

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญภาพ	ฏ
สัญลักษณ์ย่อ และสัญลักษณ์	ณ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 สารประกอบพีนอลในธรรมชาติ	2
1.2 ข้อมูลทั่วไปของชา	5
1.2.1 ชาจีน	5
1.2.2 ชาอัสสัม	6
1.2.3 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของชา	6
1.2.4 องค์ประกอบทางเคมีของใบชา	7
1.2.5 สารกลุ่มคาเทชินในชาเขียว	9
1.3 เมี่ยง (Pickled tea)	10
1.3.1 กรรมวิธีในการผลิตเมี่ยงแบบครัวเรือน	11
1.4 เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	13
1.4.1 หลักการพื้นฐาน	13
1.4.2 ส่วนประกอบของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	14
1.4.3 การวิเคราะห์เชิงปริมาณ	17
1.5 โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง-แมสสเปกโตรเมตรี	18
1.5.1 หลักการและทฤษฎีของแมสสเปกโตรเมตรี	18
1.5.2 องค์ประกอบของเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์	18
1.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	23

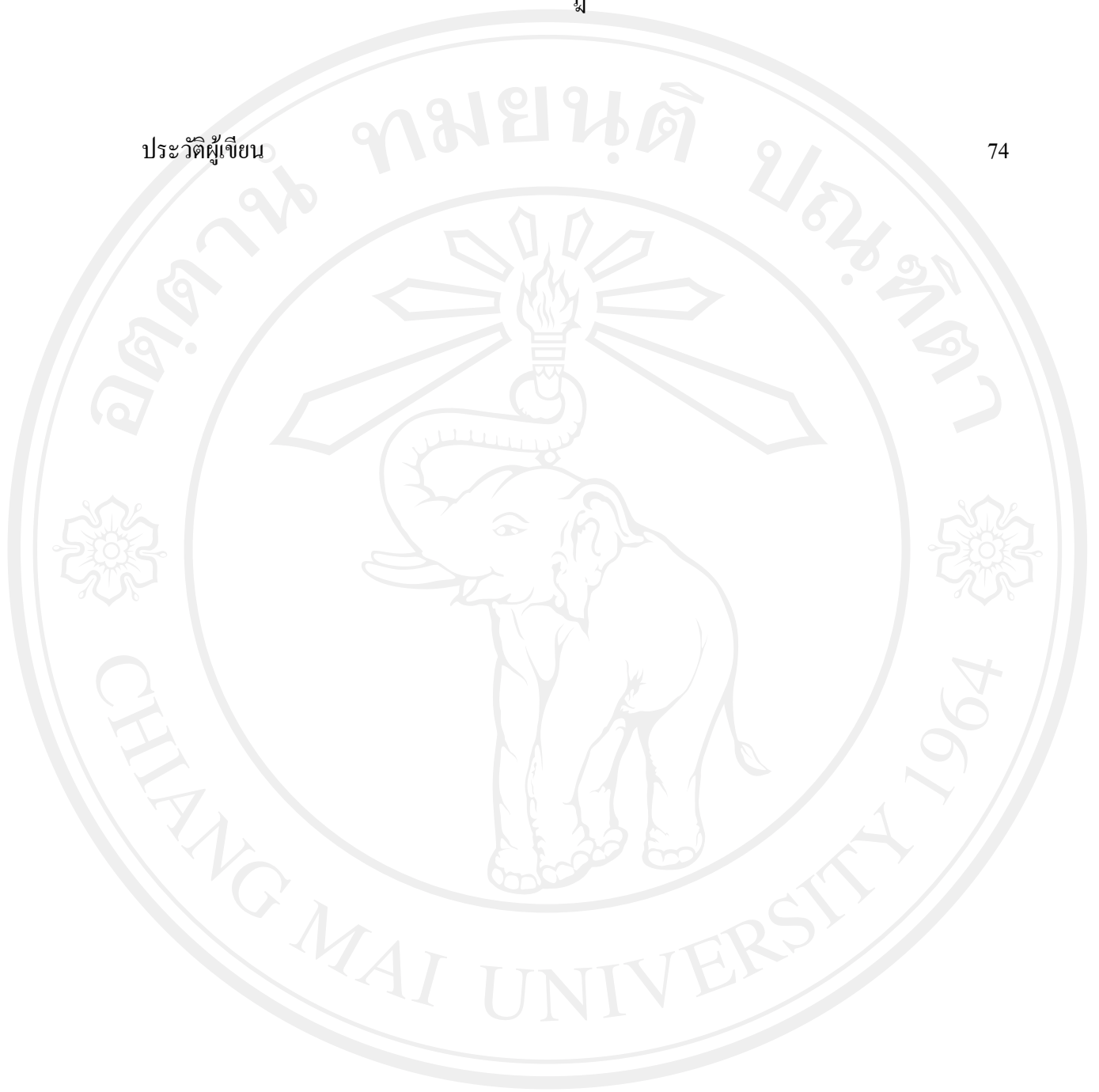
1.7	วัตถุประสงค์ของการศึกษา	27
บทที่ 2	การทดลอง	28
2.1	อุปกรณ์ และสารเคมี	28
2.1.1	อุปกรณ์	28
2.1.2	สารเคมี	28
2.2	การเตรียมตัวอย่าง	29
2.2.1	วัตถุดิบ	29
2.2.2	การสกัดตัวอย่าง	29
2.3	การเตรียมสารละลาย	29
2.3.1	การเตรียมสารละลายมาตรฐาน	29
2.3.2	การเตรียมเฟสเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก	30
2.4	การศึกษาโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	30
2.4.1	การหาสภาวะของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม	30
2.4.2	อัตราการใช้ของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม	30
2.4.3	ความยาวคลื่นในการตรวจวัด	30
2.5	การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์	31
2.5.1	ปริมาณต่ำสุดของการตรวจวัด และปริมาณต่ำสุดของการวิเคราะห์	31
2.5.2	ความแม่นยำของเครื่องมือ	31
2.5.3	ร้อยละการกลับคืน	32
2.6	การสร้างกราฟมาตรฐาน	32
2.7	สารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างชาโดยการใช้อิเล็กโตรสเปรย์ ไอออนในเซชัน แมสสเปกโตรเมทรี	32
2.7.1	การหาสภาวะที่เหมาะสมของพารามิเตอร์อิเล็กโตรสเปรย์ ไอออนในเซชัน แมสสเปกโตรเมทรี	32
2.7.2	สารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างชาเมียง โดยอิเล็กโตรสเปรย์ไอออนในเซชัน แมสสเปกโตรเมทรี	33
2.8	การวิเคราะห์สารตัวอย่าง	33

