



วิทยานิพนธ์

ผลของการบริบูรณ์ต่อปริมาณฟลาโวนอยด์บางชนิด และคุณสมบัติต้าน
ออกซิเดชันในผลหว่า (Syzygium cumini)

EFFECT OF MATURATION ON QUANTITY OF SOME
FLAVONOIDS AND ANTIOXIDANT PROPERTIES IN
JAMBOLAN (*Syzygium cumini*)

นายวิทยา ทรัพย์เย็น

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2550



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์การอาหาร

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ผลของการบริบูรณ์ต่อปริมาณฟลาโวนอยด์บางชนิด และคุณสมบัติต้านออกซิเดชันในผล
หว่า (Syzygium cumini)

Effect of Maturation on Quantity of some Flavonoids and Antioxidant Properties in
Jambolan (*Syzygium cumini*)

นามผู้วิจัย นายวิทยา ทรัพย์เย็น

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบุญ สัจจานันตกุล, Ph.D.)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ปาริฉัตร หงสประภาส, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ภกมณ จิตประเสริฐ, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบุญ สัจจานันตกุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 5 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2551

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของการบริบูรณ์ต่อปริมาณฟลาโวนอยด์บางชนิด และคุณสมบัติต้านออกซิเดชันในผลหว่า
(*Syzygium cumini*)

Effect of Maturation on Quantity of some Flavonoids and Antioxidant Properties in Jambolan
(*Syzygium cumini*)

โดย

นายวิทยา ทรัพย์เย็น

เสนอ

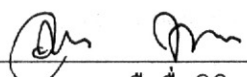
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)

พ.ศ. 2551

วิทยา ทรัพย์เย็น 2551: ผลของการบริบูรณ์ต่อปริมาณฟลาโวนอยด์บางชนิดและคุณสมบัติต้านออกซิเดชันในผลหว่า (Syzygium cumini) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร) สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร ประธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบุญย์ สังจานันตกุล, Ph.D 158 หน้า

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกรดฟีนอลิก ฟลาโวนอล และแอนโทไซยานิน ในส่วนเปลือก (skin; S) และเนื้อ (pulp; P) ของผลหว่า (Syzygium cumini) ที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน 5 ช่วงอายุ ด้วยวิธี HPLC กรดฟีนอลิกที่พบคือ กรดพาราคูมาริก (*p*-coumaric) ฟลาโวนอลที่พบคือ ไมริเซติน (myricetin) และควอเซติน (quercetin) และแอนโทไซยานินที่พบคือ เดลฟินิดิน (delphinidin) ไซยานิดิน (cyanidin) และมัลวิดิน (malvidin) โดยสามารถพบกรดพาราคูมาริก ไมริเซติน ควอเซติน และเดลฟินิดินได้ทั้งในเปลือกและเนื้อ เฉพาะไซยานิดินและมัลวิดินเท่านั้นที่พบในเปลือกเพียงอย่างเดียว ปริมาณกรดพาราคูมาริก ควอเซติน เดลฟินิดิน ไซยานิดิน และมัลวิดิน พบมากที่สุดเปลือกช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 5 (S5) มีค่า 10.18, 13.64, 214.68, 7.34 และ 145.91 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ($p < 0.05$) ตามลำดับ ซึ่งในช่วงอายุการบริบูรณ์นี้ เดลฟินิดินในเปลือก (S5) มีปริมาณมากกว่าในเนื้อ (P5) ถึง 13.6 เท่า ไมริเซตินมีค่ามากที่สุด ($p < 0.05$) ในเนื้อที่ช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 1 และ 4 (P1, P4) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 21.38-21.99 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ทั้งนี้ปริมาณกรดฟีนอลิก ฟลาโวนอล และแอนโทไซยานินมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อผลหว่ามีอายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้น ผลหว่าในช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 5 เหมาะแก่การนำมาบริโภคสดและแปรรูป เนื่องจากมีปริมาณและความหลากหลายของฟลาโวนอยด์มากที่สุด

เมื่ออายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้น คุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันของผลหว่า เมื่อวัดด้วยวิธี DPPH พบว่าค่า AE (antiradical efficiency) ในเปลือกและเนื้อมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดย AE มีค่ามากที่สุดเนื้อช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 1 (P1) คือ 0.85 ($p < 0.05$) ในขณะที่อายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้น พบว่าค่า TAC (total antioxidant capacity) ซึ่งวัดด้วยวิธี ORAC เฉพาะในเปลือกมีค่าเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และเป็นไปในทิศทางเดียวกับปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดที่วัดด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และปริมาณแอนโทไซยานินที่วัดด้วยวิธี HPLC ค่า TAC ในเปลือกมีปริมาณมากที่สุดที่ S5 (8.39×10^5 ไมโครกรัม Trolox/100 กรัม น้ำหนักแห้ง) การเปลี่ยนแปลงค่า TAC ในเนื้อมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของค่า AE ($r=0.903$) โดยค่า TAC สูงสุดที่ P1 (8.77×10^5 ไมโครกรัม Trolox/100 กรัม น้ำหนักแห้ง) ผลการศึกษาแสดงว่าผลหว่ามีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชันมากกว่าสตอร์เบอร์ และบลูเบอร์ที่มีในรายงานวิจัยต่างๆ นอกจากผลหว่าจะมีศักยภาพในการนำไปบริโภคสดแล้ว ยังสามารถนำไปผลิตเป็นอาหารเพื่อสุขภาพหรือนำสารสกัดไปใช้ในอุตสาหกรรมยา


ลายมือชื่อนิสิต

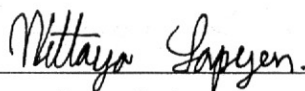

ลายมือชื่อประธานกรรมการ

5 / ธ.ค. / 2551

Wittaya Sapyen 2008: Effect of Maturation on Quantity of some Flavonoids and Antioxidant Properties in Jambolan (*Syzygium cumini*). Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Assistant Professor Tanaboon Sajjaanantakul, Ph.D 158 pages.

Changes of phenolic acid, flavonol and anthocyanidin in the skin and pulp of Jambolan (*Syzygium cumini*) from 5 different stages of maturity were analysed by HPLC. Phenolic acid group found in jambolan was *p*-coumaric. For flavonol compound, myricetin and quercetin were found. For anthocyanidin compound were found delphinidin, cyanidin and malvidin. *p*-coumaric acid, myricetin, quercetin and delphinidin were both found in the skin and pulp of jambolan but cyanidin and malvidin were only found in the skin. The highest content in the skin at maturity stage 5 were found *p*-coumaric acid, quercetin, delphinidin, cyanidin and malvidin were 10.18, 13.64, 214.68, 7.34 and 145.91 mg/ 100 g dry weight (DW) ($p < 0.05$) respectively. Delphinidin content in the stage 5 (S5) was 13.6 times higher than that in the pulp. The highest value of myricetin was 21.38 mg/ 100 g DW. ($p < 0.05$) at pulp's stage 4. Cyanidin and malvidin could not be found in pulp and skin's stage 1 to 3. The *p*-coumaric, quercetin, delphinidin, cyanidin and malvidin were increased when the fruit ripened. Jambolan at stage 5 had the highest flavonoid content most suitable for fresh consumption and processing.

As the maturity of jambolan increased The antiradical efficiency (AE) in the skin and pulp were decreased significantly ($p < 0.05$) where the highest value was found at maturity stage 1 (P1) as 0.85 ($p < 0.05$). Only in the skin the total antioxidant capacity (TAC) as measure by ORAC method increased significantly ($p < 0.05$) which was in the agreement with total monomeric anthocyanin content (by spectrophotometric) and anthocyanidin content (by HPLC). The highest TAC in the skin was found at maturity stage 5 (8.39×10^5 microgram Trolox/100 g dry weight). Changes of TAC in the pulp was correlated with the AE ($r = 0.903$). The highest TAC in the pulp was found at maturity stage 1 (8.77×10^5 microgram Trolox/100 g Dry weight). As a result jambolan exhibited higher antioxidant capacity than reported strawberry and blueberry not only for fresh consumption but also for functional health food and pharmaceutical.



Student's signature



Thesis Advisor's signature

5 / June / 2008

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนะบุญย์ สัจจาอนันตกุล ประธานกรรมการที่ปรึกษาเป็นอย่างสูง ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำทั้งในส่วนของการเรียนและงานวิจัยและแนวทางการดำเนินชีวิต รวมถึงให้คำปรึกษา และสละเวลาตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้เสร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ปาริฉัตร หงสประภาส กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภกมน จิตประเสริฐ กรรมการที่ปรึกษาวิชาการ และ อาจารย์ธนโชติ บุญวรโชติ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่ให้คำปรึกษาและแนวทางแก้ไขให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยดี

พร้อมกันนี้ขอกราบขอบพระคุณคุณครู และคณาจารย์ทุกท่านที่อบรมสั่งสอนตั้งแต่เด็ก และขอขอบพระคุณ โครงการพัฒนานักศึกษาด้านจิตศึกษาและวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่กรุณาให้ทุนสนับสนุนงานวิจัย และขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่ให้ทุนอุดหนุนและส่งเสริมวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร เจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตร เจ้าหน้าที่ห้องสมุดคณะอุตสาหกรรมเกษตร ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ และคำปรึกษาต่าง ๆ เกี่ยวกับเครื่องมือ และข้อมูลที่ใช้ในการทำวิจัย ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ นิสิตปริญญาโทและเอก สาขาวิทยาศาสตร์การอาหารทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลืออย่างมากตลอดช่วงระยะเวลาของการศึกษาและทำวิจัย และเป็นกำลังใจเสมอมา

ท้ายที่สุดนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และญาติผู้ใหญ่ทุกท่าน ที่ให้การอบรมสั่งสอนเสมอมา ขอขอบคุณสมาชิกในครอบครัว รวมถึงเพื่อน ๆ ทุกคน ที่มอบแรงกายแรงใจให้การสนับสนุน ให้คำปรึกษา และเป็นกำลังใจที่ดีตลอดระยะเวลาการศึกษาและการทำวิจัย จนสำเร็จลุล่วงถึงวันนี้

วิทยา ทรัพย์เย็น

เมษายน 2551

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
หัว	4
สารประกอบพีนอล	11
การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบพีนอล	30
สารต้านออกซิเดชัน	35
อุปกรณ์และวิธีการ	42
อุปกรณ์	42
วิธีการ	47
ผลและวิจารณ์	59
ลักษณะทางเคมีและกายภาพของผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน	59
สารประกอบพีนอลในผลหว่า	69
คุณสมบัติต้านออกซิเดชันของผลหว่าเมื่ออายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน	91
ข้อเสนอแนะและแนวทางการประยุกต์ใช้ประโยชน์จากผลหว่า	102
สรุป	105
เอกสารอ้างอิง	108
ภาคผนวก	119
ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์ทางเคมี	120
ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชัน	135
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	146
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	158

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณสารอาหารในผลหว่าส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม ในหนึ่งหน่วยบริโภค	10
2	การแบ่งชนิดของสารประกอบฟีนอล	12
3	การจัดกลุ่มฟลาโวนอยด์ตามลักษณะโครงสร้างบนวง C	20
4	แหล่งที่พบฟลาโวนอยด์ชนิดต่าง ๆ	21
5	การแบ่งชนิดของฟลาโวนอล	23
6	การแบ่งชนิดของแอนโธไซยานิดิน	24
7	สถานะในการสกัดสารประกอบฟีนอล ในผักผลไม้ต่าง ๆ	31
8	ความยาวคลื่นที่ใช้ในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์	34
9	อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชัน	36
10	สัดส่วนของภูมิภาคเคลื่อนที่ และอัตราเร็วในการไหล ในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน	52
11	ชนิดของสารประกอบฟีนอลและความยาวคลื่นที่ใช้ใน HPLC	53
12	อัตราส่วนเนื้อต่อเมล็ดของตัวอย่างผลหว่า W1-W5	62
13	ค่า L C H ของผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน	63
14	ค่า TSS/TA ในผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน	67
15	ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของผล น้ำหนัก ความหนาของเนื้อ เส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ด light, chroma, TA และ TSS/TA	68
16	ค่าร้อยละ yield ของตัวอย่างผลหว่าที่ผ่านการทำแห้ง	69
17	ปริมาณกรดพาราควมริกที่พบในผลไม้	73
18	ปริมาณไนริเซดินและควอเซตินที่พบในผักและผลไม้	78
19	ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลบางชนิดที่ วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC และวิธีทางสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ในเปลือกผลหว่า	89
20	ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลบางชนิดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC และวิธีทางสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ในเนื้อผลหว่า	90
21	ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Antiradical Efficiency, AE) ในเปลือกผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน	92
22	ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Antiradical Efficiency, AE) ในเนื้อผล หว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน	92

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
23	ค่า L-ORAC, H-ORAC และ TAC ที่วัดด้วยวิธี ORAC ในเปลือกผลหว่า	94
24	ค่า L-ORAC, H-ORAC และ TAC ที่วัดด้วยวิธี ORAC ในเนื้อผลหว่า	94
25	ค่า AE เมื่อวัดด้วยวิธี DPPH และค่า TAC เมื่อวัดด้วยวิธี ORAC ของเนื้อผลหว่าช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 1 เปรียบเทียบกับผักและผลไม้ชนิดอื่น	95
26	ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพด้านออกซิเดชัน และปริมาณของสารประกอบฟีนอลที่วิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ในเปลือกผลหว่าที่ช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน	100
27	ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพด้านออกซิเดชัน และปริมาณของสารประกอบฟีนอลที่วิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ในเนื้อผลหว่าที่ช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน	100
28	สารประกอบฟีนอลที่พบในส่วนเปลือกและเนื้อ ที่พบในช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน 5 ช่วงอายุการบริบูรณ์	103
22	ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Antiradical Efficiency, AE) ในเนื้อผล หว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน	92

ตารางผนวกที่

ก1	ปริมาณสารประกอบฟีนอลที่พบในส่วนเปลือกของผลหว่า	129
ก2	ปริมาณสารประกอบฟีนอลที่พบในส่วนเนื้อของผลหว่า	129
ค1	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของขนาดผลหว่า W1-W5	147
ค2	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักผลหว่า W1-W5	147
ค3	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติความหนาของเนื้อผลหว่า W1-W5	147
ค4	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ดหว่า W1-W5	148
ค5	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติอัตราส่วนระหว่างความหนาของเนื้อและเส้นผ่าน ศูนย์กลางของเมล็ด ในตัวอย่างผลหว่า W1-W5	148
ค6	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติความชื้นของผลหว่า W1-W5	148
ค7	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า Light ของผลหว่า W1-W5	149

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ค8 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า Chroma ของผลหว่า W1-W5	149
ค9 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า Hue angle ของผลหว่า W1-W5	149
ค10 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ pH ของผลหว่า W1-W5	150
ค11 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณกรดที่ไคเตรตได้ของผลหว่า W1-W5	150
ค12 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณกรดพาราควาริกในเปลือกผลหว่า	150
ค13 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณกรดพาราควาริกในเนื้อผลหว่า	151
ค14 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไนริเซตินในเปลือกผลหว่า	151
ค15 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไนริเซตินในเนื้อผลหว่า	151
ค16 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณควอเซตินในเปลือกผลหว่า	152
ค17 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณควอเซตินในเนื้อผลหว่า	152
ค18 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณพื้นที่กราฟ HPLC ในเปลือกผลหว่า	152
ค19 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณแคลฟิโนดินในเปลือกผลหว่า	153
ค20 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณแคลฟิโนดินในเนื้อผลหว่า	153
ค21 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไซยานิดินในเปลือกผลหว่า	153
ค22 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณมัลลิวินินในเปลือกผลหว่า	154
ค23 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือกผลหว่า	154
ค24 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเนื้อผลหว่า	154
ค25 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณฟลาโวนอยด์ในเปลือกผลหว่า	155
ค26 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณฟลาโวนอยด์ในเนื้อผลหว่า	155
ค27 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณโมโนเมอริกแอนโทไซยานินในเปลือกผลหว่า	155
ค28 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า AE ในเปลือกผลหว่า	156
ค29 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า AE ในเนื้อผลหว่า	156
ค30 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า H-ORAC ในเปลือกผลหว่า	156
ค31 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า L-ORAC ในเปลือกผลหว่า	157
ค32 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า H-ORAC ในเนื้อผลหว่า	157

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 การพัฒนาผลหว่าจากดอกตูมผล	6
2 การสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลซึ่งเกิดจากสารตั้งต้นในกระบวนการ Shikimate	13
3 ระบบการเรียกชื่อสำหรับสารประกอบฟีนอล ที่มีหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ กัน	14
4 โครงสร้างของกรดไฮดรอกซีเบนโซอิกและอนุพันธ์ <i>p</i> -hydroxybenzoic acid	15
5 โครงสร้างของกรดไฮดรอกซีซินนามิกและอนุพันธ์ ซึ่งเป็นโครงสร้าง C6 - C3	16
6 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์	17
7 การสังเคราะห์สารกลุ่มฟลาโวนอยด์จากสารตั้งต้นฟีนิลอะลานีน	19
8 ชนิดของโครงสร้างวง heterocycle บนวง C ของฟลาโวนอยด์ ประกอบด้วยโครงสร้าง pyran (A), pyrilium (B), pyrone (C)	20
9 โครงสร้างของฟลาโวนอล	22
10 โครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานิดิน	23
11 การเกิด delocalization ในฟลาโวนอล (A) และในฟีนอล (B)	25
12 การเกิด metal cation chelating ที่ตำแหน่ง <i>o</i> -diphenol ของ cyanidin 3,5-diglucoside (A), <i>o</i> -dihydroxy phenols (B), 3-hydroxychromones (C), 5-hydroxychromones (E),และ <i>o</i> -hydroxycarbonyls (F)	27
13 พันธะไฮโดรเจนและพันธะโคเวเลนต์ของฟีนอล	28
14 กราฟการลดลงของความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพันธ์กับตัวอย่างและสารมาตรฐาน	39
15 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH	41
16 สีและขนาดของผลหว่า 5 ช่วงอายุการบริบูรณ์ จากกลุ่มที่ 5 (ซ้าย) ถึงกลุ่มที่ 1 (ขวา)	48
17 ส่วนประกอบของผลหว่ากลุ่มที่ 4	50
18 อายุของผลหว่า 5 ช่วงอายุการบริบูรณ์	60
19 ค่า Hue angle และ Chroma (Q1 = quadrant 1 มีเฉดสีแดง-เหลือง, Q2 = quadrant 2 มีเฉดสีเหลือง-เขียว, Q3 = quadrant 3 มีเฉดสีเขียว-น้ำเงิน, Q4 = quadrant 4 มีเฉดสีน้ำเงิน-แดง)	64

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
20 ลักษณะสีและขนาดของผลหว่า 5 ช่วงอายุการบริบูรณ์ (จากบนลงล่าง W1- W5)	65
20 โครมาโตแกรมของกรดพาราควมาริกที่พบในผลหว่า	71
21 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดพาราควมาริกในระหว่างกระบวนการสุก	72
22 โครมาโตแกรมของฟลาโวนอล RT 21.748 = ไมริเซติน และ RT 26.782 = ควอเซติน	74
23 การเปลี่ยนแปลงของไมริเซตินที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน	75
24 การเปลี่ยนแปลงของควอเซตินที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน	77
25 โครมาโตแกรมของ เคลฟีนิดิน (RT = 17.642) ไชยานิดิน (RT = 20.966) Unknown (RT = 22.916) และ มัลลิวิดิน (RT = 26.944)	79
26 ปริมาณแอนโธไซยานิดินที่พบในส่วนเปลือกของผลหว่า	82
27 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่พบในส่วนเปลือกและเนื้อของผลหว่า	84
28 ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่พบในส่วนเปลือกและเนื้อของผลหว่า	85
29 ปริมาณโมโนเมอร์แอนโธไซยานินที่พบในส่วนเปลือกและเนื้อของผลหว่า	87
30 โครมาโตแกรมเนื้อผลหว่า 5 ช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 330 นาโนเมตร (บนลงล่าง P1-P5)	97
31 โครมาโตแกรมเปลือกผลหว่า 5 ช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 330 นาโนเมตร (บนลงล่าง S1-S5)	98

ภาพผนวกที่

ก1 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานผสมกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอล	125
ก2 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานผสมแอนโธไซยานิดิน	125
ก3 กราฟมาตรฐานของกรดพาราควมาริก	126
ก4 กราฟมาตรฐานของไมริเซติน	126
ก5 กราฟมาตรฐานของควอเซติน	127
ก6 กราฟมาตรฐานของเคลฟีนิดิน	127
ก7 กราฟมาตรฐานของไชยานิดิน	128

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
ก8 กราฟมาตรฐานของมัลลิติน	128
ก9 กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร และความเข้มข้นของกรดแกลลิก	
ก10 กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และความเข้มข้นของเคทเทกิน	133
ข1 กราฟมาตรฐานระหว่าง % radical scavenging activity กับความเข้มข้นของสาร สกัดจากเปลือกผลหว่าช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 1	138
ข2 กราฟมาตรฐานระหว่าง % radical scavenging activity กับความเข้มข้นของสาร สกัดจากเนื้อผลหว่าช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 1	139
ข3 กราฟมาตรฐานของส่วนชอบไขมัน	144
ข4 กราฟมาตรฐานของส่วนชอบน้ำ	145

