

IR 21

ประมวลสารสนเทศพร้อมใช้

แอนโทไซยานิน

(Anthocyanin)



สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

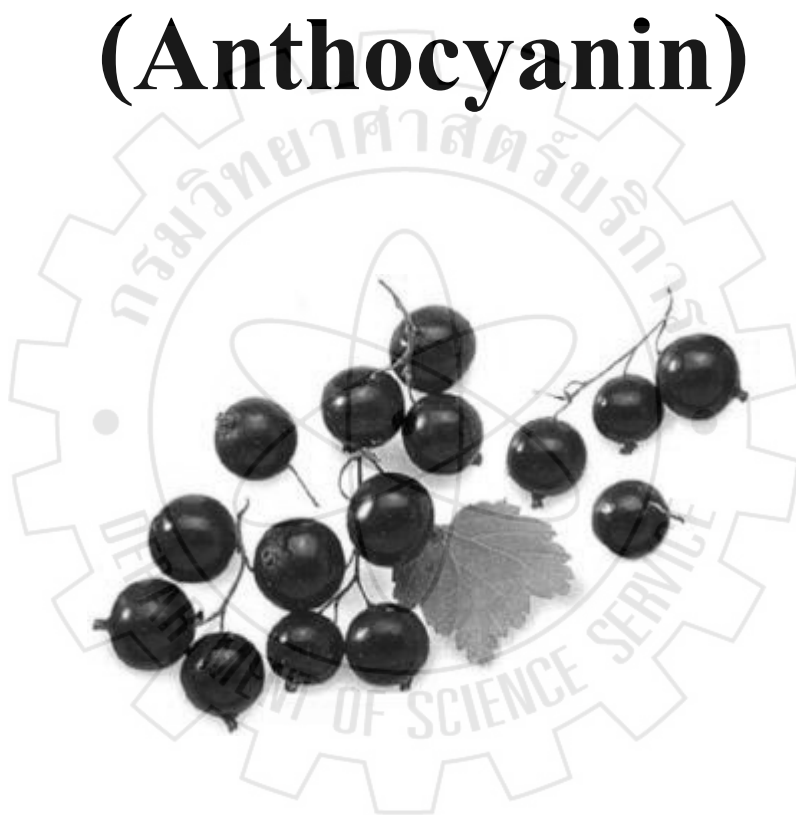
มิถุนายน 2553

IR 21

ประมวลสารสนเทศพร้อมใช้

แอนโทไซยานิน

(Anthocyanin)



สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มิถุนายน 2553

คำนำ

ประมวลสารสนเทศพร้อมใช้ เรื่อง “แอนโทไซยานิน (Anthocyanin)” ฉบับนี้ สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กรมวิทยาศาสตร์บริการ ได้จัดทำขึ้นภายใต้โครงการเครือข่ายห้องสมุดอิเล็กทรอนิกส์ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีของประเทศ โครงการย่อยที่ 2 โครงการเพิ่มศักยภาพการเข้าถึงสารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ในรูปแบบ Digital Library กิจกรรมย่อย 2.5 ประมวลสารสนเทศพร้อมใช้ (Information Repackaging) ในส่วนของสารระนำรู้ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีจากต่างประเทศ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเผยแพร่ประมวลสารสนเทศพร้อมใช้นี้ให้ผู้ใช้ได้เข้าถึงสารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในรูปแบบที่เข้าใจได้ง่ายและสะดวกพร้อมใช้ เอกสารประมวลพร้อมใช้ฉบับนี้ ให้ความรู้เกี่ยวกับแอนโทไซยานิน ได้แก่ การเกิดและโครงสร้างของแอนโทไซยานิน คุณสมบัติทางเคมีของแอนโทไซยานิน ปัจจัยที่มีผลต่อสีและความเสถียรของแอนโทไซยานิน คุณสมบัติของแอนโทไซยานิน การสกัด การทำให้บริสุทธิ์ และการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน รวมทั้งประโยชน์ของแอนโทไซยานิน

คณะผู้จัดทำหวังว่า ประมวลสารสนเทศพร้อมใช้ฉบับนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ใช้ที่สนใจศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับแอนโทไซยานิน โดยเอกสารฉบับเต็มที่ใช้ในการเรียบเรียงประมวลสารสนเทศพร้อมใช้ฉบับนี้ได้รวบรวม จัดเก็บ และให้บริการ ณ บริเวณห้องอ่านชั้น 2

ศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มิถุนายน 2553

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ	1
คำสำคัญ	1
บทนำ	2
การเกิดและโครงสร้างของแอนโทไซยานิน	2
คุณสมบัติทางเคมีของแอนโทไซยานิน	4
ปัจจัยที่มีผลต่อสีและความเสถียรของแอนโทไซยานิน	6
คุณสมบัติของแอนโทไซยานิน	9
การสกัด การทำให้บริสุทธิ์ และการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน	11
ประโยชน์ของแอนโทไซยานิน	13
บทสรุป	14
เอกสารอ้างอิง	15



แอนโทไซยานิน (Anthocyanin)

บทคัดย่อ

แอนโทไซยานิน เป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นสารให้สีตามธรรมชาติ โดยสีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-ด่าง แอนโทไซยานินมีโครงสร้างเป็นแบบ C6-C3-C6 ซึ่งเป็นไกลโคไซด์ของ 2-phenylbenzopyrylium หรือ flavylium cation ที่มีด้วยกันหลายชนิด แต่มีอยู่ 6 ชนิดเท่านั้นที่พบบ่อย ได้แก่ pelargonidin, cyanidin, delphinidin, peonidin, petunidin และ malvidin ในสารละลายตัวกลาง แอนโทไซยานินจะทำหน้าที่เป็นอินดิเคเตอร์วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH indicator) คือ ให้สีแดงที่ pH ต่ำ ให้สีน้ำเงินที่สภาวะเป็นกลางและไม่มีสีที่ pH สูง โดยปัจจัยที่มีผลต่อสีและความเสถียรของแอนโทไซยานินคือ ปัจจัยทางเคมีและฟิสิกส์ เช่น โครงสร้าง อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง กรดแอสคอร์บิก น้ำตาล และปัจจัยอื่นๆ แอนโทไซยานินมีคุณสมบัติแตกต่างกันทั้งทางเภสัชวิทยาและชีววิทยา เช่น เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity) ช่วยต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สามารถลดอาการอักเสบ (anti-inflammatory) ช่วยปกป้องหลอดเลือด ลดคอเลสเตอรอลในเลือด ลดความเสี่ยงของโรคมะเร็งและต้านไวรัส แต่คุณสมบัติเด่นที่สุดของแอนโทไซยานินคือ ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระโดยแอนโทไซยานินมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีและอีถึง 2 เท่า ปริมาณของแอนโทไซยานินที่มนุษย์สามารถบริโภคได้เฉลี่ยสูงสุดคือ 200 มิลลิกรัมต่อวัน ซึ่งพบว่าผู้ที่นิยมดื่มไวน์แดงมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเกี่ยวกับหัวใจลดลง ไวน์แดงจึงได้ชื่อว่าอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติมากที่สุดชนิดหนึ่ง เนื่องจากในไวน์แดงมี superoxide radical scavenging ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL (low density lipoprotein) การวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของแอนโทไซยานินเป็นการศึกษาโครงสร้างและหน้าที่ของแอนโทไซยานินในพืช เพื่อที่จะนำแอนโทไซยานินไปใช้ประโยชน์ได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม โดยแอนโทไซยานินสามารถสกัดจากพืชได้ถึง 539 โครงสร้าง โดยใช้การสกัด การทำให้บริสุทธิ์ และการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี วิธีวิเคราะห์ที่นิยมใช้คือ การแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง (Thin-layer chromatography ; TLC) และ High performance liquid chromatography (HPLC)

