป็นยาประเภทดูดซึม (systemic insecticide) จึงถูกดูดซึมไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืช ทำให้เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ง่าย

1.3 สารประกอบประเภทคาร์บาเมต (carbamate) เช่น คาร์โบฟูเรน (carbofuran) เซวิน (sevin) สารประกอบประเภทนี้สลายตัวได้เร็วฤทธิ์ของสารตกค้างในสิ่งแวดล้อม และพืชผักมักมีอยู่ในระยะเวลาอันสั้น

1.4 สารที่ได้มาจากพืช ได้แก่ นิโคติน (nicotin) ไพเรTHRUM (pyrethrum) ในปัจจุบันได้มีการผลิตสารสังเคราะห์ ไพเรทรอยด์ จากพืชมาใช้เป็นยาฆ่าแมลงเพิ่มมากขึ้นซึ่งมีพิษต่ำต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

2. ประเภตสารอนินทรีย์ เป็นยาปราบศัตรูพืชที่เก่าแก่ที่สุด เช่นโซเดียมฟลูออไรด์ สารอนินทรีย์เหล่านี้หลายชนิดเป็นอันตรายต่อมนุษย์ และไม่เหมาะกับการนำมาใช้

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณวัตถุพิษตกค้างในเกสรผึ้ง ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่ได้จากผึ้ง จึงจำเป็นในการที่จะช่วยให้ผู้บริโภคมีความปลอดภัยมากยิ่งขึ้น และหาทางป้องกันวัตถุพิษที่อาจตกค้างอยู่ในเกสรดอกไม้ที่จะถูกแปรรูปมาสู่ผู้บริโภค นอกจากนี้ การศึกษาปริมาณสารประเภทโปรตีน และวิตามินในเกสรผึ้งซึ่งเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายมนุษย์ย่อมก่อให้เกิดประโยชน์ต่อผู้บริโภค ถึงแม้ว่า ยังไม่มีรายงานที่แน่นอนทางการแพทย์แผนปัจจุบันในประเทศไทย เกี่ยวข้องกับการรักษาโรคใดก็ตาม

ความมุ่งหมายในการค้นคว้า

1. เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบบางชนิดในเกสรผึ้ง
2. เพื่อตรวจหาปริมาณวัตถุพิษชนิดคลอรีเนตเตดไฮโดรคาร์บอน และออร์แกนโนฟอสเฟตบางชนิด
3. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณองค์ประกอบบางชนิด และ ปริมาณวัตถุพิษตกค้างในเกสรผึ้งชนิดที่เป็นเกสรสดกับ เกสรที่ผ่านการอัด เม็ดแล้ว
4. เพื่อตรวจสอบความเป็นกรด - เบสของ เกสรผึ้ง

ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า

1. ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน และวิตามินในเกสรผึ้งย่อมเป็นแนวทางในการนำเกสรผึ้งมาใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ เป็นยาในการป้องกันและรักษาโรค
2. ผลจากการวิจัยครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการระมัดระวัง และการเลือกใช้วัตถุพิษทางการเกษตรเพื่อป้องกันพิษตกค้างในพรรณไม้ต่าง ๆ ได้

ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. องค์ประกอบที่ศึกษา ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน แคลโรทีน วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 3 และวิตามินซีในเกสรผึ้ง

2. ศึกษาชนิดและปริมาณของวัตถุดิบพืชประเภทคลอริเนตเตดไฮโดรคาร์บอน ได้แก่ คีคิที่ แอลคริน เซปคาลอร์ และวัตถุดิบชนิดคอร์แกนโบสเฟดที่ศึกษา ได้แก่ โคอะซินอน เมทิลพาราไทออน มาลาไทออน และอะโซดริน

3. ศึกษาเฉพาะเกสรผึ้งที่ได้จากเกสรของพืชเพาะปลูกและพืชต่าง ๆ คือ ดอกข้าวเจ้า ดอกข้าวฟ่าง ดอกข้าวโพด ดอกงา ดอกจี่ว ดอกพริก ดอกมะเขือ ดอกไมยราบ ดอกยาสูบ ดอกส้ม และเกสรของดอกไม้ในวงศ์คอมโพสิตี (Compositae) ได้แก่ บัวตอง ดาวกระจาย กระดุมทองเลื้อย ซึ่งเก็บจากจังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดพิษณุโลก และจังหวัดอุตรดิตถ์ ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2530

4. เทคนิคในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณวัตถุดิบคือ แก๊ส-ลิควิด โครมาโทกราฟี (gas - liquid chromatography) ด้วยเครื่อง Gas - chromatography ของบริษัท Varian Model 3700 สภาวะของเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์มีดังนี้

ตาราง 1 สภาวะของเครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟีที่ใช้ในการวิเคราะห์

รายการ	สภาวะขณะใช้งาน
แก๊ส	ความดันแก๊สไนโตรเจน 60 ปอนด์/ตารางนิ้ว อัตราเร็ว 30 (cm ³)/นาที ออกซิเจน 60 ปอนด์/ตารางนิ้ว อัตราเร็ว 300 (cm ³)/นาที ไฮโดรเจน 40 ปอนด์/ตารางนิ้ว อัตราเร็ว 30 (cm ³)/นาที
ดีเทคเตอร์	ชนิดเฟลมไอออนไนเซชัน (flame ionization detector, FID)
คอลัมน์	ภายในคอลัมน์บรรจุด้วย Supelcoport ขนาด 100-120 เมตร เคลือบด้วยส่วนผสมของ 1.5%sp-2250 และ 1.95%sp-2401
อุณหภูมิ	ช่องฉีดสาร 210 °C คอลัมน์ 205 °C ดีเทคเตอร์ 250 °C

คำนิยามศัพท์เฉพาะ

1. เกสรสด หมายถึง เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ของดอกไม้ที่ฝังเก็บรวบรวมโดยการเข้าไปคลุกเคล้ากับอับละอองเรณูให้เกสรติดตามตัว และใช้ช้อนกดเขี่ยรวมกันเป็นก้อนเก็บไว้ในถ้วยที่เรียกว่า ตะกร้าเก็บเกสร และขนบินกลับมาฝังรัง
2. เกสรอัดเม็ด หมายถึง เกสรสดที่นำไปทำให้แห้ง และผ่านกรรมวิธีอัดรวมกันเป็นเม็ด มีน้ำหนักประมาณ 50 ถึง 100 มิลลิกรัมต่อ 1 เม็ด
3. วัตถุพิษ หมายถึง สารออกฤทธิ์หรือวัตถุที่มีสารออกฤทธิ์ผสมอยู่ รวมทั้งวัตถุพิษชนิดธรรมดา และวัตถุพิษชนิดร้ายแรง
4. สารออกฤทธิ์ หมายถึง เคมีภัณฑ์หรือสิ่งที่มีสมบัติทำให้เกิดอันตรายแก่มนุษย์ สัตว์ และ พืช
5. วัตถุพิษชนิดคลอรีเนตเตดไฮโดรคาร์บอน หมายถึง วัตถุพิษที่มีองค์ประกอบเป็นธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจนและคลอรีน
6. วัตถุพิษชนิดออร์แกนโนฟอสเฟต หมายถึง วัตถุพิษที่มีธาตุฟอสฟอรัส เป็นองค์ประกอบในโมเลกุล
7. เปอร์เซนต์รีคัฟเวอรี (percent recovery) เป็นวิธีการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีทดลองโดยใส่สารที่ต้องการศึกษา แล้วดำเนินการทดลองตามวิธีการทุกขั้นตอน แล้วตรวจดูว่าสารที่ต้องการศึกษาเหลือเท่าใด เป็นกี่เปอร์เซนต์เมื่อเทียบกับปริมาณที่ใส่ลงไป

บทที่ 2

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

การศึกษาองค์ประกอบใน เกสรผึ้ง

เกสรผึ้งเป็นละอองเรณูของดอกไม้ที่ติดมากับขาผึ้ง เมื่อผึ้งงานออกไปหาอาหาร โดยดูดกิน น้ำหวานจากดอกไม้ขณะเดียวกันจะเก็บเกสรติดตามลำตัว และบินเป็นก้อนเก็บไว้ที่ตะกร้าเก็บเกสร ผึ้งจะนำเกสรกลับมาเก็บไว้ในรัง ในหลอดรวงที่ว่างหรือหลอดรวงที่มีเกสรใกล้จะเต็ม ผึ้งจะใช้ขาหลัง ปีนลงไปหลอดรวงและผลักก้อนเกสรจากตะกร้าเก็บ เกสรให้ตกลงไปในหลอดโดยใช้ขาอุ้งกลางช่วย ผู้เลี้ยงผึ้งสามารถเก็บเกสรจากผึ้งโดยทำตะแกรงคักไว้ที่หน้ารังผึ้ง เมื่อผึ้งรอดตะแกรงเข้าไปในรัง เกสร จะถูกขูดออกจากขาผึ้ง ตกลงในกล่องเก็บเกสร (pollen traps) เกสรที่ได้จะมีลักษณะนิ่มและมีความชื้นสูง ผู้ประกอบการเลี้ยงผึ้งจึงนำไปอบให้แห้ง เพื่อให้เก็บไว้ได้นาน องค์ประกอบของเกสรผึ้ง จะแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช สถานที่เก็บและฤดูกาล โดยพบว่าเกสรผึ้งประกอบด้วยสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกาย รวมทั้งวิตามินต่าง ๆ โดยปกติแล้ววิตามินแบ่งออกเป็น 2 ประเภท

1. วิตามินที่ละลายในไขมัน ได้แก่ วิตามินเอ วิตามินดี วิตามินอี และวิตามินเค

2. วิตามินที่ละลายในน้ำ ได้แก่ วิตามินซีและกลุ่มวิตามินบีรวม (vitamin B complex)

เช่น วิตามินบี 1 (thiamine) วิตามินบี 2 (riboflavin) ไนอะซิน (niacin)

วิตามินบี 6 (pyridoxine) กรดโฟลิก (folic acid) วิตามินบี 12 (cyanocobalamin)

กรดแพนโทเทนิก (pantothenic acid) ไบโอติน (biotin) ไอโนซิทอล (Inositol)

กรดพาราอะมิโนเบนโซอิก (p-aminobenzoic acid)

จากการวิเคราะห์ของวีริศนาคร และบีลิน (Vrignaeid and Belin. 1982 : 645)

พบว่าในเกสรผึ้งมีองค์ประกอบที่สำคัญดังนี้

ตาราง 2 ชนิดและปริมาณองค์ประกอบที่พบในเกสรผึ้ง

ชนิดขององค์ประกอบ	ปริมาณ (ร้อยละ)	ชนิดขององค์ประกอบ	ปริมาณ(มก./100 ก.)
คาร์โบไฮเดรต	64.7	วิตามินบี 1	0.450
โปรตีน	23	วิตามินบี 2	1.050
ไขมัน	2.5	กรดนิโคตินิค	2.550
เกลือแร่	2.8	กรดแพนโทเทนิก	7.70
ความชื้น	5	วิตามินซี	20

โรทาร์ (Rotar. 1973 : 33 - 39) ได้วิเคราะห์น้ำตาลชนิดต่าง ๆ ในเกสรของพืชที่อยู่ในวงศ์ Junglandaceae, Rosaceae, Papilinaceae, Compositae และ Gramineae พบว่าเกสรแต่ละชนิดประกอบด้วยน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ดังนี้คือ กลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส มอลโตส โอลิโกแซคคาไรด์ และดีไดแซคคาไรด์

ไอเนสเซอร์ และคาราจิเอท (Ionescu and Caragiani. 1977 : 16 - 17) ได้วิเคราะห์โปรตีนและกรดอะมิโนในเกสรที่เก็บในช่วงเดือนมีนาคมถึงเดือนกันยายน พบว่าปริมาณโปรตีนในฤดูใบไม้ผลิสูงกว่าในฤดูร้อน ส่วนกรดอะมิโนในปริมาณของโปรตีน (proline) และแกมมา-อะมิโนบิวทิริกแอซิด (γ -aminobutyric acid) มีปริมาณสูงที่สุด

โฆโรเบต และคนอื่น ๆ (Gorobet and others. 1981 : 672 - 673) ได้วิเคราะห์กรดอะมิโนอิสระในเกสรแอปเปิลพบว่าประกอบด้วย อะลานีน (alanine) และซิสเตอีน (cysteine) แต่ถ้าย่อยสลายโปรตีนไปเป็นกรดอะมิโนทั้งหมดพบว่ามีธรีโอนีน (threonine) ลูซีน (leucine) อะลานีน ไลซีน (lysine) และซิสเตอีน กรดอะมิโนในเกสรลูกแพร์ (pear) ประกอบด้วย อะลานีน กรดกลูตามิก (glutamic acid) กรดแอสปาร์ติก (aspartic acid) แอสปาราจีน (asparagine) และไลซีน แต่จากการย่อยสลายโปรตีนให้เป็นกรดอะมิโนทั้งหมดพบว่ามี ลูซีน อะลานีน ไลซีน ซิสเตอีน วาลีน (valine) และแอสปาราจีน สำหรับเกสรเชอร์รี่ ประกอบด้วยกรดอะมิโนอิสระ เซรีน (Serine) ซิสเตอีน ไลซีน กรดกลูตามิก และอาร์จินีน (arginine) แต่ถ้าย่อยสลายโปรตีนไปเป็นกรดอะมิโนทั้งหมด พบว่ามีลูซีน วาลีน อะลานีนและซิสเตอีน

เลมาย และคนอื่น ๆ (Rabie and others. 1983 : 119 - 123) ได้หาปริมาณไนโตรเจนเพื่อคำนวณหาปริมาณโปรตีนในเกสรของดอกไม้ โดยคำนวณจากกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบทั้งหมดของเกสรโดยวิธีการย่อยสลายโปรตีนให้เป็นกรดอะมิโน แล้ววัดปริมาณไนโตรเจน พบว่าค่าเฉลี่ยของไนโตรเจนในส่วนประกอบของโปรตีนที่ได้จากวิธีการย่อยสลายโปรตีนมีค่าร้อยละเท่ากับร้อยละ 80 เมื่อเทียบกับวิธีเคลดัล (Kjeldahl) โดยมีไนโตรเจนร้อยละ 10.7 อยู่ในรูปของแอมโมเนีย ซึ่งอาจมาจากอาร์จินีน หรือกลูตามีน (glutamine)

เจอร์ราล และ เอเลน (Gerald and Allen. 1987 : 14 - 17) ได้ศึกษาปริมาณกรดอะมิโนในเกสรดอกไม้ด้วยวิธีโครมาโทกราฟี แบบแลกเปลี่ยนไอออน (ion exchange chromatography) ของเกสรจำนวน 5 ตัวอย่างที่เก็บโดยผึ้งจากแหล่งต่าง ๆ คือ แมริแลนด์ (Maryland) วอชิงตัน (Washington) ยูทาห์ (Utah) วิสคอนซิน (Wisconsin) และไวโอมิง (Wyoming) เปรียบเทียบกับเกสรที่คนเก็บจำนวน 1 ตัวอย่างจากอริโซนา (Arizona) ผลที่ได้เป็นดังนี้

ตาราง 3 ค่าเฉลี่ยของกรดอะมิโนในเกสรผึ้ง

ชนิดของกรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโนในเกสรที่เก็บโดยผึ้งจากแหล่งต่าง ๆ (กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีน)						เกสรที่คนเก็บ
	ไวโอมิง	แมริแลนด์	วอชิงตัน	ยูทาห์	วิสคอนซิน	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
แอสพาเต	5.5	7.2	8.0	5.0	6.6	6.5 ± 1.2	5.1 ± 0.8
ธรีโอนีน	3.2	4.1	2.5	3.2	3.1	3.2 ± 0.6	3.0 ± 0.2
เซรีน	3.9	5.8	4.5	4.8	4.8	4.8 ± 0.7	3.5 ± 0.3
กลูตามีน	6.9	4.2	4.8	6.6	5.3	5.6 ± 1.2	7.1 ± 1.0
ไกลซีน	6.3	8.3	6.3	7.4	6.2	6.9 ± 0.9	7.1 ± 0.5
อะลานีน	6.1	5.7	6.5	6.6	7.0	6.4 ± 0.5	6.7 ± 0.2
วาเลีน	1.2	2.0	1.3	1.4	1.8	1.5 ± 0.3	3.6 ± 0.3

ตาราง 3 (ต่อ)

ชนิดของกรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโนในเกสรที่เก็บโดยผึ้งจากแหล่งต่าง ๆ (กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีน)						เกสรที่คนเก็บ
	ไวโอมิง	แมริแลนด์	วอชิงตัน	ยูทาห์	วิสคอนซิน	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
ซิสทีน*	-	-	-	-	-	-	4.7 ⁺ -0.1
เมไทโอนีน	0.9	1.2	0.7	0.6	0.7	0.8 ⁺ -0.2	1.0 ⁺ -0.3
ไอโซลูซีน	2.4	3.7	2.5	2.8	2.7	2.8 ⁺ -0.5	3.2 ⁺ -0.7
ลูซีน	4.6	4.4	4.8	5.0	4.3	4.6 ⁺ -0.3	4.8 ⁺ -0.4
ไทโรซีน	1.3	1.6	1.4	1.0	1.3	1.3 ⁺ -0.2	1.6 ⁺ -0.3
เฟนิลอะลานีน	2.1	2.4	2.4	2.4	2.0	2.3 ⁺ -0.2	2.3 ⁺ -0.3
ฮิสทีน*	3.4	4.0	2.1	1.7	4.0	3.0 ⁺ -1.1	-
ไลซีน	13.5	7.0	14.5	13.6	9.0	11.5 ⁺ -3.3	11.7 ⁺ -0.8
ซีสดีน	15.4	16.0	12.5	13.0	0.4	13.1 ⁺ -3.0	7.9 ⁺ -2.0
อาร์จินีน	10.4	10.1	13.0	11.4	12.2	11.4 ⁺ -1.2	8.4 ⁺ -0.4
ไฮดรอกซีโพรลีน	3.2	1.4	3.7	5.7	7.1	4.2 ⁺ -2.2	5.6 ⁺ -0.7
โพรลีน	3.3	3.1	3.6	4.4	1.9	3.3 ⁺ -0.9	9.0 ⁺ -1.3

* เครื่องหมาย - หมายถึงไม่ได้ทำการวิเคราะห์

จากข้อมูลที่เก็บรวบรวมได้เหล่านี้พบว่า เกสรที่คนเก็บและเกสรที่ผึ้งเก็บมีปริมาณของกรดอะมิโนไม่แตกต่างกัน นอกจากปริมาณโพรลีน (proline) และวาลีน (valine) ซึ่งสูงกว่าเกสรที่เก็บโดยผึ้ง นอกจากนี้ยังพบว่า เกสรบางตัวยังมีปริมาณกรดอะมิโนบางชนิดที่ผึ้งต้องการในปริมาณต่ำ เช่น วาลีน ไอโซลูซีน (isoleucine) ลูซีน และ อาร์จินีน

กูเนสคาราน และ แอนเดอร์สัน (Gunasekaran and Anderson, 1973 : 633 - 642) ได้ศึกษาองค์ประกอบของลิพิด (lipid) ในเกสรข้าวโพดเปรียบเทียบกับเกสรดอกจันทน์เทศแดง

(caltail pollen หรือ red mace) พบว่า โพลาร์ลิพิด (polar lipid) ในเกสรดอกจันทน์เทศแดง มีปริมาณร้อยละ 39.7 โดยจะพบไลโซเลซิทิน (lysolecithin) มากที่สุด สำหรับเกสรข้าวโพดจะพบเพียงร้อยละ 36.6 และมีเลซิทิน (lecithin) มากที่สุด สำหรับลิพิดที่มีสมบัติเป็นกลาง (neutral lipid) ปริมาณกรดปาล์มมีติดพบมากในเกสรข้าวโพดในขณะที่กรดลิโนเลอิก (linoleic acid) พบมากในเกสรดอกจันทน์เทศแดง ส่วนเออร์กอสเตอรอล (ergosterol) พบในเกสรทั้งสองชนิด

ฟาแลค และ ยูเซลล์ (Farag and Youssef. 1978 : 100 - 104) ได้ศึกษากรดไขมันที่มีโซ่ยาว (long chain fatty acid) ในเกสรชนิดต่าง ๆ ที่เก็บจากประเทศอียิปต์ ด้วยวิธีแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟี (gas-liquid chromatography) พบว่าปริมาณลิพิดทั้งหมดอยู่ระหว่างร้อยละ 2.24 ถึง 4.42 กรดไขมันชนิดลิโนเลอิกเป็นกรดไขมันที่พบมากในเกสรจากพืชจำพวกส้ม ส่วนกรดลิโนเลอิกพบมากในเกสรจากดอกลินชีด สำหรับเกสรที่ได้จากดอกทานตะวันพบกรดไมริสติก (myristic acid) ประมาณครึ่งหนึ่งของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด นอกจากนี้พบกรดไมริสติกและกรดลิโนเลอิกในเกสรมัสตาร์ดป่า (Wild mustard) และ เกสรดอกกานพลูอียิปต์ (Egyptian clover)

ฟาแลค และคนอื่น ๆ (Farag and others. 1980 : 248 - 254) ได้วิเคราะห์ปริมาณสเตอรอลในเรณูของดอกไม้ชนิดต่าง ๆ 6 ชนิด ที่ปลูกบริเวณที่ราบลุ่มแม่น้ำไนล์ ในประเทศอียิปต์ พบว่ามีสารประเภทไฮโดรคาร์บอนประมาณ 13-16 ชนิด สารพวกสเตอรอล 6-8 ชนิด โดยพบโคเลสเตอรอล (cholesterol) สติกมาสเตอร์อล (Stigmasterol) และ เบต้า-ซิโทลสเตอรอล (β -sitosterol) ปริมาณมากที่สุด

อิวานอฟ และคนอื่น ๆ (Ivanov and others. 1985 : 69 - 73) ได้ศึกษาองค์ประกอบของลิพิดในเกสรดอกไม้ ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง (thin layer chromatography) โดยการสกัดลิพิดออกจากเกสรด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ พบว่าในเกสรประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) ร้อยละ 31 กรดไขมันอิสระ (free fatty acid) ร้อยละ 20 โมโนกลีเซอไรด์ (monoglycerides) ร้อยละ 15 ฟอสโฟลิพิด (phospholipid) ร้อยละ 9 ไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) ร้อยละ 5 สเตอรอล (sterol) ร้อยละ 5 ไดกลีเซอไรด์ ร้อยละ 4 และสารอื่น ๆ ร้อยละ 4 ถึง 7

อนเนลลาลดี และ ลันติ (Anelli and Lalti. 1971 : 539 - 545) ได้หาปริมาณ
เกลือแร่ในเกสรของดอกไม้พบว่า เกสรดอกสน (pine) มีเกลือแร่ร้อยละ 4.7 และ เกสรจาก
ดอกโอ๊คมีเกลือแร่ร้อยละ 11.4 สำหรับแคดไอออนและซิลลิคอนมีร้อยละ 42 ของเกลือแร่ทั้งหมด
ในขณะที่สังกะสีมีปริมาณ 12.0 มิลลิกรัมใน 100 กรัม แมงกานีส 14-15.5 มิลลิกรัมใน 100 กรัม
และเหล็ก 100 มิลลิกรัมใน 100 กรัม

ชาล์บานอฟ และไอบิชโนฟ (Shabanov and Ibishnov. 1975 : 105 - 108)
ได้หาปริมาณเกลือแร่ในน้ำผึ้งและเกสรจากดอกไม้ในประเทศมอลโดวา พบว่าประกอบด้วย มังกานีส
โคบอลต์ สังกะสี เหล็ก ทองแดง โซเดียม แคลเซียม โพแทสเซียม โดยทั่วไปพบว่าเกลือแร่ที่พบในน้ำผึ้ง
น้อยกว่าในเกสรจากดอกไม้ 2-3 เท่า