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

PPO	=	Polyphenoloxidase
POD	=	Peroxidase
ROS	=	Reactive oxygen species
RNS	=	Reactive nitrogen species
$O_2^{\bullet -}$	=	Superoxide radical
H_2O_2	=	Hydrogen peroxide
$HO^{\bullet}$	=	Hydroxyl radical
HOCl	=	Hypochlorous acid
$ROO^{\bullet}$	=	Peroxyl radical
1O_2	=	Singlet oxygen
$ONOO^-$	=	Peroxyl nitrite
ORAC	=	Oxygen radical absorbance capacity assay
DPPH	=	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay
TRAP	=	Total r trapping antioxidant parameter assay
TEAC	=	Trolox equivalent antioxidant capacity assay
ABTS	=	2,2-azonobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate) assay
FRAP	=	Ferric ion reducing antioxidant power assay
AAPH	=	2',2'-Azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride
RMCD	=	Randomly methylated betacyclodextrin
B-PE	=	B-phycoerythrin
AE	=	Antiradical efficiency
L-ORAC	=	ORAC value of lipophilic phase
H-ORAC	=	ORAC value of hydrophilic phase
TAC	=	Total antioxidant capacity

ผลของการบริบูรณ์ต่อปริมาณฟลาโวนอยด์บางชนิด และคุณสมบัติต้านออกซิเดชันในผลหว่า (*Syzygium cumini*)

Effect of Maturation on Quantity of some Flavonoids and Antioxidant Properties in Jambolan (*Syzygium cumini*)

คำนำ

หว่า (*Syzygium cumini*, *Eugenia jambolana*, *Syzygium jambolanum*) เป็นพืชที่พบได้ทั่วไปในประเทศแถบเอเชียจนถึงแอฟริกา เช่น ไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และอินเดีย เป็นต้น ผลหว่าเมื่อสุกจะมีลักษณะเป็นรูปไข่สีม่วงดำจนถึงดำ ขนาดประมาณ 2 เซนติเมตร มีรสชาติเปรี้ยวอมหวานและรสฝาดเล็กน้อย ในประเทศไทยการใช้ประโยชน์ผลิตภัณฑ์จากหว่ายังไม่เป็นที่แพร่หลาย นิยมบริโภคผลสดกันเฉพาะบางกลุ่ม โดยส่วนใหญ่จะนำมาเลี้ยงผึ้ง หรือปล่อยให้แห้งไว้เป็นอาหารนก อย่างไรก็ตามในปัจจุบันได้เริ่มมีผลิตภัณฑ์ไวน์ที่แปรรูปมาจากผลหว่า แต่ยังไม่มีเป็นที่นิยมของผู้บริโภค นอกจากนี้ยังใช้ผลหว่าในการบำบัดรักษาโรคต่าง ๆ เช่น โรคเบาหวาน โรคปากเปื่อย และรักษาอาการท้องเสีย (คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล, 2543)

ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นสาร secondary metabolite ที่พืชชั้นสูงสร้างขึ้นในการทำหน้าที่ต่าง ๆ พืชได้พัฒนาระบวนการสร้างฟลาโวนอยด์เพื่อช่วยในการปกป้องอันตรายจากรังสีอัลตราไวโอเลต โดยสามารถดูดซับรังสีอัลตราไวโอเลต และเปล่งออกมาเป็นแสงสีต่าง ๆ ของดอกไม้ จึงเป็นสารกลุ่มสำคัญที่ให้สีแก่พืช รวมถึงสีสวยงามของกลีบดอกไม้ ช่วยในเรื่องของการเจริญเติบโต ช่วยในเรื่องป้องกันจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และช่วยในเรื่องการขยายพันธุ์ ซึ่งนอกจากนี้แล้ว ฟลาโวนอยด์ที่พืชสร้างขึ้นยังมีประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิตที่บริโภคพืชเป็นอาหาร ฟลาโวนอยด์เป็นสารกลุ่มใหญ่สามารถพบได้ในผักและผลไม้ทั่วไป แบ่งกลุ่มโดยอาศัยลักษณะโครงสร้าง จำนวนอะตอมในโครงสร้างหลัก และหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ ที่เกิดพันธะกับโครงสร้างหลัก ซึ่งจากลักษณะโครงสร้างและหมู่ฟังก์ชันส่งผลให้สารกลุ่มฟลาโวนอยด์มีคุณสมบัติหลักที่สำคัญคือ การเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) (Rice-evans *et al.*, 1995) นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการช่วยบำบัดรักษาโรคต่าง ๆ เช่น คุณสมบัติป้องกันมะเร็ง ด้านสภาวะน้ำตาลในเลือดสูง ด้านสภาวะอาการอักเสบ ด้านเชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น

ในปัจจุบันฟลาโวนอยด์กำลังได้รับความสนใจศึกษาชนิดของสารที่พบ และคุณสมบัติด้านสุขภาพ ซึ่งงานวิจัยส่วนมากทำในผลไม้จากต่างประเทศ เช่น แอปเปิ้ล องุ่น แครนเบอร์รี่ บลูเบอร์รี่ และเชอร์รี่ เป็นต้น และนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ส่งผลให้มูลค่าการตลาดผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในประเทศไทยสูงถึง 8,441 ล้านบาท (ฐานเศรษฐกิจ, 2551) และมีแนวโน้มในการบริโภคผักและผลไม้จากต่างประเทศมากขึ้น โดยมีมูลค่าการนำเข้าสูงถึง 12,397.33 ล้านบาท ในปี พ.ศ. 2548 และมีอัตราการขยายตัว ร้อยละ 14.76 ในปี พ.ศ. 2549 (14,227.29 ล้านบาท) เมื่อเทียบกับช่วงเดือนมกราคม-ธันวาคม ของปี พ.ศ. 2548 (กระทรวงพาณิชย์, 2551) ในประเทศไทยมีการใช้สมุนไพร ผัก และผลไม้ต่าง ๆ บำบัดรักษาโรคมะเร็ง ซึ่งปรากฏอยู่ในตำราแพทย์แผนไทย เช่น มังคุด กระเจี๊ยบ มะม่วง กระท้อน และหว่า เป็นต้น (คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล, 2543) แต่ขาดการศึกษาทางวิทยาศาสตร์อย่างจริงจัง โดยคุณสมบัติด้านสุขภาพที่ปรากฏอยู่ในตำราแพทย์แผนไทยสอดคล้องกับคุณสมบัติของฟลาโวนอยด์ที่พบในผักและผลไม้ต่างประเทศ จึงเป็นไปได้ว่าผลไม้ไทยหลายชนิด น่าจะมีฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบ โดยเฉพาะหว่าที่มีสีม่วงดำ ซึ่งเป็นสารให้สีในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบในพืช ซึ่งชนิดและปริมาณฟลาโวนอยด์จะแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด และช่วงอายุการบริบูรณ์ อีกทั้งในผลหว่ายังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของฟลาโวนอยด์ที่ช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของฟลาโวนอยด์บางชนิดที่พบในผลหว่าเมื่ออายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้น และกระจายตัวของฟลาโวนอยด์ในส่วนเปลือกและเนื้อของหว่า รวมถึงคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของผลหว่า เมื่ออายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้น การศึกษาดังกล่าวทำให้ทราบถึงชนิดและปริมาณฟลาโวนอยด์บางชนิด และคุณสมบัติการต้านออกซิเดชัน ที่พบในผลหว่าช่วงอายุการบริบูรณ์ต่าง ๆ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษา และการเลือกช่วงอายุการบริบูรณ์เพื่อใช้ประโยชน์จากผลหว่าให้ได้ประโยชน์สูงสุด ทั้งในการบริโภคสดหรือแปรรูป เช่น การนำผลหว่าไปผลิตสารให้สีม่วงกลุ่มแอนโทไซยานิน การแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางค์ต้านออกซิเดชัน และอาจช่วยชักจูงผู้บริโภคให้หันมาสนใจผลิตภัณฑ์จากผลหว่ามากขึ้น มีการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ก่อให้เกิดรายได้แก่เกษตรกร จากที่เพียงแต่ปลูกเพื่อให้ร่มเงา และเลี้ยงผึ้ง นอกจากนี้ยังอาจช่วยลดการนำเข้าผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและผลไม้จากต่างประเทศ และสามารถพัฒนาเป็นผลไม้ส่งออกอีกชนิดหนึ่งของประเทศไทย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของอายุการบริบูรณ์ต่อการเปลี่ยนแปลงของฟลาโวนอยด์บางชนิด กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอลและแอนโทไซยานินในส่วนเปลือกและส่วนของผลหว่า
2. เพื่อศึกษาผลของอายุการบริบูรณ์ต่อคุณสมบัติด้านออกซิเดชันในเปลือกและเนื้อของผลหว่า

การตรวจเอกสาร

หว่า

หว่า มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Syzygium cumini* Skeels ชื่อพ้อง *S. jambolanum* DC., *Eugenia cumini* Druce, *E. jambolana* Lam., *E. djouat* Perr., *Myrtus cumini* L. และ *Calyptranthes jambolana* Willd จัดอยู่ในวงศ์ Myrtaceae หรือพืชในวงศ์ไม้ชมพู ซึ่งพืชวงศ์นี้ได้รับความสนใจในเรื่องคุณสมบัติทางยามากกว่าการรับประทานผลสุก หว่ามีชื่อเรียกต่าง ๆ กันไปในแต่ละพื้นที่ และถิ่นกำเนิด ในประเทศไทยนิยมเรียก หว่า หรือมะหว่า หรือห้าจี๊พะ ส่วนในประเทศอื่นจะเรียกชื่อต่าง ๆ กันไปดังนี้ เช่น black plum (English), damson plum (Jamaica), djoowet (Java), doowet (Java), druif (Surinam), duhat (Guam), duhat (Philippines), faux-pistachier (French), guayabo pesjua (Venezuela), indian blackberry (Jamaica), jalao (Brazil), jaman (India/Malaya), jambhool (India/Malaya), jamblang (India/Malaya), jambol (Brazil), jambolan plum (English), jambolanier (French), jambool (India/Malaya), jambu (India/Malaya), jambul (India/Malaya), jambulao (Brazil), jamelao (Brazil), jamelong (India/Malaya), jamelongue (India/Malaya), jamélongue (French), jamelonguier (New Caledonia), jamelon-guier (French), jammun (Fiji), jamoen (Surinam), Java plum (English), jiwat (India/Malaya), Ka'ika (Cook Islands), kavika ni India (Fiji), koeli (Surinam), koriang (India/Malaya), lomboy (Philippines), lunaboy (Philippines), Malabar plum (English), mesegerak (Palau), mesekerrak (Palau), mesekerrák (Palau), mesigerak (Palau), paramu (Cook Islands (Aitutaki)), pesjua extranjera (Venezuela), pistati (Cook Islands), Portuguese plum (English), pring bai (Cambodia), pring das krebey (Cambodia), purple plum (English), salam (India/Malaya), va (Laos), voi rung (Vietnam) (Morton, 1987; Singh, 1980; USDA, 1999)

1. ถิ่นกำเนิด

หว่า มีถิ่นกำเนิดในแถบประเทศอินเดีย พม่า ศรีลังกา และหมู่เกาะอันดามัน เมล็ดหว่าได้แพร่กระจายไปยังประเทศต่าง ๆ โดยติดไปกับมูลของนก และการนำมาเมล็ดไปเพาะปลูก ซึ่งแพร่กระจายในแถบประเทศมาลาเยรวมทั้งประเทศไทย ฟิลิปปินส์ ฮาวาย อเมริกา จาไมกา บราซิล แอฟริกา และออสเตรเลีย ในประเทศแถบเอเชียใต้ หว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับพุทธประวัติในศาสนาพุทธและฮินดู จึงมักพบต้นหว่าอยู่ในบริเวณวัด พันธุ์ (varieties) หว่าที่พบโดยทั่วไปในอินเดียคือ Ra Jaman ซึ่งมีผลใหญ่

ลักษณะรูปทรงยาวรี สีม่วงดำ หรือน้ำเงินส่วนเนื้อมีสีชมพู รสชาติหวาน เมล็ดเล็ก และพันธุ์ Kaatha ซึ่งมีผลเล็กรูปทรงยาวรี รสชาติค่อนข้างเปรี้ยว (Morton, 1987; Singh, 1980; USDA, 1999)

2. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

หว่า เป็นไม้ยืนต้น ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด สูงประมาณ 15 - 30 เมตร ทรงพุ่มครึ่งวงกลม ส่วนเปลือกไม้เรียบสีเหลืองหรือส่วนเปลือกไม้จะแตกออกเป็นรูปเหลี่ยมสีเทา ในต้นที่มีอายุน้อย ใบ เป็นใบเดี่ยว (simple-leaf) ออกตรงข้าม (opposite) แผ่นใบ (blade) เป็นรูปรี (elliptic) หรือรูปไข่กลับ (obovate-oblong) ปลายแหลมเป็นติ่ง (acute-caudate) โคนใบสอบเรียวถึงโค้งมน (acute-obtuse) ลักษณะคล้ายแผ่นหนังเป็นมันวาว มีสีค่อนข้างแดงในช่วงผลิบาน และเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มเมื่อใบมีอายุมากขึ้น เส้นกลางใบมีสีเหลือง โดยทั่วไปใบหว่าจะมีขนาดกว้างประมาณ 2.5 – 10 เซนติเมตร และความยาวประมาณ 5 – 25 เซนติเมตร ดอก มีรูปร่างได้สัดส่วนสมดุล สีขาว เป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) ออกดอกที่ปลายยอด และช่อใบ มีลักษณะเป็นช่อดอก (inflorescence flower) ก้านดอกสั้นหรือไม่มีก้านดอก (sub sessile flower, sessile flower) หลอดกลีบเลี้ยง (calyx tube) เป็นรูปทรงกรวย (funnel-form) ในหนึ่งช่อดอกประกอบด้วยกลุ่มช่อย่อยหลายช่อ ในช่อย่อยหนึ่ง ๆ มีดอกขนาดเล็กหลายดอกอัดกันแน่นมีลักษณะเป็นช่อกระจุก (cyme) ดอกที่อยู่ตรงกลางจะบานก่อนดอกรอบข้าง มีเกสรตัวผู้จำนวนมากอยู่บนก้านเกสรที่เกาะติดอยู่กับส่วนของกลีบเลี้ยง มีรังไข่อยู่ใต้วงกลีบ (interior ovary) ผล เป็นผลเดี่ยว ส่วนเนื้อผลจะมีน้ำเป็นองค์ประกอบมาก ส่วนเปลือกผลบาง ผิวเป็นมันเงา มีสีม่วงถึงน้ำเงินดำ ส่วนเนื้อผลสีขาวใส โดยมีเส้นสีม่วงแทรกเป็นร่างแหอยู่ในส่วนเนื้อผล ลักษณะผลเป็นทรงรี หรือ ทรงกลม มีขนาดตั้งแต่ 1 - 2 x 2 - 2.5 เซนติเมตร ขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์หว่า เมล็ด รูปรีมีขนาดใหญ่ประมาณ 1 x 1.6 เซนติเมตร แข็ง ส่วนเนื้อเยื่อมีลักษณะเบียดอัดตัวกันแน่นสองถึงห้าซีก มีส่วนเปลือกหุ้มเมล็ดสีเหลืองนวล (Morton, 1987; Singh, 1980; ปรีชา, 2535; สมบุญ, 2548)

3. การพัฒนาผล

ผลหว่าพัฒนามาจากดอก ซึ่งออกเป็นกลุ่ม ประมาณกลุ่มละ 10-40 ผล ลักษณะยาวรี ขนาดประมาณ 1-2 x 2.5-5 เซนติเมตรในผลสุก มีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพและเคมีภายในผล ซึ่งฤดูกาลที่ออกผลจะแตกต่างกันไปตามแต่ละภูมิประเทศ ในภูมิภาคอื่น ๆ เช่น หมู่เกาะ Marquesas จะติดผลช่วงเดือนเมษายน ในประเทศฟิลิปปินส์ ติดผลช่วง กลางเดือนพฤษภาคมจนถึงกลางเดือนมิถุนายน แถบหมู่เกาะชาว เริ่มออกดอกตั้งแต่ช่วงเดือนกรกฎาคมถึงสิงหาคม และติดผลช่วงเดือน พฤศจิกายนถึงเดือนธันวาคม ส่วนในประเทศไทยเริ่มออกดอก (ภาพที่ 1 A) ในช่วงเดือนธันวาคม – มกราคม ดอกเริ่มร่วงและเริ่มพัฒนาผลโดยมีสีเขียวขนาดเล็กประมาณ 0.2 x 0.5 เซนติเมตร (ภาพที่ 1 B) ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึง

เดือนมีนาคม ผลเจริญเติบโตเต็มที่ (ภาพที่ 1 C) ราวเดือนเมษายนถึงเดือนพฤษภาคม โดยมีขนาดเพิ่มมากขึ้นและมีการสร้างสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตและกลุ่ม Secondary metabolite เช่น กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอล และน้ำมันหอมระเหย เมื่อผลสุกจะมีการสลายของคลอโรฟิลล์ และสร้างสารกลุ่มแอนโทไซยานิน สีจะเริ่มเปลี่ยนแปลงจากสีเขียวไปเป็นสีแดงอ่อน ม่วงแดง และสีม่วงดำจนถึงดำเมื่อสุก (ภาพที่ 1 D) หรืออาจมีสีขาวในบางสายพันธุ์ที่พบในประเทศอินโดนีเซีย ในผลสุกส่วนเปลือก (skin) มีลักษณะเรียบบางเป็นมันเงาติดแน่นกับผล ส่วนเนื้อ (pulp) สีม่วงหรือสีขาว ฉ่ำน้ำ มีร่างแหสีม่วงแทรกอยู่ ลักษณะเป็นชั้นเดียว ห่อหุ้มเมล็ด โดยเมล็ดมีรูปร่างรี สีเขียวหรือสีน้ำตาล ประมาณ 2-5 เมล็ดหรืออาจไม่พบเมล็ดเลยในบางสายพันธุ์ ในผลหว่าที่มีคุณภาพและขนาดพอเหมาะ จะมีรสชาติเปรี้ยวอมหวาน ฝาดเล็กน้อย แต่ในบางสายพันธุ์ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เนื่องจากมีรสฝาดมากเกินไป (Morton, 1987; Singh, 1980; ปรีชา, 2535; สมบุญ, 2548)



ภาพที่ 1 การพัฒนาผลหว่าจากดอกสู่ผล A ภาพดอกหว่ามีลักษณะเป็นช่อดอก (inflorescence) ก้านดอกสั้น (sub sessile flower) และหลอดกลีบเลี้ยง (calyx tube) เป็นรูปทรงกรวย (funnel-form) (B) ภาพผลหว่าเมื่อเริ่มพัฒนาและเริ่มต้นกระบวนการพัฒนาเป็นผลโดย 1 ดอกจะพัฒนาเป็น 1 ผล (C) ภาพผลกลุ่มผลหว่าที่พัฒนาเป็นผลสีเขียว (D) ภาพกลุ่มผลหว่าที่กำลังเริ่มสุก

4. การใช้ประโยชน์และคุณสมบัติต่าง ๆ ของหว่า

หว่านอกจากการรับประทานในรูปผลสดแล้ว ยังแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ เช่น น้ำส้มสายชูหมัก น้ำผลไม้ ไวน์ แยม เจลลี่ ใช้เป็นส่วนประกอบในการทำสบู่และน้ำหอม และปลูกไว้เพื่อเลี้ยงผึ้ง นอกจากนี้ ส่วนต่าง ๆ ของต้นหว่ายังมีสรรพคุณทางยา ที่สามารถนำไปบำบัดรักษาโรคต่าง ๆ

4.1 ใบ (Leaf)

ในประเทศอินเดียใช้ใบหว่าเป็นอาหารในการเลี้ยงหนอนไหม และในประเทศทางหมู่เกาะตะวันออกของแอฟริกา Zanzibar และ Pemba ชาวพื้นเมืองจะใช้ใบอ่อนในการทำมาสะอาดพื้น ส่วนประกอบในใบประกอบด้วย โปรตีนร้อยละ 9.1 ไขมันร้อยละ 4.3 เยื่อใยร้อยละ 17 เถ้า ร้อยละ 16 แคลเซียมร้อยละ 1.3 ฟอสฟอรัสร้อยละ 0.19 และ น้ำมันหอมระเหย นอกจากนี้ใบหว่ายังพบแทนนินในปริมาณสูงร้อยละ 12-13 ของน้ำหนักแห้ง และพบเอนไซม์ที่เชื่อว่ามีส่วนในการสังเคราะห์แทนนิน เอนไซม์ esterase และ galloyl carboxylase (Morton, 1987; Singh, 1980) สารประกอบฟีนอลชนิดอื่นที่พบในใบหว่าซึ่งรายงานโดย Mahmoud *et al.* (2001) ประกอบด้วย 15 โครงสร้างที่เคยค้นพบแล้ว คือ gallic acid, methylgallate, kaempferol, myricetin, ellagic acid, 3-O-methylgallate, myricetin 3-O-(4''-O-acetyl)- α -L-rhamnopyranoside (myricetrin 4''-O-acetate), myricetin 4'-methyl ether 3-O- α -L-rhamnopyranoside, myricetrin, chlorogenic acid, quercetrin 4''-O-acetate, quercetin 3-O- α -L-rhamnopyranoside (quercetin), kaempferol 3-O- β -D-glucuronopyranoside, myricetin 3-O- β -D-glucuronopyranoside, ellagitannin, nilocitin และพบโครงสร้างใหม่ 2 ชนิดคือ mearnssetin 3-O-(4''-O-acetyl)- α -L-rhamnopyranoside และ myricetrin 4''-O-acetyl-2''-O-gallate และในปี 2002 Timbola *et al.* พบอีก 1 โครงสร้างคือ myricetin 3-O-(4''-acetyl)- α -L-rhamnopyranoside.