คำสำคัญ : แอนโทไซยานิน; แอนโทไซยานิดิน; ฟลาโวนอยด์; สารต้านอนุมูลอิสระ

Keywords : Anthocyanin; Anthocyanidin; Flavonoid; Antioxidant; Color stability

แอนโทไซยานิน (Anthocyanin)

1. บทนำ

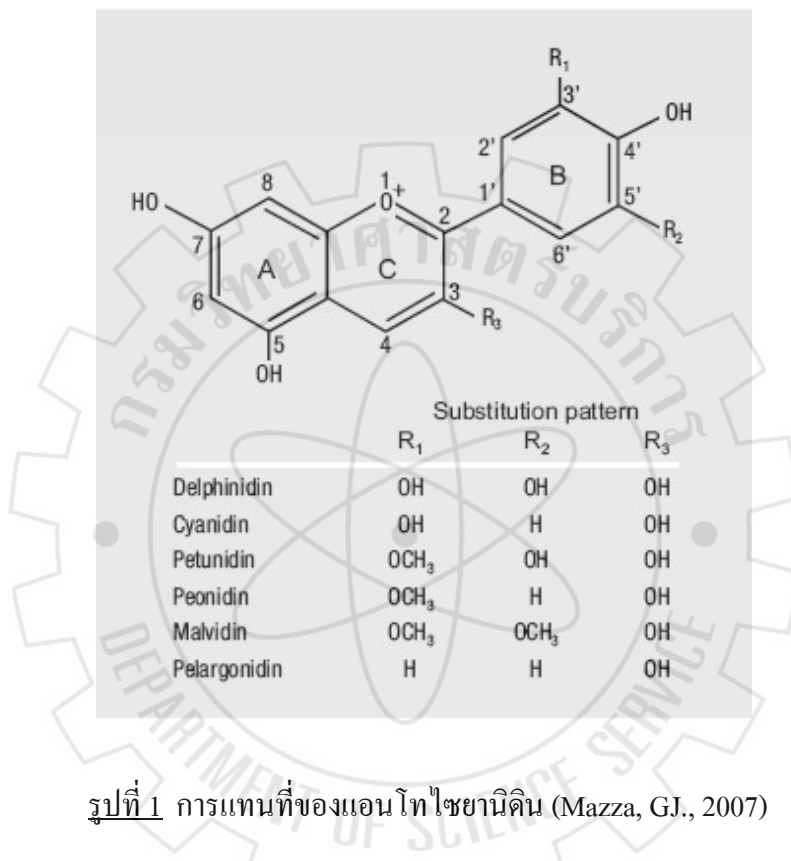
แอนโทไซยานิน (anthocyanins) มีชื่อย่อมาจากรากศัพท์เดิมของกรีกคือ anthos แปลว่า ดอกไม้ และ kyanos แปลว่า สีน้ำเงิน แอนโทไซยานิน จึงหมายถึง ดอกไม้สีน้ำเงิน แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ (water-soluble pigments) จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-ด่าง โดยมีสีน้ำเงินเข้มในสภาวะที่เป็นด่าง (pH มากกว่า 7) มีสีม่วงเมื่อเป็นกลาง (pH 7) และจะเปลี่ยนเป็นสีแดงส้มในสภาวะที่เป็นกรด (pH น้อยกว่า 7) สามารถพบแอนโทไซยานินได้ทั่วไปในแวนิวทิลและเซลล์เนื้อเยื่อชั้นนอกของดอก ผล และใบของพืชดอก (angiosperms) ยกเว้นในพืชพวกตะบองเพชร ผักกาดหัว ผักโขมและพืชพวกสาหร่าย บางครั้งปรากฏในส่วนเนื้อเยื่อพืช (plant tissue) ได้แก่ ราก หัวใต้ดินของพืช (tuber) ลำต้น หน่ออ่อน (bulbil) และพืชเมล็ดเปลือย (gymnosperms) ต่างๆ เช่น เฟิร์นและไบโอฟิต (bryophytes) นอกจากนี้แอนโทไซยานินจะทำให้ดอกไม้มีสีสันสวยงามแล้วยังช่วยป้องกันพืชไม่ได้รับอันตรายจากสิ่งแวดล้อมและแมลงต่างๆ แอนโทไซยานินจากธรรมชาติสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ได้หลายชนิด แต่ที่ได้รับความนิยมมากในปัจจุบันคือคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) จึงมีแนวโน้มนำมาประยุกต์ใช้ในด้านสุขภาพและความงาม โดยช่วยลดการเกิดริ้วรอยของผิวจากรังสียูวีและมลภาวะ อีกทั้งช่วยป้องกันเซลล์เส้นผมไม่ให้อ่อนแอและทำให้เส้นผมเงางามแข็งแรง

2. การเกิดและโครงสร้างของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินประกอบด้วยส่วนของอะไกลโคโคน (aglycone) น้ำตาล (sugar) และหมู่เอซิล (acyl group) (Anderson, OM., and Markham, KR., 2006) กำล้างการผลิตแอนโทไซยานินทั่วโลกมีประมาณ 10,000 ตัน (คำนวณกำล้างการผลิตจากองุ่นเพียงชนิดเดียว) (Kim, MK., et al., 2008) ปัจจุบันมีการค้นพบแอนโทไซยานินมากกว่า 300 ชนิดจากสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ได้พบกว่า 7,000 ชนิดแต่ละชนิดจะมีสีและคุณสมบัติแตกต่างกันไป แม้ว่าแอนโทไซยานินจะมีด้วยกันหลายชนิดแต่ทุกชนิดจะมีโครงสร้างหลักเป็นสารชนิดเดียวกันที่เรียกว่า แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) ที่มีคาร์บอน 15 อะตอมอยู่ภายในโมเลกุล (สัมพันธสัมพันธ์, 2546) คือ โครงสร้างแบบ C6-C3-C6 ซึ่งเป็นไกลโคไซด์ (glycoside) ของ 2-phenylbenzopyrylium หรือ flavylium cation แอนโทไซยานิดินสามารถเกิดได้ประมาณ 20 ชนิด แต่มีอยู่ 6 ชนิดเท่านั้นที่พบได้บ่อยในพืชคือ pelargonidin (Pg) คิดเป็น 18 % cyanidin (Cy) คิดเป็น 30 % delphinidin (Dp) คิดเป็น 22 % และ peonidin

(Pn) petunidin (Pt) และ malvidin (Mv) คิดเป็น 20 % (Anderson, OM., and Markham, KR., 2006) ดังแสดงในรูปที่ 1 ซึ่งชี้ให้เห็นว่าแอนโทไซยานินแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันดังนี้

1. จำนวนของหมู่ไฮดรอกซี (hydroxyl group) ในโมเลกุล
2. ระดับการเกิดเมทิลเลชัน (degree of methylation) ของหมู่ไฮดรอกซี
3. ธรรมชาติ จำนวนและตำแหน่งของในการเกิดไกลโคซิเลชัน (glycosylation)
4. ธรรมชาติและจำนวนของอะโรมาติก (aromatic) หรือ aliphatic acids ที่อยู่ใกล้กับ glycosyl residue



รูปที่ 1 การแทนที่ของแอนโทไซยานิดิน (Mazza, GJ., 2007)