พริกโฮร์ โค (Prikhod'ko. 1985 : 81 - 82) ได้วิเคราะห์ปริมาณเกลือแร่ในเกสร
จากดอกไม้ชนิดต่าง ๆ ที่เก็บในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนสิงหาคมพบว่ามีโซเดียมอยู่ระหว่างร้อยละ
0.043 ถึง 0.11 โพแทสเซียมอยู่ระหว่างร้อยละ 0.575 ถึง 0.185 สังกะสีอยู่ระหว่าง 65.7 ถึง
102.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม คอปเปอร์อยู่ระหว่าง 17.50 ถึง 28.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แมกนีเซียม
อยู่ระหว่าง 5.00 ถึง 41.33 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เหล็กอยู่ระหว่าง 350 ถึง 445 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
ปริมาณเกลือแร่เหล่านี้เปลี่ยนแปลงไปตามเวลาและยังขึ้นอยู่กับชนิดของเกสรของพรรณไม้ต่าง ๆ ด้วย

เมื่อเปรียบเทียบคุณค่าทางอาหารที่มีอยู่ในเกสรผึ้ง เหล่านี้กับผลิตภัณฑ์อาหารธรรมชาติที่
องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) (FAO. 1972 : 1 - 1791)
รายงานไว้ผลปรากฏดังในตาราง 4

ตาราง 4 ปริมาณคุณค่าทางอาหารบางชนิดในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ

ชนิดของผลิตภัณฑ์	ปริมาณคุณค่าทางอาหารใน 100 กรัม						
	น้ำ %	โปรตีน (ก.)	β -แคโรทีน (มก.)	วิตามินบี 1 (มก.)	วิตามินบี 2 (มก.)	วิตามินบี 3 (มก.)	วิตามินซี (มก.)
1. ธัญพืช							
ข้าวโพด	13.60	9.10	0.27	0.29	0.11	2.10	0
ข้าวเจ้า	11.80	6.40	0	0.10	0.05	2.10	0
2. ถั่วและเมล็ดพืช							
ถั่วเหลือง	7.50	34.90	0.07	1.07	0.31	2.30	น้อยมาก
เมล็ดทานตะวัน	8.50	16.70	0	0	0.07	2.40	0
เมล็ดแดงโม	4.60	20.70	0.01	0.22	0.10	2.60	น้อยมาก
3. ผักสด							
กะหล่ำปลี	95.00	1.40	0.89	0.05	0.07	0.60	38.00
แครอท	89.60	1.10	7.00	0.06	0.05	0.70	8.00
ผักทอง	76.30	0.60	0.65	0.02	0.03	0.40	12.00
มะเขือเทศ	88.20	1.10	0.475	0.06	0.03	0.60	22.00
4. ผลไม้							
ทุเรียน	16.70	3.20	น้อยมาก	0.07	0.07	0.30	9.00
ส้ม	56.80	0.50	0.095	0.04	0.02	0.20	28.00
สับปะรด	47.80	0.40	0.02	0.03	0.02	0.20	12.00
5. น้ำผึ้ง	20.60	0.30	น้อยมาก	0.01	0.02	0.20	น้อยมาก
6. เนื้อสัตว์							
เนื้อวัว	47.70	34.30	น้อยมาก	0.03	0.14	2.90	0
เนื้อหมู	13.00	25.00	0	0.48	0.31	4.80	0

ตาราง 4 (ต่อ)

ชนิดของผลิตภัณฑ์	ปริมาณคุณค่าทางอาหารใน 100 กรัม						
	น้ำ %	โปรตีน (ก.)	B-แคโรทีน (มก.)	วิตามินบี 1 (มก.)	วิตามินบี 2 (มก.)	วิตามินบี 3 (มก.)	วิตามินซี (มก.)
7. ปลา							
ปลาดาบ	64.80	27.40	1.38	0.05	0.06	10.30	0
ปลาชาดิน	57.40	25.70	0.13	0.02	0.17	4.80	0
ปลาชุนา	60.00	29.00	0.05	0.05	0.12	12.80	0
8. นม							
นมคน	88.10	1.50	0.03	0.02	0.07	0.20	4.00
นมถั่วเหลือง	91.40	2.80	0.03	0.05	0.02	0.30	0

การศึกษาเกี่ยวกับวัตถุพิษ

การศึกษาวัตถุพิษที่ตกค้างในผึ้งและผลิตภัณฑ์จากผึ้ง

โจฮันเซน และบราวน์ (Johansen and Brown. 1972 : 385 - 386)

ได้ศึกษาพิษของสารฆ่าแมลงในเรณูข้าวโพดที่ผึ้งเก็บ พบว่าอันตรายจากพิษของสารฆ่าแมลงเกิดขึ้นมากในบางช่วงเวลา ซึ่งจากการวิเคราะห์พบว่าเกิดการปนเปื้อนจากคาร์บาริล เป็นส่วนใหญ่

เบอร์เกทท์ และ ฟิชเชอร์ (Burgett and Fisher. 1977 : 626 - 627)

ได้ศึกษาเกี่ยวกับวัตถุพิษ พบว่าเมทิลพาราไทออนชนิดแคปซูล (microencapsulated methyl parathion) หรือเฟ้นแคป-เอ็ม ติดไปกับขนลำตัวผึ้งงานของผึ้งพันธุ์และมีพิษต่อผึ้งพันธุ์สูง ทั้งยังมีผลกระทบต่อตัวอ่อนของผึ้งที่อาศัยอยู่ในรังเนื่องจากสารชนิดนี้ออกฤทธิ์ได้นานถึง 17 เดือน

เจเยอร์ และ ดัสแมน (Gayer and Dustmann. 1985 : 93 - 96) ได้ศึกษาวัตถุพิษในผลิตภัณฑ์ได้จากผึ้ง คือ โขผึ้ง น้ำผึ้ง และเกสรผึ้งพบว่ามิวัตถุพิษดังนี้ เบนซีน -

เฮกซะคลอไรด์หรือบีเอชซี (benzene hexachloride หรือ BHC) ไอโซเมอร์ของ
 เฮกซะคลอโรไซโคลเฮกเซน หรือเอชซีเอช (hexachlorocyclohexane หรือ HCH) ได้แก่
 แอลฟา-เอชซีเอช (α -HCH) เบต้า-เอชซีเอช (β -HCH) แกมมา-เอชซีเอช (γ -HCH)
 หรือลินเดน ซิกมา-เอชซีเอช (ϵ -HCH) แอลดริน (aldrin) คลอเดน (chlordane)
 เฮปตาคลอร์ (heptachlor) และ เอนโดซัลเฟน (endosulfan)

เทอร์รี และ คนอื่น ๆ (Terey and others. 1986 : 439 - 443) ได้วิเคราะห์
 หาวัณณิพิษคือ เมทิลพาราไทออน (methyl parathion) คาร์บาริล (carbaryl)
 เฟนวัลเรอเรต (fenvalerate) และกูไทออน (guthion) ที่ตกค้างในเกสรดอกไม้โดยวิธี
 แก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟี และโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (high performance
 liquid chromatography) พบว่าเกสรจำนวน 50 ตัวอย่างจาก 70 ตัวอย่าง พบเมทิลพาราไทออน
 มากกว่า 0.1 ppm. เกสรจำนวน 15 ตัวอย่างพบคาร์บาริลมากกว่า 0.1 ppm. และเกสรจำนวน 5
 ตัวอย่างพบทั้งเมทิลพาราไทออนและคาร์บาริลเกสรประมาณ 1 ใน 3 ของตัวอย่างทั้งหมดพบว่ามีกูไทออน
 0.1 ppm. วัณณิพิษชนิดพบปริมาณต่ำกว่าค่าสูงสุดที่ FAO/ WHO กำหนดไว้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (William. 1964 : 276 - 280)

โปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนซึ่งมีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ ปริมาณของไนโตรเจนในโปรตีนสามารถใช้เป็นค่าที่บ่งบอกปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่างได้วิธีหนึ่ง วิธีการวิเคราะห์ในการวิจัยนี้จึงอาศัยหลักการเปลี่ยนโปรตีนให้เป็นเกลือแอมโมเนียมโดยวิธีการย่อยด้วยกรดกำมะถันเข้มข้นและโปตัสเซียมซัลเฟตโดยมีซิลิเนียมเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาคาร์บอนและไฮโดรเจนถูกออกซิไดซ์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ในขณะที่ไนโตรเจนเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียมซัลเฟต จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลายเนสเลอร์และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร แล้วนำไปอ่านค่าไนโตรเจนจากกราฟมาตรฐานจากปริมาณของไนโตรเจน เมื่อคูณด้วย 5.6 จะเป็นปริมาณของโปรตีนที่มีอยู่ในสารนั้น

1. สารเคมีและอุปกรณ์

1.1 สารละลายเนสเลอร์

1.2 สารละลายมาตรฐานไนโตรเจน เตรียมจากการละลายสารแอมโมเนียม-

ซัลเฟตหนัก 4.7162 กรัมในน้ำ และทำให้เป็นสารละลายมีปริมาตร 1 ลิตร 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรของสารละลายนี้เท่ากับ 1 มิลลิกรัมของไนโตรเจน

1.3 สารที่ใช้ในการย่อย ผสมโปตัสเซียมซัลเฟตและผงซิลิเนียมในอัตราส่วน

100 : 1

1.4 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์แบบ Bush & Lomb Spectronic 21

2. วิธีดำเนินการทดลอง

2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานและการทำกราฟมาตรฐาน

ก. สารละลายตั้งต้น (stock solution) เตรียมจากการละลาย

แอมโมเนียมซัลเฟตหนัก 4.7162 กรัมในน้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนียมแล้วทำให้สารละลาย

มีปริมาตร 1 ลิตร ความเข้มข้นของสารละลายนี้ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร เท่ากับ 1 มิลลิกรัมของไนโตรเจน

ข. เตรียมสารละลายให้มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยนำสารละลายจากข้อ ก. จำนวน 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ค. เตรียมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 10, 25, 50, 75 และ 100 ไมโครกรัมต่อ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตรตามลำดับ โดยนำสารละลายจากข้อ ข. จำนวน 1, 2.5, 5, 7.5 และ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร มาเติมสารละลายเนสเลอร์ 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร และเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

ง. ทำแบลนด์โดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายมาตรฐาน แล้วดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ ค.

จ. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้และความเข้มข้นของไนโตรเจนมาเขียนกราฟมาตรฐาน

2.2 วิธีหาปริมาณไนโตรเจนในเกสรผึ้ง

ก. ชั่งเกสรผึ้งหนัก 0.2 กรัม ใส่ในขวดสำหรับย่อย (Kjeldahl flask) ขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ข. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 10 ลูกบาศก์เซนติเมตรและเติมสารผสมของโปตัสเซียมซัลเฟตและผงซิลิเนียมในอัตราส่วน 100 : 1 จำนวน 5 กรัม เขย่าเบา ๆ ให้สารละลายผสมกัน

ค. นำไปย่อยโดยเอียงขวดสำหรับย่อยบนตะเกียงแอลกอฮอล์ปรับไฟอ่อน ๆ ให้เดือดช้า ๆ ใน 10 นาทีแรก แล้วจึงเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นกว่าเดิม ให้ความร้อนต่อไปจนกระทั่งสารละลายใส ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตรในขวดมาตรฐาน

ง. นำสารละลายจากข้อ ค. มา 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมสารละลาย

เนสเลอร์ 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปหาปริมาณไนโตรเจนโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

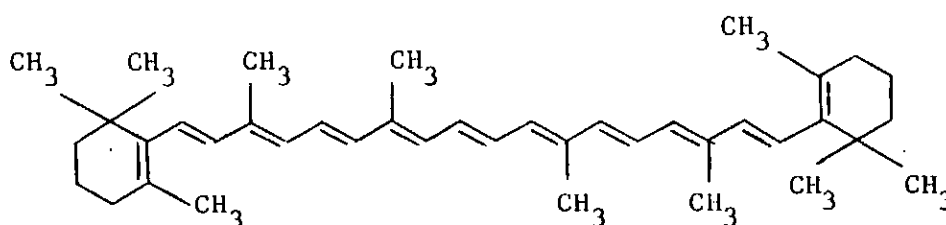
จ. การคำนวณหาปริมาณโปรตีน

$$\text{ปริมาณโปรตีน (กรัม)} = \text{ปริมาณไนโตรเจน} \times 5.6$$

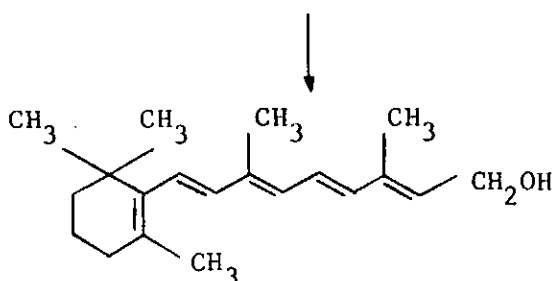
2. การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามิน

1. แคโรทีน (carotene)

ในพืชจะไม่พบวิตามินเอ แต่มีสารที่มีโครงสร้างคล้ายวิตามินเอ คือ แคโรทีน ซึ่งสามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ที่ผนังลำไส้เล็กของคนและสัตว์ ดังนั้นแคโรทีนจึงเป็นสารต้นตอ (precursor) ของวิตามินเอ การเปลี่ยนจากแคโรทีนเป็นวิตามินเอ แสดงได้ดังสมการ แคโรทีนมีอยู่หลายรูปในธรรมชาติ แต่ที่สำคัญและมีอยู่มากคือ เบต้า-แคโรทีน (β - carotene) เบต้า-แคโรทีน 1 โมเลกุลเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ 2 โมเลกุล การสัปดาห์การดูดซับที่แตกต่างกันของสารสีแคโรทีนอยด์ (carotenoid pigment) บนคอลัมน์ของอูนิมาและปรากฏเป็นแถบสีที่แตกต่างกันของสารสีแต่ละชนิด สารสีแต่ละชนิดจะแสดงสมบัติการดูดกลืนแสงได้ต่างกัน เมื่อชะด้วยสารละลายอะซิโตนในอีโพรแลน-อ์เทอร์เข้มข้นร้อยละ 2 และเก็บของเหลวที่ชะได้แล้วจึงนำมาวัดการดูดกลืนแสง สำหรับแคโรทีนมี การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร และหาปริมาณโดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน



β - carotene



Vitamin A

1. สารเคมีและอุปกรณ์

- 1.1 โซเดียมซัลเฟต
- 1.2 นิโครเลียมอีเทอร์
- 1.3 โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์
- 1.4 สารละลายมาตรฐานแคโรทีน เตรียมจากการละลายแคโรทีน 50 มิลลิกรัม

ในสารละลายอะซิโตนในนิโครเลียมอีเทอร์เข้มข้นร้อยละ 2 ปรับปริมาตรให้ครบ 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร สารละลายนี้ควรเตรียมทันทีก่อนใช้

- 1.5 อะซิโตน
- 1.6 เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95
- 1.7 อลูมินาขนาด 70 - 230 mesh
- 1.8 กระดาษกรองเบอร์ 1
- 1.9 กรวยแยกขนาด 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- 1.10 เครื่องระเหยแบบลดความดัน (rotary evaporater)
- 1.11 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์แบบ Bush & Lamb Spectronic 21
- 1.12 คอลัมน์ขนาด 1 x 20 เซนติเมตร

2. วิธีดำเนินการทดลอง

2.1 การทำกราฟมาตรฐาน

ก. เตรียมสารละลายมาตรฐานของแคโรทีนให้มีความเข้มข้น 0.2, 0.5,

1, 1.5 และ 2 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตรโดยใช้สารละลายอะซิโตนในนิโครเลียมอีเทอร์เข้มข้นร้อยละ 2 เป็นตัวทำละลาย แล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

ข. นำค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของแคโรทีนไปเขียนกราฟมาตรฐาน เพื่อใช้เปรียบเทียบหาปริมาณของแคโรทีนในสารตัวอย่าง

2.2 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีน

ก. การสกัดสารสี (pigment) ออกจากเกสรผึ้ง ซึ่งเกสรผึ้งหนัก 1 กรัม

ใส่ในขวดรูปกรวยขนาด 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมแอลกอฮอล์โปดัสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 12 จำนวน 150 ลูกบาศก์เซนติเมตรคนด้วยเครื่องคนแบบแม่เหล็ก (magnetic stirrer) 5 นาที เทใส่ในกรวยแยกเติมน้ำกลั่น 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร บีโตร์เลียมอีเทอร์ 15 ลูกบาศก์เซนติเมตรเขย่า 30 วินาที ทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไชซีน้ำและแอลกอฮอล์ออก นำไปสกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วยบีโตร์เลียมอีเทอร์ ครั้งละ 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร เก็บสารที่สกัดได้รวมกับที่สกัดได้ครั้งแรก และล้างด้วยน้ำกลั่น จนกว่าจะหมดอัลคาไลน์

ข. เติมโซเดียมซัลเฟตเขย่าแล้วกรอง นำสารละลายที่ได้ไประเหยที่

อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดันจนเหลือปริมาตร 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ค. การเตรียมคอลัมน์อลูมินา นำอลูมินาไปอบที่อุณหภูมิ 175 องศาเซลเซียส นาน 7 ชั่วโมง แล้วเก็บในโถทำแห้ง (dessicator) บรรจุในแก้วลงในคอลัมน์ นำอลูมินาเติมลงในคอลัมน์จนสูง 10 เซนติเมตร แล้วเติมโซเดียมซัลเฟตปิดผิวน้ำคอลัมน์ให้สูง 2 เซนติเมตร

ง. นำสารละลายที่ได้จากข้อ ข. ใส่ลงในคอลัมน์ แล้วชะด้วยสารละลายอะซิโตนในบีโตร์เลียมอีเทอร์เข้มข้นร้อยละ 3 จนกระทั่งแคโรทีนออกจากคอลัมน์จนหมด แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร (บันทึกปริมาตรสารละลายที่ชะได้ทั้งหมดเพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณของแคโรทีน) แล้วนำไปอ่านค่าความเข้มข้นของแคโรทีนในหน่วยไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร จากกราฟมาตรฐาน (ในขณะที่ทำการทดลองผ่านแก๊สไนโตรเจนลงไปด้วย เพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชันของแคโรทีน)

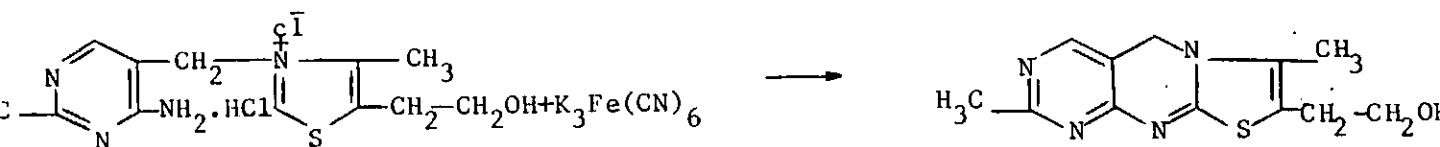
จ. การคำนวณหาปริมาณแคโรทีนในหน่วยไมโครกรัมต่อกรัมของสารตัวอย่างแสดงไว้ในภาคผนวก

2. วิตามินบี 1

วิตามินบี 1 เป็นสารประกอบที่เรียกว่าไทอามีน (thiamine) เมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะได้ไทโอโครม (thiochrome) ซึ่งเป็นสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent) เมื่อกระทบกับแสงเหนือม่วง (ultraviolet) และการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์นี้เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของไทโอโครม ด้วยหลักการนี้จึงสามารถหาปริมาณของไทอามีนได้โดยการเปรียบเทียบความเข้มข้นของแสงฟลูออเรสเซนต์ของไทโอโครมซึ่งเกิดจากการออกซิโดซ์ไทอามีน

ห้องสมุดบัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ในสารละลายมาตรฐาน โดยใช้เครื่องฟลูออโรมิเตอร์ (fluorometer) ปฏิกริยาเกิดขึ้นดังนี้



thiamine

thiochrome

1. สารเคมีและอุปกรณ์

- 1.1 สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์,
- 1.2 สารละลายกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 3
- 1.3 สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์
- 1.4 สารละลายโซเดียมอะซิเตดเข้มข้น 2.5 โมลาร์
- 1.5 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 5
- 1.6 สารละลายโปตัสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 25
- 1.7 สารละลายโปตัสเซียมคลอไรด์ เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นจำนวน 8.5

ลูกบาศก์เซนติเมตรลงในสารละลายโปตัสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 25 และทำให้เจือจางด้วยสารละลายเดียวกันนี้จนได้ 1 ลิตร

- 1.8 สารละลายโปตัสเซียมเพอร์ริชยาไนต์เข้มข้นร้อยละ 1
- 1.9 สารละลายค่างโปตัสเซียมเพอร์ริชยาไนต์ เตรียมจากการละลายสารละลาย

โปตัสเซียมเพอร์ริชยาไนต์เข้มข้นร้อยละ 1 จำนวน 3 ลูกบาศก์เซนติเมตรในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 15 และทำให้เจือจางด้วยสารละลายเดียวกันนี้จนปริมาตรครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

1.10 สารละลายไดเอสเทสเอนไซม์ เตรียมจากการละลายไดเอสเทสเอนไซม์ 6 กรัม ในสารละลายโซเดียมอะซิเตดเข้มข้น 2.5 โมลาร์และทำให้เจือจางด้วยสารละลายนี้จนปริมาตรครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

1.11 สารละลายมาตรฐานไทอามีนไฮโดรคลอไรด์

1.12 ดีคาลโซ (Decalso)

1.13 โซเดียมซิลเฟด

1.14 เครื่องเหวี่ยงศูนย์กลาง

1.15 คอลัมน์ขนาด 1 x 15 เซนติเมตร

1.16 เครื่องฟลูออโรมิเตอร์ (fluorometer)

2. วิธีดำเนินการทดลอง

ก. ชั่งเกสรแห้งหนัก 5 กรัม ใส่ในขวดรูปกรวยขนาด 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จำนวน 75 ลูกบาศก์เซนติเมตร อุ่นบนอ่างน้ำเดือด 30 นาที ทำให้เย็นลงถึงอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แล้วเติมสารละลายไดเอสเทสเอนไซม์ 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียสหนึ่งคืน จากนั้นทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และปรับปริมาตรให้ครบ 250 ลูกบาศก์เซนติเมตรด้วยน้ำกลั่น

ข. เตรียมคอลัมน์ดีคาลโซ สูงประมาณ 4-8 เซนติเมตร ล้างคอลัมน์ด้วยสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 3 จำนวน 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ผ่านสารละลายจากข้อ ก. จำนวน 25 ลูกบาศก์เซนติเมตรลงในคอลัมน์ แล้วล้างด้วยน้ำร้อน 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร 3 ครั้ง และทิ้งน้ำไปล้างด้วยสารละลายกรดโปตัสเซียมคลอไรด์ครั้งละ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 2 ครั้ง เก็บสารละลายไว้และปรับปริมาตรให้ครบ 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยใช้สารละลายกรดโปตัสเซียมคลอไรด์เช่นเดียวกัน สารละลายที่ได้เป็นสารละลายตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

ค. นำสารละลายตัวอย่างที่ได้จากข้อ ข. จำนวน 5 ลูกบาศก์เซนติเมตรมาเติมสารละลายด่างโปตัสเซียมเพอริคโชยานด์ 3 ลูกบาศก์เซนติเมตร ไอโซปิวทิลแอลกอฮอล์ 15 ลูกบาศก์เซนติเมตร จากนั้นนำไปเขย่า 90 วินาที และนำเข้าเครื่องเหวี่ยงศูนย์กลาง 3 นาที ดูดส่วนน้ำทิ้งไปเติมโซเดียมซิลเฟดที่ปราศจากน้ำประมาณ 3 กรัม เขย่า 90 วินาที จึงเทสารละลายที่ได้ไปวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ โดยให้ฟลูออโรมิเตอร์ ส่วนสารละลายแปลงค่าใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 15 จำนวน 3 ลูกบาศก์เซนติเมตรแทนสารละลายด่างโปตัสเซียมเพอริคโชยานด์