สารสกัดจากใบหว่ามีคุณสมบัติทางยา คือ ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด ช่วยในการละลายของนิ่ว และช่วยลดการทำลาย DNA เนื่องมาจากรังสีแกมมา โดยในงานวิจัยของ Teixeira *et al.* (1997; 2000) พบว่าชาที่สกัดจากใบของต้นหว่าพันธุ์ที่พบในบราซิล สามารถช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวานชนิดร่างกายยังผลิตอินซูลิน (type 2 diabetes) แต่ไม่สามารถช่วยยับยั้งภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemic) ในหนูปกติและหนูที่เป็นเบาหวานด้วยการเหนี่ยวนำของ Streptozotocin และในผู้ป่วยที่เป็นเบาหวานชนิด ร่างกายไม่ผลิตอินซูลิน (type 1 diabetes) งานวิจัยของ Das *et al.* (2005) พบว่า สารสกัดด้วยน้ำกลั่นจากใบหว่า ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 3 (v/v) สามารถช่วยละลายนิ่วในหลอดทดลองที่นำออกมาจากผู้ป่วยได้ งานวิจัยของ Jageia และ Baliga (2002) พบว่าสารสกัดจากใบหว่าที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทนและ

เมทานอล (1:1) ที่ความเข้มข้น 25-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดความเสียหายของ DNA ส่วนรอบนอกเซลล์เม็ดเลือดขาวจากการทำลายของรังสีแกมมาปริมาณ 3 เกรย์ ซึ่งเซลล์เม็ดเลือดขาวถูกเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง และผ่านการฉายรังสีแกมมาเป็นเวลา 5 นาที

4.2 เปลือกไม้ (Bark)

สารสกัดจากส่วนเปลือกมีสีน้ำตาลคงทนมีส่วนประกอบของแทนนินประมาณประมาณร้อยละ 8-19 เนื่องจากมีแทนนินเป็นส่วนประกอบสามารถใช้เป็นสารย้อมสีผ้าและใช้ในกระบวนการฟอกหนัง (tanning) หรือเคลือบแทนที่ใช้ในการประมง (Morton, 1987; Singh, 1980) นอกจากนี้ส่วนเปลือกไม้ห้วยยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ในงานวิจัยของ Djipa *et al.* (2000) พบว่าสารสกัดจากส่วนเปลือกห้วยที่สกัดด้วยอะซิโตนและน้ำ มีส่วนประกอบของแทนนินปริมาณ 83 และ 77% ตามลำดับสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* และเชื้อ *staphylococci* ชนิดไม่สร้าง coagulase เช่น *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus cohnii* และ *Staphylococcus warneri* และในงานวิจัยของ Murugannandan *et al.* (2001) พบว่าสารสกัดจากส่วนเปลือกห้วยที่สกัดด้วย เอทานอลร้อยละ 70 สามารถยับยั้งการอักเสบที่เกิดขึ้นในหนูทดลองได้ทั้งการอักเสบชนิดเฉียบพลัน ซึ่งกระตุ้นด้วยสาร carrageenin การอักเสบที่เป็นไปอย่างช้าซึ่งกระตุ้นด้วย formaldehyde และ kaolin-carrageenin และการอักเสบแบบเรื้อรังซึ่งกระตุ้นด้วยการฝังสำลีไว้ใต้ผิวหนัง หนูทดลอง โดยสามารถใช้สารละลายที่สกัดได้ถึง 10.125 กรัม / น้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม โดยไม่พบความเป็นพิษเกิดขึ้น

4.3 เมล็ด (Seed)

เมล็ดมีองค์ประกอบคือ โปรตีนร้อยละ 6.3-8.5 ไขมันร้อยละ 1.18 เชื้อไขร้อยละ 16.9 เถ้าร้อยละ 21.72 แคลเซียมร้อยละ 0.41 ฟอสฟอรัสร้อยละ 0.17 แป้งร้อยละ 41 เดกซ์ทรินร้อยละ 6.1 แทนนินร้อยละ 6-19 สเตอรอลเล็กน้อย และกรดไขมัน (palmitic, stearic, oleic และ linoleic) นอกจากนี้ยังพบสารประกอบฟีนอลอีก 34 ชนิด และสารประเภท อัลคาลอยด์ (alkaloid) คือ jambosine และไกลโคไซด์ของ jambosine คือ jambolin หรือ antimellin (Morton, 1987) และในงานวิจัยของ Martin *et al.* (1998) รายงานการพบสาร lignan คือ medioresinol 4''-O-β-glucoside, (+)-pinoresinol O-β-glucoside, (+)-syringaresinol O-β-glucoside, dihydro dehydrodiconiferyl alcohol 4'-O-β-glucoside และ 5-(hydroxymethyl)furfural

คุณสมบัติต่าง ๆ ที่พบจากสารสกัดเมล็ดหว่าในงานวิจัยต่าง ๆ ดังนี้คือ ในงานวิจัยของ Chandrasekaran และ Venkatesalu (2004) พบว่าสารสกัดจากเมล็ดหว่า ที่สกัดโดยใช้ น้ำ และเมทานอล สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา และแบคทีเรีย โดยยับยั้งเชื้อราได้ดีกว่าแบคทีเรีย และป้องกันแบคทีเรีย แกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ ในงานวิจัยของ Al-Zaid *et al.* (1991) พบว่าสารสกัดจากเมล็ดหว่า สามารถยับยั้งภาวะน้ำตาลในเลือดสูงและไม่ส่งผลกระทบต่อร่างกายหนู ซึ่งทดลองในหนูที่ถูกทำให้เป็น เบาหวาน โดยการเหนี่ยวนำด้วย Streptozotocin และในงานวิจัยของ Prince *et al.* (2003) พบว่าสารสกัดจากเมล็ดหว่าที่สกัดโดยใช้เอทานอล และน้ำสามารถลดความเสียหายของส่วนเนื้อเยื่อสมองหนู ที่เป็น โรคเบาหวาน โดยสารสกัดจากเอทานอลลดความเสียหายได้ดีที่สุด และสารสกัดทั้งสองส่วน สามารถลดความเสียหายของส่วนเนื้อเยื่อสมองได้ดีกว่ายา glibenclamide ซึ่งเป็นยาที่ใช้โดยทั่วไปในผู้ป่วย โรคเบาหวาน และในรายงานงานวิจัยของ D' Mello *et al.* (2000) พบคุณสมบัติการเป็นสารต้าน ออกซิเดชัน โดยศึกษาสารสกัดจากเมล็ดหว่าด้วยเอทานอล พบว่ามีคุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชัน สามารถจับกับอนุมูลอิสระได้ดีพอๆกับ กรดแอสคอร์บิก

4.4 ผลหว่า (Fruit)

ผลหว่ามีองค์ประกอบคือ วิตามินซี กรดแกลลิก แทนนิน แอนโทไซยานิน (ไกลโคไซด์ของ petunidin, cyanidin, malvidin) (Banerjee *et al.*, 2005) และ delphinidin-3-gentiobioside และ malvidin-3-laminaribioside (Veigas *et al.*, 2007) และ delphinidin 3,5-diglucoside, cyanidin 3,5-diglucoside, petunidin 3,5-diglucoside, peonidin 3,5-diglucoside, malvidin 3,5-diglucoside (Brito *et al.*, 2007a) นอกจากนี้ผลหว่ายังนำไปใช้เป็นยาสมุนไพร แก้อาการท้องร่วง ขับลม ด้านโรคตับปอด และขับปัสสาวะ สามารถนำไปทำแยมเพื่อรับประทานรักษาอาการท้องร่วง (Morton, 1987) ผลหว่ายังมีคุณสมบัติการเป็น สารต้านออกซิเดชัน ซึ่งรายงานในงานวิจัยของ Banerjee *et al.* (2005) และ Veigas *et al.* (2007) และ Benherlal และ Arumughan (2007) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงคุณสมบัติการป้องกันและบำบัด โรคเบาหวาน ซึ่งในงานวิจัยของงานของ Pepato *et al.* (2005) พบว่าสารสกัดจากน้ำกลั่นของผลหว่าพันธุ์ ที่พบในบราซิล ไม่สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ โดยทดลองในหนูที่ถูกทำให้เป็นเบาหวานด้วย Streptozotocin ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Vikrant *et al.* (2001) ที่ศึกษาในหว่าพันธุ์ที่พบในอินเดีย ซึ่ง พบว่าสารสกัดที่สกัดโดยเอทานอลและน้ำ สามารถยับยั้งภาวะน้ำตาลในเลือดสูง และสภาวะอินซูลินสูง ในหนูที่ได้รับฟรุกโตส และในงานวิจัยของ Grover *et al.* (2000) ซึ่งใช้ผลหว่าที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำ พบว่าสามารถยับยั้งภาวะน้ำตาลในเลือดสูงได้ โดยทดลองในหนูที่ถูกทำให้เป็นเบาหวานด้วยการ เหนี่ยวนำ ของ Alloxan monohydrate และในงานวิจัยของ Shamar *et al.* (2006) พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลและน้ำของผลหว่าสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดกระต่ายทดลองได้โดยสารสกัดจากน้ำสามารถ

ลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ดีกว่าสารสกัดจากเอทานอล และยังพบการหลังอินซูลินเพิ่มขึ้น 2.5 เท่าในเซลล์ตับอ่อนของกระต่ายที่ได้รับสารสกัดจากผลหว่า

ตารางที่ 1 ปริมาณสารอาหารในผลหว่าส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม ในหนึ่งหน่วยบริโภค

สารอาหาร	100 กรัม ¹	100 กรัม ²	หน่วย
ความชื้น	83.7-85.8	83.13	กรัม
โปรตีน	0.7-0.129	0.72	กรัม
ไขมัน	0.15-0.3	0.23	กรัม
เยื่อใย	0.3-0.9	-	กรัม
คาร์โบไฮเดรต	14.0	15.56	กรัม
เถ้า	0.32-0.4	0.36	กรัม
แคลเซียม	8.3-15	19	มิลลิกรัม
แมกนีเซียม	35.0	15	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	15-16.2	17	มิลลิกรัม
เหล็ก	1.2-1.62	0.19	มิลลิกรัม
โซเดียม	26.2	14	มิลลิกรัม
โพแทสเซียม	552.0	79	มิลลิกรัม
วิตามินเอ	80	3	I.U. ³
ไทอามีน	0.008-0.03	0.006	มิลลิกรัม
ไรโบฟลาวิน	0.009-0.01	0.0012	มิลลิกรัม
ไนอาซิน	0.2-0.29	0.260	มิลลิกรัม
วิตามินซี	5.7-18	14.3	มิลลิกรัม

หมายเหตุ ¹ เทียบกับปริมาณตัวอย่างอาหาร 100 กรัม (Morton, 1987)

² เทียบกับปริมาณตัวอย่างอาหาร 100 กรัม (USDA, 2006)

³I.U. วิตามินเอ: เทียบเท่าเรตินอล 0.3 ไมโครกรัม หรือ เบต้าแคโรทีน 0.6 ไมโครกรัม

ที่มา: Morton (1987) และ USDA (2006)

สารประกอบฟีนอล

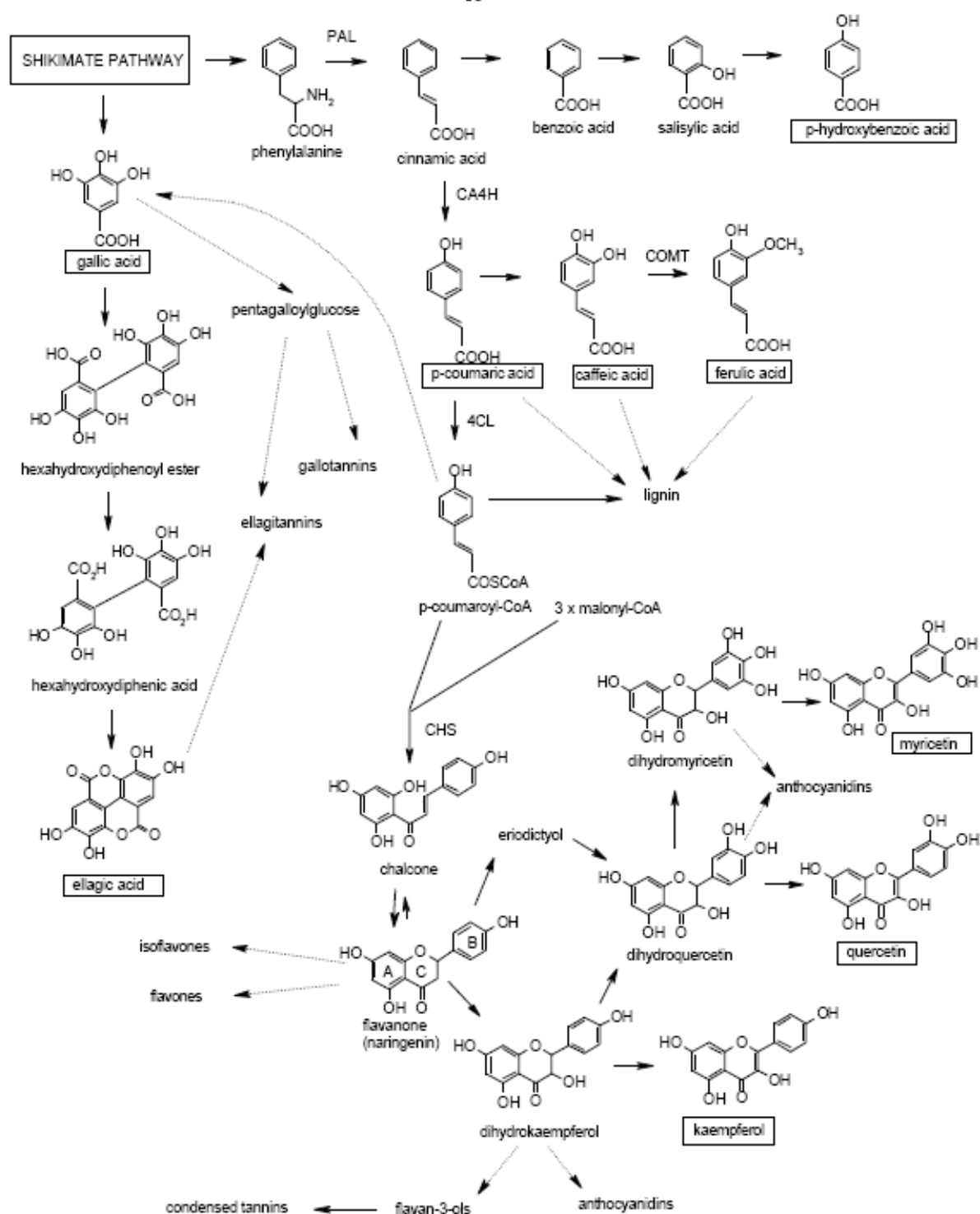
สารประกอบฟีนอลเป็นสารในกลุ่ม secondary metabolite ที่พืชชั้นสูงสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต การขยายพันธุ์ และการป้องกันอันตราย ซึ่งชนิดและปริมาณที่พบ แตกต่างกันไปในส่วนต่าง ๆ ของพืชแต่ละชนิด เช่น ผล ใบ เมล็ด ลำต้น และราก โดยชนิดที่พบจะขึ้นอยู่กับวงศ์ และสกุลของพืชหรือขึ้นอยู่กับหน้าที่การทำงานของสารประกอบฟีนอลที่พบ สารประกอบฟีนอลเป็นกลุ่มสารที่มีองค์ประกอบเป็นวงอะโรมาติก เกาะอยู่กับหมู่ไฮดรอกซิลตั้งแต่ 1 หมู่ขึ้นไป หรือโครงสร้างวงอะโรมาติกหลายวงเกาะอยู่กับหมู่ไฮดรอกซิล สารประกอบฟีนอลเมื่อใช้เกณฑ์จำนวนคาร์บอนอะตอมในโครงสร้างในการแบ่งกลุ่ม สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 2 เช่น ฟีนอล ซึ่งเป็นกลุ่มโครงสร้างอย่างง่ายและมีมวลโมเลกุลต่ำที่สุด มีคาร์บอนจำนวน 6 อะตอมและมีโครงสร้างลักษณะ C_6-OH สามารถละลายน้ำได้ กลุ่มคาร์บอน 15 อะตอม สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือกลุ่ม chalcone, aurones และ ฟลาโวนอยด์ ตามลำดับ กลุ่มโครงสร้างที่เป็นพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ ทำหน้าที่ช่วยเสริมความแข็งแรงให้กับโครงสร้างพืช เช่น ลิกนิน

กลุ่มสารประกอบฟีนอลที่พบมากในผลไม้คือ กลุ่มกรดฟีนอลิก และกลุ่มฟลาโวนอยด์ ซึ่งเซลล์พืชจะสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลจาก ร่างแหเอนโดพลาสมิซึม (endoplasmic reticulum) และเก็บอยู่ตามส่วนต่าง ๆ ในเซลล์ ส่วนมากจะพบอยู่ใน แวกิวโอ (vacuole) โดยการสังเคราะห์อาจเกิดจากการกระตุ้นของปัจจัยภายใน ที่พืชต้องการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลขึ้นเพื่อช่วยในระหว่างกระบวนการเจริญเติบโต หรืออาจเกิดจากปัจจัยภายนอกเช่น แสง อุณหภูมิ และเมื่อพืชเกิดบาดแผล การสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลแสดงในภาพที่ 2 สารประกอบฟีนอลเกิดจากสารตั้งต้นคือฟีนิลอะลานิน (phenylalanine) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการ Shikimate และเข้าสู่กระบวนการสังเคราะห์ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoid metabolism) พัฒนาไปเป็น กรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acid) และ โครงสร้างที่เกิดจากกรดไฮดรอกซีซินนามิก เช่น ซินนามิกเอสเทอร์และเอไมด์ ลิกนิน ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน โดยการทำงานของเอนไซม์ Coenzyme A ligase, ammonialyase และ cinnamic acid 4-hydroxylase (Häkkinen, 2000)

ตารางที่ 2 การแบ่งชนิดของสารประกอบฟีนอล

โครงสร้าง	กลุ่มสาร
C ₆	simple phenolics
C ₇	phenolic acids and related compounds
C ₈	acetophenones and phenylacetic acids
C ₉	cinnamic acids, cinnamyl aldehydes, cinnamyl alcohols
C ₉	coumarins, isocoumarins, and chromones
C ₁₅	chalcones, aurones, dihydrochalcones
C ₁₅	flavans
C ₁₅	flavones
C ₁₅	flavanones
C ₁₅	flavanonols
C ₁₅	anthocyanidins
C ₃₀	biflavonyls
C ₁₃ , C ₁₄	benzophenones, xanthenes, stilbenes
C ₆ , C ₁₀ , C ₁₄	quinones
C ₁₈	betacyanins
Lignans, neolignans	dimers or oligomers
Lignin	polymers
Tannins	oligomers or polymers
Phlobaphenes	polymers

ที่มา: Vermerris และ Nicholson (2006)



ภาพที่ 2 การสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลซึ่งเกิดจากสารตั้งต้นในกระบวนการ Shikimate
 เอนไซม์: CA4H= cinnamic acid 4-hydroxylase, CHS= chalcone synthase, 4CL= 4
 coumarate:coenzyme A ligase, PAL= phenylalanine ammonialyase

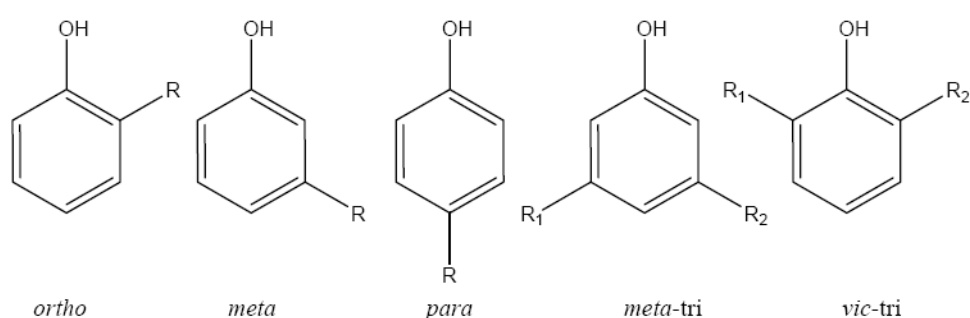
→ แสดงการสังเคราะห์โดยผ่านเอนไซม์เพียงชนิดเดียว

..... แสดงการสังเคราะห์โดยผ่านเอนไซม์หลายชนิด

ที่มา: Häkkinen (2000)

1. กรดฟีนอลิก (Phenolic acids)

กรดฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำสุดในกลุ่มสารประกอบฟีนอลที่พืชชั้นสูงสร้าง ขึ้น สารประกอบอย่างง่ายที่สุดคือ ฟีนอล (phenol; C_6H_5OH) ซึ่งสารในกลุ่มนี้จะพัฒนาเป็น สารประกอบฟีนอลที่มีมวลโมเลกุลใหญ่ขึ้น กลุ่มโครงสร้างหลักที่พบ คือกลุ่มที่เกิดจากกรดไฮดรอกซี เบนโซอิก (hydroxy-benzoic acid) และอนุพันธ์ และกลุ่มที่เกิดจากกรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxy-cinnamic acid) และอนุพันธ์ (Vermerris and Nicholson, 2006) ซึ่งชนิดของสารในแต่ละกลุ่มจะเกิดจาก หมู่ฟังก์ชันที่แตกต่างกัน ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน (hydroxylation) และเมทิลเลชัน (methylation) การแบ่งชนิดในแต่ละกลุ่มจึงเกิดจากชนิดและตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชันที่เข้ามาทำปฏิกิริยา (Häkkinen, 2000) ตามภาพที่ 3



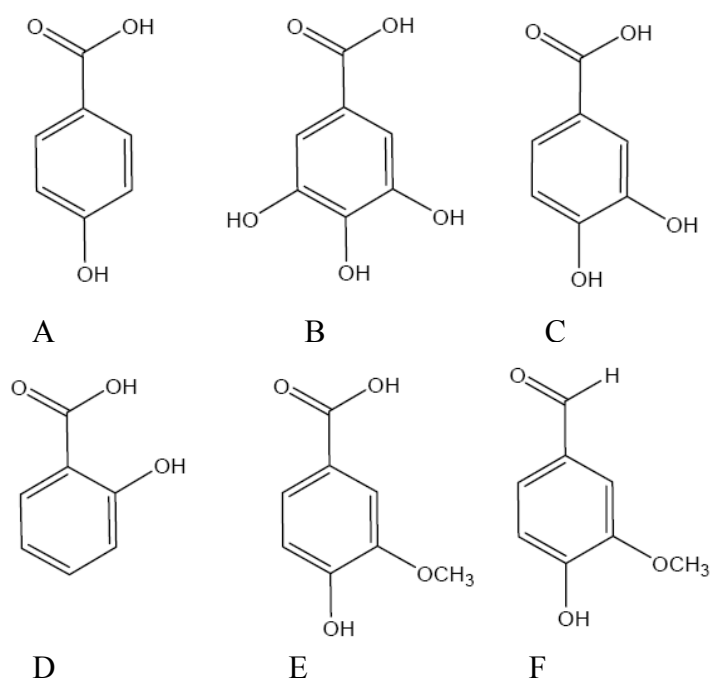
ภาพที่ 3 การเรียกชื่อสารประกอบฟีนอล ที่มีตำแหน่งหมู่ฟังก์ชันแตกต่างกัน

ที่มา: Vermerris และ Nicholson (2006)

1.1 กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (hydroxy benzoic) และอนุพันธ์

สารกลุ่มกรดไฮดรอกซีเบนโซอิก ดังแสดงในภาพที่ 4 มีลักษณะโครงสร้าง C_6-C_1 ประกอบไปด้วยคาร์บอน 6 อะตอมของฟีนอล และหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group; $-COOH$) (Spanos and Wrolstad, 1992) สารกลุ่มกรดไฮดรอกซีเบนโซอิกเกิดจากสารตั้งต้นที่มาจากกระบวนการ Shikimate คือฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ซึ่งถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ PAL เกิดเป็นกรดซินนามิก ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักในกลุ่มกรดไฮดรอกซีซินนามิก และเปลี่ยนเป็นกรดเบนโซอิกโดยเกิดจากปฏิกิริยาดีเกรเดชัน (degradation) ของกรดซินนามิก และเกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันเปลี่ยนเป็นกรดซาลิไซลิก (salicylic acid) และกรดพาราไฮดรอกซีเบนโซอิก (*p*-hydroxybenzoic acid) นอกจากนี้ยังเกิดจาก กรดดีไฮโดรชิกิมิก (dehydroshikimic acid) พัฒนาเป็น กรดแกลลิก (gallic acid) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของสารกลุ่ม

gallotannins หรือ ellagitannins และยังพบว่าสามารถเกิดจากการปฏิกิริยาดีเกรเดชันของ *p*-coumaroyl-CoA และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Häkkinen, 2000)



ภาพที่ 4 โครงสร้างของกรดไฮดรอกซีเบนโซอิกและอนุพันธ์ *p*-hydroxybenzoic acid

(A), gallic acid (B), protocatechuic acid (C), salicylic acid (D) and

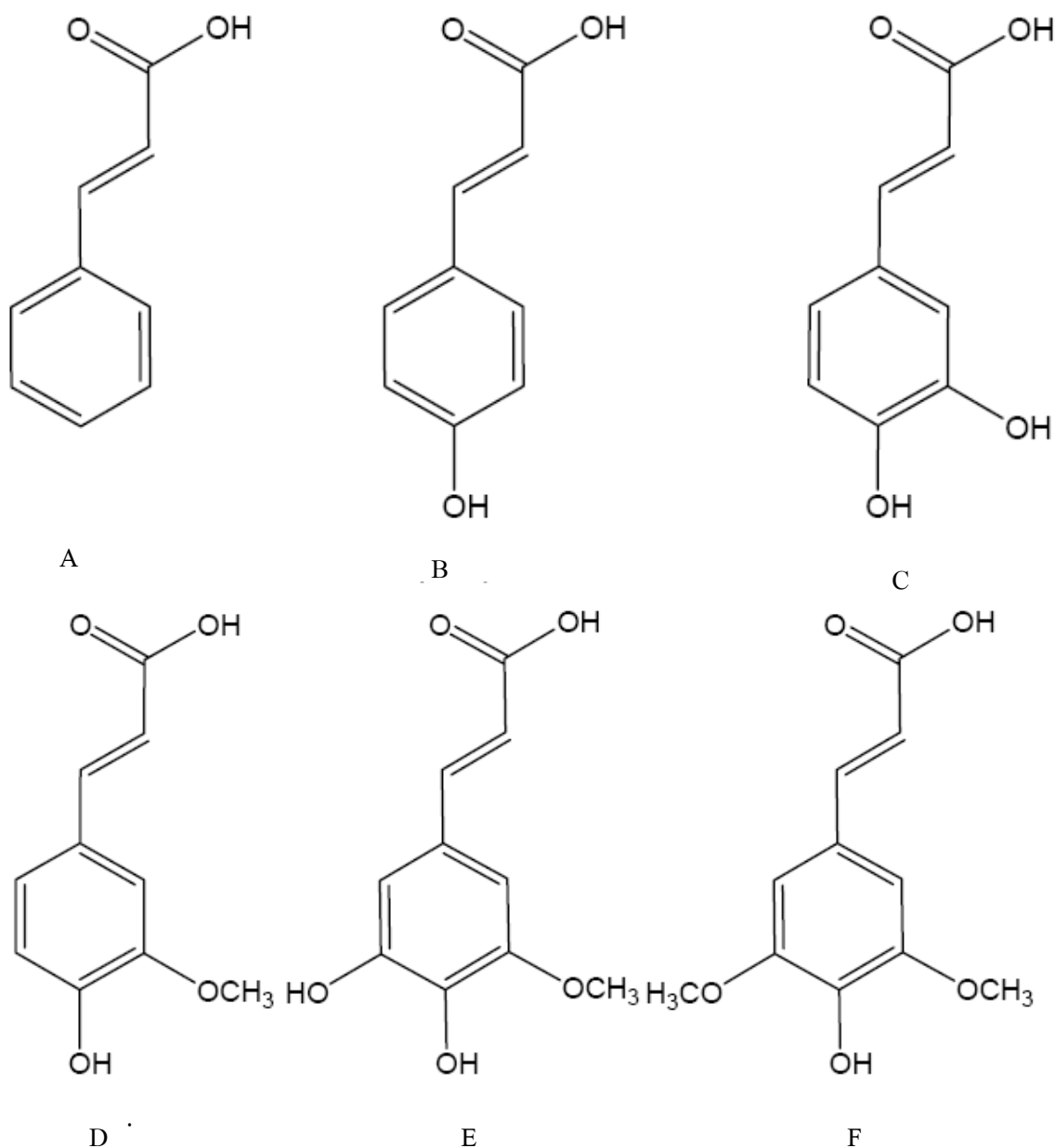
vanillic acid (E) vanillin (F)

ที่มา: Vermerris และ Nicholson (2006)

1.2 กรดไฮดรอกซีซินนามิก (Hydroxy cinnamic acid) และอนุพันธ์

กรดไฮดรอกซีซินนามิกและอนุพันธ์ แสดงในภาพที่ 5 โครงสร้างประกอบด้วยคาร์บอน 9 อะตอม (C₆-C₃) (Spanos and Wrolstad, 1992) ซึ่งเกิดจากกรดซินนามิก (ภาพ 5A) เกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน (hydroxylation) โดยเอนไซม์ cinnamic acid 4- hydroxylase (CA4H) เติมหุมไฮดรอกซิล (-OH) ที่ตำแหน่ง *para*- กลายเป็นโครงสร้างของกรดพาราคูมาริก (*p*-coumaric acid) ตามภาพที่ 5B และเปลี่ยนเป็นอนุพันธ์อื่นในกลุ่มเดียวกัน โดยอาศัยปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน (hydroxylation) เติมหุมไฮดรอกซิล (-OH) เข้าไปในโครงสร้างของ กรดพาราคูมาริก ซึ่งจะได้โครงสร้างของ กรดคาเฟอิก (caffeic acid) ตามภาพที่ 5C และปฏิกิริยาเมทิลเลชัน (methylation) เติมหุมเมทิล (-CH₃) เข้าไปในโครงสร้างของ กรดคาเฟอิก ซึ่งจะได้โครงสร้างของ กรดเฟอร์ูริก (ferulic acid) ตามภาพที่ 5D และเมื่อเกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันเติมหุม

ไฮดรอกซิลเข้าไปในโครงสร้างของกรดเฟอร์ริกจะได้โครงสร้าง 5-hydroxyferulic acid (ภาพ 5E) และเมื่อเกิดปฏิกิริยาเมทิลชันก็จะได้โครงสร้างของกรดไซแนปติก (sinapic acid) ตามภาพที่ 5F โดยโครงสร้างของสารกลุ่มนี้จะเป็นสารตั้งต้นของลิกนิน (Häkkinen, 2000)

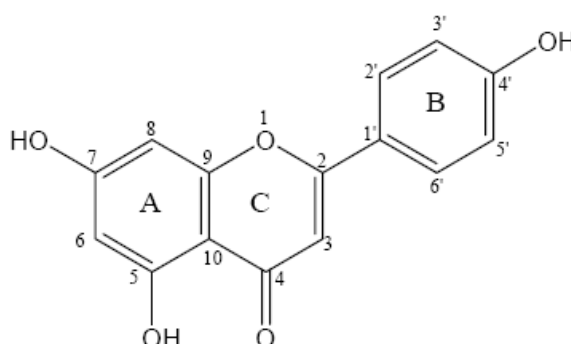


ภาพที่ 5 โครงสร้างของกรดไฮดรอกซีซินนามิกและอนุพันธ์ ซึ่งเป็นโครงสร้าง $C_6 - C_3$ ประกอบด้วย cinnamic, acid (A), *p*-coumaric acid (B), caffeic acid (C), ferulic acid (D), 5-hydroxyferulic acid (E), and sinapic acid (F).

ที่มา: Vermerris และ Nicholson (2006)

2. ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

ฟลาโวนอยด์ เป็นสาร ที่พืชชั้นสูงสร้างขึ้น คาดกันว่าระหว่างกระบวนการวิวัฒนาการขึ้นมาบนบก พืชได้พัฒนากระบวนการสร้างฟลาโวนอยด์เพื่อช่วยในการปกป้องอันตรายจากรังสีอัลตราไวโอเลต โดยสามารถดูดซับรังสีอัลตราไวโอเลต และเปล่งออกมาเป็นแสงสีต่าง ๆ ของดอกไม้ จึงเป็นสารกลุ่มสำคัญที่ให้สีแก่พืชรวมถึงสีสวยงามของกลีบดอกไม้ นอกจากนี้ยังช่วยในเรื่องของการเจริญเติบโต ป้องกันจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และช่วยในเรื่องขยายพันธุ์ (Anderson and Markham, 2006)



ภาพที่ 6 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์

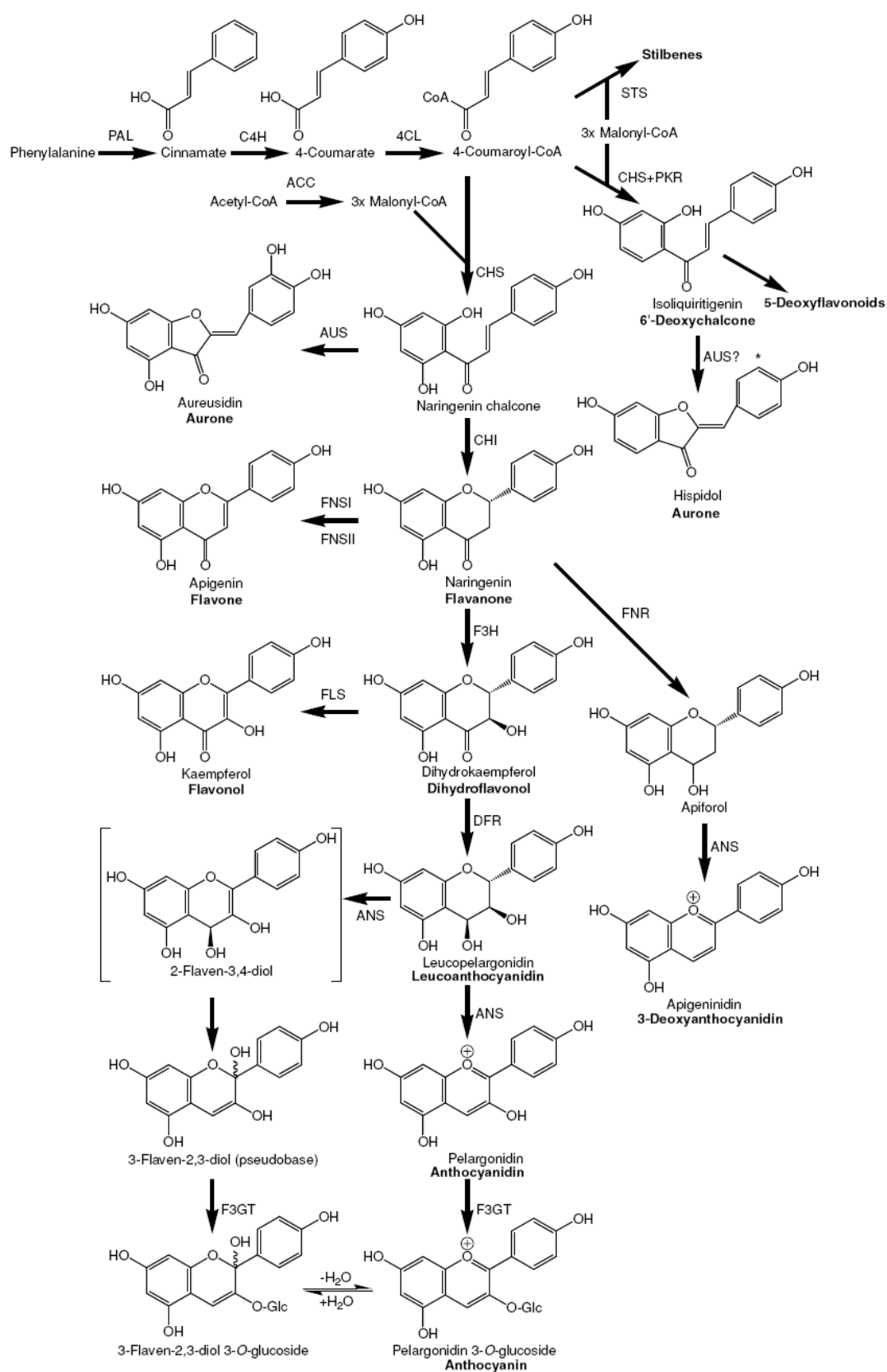
ที่มา: Vermerris และ Nicholson (2006)

ฟลาโวนอยด์ไม่ได้เป็นโครงสร้างพอลิเมอร์ของฟีนอลหรือกรดฟีนอลิก (Anderson and Markham, 2006) โครงสร้างของฟลาโวนอยด์ ประกอบด้วย คาร์บอน 15 อะตอม ($C_6-C_3-C_6$) จัดเรียงตัวเป็นวงเบนซีน 2 วง และเชื่อมต่อกันด้วย ออกซิเจน 1 อะตอมและคาร์บอน 3 อะตอม เรียกวาง A, B และ C ตามภาพที่ 6 ซึ่งเกิดจากสารตั้งต้น 2 ชนิดคือ malonyl-CoA และ *p*-coumaroyl-CoA วง A เกิดจากการส่วนของโมเลกุล malonyl-CoA ส่งผลให้ในฟลาโวนอยด์ส่วนใหญ่มีหมู่ฟังก์ชัน เช่น หมู่ไฮดรอกซิล บนวง A เกะแบบ

meta-dihydroxylated หรือ *meta*-trihydroxylated วง B พัฒนามาจาก *p*-coumaroyl-CoA หมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิลสามารถเกาะได้ทั้งแบบ *mono*-hydroxylated, *ortho*-dihydroxylated หรือ *vic*-trihydroxylated นอกจากนี้ยังสามารถจับกับหมู่ฟังก์ชันอื่นอีก เช่น methylethers (Vermerris and Nicholson, 2006) วง C เกิดการทำงานของเอนไซม์และจากแรงของอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว (lone pair electron) ของอะตอมออกซิเจนจากระหว่างวง A และ B ทำให้อะตอมคาร์บอน 3 อะตอมของโครงสร้างในวง C เกิดการโค้งเข้ามาเป็นวง heterocyclic เรียกโครงสร้างพื้นฐานนี้ว่า ฟลาวันนิวเคลียส (flavan nucleus) (Häkkinen, 2000)

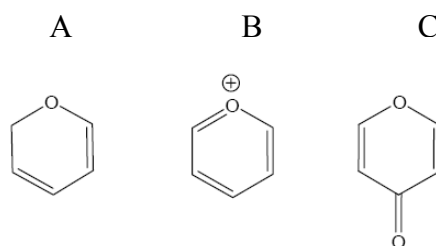
การสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์เป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการ phenylpropanoid สารตั้งต้นในปฏิกิริยาคือฟีนิลอะลานีน ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากกระบวนการ shikimate การสังเคราะห์เริ่มต้นจากฟีนิลอะลานีน ตามภาพที่ 6 ถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ PAL (phenylalanine ammonia-lyase) เกิดเป็นสาร cinnamate และเปลี่ยนเป็นสาร 4-coumarate จากการทำงานของเอนไซม์ C4H (cinnamic acid 4-hydroxylase) จากนั้นถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ 4CL (4-coumarate:coenzyme A ligase) เพื่อเพิ่มสาร coenzyme A เข้าไปในโครงสร้างของ 4-coumarate ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือสาร *p*-coumaroyl-CoA (Vermerris and Nicholson, 2006)

สาร naringenin chalcone เป็นโครงสร้างเริ่มต้นที่จะพัฒนาไปสู่ฟลาโวนอยด์ ซึ่งเกิดจากสาร *p*-coumaroyl-CoA เกิดปฏิกิริยา decarboxylation และสาร malonyl-CoA จำนวน 3 โมเลกุล เกิดปฏิกิริยา condensation ร่วมกัน เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ CHS (chalcone synthase) จากนั้นเกิดปฏิกิริยาไอโซเมอไรเซชัน (isomerization) เกิดวง six atom-heterocycle ที่มีอะตอมออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ โดยการทำงานของเอนไซม์ CHI (chalcone isomerase) ได้สารกลุ่ม ฟลาวาโนน (flavanone) ซึ่งเป็นโครงสร้างสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ชนิดแรก นอกจากนี้ naringenin chalcone ยังสามารถเปลี่ยนเป็นสารกลุ่ม aurone จากการทำงานของเอนไซม์ AUS (aureusidin synthase) ฟลาวาโนนสามารถเปลี่ยนไปเป็นสารกลุ่มฟลาโวน (Flavone) ด้วยการทำงานของเอนไซม์ FNSI หรือ FNSII (flavone syntase I, flavone syntase II) โดยจะสร้างพันธะคู่ที่ตำแหน่ง C₂ และ C₃ บนวง C หรือเปลี่ยนเป็นสาร dihydrokaempferol โดยเติมหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C₃ บนวง C จากการกระตุ้นของเอนไซม์ F3H (flavanone 3 β -hydroxylase) และเปลี่ยนเป็นสารกลุ่ม ฟลาโวนอล (flavonol) โดยการสร้างพันธะคู่ที่ตำแหน่ง C₂ และ C₃ บนวง C จากการทำงานของเอนไซม์ FLS (flavonoid syntase) เมื่อ dihydrokaempferol ถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ DFR (dihydroflavonol 4-reductase) จะเปลี่ยนเป็นสาร leucopelagoidin ก่อนจะเปลี่ยนสารกลุ่มแอนโทไซยานิน (anthocyanidin) ด้วยเอนไซม์ ANS (anthocyanin syntase) (Anderson and Markham, 2006)