บทที่ 3 ผลการทดลองและวิจารณ์	34
3.1 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารประกอบ ฟีนอลิกด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	34
3.1.1 การหาชนิดของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม	34
3.1.2 การหาอัตราการใช้ของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม	39
3.1.3 การหาความยาวคลื่นในการตรวจวัด	41
3.1.4 สรุปการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหาปริมาณ ประกอบสารฟีนอลิกในสารสกัดจากใบชาเมี่ยง โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	42
3.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์	42
3.2.1 ปริมาณต่ำสุดของการตรวจวัด และปริมาณต่ำสุดของการวิเคราะห์	43
3.2.2 การศึกษาหาความแม่นยำของเครื่องมือ	45
3.2.3 การศึกษาร้อยละการกลับคืน	50
3.3 การสร้างกราฟมาตรฐาน	51
3.4 สารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างชาโดยการใช้อิเล็กโตรสเปย์ ไอออนในเซชันแมสสเปกโตรเมทรี	53
3.4.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมของพารามิเตอร์อิเล็กโตรสเปย์ ไอออนในเซชันแมสสเปกโตรเมทรี ในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานฟีนอลิก	53
3.4.2 สารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างชาเมี่ยง โดยเทคนิค LC-ESI-MS	57
3.5 วิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดในตัวอย่างชาเมี่ยง	61

บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	65
------------------------	----

เอกสารอ้างอิง	67
---------------	----

ภาคผนวก	71
---------	----



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1.1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลกลุ่มต่าง ๆ	3
1.2 เทคนิคไอออนไนเซชันแบบต่าง ๆ หลักการทำงาน และประเภทของสารตัวอย่าง	20
1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์การแยก การบ่งชี้ และหาปริมาณสารสกัดจากชา	24
2.1 สภาวะต่าง ๆ ของเครื่องมือแมสสเปกโตรมิเตอร์ที่ใช้	33
3.1 โปรแกรมตัวทำละลายในการหาสภาวะของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม	37
3.2 พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน 5 ชนิดเพื่อหาความยาวของคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์	42
3.3 สรุปลักษณะที่เหมาะสมในการฉีดวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	43
3.4 พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการหาปริมาณต่ำสุดของการตรวจวัดและความปริมาณต่ำสุดของการวิเคราะห์ (n=3)	44
3.5 สรุปค่าปริมาณต่ำสุดของการตรวจวัด และปริมาณต่ำสุดของการวิเคราะห์ของสารประกอบฟีนอลิก 5 ชนิด	45
3.6 การวิเคราะห์ซ้ำของพื้นที่ใต้พีคที่ใช้ในการวิเคราะห์ของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงของสารมาตรฐาน	46
3.7 การวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวันของพื้นที่ใต้พีคที่ใช้ในการวิเคราะห์ของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงของสารมาตรฐาน	47
3.8 ร้อยละการกลับคืนของสารประกอบฟีนอลิก 5 ชนิด เมื่อทำการสกัดตัวอย่างใบชาสดที่เติมสารประกอบฟีนอลิกที่ระดับความเข้มข้น 5LOQ และ 10LOQ โดยการวิเคราะห์โดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงในสภาวะการทดลองที่เหมาะสม	50
3.9 ค่า Ion count ของสารละลายมาตรฐานฟีนอลิก ณ Fragmentor voltage ต่าง ๆ ใน negative ionization mode	53
3.10 ค่า Ion count ของสารละลายมาตรฐานฟีนอลิก ณ capillary voltage ต่าง ๆ ใน negative ionization mode	54