ง. สารละลายมาตรฐานทำเช่นเดียวกับสารละลายตัวอย่าง

จ. การคำนวณปริมาณวิตามินบี 1 แสดงไว้ในภาคผนวก

ขั้นตอนแสดงการหาปริมาณวิตามินบี 1

ก. การสกัด

ซึ่งเกสรผึ้งหนัก 5 g เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์ 75 cm³



อุ่นบนอ่างน้ำเดือด 30 นาที ทำให้เย็นจนอุณหภูมิเป็น 50°C



เติมไดเอทิลเอสเทอร์ 5 cm³ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45-50°C หนึ่งคืน



ทำให้เย็นที่อุณหภูมิต่ำและปรับปริมาตรให้ครบ 250 cm³ ด้วยน้ำกลั่น

ข. การทำให้บริสุทธิ์

นำสารละลายจากข้อ ก. 25 cm³ ผ่านลงในคอลัมน์ที่บรรจุดีคาลโซ ล้างคอลัมน์ด้วย

1. น้ำร้อน 10 cm³ (จำนวน 3 ครั้ง) และทิ้งน้ำไป

2. สารละลายกรดโปตัสเซียมคลอไรด์ 10 cm³ (จำนวน 2 ครั้ง) และเก็บสารละลายไว้

ปรับปริมาตรให้ครบ 25 cm³ ด้วยสารละลายเดียวกัน

ค. การวิเคราะห์

นำสารละลายจากข้อ ข. 5 cm³



สารละลายต่างไปตัสเซียมเพอริคไทฮาไนต์ 3 cm³ และไอโซบิวทิลแอลกอฮอล์ 15 cm³



เขย่า 90 นาที

เข้าเครื่องเหวี่ยงศูนย์กลาง 3 นาที



ดูดส่วนน้ำทิ้งไปเติมโซเดียมซัลเฟต 3 กรัม

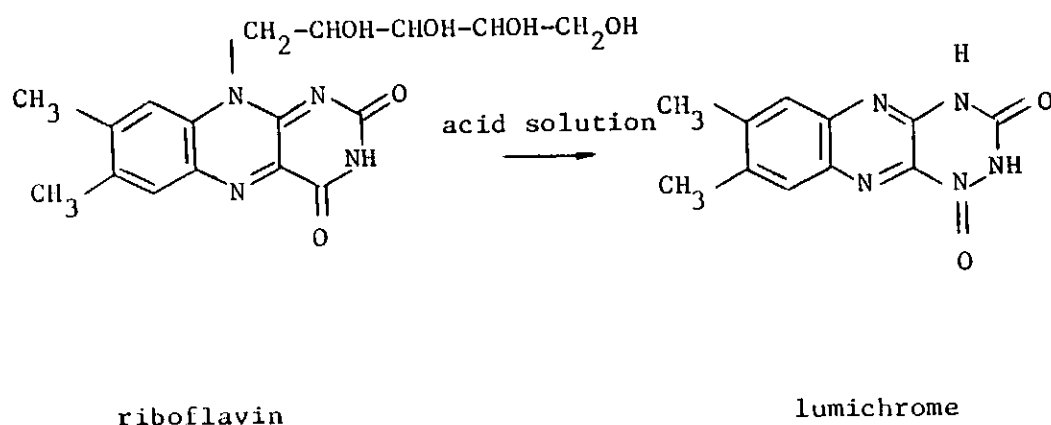


เขย่า 90 นาที

นำสารละลายไปวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์

3. วิตามินบี 2

วิตามินบี 2 เป็นสารประกอบที่เรียกว่า ไรโบเฟลวิน (riboflavin) เมื่ออยู่ในสารละลายที่มีสภาวะเป็นกรดให้ลูมิโครม (lumichrome) ซึ่งเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ให้สีฟ้า ความเข้มของแสงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของไรโบเฟลวินที่มีอยู่ในสารละลายตัวอย่าง ปริมาณของไรโบเฟลวินจึงหาได้จากผลต่างของความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ก่อนและหลังการเกิดปฏิกิริยา และเปรียบเทียบกับความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของลูมิโครมที่ได้จากสารละลายมาตรฐาน ปฏิกิริยาเกิดขึ้นดังนี้



1. สารเคมีและอุปกรณ์

- 1.1 สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์
- 1.2 สารละลายโซเดียมอะซิเตดเข้มข้น 2.5 โมลาร์
- 1.3 สารละลายไดเอสเทสเอนไซม์ เตรียมจากการละลายไดเอสเทสเอนไซม์ 0.3 กรัม ในสารละลายโซเดียมอะซิเตดเข้มข้น 2.5 โมลาร์ จำนวน 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- 1.4 สารละลายโปดัสเซียมเปอร์มังกาเนตเข้มข้นร้อยละ 3
- 1.5 สารละลายมาตรฐานไรโบเฟลวิน
- 1.6 สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้นร้อยละ 3 เตรียมจากการนำไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 30 มาทำให้เจือจางในอัตราส่วน 1 ต่อ 10

- 1.7 โซเดียมไดโทโอไนท์
- 1.8 กระดาษกรองเบอร์ 1
- 1.9 เครื่องฟลูออไรมิเตอร์

2. วิธีดำเนินการทดลอง

ก. ชั่งเกสรผึ้ง 5 กรัม ใส่ในขวดรูปกรวยขนาด 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ 75 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตั้งบนอ่างน้ำเดือดประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วนำมาทำให้เย็นจนอุณหภูมิเป็น 50 องศาเซลเซียส เติมสารละลายไดเอสเทสเอนไซม์ 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส หนึ่งคืน แล้วทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรให้ครบ 250 ลูกบาศก์เซนติเมตรด้วยน้ำกลั่น กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บสารละลายที่ได้นี้ไว้ทำการวิเคราะห์ต่อไป

ข. นำสารละลายตัวอย่างที่ได้จากข้อ ก. จำนวน 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร มาเติมน้ำกลั่น 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร เกลี่ยลาซิดิก 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมโปตัสเซียมเปอร์มังกาเนตเข้มข้นร้อยละ 3 ลงไป 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 2 นาที เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร เขย่าและนำเข้าเครื่องเหวี่ยงศูนย์กลาง 3 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์โดยใช้ฟลูออไรมิเตอร์ แล้วนำมาเติมโซเดียมไดโทโอไนต์เพื่อไปทำลายฟลูออเรสเซนซ์ของไรโบเฟลวิน และนำไปวัดฟลูออเรสเซนซ์อีกครั้งหนึ่ง บันทึกผลที่ได้

ค. สารละลายมาตรฐานทำเช่นเดียวกันกับสารละลายตัวอย่าง แต่ใช้สารละลายมาตรฐาน 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรเติมลงในสารละลายตัวอย่างแทนน้ำกลั่น

ง. การคำนวณหาปริมาณวิตามินบี 2 แสดงไว้ในภาคผนวก

ขั้นตอนแสดงการหาปริมาณวิตามินบี 2

ก. การสกัด

ซึ่ง เกลสรึ้งหนัก 5 g. เดิมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์จำนวน 75 cm^3



อุ่นบนน้ำเดือด 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นจนอุณหภูมิเป็น 50°C



เติมไดเอทิลเอสเทอร์ 5 cm^3 เก็บไว้ที่อุณหภูมิ $45 - 50^{\circ}\text{C}$ 1 คืน

ข. การวิเคราะห์

นำสารละลายตัวอย่างจากข้อ ก. 10 cm^3



เติม

น้ำกลั่น 1 cm^3 และ เกลซีลลอสติค 1 cm^3



เขย่า

เติมโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้นร้อยละ 3 จำนวน 0.5 cm^3



เขย่า ตั้งทิ้งไว้ 2 นาที

เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.5 cm^3



เขย่า เข้าเครื่องเหวี่ยงศูนย์กลาง 3 นาที

วัดค่าฟลูออเรสเซนซ์และเติมโซเดียมไดไทโอไนท์ลงไป

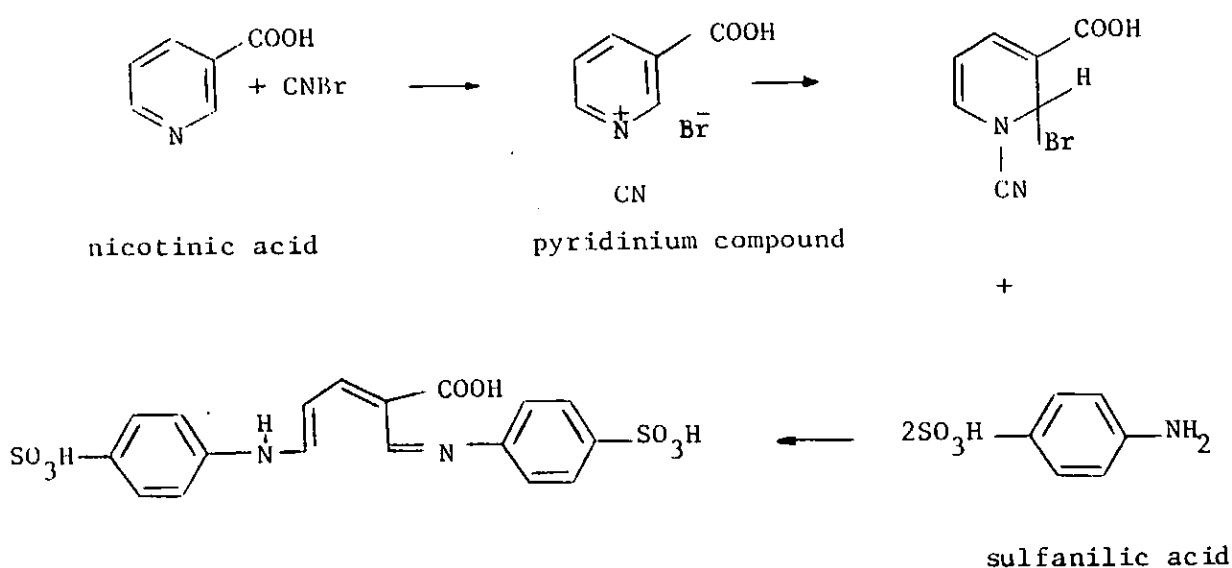


วัดค่าฟลูออเรสเซนซ์อีกครั้งหนึ่ง

ภาพประกอบ 2 แผนปฏิบัติการหาปริมาณวิตามินบี 2

4. วิตามินบี 3

วิตามินบี 3 มี 2 รูปแบบคือ รูปที่เป็นเอมิดหรือนิโคตินามิด (nicotinamide) และรูปที่เป็นกรดหรือกรดนิโคตินิก (nicotinic acid) ในการหาปริมาณวิตามินบี 3 ส่วนใหญ่ทำการวิเคราะห์ปริมาณของกรดนิโคตินิก โดยให้กรดนิโคตินิกทำปฏิกิริยากับไซยาโนเจนโบรไมด์ ได้สารประกอบไพริดีเนียม (pyridinium compound) ซึ่งสามารถเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ (rearrangement) ได้อนุพันธ์ของเอมีน ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีสีความเข้มของสีที่ได้เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณกรดนิโคตินิกที่มีอยู่ในสารละลายตัวอย่างซึ่งวัดได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ปริมาณของกรดนิโคตินิกจึงหาได้โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน ปฏิกิริยาเกิดขึ้นดังนี้



1. สารเคมีและอุปกรณ์

- 1.1 สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 1 โมลาร์
- 1.2 สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง เตรียมจากการละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 ส่วน คือน้ำ 5 ส่วน
- 1.3 สารละลายซัลฟาณิลิค
- 1.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 โมลาร์

1.5 สารละลายโซดาโนเจนโบรไมด์ เตรียมจากการละลายโซดาโนเจนโบรไมด์ 10 กรัมในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

1.6 สารละลายมาตรฐานกรดนิโคตินิก

1.7 สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ เตรียมจากการละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นจำนวน 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร และปรับปริมาตรให้ครบ 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร ด้วยน้ำกลั่น

2. วิธีดำเนินการทดลอง

ก. ชั่งเกสรแห้งหนัก 5 กรัม ใส่ในขวดรูปกรวยขนาด 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 1 โมลาร์ 200 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตั้งในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับให้สารละลายนี้มี pH 4.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 โมลาร์ ปรับปริมาตรให้ครบ 250 ลูกบาศก์เซนติเมตรด้วยน้ำกลั่น กรองแล้วบีบอัดสารละลายนี้มา 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมแอมโมเนียมซัลเฟต 17 กรัม แล้วเจือจางสารละลายนี้ด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตรเก็บไว้เป็นสารละลายตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ต่อไป

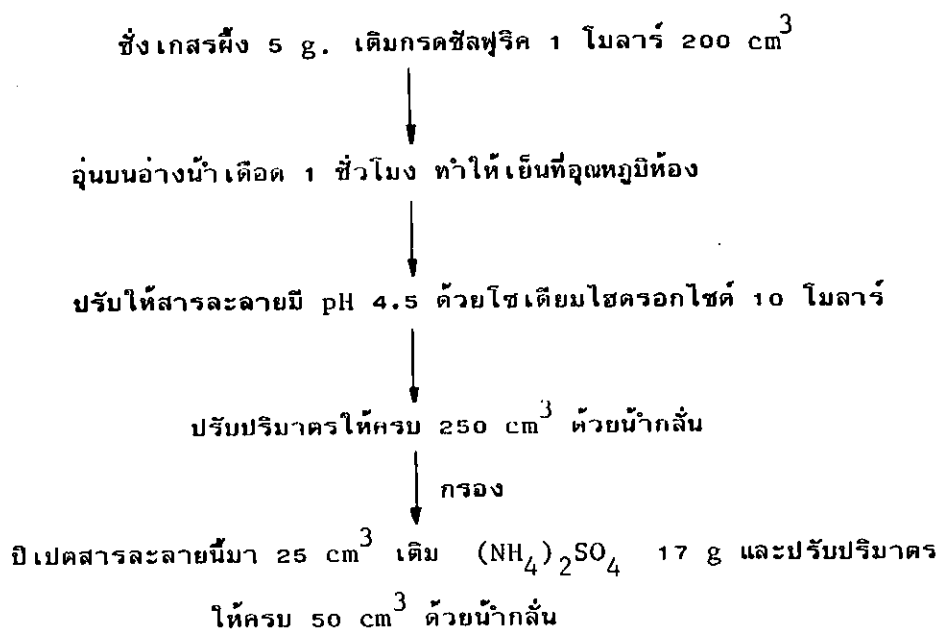
ข. นำสารละลายตัวอย่างที่ได้จากข้อ ก. มาเติมสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร สารละลายโซดาโนเจนโบรไมด์ 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร สารละลายซัลฟานิลิก 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร และสารละลายไฮโดรคลอริกเจือจาง 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ภายในเวลา 30-60 วินาทีส่วนสารละลายแมลงค์ใช้น้ำกลั่น 5 ลูกบาศก์เซนติเมตรแทนสารละลายโซดาโนเจนโบรไมด์

ค. สารละลายมาตรฐานทำเช่นเดียวกันกับสารละลายตัวอย่าง

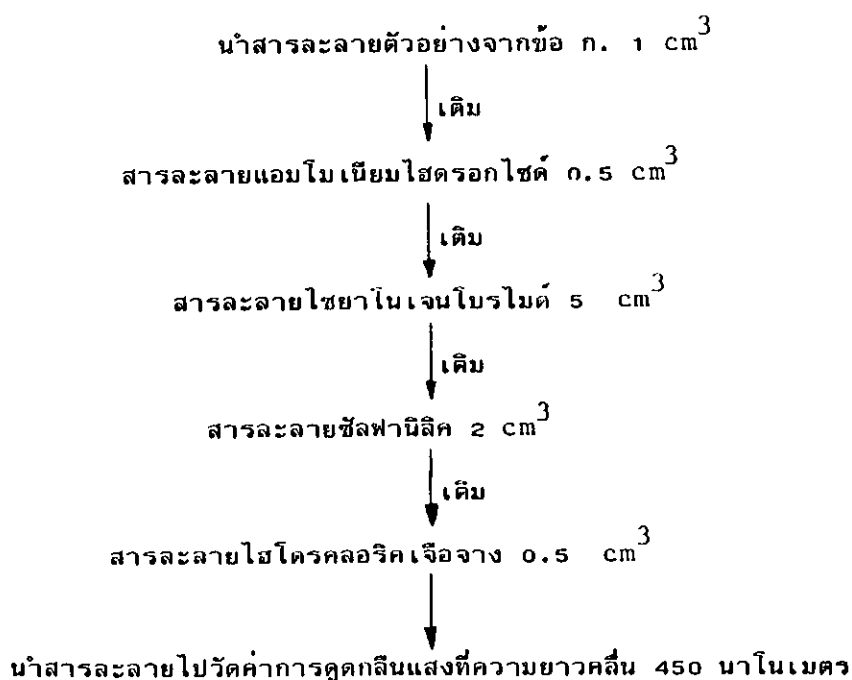
ง. การคำนวณหาปริมาณวิตามินบี 3 แสดงไว้ในภาคผนวก

ขั้นตอนแสดงการหาปริมาณวิตามินบี 3

ก. การสกัด

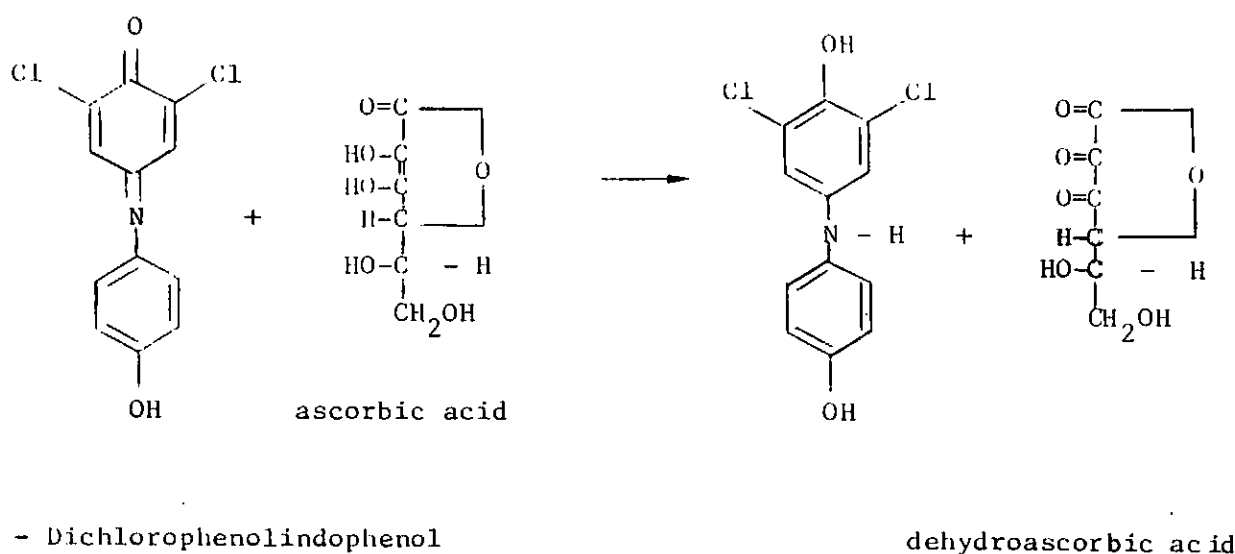


ข. การวิเคราะห์



5. วิตามินซี

วิตามินซี มีชื่อทางเคมีว่ากรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) เป็นสารที่มีสูตรคล้ายกับน้ำตาลกลูโคส สัตว์บางชนิดสามารถสังเคราะห์วิตามินซีได้ในร่างกาย ส่วนในพืชมีน้ำตาลหลายชนิดที่สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินซี ได้ แต่ส่วนใหญ่ได้มาจากน้ำตาลกลูโคส ส่วนน้อยอาจมาจากน้ำตาลกาแลคโตส วิตามินซีเมื่อทำปฏิกิริยากับ 2, 6 - ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอล (2, 6 - Dichlorophenolindophenol) ซึ่งเป็นตัวออกซิไดซ์จะให้ดีไฮโดรแอสคอร์บิก แอซิด (dehydroascorbic acid) และทำให้ความเข้มของสีของสีย้อม (dye) ซึ่งเป็นตัวออกซิไดซ์มีสีจางลง ปริมาณวิตามินซีจึงหาได้โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ปฏิกิริยาเกิดขึ้นดังนี้



1. สารเคมีและอุปกรณ์

- 1.1 สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 6
- 1.2 สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 3
- 1.3 สารละลาย 2, 6 - ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอล
- 1.4 ซีเครทบีฟเฟอร์
- 1.5 สารละลายมาตรฐานวิตามินซี
- 1.6 สารละลายรีเอเจนต์แบลงค์

2. วิธีดำเนินการทดลอง

ก. การสกัดวิตามินซีออกจากเกสรผึ้ง ซึ่งเกสรผึ้งหนัก 5 กรัม ใส่ในขวดรูปกรวยขนาด 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 6 จำนวน 4 ลูกบาศก์เซนติเมตร คนให้เป็นเนื้อเดียวกันเป็นเวลา 15 นาทีเติมซิเตรทบัฟเฟอร์ 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร และสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 6 จำนวน 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ด้วยน้ำกลั่น กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บสารละลายนี้ไว้ทำการวิเคราะห์ต่อไป

ข. นำสารละลายตัวอย่างที่ได้จากข้อ ก. มาทำการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

หลอดที่ 1 เติมสารละลายตัวอย่าง 2.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ลงในสารละลาย 2,6-ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอล 2.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำไปวัดค่าความส่งผ่าน (transmittance) เมื่อเวลาผ่านไป 5 วินาที (G_{S_1}) และเมื่อเวลาผ่านไป 10 วินาที (G_{S_2}) จากนั้นเติมผลึกวิตามินซีจนสีของ 2,6-ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอลจางหายไป วัดค่าความส่งผ่านอีกครั้งหนึ่ง (G_{Sr})

หลอดที่ 2 เติมสารละลายรีเอเจนต์แบลงค์ 2.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ลงในสารละลาย 2,6-ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอล 2.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมผลึกวิตามินซีและปรับค่าความส่งผ่านให้เท่ากับ G_{Sr}

หลอดที่ 3 เติมสารละลายรีเอเจนต์แบลงค์ 2.5 ลูกบาศก์เซนติเมตรลงในสารละลาย 2,6-ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอล 2.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร วัดค่าความส่งผ่านเมื่อเวลาผ่านไป 5 วินาที (G_b)

ค. การหาค่าคงที่ (ค่า K) เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณวิตามินซีตามสูตรที่แสดงไว้ในภาคผนวก ทำได้โดยใช้สารละลายมาตรฐานจำนวน 2.5 ลูกบาศก์เซนติเมตรแทนสารละลายตัวอย่างและดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ ข.