ภาพที่ 7 การสังเคราะห์สารกลุ่มฟลาโวนอยด์จากสารตั้งต้นฟีนิลอะลานีน

ที่มา: Vermerris และ Nicholso (2006)



ภาพที่ 8 ชนิดของโครงสร้างวง heterocycle บนว C ของฟลาโวนอยด์ ประกอบด้วยโครงสร้าง pyran (A), pyrylium (B), pyrone (C)

ที่มา: Vermerris และ Nicholson (2006)

ฟลาโวนอยด์จะแบ่งกลุ่มตามหมู่ฟังก์ชันและพันธะที่เกิดขึ้นที่วง C (six atom-heterocycle ของอะตอมออกซิเจน) ซึ่งเรียกว่า pyran (รูปที่ 8A) pyrylium (รูปที่ 8B) หรือ pyrone (รูปที่ 7C) ดังแสดงการจัดกลุ่มในตารางที่ 3 และแบ่งเป็นชนิดต่าง ๆ ในแต่ละกลุ่ม ตามตำแหน่งหมู่ฟังก์ชันที่เกิดพันธะกับวง B (Vermerris and Nicholson, 2006) นอกจากนี้โครงสร้างฟลาโวนอยด์ยังสามารถเกิดพันธะกับโมเลกุลน้ำตาล ทั้งน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และน้ำตาลโมเลกุลคู่ ซึ่งโดยปกติจะพบที่ออกซิเจนตำแหน่ง 3 บนว B โดยการแทนที่อะตอมไฮโดรเจน ของหมู่ไฮดรอกซิล เรียกโครงสร้างที่เกิดพันธะกับโมเลกุลน้ำตาลว่า ไกลโคไซด์ (glycoside) และเรียกโครงสร้างที่อยู่ในรูปอิสระ (ไม่เกิดพันธะกับโมเลกุลน้ำตาล) ว่าอะไกลโคน (aglycone) (USDA, 2003)

ตารางที่ 3 การจัดกลุ่มฟลาโวนอยด์ตามลักษณะโครงสร้างบนว C

ฟลาโวนอยด์	โครงสร้าง	พันธะคู่	หมู่ฟังก์ชันที่ C ₃	ตัวอย่างสารที่พบ
Flavanones	pyrone	-	-	hesperetin, naringenin
Flavones	pyrone	C ₂ -C ₃	-	apigenin, luteolin
Flavanonols	pyrone	-	-OH	taxifolin
Flavan-3-ols	pyran	-	-OH	catechin, epicatechin, gallocatechin
Flavanols				
Flavonols	pyrone	C ₂ -C ₃	-OH	queacetin, kaempferol, myricetin
Anthocyanidins	pyrylium	C ₂ -C ₃	-OH	cyanidin, delphinidin, malvidin

ที่มา: ดัดแปลงจาก Vermerris and Nicholson (2006) และ Anderson and Markham (2006)

2.1 แหล่งที่พบ

ฟลาโวนอยด์สามารถพบได้ทั่วไปในพืชที่อยู่บนบกหรืออยู่เหนือน้ำ ซึ่งพบทั้งในผักและผลไม้ โดยชนิดและปริมาณจะแตกต่างกันไป ซึ่งผลไม้ส่วนใหญ่ ที่มีสี แดง หรือม่วง เช่น องุ่น เชอร์รี่ บลูเบอร์รี่ จะเป็นแหล่งที่ดีของสารกลุ่ม แอนโธไซยานิน และฟลาโวนอล เช่น quercetin และยังสามารถพบฟลาโวนอล เช่น catechin ในผลไม้อื่นที่มีสีแดง ได้เช่นกัน เช่นในแอปเปิ้ล หรือผลิตภัณฑ์ที่มาจากผลไม้ชนิดนั้น เช่น ในไวน์ น้ำผลไม้ ในผลไม้ตระกูลส้ม จะเป็นแหล่งที่ดีของ ฟลาโวนิน เช่น naringenin, hesperitin ส่วนในพวกผัก เช่นหัวหอมใหญ่ จะพบ quercetin หรือ kaempferol ในปริมาณมาก ดังแสดงในตารางที่ 4.

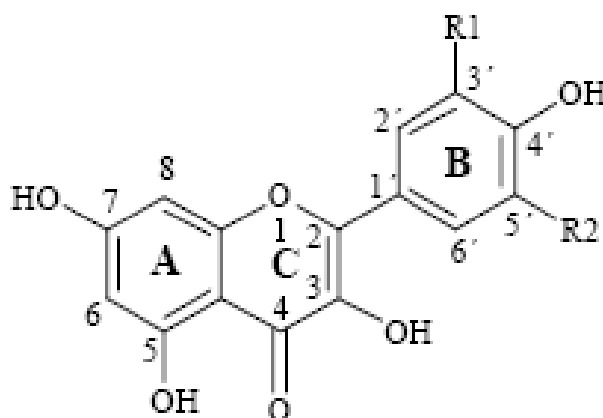
ตารางที่ 4 แหล่งที่พบฟลาโวนอยด์ชนิดต่าง ๆ

	Flavonoid	Source
Flavanols	Epicatechin	Green and Black tea
	Epigallocatechin	
	Epicatechin gallate	
	Epigallocatechin gallate	
Flavanones	Naringin	Peel of citrus fruit
	Hesperitin	Citrus fruit
	Kaempferol	Endive, Leek, Broccoli, Radish, Grapefruit
Flavonols	Quercetin	Onion, Lettuce, Broccoli, Cranberry, Apple skin, Berries, Olive, Tea, Red wine
	Myricetin	Cranberry, Grapes, Red wine
Flavones	Chrysin	Fruit skin
	Apigenin	Celery, Parsley
	Malvidin	Red grape, Red wine
Anthocyanidins	Cyanidin	Cherry, Raspberry, Strawberry, Grape
	Apigenin	Coloured fruit and Peel

ที่มา: Rice-evan *et al.* (1995)

2.2 ฟลาโวนอล

ฟลาโวนอลสามารถพบได้ในผักและผลไม้หลายชนิด เช่น แอปเปิ้ล บร็อกโคลี่ กระเทียมต้น หัวหอมใหญ่ แครนเบอร์รี่ และสตอเบอร์รี่ เป็นต้น ฟลาโวนอลที่พบในธรรมชาติจะอยู่ในรูปของไกลโคไซด์ของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว หรือน้ำตาลโมเลกุลคู่ โครงสร้างอะไกลโคนประกอบด้วยสมาชิกในกลุ่ม 3 ชนิดคือ quercetin, kaempferol และ myricetin (Hertog *et al.*, 1992a)



ภาพที่ 9 โครงสร้างของฟลาโวนอล

ที่มา: USDA (2003)

โครงสร้างของฟลาโวนอลแตกต่างจากฟลาโวนอยด์ชนิดอื่นคือ ที่โครงสร้างวง pyrone มีพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2, 3 และมีหมู่ไฮดรอกซิลกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ในภาพที่ 9 การแบ่งชนิดในกลุ่มฟลาโวนอลจะแบ่งตามหมู่ฟังก์ชันที่เกิดพันธะบนวง B ว่าเป็น ไฮโดรเจน หรือหมู่ไฮดรอกซิลโดยพิจารณาจากพันธะที่ตำแหน่งที่ 3' และ 5' บนวง B ในตารางที่ 5 แสดงการเรียกชื่อของสารในกลุ่มฟลาโวนอล ตัวอย่างเช่น โครงสร้างบนวง B ที่ตำแหน่ง R_1 และ R_2 มีหมู่ไฮดรอกซิลและไฮโดรเจนมาเกิดพันธะ จะเรียกฟลาโวนอลนั้นว่า ควอเซติน (quercetin) หรือถ้ามีหมู่ไฮดรอกซิลเกิดพันธะทั้งสองตำแหน่งจะเรียกว่า ไมริเซติน (myricetin) แต่ถ้าเป็นไฮโดรเจนทั้งสองตำแหน่งจะเรียกว่า แคมพ์ฟีรอล (kaempferol) (USDA, 2003)

ตารางที่ 5 การแบ่งชนิดของฟลาโวนอล

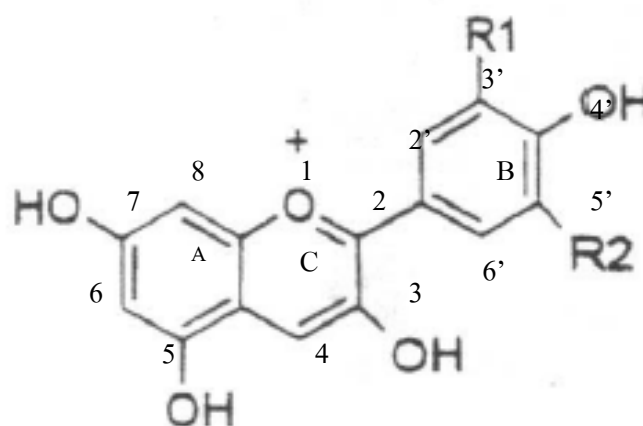
flavonol	functional Group	
	R1	R2
quercetin	OH	H
kaempferol	H	H
myricetin	OH	OH

หมายเหตุ OH= hydroxyl group, H = hydrogen

ที่มา: USDA (2003)

2.3 แอนโทไซยานิดิน

แอนโทไซยานิดิน (อะไกลโคน) ในธรรมชาติพบในรูปของโครงสร้างไกลโคไซด์ที่เกิดขึ้น
 พืชกับน้ำตาล ทั้งน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหรือน้ำตาลโมเลกุลคู่เรียกว่าแอนโทไซยานิน (USDA, 2003)
 นอกจากนี้ยังพบในลักษณะของพอลิเมอร์ เรียกว่าโปรแอนโทไซยานิดิน ซึ่งประกอบด้วยแอนโทไซยานิ
 ดิน 3 โมเลกุล สารกลุ่มนี้เป็นสารให้สีในผักผลไม้ที่มีสีแดง ม่วง จนถึงดำ เช่น แอปเปิ้ล องุ่นแดง และใน
 เบอร์รี่ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ สตรอเบอร์รี่ ราสเบอร์รี่ และเชอร์รี่ ยกเว้นผักผลไม้บางประเภทเช่นมะเขือเทศ ที่
 สารให้สีแดงอยู่ในกลุ่มของไลโคปีน (lycopene) (Macheix *et al.*, 1990) โครงสร้างอะไกลโคน
 ประกอบด้วย ไซยานิดิน(cyanidin) เดลฟินิดิน (delphinidin) มัลวิดิดิน (malvidin) เพลาโกนินิดิน
 (pelargonidin) เพตุนิดิน (petunidin) และ เพโอนินิดิน (peonidin) (Anderson and Markham, 2006)



ภาพที่ 10 โครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานิดิน

ที่มา: USDA (2003)

โครงสร้างของแอนโทไซยานิดินแตกต่างจากฟลาโวนอยด์ชนิดอื่นคือที่วง C เป็นโครงสร้างวง pyrilium cation มีพันธะคู่ระหว่างตำแหน่งที่ 1, 2 และ 3, 4 และมีหมู่ไฮดรอกซิลเกิดพันธะกับโครงสร้างที่ ตำแหน่ง 3 ดังแสดงในภาพที่ 10 การที่มีพันธะคู่ 2 ตำแหน่งในวง C ส่งผลให้ออกซิเจนแสดงประจุเป็นบวก การแบ่งสารกลุ่มแอนโทไซยานินออกเป็นชนิดต่าง ๆ จะแบ่งตามหมู่ฟังก์ชันที่เกิดพันธะบนวง B ว่าเป็นหมู่ไฮดรอกซิลหรือไฮโดรเจน ซึ่งอาจจะเกิดการแทนที่ไฮโดรเจนในหมู่ไฮดรอกซิลด้วยหมู่เมทิลก็ได้ โดยตำแหน่งที่เกิดพันธะและทำให้เกิดการแบ่งชนิดคือ ตำแหน่งที่ 3' (R_1) และ 5' (R_2) ซึ่งแสดงการเรียกชื่อ และชนิดของแอนโทไซยานิดินไว้ในตารางที่ 2 ตัวอย่างการเรียกชื่อ เช่นถ้ามีไฮโดรเจนเกิดพันธะที่ตำแหน่ง R_1 และ ไฮดรอกซิลเกิดพันธะที่ตำแหน่ง R_2 จะเรียกว่า ไชยานิดิน หรือถ้ามีหมู่ไฮดรอกซิลและเมทิลมาแทนที่ไฮโดรเจนทั้งสองตำแหน่งจะเรียกว่า มัลวิดิน เป็นต้น (USDA, 2003)

ตารางที่ 6 การแบ่งชนิดของแอนโทไซยานิดิน

anthocyanidin	functional group	
	R1	R2
cyanidin	H	OH
delphinidin	OH	OH
malvidin	OMe	OMe
pelargonidin	H	H
petunidin	OMe	OH
peonidin	OMe	H

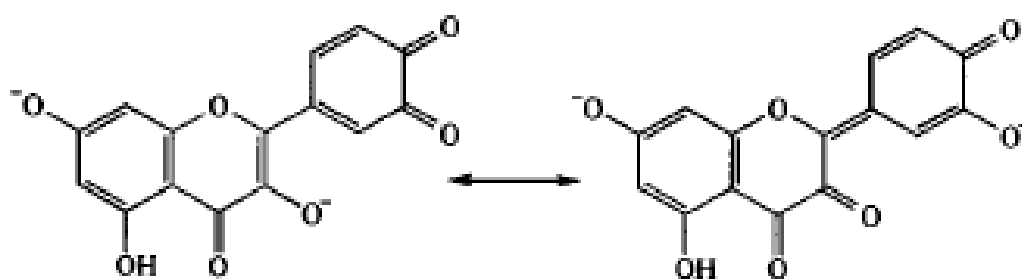
หมายเหตุ OH= Hydroxyl group, H = Hydrogen, Me= Methly group

ที่มา: USDA (2003)

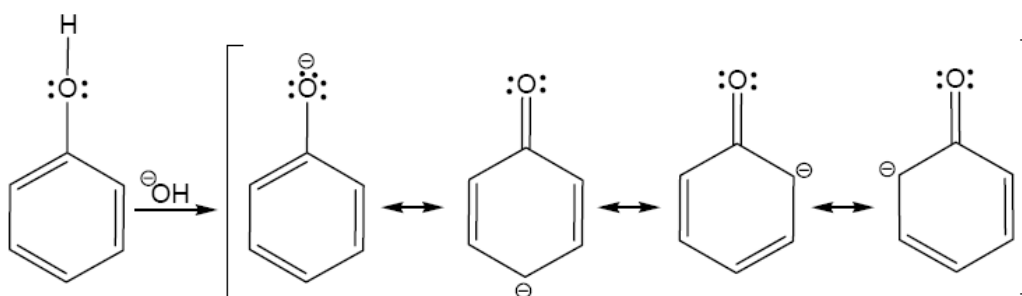
3. คุณสมบัติทางเคมีที่สำคัญของสารประกอบฟีนอล

3.1 คุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชัน

คุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันสารประกอบฟีนอล เกิดจากการที่โครงสร้างประกอบไปด้วยวง benzene หรือ mesobenzene และมีหมู่ไฮดรอกซิลอิสระ ที่สามารถให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ แล้วเกิดโครงสร้างที่เสถียร เนื่องจากเกิด delocalization ซึ่งแสดงในภาพที่ 11 โดยเมื่อหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 3 บนวง C (ภาพที่ 11 A) หรือที่ตำแหน่ง *para* (*p*)บนฟีนอล (ภาพที่ 11 B) สูญเสียไฮโดรเจนอะตอม ทำให้ตำแหน่งนั้นแสดงประจุเป็นลบ หรือกล่าวได้ว่าอยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่ต้องการประจุบวกเพื่อทำให้เสถียร พันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2, 3 (ภาพที่ 11 A) หรือตำแหน่งที่ 1, 6 (ภาพที่ 11 B) จึงแตกพันธะคู่มาเกิดพันธะกับออกซิเจนที่ตำแหน่ง 3 ทำให้ตำแหน่งนั้นเสถียร แต่เมื่อตำแหน่งนั้นสูญเสียวาเลนส์อิเล็กตรอนไปทำให้โครงสร้างไม่เสถียร จึงไปดึงอิเล็กตรอนจากพันธะคู่ในคาร์บอนอะตอมข้างเคียงทำให้ตัวเองเสถียร และอะตอมที่ไม่เสถียรก็ไปดึงอิเล็กตรอนจากอะตอมข้างเคียงและเกิดการแตกพันธะคู่ กลายเป็นพันธะเดี่ยวและสร้างพันธะคู่สลับกันไปเรื่อย ๆ ภายในวง ทำให้โครงสร้างของฟลาโวนอยด์และฟีนอล เมื่อสูญเสียไฮโดรเจนไปแล้วยังคงมีความเสถียรอยู่ ซึ่งเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า delocalization



A



B

ภาพที่ 11 การเกิด Delocalization ในฟลาโวนอยด์ (A) และในฟีนอล (B)

ที่มา: (A) Dangles et al. (2000), (B) Vermerris และ Nicholson (2006)

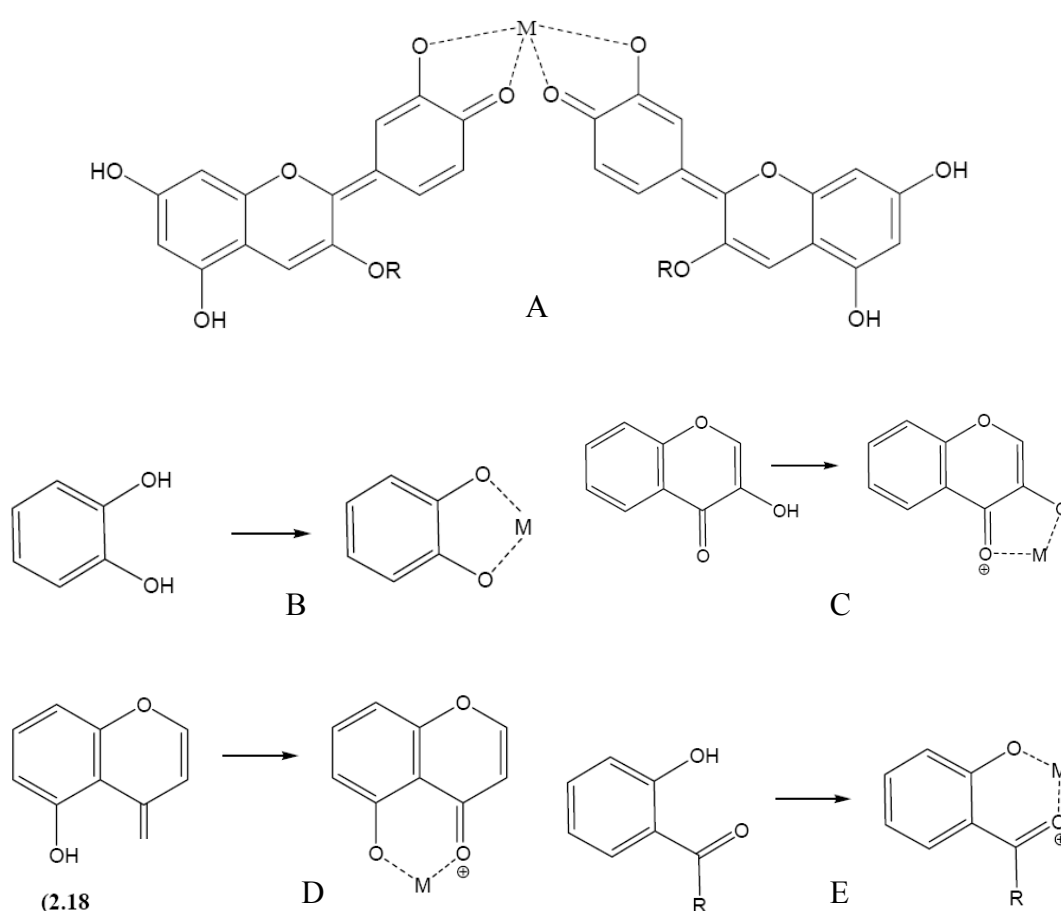
การที่ฟลาโวนอยด์แต่ละชนิด มีคุณสมบัติของการเป็นสารต้านออกซิเดชันแตกต่างกัน เนื่องจาก มีพันธะบนวง C และตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิลอิสระ แตกต่างกัน ดังแสดงในงานวิจัยของ Rice-ewan et al. (1995) ซึ่งทดสอบคุณสมบัติของการเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยให้ฟลาโวนอยด์ทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระ (ABTS^{•+}) และวัด total antioxidant activity (TAA) ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า คุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับชนิดของ ฟลาโวนอยด์ ซึ่งฟลาโวนอยด์ต่างชนิดกัน จะมีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลอิสระ ตำแหน่งและจำนวนพันธะคู่ในโครงสร้าง แตกต่างกัน โดยควอเซตินจะเป็นโครงสร้างที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันสูงสุด ซึ่งประกอบไปด้วย หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3, 5, 7 บนวง A และ C และตำแหน่ง 3' และ 4' บนวง B ซึ่งตำแหน่งนี้เป็นตำแหน่งที่เรียกว่า *o*-diphenol และพันธะคู่กับออกซิเจนที่ตำแหน่ง 4 บนวง C ตำแหน่งเหล่านี้จะช่วยในเรื่องของการเกิด delocalization ทำให้โครงสร้างมีความเสถียรมากขึ้น เมื่อสูญเสียไฮโดรเจนอะตอมให้แก่อนุมูลอิสระ การสูญเสียหมู่ไฮดรอกซิลและพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2, 3 บนวง C ในการเกิดโครงสร้างไกลโคไซด์กับน้ำตาลทำให้คุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันลดลงเนื่องจากขาดไฮโดรเจนอะตอมในการจับกับอนุมูลอิสระ 1 ตำแหน่ง และการเพิ่มหมู่ไฮดรอกซิลจาก 1 หมู่เป็น 2 หมู่ แบบ *o*-diphenol บนวง B มีผลทำให้มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันเพิ่มมากขึ้น แต่เมื่อเพิ่มเป็น 3 หมู่จะมีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันลดลงเนื่องจากโครงสร้างขัดขวางการเกิด delocalization