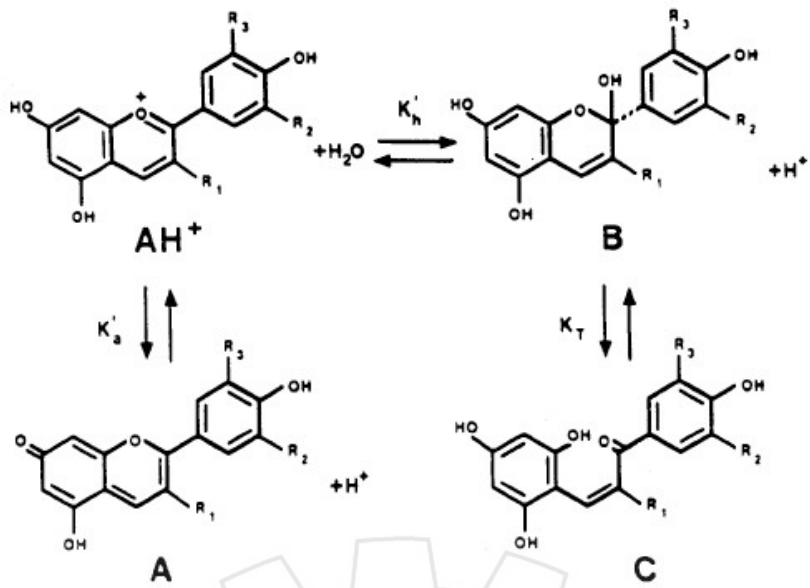
การแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซี (OH) และหมู่เมทอกซี (OCH₃) ของ flavylum ring จะทำให้เกิดสีของแอนโทไซยานิดินกล่าวคือ การเพิ่มจำนวนของหมู่ไฮดรอกซีจะทำให้เกิดเฉดของสีฟ้า (bluish shade) ส่วนการเพิ่มจำนวนของหมู่เมทอกซีจะทำให้เกิดสีแดง (redness) Mazza, GJ. (2007) ได้รายงานว่าการเพิ่มจำนวนของหมู่ไฮดรอกซีจะทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) เพิ่มขึ้น ซึ่งสีและการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานิดินแต่ละชนิด แสดงไว้ในตารางที่ 1 และเนื่องจากการแทนที่ของกรดและด่างเกิดขึ้นได้ในหลายตำแหน่ง จึงทำให้จำนวนของแอนโทไซยานินมีมากกว่าแอนโทไซยานิดิน 15-20 เท่าโมเลกุลของน้ำตาลที่ต่อกับแอนโทไซยานิดิน ได้แก่ กลูโคส (glucose) กาแลคโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) อะราบินโนส (arabinose) ไคแซ์กคาไรด์และไตรแซ์กคาไรด์ โดยแอนโทไซยานินที่พบมากที่สุดคือ 3-monoside, 3-biosides, 3,5-diglycosides และ 3,7- diglycosides (Sikorski, ZE., 2007)

ตารางที่ 1 สีและการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานิน (Kidmose, U., et al., 2002)

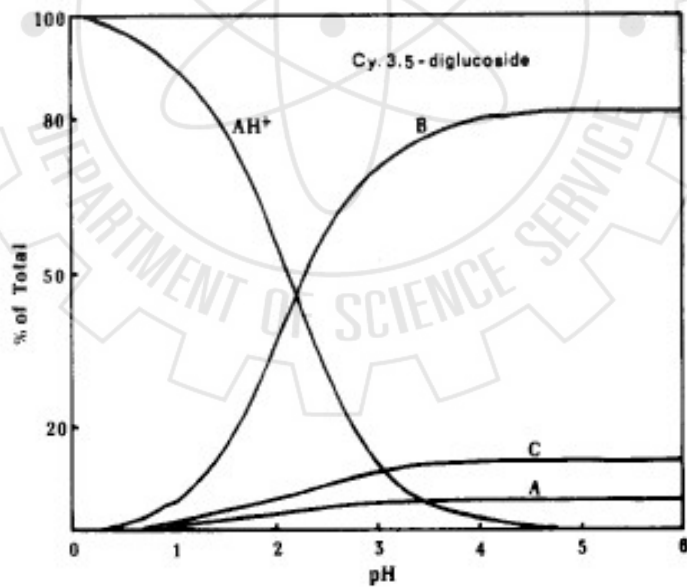
กลุ่มของรงควัตถุ (Pigment class)	ชนิดโครงสร้าง (Structural type)	การให้สี (Colour)	การดูดกลืนแสง (นาโนเมตร) (Sikorski, ZE., 2007)
แอนโทไซยานิน (anthocyanins)			
ไซยานิดิน ไกลโคไซด์ (Cyanidins glycosides)	แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)	ส้ม-แดง	535
เดลฟินิดิน ไกลโคไซด์ (Delphinidins glycosides)	แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)	น้ำเงิน-แดง	546
มัลวิดิน (Malvidins glycosides)	แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)	น้ำเงิน-แดง	542
เพลาโกนินิดิน ไกลโคไซด์ (Pelargonidins glycosides)	แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)	ส้ม	520
พีโอนินิดิน ไกลโคไซด์ (Peonidins glycosides)	แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)	ส้ม-แดง	532
เพทูนินิดิน ไกลโคไซด์ (Petunidins glycosides)	แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)	น้ำเงิน-แดง	543

3. คุณสมบัติทางเคมีของแอนโทไซยานิน (Sikorski, ZE., 2007)

ในสารละลายตัวกลาง (aqueous media) แอนโทไซยานินจะทำหน้าที่เป็นอินดิเคเตอร์วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH indicator) คือ ให้สีแดงที่ pH ต่ำ ให้สีน้ำเงินที่สถานะเป็นกลาง และไม่มีสีที่ pH สูง ในสารละลายที่เป็นกรดและเป็นกลางนั้น มีโครงสร้างของแอนโทไซยานิน 4 โครงสร้างที่อยู่ในสภาวะสมดุลคือ red flavylum cation (AH^+), blue quinonoidal base หรือ red quinonoidal base (A), colorless carbinol pseudobase (B) และ colorless chalcone (C) ดังแสดงในรูปที่ 2 ในสภาวะที่เป็นกรดและ pH ต่ำกว่า 2 จะมี AH^+ เป็นโครงเด่น เมื่อ pH เพิ่มขึ้น AH^+ จะเกิดการสูญเสียโปรตอนเกิดเป็นสารละลาย blue quinonoidal base หรือ red quinonoidal base (A) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่เกิดเป็นปกติ แต่การเกิดปฏิกิริยาไฮเดรชัน (hydration) ของ AH^+ จะทำให้เกิด colorless carbinol pseudobase (B) ซึ่งเกี่ยวข้องกับความแตกต่างกันของ pH และ โครงสร้างของแอนโทไซยานินจึงทำให้ ปริมาณของ AH^+ , A, B และ C ที่สภาวะสมดุลมีความแตกต่างกัน เช่น โครงสร้างของ 3-glycoside และ 3,5-diglycoside จะเกิดขึ้นเมื่อ pH เพิ่มขึ้นมากกว่า 3 ซึ่งจะเกิดเป็น colorless carbinol pseudobase (B) อย่างไรก็ตาม ปริมาณเพียงเล็กน้อยของ blue quinonoidal base (A) และ colorless chalcone (C) จะปรากฏให้เห็นและมีปริมาณเพิ่มขึ้นที่ pH สูงขึ้น (pH 4-6) ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 2 การเปลี่ยนรูปโครงสร้าง (Structural transformation) ของแอนโทไซยานิน (Mazza, GJ., and Brouillard, R., 1987)



รูปที่ 3 การกระจายของ AH⁺, A, B และ C ของ cyaniding 3,5-diglucoside ที่สภาวะสมดุล (Mazza, GJ., and Brouillard, R., 1987)

4. ปัจจัยที่มีผลต่อสีและความเสถียรของแอนโทไซยานิน (Mercadante, AZ., and Bobbio, FO., 2008)

จากการศึกษาค้นคว้าปัจจัยที่มีผลต่อความเสถียรของแอนโทไซยานิน พบว่า ปัจจัยทางเคมีและฟิสิกส์ที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัวของแอนโทไซยานินมีผลต่อความเสถียรของแอนโทไซยานินมากที่สุด ได้แก่ อุณหภูมิ แสง ความเป็นกรด-ด่าง ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โลหะ น้ำตาล และออกซิเจน รวมทั้งความเข้มข้น โครงสร้างเคมี และองค์ประกอบของแอนโทไซยานิน ดังรายละเอียดต่อไปนี้