ง. การคำนวณค่าคงที่ (ค่า K) และการคำนวณปริมาณวิตามินซีแสดงไว้ในภาคผนวก

ขั้นตอนแสดงการหาปริมาณวิตามินซี

ก. การสกัด

ชั่ง เกสรแห้งหนัก 3 g



เติม 1. สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก เข้มข้นร้อยละ 6 จำนวน 4 cm³

2. ซิเตรทบัฟเฟอร์ 20 cm³

3. สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก เข้มข้นร้อยละ 6 จำนวน 50 cm³



ปรับปริมาตรให้ครบ 100 cm³ ด้วยน้ำกลั่นแล้วกรอง

ข. การวิเคราะห์

หลอดที่ 1

นำ dye มา 2.5 cm³



เติมสารละลายตัวอย่าง

จาก ข้อ ก. 2.5 cm³



วัดค่าความส่องผ่านเมื่อเวลาผ่านไป

5 และ 10 วินาที



เติมผลึกวิตามินซีจนสีของ dye

จางหายไป



วัดค่าความส่องผ่านอีกครั้ง (Gsr)

หลอดที่ 2

นำ dye มา 2.5 cm³



เติมสารละลายรีเอเจนต์-

แบลงค์ 2.5 cm³



เติมผลึกวิตามินซีและปรับ

ค่าความส่องผ่านให้เท่ากับ Gsr

หลอดที่ 3

นำ dye มา 2.5 cm³



เติมสารละลายรีเอเจนต์แบลงค์

2.5 cm³



วัดค่าความส่องผ่านเมื่อเวลา

ผ่านไป 5 วินาที (Gb)

ภาพประกอบ 4 แผนภูมิการหาปริมาณวิตามินซี

3. การหาความเป็นกรด - เบสของเกสรผึ้ง (AOAC. 1984 : 35)

ชั่งเกสรผึ้งหนัก 3 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร คนด้วยเครื่องคนแบบแม่เหล็กนาน 30 นาที แล้วนำไปหาค่าความเป็นกรด-เบสโดยใช้พีเอชมิเตอร์ (pH meter)

4. การหาความชื้นของเกสรผึ้ง (AOAC. 1984 : 34)

ชั่งเกสรผึ้งหนัก 1 กรัม นำไปหาความชื้นที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่องวัดความชื้น Mettler Model LP 16-M

5. การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของวัตถุมีพิษ (AOAC. 1984 : 535-547)

1. สารเคมีและอุปกรณ์

- 1.1 ไดเอทิลอีเทอร์
- 1.2 โซเดียมคลอไรด์
- 1.3 โซเดียมซัลเฟต
- 1.4 บีโตรเลียมอีเทอร์
- 1.5 ฟลอริซิล
- 1.6 อะซิโตน
- 1.7 กรวยแยกขนาด 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- 1.8 เครื่องคนแบบแม่เหล็ก (magnetic stirrer)
- 1.9 เครื่องระเหยแบบลดความดัน (rotary evaporater)
- 1.10 คอลัมน์ขนาด 1 x 25 เซนติเมตร

2. วิธีดำเนินการทดลอง

2.1 การสกัดวัตถุมีพิษออกจากสารตัวอย่าง

ก. ชั่งเกสรผึ้งหนัก 10 กรัม ใส่ในขวดรูปกรวยขนาด 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมอะซิโตน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร คนด้วยเครื่องคนแบบแม่เหล็ก 30 นาที กรองใส่ในกรวยแยกขนาด 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ข. เติมบีโตรเลียมอีเทอร์ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร น้ำกลั่น 300 ลูกบาศก์เซนติเมตร และสารละลายอีเทอร์โซเดียมคลอไรด์ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร เขย่า 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น

ค. ไช้ชั้นน้ำออก และนำไปสกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ ครึ่งละ

25 ลูกบาศก์เซนติเมตร เก็บสารที่สกัดได้รวมกับที่สกัดครั้งแรก

ง. เดิมโซเดียมซัลเฟต เขย่าแล้วกรอง นำสารที่ได้ไประเหยที่อุณหภูมิ

30-35 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน จนเหลือปริมาตร 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2.2 การเตรียมฟลอริซิลคอลัมน์

ก. นำฟลอริซิลไปอบที่อุณหภูมิ 650 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง เก็บในโถทำแห้ง ก่อนนำไปใช้อบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส 5 ชั่วโมง

ข. บรรจุใยแก้วลงในคอลัมน์ นำฟลอริซิลที่ยังร้อนอยู่เติมลงในคอลัมน์จนสูง 20 เซนติเมตร แล้วเติมโซเดียมซัลเฟตปิดผิวหน้าคอลัมน์ให้สูง 2 เซนติเมตร ปลอ่ยให้ปิโตรเลียมอีเทอร์ ไหลลงสู่ภาชนะ

2.3 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ก. นำสารละลายจากข้อ 2.1 ใส่ลงในคอลัมน์แล้วชะด้วยสารละลาย ไดเอทิลอีเทอร์ในปิโตรเลียมอีเทอร์เข้มข้นร้อยละ 6, 15 และ 50 โดยปริมาตรตามลำดับ

ข. นำสารละลายส่วนที่ชะได้ ไประเหยที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส จนเกือบแห้ง แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 2 ลูกบาศก์เซนติเมตรด้วยเฮกเซน

2.4 การวิเคราะห์ชนิดของวัตถุพิษ ใช้ไซริงขนาด 10 ไมโครลิตร ดูดสารละลาย จากข้อ 2.3 จำนวน 1 ไมโครลิตร ฉีดเข้าเครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟีหาชนิดของวัตถุพิษได้โดย เปรียบเทียบเวลาริเทนชัน (retention time) ระหว่างพีก (peak) ของสารละลายตัวอย่าง กับพีกของวัตถุพิษมาตรฐานที่ตรวจภายใต้สภาวะเดียวกัน

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณของวัตถุพิษ

ก. การทำกราฟมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายวัตถุพิษมาตรฐาน นำวัตถุพิษมาตรฐานดังต่อไปนี้ ดีดีที แอลดริน เฮปตาคลอร์ ไดอะซินอน เมทิลพาราไทออน มาลาไทออน และอะโซดริน เตรียมให้มี ความเข้มข้น 0.2-1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร โดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย

2. ใช้ไซริงขนาด 10 ไมโครลิตรดูดสารละลายจากข้อ 1 จำนวน

1 ไมโครลิตร ฉีดเข้าเครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟี จะได้พีคและพื้นที่พีคของวัตถุพิษมาตรฐาน

3. นำพื้นที่พีคและปริมาณวัตถุพิษในสารละลายมาตรฐานมาเขียนกราฟ จะได้กราฟมาตรฐาน

ข. การวิเคราะห์ปริมาณวัตถุพิษในสารตัวอย่าง นำพื้นที่พีคที่ได้จากสารละลายตัวอย่าง ไปหาปริมาณวัตถุพิษโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

2.6 การหาเปอร์เซ็นต์รีคัพเวอรี (percent recovery) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการทดลอง แล้วนำไปหาปริมาณของวัตถุพิษที่มีอยู่จริงในสารตัวอย่าง

ก. นำสารตัวอย่างหนัก 10 กรัม ไปเติมสารละลายวัตถุพิษมาตรฐานเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร จำนวน 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ข. นำสารตัวอย่างจากข้อ ก. มาผ่านขบวนการต่าง ๆ เช่นเดียวกันกับการเตรียมสารละลายตัวอย่างแล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณวัตถุพิษ

ค. การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์รีคัพเวอรี และปริมาณวัตถุพิษ แสดงไว้ในภาคผนวก

บทที่ 4

ผลการศึกษาค้นคว้า

การวิเคราะห์องค์ประกอบบางชนิด และตรวจหาปริมาณวัตถุพิษที่ตกค้างในเกสรผึ้งที่ได้จากพรรณไม้ต่าง ๆ ซึ่งเก็บในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2530 ได้ผลการวิเคราะห์ข้อมูลดังต่อไปนี้

1. ผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบบางชนิดในเกสรผึ้งที่ได้จากพรรณไม้ต่าง ๆ

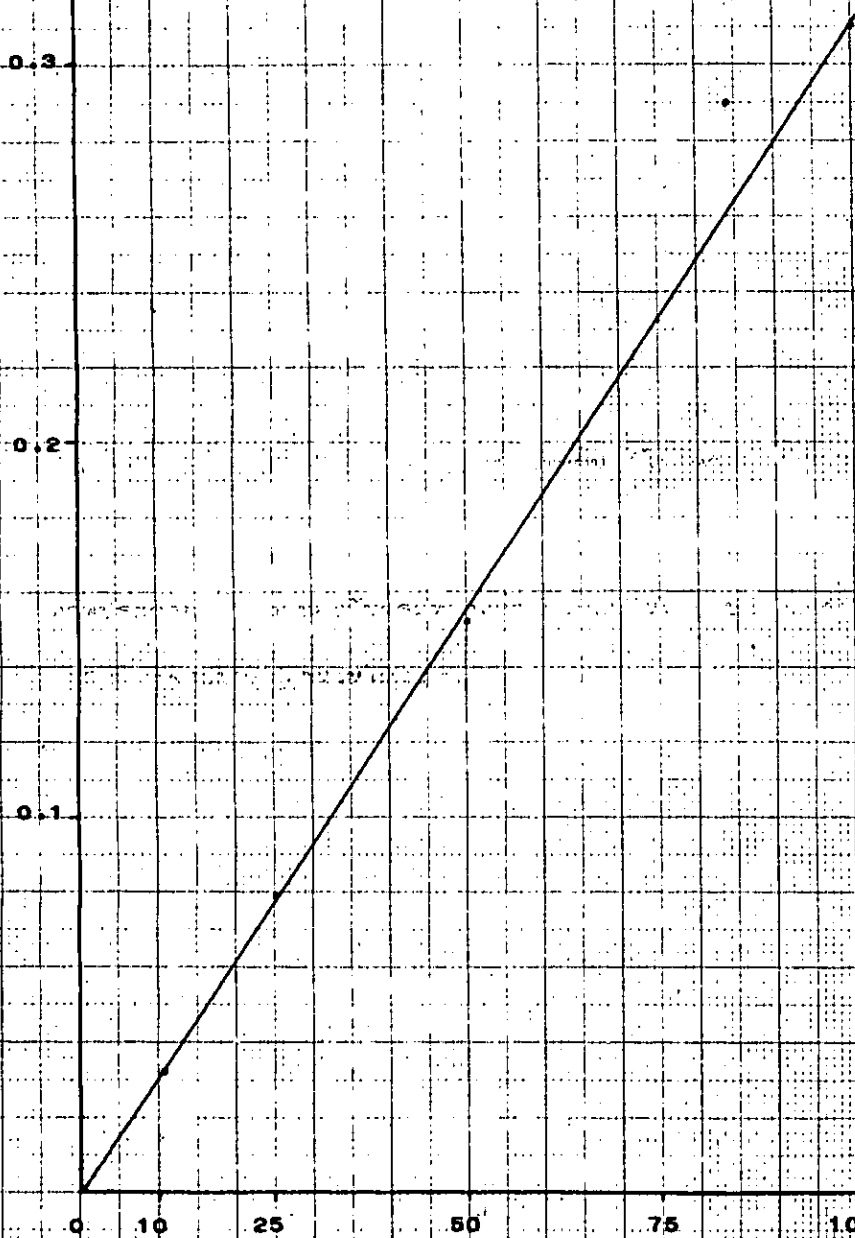
1.1 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

ตาราง 5 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนโตรเจน

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ไนโตรเจน (ไมโครกรัม/50 ลบ.ซม.)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 430 นาโนเมตร
10	0.032
25	0.079
50	0.015
75	0.233
100	0.310

จากข้อมูลในตาราง 4 นำไป เขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนจะได้กราฟมาตรฐานดังแสดงในภาพประกอบ 5

ค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 nm



ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/50 ลน. ซม.)

ภาพประกอบ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ
สารละลายมาตรฐานไนโตรเจน

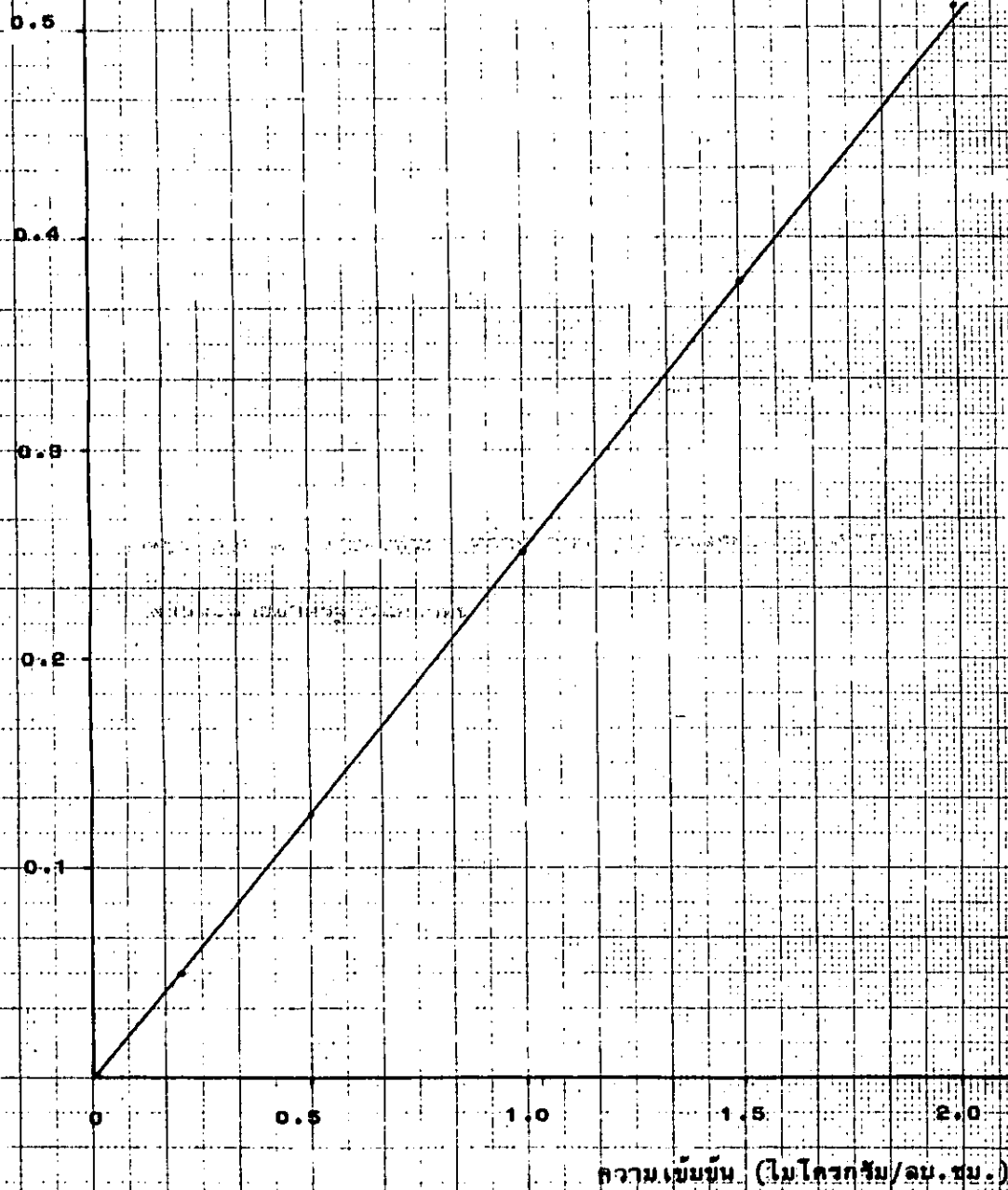
1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีน

ตาราง 6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแคโรทีน

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน แคโรทีน (ไมโครกรัม/ลบ.ซม.)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร
0.2	0.050
0.5	0.125
1.0	0.250
1.5	0.380
2.0	0.510

จากข้อมูลในตาราง 5 นำไปเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแคโรทีนจะได้กราฟมาตรฐานดังแสดงในภาพประกอบ 6

ค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 nm



ภาพประกอบ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ

สารละลายมาตรฐานแคโรทีน

ตาราง 7 ปริมาณองค์ประกอบบางชนิดในเกสรผึ้งที่ได้จากพรรณไม้ชนิดต่าง ๆ

ชนิดของ เกสรผึ้ง*	องค์ประกอบ							
	น้ำ	pH	โปรตีน	แคโรทีน	วิตามินบี 1	วิตามินบี 2	วิตามินบี 3	วิตามินซี
	%		ก./100ก.	มก./100ก.	มก./100ก.	มก./100ก.	มก./100ก.	มก./100ก.
เกสรสด ^{1,ก}	10.50	4.30	22.60	0.10	0.56	0.60	12.41	7.09
เกสรสด ^{2,ข}	11.00	3.40	25.17	0.08	0.56	4.11	6.64	8.91
เกสรสด ^{3,ข}	11.50	3.55	23.99	0.09	0.55	0.62	7.89	6.25
เกสรอัดเม็ด ^{4,ก}	2.50	7.40	4.58	0.05	0.16	0.46	10.88	2.53
เกสรอัดเม็ด ^{5,ข}	3.00	7.00	4.03	0.03	0.02	0.28	5.89	4.39
เกสรอัดเม็ด ^{6,ข}	6.44	7.20	17.45	0.05	0.47	0.47	5.82	5.43
เกสรอัดเม็ด ^{7,ค}	3.00	6.50	22.43	0.04	1.13	3.02	10.99	13.15

1. พบเกสรดอกไม้ยราบ พริก และมะเขือ
 2. พบเกสรยาสูบ และเกสรของดอกไม้ในวงศ์คอมโพสิที (Compositae)
ได้แก่ บัวตอง ดาวกระจาย กระดุมทองเสี้ยว
 3. พบเกสรดอกพริก มะเขือ และยาสูบ
 4. พบเกสรดอกข้าวโพด ข้าวเจ้า และข้าวฟ่าง
 5. พบเกสรดอกถั่ว
 6. พบเกสรดอกถั่ว และงา
 7. พบเกสรดอกไม้ยราบ
- *(โกสุม หิระมาน . 2532 : ไม่ปรากฏเลขหน้า)
- ก. จังหวัดเชียงใหม่
- ข. จังหวัดพิษณุโลก
- ค. จังหวัดอุดรธานี

จากผลการวิเคราะห์ในตาราง 6 แสดงให้เห็นว่าเกสรผึ้งที่ได้จากพรรณไม้ต่างชนิดกันมีองค์ประกอบต่างกัน โดยที่ปริมาณน้ำ โปรตีน และวิตามินในเกสรผึ้งที่มาจากแหล่งต่างกันจะต่างกันด้วย

2. ผลการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของวัตถุพิษที่ตกค้างในเกสรผึ้ง

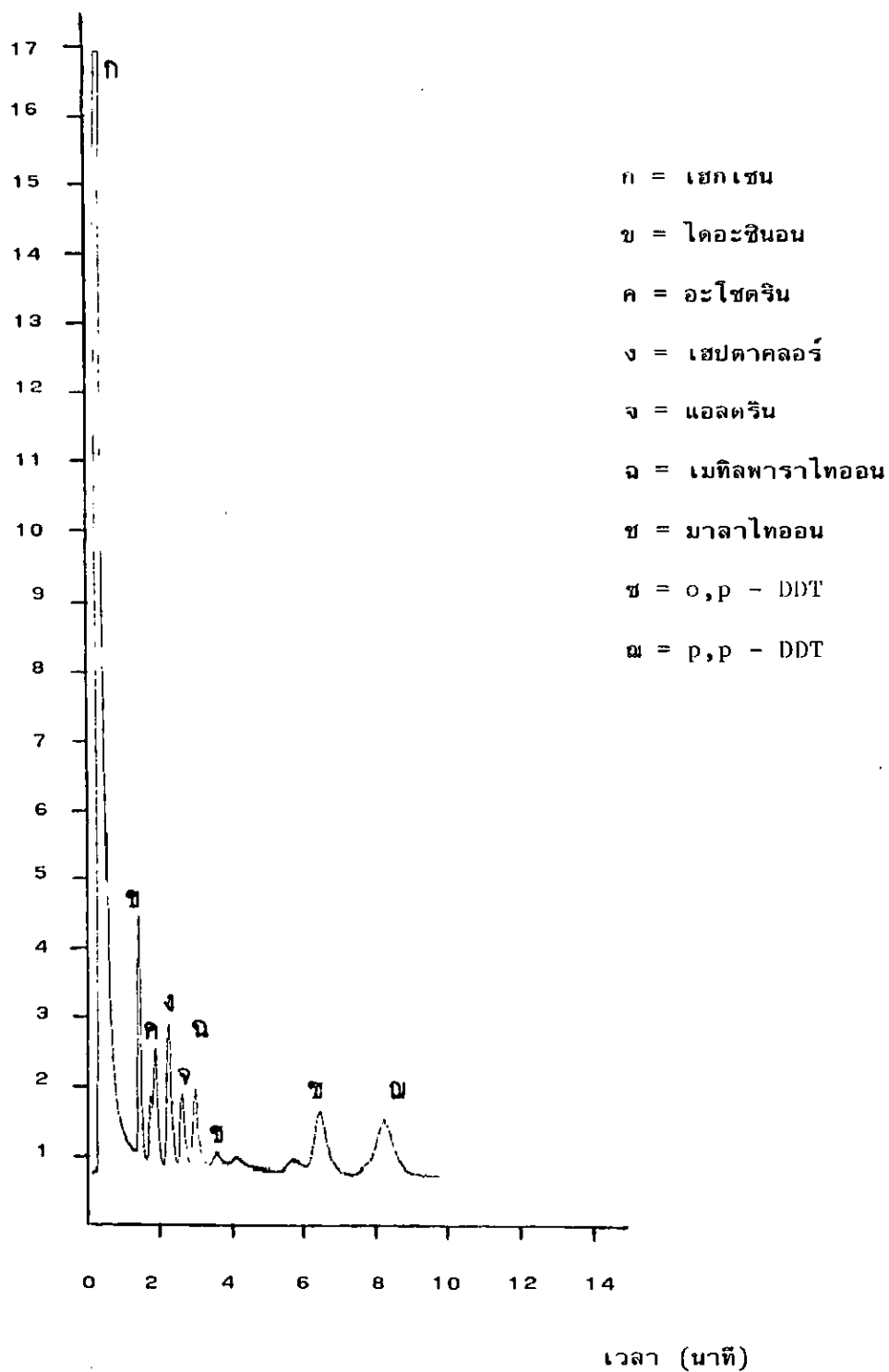
2.1 ผลการหาปริมาณและเวลารีเทนชันของวัตถุพิษ

ตาราง 8 ปริมาณและเวลารีเทนชันของวัตถุพิษมาตรฐาน

วัตถุพิษ	ปริมาณ (มก./ลบ.ซม.)	เวลารีเทนชัน (นาที)
ไดอะซินอน	0.1249	1.43
อะโซดริน	0.1469	1.76
เฮปตาคลอร์	0.1315	1.89
แอลดริน	0.1309	2.29
เมทิลพาราไทออน	0.1252	2.69
มาลาไทออน	0.1210	3.07
o,p - DDT	0.1336	6.66
p,p - DDT	0.1267	8.58

จากการใช้สารละลายผสมของวัตถุพิษมาตรฐาน 1 ไมโครลิตร ฉีดเข้าเครื่องแก๊ส-
 ลิควิดโครมาโทกราฟี ปรากฏว่า ไดอะซินอนถูกแยกออกมาก่อนแล้วตามด้วย อะโซดริน เฮปตาคลอร์
 แอลดริน เมทิลพาราไทออน มาลาไทออน o,p - DDT และ p,p - DDT ตามลำดับ ลักษณะของ
 พีค และเวลารีเทนชันของวัตถุพิษมาตรฐานแสดงในภาพประกอบ 7

ความสูงของพีค (ซม.)