การที่สารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน หรือสารการต้านออกซิเดชันส่งผลให้มีประโยชน์ทางเภสัชวิทยาต่อร่างกาย คือ คุณสมบัติในการต้านการเกิดมะเร็ง (anticarcinogen) โดยทำลายอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของเนื้องอก และทำหน้าที่ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง (Hertog *et al.*, 1992a) และคุณสมบัติในการป้องกันหลอดเลือดหัวใจ (cardiovascular properties) โดยป้องกันการแตกของเส้นเลือด (Beecher *et al.*, 1999) ลดปริมาณ LDL cholesterol (Rey *et al.*, 2004) ซึ่งเป็นคอเรสเตอรอลที่เป็นผลเสียต่อร่างกายและป้องกันการแข็งตัวของเส้นเลือด และคุณสมบัติในการต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) และการลดความเสียหายของ DNA (reduce DNA damage) และต้านโรคเบาหวาน (antidiabetic)

3.2 Metal complexes

สารประกอบฟีนอลมีคุณสมบัติในการจับไอออนของโลหะ (metal cation chelators) ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญในธรรมชาติ โลหะที่พบส่วนใหญ่คือ เหล็ก อะลูมิเนียม และแมกนีเซียม ไอออนของโลหะสามารถจับกับสารประกอบฟีนอลได้หลายแบบเช่น protocyanin 2 โมเลกุลสามารถจับกับไอออนของโลหะได้ที่ตำแหน่ง *o*-diphenol บนวง B ตามภาพที่ 12 A ซึ่งโลหะที่จับอาจเป็นไอออนของ Fe³⁺ หรือ Al³⁺ และในภาพที่ 12 B-E ยังแสดงโครงสร้างการทำปฏิกิริยากับตำแหน่ง *o*-diphenol ใน

โครงสร้างต่าง ๆ กัน นอกจากนี้ยังใช้คุณสมบัตินี้ในห้องปฏิบัติการเพื่อหาปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ซึ่งโดยปกติเป็นสารที่มีสีในธรรมชาติอยู่แล้ว โดยการเกิดปฏิกิริยากับโลหะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารเหล่านี้เปลี่ยนไป คุณสมบัติ metal cation chelators ของสารประกอบฟีนอล จะช่วยยับยั้งสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์สิ่งมีชีวิต โดยไอออนของโลหะจะเป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชันส่งผลให้เกิดการทำลายเซลล์ร่างกาย เพิ่มอนุมูลอิสระ และเร่งการพัฒนานอนุมูลอิสระ (Vermerris and Nicholson, 2006)



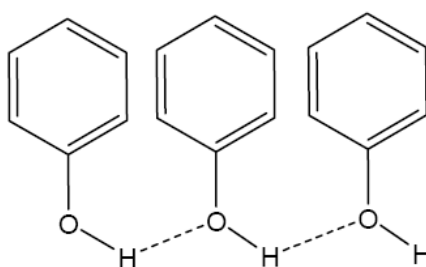
ภาพที่ 12 การเกิด metal cation chelating ที่ตำแหน่ง *o*-diphenol ของ cyanidin 3,5-diglucoside

(A), *o*-dihydroxy phenols (B), 3-hydroxychromones (C), 5-hydroxychromones (E),
และ *o*-hydroxycarbonyls (F)

ที่มา : Vermerris และ Nicholson (2006)

3.3 การเกิดพันธะไฮโดรเจน ที่หมู่ไฮดรอกซิล

หมู่ไฮดรอกซิลเป็นแรงทางไฟฟ้าระหว่างอะตอมของไฮโดรเจนกับอะตอมของสารที่มีค่า electronegative สูง เช่น ออกซิเจน ฟลูออรีน ไนโตรเจน การเกิดพันธะไฮโดรเจนสามารถเกิดกับโมเลกุลชนิดเดียวกันหรือโมเลกุลต่างชนิดกันก็ได้ เช่นในภาพที่ 13 แสดงพันธะไฮโดรเจน (เส้นประ) ซึ่งเป็นแรงระหว่างโมเลกุล และพันธะโควาเลนต์ (เส้นทึบ) ซึ่งเป็นแรงที่เกิดขึ้นภายในโมเลกุล ของฟีนอล โดยพันธะไฮโดรเจนมีแรงอ่อนกว่าพันธะโควาเลนต์ การเกิดพันธะไฮโดรเจนทำให้สารประกอบฟีนอลสามารถละลายในน้ำ และแอลกอฮอล์ได้ (Vermerris and Nicholson, 2006) สารประกอบฟีนอลที่โครงสร้างมีขนาดใหญ่ละลายน้ำได้น้อยลงหรือ ไม่สามารถละลายน้ำได้ เนื่องจากแรง hydrophobic ของวง heterocycle หรือวงเบนซีนมีมากกว่าพันธะไฮโดรเจน เช่นใน lignin (Anderson and Markham, 2006)



ภาพที่ 13 พันธะไฮโดรเจนและพันธะโควาเลนต์ของฟีนอล

(.....) แสดงพันธะไฮโดรเจน () แสดงพันธะโควาเลนต์

ที่มา : Vermerris และ Nicholson (2006)

3.4 การเกิดปฏิกิริยาอื่น ๆ

สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติสามารถเกิดปฏิกิริยา esterifications ($R-COO-R$) ระหว่างโมเลกุลกรดคาร์บอกซิลิก กับหมู่ไฮดรอกซิลของสารประกอบฟีนอล หรืออยู่ในโครงสร้างของ ether ($R-O-R$) โดยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเมทานอลกับหมู่ไฮดรอกซิลของสารประกอบฟีนอล นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติส่วนใหญ่ยังอยู่ในรูปไกลโคไซด์ โดยมีโมเลกุลน้ำตาลเข้าไปแทนที่อะตอมไฮโดรเจนในหมู่ไฮดรอกซิล (Vermerris and Nicholson, 2006)

4. การกระจายตัวของกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในพืช

สารประกอบฟีนอล เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญต่อสิ่งเร้าที่เกิดจากสิ่งแวดล้อมภายนอกของพืช เช่น คิงดอมแมลง เป็นสารสื่อสารระหว่างพืชกับแบคทีเรีย (N_2 -fixing bacteria) หรือป้องกันพวกจุลินทรีย์ก่อให้เกิดโรค เป็นสารสื่อสารระหว่างพืชด้วยกันเอง ป้องกันอันตรายที่มาจากสิ่งแวดล้อม (UV-B) หรือสิ่งมีชีวิตอื่น (microbial pest หรือ herbivore) ซึ่งการกระจายตัวของสารจึงขึ้นอยู่กับปัจจัยเหล่านี้ เช่น สารพวกฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีหน้าที่เป็นสารให้สี และป้องกันรังสี UV-B จะพบมากได้ที่ แวกิวโอ (vacuole) ของ guard cell และ epidermal cell นอกจากนี้ ยังพบสารบางชนิดที่เกิดพันธะโควาเลนต์ (covalent bond) อยู่กับ cell wall และยังพบอยู่ใน แวกซ์ (waxes) ที่ cuticle (Hutzler *et al.*, 1998)

5. การเปลี่ยนแปลงของกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ระหว่างกระบวนการสุก

การสังเคราะห์ของสารประกอบฟีนอล จะเกิดขึ้นภายในเซลล์ส่วนของร่างแหเอนโดพลาสมิซึม (Hutzler *et al.*, 1998) โดยมีฟีนิลอะลานิน เป็นสารตั้งต้นและพัฒนาไปเป็นสารประกอบโพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์และกรดฟีนอลิกที่พบมากในผลไม้ เช่น กรดพาราควมาริก กรดวานิลลิก แอนโธไซยานิน ฟลาโวนอล และแทนนิน ซึ่งแอนโธไซยานินจะสามารถพบเฉพาะในผลหรือผลไม้บางชนิด ที่มีสี ชมพู แดง ม่วง เช่น ในผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ (Häkkinen *et al.*, 1999; Prodanov *et al.*, 2005) เป็นต้น โดยการเปลี่ยนแปลงของชนิด และปริมาณฟลาโวนอยด์ในผลไม้ จะเกิดระหว่างกระบวนการเจริญเติบโต (maturation) จนถึงการสุก (ripening) (Vvedenskaya *et al.*, 2004; Jaakola *et al.*, 2002)

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการสุก โดยการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ จะเปลี่ยนไปตามช่วงอายุการบริบูรณ์ หรือสี ดังเช่นในงานวิจัยของ Vvedenskaya *et al.* (2004) ซึ่งศึกษาชนิดและโครงสร้างของฟลาโวนอยด์ในระหว่างสุกของแครนเบอร์รี่สายพันธุ์ที่พบในอเมริกา (*Vaccinium macrocarpon*) และในงานวิจัยของ Jaakola *et al.* (2002) ซึ่งศึกษาใน bilberry โดยทั้งสองงานวิจัยพบว่า สารกลุ่มฟลาโวนอลจะลดลงในขณะที่สารกลุ่มแอนโธไซยานินจะเพิ่มขึ้นระหว่างกระบวนการสุก โดยสารกลุ่มฟลาโวนอลมีส่วนสำคัญในการล่อแมลงเพื่อช่วยในกระบวนการผสมพันธุ์ของดอก และสารกลุ่มแอนโธไซยานิน เป็นสารให้สีกลุ่มสำคัญในผลไม้ จึงสังเคราะห์ขึ้นมาระหว่างกระบวนการสุก

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบฟีนอล

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบฟีนอลส่วนใหญ่จะแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนคือ การสกัดและการแยกสาร กับ การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสาร เนื่องจากสารประกอบฟีนอลเป็นสารกลุ่มใหญ่ ที่มีโครงสร้างอย่างง่ายที่สุดเป็น วงอะโรมาติกเกาะอยู่กับหมู่ไฮดรอกซิลไปจนถึงโครงสร้างที่เป็นพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ ในการเลือกตัวทำละลายและวิธีการวิเคราะห์จึงต้องคำนึงถึงคุณสมบัติของสารที่ต้องการวิเคราะห์ เช่น ความมีขี้้ว ลักษณะโครงสร้างของสารกลุ่มที่ต้องการ ซึ่งปกติในธรรมชาติ สารประกอบฟีนอลบางชนิดจะเกิดโครงสร้างกับน้ำตาล ซึ่งอาจจะต้องไฮโดรไลสฟัสน้ำตาลออกก่อน

1. การสกัดกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์

สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารกลุ่มที่มีความเสถียร การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ กรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ นิยมทั้งการสกัดในตัวอย่างสดโดยผ่านการโฮโมจีไนซ์ให้เป็นเนื้อเดียวกัน และตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้ง แต่โดยส่วนมากใช้ตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการทำแห้งเพื่อชะลอหรือยับยั้งปฏิกิริยาต่าง ๆ ที่อาจเกิดขึ้นในตัวอย่างสด เช่น ผลของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (Macheix *et al.*, 1990) และลดขนาดด้วยการบดหรือทำให้เป็นผงเพื่อช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการสัมผัสกับตัวทำละลาย (Hertog *et al.*, 1992a, b, Häkkinen *et al.*, 1998, 1999)

สารประกอบฟีนอล ในกลุ่มกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ เป็นกลุ่มที่ค่อนข้างมีขี้้ว ซึ่งเกิดจากจำนวนคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบเป็นของวงอะโรมาติกซึ่งเป็นส่วนที่ไม่มีขี้้วมีเพียง 6-15 อะตอมเท่านั้น และส่วนที่มีขี้้ว ซึ่งเกิดจากหมู่ไฮดรอกซิลซึ่งสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำได้ดี ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลมีขี้้วแตกต่างกันตามสัดส่วนของส่วนที่มีขี้้วและไม่มีขี้้ว (Häkkinen *et al.*, 1999) ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่าง ตัวทำละลายจึงสามารถเลือกได้ทั้งตัวทำละลายที่มีขี้้วมาก เช่น น้ำ ในการสกัดสารกลุ่ม แทนนิน หรือ catechin (García-Marino *et al.*, 2006) หรือตัวทำละลายที่มีขี้้วลดลงมา เช่น เอทานอล เมทานอล dimethylformamide อะซิโตน ไนไตร์ หรือตัวทำละลายที่เป็นส่วนผสมของตัวทำละลายมีขี้้วมากและตัวทำละลายมีขี้้วรองลงมาในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน เช่น เอทานอล (เอทานอล : น้ำ) ร้อยละ 80 ร้อยละ 70 ร้อยละ 50 (Vermeris and Nicholson, 2006) หรือเมทานอล (เมทานอล : น้ำ) ร้อยละ 80 ร้อยละ 70 ร้อยละ 50 ในหลายงานวิจัยที่ใช้เมทานอลร้อยละ 50 ร่วมกับความร้อนในการสกัดสารกลุ่มกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอล เช่นงานวิจัยของ Häkkinen *et al.* (1998, 1999) และ Hertog *et al.*, 1992a) และนอกจากนี้อาจใช้กรด หรือด่างร่วมกับความร้อนในการไฮโดรไลสฟัสน้ำตาลโคซิดิก (Brito *et al.*, 2007b) ในการสกัดสารกลุ่มแอนโทไซยานินจะมีการเติมกรดในปริมาณร้อยละ 0.1 – 10 ร่วมในการสกัด เช่น กรดมาลิก กรดอะซิติก กรดไฮโดรคลอริก กรดฟอร์มิก กรดซิตริก ซึ่งในงานวิจัยของ Downey *et al.*

(2007) ได้ทดลองเติมกรดชนิดต่าง ๆ ลงในสารสกัด และทดสอบความคงตัวเมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การเติมกรดสามารถให้ความคงตัวของสารมัลวินินไกลโคไซด์ และควอเซตินไกลโคไซด์ เมื่อเวลาผ่านไปใกล้เคียงกับการไม่เติมกรดลงในการสกัด ยกเว้นการเติมกรดไฮโดรคลอริกที่ทำให้ปริมาณควอเซตินไกลโคไซด์และมัลวินินไกลโคไซด์บางชนิดมีปริมาณเพิ่มขึ้น หรือลดลงในการเก็บรักษา

ในตารางที่ 7 แสดงตัวอย่างการใช้สภาวะต่าง ๆ ในการสกัดสารประกอบฟีนอลในตัวอย่างพืชและผลไม้ชนิดต่าง ๆ ทั้งในตัวอย่างสด ตัวอย่างแห้งและน้ำผลไม้ ซึ่งสารสกัดที่นำมาใช้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับความเหมาะสมในตัวอย่างนั้น ๆ นอกจากนี้ยังมีการไฮโดรไลสน้ำตาลด้วยกรดและความร้อน รวมถึงมีการเติมสารต้านออกซิเดชันลงไปในสารสกัดอีกด้วย เช่นใน berry ซึ่งต้องการสกัดและวิเคราะห์โมริเชตินและ

ควอเซติน โดยมีการสกัดตัวอย่างแบบ reflux ที่อุณหภูมิ 85 °C ด้วยน้ำและเมทานอลในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 และเติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1.2 โมลาร์

ตารางที่ 7 สภาวะในการสกัดสารประกอบฟีนอล ในผักผลไม้ต่าง ๆ

Matrix	Aglycone to be hydrolysed	Antioxidant	Condition: concentration relating to the final volume
Dried herb	quercetin	—	Water–methanol (2.5:1), 2 M HCl, 1 h, reflux
Fresh fruit	quercetin, kaempferol	—	Water–methanol (1:1), 1 M HCl, 1 h
Onion	quercetin,	SDDC, 20 mM	Water–methanol (1:1), 1.2 M HCl, 90 °C, 2 h
Celery	apigenin, luteolin	SDDC, 20 mM	Water–methanol (1:1), 2 M HCl, 90 °C, 4 h
Tea leaves	myricetin, quercetin, kaempferol	—	6 M HCl, 2 h
Dried herb	genistin, isoquercetin, ononin, daidzein	—	70% ethanol–2 M HCl (1:2), reflux, 3 h
Dried apple, pear	9 aglycones ¹	80 mg BHT	Water–methanol (1:1), 1.2 M HCl, 90 °C, reflux, stb, 2 h, 4 h (red wine)
Berries	myricetin, quercetin	TBHQ	Water–methanol (1:1) 1.2 M HCl, 2 h, 85 °C, reflux

ตารางที่ 7 (ต่อ)

Matrix	Aglycone to be hydrolysed	Antioxidant	Condition: concentration relating to the final volume
Cranberry	catechin, myricetin, quercetin	80 mg AscA/50 mL	3 M HCl, 35 °C, 16 h (N ₂ , stirring)
Orange juice	quercetin	—	1.5 M HCl, 1 h, model study

หมายเหตุ BHT: butylated hydroxytoluene (antioxidant) ; —: no data available; TBHQ: *tert*-butylhydroxyquinone (antioxidant); SDDC: sodium diethyl dithiocarbamate; AscA: ascorbic acid, stb: steam bath, h= hour, nine aglycones¹: Found 9 aglycone (not shown)

ที่มา: Molnar-Perl and Fuzfai (2005)

2. การวิเคราะห์ชนิดกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี High Performanc Liquid Chromatography (HPLC)

การวิเคราะห์และจำแนกชนิดของสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ สามารถใช้วิธีทางโครมาโตกราฟี ได้หลายวิธี เช่น TLC (thin layer chromatography) GC (gas chromatography) แต่วิธีที่นิยมใช้ในงานวิจัยต่าง ๆ คือวิธี HPLC ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ความดันสูงเพื่อบังคับวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ไหลผ่านคอลัมน์ขนาดเล็ก ที่มีวัฏภาคคงที่ (stationary phase) ที่มีอนุภาคขนาดประมาณ 5-40 ไมโครเมตร โดยมีหมู่ฟังก์ชันหรือคุณสมบัติที่จำเพาะต่อสารที่ต้องการแยกเคลื่อนอยู่บนพื้นผิว ปกติโดยทั่วไปสารที่ใช้จะเป็นซิลิกา หรืออะลูมินา ส่วนหมู่ฟังก์ชันที่ใช้เกิดจากการทำปฏิกิริยากับ silanol group ที่ผิวของ silica ชนิดของ silane reagent ที่นิยมใช้คือ chlorodimethylsilane ที่มี R-group เป็น functional group ต่าง ๆ ถ้าเป็น C₁₈H₃₇ นิยมเรียก คอลัมน์ C18 หรือเป็นหมู่ฟังก์ชันอื่น ๆ เช่น C₈H₁₇ นิยมเรียกคอลัมน์ C8, cyano หรือ phenyl (Oliver, 1989)

วิธีการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลด้วยวิธี HPLC ก่อนข้างหลากหลาย ขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยทั่วไปแล้วมีหลักการที่คล้ายกัน การแยกสารมักใช้คอลัมน์ในระบบ reverse phase ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นคอลัมน์ชนิด bonded phase ชนิด C18 และใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) แบบ gradient ซึ่งสารที่นิยมใช้ ส่วนใหญ่เป็นสารผสมของสารที่มี polarity แตกต่างกัน เช่น เมทานอล, อะซิโตน ไนไตรล์, บัฟเฟอร์ หรือน้ำ โดยส่วนใหญ่จะถูกปรับสภาพให้เป็นกรดเล็กน้อยด้วยกรดชนิดต่าง ๆ การ

วิเคราะห์ชนิดและปริมาณจะนิยมใช้ ultraviolet detection หรือ diode array detection ถ้าต้องการวิเคราะห์โครงสร้างจะนิยมใช้ mass spectrometer

การดูดกลืนแสงของสารประกอบฟีนอล ขึ้นอยู่กับวงเบนซีนและหมู่ฟังก์ชันที่เกาะอยู่บนวงเบนซีน โดยความยาวคลื่นหลักมีสามช่วง คือ 250-285 นาโนเมตร แสดงการดูดกลืนคลื่นแสงของวงแหวน A ส่วนช่วงที่สองคือ 320-385 นาโนเมตร และ 450-560 นาโนเมตร จะแสดงการดูดกลืนคลื่นแสงของวงแหวน B (Rice-ewan *et al.*, 1995) โดยการให้อ่านค่าความยาวคลื่นช่วงต่าง ๆ จะเหมาะสมกับชนิดของสารที่ต้องการวิเคราะห์ ดังแสดงในตารางที่ 8