4.1 โครงสร้าง (Structure) ความเสถียรและสีของแอนโทไซยานินขึ้นอยู่กับธรรมชาติและจำนวนของน้ำตาลที่ใกล้กับ flavylium ion และจำนวนของกรดที่เชื่อมต่อกับ glycosylic moiety รวมทั้งเกี่ยวข้องกับจำนวนและตำแหน่งในการแทนที่ flavylium ion ของไฮดรอกซิลและเมทอกซิล ตัวอย่างเช่น 3-deoxy anthocyanins ที่มีสีเหลืองเนื่องจากเกิดการดีไฮดรอกซิเลชัน (dehydroxylation) ของคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ทำให้มีความเสถียรมากกว่า 3-hydroxy anthocyanins ที่มีสีแดงและมีความเสถียรต่ำกว่ามาก นอกจากนี้ยังพบว่าแอนโทไซยานินที่ประกอบด้วย aromatic acyl groups มีความเสถียรมากกว่า unacylated pigments อาจเนื่องมาจากความเร็วในการเปลี่ยนสีจากการไฮเดรชัน (hydration) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ในแอนโทไซยานินนิวเคลียส (anthocyanin nucleus)

การเพิ่มจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิล (OH group) ในวงแหวนของแอนโทไซยานินนำไปสู่การดูดซับแสงสูงสุด ทำให้ความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นและเกิดการเปลี่ยนสีจากสีส้มไปเป็นสีน้ำเงิน-แดง แต่การแทนที่ด้วยหมู่เมทอกซิล (OCH₃ group) จะให้ผลตรงข้ามกัน หมู่ไฮดรอกซิลที่ C-3 จัดว่ามีความสำคัญเนื่องจากเป็นจุดที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีส้มและสีแดง (Sikorski, ZE., 2007)

4.2 อุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่าง (Temperature and pH) การย่อยสลายทางความร้อน (thermal degradation) มีผลต่อความเสถียรของแอนโทไซยานิน คือ เมื่ออุณหภูมิเพิ่ม ความเสถียรของแอนโทไซยานินและรงควัตถุต่างๆ ในอาหารจะลดลง ตัวอย่างเช่น cyanidin 3-glucoside และ cyaniding 3-rutinoside จะสลายตัวที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ในสารละลายกรดอ่อน (pH 1-4) ทั้งสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน หรือความเสถียรทางความร้อนของแอนโทไซยานินที่สกัดจากเปลือกของดอกทานตะวัน (sunflower hulls) จากการสกัดด้วยซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ความเข้มข้นของสารละลายต่างๆ ที่อุณหภูมิ 65-95 องศาเซลเซียส และที่ pH 1-5 พบว่า การสลายตัวของแอนโทไซยานินจะเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในสารละลายที่ได้จากการสกัด

Hiemori, M., Koh, E., and Mitchell, AE. (2009) ได้ศึกษาองค์ประกอบและความเสถียรทางความร้อนของแอนโทไซยานินใน black rice (*Oryza sativa* L. japonica var. SBR) โดยแอนโทไซยานิน 6 ชนิดถูกนำมาวิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC-PDA และ LC-(ESI)MS/MS พบว่า แอนโทไซยานินที่พบมากที่สุดคือ cyanidin-3-glucoside (572.47 ไมโครกรัมต่อกรัม คิดเป็น 91.13% ของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด) และ peonidin-3-glucoside (29.78 ไมโครกรัมต่อกรัม คิดเป็น 4.74 % ของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด) รองลงมาคือ cyaniding-dihexoside isomer 3 ไอโซเมอร์ และ cyaniding hexoside อีก 1 ชนิด นอกจากนี้ความเสถียรทางความ

ร้อนของแอนโทไซยานินที่ประเมินจากการหุงข้าวและความดันที่ใช้ พบว่าวิธีการทั้งหมดของกระบวนการหุงข้าว black rice เป็นสาเหตุทำให้ปริมาณของแอนโทไซยานินลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยความดัน (pressure) ที่ใช้ในการหุงข้าวเป็นสาเหตุสำคัญที่สุดที่ทำให้ปริมาณของ cyanidin-3-glucoside ลดลง รองลงมาคือ หม้อหุงข้าว (rice cooker) และปริมาณก๊าซที่ใช้ คิดเป็น 79.8 %, 74.2% และ 65.4 % ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณของ protocatechuic acid มีการเพิ่มขึ้นอีก 2.7-3.4 เท่า ในทุกวิธีการของกระบวนการหุงข้าว ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการหุงข้าว black rice เป็นสาเหตุให้เกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินของ cyanidin-3-glucoside และการเกิดของ protocatechuic acid ขึ้นพร้อมกัน

Mori, K., et al. (2007) ได้ศึกษาการสูญเสียแอนโทไซยานินในองุ่นแดงที่อุณหภูมิสูง คือ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และ 25 องศาเซลเซียส (control) พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสจะมี 3-monoglucoside, 3-acetylglucoside และ 3-*p*-coumaroylglucoside ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ delphinidins, cyanidins, petunidins, peonidins และ malvidins อยู่ในปริมาณมาก แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 35 องศาเซลเซียส พบว่าแอนโทไซยานินแต่ละชนิดมีปริมาณลดลง ยกเว้นอนุพันธ์ของ malvidins ได้แก่ 3-glucoside, 3-acetylglucoside และ 3-*p*-coumaroylglucoside อาจเป็นเพราะว่ายีนที่ได้จากชีวสังเคราะห์ (biosynthesis genes) นั้นไม่สามารถต้านการสลายตัวได้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

สีและความเสถียรของแอนโทไซยานินที่สกัดจากมะเขือเทศม่วงและแดงสด พบว่า pH และอุณหภูมิมีผลต่อความเสถียรน้อยกว่าความเข้มข้นของแครอทสีม่วงและองุ่น เยื่อราสเบอร์รี่ (raspberry pulp) จากธรรมชาติและผ่านการพาสเจอร์ไรซ์จะไม่ไวต่อการเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินระหว่างกระบวนการผลิตและบรรจุกระป๋อง แต่สีจะจางไปภายหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 50 วัน ทั้งนี้อุณหภูมิยังมีผลต่อการเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานิน เนื่องจากสัดส่วนของ cyanidin และ pelargonidin 3-glycoside ในน้ำผลไม้ราสเบอร์รี่แดงเข้มข้นและภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 3 เดือน พบว่า แอนโทไซยานินมีการเปลี่ยนสีอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย

4.3 กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acids) มีผลต่อความเสถียรของแอนโทไซยานินเกิดจากการควบแน่น (condensation) ของกรดแอสคอร์บิกที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ของแอนโทไซยานิน กรดแอสคอร์บิกมีความสามารถในการป้องกันแอนโทไซยานิน เนื่องจากสามารถลดการเกิด o-quinone formed ก่อนกระบวนการพอลิเมอไรเซชัน การสลายตัวของกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid degradation) มีผลทำให้เกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานิน (anthocyanin degradation) เพิ่มขึ้น (Sikorski, ZE., 2007) กรดแอสคอร์บิกเป็นนิวคลีโอไฟล์ (nucleophiles) ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ โดยจะเข้าทำลายที่ส่วนของประจุของโมเลกุลของแอนโทไซยานิน นอกจากนี้ยังมีกลไกของกรดแอสคอร์บิกที่มีผลต่อความเสถียรของแอนโทไซยานิน คือ กรดแอสคอร์บิกเป็นสาเหตุทำให้เกิด oxidative cleavage ที่ pyrilium ring จากการกระทำของอนุมูลอิสระ กรดแอสคอร์บิกทำหน้าที่เป็น molecular oxygen activator ในการสร้างอนุมูลอิสระออกมาทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของแอนโทไซยานิน การเติมกรดแอสคอร์บิกปริมาณ 330 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายที่มี malvidin 3- glucoside, malvidin 3,5-diglucoside และ flavylium salt จะเกิดการแทนที่ที่ต่างกันที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 4 (pH 2) โดย