ภาพประกอบ 7 แสดงพีคที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟีของวัดภูมิพิษ

มาตรฐานปริมาณตั้งแต่ 0.1210-0.1469 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร

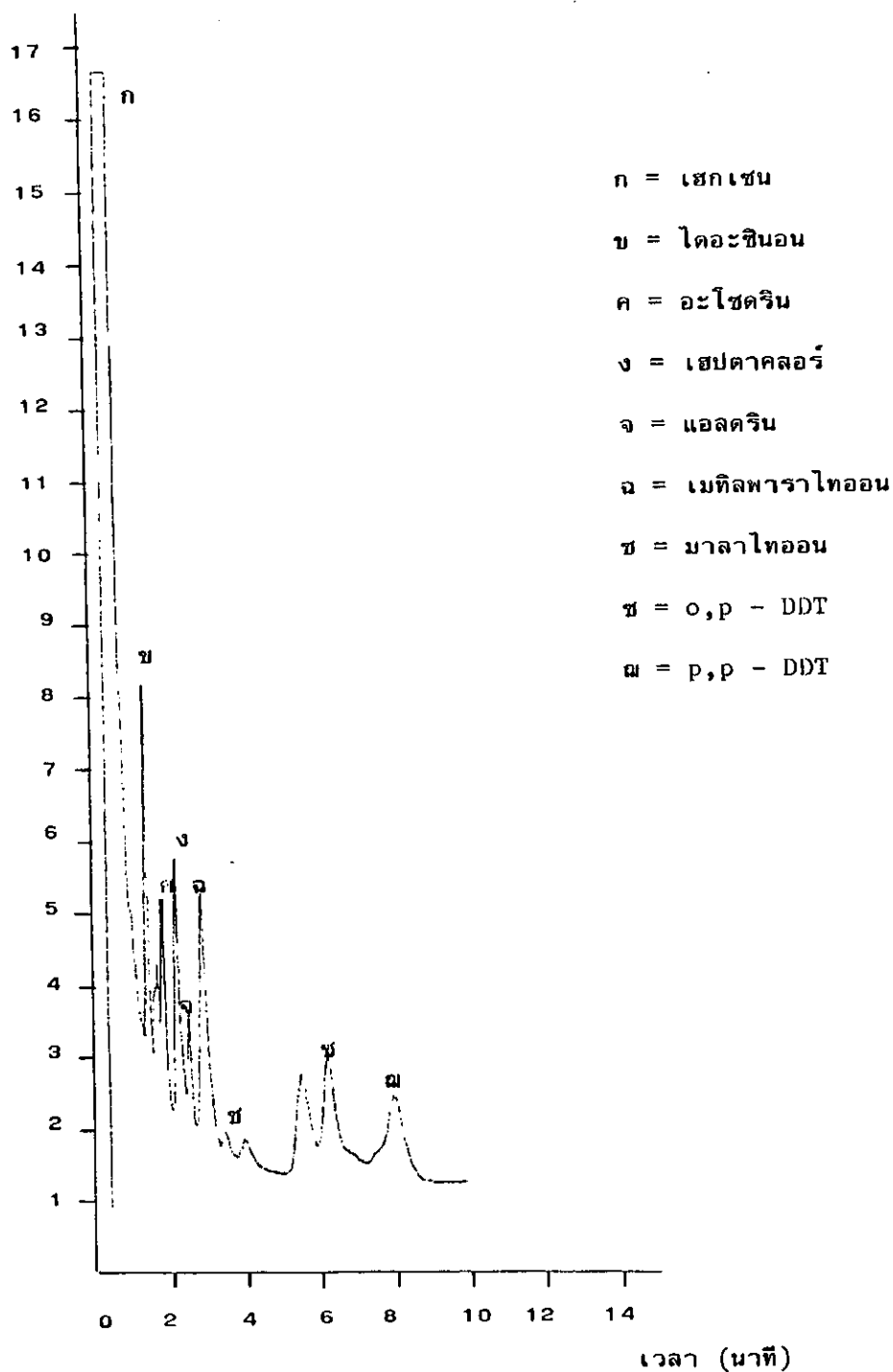
2.2 การหาเปอร์เซ็นต์รีคัพเวอรีของวัตถุมีพิษที่เติมลงในเกสรผึ้ง

ตาราง 9 ผลการหาเปอร์เซ็นต์รีคัพเวอรีของวัตถุมีพิษทั้ง 8 ชนิดที่เติมลงในเกสรผึ้งชนิดเกสรอัดเม็ด^{4,ก}

วัตถุมีพิษ	ปริมาณที่เติม (มก.)	ปริมาณที่ตรวจพบ (มก.)	เปอร์เซ็นต์รีคัพเวอรี
ไดอะซินอน	0.625	0.5463	87.41
อะไซดริน	0.625	0.4397	70.35
เฮปตาคลอร์	0.625	0.5473	87.57
แอลดริน	0.625	0.5014	80.23
เมทิลพาราไทออน	0.625	0.5349	85.59
มาลาไทออน	0.625	0.5246	83.93
o,p - DDT	0.625	0.5046	80.73
p,p - DDT	0.625	0.5619	89.91

จากการหาเปอร์เซ็นต์รีคัพเวอรี แสดงว่า วิธีการดังกล่าวเป็นวิธีการที่ดีสำหรับการวิเคราะห์หาวัตถุมีพิษทั้ง 8 ชนิด เนื่องจากให้เปอร์เซ็นต์การตรวจพบสูง คือมากกว่าร้อยละ 70 ส่วนเกสรผึ้งที่เป็นตัวควบคุมตรวจไม่พบวัตถุมีพิษที่ทำให้เกิดพิษที่มีเวลาริเทนชัน เท่ากับพิษของวัตถุมีพิษทั้ง 8 ชนิด ลักษณะของพิษของวัตถุมีพิษที่ตรวจพบที่ตรวจพบแสดงในภาพประกอบ 8

ความสูงของพีค (ซม.)



ภาพประกอบ 8 แสดงพีคที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟีของวัดภูมิพิษ

มาตรฐานที่เติมลงในเกสรผึ้งชนิด เกสรอัดเม็ด^{4,ก}

2.3 การสร้างกราฟมาตรฐาน

ตาราง 10 ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่พื้กับความเข้มข้นของวัตถุพิษมาตรฐาน

วัตถุพิษ	ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/ไมโครลิตร)	พื้นที่พื้ (จำนวนนับ)
ไดอะซินอน	0.05	3983
	0.10	9156
	0.15	13385
	0.20	19666
	0.25	21287
เมทิลพาราไทออน	0.20	8976
	0.40	22500
	0.60	33500
	0.80	44842
	1.00	58125
มาลาไทออน	0.20	8823
	0.40	17054
	0.60	28000
	0.80	38267
	1.00	46984
อะโซคริน	0.05	938
	0.075	1388
	0.10	1825
	0.125	2350

ตาราง 10 (ต่อ)

วัตถุพิษ	ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/ไมโครลิตร)	พื้นที่ผล (จำนวนนับ)
p,p - DDT	0.20	7250
	0.30	11245
	0.40	14429
	0.50	18750
o,p - DDT	0.20	16504
	0.40	32478
	0.60	46500
	0.80	70275
	1.00	92496
แอลดริน	0.05	3574
	0.10	8046
	0.15	14000
	0.20	15826
	0.25	21441
เซปตาคลอร์	0.20	8649
	0.40	18140
	0.60	27500
	0.80	38312
	1.00	49405

จากข้อมูลในตาราง 10 นำไปเขียนกราฟระหว่างพื้นที่ผลกับความเข้มข้นของวัตถุพิษจะได้

กราฟมาตรฐาน ดังแสดงในภาพประกอบ 9-16

พื้นที่ปลูก
(จำนวนนับ)

30000

25000

20000

15000

10000

5000

0

0.05

0.10

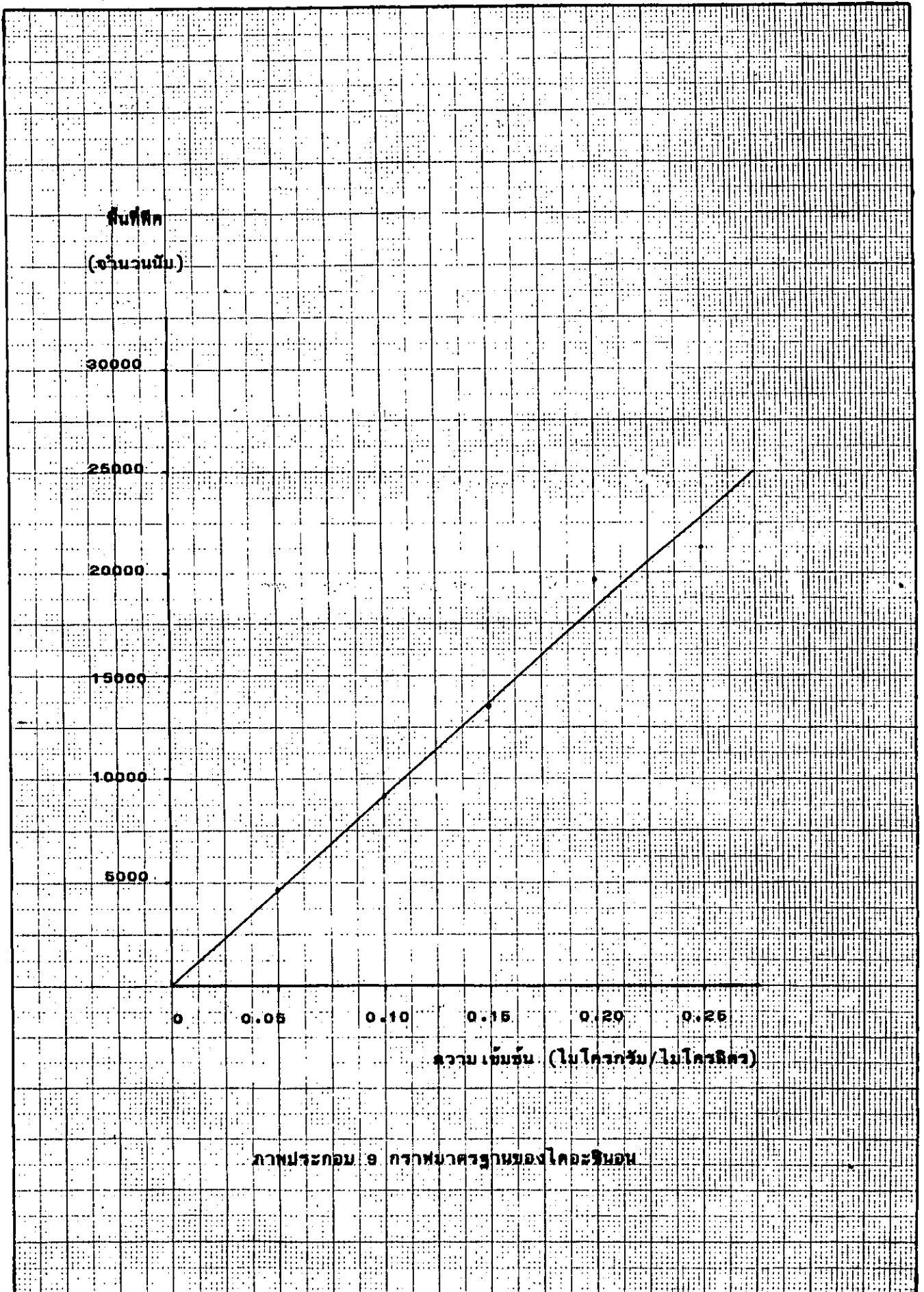
0.15

0.20

0.25

ความเข้มข้น (โมโคกรัม/โมโคลิตร)

ภาพประกอบ 9 กราฟมาตรฐานของโคอะรีนอล



พื้นที่ผิวก
(จำนวนนับ)

60000

50000

40000

30000

20000

10000

0

0.2

0.4

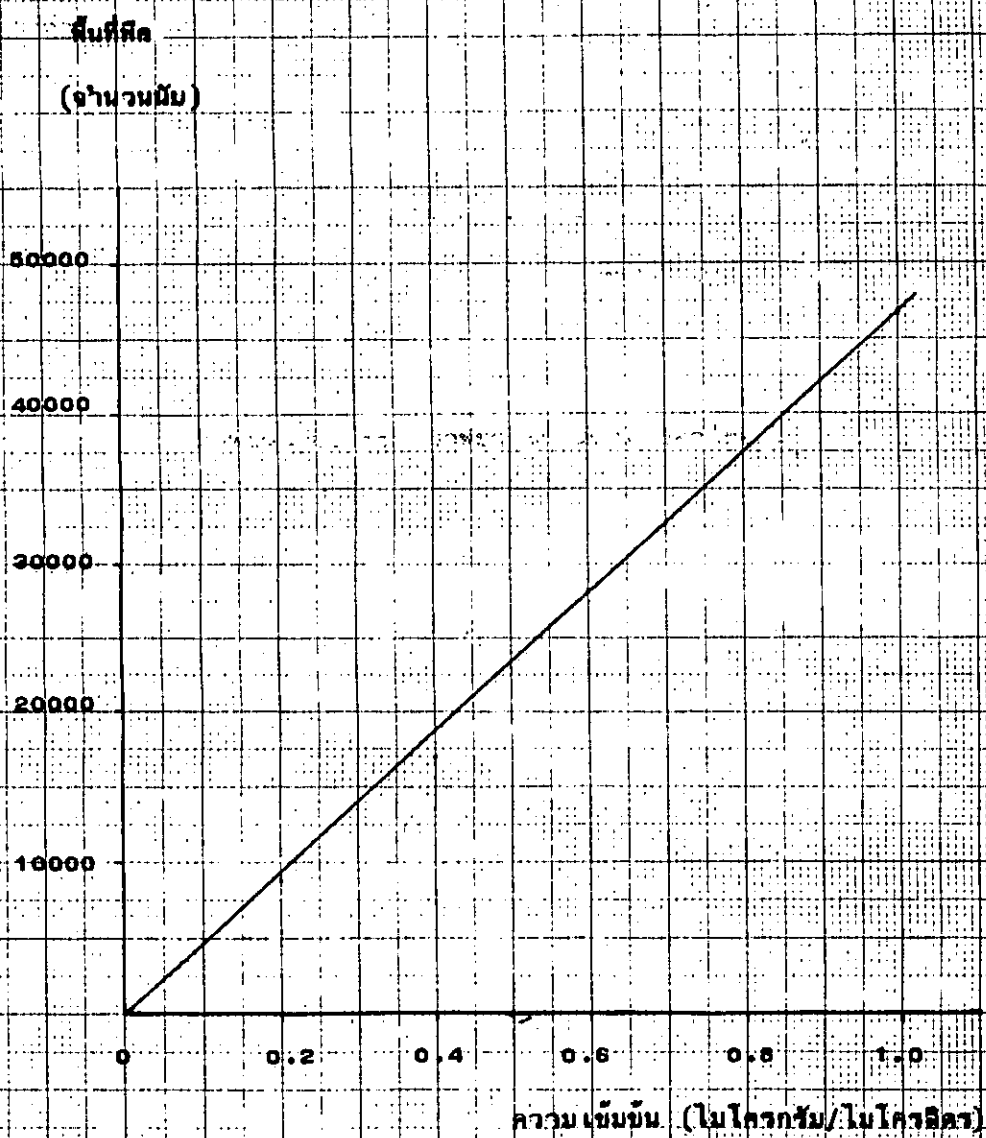
0.6

0.8

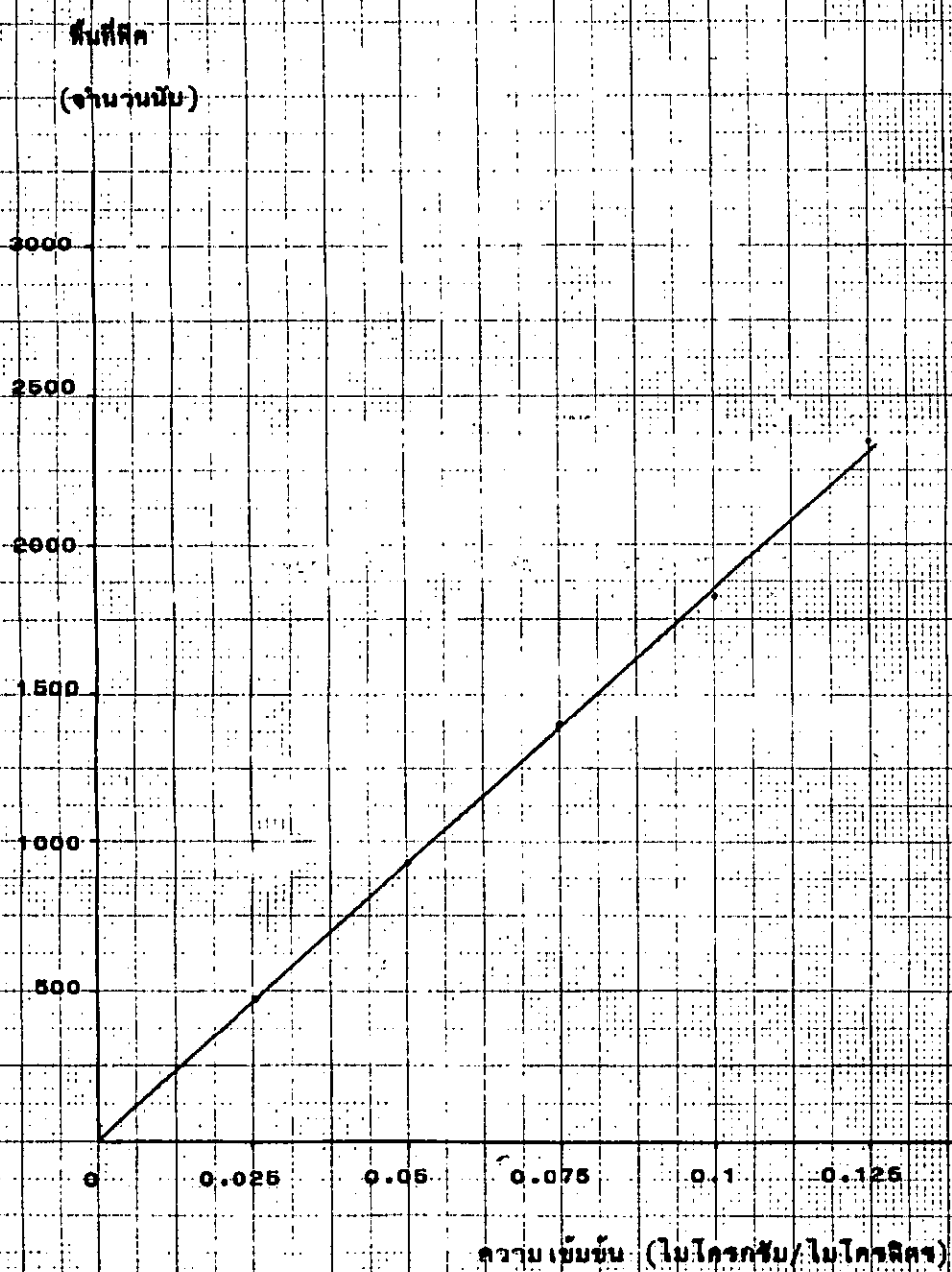
1.0

ความเข้มข้น (โมลกรัม/โมลลิตร)

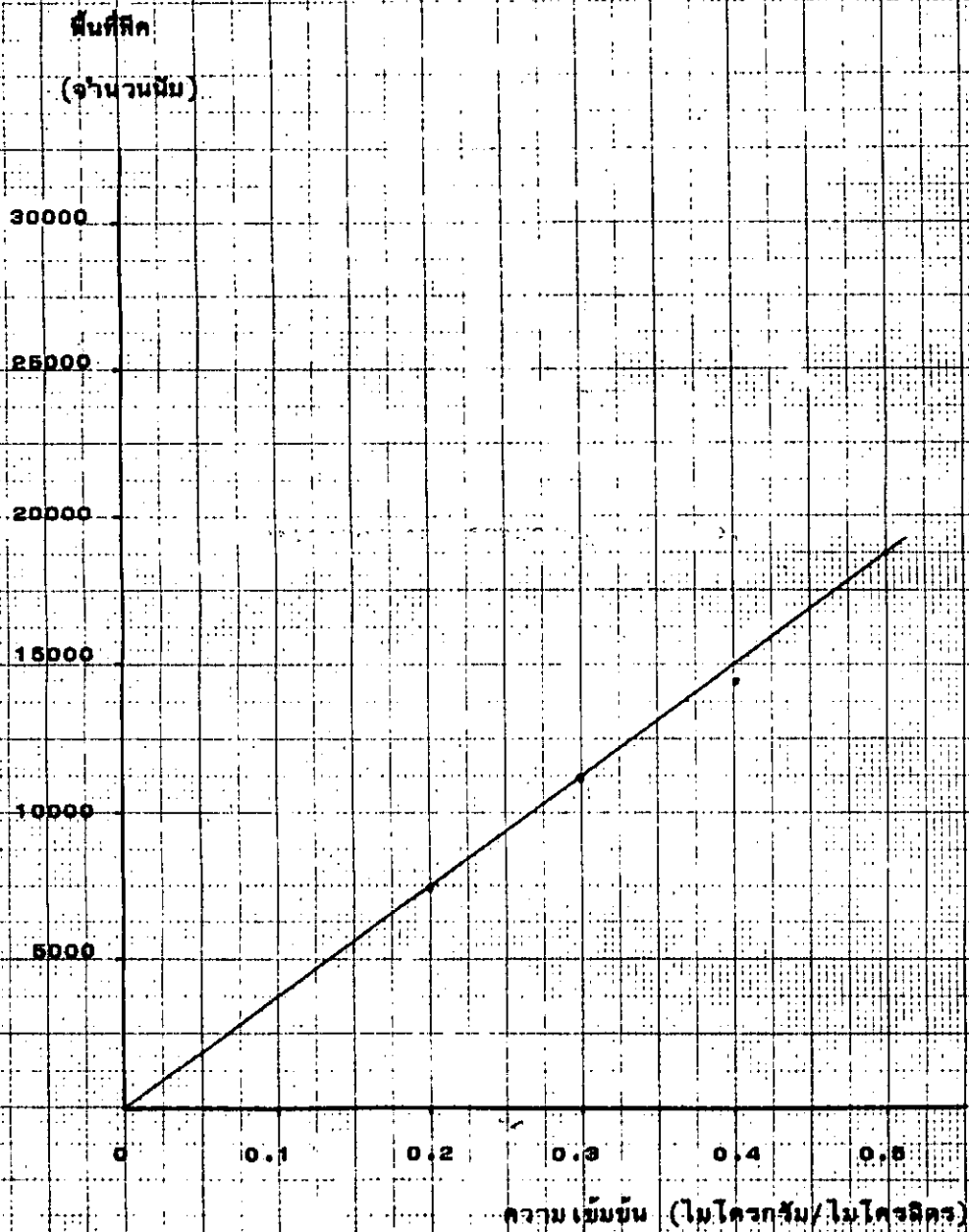
ภาพประกอบ 10 กราฟมาตรฐานของเบ็ดพาราไทออน