Brito *et al.* (2007b) ทำการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอลและแอนโธไซยานินใน cashew apple (*Anacardium occidentale*) ด้วยวิธี HPLC-DAD-ESI-MS (HPLC- diode array detection- electron spray ionization- mass spectrometric) ทั้งโครงสร้างอะไกล โคนและไกล โคไซด์ โดยใช้คอลัมน์ชนิด Reverse-phase รุ่น Water Symmetry C-18 มีวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) 2 ชนิด คือ กรดฟอร์มิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในน้ำและ กรดฟอร์มิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในไดแก์ อะซิโตไนไตรด์ เคลื่อนที่ด้วยความเร็ว 1 มิลลิลิตร/นาที ควบคุมอุณหภูมิภายในคอลัมน์เป็น 25 °ซ ใช้ตัวอย่าง 10 ไมโครลิตรในการวิเคราะห์แต่ละครั้งและใช้ photodiode-array เป็น detector เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณ และต่อกับ ESI-MS เพื่อวิเคราะห์โครงสร้างที่พบ

Hertog *et al.* (1992a) ทำการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ในผักและผลไม้ด้วยวิธี HPLC-UV (HPLC-ultra violet) โดยใช้คอลัมน์ชนิด Nova-Pak C18 ควบคุมอุณหภูมิคอลัมน์อยู่ที่ 30 °ซ มีวัฏภาคเคลื่อนที่สองชนิดคือ อะซิโตไนไตรด์ความเข้มข้นร้อยละ 25 ในสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 0.025 โมลาร์ พีเอช 2.4 และเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 45 ในสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 0.025 โมลาร์ พีเอช 2.4 ใช้อัตราเร็วในการไหล 0.9 มิลลิลิตร/นาที ใช้ตัวอย่าง 10 ไมโครลิตรในการวิเคราะห์แต่ละครั้ง และใช้ UV detector ที่ความยาวคลื่น 370 นาโนเมตร

Leucuta *et al.* (2005) ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี HPLC-DAD (HPLC-diode array detection) ในตัวอย่าง *Geranium sanguineum* ทั้งโครงสร้างอะไกล โคนและไกล โคไซด์ ด้วยวิธี HPLC โดยใช้คอลัมน์ชนิด Reverse-phase รุ่น Zorbax C-18 มีวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) 2 ชนิด คือ เมทานอล และ KH_2PO_4 บัฟเฟอร์ความเข้มข้น 40 มิลลิโมล pH 2.3 เคลื่อนที่ด้วยความเร็ว 1 มิลลิลิตร/นาที ควบคุมอุณหภูมิภายในคอลัมน์เป็น 48 °ซ ใช้ตัวอย่าง 10 ไมโครลิตรในการวิเคราะห์แต่ละครั้งและใช้ photodiode-array เป็น detector

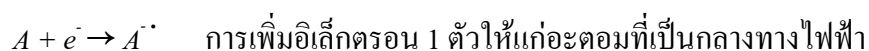
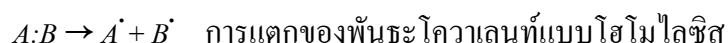
ตารางที่ 8 ความยาวคลื่นที่ใช้ในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์

ความยาวคลื่น	สาร	ที่มา
280 nm	Gallic acid, Epigallocatechin, Catechin, Vanillic acid, Syringic acid, Epicatechin, Epigallocatechin gallate, Epicatechin gallate, Naringin	Kim and Lee (2002), Rice-evan <i>et al.</i> (1995), Leucuta <i>et al.</i> (2005)
330 nm	Chlorogenic acid, Caffeic acid, <i>p</i> -Coumaric acid, Sinapic acid, Ferulic acid, Resveratol, Cinnamic acid, Rutin, Rhoifolin, Quercitrin, Myricetin, Luteolin, Quercetin, Apigenin, Kaempferol	Leucuta <i>et al.</i> (2005)
370 nm	Rutin, Rhoifolin, Quercitrin, Myricetin, Luteolin, Quercetin, Apigenin, Kaempferol	Kim and Lee (2002)
520 nm	Kuromanin, Malvin, Keracyanin, Delphinidin, Oenin, Cyanidin, Pelargonidin, Peonidin, Malvidin	Kim and Lee (2002), Brito <i>et al.</i> (2007b)

สารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) หมายถึงสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งปฏิกิริยาที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของออกซิเจน หรือเพอร์ออกไซด์ (peroxide) หรือความหมายในทางชีววิทยาที่คนทั่วไปเข้าใจก็คือ สารสังเคราะห์หรือสารจากธรรมชาติที่ใส่เติมเข้าไปในผลิตภัณฑ์แล้วมีความสามารถในการยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาการเสื่อมสลายที่เกิดจากก๊าซออกซิเจนในอากาศ (tocopherol) นอกจากนี้ความหมายในทางชีวเคมีและการแพทย์จะหมายถึงเอนไซม์หรือสารอินทรีย์ เช่นวิตามินอี หรือเบต้าแคโรทีน ที่มีความสามารถยับยั้ง ชกเลิก หรือย้อนกลับความเสียหายที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในเซลล์สัตว์ (Huang *et al.*, 2005)

สารที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือเรียกว่าอนุมูลอิสระ ซึ่งหมายถึง อะตอมหรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนโคเวเลนต์อยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง คำจำกัดความนี้รวมถึงอะตอมของไฮโดรเจนและไอออนของโลหะทรานซิชันส่วนใหญ่ และรวมถึงโมเลกุลออกซิเจน สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูลอิสระแสดงด้วยจุด ในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมีเช่น อนุมูลอิสระ $A^\cdot$, อนุมูลอิสระ A^- และอนุมูลอิสระ A^{+} อนุมูลอิสระที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่า อนุมูลอิสระที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เนื่องจากอิเล็กตรอนเดี่ยวจะไม่เสถียรและพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวอื่น (โอภา และคณะ, 2550) การเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายกลไกที่แตกต่างกันดังนี้



อนุมูลอิสระที่มีบทบาทในทางชีววิทยาแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive nitrogen species, RNS) และกลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive chlorine species, RCS) มีหลายประเภท ดังแสดงในตารางที่ 9 (โอภา และคณะ, 2550)

ตารางที่ 9 อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชัน

อนุมูลอิสระ	สารที่เกี่ยวข้อง
Reactive oxygen species, ROS	
Superoxide, superoxide anion $O_2^{\cdot -}$	H_2O_2 , Ozone O_3
Hydroxyl, $\cdot OH$,	Hypobromous acid, HOBr
Hydroperoxyl, $H O_2^{\cdot}$	Hypochlorous acid, HOCl
Peroxyl, $R O_2^{\cdot}$	Singlet oxygen, ${}_1O_2$
Alkoxy, $RO^{\cdot}$	Organic peroxide, ROOH
Carbonate, $CO_3^{\cdot -}$	Peroxynitrite, $ONOO^{\cdot -}$
Carbondioxide, $CO_2^{\cdot -}$	Peroxynitrous acid, ONOOH
Reactive nitrogen species, RNS	
Nitric oxide, $NO^{\cdot}$	Nitrous acid, HNO_2
Nitrogen dioxide, $NO_2^{\cdot}$, $NO_2^{\cdot -}$	Nitrosyl cation, NO^+ Nitrosyl anion, $NO^{\cdot -}$
	Dinitrogen tetroxide, N_2O_4 , Dinitrogen tetroxide, N_2O_3
	Peroxynitrite, $ONOO^{\cdot -}$, Peroxynitrous acid, ONOOH
	Nitronium (nitryl) cation, NO_2^+
	Alkyl peroxynitrites, ROONO
Reactive chlorine species, RNS	
Atomic chlorine, Cl	Hypochlorous acid, HOCl
	Nitryl (nitronium) chloride, NO_2Cl
	Chloramines Chlorine gas, Cl_2
Others	
Thieryl radical ($RS^{\cdot}$)	

ที่มา: โอภา และคณะ (2550)

1. วิธีวิเคราะห์จากการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน (hydrogen atom transfer, HAT)

วิธีการที่ใช้หลักการของ HAT จะวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในการขจัดอนุมูลอิสระโดยวิธีการให้อะตอมไฮโดรเจน ดังแสดงในสมการที่ 1



เมื่อ $X\cdot$ = สารประกอบต่าง ๆ

AH = สารต้านออกซิเดชัน

ในการหาดัชนี TAC (Total Antioxidant Capacity) เป็นการวัดความสามารถในการแข่งขันกันในการจับอนุมูลอิสระ ปฏิกิริยา HAT ไม่ขึ้นกับตัวทำละลายและค่า pH แต่ถ้าเกิดมีสารรีดิวซ์หรือโลหะอยู่ด้วยจะทำให้การวิเคราะห์ ซับซ้อนและส่งผลให้มีความมากกว่าความเป็นจริง (โอภา และคณะ, 2550) ส่วนกลไกในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันแสดงในสมการที่ 2-9 (Huang *et al.*, 2005) ตัวอย่างดัชนีวัดได้แก่ oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay และ total radical trapping antioxidant parameter (TRAP) assay

Initiation



Propagation

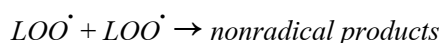


Inhibition



Termination





----- สมการที่ 9

เมื่อ $R_2 N_2$ = สารประกอบอะโซ (azo compound)

$ROO^{\bullet}$ = อนุมูลเพอร์ออกซิล (peroxyl radical)

LH = สารตั้งต้น (substrate)

AH = สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant)

ในงานวิจัยนี้ขอกล่าวถึงวิธี ORAC ซึ่งเป็นวิธีการโดยอ้อมอีกวิธีหนึ่ง วิธี ORAC ใช้หาดัชนี TAC โดยเป็นปฏิกิริยาที่เกิดการแข่งขันระหว่างสารต้านออกซิเดชัน กับสารตั้งต้นของปฏิกิริยา โดยจะมีการกระตุ้นสารประกอบอะโซ (azo compounds) ด้วยความร้อนให้เกิดการสลายตัวกลายเป็นอนุมูลเพอร์ออกซิลเพื่อเป็นตัวแทนอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ วิธีการในกลุ่มนี้ จะวัดการเรืองแสงของสารฟลูออเรสเซนต์ โดยอนุมูลอิสระเพอร์ออกซิลจะทำปฏิกิริยาเปลี่ยนสารที่ให้แสงฟลูออเรสเซนต์ ไปเป็นสารที่ไม่ให้แสงฟลูออเรสเซนต์ โดยเมื่อมีการเติมสารต้านออกซิเดชัน สารต้านออกซิเดชันจะไปแย่งจับสารเรืองแสง ส่งผลให้ความเข้มสารฟลูออเรสเซนต์ลดลงด้วยความเร็วที่ช้าลง หากในระบบมีปริมาณสารต้านออกซิเดชันน้อยหรือประสิทธิภาพต่ำจะทำให้ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนต์ลดลงอย่างรวดเร็ว แต่ถ้าปริมาณสารต้านออกซิเดชันมากและประสิทธิภาพสูงความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนต์จะลดลงช้า เนื่องจากอนุมูลอิสระต้องทำปฏิกิริยากับสารต้านออกซิเดชันจนหมดก่อนแล้วจึงทำปฏิกิริยากับฟลูออเรสเซนต์ วิธีนี้นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง และสามารถใช้ได้ทั้งการวัดกิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันในพืชและระบบร่างกายในช่วงแรกของการพัฒนาวิธีนี้มีการใช้ B-PE (B-phycoerythrin) แต่ B-PE มีข้อเสียหลายประการ ได้แก่ B-PE ผลิตมาจาก *Porphyridium cruentum* ทำให้ในแต่ละครั้งการผลิตมีความแปรปรวนค่อนข้างสูง นอกจากนั้น B-PE แสงฟลูออเรสเซนต์จะลดลงเมื่อถูกแสง และประการสุดท้าย B-PE จะทำปฏิกิริยากับสารพอลิฟีนอล โดยเฉพาะโปรแอนโทไซยานินแล้วแสงฟลูออเรสเซนต์ลดลง แม้ยังไม่ได้เติมสารที่ผลิตอนุมูลอิสระลงไปในระบบก็ตาม ทำให้ภายหลังเปลี่ยนมาใช้ฟลูออเรสเซนต์ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ทดแทนการใช้ B-PE (โอภา และคณะ, 2550)

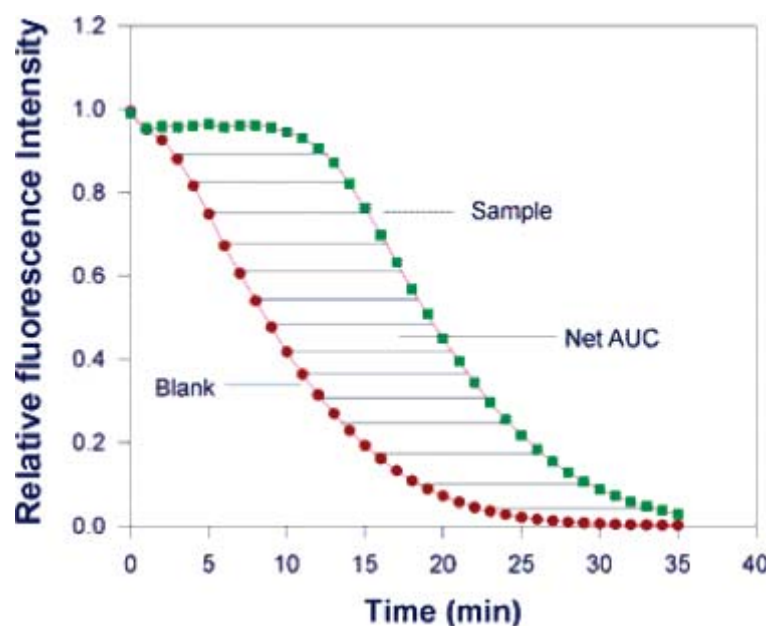
วิธี ORAC เป็นการรวมกันระหว่างการหาค่าเวลาในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (inhibition time) และปริมาณการยับยั้งอนุมูลอิสระ ในขณะที่วิธีการอื่นมักหาค่าเวลาในการยับยั้ง เมื่อกำหนดปริมาณการยับยั้งอนุมูลอิสระ หรือหาปริมาณในการยับยั้งอนุมูลอิสระเมื่อกำหนดระยะเวลา (Huang *et al.*, 2005) การวัดค่าด้วยวิธี ORAC นี้ เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่ดีขึ้นควรใช้ปีเปิดชนิดหลายทาง (multichannel) เพื่อใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างลงในไมโครเพลตให้สั้นที่สุด ควบคู่กับเครื่องอ่านค่าพร้อมมาตรฐาน 96 หรือ 48 หลุม นอกจากนั้นวิธีนี้ค่อนข้างไวต่ออุณหภูมิ จึงต้องควบคุมทั้งอุณหภูมิภายในเครื่อง และอุณหภูมิของบัฟเฟอร์ที่นำมาใช้ให้อยู่ที่ 37 °C ก่อนนำมา

ละลายสาร AAPH สิ่งสำคัญอีกเรื่องหนึ่งคือในการทดลองแต่ละครั้งไม่ควรใช้เวลาเกิน 1 ชั่วโมง เนื่องจากสารหมดประสิทธิภาพ (Prior *et al.*, 2003)

การวิเคราะห์ผลของ ORAC จะใช้เวลาประมาณ 30 นาที เพื่อให้ได้ค่าที่ถูกต้องสมบูรณ์ ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 14 นำผลที่ได้ คำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟ (area under curve, AUC) แล้วคำนวณเป็นค่าพื้นที่ใต้กราฟสุทธิ (net AUC) นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ Trolox (Y) (μM) กับพื้นที่ใต้กราฟ (X) ค่าที่ได้แสดงเป็นค่าที่สมมูลกับสารมาตรฐาน trolox หรือ trolox equivalent (TE) มีหน่วยเป็นไมโครโมลเทียบเท่าของ Trolox ต่อสารตัวอย่าง 1 ลิตร หรือ 1 กรัม (μM ของ TE/L หรือ μM ของ TE/g) (โอภา และคณะ, 2550) ซึ่งสมการในการยับยั้งแสดงในสมการที่ 10-13 (Huang *et al.*, 2005)



เมื่อ PH = สารตัวแทนสารตั้งต้น (oxidized probes)



ภาพที่ 14 การลดลงของความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพันธ์ของตัวอย่างและสารมาตรฐาน
ที่มา: Prior *et al.* (2005)

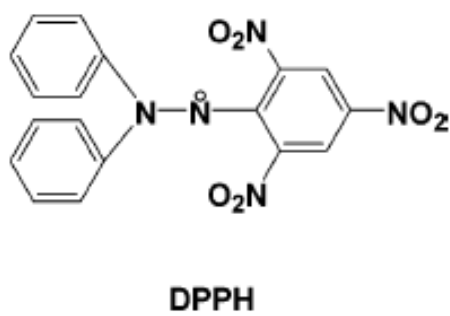
2. วิธีวิเคราะห์จากการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (electron transfer, SET หรือ ET)

วิธีวิเคราะห์โดยใช้หลักการ SET เป็นการหาค่าในการส่งผ่านอิเล็กตรอนไปรีดิวซ์สารอื่น ได้แก่ โลหะและอนุมูลอิสระ สารต้านออกซิเดชันจะขจัดอนุมูลอิสระโดยกลไก HAT และ SET ซึ่งให้ผลผลิตเหมือนกันในขั้นสุดท้าย แม้ว่าจะมีกลไกทางจลนศาสตร์และเกิดสารข้างเคียงที่แตกต่างกันดังแสดงในสมการที่ 14-16 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในกลไก SET ให้ผลเช่นเดียวกับสมการกลไกของ HAT (สมการที่ 1) ในการวิเคราะห์จะเกิดกลไกทั้งสองคือ HAT และ SET ควบคู่กันไปเสมอ วิธี SET จะเปรียบเทียบความสามารถในการทำให้โปรตรอนหลุดออกจากโมเลกุล และการแตกออกเป็นอออน (โอภา และคณะ, 2550)



วิธีการ SET นี้จะวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในปฏิกิริยารับของตัวรับอิเล็กตรอน ปฏิกิริยานี้จะมีการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อเกิดการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอน โดยการเปลี่ยนสีจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชัน คือถ้าสารต้านออกซิเดชันมีความเข้มข้นมากสีของสารละลายก็จะลดลงเร็วขึ้น วิธีการในกลุ่มนี้ ได้แก่ total phenols assay by Folin-Ciocalteu reagent (FCR), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH) assay, trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay หรือ ABTS และ ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay (Huang *et al.*, 2005)

ในงานวิจัยนี้ขอกล่าวถึงวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay) ซึ่งเป็นวิธีการวัด TAC แบบทางตรง โดยวิธีนี้จะวัดความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical หรือ DPPH ดังภาพที่ 15 โดย DPPH เป็นสารอนุมูลในโตรเจนที่ค่อนข้างคงตัว โดยขณะเริ่มต้นการทดลองจะให้สารสีเข้ม เมื่อเกิดปฏิกิริยามากขึ้นสารจะมีสีซีดจางลง ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ตามระยะเวลาที่กำหนด หากในระบบมีปริมาณสารต้านออกซิเดชันมาก สีของสารละลายก็จะลดลงเร็ว กลไกของการเกิดปฏิกิริยาแสดงในสมการที่ 15 ค่าที่ได้สามารถแสดงได้หลายรูปแบบ ได้แก่ แสดงเป็นร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% radical scavenging activity), ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ ร้อยละ 50 จากปริมาณอนุมูลอิสระเริ่มต้น (IC50) หรือค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (antiradical efficiency, AE)



ภาพที่ 15 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH

ที่มา: Prior *et al.* (2005)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุดิบ

จากข้อมูลของศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ซึ่งได้จัดทำข้อมูลลักษณะของสายพันธุ์ผลหว่า (Syzygium cumini) ที่เพาะปลูก ณ ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง โดยแบ่งออกตามลักษณะทรงผลและขนาด 3 ประเภทคือ ประเภทแรก มีผลทรงรีขนาดเล็ก (1.0 x 1.6 ซม.) เนื้อผลน้อย มีรสฝาดมากไม่เป็นที่นิยมในการรับประทานสด ประเภทที่สอง มีผลทรงกลมขนาดเล็ก (1.4 x 1.6 ซม.) มีเนื้อน้อย มีรสฝาดมากไม่เป็นที่นิยมในการรับประทานสด และประเภทที่สาม ผลมีทรงรีขนาดใหญ่ (2.0 x 3.0 ซม.) มีเนื้อมาก รสฝาดเล็กน้อยเป็นที่นิยมในการรับประทานสด โดยสายพันธุ์ทั้งหมดอยู่ในระหว่างกระบวนการปรับปรุงสายพันธุ์ ซึ่งในประเทศไทยยังไม่มีมีการแยกสายพันธุ์และเพาะปลูกเพื่อการบริโภคอย่างจริงจัง ผลหว่านี้เป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่สูงประมาณ 15-30 เมตร มักออกผลที่ปลายกิ่ง เมื่อผลสุกหลุดออกจากต้นแล้วจะเน่าเสียอย่างรวดเร็ว ในการทดลองนี้เลือกใช้ผลหว่าที่ขึ้นตามธรรมชาติอยู่ภายในบริเวณสถาบันวิจัยฯ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ซึ่งผลสุกมีขนาดผลใหญ่ (2.3 x 3.0 ซม.) เนื้อมาก รสชาติฝาดเล็กน้อย ผลมีลักษณะใกล้เคียงกับที่ชาวบ้านเก็บมาขาย และง่ายต่อการจัดเก็บตัวอย่างเพื่อเปรียบเทียบอายุการบริบูรณ์ และเมื่อเปรียบเทียบลักษณะดอก ทรงผลและขนาด แล้วยังใกล้เคียงกับพันธุ์ ที่มีขนาดผลใหญ่ในการแบ่งสายพันธุ์ของสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยจัดเก็บในช่วงปลายเดือนเมษายน ถึงต้นเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2548 และ 2549 ซึ่งตัวอย่างผลหว่าจะมีช่วงอายุการบริบูรณ์ 4-16 วัน โดยเริ่มนับอายุตั้งแต่ผสมเกสร

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีสำหรับการสกัดตัวอย่างผลหว่าเพื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC

2.1.1 เมทานอล (Methanol; CH₃OH: analytical grade: Lab-Scan, Thailand)

2.1.2 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid 37%; HCl: analytical grade: Merck, Germany)

2.1.3 กรดอะซิติก (Acetic acid) (Hydrochloric acid 37%; HCl: analytical grade: Merck, Germany)

2.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารด้วยวิธี HPLC

2.2.1 กรดฟอสฟอริก 85% (Phosphoric acid 85%; H_3PO_4 : analytical grade: Mallinckrodt Baker Inc., USA.)