โครงสร้างของ anthocyanin flavylium salt มีบทบาทสำคัญต่อความเสถียรของ anthocyanin ซึ่ง diglucoside จะทำให้สีของ anthocyanin จางลงช้ากว่า monoglucoside ทั้งนี้ชนิดของ flavylium cation ไม่มีผลต่ออัตราการสลายตัวของกรดแอสคอร์บิก (rate of ascorbic acid degradation) อย่างมีนัยสำคัญ

อะเซโรลา (acerola) เป็นแหล่งธรรมชาติของกรดแอสคอร์บิกที่ดีที่สุด การศึกษาส่วนประกอบของอะเซโรลาที่มีต่อความเสถียรของแอนโทไซยานินเปรียบเทียบกับอาไซอิ (acai) ที่ไม่พบกรดแอสคอร์บิกเป็นส่วนประกอบ พบว่า ความเสถียรของอะเซโรลาเกิดจากความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกในผลไม้ แต่การเติมกรดแอสคอร์บิกลงในสารละลายอาไซอิเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกเท่ากับอะเซโรลานั้นจะทำให้ความเสถียรของอาไซอิลดลงอย่างเห็นได้ชัด และระหว่างการเก็บรักษาน้ำผลไม้ พบว่า ไม่มีการตกค้างของกรดแอสคอร์บิก (ascorbic retention) และปริมาณการสูญเสียของแอนโทไซยานินในน้ำผลไม้เลย แต่อัตราการสูญเสียของแอนโทไซยานินในน้ำผลไม้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของแอนโทไซยานิน โดยกรดแอสคอร์บิกจะสลายตัว 100 % (ภายใน 9 วัน) เมื่อไม่มีแอนโทไซยานิน ขณะที่เมื่อมี malvidin 3-glucoside และ malvidin 3,5-diglucoside จะทำให้กรดแอสคอร์บิกสลายตัว 15 % และ 23 % (ภายใน 9 วัน) ตามลำดับ

4.4 น้ำตาล (Sugars) การเติมน้ำตาลมีผลต่อความเสถียรของแอนโทไซยานิน ซึ่งขึ้นอยู่กับโครงสร้าง ความเข้มข้นของแอนโทไซยานินและชนิดของน้ำตาล โดย reducing และ non-reducing sugar มีผลในการทำลายความเสถียรของแอนโทไซยานินในแบล็ค เคอเรนท์ (black currant) ความเสถียรทางความร้อนของแอนโทไซยานิน (anthocyanin thermostability) จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของซูโครส (concentration of sucrose) เพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 20 % ขณะที่ความเข้มข้นที่ 40 % จะมีผลดีต่อความเสถียรของรงควัตถุ ตรงข้ามกับความเสถียรทางความร้อนของรงควัตถุ (thermostability of pigments) จะลดลงแบบเส้นตรงเมื่อความเข้มข้นของฟรุกโตส (concentration of fructose) เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นเพราะการเกิดฟูโรลดีไฮด์ (furaldehyde formation)

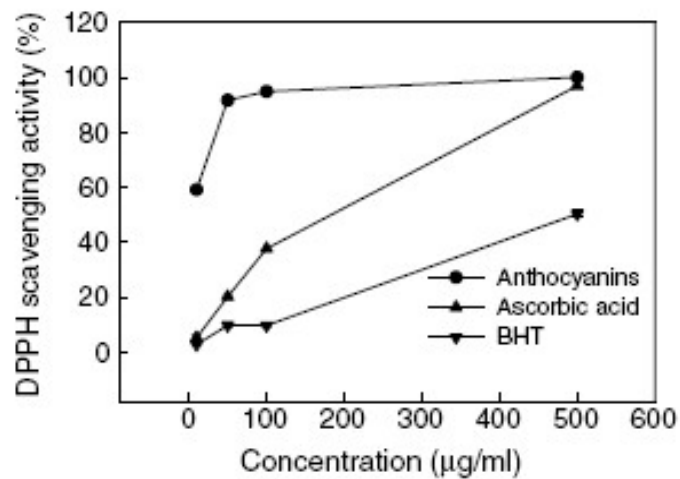
4.5 ปัจจัยอื่น แอนโทไซยานินจะมีสีจางลงที่ pH 3 โดยการเติมโซเดียมซัลไฟต์ที่ C-2 หรือ C-4 ในส่วนกำเนิดสี (chromophore) ซึ่งปฏิกิริยาจะเกิดเร็วที่สภาวะความเป็นกรด (acidification) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ EDTA และส่วนผสมระหว่างซัลเฟอร์ไดออกไซด์และ EDTA มีผลต่อการสูญเสียแอนโทไซยานินในน้ำผลไม้ สตรอเบอร์รี่น้อยมากเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 10 สัปดาห์ ในทางกลับกัน การเติมซัลเฟอร์ ไดออกไซด์และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จะทำให้เกิดการสูญเสียแอนโทไซยานินและทำให้สารประกอบพอลิเมอร์ลดลง

การทดลองกับสตรอเบอร์รี่และราสเบอร์รี่โดยใช้ความดันอุทกสถิต (hydrostatic pressure) สูงจาก 200-800 เมกะปาสกาล (mPa) ที่อุณหภูมิ 18 และ 21 องศาเซลเซียสและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 20 และ 30 องศาเซลเซียส พบว่า ความเสถียรของราสเบอร์รี่มีค่ามากที่สุดที่ความดันอุทกสถิต 200 mPa (4 องศาเซลเซียส) รองลงมาคือ 800 mPa (4 องศาเซลเซียส)

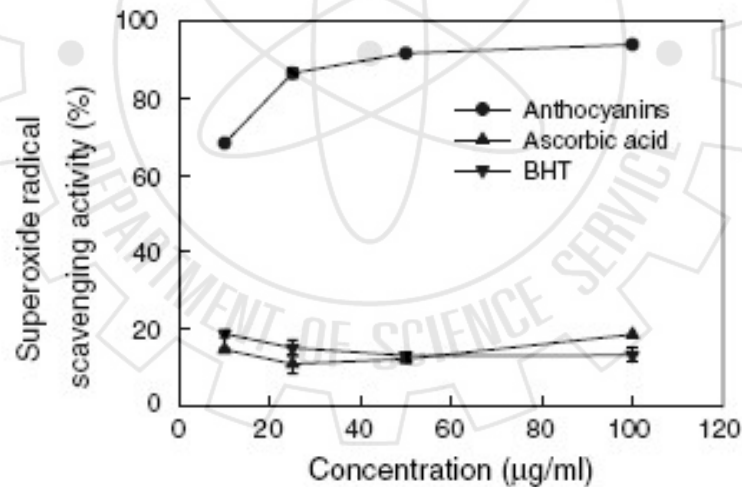
5. คุณสมบัติของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานิน เป็นสารให้สีธรรมชาติในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่มีขนาดใหญ่ จึงทำให้มีความแตกต่างกันทั้งทางเภสัชวิทยาและชีววิทยา เช่น เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity) ช่วยต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สามารถลดอาการอักเสบ (anti-inflammatory) โดยเพิ่มความแข็งแรงของเส้นใยโปรตีนในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) และกระดูกอ่อน (cartilage) จึงลดการทำลายจากอนุมูลอิสระอันตรายที่สำคัญ ได้แก่ DPPH • , O₂ • , OH • , O₂ และ H₂ O₂ (Changlian, P., et al., 2006) นอกจากนี้ยังช่วยปกป้องหลอดเลือด (vasoprotective) โดยการขยายหลอดเลือดและกระตุ้นการไหลเวียนของเลือด ลดคอเลสเตอรอลในเลือด โดยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว (lipid peroxidation) (Francis, FJ., 2002) ลดความเสี่ยงของโรคมะเร็งและต้านไวรัส (Zhao, CL., et al., 2009) ช่วยกระตุ้นให้เส้นผมดำ ชะลอผมหงอก ช่วยให้ผิวพรรณเปล่งปลั่งและมีฤทธิ์ต้านรังสียูวี (พิมพ์ออร์ ศีตคุณรัตน์, 2552) แต่คุณสมบัติเด่นที่สุดของแอนโทไซยานินคือ ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant effectiveness) โดยแอนโทไซยานินมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีและอีถึง 2 เท่า ความสนใจเกี่ยวกับแอนโทไซยานินจึงเน้นไปยังการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติที่มีอยู่ในบลูเบอร์รี่ (blueberries) เชอร์รี่ (cherries) ราสเบอร์รี่ (raspberries) ลูกเกด (black currants) องุ่นม่วง (purple grape) และไวน์แดง (red wine)