3.11	ค่า Ion count ของสารละลายมาตรฐานฟีนอลิก ณ nebulizer pressure ต่าง ๆ ใน negative ionization mode	55
3.12	ค่า Ion count ของสารละลายมาตรฐานฟีนอลิก ณ drying gas temperature ต่าง ๆ ใน negative ionization mode	55
3.13	ค่า Ion count ของสารละลายมาตรฐานฟีนอลิก ณ drying gas flow ต่าง ๆ ใน negative ionization mode	56
3.14	สรุปสถานะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานคาเทชิน ที่ได้จากวิเคราะห์โดย ESI-MS	56
3.15	รายละเอียดของตัวอย่างชาเมี่ยง	57
3.16	แมสสเปกตรัมที่ได้จากการแยกของสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐาน โดยเทคนิค LC-ESI-MS	58
3.17	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 5 ชนิด ที่พบในสารสกัดจากใบชาเมี่ยง (n=3)	62
ก	การหาค่าขีดต่ำสุดในการวิเคราะห์สารมาตรฐานเกลลิก	72

สารบัญภาพ

รูป	หน้า
1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของชา (ก. ลำต้น ข. ใบ ค. ดอก ง. ผล จ. เมล็ด)	7
1.2 องค์ประกอบทางเคมีของใบชา	8
1.3 โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่มคาเทชินบางชนิด	9
1.4 ขั้นตอนการทำเมียง	12
1.5 ส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง	14
1.6 six-port rotary sample injection valves สำหรับเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง	16
1.7 ลักษณะของ photodiode-array detector	17
1.8 ส่วนประกอบพื้นฐานของแมสสเปกโตรมิเตอร์	19
1.9 ส่วนการไอออไนเซชันแบบ ESI	21
1.10 ส่วนประกอบของ Quadrupole mass analyser	22
3.1 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสม GA, GC, C, EGCG และ GCG ที่เฟสเคลื่อนที่ ประกอบด้วยเมทานอล : น้ำ ที่อัตราส่วน (ก) 40:60 (ข) 50:50 และ (ค) 60:40 (v/v)	35
3.2 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสม GA, GC, C, EGCG และ GCG ที่เฟสเคลื่อนที่ ประกอบด้วย อะซิโตนไนไตรล์ : น้ำ ที่อัตราส่วน (ก) 15:85 (ข) 20:80 และ (ค) 30:70 (v/v)	36
3.3 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสม GA, GC, C, EGCG และ GCG ที่วิเคราะห์โดย (ก) สภาวะที่ 1, (ข) สภาวะที่ 2 และ (ค) ใช้สภาวะที่ 3	38
3.4 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสม GA, GC, C, EGCG, GCG และ CG ที่อัตราการไหล (ก) 0.5 mL/min, (ข) 0.7 mL/min และ (ค) 1.0 mL/min	30
3.5 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสม GA, GC, C, EGCG และ GCG ที่ความยาวคลื่น (ก) 230 นาโนเมตร, (ข) 270 นาโนเมตร และ (ค) 280 นาโนเมตร	41
3.6 กราฟมาตรฐานของสารละลาย GA สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ	51

3.7	กราฟมาตรฐานของสารละลาย GC สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ	51
3.8	กราฟมาตรฐานของสารละลาย C สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ	52
3.9	กราฟมาตรฐานของสารละลาย EGCG สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ	52
3.10	กราฟมาตรฐานของสารละลาย GCG สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ	52
3.11	Total ion chromatogram ของสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐาน โดยใช้เทคนิค LC-ESI-MS	58
3.12	Negative-ion ES mass spectra ของสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐาน (ก) GA (ข) GC (ค) C (ง) EGCG และ (จ) GCG	60
3.13	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 5 ชนิด ที่พบในสารสกัดจากใบชาเมี่ยงที่ไม่อบ	63
3.14	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 5 ชนิด ที่พบในสารสกัดจากใบชาเมี่ยงที่อบ	63

สัญลักษณ์ย่อและสัญลักษณ์

สัญลักษณ์	ความหมาย
C	Catechin
C ₁₈	Octadecyl
ECG	Epicatechin gallate
EGCG	Epigallocatechin gallate
ESI	Electrospray ionization
GA	Gallic acid
GC	Gallocatechin
GCG	Gallocatechin gallate
L	ลิตร
mAU	milli-absorbance units
mg	มิลลิกรัม
min	นาที
mL	มิลลิลิตร
m/z	mass-to-charge ratio
n	จำนวนครั้ง
nm	นาโนเมตร
psi	ปอนด์ต่อตารางนิ้ว
PDA	Photodiode array
R ²	The Coefficient of Determination, ค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด
SD	standard deviation, ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
UV	Ultraviolet, แสงอัลตราไวโอเลต
V	โวลต์, Volt
$\bar{x}$	ค่าเฉลี่ยของข้อมูล