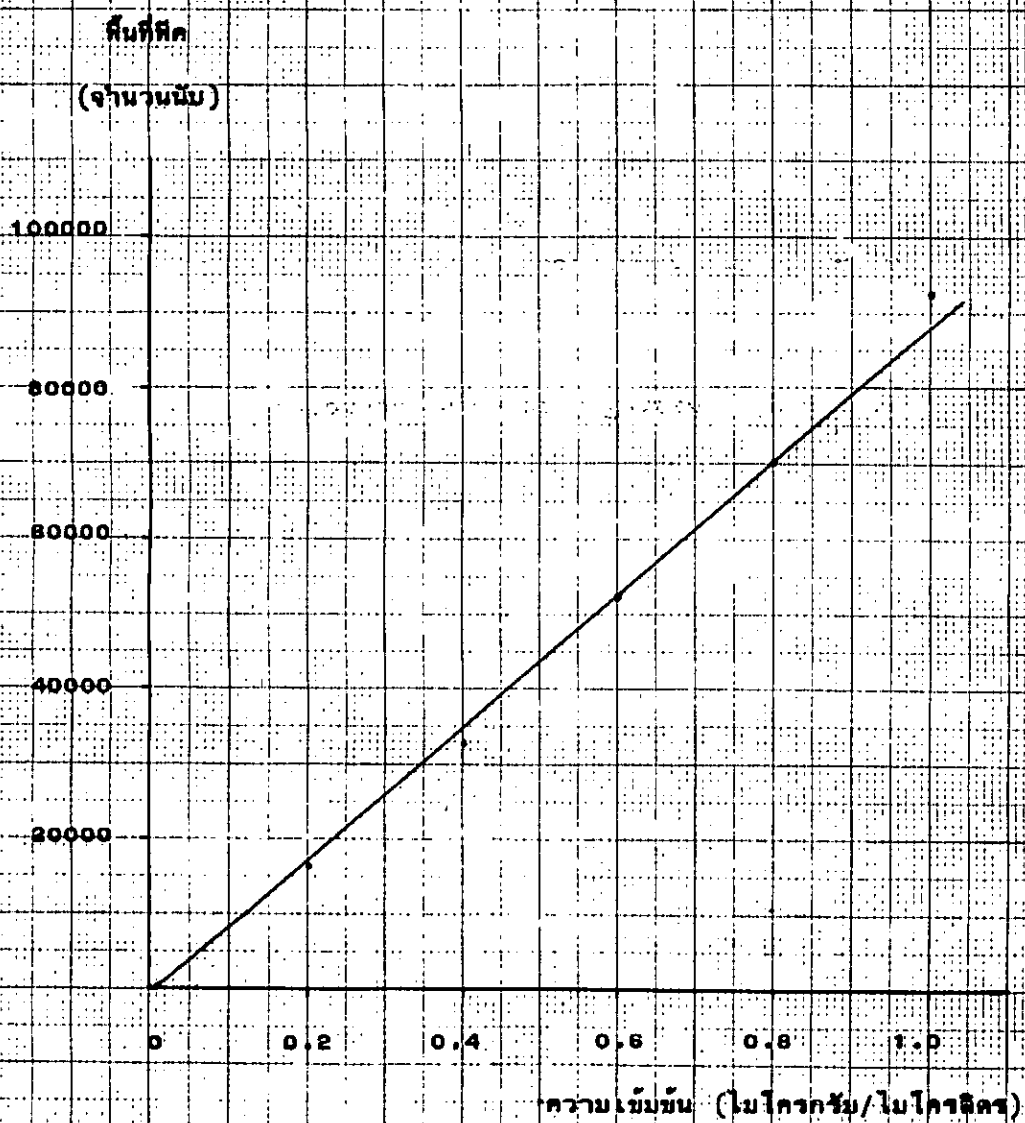
ภาพประกอบ 11 กราฟมาตรฐานของมาลาโทออน



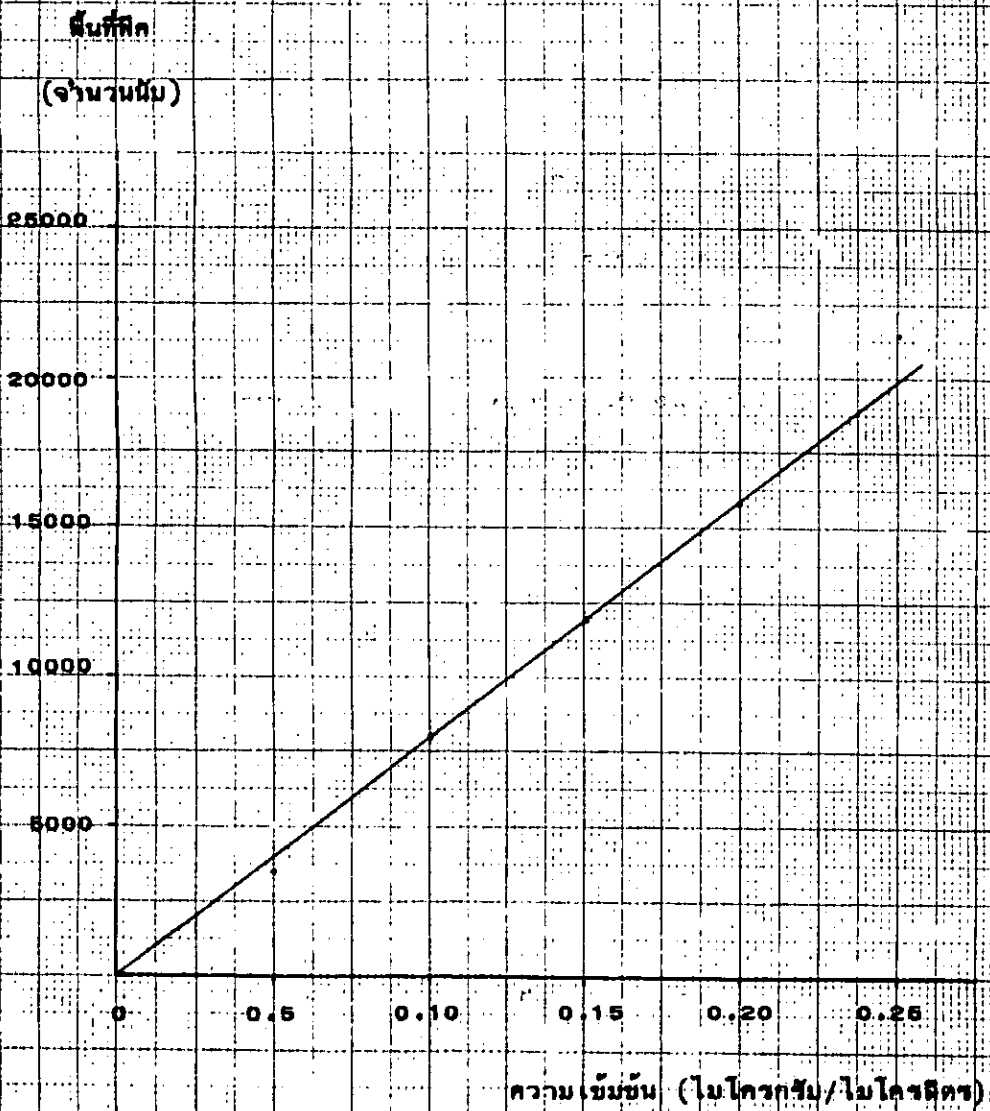
ภาพประกอบ 12 กราฟมาตรฐานของอะโซไนต์



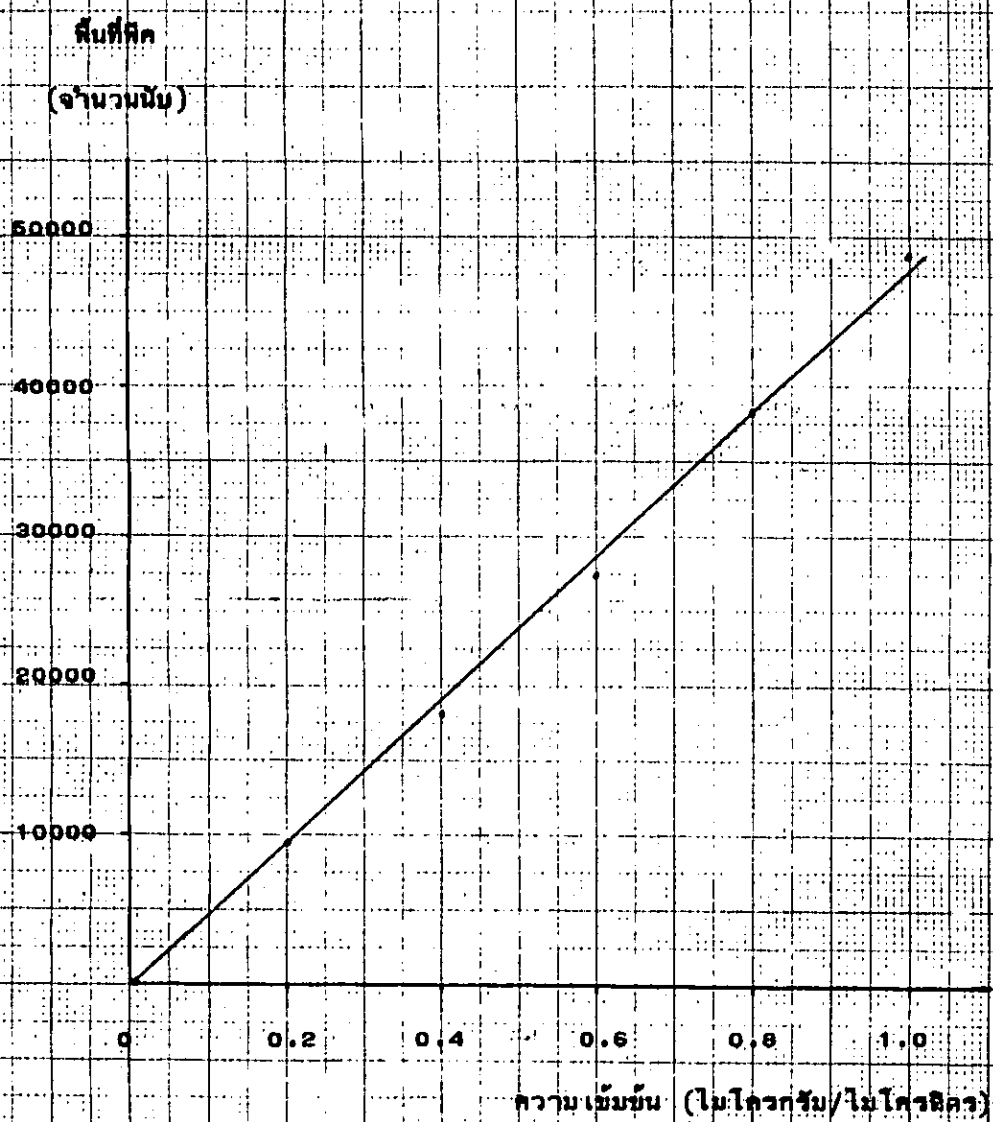
ภาพประกอบ 13 กราฟมาตรฐานของ p,p - DDT



ภาพประกอบ 14 กราฟมาตรฐานของ o,p - DDT



ภาพประกอบ 15 กราฟมาตรฐานของแอลกอฮอล์



ภาพประกอบ 16 กราฟมาตรฐานของเฮปตาคลอร์

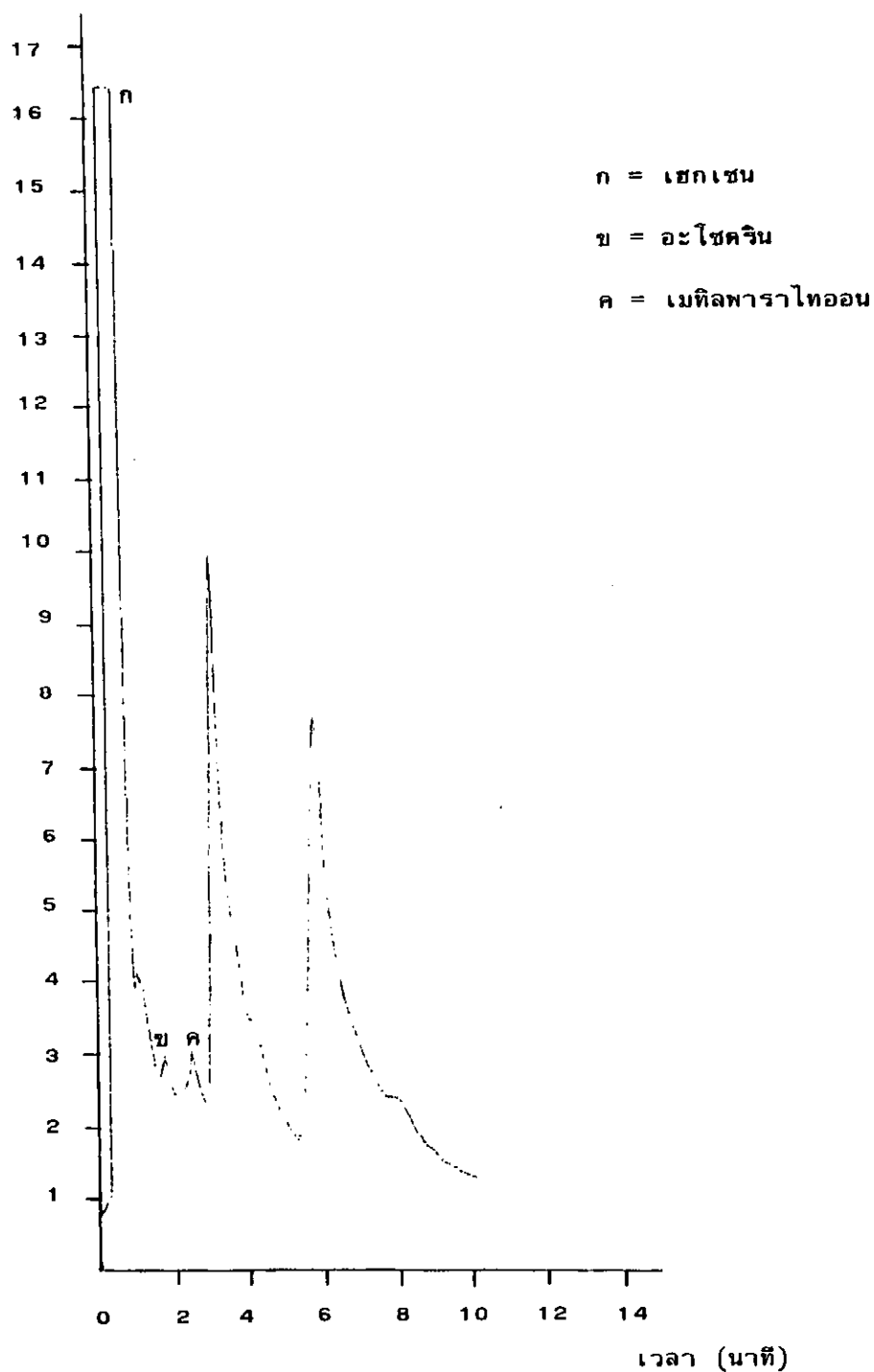
2.4 การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของวัตถุมีพิษที่ตกค้างในเกสรผึ้งที่ได้จาก
พรรณไม้ชนิดต่าง ๆ

ตาราง 11 ผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของวัตถุมีพิษที่ตกค้างในเกสรผึ้งที่ได้จากพรรณไม้ชนิดต่าง ๆ

ชนิดของ เกสรผึ้ง	วัตถุมีพิษที่ตรวจพบ	ปริมาณวัตถุมีพิษที่ ตกค้างในเกสรผึ้ง (ppm)
เกสรสด ^{1,ก}	เมทิลพาราไทออน	1.56
	อะไซดริน	6.83
เกสรสด ^{2,ข}	ไดอะซินอน	5.33
	แอลดริน	8.77
เกสรสด ^{3,ข}	ไดอะซินอน	5.81
เกสรอัดเม็ด ^{4,ก}	-	-
เกสรอัดเม็ด ^{5,ข}	ไดอะซินอน	3.35
เกสรอัดเม็ด ^{6,ข}	ไดอะซินอน	2.42
	แอลดริน	0.59
เกสรอัดเม็ด ^{7,ค}	-	-

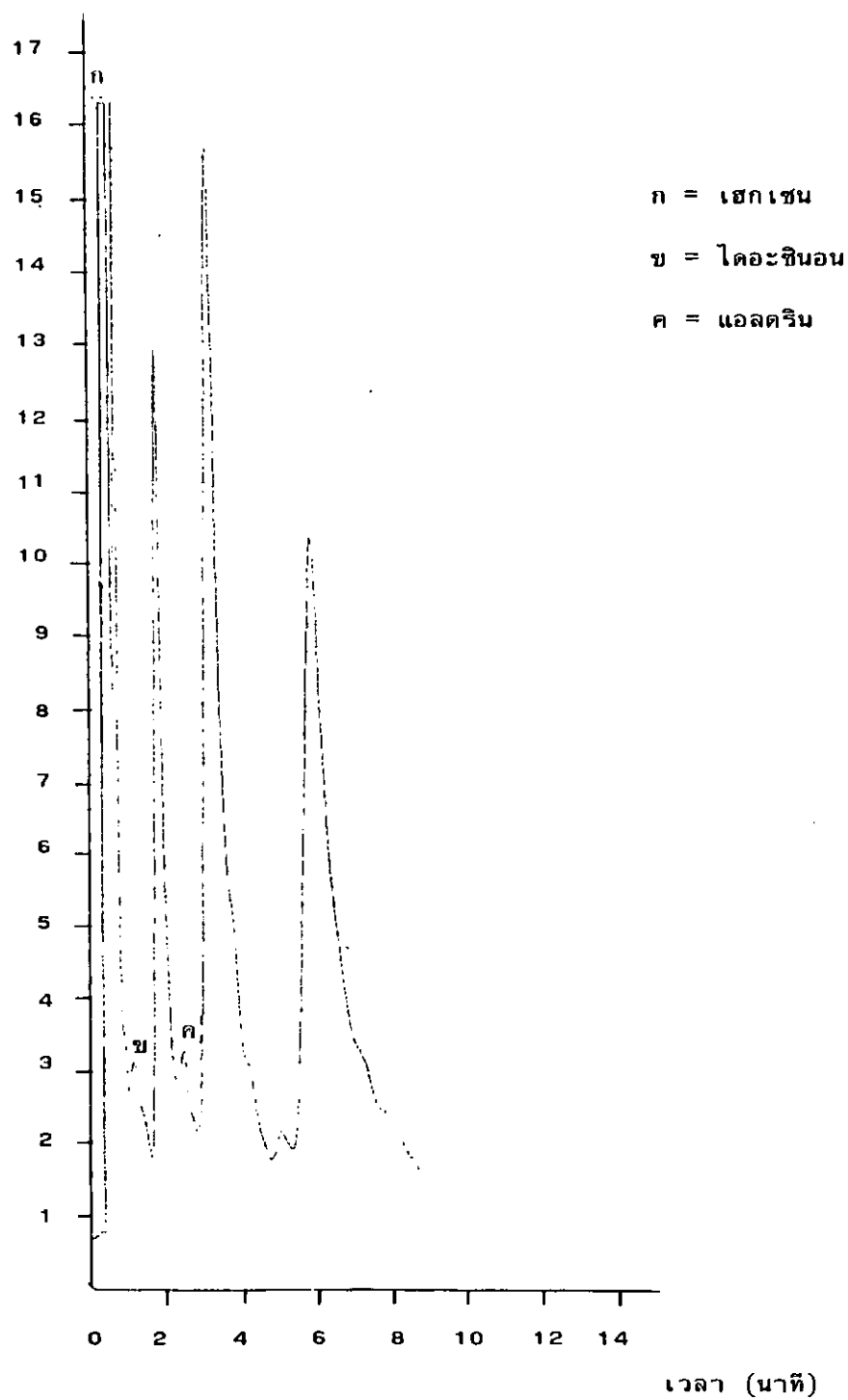
จากการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของวัตถุมีพิษทั้ง 8 ชนิดที่ตกค้างในเกสรผึ้งพบวัตถุมีพิษที่
ตกค้างดังต่อไปนี้ ไดอะซินอน มีปริมาณ 2.42 - 5.81 ppm ในเกสรสด^{2,ข}, เกสรสด^{3,ข}, เกสรอัดเม็ด^{5,ข}
และเกสรอัดเม็ด^{6,ข} เมทิลพาราไทออน มีปริมาณ 1.56 ppm ในเกสรสด^{1,ก} อะไซดรินมีปริมาณ 6.83
ppm ในเกสรสด^{1,ก} แอลดรินมีปริมาณ 0.59 - 8.77 ppm ในเกสรสด^{2,ข} และเกสรอัดเม็ด^{6,ข}
ซึ่งพิษที่ได้จากการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของวัตถุมีพิษในเกสรผึ้งทั้ง 5 ชนิด แสดงในภาพประกอบ 17-21

ความสูงของพีค (ซม.)



ภาพประกอบ 17 แสดงพีคที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟี
ของวัตถุมีพิษในเกสรสด^{1.ก}

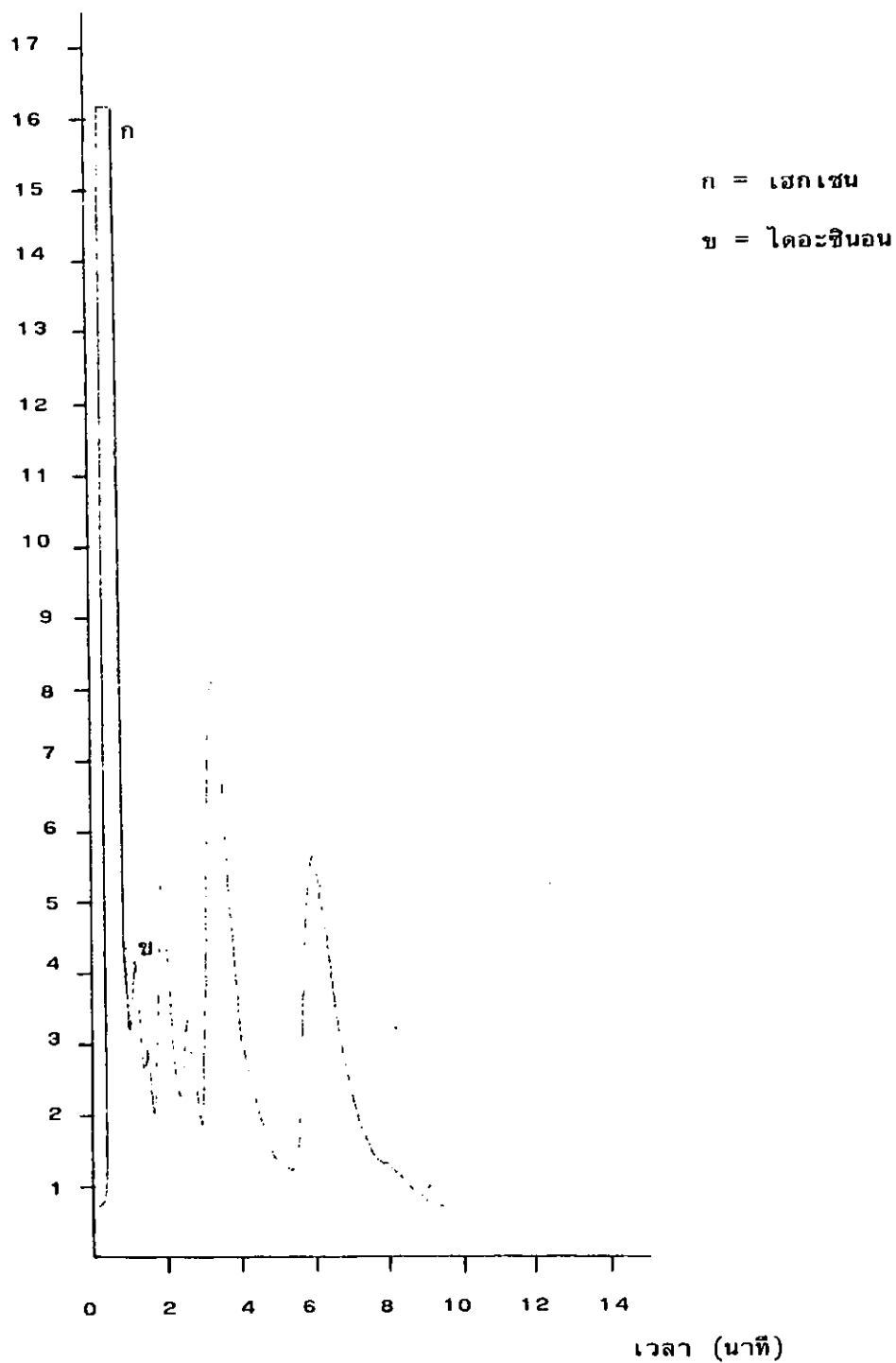
ความสูงของพีค (ซม.)