Duan, X., et al. (2007) ได้ศึกษาและเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH• ของแอนโทไซยานิน กรดแอสคอร์บิกและ butylated hydroxytoluene (BHT) จากเปลือกหุ้มเมล็ดของผลลิ้นจี่ (litchi fruit pericarp) ที่ปริมาณเท่ากันคือ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า แอนโทไซยานินมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH• มากที่สุด รองลงมาคือ กรดแอสคอร์บิก และ BHT โดยประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH• เท่ากับ 91.3 %, 20.1 % และ 9.73 % ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4 เช่นเดียวกับการเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ super anion radicals ของทั้ง 3 สารที่ปริมาณเดียวกัน พบว่า แอนโทไซยานินมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ super anion radicals มากที่สุด รองลงมาคือ กรดแอสคอร์บิก และ BHT ที่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน โดยประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ super anion radicals เท่ากับ 91.4 %, 12.4 % และ 13.3 % ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 5



รูปที่ 4 แสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH• ของแอนโทไซยานิน กรดแอสคอร์บิก และ butylated hydroxytoluene (BHT) (Duan, X., et al., 2007)



รูปที่ 5 แสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ super anion radicals ของแอนโทไซยานิน กรดแอสคอร์บิก และ butylated hydroxytoluene (BHT) (Duan, X., et al., 2007)

ปริมาณของแอนโทไซยานินที่มนุษย์สามารถบริโภคได้เฉลี่ยสูงสุดคือ 200 มิลลิกรัมต่อวัน โดยชาวอเมริกันส่วนใหญ่นิยมบริโภคแอนโทไซยานิน 180-215 มิลลิกรัมต่อวัน (Einbond, LS., et al., 2004; Mazza, GJ., 2007) ในไวน์แดง พบว่ามีปริมาณของแอนโทไซยานินมากกว่าไวน์ขาวและน้ำองุ่น ไวน์แดงจึงได้ชื่อว่าอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติมากที่สุดชนิดหนึ่ง อาจเป็นเพราะว่าในไวน์แดงมี superoxide

radical scavenging และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL (low density lipoprotein) (Sikorski, ZE., 2007)

แอนโทไซยานิน ยังมีบทบาทดึงดูดแมลงและนกให้ช่วยผสมเกสร (pollination) และช่วยในการกระจายเมล็ดพันธุ์ออกไป (seed dispersal) รวมทั้งมีบทบาทยับยั้งการทำลายของแมลงต่างๆ เมื่อแอนโทไซยานินอยู่ที่ส่วนบนของผิวหน้าใบหรือในส่วนของ epidermal cell จะมีบทบาทเกี่ยวกับการอยู่รอดทางกายภาพ (physiological survival) ของพืช (Anderson, OM., and Markham, KR., 2006)

6. การสกัด การทำให้บริสุทธิ์ และการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน (Anderson, OM., and Markham, KR., 2006 ; Nollet, LML., 1996)

การวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitative) และเชิงคุณภาพ (qualitative) ของแอนโทไซยานินถูกนำไปพิจารณาถึงการใช้ประโยชน์ของแอนโทไซยานินในพืชและการศึกษาโครงสร้างและหน้าที่ของแอนโทไซยานิน เช่น การเป็นแหล่งที่ให้สีตามธรรมชาติ แอนโทไซยานินสามารถสกัดจากพืชได้ถึง 539 โครงสร้าง (Giusti, MM., and Jing, P., 2008; Mercadante, AZ., and Bobbio, FO., 2008) การที่แอนโทไซยานินมีโครงสร้างหลากหลาย ทำให้แยกได้ยาก แอนโทไซยานินส่วนใหญ่จะไม่มีเสถียรเท่าที่ควร เนื่องจากตัวแปรทางเคมีและฟิสิกส์ เช่น ออกซิเจน อุณหภูมิ และความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งวิธีวิเคราะห์และเครื่องมือที่ใช้วัดแอนโทไซยานิน ได้แก่ HPLC, LC-MS และ NMR spectroscopy อย่างไรก็ตาม การศึกษาโครงสร้างของแอนโทไซยานินต้องใช้พืชมากกว่าหรือเท่ากับ 100 กรัม โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายแอลกอฮอล์ในสภาวะกรด จากนั้นนำไปทำให้บริสุทธิ์ (purification) และแยก (separation) แอนโทไซยานินโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี แล้วจึงนำไปศึกษาโครงสร้างโดยใช้ spectroscopy หรือ chemical degradation โดยรายละเอียดดังต่อไปนี้

6.1 การสกัด (extraction) การสกัดแอนโทไซยานิน เป็นขั้นตอนแรกในการวินิจฉัยชนิดของแอนโทไซยานินรวมและแอนโทไซยานินในแต่ละส่วนของพืช โดยคำนึงถึงจุดประสงค์ในการสกัดและธรรมชาติของแอนโทไซยานิน วิธีการสกัดที่ดีนั้นควรมีการได้กลับคืนมา (recovery) ของแอนโทไซยานินมากที่สุดและเกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินน้อยที่สุด อีกทั้งต้องเป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อน อันตราย ใช้เวลาหรือค่าใช้จ่ายสูง

การสกัดแอนโทไซยานินสามารถใช้ตัวทำละลายได้หลายตัว เช่น เมทานอล อะซีโตน เอทานอล และน้ำ เพื่อให้ได้แอนโทไซยานินใกล้เคียงกับธรรมชาติ จึงมีนักวิจัยใช้ตัวทำละลายที่เป็นกลางในการสกัดเริ่มต้น เช่น 60% methanol, ethylene glycol, *n*-butanol และ acetone (Giusti, MM., and Jing, P., 2008; Nollet, LML., 1996) โดยเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ใช้สกัดมากที่สุด ทั้งนี้ได้มีการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลายที่ใช้สกัดแอนโทไซยานิน 3 ชนิด (เมทานอล เอทานอล และน้ำ) พบว่า เมทานอลมีประสิทธิภาพในการสกัดมากกว่าเอทานอลและน้ำเท่ากับ 20 % และ 73 % ตามลำดับ การสกัดโดยใช้เอทานอลและน้ำเหมาะสมสำหรับนำมาใช้กับอาหารได้ดีกว่า เนื่องจากต้องการหลีกเลี่ยงความเป็นพิษที่อาจเกิดจากเมทานอล แต่การ recovery ของแอนโทไซยานินมีประสิทธิภาพน้อยกว่าเมทานอล (Giusti, MM., and Jing, P., 2008)

การสกัดด้วยสารละลายกรด มีความสำคัญในการทำให้แอนโทไซยานิน (flavylium cation) มีความเสถียรและช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพในการสกัด อย่างไรก็ตาม กรดสามารถเปลี่ยนฟอร์มของแอนโทไซยานินในเนื้อเยื่อได้โดยไม่เชื่อมต่อกับโลหะและ/หรือรงควัตถุอื่น ซึ่งการทำให้การสลายตัวของแอนโทไซยานินเกิดขึ้นน้อยที่สุดคือ การสกัดในสารละลายกรดอ่อนและกรดอินทรีย์ที่ระเหยได้ (volatile organic acids) เช่น กรดฟอร์มิก (formic acid) กรดอะซิติก (acetic acid) หรือกรดทาร์ทาริก (tartaric acid) หรือปริมาณเล็กน้อยของ 0.01-3 % ของกรดไตรฟลูออโรอะซิติก (trifluoroacetic acid) ที่สามารถสกัดออกได้ระหว่างการทำให้รงควัตถุมีความเข้มข้นขึ้น (pigment concentration)

ปัจจุบันมีวิธีการศึกษาเทคนิคการสกัดแอนโทไซยานินที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพ ได้แก่ accelerated solvent extraction (ASE) และ pressurized liquid extraction (PLE) ทั้ง 2 วิธีนี้เป็นวิธีที่น่าสนใจ เนื่องจากสามารถสกัดให้สารเคมีที่ต้องการได้ในปริมาณสูงและมีประสิทธิภาพ อีกทั้งใช้ได้กับตัวอย่างพืช สัตว์และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ

ASE และ PLE จะใช้ตัวทำละลายแบบ combined solvents ในการสกัดที่อุณหภูมิ 40-200 องศาเซลเซียส และความดัน 500-3,000 psi ร่วมกับก๊าซเฉื่อย โดยใช้เวลานับ 5-10 นาที เนื่องจากแอนโทไซยานินมีความไวต่อความร้อน (heat sensitive) ทำให้แอนโทไซยานินสามารถสลายตัวได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 70 องศาเซลเซียสเป็นต้นไป ได้มีการศึกษาการสกัดแอนโทไซยานินด้วยวิธี PLE ในผลองุ่นแห้งด้วยตัวทำละลาย 6 ชนิด โดยใช้ อุณหภูมิ 20-140 องศาเซลเซียสและ ความดัน 10.1 MPa พบว่า ชนิดของตัวทำละลายและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อชนิดและปริมาณของแอนโทไซยานิน

Supercritical fluid extraction (SFE) เป็นเทคโนโลยีใหม่ สามารถสกัดสารประกอบที่ชอบไขมัน (lipophilic compound) เช่น น้ำมันจากเมล็ดแครนเบอร์รี่ (cranberry seed oil) ไลโคปีน (lycopene) คิวมาริน (coumarin) และน้ำมันจากเมล็ดพืชอื่นๆ โดยทั่วไปแอนโทไซยานินและ glycosylated anthocyanin เหมาะสำหรับการสกัดด้วยวิธี SFE เนื่องจากมีคุณสมบัติที่ชอบน้ำ (hydrophilic properties) นอกจากนี้ SFE ยังสามารถทำให้แอนโทไซยานินมีความบริสุทธิ์และนำไปประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง ได้

6.2 การทำให้บริสุทธิ์ (purification) การทำให้แอนโทไซยานินที่สกัดได้นั้นมีความสะอาดทำได้หลายวิธีคือ ใช้ lead acetate, paper chromatography และ solvent-solvent extraction แต่ทั้ง 3 วิธีนี้ใช้เวลานานและทำให้เกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานิน ปัจจุบันจึงมีการคิดค้นวิธีการสกัด solid-phase extraction ด้วย insoluble poly(vinylpyrrolidone; PVP) Sephadex G-25, Sephadex LH-20, polyamide, ion-exchange resins, acid alumina, Amberlite XAD-7 และ octadecylsilane ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและเร็วกว่าโดยใช้ตัวดูดซับ (absorbents) ขณะที่สารที่ไม่ต้องการ (น้ำตาลและกรดต่างๆ) จะถูกล้างออกจากคอลัมน์ สารแอนโทไซยานินจะถูกดูดซับและต้องแยกออกโดยการละลายล้าง (elute) ด้วยเมทานอลในสารละลายกรด

6.3 การวิเคราะห์ (analysis) สามารถทำได้หลายวิธี เช่น spectrophotometry, TLC และ HPLC โดยวิธีที่ใช้มากในปัจจุบัน คือ

6.3.1 การแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง (Thin-layer chromatography ; TLC) เป็นวิธีที่ใช้เวลาสั้น ใช้ปริมาณตัวอย่างและมีการแพร่กระจาย (diffusion) น้อย จึงนิยมใช้ในการแยกแอนโทไซยานินในรากเบอรี่และองุ่น นักวิจัยส่วนใหญ่นิยมใช้ MN 300 cellulose powder บนแผ่นบาง โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ก่อนนำไปใช้แยก องค์ประกอบของแอนโทไซยานินในองุ่นมีความซับซ้อนมากและสามารถแยกโดยใช้แผ่นบางผสม (mixed thin layer) ของซิลิกาเจลและเซลลูโลส (1:1) การแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีขึ้นอยู่กับความเป็นขั้ว (polarity) จากการเพิ่มขึ้นของจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลของแอนโทไซยานิน (delphinidin มีความเป็นขั้วมากกว่า cyanidin และ 3,5-diglucoside เป็นแอนโทไซยานินที่มีความเป็นขั้วมากที่สุด) โดยความเป็นขั้วขึ้นอยู่กับธรรมชาติและจำนวนการแทนที่ของน้ำตาล

6.3.2 High performance liquid chromatography (HPLC) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากสำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบของพืชที่เป็นสารฟีนอลิก สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพ โดยอาศัยความเป็นขั้วของแอนโทไซยานินเป็นสำคัญเช่นกัน วิธี reverse-phase HPLC จะแยกแอนโทไซยานินตามความเป็นขั้วคือ delphinidin < cyanidin < petunidin < pelargonidin < peonidin < malvidin สารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แบบ HPLC เป็นสารละลายกรดที่มี pH น้อยกว่า 2 ซึ่งเป็นสภาวะที่ปรากฏแอนโทไซยานินในรูปของ red flavylum cation มากที่สุด สารละลายกรดที่ใช้โดยทั่วไปคือ กรดฟอร์มิก (ความเข้มข้น 10% ขึ้นไป) กรดอะซิติก 15% กรดฟอสฟอริก 3-4% หรือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ทั้งนี้การใช้สารละลายกรดมีส่วนทำให้อายุการใช้งานของคอลัมน์ที่ใช้แยกสารสั้นลง เนื่องจากการสูญเสียส่วนที่ยึดเกาะ (bond phase) ออกจากผิวหน้าของซิลิกาใน stationary phase support

7. ประโยชน์ของแอนโทไซยานิน

1. ใช้เป็นสีย้อมอาหาร (food dye) เนื่องจากคุณสมบัติพิเศษของผลิตภัณฑ์สีผสมอาหารแอนโทไซยานินสามารถอยู่ในรูปแบบผงและของเหลว จึงสามารถเลือกใช้ได้ตามความต้องการของอาหารและผสมกับส่วนของไข่ขาวเพื่อใช้เป็นสารช่วยให้ความคงตัว (stabilizer) แทนการใช้แป้ง รวมทั้งเพิ่มความคงตัวให้กับผลิตภัณฑ์ที่มีค่าปริมาณน้ำอิสระ (water activity) ต่ำ แต่ทั้งนี้สีผสมอาหารแอนโทไซยานินไม่เหมาะกับผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นกรดสูง เช่น นมมะนาว และครีมเปรี้ยว (นาริรัตน์ อนุรักษ์, 2553)

2. ใช้เป็นส่วนผสมในแชมพู ซึ่งสารแอนโทไซยานินจะช่วยกระตุ้นให้เซลล์รากผม (keratinocytes) สร้างผมได้มากขึ้นถึง 3 เท่า รวมทั้งเป็นส่วนผสมในครีมนวดผม

3. ใช้เป็นส่วนผสมในสารกันแดด (sunscreen) ช่วยให้ผิวหนังอ่อนกว่าวัย ชะลอความเสื่อมสภาพของผิวหนัง เนื่องจากสารแอนโทไซยานินช่วยยับยั้งความเสียหายของผิวหนังจากกระบวนการออกซิเดชัน

(oxidation) ที่เกิดจากแสงอัลตราไวโอเล็ต โดยป้องกันการเกิดออกซิเดชันของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว เมื่อใช้ร่วมกับวิตามินอีจะทำให้การทำงานมีประสิทธิภาพมากขึ้น นอกจากนี้ยังใช้ทำสบู่ได้ด้วย