ภาพประกอบ 18 แสดงพีคที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟี

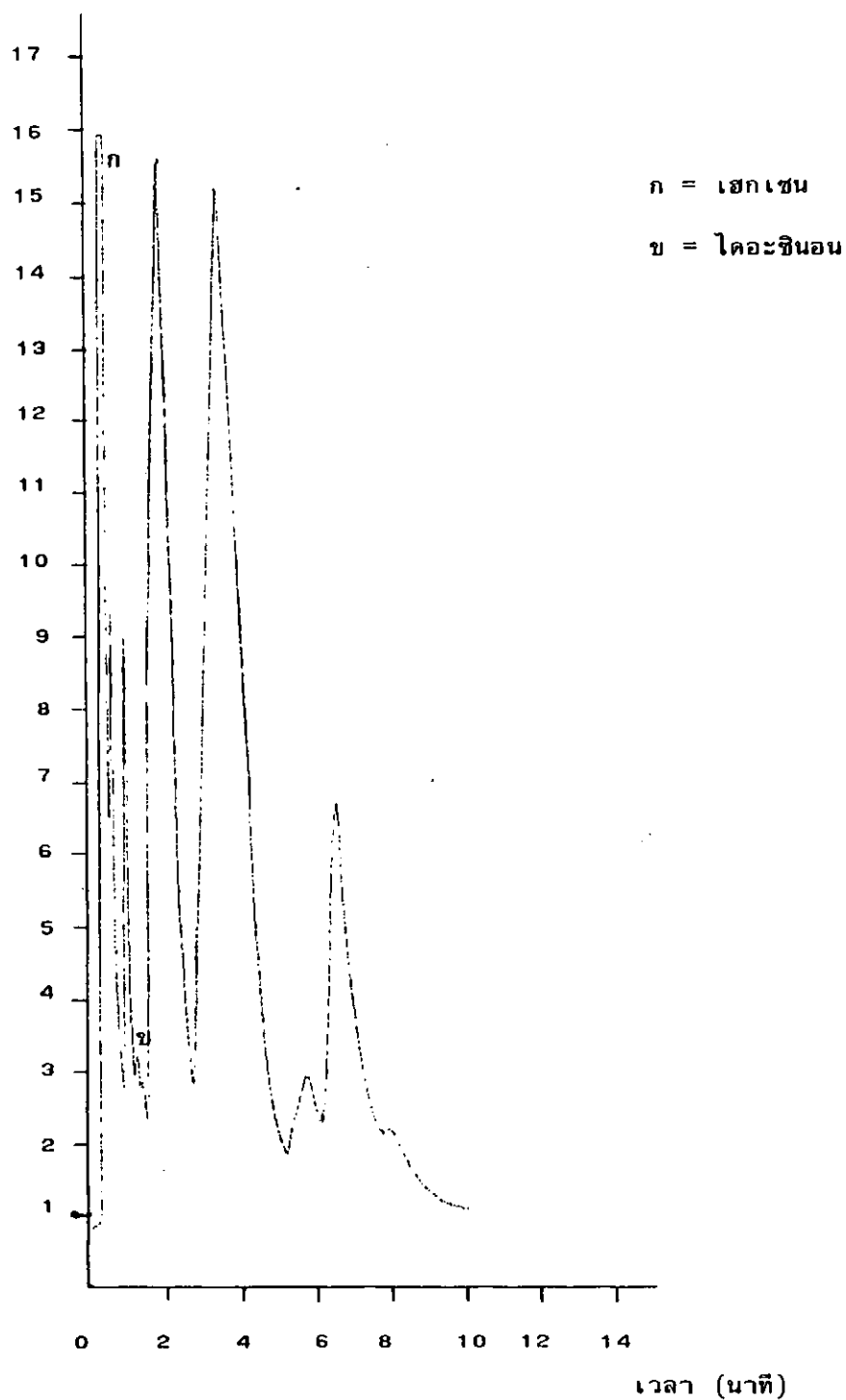
ขอวักดุมิพิษในเกสรสด^{2, ข}

ความสูงของพีค (ซม.)



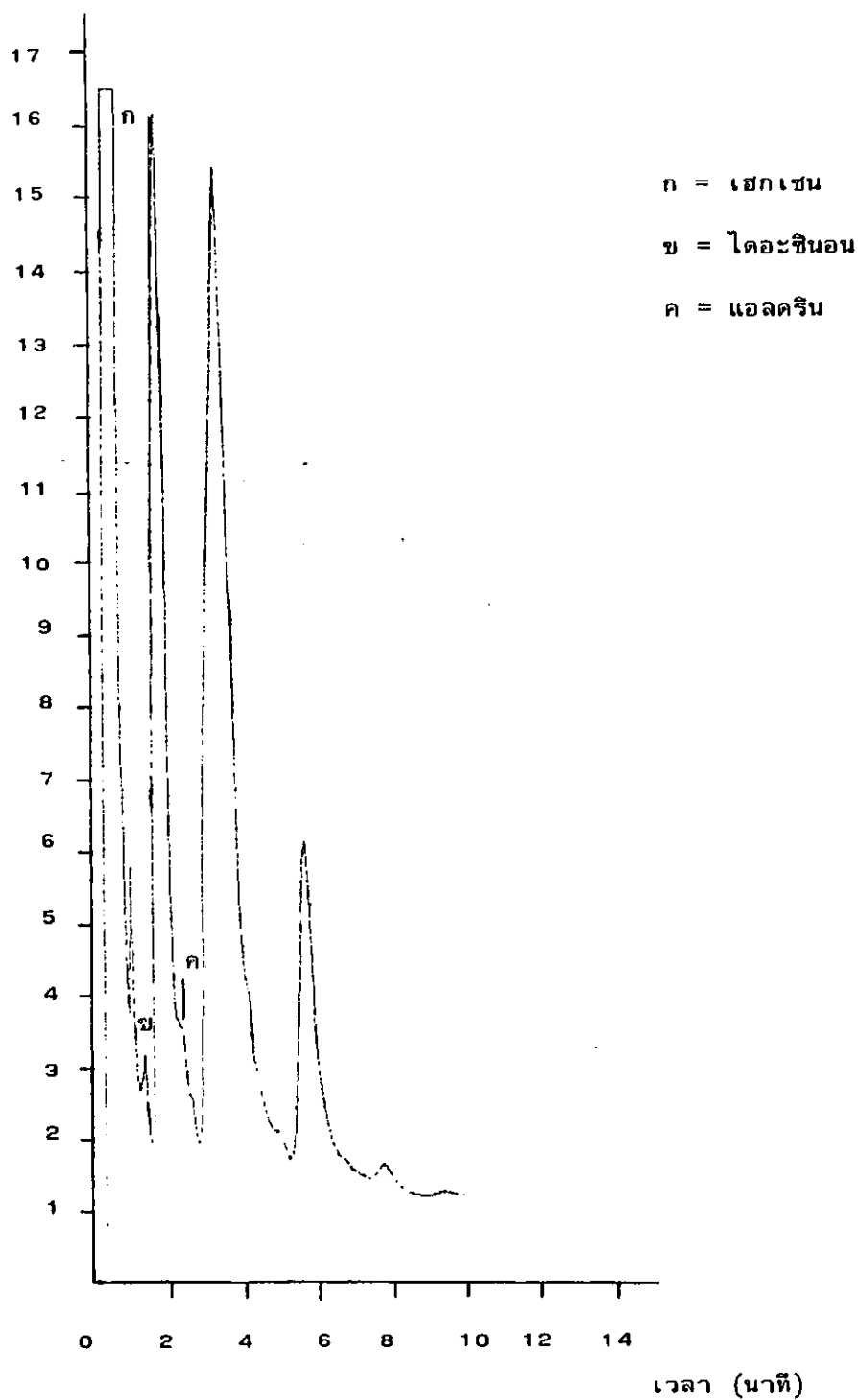
ภาพประกอบ 19 แสดงพีคที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟี
ของวัตถุมีพิษในเกสรสด^{3,ข}

ความสูงของพีค (ซม.)



ภาพประกอบ 20 แสดงพีคที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟี
ของวัตถุมีพิษในเกสรอัดเม็ด^{5,ข}

ความสูงของพีค (ซม.)



ภาพประกอบ 21 แสดงพีคที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟี
ของวัตถุพิษในเกสรัดเม็ด^{6,ข}

ตาราง 12 เปรียบเทียบปริมาณวัตถุมีพิษที่ตรวจพบในเกสรผึ้งกับค่า Maximum Residue Limits (MRL)* (FAO/WHO. 1978 : 67 - 119)

ชนิดของ เกสรผึ้ง	ชนิดของวัตถุมีพิษ	ปริมาณของวัตถุมีพิษ ที่ตรวจพบ (ppm)	Maximum Residue Limits (MRL)
เกสรสด	เบทิลพาราไทออน	1.56	0.2
	อะโซดริน	6.83	-
	ไดอะซินอน	5.32 - 5.81	0.5
	แอลดริน	8.77	0.02
เกสรอัดเม็ด	ไดอะซินอน	2.42 - 3.35	0.5
	แอลดริน	0.59	0.02

* Maximum Residue Limits เป็นปริมาณสูงสุดของวัตถุมีพิษที่ยอมให้ตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร โดยไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ซึ่งกำหนดโดยองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ และองค์การอนามัยโลก (FAO/WHO) และจากตาราง 12 พบว่าปริมาณวัตถุมีพิษทุกชนิดที่ตกค้างในเกสรผึ้งทุกตัวอย่างเกินค่าปลอดภัยที่ FAO/WHO กำหนดไว้ ยกเว้น อะโซดริน ซึ่ง FAO/WHO ยังไม่ได้กำหนดค่า MRL ไว้

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

1. เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบบางชนิดในเกสรผึ้ง
2. เพื่อตรวจหาปริมาณวัตถุมีพิษชนิดคลอรีเนตเตดไฮโดรคาร์บอนและออร์แกนโนฟอสเฟตบางชนิด
3. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณองค์ประกอบบางชนิด และปริมาณวัตถุมีพิษตกค้างในเกสรผึ้งชนิด

ที่เป็น เกสรสดกับ เกสรที่ผ่านการอัด เม็ดแล้ว

4. เพื่อตรวจสอบความเป็นกรด-เบสของเกสรผึ้ง

ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. องค์ประกอบที่ศึกษาได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน แคลโรทีน วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 3 และวิตามินซีในเกสรผึ้ง
2. ศึกษาชนิดและปริมาณของวัตถุมีพิษประเภทคลอรีเนตเตดไฮโดรคาร์บอน ได้แก่ คีดีที แอลดริน เฮปตาคลอร์ และวัตถุมีพิษชนิดออร์แกนโนฟอสเฟตที่ศึกษาได้แก่ ไดอะซินอน เมทิลพาราไทออน มาลาไทออน และอะโซดริน
3. ศึกษาเฉพาะเกสรผึ้งที่ได้จากเกสรของพืชเพาะปลูกและวัชพืชต่าง ๆ คือ ดอกข้าวเจ้า ดอกข้าวฟ่าง ดอกข้าวโพด ดอกงา ดอกजूว ดอกพริก ดอกมะเขือ ดอกไมยราบ ดอกยาสูบ ดอกส้ม และ เกสรของดอกไม้ในวงศ์คอมโพสิตี (Compositae) ได้แก่ บัวตอง ดาวกระจาย กระดุมทองเลื้อย ซึ่งเก็บจากจังหวัดเชียงใหม่ พิษณุโลก และอุดรดิษฐ์ ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2530
4. เทคนิคในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของวัตถุมีพิษคือ แก๊ส-ลิควิดโครมาโทกราฟี ด้วยเครื่อง Gas - Chromatography ของบริษัท Varian Model 3700 คอลัมน์บรรจุด้วย Supelcoport ขนาด 100-120 เมช เคลือบด้วยส่วนผสมของ 1.5% sp - 2250 และ 1.9% sp - 2401 และดีเทคเตอร์ชนิดเฟลมไอออนไนเซชัน

วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้าและรวบรวมข้อมูล

1. วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน โดยใช้วิธีของ William. 1964
2. วิเคราะห์หาปริมาณวิตามิน โดยใช้วิธีของ Freed. 1966
3. วิเคราะห์หาความชื้นโดยใช้วิธีของ AOAC. 1984
4. วิเคราะห์ความเป็นกรด-เบสของเกสรผึ้งโดยใช้วิธีของ AOAC. 1984
5. ทาชนิดและปริมาณของวัตถุมีพิษที่ตกค้างในเกสรผึ้งโดยใช้วิธีของ AOAC. 1984

สรุปผลการศึกษาค้นคว้า

1. ปริมาณน้ำในเกสรผึ้งอยู่ระหว่างร้อยละ 2.50 - 11.50 โดยพบว่าเกสรผึ้งชนิดอัดเม็ด มีปริมาณน้ำน้อยกว่าเกสรสด และเกสรอัดเม็ด⁴ จังหวัดเชียงใหม่มีปริมาณน้ำน้อยที่สุดคือร้อยละ 2.50 ส่วนเกสรสด³ จังหวัดพิษณุโลก มีปริมาณน้ำมากที่สุดคือร้อยละ 11.50
2. ค่า pH ของเกสรผึ้งอยู่ในช่วง 3.40 - 7.40 โดยเกสรสด² จังหวัดพิษณุโลกมีค่าต่ำสุด คือ 3.40 และเกสรอัดเม็ด⁴ จังหวัดเชียงใหม่ มี pH สูงสุด คือ 7.40
3. เกสรผึ้งที่นำมาวิเคราะห์มีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่าง 4.03 - 25.17 มก./100 ก. โดยพบว่าเกสรอัดเม็ด⁵ จังหวัดพิษณุโลกมีปริมาณโปรตีนต่ำสุดคือ 4.03 ก./100 ก. และเกสรสด² จังหวัดพิษณุโลกมีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 25.17 ก./100 ก.
4. ปริมาณวิตามินในเกสรผึ้ง จากการวิเคราะห์วิตามิน 5 ชนิด พบว่า วิตามินซีเป็นวิตามินที่มีมากกว่าวิตามินชนิดอื่นอยู่ระหว่าง 2.53 - 13.15 มก./100 ก. โดยเกสรอัดเม็ด⁴ จังหวัดเชียงใหม่มีปริมาณต่ำสุดคือ 2.53 มก./100 ก. และเกสรอัดเม็ด⁷ จังหวัดเชียงใหม่มีปริมาณสูงสุดคือ 13.15 มก./100 ก. รองลงมาคือ วิตามินบี 3 อยู่ระหว่าง 5.82 - 12.14 มก./100 ก. โดยเกสรผึ้งชนิดอัดเม็ด⁶ จังหวัดพิษณุโลก มีปริมาณต่ำสุดคือ 5.82 มก./100 ก. และเกสรสด¹ จังหวัดเชียงใหม่มีปริมาณสูงสุดคือ 12.14 มก./100 ก. วิตามินบี 2 อยู่ระหว่าง 0.29 - 4.11 มก./100 ก. โดยเกสรผึ้งชนิดอัดเม็ด⁵ จังหวัดพิษณุโลกมีปริมาณต่ำสุดคือ 0.29 มก./100 ก. และเกสรสด² จังหวัดพิษณุโลกมีปริมาณสูงสุดคือ 4.11 มก./100 ก. วิตามินบี 1 อยู่ระหว่าง 0.02 - 1.13 มก./100 ก. และเกสรอัดเม็ด⁷ จังหวัดอุดรดิตถ์มีปริมาณสูงสุดคือ 1.13 มก./100 ก. ส่วนแคโรทีนซึ่งเป็นสารต้นคอของวิตามินเอ พบปริมาณน้อยที่สุดคืออยู่ระหว่าง 0.03 - 0.10 มก./100 ก. โดยเกสรผึ้งชนิดอัดเม็ด⁵ จังหวัดพิษณุโลก

มีปริมาณค่าสุดคือ 0.03 มก./100 ก. และเกสรสด¹ จังหวัดเชียงใหม่มีปริมาณสูงสุดคือ 0.10 มก./100 ก.

5. วัดภูมิพิษที่ตรวจพบในเกสรผึ้งปรากฏว่า วัดภูมิพิษกลุ่มออร์แกนโนฟอสเฟตที่พบมากที่สุดคือ อะโซดรีน ในเกสรสด¹ จังหวัดเชียงใหม่ปริมาณที่ตรวจพบคือ 6.83 ppm วัดภูมิพิษที่พบรองลงมาก็คือ ไดอะซินอน พบในเกสรสด² จังหวัดพิษณุโลกและเกสรสด³ จังหวัดพิษณุโลกมีปริมาณ 5.32 ppm และ 5.81 ppm ตามลำดับ พบในเกสรอัดเม็ด⁵ จังหวัดพิษณุโลกและเกสรอัดเม็ด⁶ จังหวัดพิษณุโลก มีปริมาณ 2.42 ppm และ 3.35 ppm พบเมทิลพาราไทออน ในเกสรสด¹ จังหวัดเชียงใหม่มีปริมาณ 1.56 ppm สำหรับวัดภูมิพิษกลุ่มคลอรีเนเตดไฮโดรคาร์บอน พบแอลดรีนเพียงอย่างเดียวเท่านั้น ในเกสรสด² จังหวัดพิษณุโลก และเกสรอัดเม็ด⁶ จังหวัดพิษณุโลกมีปริมาณ 8.77 ppm และ 0.59 ppm ตามลำดับ

1. พบเกสรดอกไมยราบ พริก และมะเขือ
2. พบเกสรยาสูบ และเกสรของดอกไม้วงศ์คอมโพสิตี (Compositae)
ได้แก่ บัวตอง ดาวกระจาย กระดุมทองเลื้อย
3. พบเกสรดอกพริก มะเขือ และยาสูบ
4. พบเกสรดอกข้าวโพด ข้าวเจ้า และข้าวฟ่าง
5. พบเกสรดอกนุ่น
6. พบเกสรดอกนุ่น และงา
7. พบเกสรดอกไมยราบ

อภิปรายผลการทดลอง

ในการศึกษาองค์ประกอบทางชนิดของเกสรผึ้งผลการทดลองพบว่าปริมาณน้ำในเกสรสด อยู่ระหว่างร้อยละ 10.50 - 11.50 เมื่อเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ของวีริกนาต์และเบลีน (Vrignaud and Belin, 1982 : 645) ซึ่งพบว่าในเกสรผึ้งมีปริมาณน้ำอยู่ร้อยละ 5 จะเห็นว่าผลการวิจัยครั้งนี้มีค่าสูงกว่าทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าอากาศในประเทศไทยมีความชื้นสูงกว่า ส่วนในเกสรอัดเม็ดมีปริมาณน้ำอยู่ระหว่างร้อยละ 2.50 - 6.44 ซึ่งต่ำกว่าในเกสรสดอาจเนื่องจากว่าในกรรมวิธีอัดรวมกันเป็นเม็ดนั้นต้องนำเกสรสดไปทำให้แห้งก่อนเพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อรา จึงทำให้ปริมาณน้ำบางส่วนหายไป

ซึ่งทำให้เก็บไว้ได้เป็นเวลานาน อย่างไรก็ตาม เกสรผึ้งที่อัดเม็ดแล้วถึงแม้ว่าจะเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นานเป็นปี แต่จะทำให้สูญเสียคุณค่าทางอาหารลงไปที่เล็กน้อย (Haydark. 1961 : 354 - 355) ดังนั้นในกรรมวิธีจัดเตรียมเกสรผึ้งควรระมัดระวังเรื่องการสูญเสียคุณค่าทางอาหาร ควรใช้ความร้อนต่ำและระวังในเรื่องความสะอาด ซึ่งแอนอน (Anon. 1959 : 351 - 380) ได้แนะนำว่าเกสรผึ้งที่เกิดการบูดเสียอันเนื่องมาจากการหมัก (Ferment) ควรจะหลีกเลี่ยงไม่นำมารับประทาน เนื่องจากยีสต์ที่อยู่ในเกสรผึ้งจะผลิตสารพิษทำลายผนังเส้นเลือดทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย

สำหรับค่า pH ในเกสรผึ้งพบว่ามีสมบัติเป็นกรด-กลาง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากว่าองค์ประกอบส่วนหนึ่งที่พบในเกสรผึ้งคือวิตามิน ซึ่งเมื่อละลายน้ำแล้วจะให้สารละลายที่มีฤทธิ์เป็นกรด ในเกสรสดซึ่งมีปริมาณวิตามินสูงจึงมีความเป็นกรดมาก สำหรับในเกสรอัดเม็ดปริมาณขององค์ประกอบของวิตามินต่าง ๆ ส่วนมากจะลดลงค่า pH จึงสูงขึ้น

สำหรับโปรตีนในเกสรผึ้งชนิดเกสรสดเมื่อเปรียบเทียบกับพวกพืช (ดังในตาราง 4) เช่น เมล็ดแดงโม เมล็ดทานตะวัน พบว่าในเกสรผึ้งมีปริมาณโปรตีนสูงกว่า แต่ถ้าเปรียบเทียบกับอาหารชนิดอื่น เช่น เนื้อสัตว์ ปลา พบว่าเกสรผึ้งมีปริมาณโปรตีนต่ำกว่า และจากรายงานของทอดด์ (Todd. 1942 : 312 - 317) พบว่าสัดส่วนของโปรตีนในเกสรผึ้งอยู่ระหว่างร้อยละ 7.02 - 35.5 ขึ้นอยู่กับชนิดของเกสรดอกไม้ สถานที่เก็บ และฤดูกาล สำหรับปริมาณโปรตีนในเกสรอัดเม็ดผลจากการวิเคราะห์พบว่าโดยเฉลี่ยแล้วปริมาณโปรตีนต่ำกว่าในเกสรสดทั้งนี้อาจเนื่องจากว่า การนำเกสรสดไปอบให้แห้งโดยใช้ความร้อนทำให้โปรตีนบางส่วนเสื่อมสลายไป

สำหรับวิตามินในเกสรผึ้งพบวิตามินที่ละลายน้ำมากกว่าวิตามินที่ละลายในไขมันโดยเฉพาะอย่างยิ่งวิตามินซีพบปริมาณมากกว่าวิตามินชนิดอื่น ซึ่งผลอันนี้สอดคล้องกับที่วิจิตรนาคร์และปิลินรายงานไว้ และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณวิตามินในเกสรผึ้งกับวิตามินที่พบในพืช เช่น ผัก ผลไม้ (ตาราง 4) พบว่าโดยเฉลี่ยแล้วเกสรผึ้งมีวิตามินสูงกว่า ยกเว้นแคโรทีนในเกสรผึ้งมีปริมาณต่ำกว่าในผักสด และวิตามินซีซึ่งมีปริมาณต่ำกว่าทั้งในผักสดและผลไม้ นอกจากนี้แล้ว เมื่อเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการระหว่างเกสรผึ้งกับน้ำผึ้งที่ FAO ได้รายงานไว้พบว่าน้ำผึ้งมีปริมาณโปรตีน และวิตามินต่ำกว่าแต่มีปริมาณน้ำสูงกว่า

ส่วนผลการวิเคราะห์วัตถุพิษที่ตกค้างในเกสรผึ้ง จากเกสรผึ้งทั้งหมด 7 ตัวอย่างพบว่า เกสรผึ้งจำนวน 5 ตัวอย่าง มีวัตถุพิษตกค้างอยู่ วัตถุพิษกลุ่มออร์แกนโนฟอสเฟตที่ตรวจพบได้แก่ ไดอะซินอน เมทิลพาราไทออน และอะโซดริน โดยพบอะโซดรินในปริมาณที่สูงที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากว่าวัตถุพิษ

ชนิดนี้เป็นยาประเภทดูดซึม จึงถูกดูดซึมไปตามส่วนต่าง ๆ ของพืชได้ดี สำหรับวัฏมุขิษในกลุ่มคลอรีเนตเตด-ไฮโดรคาร์บอน พบแอลดรินมีปริมาณสูงที่สุดและสูงกว่าวัฏมุขิษชนิดอื่นในกลุ่มออร์แกนโนฟอสเฟตด้วยเช่นกัน เนื่องจากวัฏมุขิษในกลุ่มคลอรีเนตเตดไฮโดรคาร์บอน มีระยะเวลาการสลายตัวในสิ่งแวดล้อมค่อนข้างช้า จึงทำให้พบตกค้างอยู่ในปริมาณสูง