4. ช่วยในการผสมเกสร โดยแมลงจะชอบสีสันของดอกไม้ต่างกัน เช่น ผึ้งชอบดอกสีน้ำเงิน หรือเหลือง และมีลายเส้นของดอกไม้ที่โดดเด่น ผีเสื้อชอบดอกสีแดง ชมพู นกชอบดอกสีแดง ส้ม ค้างคาวและค้างคาวชอบดอกสีไม่สดใสและไม่ฉูดฉาด

5. ช่วยดูดซับรังสีอัลตราไวโอเล็ต เนื่องจากรงสีอัลตราไวโอเล็ตมีความยาวคลื่นสั้น จึงมีพลังงานสูง และเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต โดยไปขัดขวางการจำลองแบบของดีเอ็นเอ (DNA) ซึ่งเป็นสารพันธุกรรม มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีนและทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ (สัมพันธ์ คัมภีรานนท์, 2546)

6. ช่วยดูดซับอนุมูลอิสระ โดยทำหน้าที่เป็นตัวต้านอนุมูลอิสระในกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะกระบวนการออกซิเดชัน (oxidation) เช่น ในการสังเคราะห์แสงจะมีการสร้างสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ขึ้น แอนโทไซยานินจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารนี้ ทำให้พิษของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์หมดไป ในแง่ของโภชนาการแอนโทไซยานินช่วยลดความเสี่ยงจากโรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน โดยยับยั้งการรวมตัวระหว่างออกซิเจนกับคอเลสเตอรอลชนิดความหนาแน่นต่ำ (LDL-cholesterol) ซึ่งเป็นไขมันที่ไม่พึงประสงค์ ในขณะที่เดียวกันจะเพิ่มปริมาณของคอเลสเตอรอลชนิดความหนาแน่นสูง (HDL-cholesterol) ที่เป็นไขมันดี ดังนั้นการดื่มน้ำองุ่นแดง วันละ 2-3 แก้วจะช่วยลดอัตราเสี่ยงการแข็งตัวของเลือดได้

8. บทสรุป

แอนโทไซยานิน เป็นสารให้สีตามธรรมชาติในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ละลายน้ำได้ประกอบด้วยส่วนของอะไกลโคน (aglycone) น้ำตาล (sugar) และหมู่เอซิล (acyl group) ปัจจุบันมีการค้นพบแอนโทไซยานินมากกว่า 30 ชนิดแต่มีอยู่ 6 ชนิดเท่านั้นที่พบมากคือ pelargonidin, cyanidin, delphinidin, peonidin, petunidin และ malvidin แอนโทไซยานินแต่ละชนิดมีสีสันและคุณสมบัติที่ต่างกัน สีและความเสถียรของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-ด่าง โครงสร้างของแอนโทไซยานิน อุณหภูมิ กรดแอสคอร์บิก น้ำตาล และปัจจัยอื่นๆ แอนโทไซยานินมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาและชีววิทยาที่หลากหลาย ได้แก่ ช่วยต้านอนุมูลอิสระ ลดอาการอักเสบ ลดคอเลสเตอรอล และลดความเสี่ยงของโรคมะเร็งและต้านไวรัส แต่คุณสมบัติเด่นที่สุดของแอนโทไซยานินคือ ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวโดยแอนโทไซยานินมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีและอีถึง 2 เท่า จึงนิยมนำแอนโทไซยานินมาผสมในเครื่องสำอาง การศึกษาโครงสร้างและหน้าที่ของแอนโทไซยานินในพืชเพื่อนำแอนโทไซยานินไปใช้ประโยชน์ได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม ทำโดยการวิเคราะห์แอนโทไซยานินเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพโดยใช้การสกัด การทำให้บริสุทธิ์ และการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี วิธีวิเคราะห์ที่นิยมใช้คือ Thin-layer chromatography (TLC) และ High performance liquid chromatography (HPLC) ซึ่งสามารถสกัดแอนโทไซยานินจากพืชได้ถึง 539 โครงสร้าง

เอกสารอ้างอิง

นาริรัตน์ อนุธรรมเมธี. Natural Blue Coloring นวัตกรรมสีจากธรรมชาติ. [ออนไลน์] [อ้างถึง 3 มิถุนายน 2553] เข้าถึงได้จาก: <http://fic.nfi.or.th/upload/innovation/media/9319.pdf>

พิมพ์อร ศีตคุนรัตน์. ข้าวกล้องงอก ราชานแห่งข้าว สุขยอดอาหารเพื่อสุขภาพ และความงาม. กรุงเทพฯ : ฐานบัณฑิต, 2552, หน้า 154-155.

สัมพันธ์ คัมภีรานนท์. แอนโทไซยานิน สีสำหรับโลกสวย. **UPDATE**, กุมภาพันธ์, 2546, ปีที่ 18, ฉบับที่ 186, หน้า 53-56.

Anderson, OM., and Markham, KR. **Flavonoids : Chemistry, Biochemistry and Applications**. Boca Raton, Fla. : CRC Press / Taylor & Francis, 2006, p. 472-478, 508-515.

Changlian, P., et al. The anti-photooxidation of anthocyanins-rich leaves of a purple rice cultivar. **Science in China Series C : Life Sciences**, 2006, vol. 49, no. 6, p. 543-551.

Duan, X., et al. Antioxidant properties of anthocyanins extracted from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit pericarp tissues in relation to their role in the pericarp browning. **Food Chemistry**, 2007, vol. 101, p. 1365-1371.

Einbond, LS., et al. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, 2004, vol. 84, p. 23-28.

Francis, FJ. Food colorings. In MacDougall, DB. **Colour in food : improving quality**. Boca Raton, Fla. : CRC Press ; Cambridge, : Woodhead Pub., 2002, p. 310-314, 331, 336.

Giusti, MM., and Jing, P. Analysis of Anthocyanins. In Socaciu, C. **Food Colorants Chemical and Functional Properties**. Boca Raton, Fla. : CRC Press, 2008, p. 479-497.

Hiemori, M., Koh, E., and Mitchell, AE. Influence of Cooking on Anthocyanins in Black Rice (*Oryza sativa* L. *japonica* var. SBR). **J. Agric. Food Chem**, 2009, vol. 57, p. 1908-1914.

Kidmose, U., et al. Colour stability in vegetables. In MacDougall, DB. **Colour in food : improving quality**. Boca Raton, Fla. : CRC Press ; Cambridge, : Woodhead Pub., 2002, p. 145-150, 179-180, 186-187, 196-197, 217, 248, 265-266, 270-271.

Kim, MK., et al. Identification and quantification of anthocyanin pigments in colored rice. **Nutrition Research and Practice**, 2008, vol. 2, no. 1, p. 46-49.

Mazza, GJ. Anthocyanins and heart health. **Ann Ist Super Sanita**, 2007, vol. 43, no. 4, p. 369-374.

Mazza, GJ., and Brouillard, R. Color stability and structural transformations of cyanidin 3,5-diglucoside and four 3-deoxyanthocyanins in aqueous solutions. **J. Agric. Food Chem**, 1987, vol. 35, p. 422-426.

Mercadante, AZ., and Bobbio, FO. Anthocyanins in Foods: Occurrence and Physicochemical Properties. In Socaciu, C. **Food Colorants Chemical and Functional Properties**. Boca Raton, Fla. : CRC Press, 2008, p. 241-268.

Mori, K., et al. Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. **Journal of Experimental Botany**, April, 2007, vol. 58, no. 8, p. 1935-1945.

Nollet, LML. **Handbook of Food Analysis**. 2nd ed. New York : Marcel Dekker, 1996, p. 833-850.

Sikorski, ZE. **Chemical and Functional Properties of Food Components**. 2nd ed. Boca Raton, Fla. : CRC Press, 2007, p. 260-265.

Zhao, CL., et al. Pharmacological and nutritional activities of potato anthocyanins. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, January, 2009, vol. 2, no. 10, p. 463-468.