ในการกำหนดค่าปริมาณวัฏมุขิษตกค้างสูงที่สุดที่พบในเกสรผึ้งนั้นใช้วิธีการเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ทางเกษตรอื่น ๆ เพราะ FAO/WHO ยังไม่ได้กำหนดค่า MRL ของเกสรผึ้งไว้ดังนั้นจึงต้องคิดเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่นแทนโดยแสดงไว้ในตาราง 12 และผลการวิเคราะห์พบว่า วัฏมุขิษที่ตกค้างอยู่ในเกสรผึ้งทั้ง 5 ตัวอย่าง มีปริมาณเกินค่าปลอดภัยที่ FAO/WHO กำหนดไว้ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่ามีการใช้วัฏมุขิษกันมากในช่วงฤดูดอกไม้บาน เพื่อป้องกันและกำจัดศัตรูพืช

ข้อเสนอแนะ

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบในเกสรผึ้งควรมีการวิจัยโดยเปรียบเทียบกันในด้านของแหล่งที่เก็บเกสรผึ้ง และฤดูกาล เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกเก็บเกสรจากรังผึ้ง ซึ่งให้คุณค่าทางอาหารมากที่สุด
2. ควรมีการวิจัยองค์ประกอบอื่น ๆ นอกเหนือไปจากการวิจัยในครั้งนี เช่น วิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย ไขมัน และเกลือแร่ ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อผู้บริโภคมากยิ่งขึ้น
3. ในการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ อาจใช้เทคนิคและวิธีการอื่น ๆ ที่ต่างไปจากการวิจัยในครั้งนี เช่น วิเคราะห์โดยใช้เครื่องไอออน-โครมาโทกราฟี ซึ่งจะช่วยให้วิเคราะห์ได้สะดวก และรวดเร็วมากยิ่งขึ้น
4. การที่ได้ตรวจพบวัฏมุขิษตกค้างในเกสรผึ้งย่อมแสดงถึงความปลอดภัยในการที่จะบริโภค ดังนั้นผู้ประกอบการเลี้ยงผึ้งที่จะเก็บเกสรจากรังผึ้งไม่ควรฉีดพ่นวัฏมุขิษในขณะที่ยังปล่อยผึ้งออกไปหาอาหารและควรเลือกเก็บในช่วงเวลาที่มีการใช้วัฏมุขิษน้อยที่สุด ซึ่งจะทำให้มีความปลอดภัยมากยิ่งขึ้นในการที่จะนำเกสรผึ้งมาบริโภค

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- กรมวิทยาศาสตร์บริการ. " เกสรผึ้ง (Bee Pollen), " ใน วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ. หน้า 34-35. กรุงเทพฯ : 2530.
- โกสุม พิระมาน. รศ, รายงานการตรวจสอบชนิดของเรณูในเกสรผึ้งซึ่งตรวจพบว่ามียาฆ่าแมลงปนอยู่.
กรุงเทพฯ : ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย , 2532.
- สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ และเพ็ญศรี ดังคณะสิงห์. "ปัญหาความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชต่อการเลี้ยงผึ้ง,"
ใน ชีววิทยาของผึ้ง. หน้า 109. กรุงเทพฯ : พันนิพัฒน์ลิขซึ่ง, 2529.
- พิทยา ถาวงค์. พฤติกรรมการเก็บเรณูข้าวโพดของผึ้งพันธุ์ (Apis mellifera) และการแพร่กระจายของละอองเรณู. ปริญญาโท วท.บ. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2528 อัดสำเนา.
- Alkins, E.L. and others. The Hive and the Honey Bee. : Dadant Publication, 1976.
- Anelli, G. and G.Lalti. "Mineral composition of pollens," Agochimia. 15(6) : 539-545 ; June, 1971.
- Annon, A. "Danger of eating pollen, " Bee Cultural. 87(6) : 351-380 ; June, 1959.
- Burgett, M. and G.Fisher. "The contamination of foraging honey bees and pollen with Pencap-M," American Bee Journal. 117(10) : 626-627 ; October, 1977.
- FAO/WHO. Guide to Codex Maximum Limits for Pesticide. : First Issue, 1978
- FAO. Composition of Food. : Rome, 1972
- Farag, R.S. and A.M.Youssaef. "Long-chain fatty acid of six pollen collected by honeybees in Egypt," Journal Apicultural Research. 17(2) : 100-104 ; February, 1978.
- Farag, R.S. and others. "Unsaponifiable matter of six pollens collected by honeybees in Egypt," Journal Apicultural Research. 19(4) : 248-254 ; April, 1980.
- Freed, M. Method of vitamin Assay. New York London Sydney : The Association of vitamin Chemists Interscience Publisher, 1966.

- Gayer, J. and J.H.Dustmann. "Studies on residues in the honey bee product beewax, honey and pollen," Arch.Lebensmittekyg. 36(4) : 93-96 ; April, 1985.
- Gerald, M.L. and C.C.Allen. "Amino acid content of Dandelion pollen, a honey bee nutrition evaluation," Journal Economic Entomology. 80 : 14-17; 1987.
- Gorobets, A.V. and others. "Amino acid composition of pollen of some nectariferous plants," Khim.Prir Soedin. 5 : 672-673 ; 1981.
- Gojmerace, W.L. Bee, Beekeeping. Honey and pollination. Westport AVJ Publishing Company, 1980.
- Gunasekaran, M. and W.R.Anderson. "Composition studies on lipid composition of Zea mays and Typha latifolia pollens," Research Communication Chemical Pathological Pharmacology. 6(2) : 633-642; 1973.
- Haydak, M.H. "Influence of storage on the nutritive value of pollens for newly emerged honeybees," American Bee Journal. 101(g) : 354-355 ; September, 1961.
- Ionescu, M. and S.Caragiani. "Free amino acid in the bee-gathered pollen around the Baneasa-Lehliu area," Apicultural Rom. 52(10) : 16-17 ; October, 1977.
- Ivanov, Z. and others. "A study on pollen and royal jelly lipid composition using thin layer chromatography," Zhivotnovod Nauki. 22(10) : 63-73 ; October, 1985.
- Johansen, C.A. "Digest on bee poisoning, Its effect and prevention, with an noted list of 92 insecticides," Bee World. 47(1) : 9-25 ; January, 1966.
- Johansen, C.A. and F.C.Brown. "Toxicity of carbaryl contaminated pollen collected by honey bees," Environment Entomology. 1(3) : 385-386 ; March, 1972.
- Parkhill, J.M. Wonderful World of Bee Pollen. Berryville, antry Bazaar Publushing, 1982.
- Corneliussen, P.E. and others. "Pesticide and Industrial Chemical Residues," AOAC. 14th.ed. : 533-547; 1984.
- Prikhod'ko. "Content of mineral substances in pollen," Nauki. 4 : 81-82 ; 1985.
- Rabie, A.L. and others. "The nitrogen content of pollen protein" Journal Apicultural Research. 22(2) : 119-123 ; February, 1983.

- Rotar, A.I. "Free amino acid sugar in the pollen of plants of different systemic groups," Biological Khim Nauk. 3 : 33-39; 1973.
- Shabanov, M. and N. Ibishnov. "Use of bee gathering activity to establish trace element content in the enviroment," Acta Microbiological Virol Immunology. 2 : 105-108; 1975.
- Sheesley, B. and B. Poduska "Nutritive Value of pollen for the honey bee" California Agricultural. 23(10) : 270-272; 1969.
- Stanley, R.G. and H.F.linskens, Pollen Biology Biochemistry. Berlin : Mangment Springer-Verlag, 1974.
- Spittler, T.D. and others. "Determination of carbaryl in honeybees and pollen by high-performance liquid chromatography," Journal of Chromatography. 352 : 439-443; 1986.
- Todd, F.E. "The composition of pollens," Journal Economic Entomology. 35(3) : 312-317 ; March, 1942.
- Vrignaud, Y. and M.Belin. "Pollen substitue for use in apiculture." Chemical Abstracts. 96 : 645 ; January-June, 1982.
- Williams, P.C. "The colorimetric determination of total nitrogen in feedstuffs," Analyst. 89 : 276-280; 1964.
- Wongsiri, S. and others. "Mites, pests and beekeeping with Apis cerana and Apis mellifera in Thailand," American Bee Journal. 127(7) : 500-503 ; July, 1987.

ภาคผนวก

การเตรียมรีเอเจนต์และวิธีการคำนวณ

1. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

ก. การเตรียมรีเอเจนต์

1. สารละลายเนสเลอร์

สารละลาย (ก.) ใช้เมอร์คิวรีไอโอไดน์ 55 กรัม และโปตัสเซียมไอโอไดน์ 41.25 กรัม ในน้ำ 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร

สารละลาย (ข.) ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 144 กรัม ในน้ำ 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำสารละลาย(ข.) ผสมกับสารละลาย (ก.) อย่างช้า ๆ คนตลอดเวลา เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร

2. การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามิน

2.1 แคโรทีน

ปริมาณแคโรทีน = ความเข้มข้นของแคโรทีนที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน

X ปริมาตรของของเหลวที่ชะได้จากคอลัมน์

น้ำพักสารตัวอย่าง (กรัม)

2.2 วิตามินบี 1

ก. สารละลายมาตรฐานไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ เตรียมจากการละลาย

ไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ 100 มิลลิกรัมในเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 2 ทำให้เจือจางด้วยสารละลายเดียวกันนี้ และปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า จะเก็บไว้ได้นานหลายเดือน นำสารละลายนี้มา 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายนี้มา 4 ลูกบาศก์เซนติเมตรเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จำนวน 75 ลูกบาศก์เซนติเมตร และสารละลายโซเดียมอาซิเคต 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตรด้วยน้ำกลั่น สารละลายนี้มีความเข้มข้นของไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ 0.2 ไมโครกรัม ต่อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2. การเตรียมดีคาลโซ เตรียมจากการชั่งดีคาลโซ 100 กรัมเติมสารละลาย

กรดอาซิติกเข้มข้นร้อยละ 3 ที่ร้อนประมาณ 200-250 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทิ้งไว้ประมาณ 10-15 นาที แล้วกรอง ทำซ้ำ 2 ครั้ง ล้างด้วยสารละลายโปตัสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 25 ที่ร้อน ประมาณ

150 ลูกบาศก์เซนติเมตร ล้างซ้ำด้วยสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 3 ที่ร้อนอีกครั้งหนึ่ง จากนั้น ล้างซ้ำด้วยน้ำร้อนประมาณ 500-600 ลูกบาศก์เซนติเมตร จนหมดคลอรีน แล้วกรอง นำไปอบที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส และเก็บไว้ในภาชนะที่มืดสนิท

ข. การคำนวณหาปริมาณวิตามินบี 1

เปอร์เซ็นต์ไทอามีนในตัวอย่าง = $\frac{U - UB}{S - SB}$ x จำนวนไมโครกรัมของสารละลายมาตรฐาน

$S - SB$

x ค่าการเจือจาง (dilution) ของตัวอย่าง

x $\frac{100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)}}$

$$= \frac{U - UB}{S - SB} \times 1 \times \frac{25}{5} \times \frac{250}{25} \times \frac{100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)}}$$

U = ฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้ของสารตัวอย่าง

UB = ฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้ของแบลนด์ของสารตัวอย่าง

S = ฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้ของสารมาตรฐาน

SB = ฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้ของแบลนด์ของสารมาตรฐาน

2.3 วิตามินบี 2

ก. การเตรียมรีเอเจนต์

1. สารละลายมาตรฐานไรโบเฟลวิน เตรียมจากการละลายไรโบเฟลวิน

500 มิลลิกรัมในน้ำกลั่น 150 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมกรดอะซิติกเข้มข้น 2.4 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบ 2 ลิตร เก็บในขวดสีน้ำตาลและไว้ในที่เย็น นำสารละลายนี้มา 4 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร จึงนำสารละลายนี้มา 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทำให้เจือจางด้วยสารละลายโพธิ์ดินเข้มข้นร้อยละ 20 ในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 2 จนปริมาตรครบ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร สารละลายนี้จะมีไรโบเฟลวิน 1.0 ไมโครกรัมต่อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ข. การคำนวณหาปริมาณวิตามินบี 2

$$\begin{aligned}
 \text{เปอร์เซ็นต์โรโบเฟลวิน} &= \frac{U - UB}{S - SB} \times \text{จำนวนไมโครกรัมของสารละลายมาตรฐาน} \\
 &\times \frac{\text{ค่าการเจือจางของตัวอย่าง} \times \frac{100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)}}}{\frac{100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)}}} \\
 &= \frac{U - UB}{S - SB} \times 1 \times \frac{250}{10} \times \frac{100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)}}
 \end{aligned}$$

U = ฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้ของสารตัวอย่าง

UB = ฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้ของแบลงค์ของสารตัวอย่าง

S = ฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้ของสารมาตรฐาน

SB = ฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้ของแบลงค์ของสารมาตรฐาน

2.4 กรดนิโคตินิค

ก. การเตรียมรีเอเจนต์

1. สารละลายซิลฟานิลิค เตรียมจากการละลายซิลฟานิลิค 20 กรัม

ในน้ำกลั่น 170 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ครั้งละ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร เขย่าจนซิลฟานิลิคละลายหมด และทำให้สารละลายนี้มี pH เป็น 4.5 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเจือจาง

2. สารละลายมาตรฐานกรดนิโคตินิค เตรียมจากการละลายกรดนิโคตินิค

50 มิลลิกรัมในเอทิลแอลกอฮอล์ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปรับปริมาตรให้ครบ 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บไว้ในที่เย็น ใช้สารละลายนี้จำนวน 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปรับปริมาตรให้ครบ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ด้วยน้ำกลั่น สารละลายนี้ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร จะมีกรดนิโคตินิค 8 ไมโครกรัม ใช้สารละลายนี้ 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร (200 ไมโครกรัมกรดนิโคตินิค) เติม 17 กรัมของแอมโมเนียมซิลเฟต เขย่าและเติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใช้เป็นสารละลายมาตรฐานในการวิเคราะห์ต่อไป

ข. การคำนวณหาปริมาณกรดนิโคตินิค

$$\begin{aligned}
 \text{ปริมาณกรดนิโคตินิก} &= \frac{E_s - E_{sb}}{E_r - E_{rb}} \times \frac{R(\text{ไมโครกรัม})}{1000} \times \frac{\text{ค่าการเจือจางของตัวอย่าง}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)}} \\
 &= \frac{E_s - E_{sb}}{E_r - E_{rb}} \times \frac{4}{1000} \times \frac{50}{1} \times \frac{250}{25} \times \frac{1}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง}}
 \end{aligned}$$

E_s = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

E_{sb} = ค่าการดูดกลืนแสงของแบลนด์ของสารละลายตัวอย่าง

E_r = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน

E_{rb} = ค่าการดูดกลืนแสงของแบลนด์ของสารละลายมาตรฐาน

R = น้ำหนักของกรดนิโคตินิกมาตรฐานเป็นไมโครกรัม

2.5 วิตามินซี

ก. การเตรียมรีเอเจนต์

1. สารละลายกรด เมตาฟอสฟอริก เข้มข้นร้อยละ 6 เตรียมจากการละลายกรด เมตาฟอสฟอริก 60 กรัม และไฮโดรเจนเพอออกไซด์ (EDTA) 1.8 กรัม ในน้ำกลั่น 900 ลูกบาศก์เซนติเมตรและปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร และเก็บไว้ในที่เย็น
2. สารละลายกรด เมตาฟอสฟอริก เข้มข้นร้อยละ 3 เตรียมจากการละลาย เมตาฟอสฟอริก เข้มข้นร้อยละ 6 จำนวน 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร
3. สารละลาย 2,6 - ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอล เตรียมจากการละลาย 2,6 - ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอล 200 มิลลิกรัมในน้ำร้อน 150 ลูกบาศก์เซนติเมตร ซึ่งมีไฮโดรเจนไฮดรอกไซด์เจือจางอยู่ 42 มิลลิกรัม ทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ครบ 200 ลูกบาศก์เซนติเมตร เปิดสารละลายนี้มา 4 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ครบ 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร
4. ซิเตรทบัฟเฟอร์ เตรียมจากการละลายกรดซิตริก 29.4 กรัม ในสารละลายไฮโดรเจนไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2 โมลาร์ จำนวน 140 ลูกบาศก์เซนติเมตร และปรับปริมาตรให้ครบ 250 ลูกบาศก์เซนติเมตรด้วยน้ำกลั่น

5. สารละลายมาตรฐานวิตามินซี เตรียมจากการละลายวิตามินซี 100 มิลลิกรัม ในสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 3 และปรับปริมาตรให้ครบ 100 ลูกบาศก์-เซนติเมตร ปิเปตสารละลายนี้มา 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร และปรับปริมาตรให้ครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ด้วยน้ำกลั่น ปิเปตสารละลายที่เจือจางแล้วในครั้งที่สองนี้มา 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมซิเตรทบัฟเฟอร์ จำนวน 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร และสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 6 จำนวน 12.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปรับปริมาตรให้ครบ 25 ลูกบาศก์เซนติเมตรด้วยน้ำกลั่น สารละลายนี้มีปริมาณวิตามินซี 4 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

6. สารละลายรีเอเจนต์แบลงค์ เตรียมจากการปิเปตสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 6 จำนวน 12.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมซิเตรทบัฟเฟอร์จำนวน 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร และปรับปริมาตรให้ครบ 25 ลูกบาศก์เซนติเมตรด้วยน้ำกลั่น

ข. การคำนวณค่าคงที่ (ค่า K)

$$Ca = K (\log : Ca_1 - (Ca_2 - Ca_1)) - \log Gb)$$

$$K = \frac{Ca}{\frac{\log 2Ca_1 - Ca_2}{Gb}}$$

Ca = จำนวนไมโครกรัมของวิตามินซีต่อลูกบาศก์เซนติเมตรของสารละลาย

= 4 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

K = ค่าคงที่

Ga₁ = ค่าความส่องผ่าน (transmittance) ที่อ่านได้ที่เวลา 5 วินาที

Ga₂ = ค่าความส่องผ่านที่อ่านได้ที่เวลา 10 วินาที

G_b = ค่าความส่องผ่านของแบลงค์

ตัวอย่างการคำนวณ

สมมติข้อมูลเป็นดังนี้

Ca = 4 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

Ga₁ = 65.3

Ga₂ = 66.8

G_b = 40.5

ดังนั้น

$$\begin{aligned}
 K &= \frac{4}{\frac{\log (2 \times 65.3) - 66.8}{40.5}} \\
 &= \frac{4}{0.1974} \\
 &= 20.3 \text{ ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร} \\
 &= 0.0203 \text{ มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร}
 \end{aligned}$$

ค. การคำนวณหาปริมาณวิตามินซี

$$\begin{aligned}
 \text{ปริมาณวิตามินซี} &= \frac{K (\log Gs_1 - (Gs_2 - Gs_1) - \log Gb) \times \text{ปริมาตรสุดท้าย} \times 100}{\text{จำนวนกรัมของสารตัวอย่างในปริมาตรสุดท้าย} \times 100} \\
 &= \frac{K (\log Gs_1 - (Gs_2 - Gs_1) - \log Gb) \times \text{ปริมาตรสุดท้าย}}{\text{จำนวนกรัมของสารตัวอย่างในปริมาตรสุดท้าย}}
 \end{aligned}$$

$$K = \text{ค่าคงที่}$$

$$Gs_1 = \text{ค่าความส่องผ่านของสารตัวอย่างที่เวลา 5 วินาที}$$

$$Gs_2 = \text{ค่าความส่องผ่านของสารตัวอย่างที่เวลา 10 วินาที}$$

$$Gb = \text{ค่าความส่องผ่านของแสงของสารตัวอย่าง}$$

ตัวอย่างการคำนวณ

สมมติ ซึ่งสารตัวอย่าง 1.5 กรัม เมื่อผ่านขบวนการต่าง ๆ แล้วรับปริมาตรเป็น 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใช้สารที่สกัดได้ 5 ลูกบาศก์เซนติเมตรเพื่อทำปฏิกิริยากับสารละลาย 2,6 - ไคคลอโรฟีนอลอินไดฟีนอล

ดังนั้นจำนวนกรัมของสารตัวอย่างในปริมาตรสุดท้าย 1.5 กรัม จากการวัดค่าความส่องผ่านได้ข้อมูลดังนี้

$$Gs_1 = 58.0$$

$$Gs_2 = 58.8$$

$$Gb = 41.0$$

$$K = 0.0203 \text{ มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร}$$

$$\begin{aligned}
 \text{ปริมาณวิตามินซี} &= \frac{0.0203 (\log 58 - (58.8 - 58)) - \log 41 \times 100}{1.5} \times 100 \\
 &= \frac{0.0203 (\log 57.2 - \log 41) \times 100}{1.5} \times 100 \\
 &= \frac{0.0203 (1.7582 - 1.6128) \times 100}{1.5} \times 100 \\
 &= \frac{0.0203 \times 0.145 \times 100}{1.5} \times 100
 \end{aligned}$$

ดังนั้นปริมาณวิตามินซี 19.7 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม

3. การคำนวณหาปริมาณวิตามินซี

ก. การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์รีดักทีฟเวอรี นำพืชที่ได้จากการทำรีดักทีฟเวอรีมาหาปริมาณ

วิตามินซี เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

สมมติได้ปริมาณวิตามินซี = R ไมโครกรัม

วิตามินซีมืออยู่จริง 1 ไมโครกรัมตรวจพบ = R ไมโครกรัม

วิตามินซีมืออยู่จริง 100 ไมโครกรัมตรวจพบ = $\frac{R \times 100}{1}$ ไมโครกรัม

ดังนั้นเปอร์เซ็นต์รีดักทีฟเวอรี = $\frac{R \times 100}{1}$

ข. การคำนวณหาปริมาณวิตามินซีในหน่วย ppm (ไมโครกรัมต่อกรัม) สารตัวอย่าง

10 กรัม เมื่อผ่านขั้นตอนการต่าง ๆ แล้วปรับปริมาตรเป็น 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำสารละลายตัวอย่าง

1 ไมโครลิตร วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี

สมมติได้พื้นที่พิค = A ตารางเซนติเมตร

เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานได้ปริมาณวิตามินซี = B ไมโครกรัม

ในสารละลายตัวอย่าง 0.001 ซม.³ (1 ไมโครกรัม) มีวิตามินซี

= B ไมโครกรัม

ในสารละลายตัวอย่าง 2 ซม.³ มีวิตามินซี = $\frac{B \times 2}{0.001}$ ไมโครกรัม

จากการหาเปอร์เซ็นต์รีคัพเวอร์จะได้ว่า

$$\text{รีดิวซ์ที่ตรวจพบ} \frac{R \times 100}{1} \text{ ไมโครกรัมจะมีรีดิวซ์อยู่จริง} = 100 \text{ ไมโครกรัม}$$

$$\text{รีดิวซ์ที่ตรวจพบ} \frac{B \times 2}{0.001} \text{ ไมโครกรัมจะมีรีดิวซ์อยู่จริง} = \frac{B \times 2 \times 100}{R \times 100 \times 0.001} \text{ ไมโครกรัม}$$

$$\text{ดังนั้นสารตัวอย่าง 10 กรัม มีรีดิวซ์} = \frac{B \times 2}{R \times 0.001} \text{ ไมโครกรัม}$$

$$\text{สารตัวอย่าง 1 กรัม มีรีดิวซ์} = \frac{B \times 2}{R \times 0.001 \times 10} \text{ ไมโครกรัม}$$

$$\text{หรือ} = \frac{B \times 2}{R \times 0.001 \times 10} \text{ ppm.}$$