2.2.2 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium dihydrogen phosphate; KH_2PO_4 : Analytical grade: Ajax Finechem, New Zealand)

2.2.3 เมทานอล (Methanol; CH_3OH : HPLC grade: Lab-Scan, Thailand)

2.2.4 ควอร์เซติน (Quercetin dehydrate 98%; $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: HPLC grade: sigma-aldrich Inc., Switzerland)

2.2.5 แคมพ์เฟอรอล (Kaempferol 90%; $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$: HPLC grade: sigma-aldrich Inc., Switzerland)

2.2.6 ไมริเซติน (Myricetin $\geq 96\%$; $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_8$: HPLC grade: Fluka., Germany)

2.2.7 กรดแกลลิก (Gallic acid 97%; $(\text{HO})_3\text{C}_6\text{H}_2\text{CO}_2\text{H}$: analytical grade: sigma-aldrich Inc., China)

2.2.8 กรดวานิลลิก (Vanillic acid $\geq 97\%$; $\text{HOC}_6\text{H}_3(\text{OCH}_3)\text{CO}_2\text{H}$: HPLC grade: sigma-aldrich Inc., Switzerland)

2.2.9 กรดเฟอร์ูลิก (Ferulic acid 99 %; $\text{HOC}_6\text{H}_3(\text{OCH}_3)\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{H}$: HPLC grade: sigma-aldrich Inc., Switzerland)

2.2.10 กรดพาราคูมาริก (p-Coumaric acid $\geq 98\%$ $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{H}$: HPLC grade: Fluka., Germany)

2.2.11 กรดซินนามิก (Cinnamic acid $\geq 97\%$; $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}=\text{CHCOOH}$: HPLC grade: sigma-aldrich Inc., Switzerland)

2.2.12 กรดไซแนปพิก (Sinapic acid $\geq 97\%$; $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_5$: HPLC grade: Fluka., Germany)

2.2.13 กรดซินนามิก (Cinnamic acid $\geq 97\%$; $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}=\text{CHCOOH}$: HPLC grade: sigma-aldrich Inc., Switzerland)

2.2.14 มัลวิดอินคลอไรด์ (Malvidin chloride $\geq 95\%$; $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{ClO}_7$: HPLC grade: Fluka., Germany)

2.2.15 ไซยานิดินคลอไรด์ (Cyanidin chloride $\geq 95\%$; $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClO}_6$: HPLC grade: Fluka., Germany)

2.2.16 เดลฟินิดินคลอไรด์ (Delphinidin chloride $\geq 95\%$; $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClO}_7$: HPLC grade: Fluka., Germany)

2.3 สารเคมีสำหรับการสกัดตัวอย่างผลหว่าเพื่อวัดปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ และปริมาณแอนโธไซยานิน

2.3.1 เมทานอล เช่นเดียวกับข้อ 2.1.1

2.3.2 กรดอะซิติก เช่นเดียวกับข้อ 2.1.3

2.4 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

2.4.1 โฟลิน-ซีโอเคาเทล (Folin-Ciocalteu reagent; Analytical grade: Fluka, Switzerland)

2.4.2 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate anhydrous; Na_2CO_3 ; Analytical grade: BDH Laboratory Supplies, England)

2.5 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

2.5.1 โซเดียมไนไตรท์ (Sodium nitrite; NaNO_2 ; Analytical grade: Carlo erba)

2.5.2 อะลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminum chloride; AlCl_3 ; Analytical grade: Ajax Finechem, Australia)

2.5.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH ; Analytical grade: Carlo erba)

2.5.4 เกทเทคิน ((+)-Catechin hydrate 98%; $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6 \cdot x\text{H}_2\text{O}$; Analytical grade: sigma-aldrich Inc., Japan)

2.6 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานิน

2.6.1 โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium Chloride; KCl ; Analytical grade: BDH Laboratory Supplies, England)

2.6.2 โซเดียมอะซิเตต (Sodium acetate; $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$; Analytical grade: BDH Laboratory Supplies, England)

2.6.3 กรดไฮโดรคลอริก เช่นเดียวกับข้อ 2.1.2

2.7 สารเคมีสำหรับการสกัดตัวอย่างผลหว่าเพื่อการวิเคราะห์กิจกรรมต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ ORAC

2.7.1 เมทานอล (Methanol) เช่นเดียวกับข้อ 2.1.1

2.7.2 กรดอะซิติก (Acetic acid) เช่นเดียวกับข้อ 2.1.3

2.7.3 เฮกเซน (Hexane; $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$; Analytical grade: J.T. Baker, USA.)

2.8 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH

2.8.1 เมทานอล (Methanol) เช่นเดียวกับข้อ 2.1.1

2.8.2 สาร 2,2'-ไดฟีนิล-1-ไพคริล-ไฮดราซิด (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl, DPPH; $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$; 90%, sigma-aldrich Inc., USA.)

2.9 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ORAC

2.9.1 กรดอะซิติก (Acetic acid) เช่นเดียวกับข้อ 2.1.2

2.9.2 อะซีโตน (Acetone; CH_3COCH_3 ; Analytical grade: Fisher, Scientific, UK.)

2.9.3 แทรพโซล แรนดอมลี เมทิลเลทเทด บีต้าไซโคลเดกทิน (Trappsol® Randomly Methylated Betacyclodextrin, RMCD: Technical grade: Cyclodextrin Technologies Development Inc., USA.)

2.9.4 ฟลูออเรสซีน (Fluorescein sodium salt: analytical grade: sigma-aldrich Inc., USA.)

2.9.5 สาร 2',2'-อะโซบิส (2-เมทิลโพรพิโอนามิดีน) ไดไฮโดรคลอไรด์ (2',2'-Azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride, AAPH; $[\text{=NC}(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{=NH})\text{NH}_2]_2 \cdot 2\text{HCl}$; 97%; sigma-aldrich Inc., Germany)

2.9.6 โซเดียม ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Sodium dihydrogenphosphate; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; analytical grade: Carlo erba)

2.9.7 ไดโซเดียม ไฮโดรเจนฟอสเฟต แอนไฮดรัส (di-sodium hydrogen phosphate anhydrous; Na_2HPO_4 ; analytical grade: Carlo erba)

2.9.8 ไฮดรอกซี-2,5,7,8-เตตระเมทิลโครแมน-2-คาร์บอกซีลิก แอซิด (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Trolox; $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4$; 97%; sigma-aldrich Inc., Germany)

3. อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1 อุปกรณ์งานครัว

3.2 อุปกรณ์เครื่องแก้ว

3.3 ใบมีดโกน (Razor: Gillett, Boston, USA)

3.4 ตะแกรงร่อน 35 mesh (Sieve: Endecotts Ltd., England)

3.5 เครื่องวัดสี (Colorimeter: 3500 D, Minolta, Japan)

3.6 เครื่องวัด pH (pH meter; PHB-62, Omega, Taiwan)

3.7 เครื่องสั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียง (Sonicator: Branson 22, Branson)

3.8 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Refrigerate centrifuge: RC 5C Plus, Sorval Instruments, USA.) พร้อมหัว

Rotor F28/36

3.9 เครื่องระเหยสารแบบลดความดัน (Evaporator: BÜCHI Labortechnik AG, Switzerland)

3.10 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer: Spectro 22, LaboMed, Inc., USA.)

3.11 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid

Chromatography: HP 1100, HEWLETT PACKARD, USA.)

3.12 เครื่องวัดการดูดกลืนแสงฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence spectrophotometer: FLUOstar

OPTIMA, BMG) พร้อม well plate สีดำ

3.13 เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-dryer: Wam industry equipment co., Ltd.,

Thailand)

3.14 Refractometer 0-32% Brix (Refractometer 0-32 % Brix, RHB-32, USA)

วิธีการ

1. การคัดแยกตัวอย่างตามช่วงอายุการบริบูรณ์

นำตัวอย่างผลหว่ามาล้างทำความสะอาด แยกสิ่งปนเปื้อน ผลที่เสียออก และผึ่งลมให้แห้ง จากนั้นนำมาแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม (ประมาณ 500 กรัมต่อกลุ่ม) โดยแยกกลุ่มตามการพัฒนาของสีและขนาดของผลหว่า ตามเกณฑ์ดังนี้

กลุ่มที่ 1 สีเขียวเข้มมีสีเขียวอ่อนปนไม่เกิน 1 ส่วน 4 ของพื้นที่ผิว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.0-1.5 เซนติเมตร อายุประมาณ 4-6 วัน

กลุ่มที่ 2 สีเขียวอ่อนมีสีเขียวเข้มปนไม่เกิน 1 ใน 4 ของพื้นที่ผิว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.5-1.7 เซนติเมตร อายุประมาณ 7-9 วัน

กลุ่มที่ 3 สีเขียวอ่อนเริ่มมีส่วนของสีม่วงแดงหรือสีชมพูไม่เกิน 3 ใน 4 ของพื้นที่ผิว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.7-2.0 เซนติเมตร อายุประมาณ 10-12 วัน

กลุ่มที่ 4 สีชมพูหรือสีม่วงแดงเต็มทั้งผล มีส่วนสีม่วงดำไม่เกิน 1 ใน 4 ของพื้นที่ผิว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.0-2.3 เซนติเมตร อายุประมาณ 13-15 วัน

กลุ่มที่ 5 สีม่วงดำ จนถึงสีดำเต็มทั้งผล ไม่มีสีอื่นปน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.3-2.7 เซนติเมตร อายุมากกว่า 16 วัน



ภาพที่ 16 สีและขนาดของผลพริก 5 ช่วงอายุการเจริญเติบโตจากกลุ่มที่ 5 (ซ้าย) ถึงกลุ่มที่ 1 (ขวา)

2. การหาความชื้นผลพริก

นำตัวอย่างผลพริกที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจนแห้ง บด และร่อนผ่านตะแกรงร่อนแล้ว มาหาความชื้นตามวิธี AOAC (2000) (รายละเอียดในการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวกที่ ก2 ทำการทดลอง ทั้งหมด 2 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan (Duncan's Multiple Range Test, DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม SPSS (Version 16)

3. การวัดปริมาณกรด ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดและ pH ในผลพริก

ทำน้ำคั้นของตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างผลพริกสดประมาณ 10 กรัม ที่ผ่านการแยกเมล็ดออกแล้ว ปั่น กรองและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

3.1. ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA, titratable acidity) ตามวิธี AOAC (2000) รายละเอียดแสดงใน ภาคผนวก ก1

3.2. ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (TSS, total soluble solid) ด้วย hand refractometer 0-32 Brix

3.3. pH วัดด้วยเครื่อง pH-meter

ทำการทดลองทั้งหมด 2 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan (Duncan's Multiple Range Test, DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม SPSS (version 16)

4. การวัดสีผลหว่า

นำตัวอย่าง ที่ผ่านการคัดแยกในข้อ 1 มาวัดสีด้วยเครื่องวัดสีในระบบ Hunter L a b ตัวอย่างละ 5 ซ้ำ เพื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่างผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน โดยนำมาคำนวณเป็นค่า L C H (Light, Chroma, Hue angle) ดังแสดงในสมการ วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan (Duncan's Multiple Range Test, DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม SPSS (Version 16)

$$Chroma = \sqrt{a^2 + b^2}$$

$$Hue\ angle = \arctan \frac{b}{a}$$

5. การเตรียมตัวอย่างส่วนเนื้อ (pulp) และส่วนเปลือก (skin)

ตัวอย่างที่ได้จากข้อ 1 ทั้ง 5 กลุ่ม หลังจากคัดแยกตัวอย่างเสร็จ และผึ่งจนแห้งที่อุณหภูมิห้อง นำมาแยกส่วนเปลือกและเนื้อ โดยแสดงส่วนประกอบของผลหว่าในภาพที่ 17 ตัวอย่างกลุ่มที่ 1 และ 2 ส่วนของเนื้อและเปลือกยังไม่พัฒนางานแยกจากกันอย่างชัดเจนจึงใช้มีดปลอกผลไม้ ปลอกส่วนเปลือกโดยไม่ให้มีสีเขียวติดอยู่ที่ส่วนเนื้อ ซึ่งเปลือกที่ได้จะหนาไม่เกิน 1 มิลลิเมตร และในกลุ่มตัวอย่างที่ 3 และ 4 ส่วนของเปลือกและเนื้อเริ่มพัฒนาแยกออกจากกัน สามารถใช้มีดปลายแหลมผ่าครึ่งผลหว่าและลอกส่วนเปลือกออกจากเนื้อได้โดยง่าย และในตัวอย่างกลุ่มที่ 5 เนื่องจากผลหว่าสุกจึงทำให้เนื้อค่อนข้างและสามารถแยกเปลือกออกจากเนื้อ โดยการผ่าครึ่งผลหว่าและใช้ใบมีดโกนลอกผิวออก เนื้อและเมล็ดแยกออกจากกันโดยการผ่าครึ่งและแยกส่วนเมล็ดออกโดยมีส่วนของ เปลือกที่หุ้มเมล็ดติดมาด้วย เปลือกและเนื้อทั้งหมดแช่ในโตรเจนเหลวทันที หลังจากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -40°C และส่งตัวอย่างไปทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dryer) ที่บริษัทแวมอุตสาหกรรมเครื่องมือกลจำกัด (Wam industry equipment Co., Ltd) โดยสภาวะที่ใช้แสดงในภาคผนวก ก3 จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งมาบดด้วยโกร่งและนำไปร่อนผ่านตะแกรงขนาด 35 mesh และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -40°C เพื่อรอการวิเคราะห์ ทุกตัวอย่างมีการบันทึกน้ำหนักสดก่อนนำไปจุ่มในไนโตรเจนเหลว และน้ำหนักแห้งหลังผ่านการทำแห้ง บด และร่อนแล้ว



ภาพที่ 17 ส่วนประกอบของผลหว่าอายุการบริบูรณ์ที่ 4

6. การสกัดตัวอย่างผลหว่าเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลด้วยวิธี HPLC

การสกัดดัดแปลงจากวิธีของ Brito *et al.* (2007b) โดยนำตัวอย่างแห้งที่ได้จากข้อ 5 มาชั่งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 0.500 กรัม ใส่ลงในหลอดสำหรับเครื่องหมุนเหวี่ยงขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารสกัดซึ่งประกอบด้วย เมทานอลร้อยละ 70 และกรดอะซิติก ร้อยละ 0.5 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทำการสกัดในเครื่องสั่นสะเทือนด้วยเสียง ที่ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ 150 วัตต์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นแยกส่วนใส่ออกจากตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนตะกอนไปสกัดอีกครั้งตามวิธีข้างต้น นำส่วนใสมารวมกัน กรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1 (whatman, USA) จากนั้นนำไประเหยสารสกัดออกและปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยสารสกัด นำสารที่ได้เก็บใส่ขวดสีชาที่อุณหภูมิ -40 °ซ ให้รหัสตัวอย่างส่วนเปลือกกลุ่มที่ 1-5 เป็น S1, S2, S3, S4 และ S5 และให้รหัสตัวอย่างส่วนเนื้อกลุ่มที่ 1-5 เป็น P1, P2, P3, P4 และ P5 ตามลำดับ ทำการสกัดเช่นเดียวกันนี้ 3 ครั้ง ได้เป็นสารสกัดตัวอย่างละ 3 ข้ว เพื่อนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ และปริมาณแอนโทไซยานิน และวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan (Duncan's Multiple Range Test, DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม SPSS (Version 16)

7. การไฮโครไลเซชันเพื่อการวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC)

ดัดแปลงจากวิธีของ Brito *et al.* (2007b) นำสารสกัดจากข้อ 2.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีฝาปิด ขนาด 10 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นร้อยละ 37 ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร และให้ความร้อนที่ 85°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นเติมเมทานอลร้อยละ 70 ซึ่งมีส่วนผสมของกรดอะซิติก ร้อยละ 0.5 ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร นำไปปั่นสะเทือนด้วยเครื่องปั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียงเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ไฮโดรไลส์แล้วมากรอง ผ่านแผ่นกรองตัวอย่าง (membrane) ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ชนิดรีเจนเนอเรตเซลลูโลส (RC) ก่อนนำไปใช้ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC

8. การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดฟีนอลิก ฟลาโวนอล และแอนโธไซยานินด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC)

ทำการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดฟีนอลิก ฟลาโวนอลและแอนโธไซยานิน ตามวิธีการของ Leucuta *et al.* (2005) ซึ่งการทดลองทั้งหมดใช้เครื่อง HPLC รุ่น Agilent 1100 (Hewlett Packard, USA) และแยกสารโดยใช้คอลัมน์ bonded phase ชนิด Reverse-phase รุ่น Zorbax C-18 (Agilent, USA) มีวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) 2 ชนิด คือ A : เมทานอล และ B : KH_2PO_4 บัฟเฟอร์ความเข้มข้น 40 มิลลิโมล pH 2.3 ซึ่งปรับ pH โดยใช้กรดฟอสฟอริก เข้มข้นร้อยละ 85 ส่วนที่ใช้เป็นระบบ gradient ด้วยปั๊มที่ quaternary gradient pump รุ่น G1311A ซึ่งอัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ และอัตราเร็วในการไหล ที่ใช้ในการวิเคราะห์ในช่วงเวลาต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 10 วัฏภาคเคลื่อนที่ทั้งหมดผ่าน degasser รุ่น G1322A ก่อนเข้าคอลัมน์ การวิเคราะห์แต่ละครั้ง ใช้สารสกัดตัวอย่างผลหว่าจากข้อ 6 ปริมาตร 10 ไมโครลิตร โดยฉีดตัวอย่างอัตโนมัติด้วยเครื่อง autosampler รุ่น G1311A ควบคุมอุณหภูมิภายในคอลัมน์เป็น 48 °C ด้วยทำความร้อนเครื่องรุ่น G1316A ใช้ UV ที่ความยาวคลื่นที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ 280, 330 และ 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่องรุ่น G1311A ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 35 นาที เว้นระยะเวลาหลังการวิเคราะห์ ก่อนทำการวิเคราะห์ตัวอย่างต่อไป 10 นาที สภาวะที่ใช้ทั้งหมดแสดงในภาคผนวก ก4

ตารางที่ 10 สัดส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ และอัตราเร็วในการไหล ในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน

เวลา (นาทีก)	A: เมทานอล (ร้อยละ)	B: ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ร้อยละ)	อัตราเร็วในการไหล (มิลลิลิตรต่อนาที)
0	5	95	1
35	42	58	1
38	42	58	1

การวิเคราะห์ชนิดสารใช้การเปรียบเทียบ peak ของกราฟสารมาตรฐาน แบบ external standard ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และนำพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานซึ่งคำนวณอัตโนมัติด้วยโปรแกรม chemstation มาสร้างสมการเพื่อนำมาคำนวณเทียบกับพื้นที่ของ peak ในตัวอย่าง แล้วนำมาคำนวณค่าที่ได้เป็นมิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ดังแสดงในภาคผนวก ก4 ตรวจสอบความถูกต้องของชนิดสารด้วยการ spike สารมาตรฐานเข้าไปในตัวอย่าง ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan (Duncan's Multiple Range Test, DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม SPSS (Version 16) สารมาตรฐานที่ใช้แสดงตามตารางที่ 11 ประกอบด้วยกลุ่มของกรดฟีนอลิก คือกรดแกลลิก (Gallic acid), กรควานิลลิก (vanillic acid), กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid), กรดพาราคูมาริก (*p*-coumaric), กรดซินนามิก (cinnamic), กรดไซแนปฟิก (sinapic acid), กรดซินนามิก (cinnamic acid) กลุ่มของฟลาโวนอลคือ คิวเคอร์เซติน (quercetin) แคมพ์เฟอร์อล (kaempferol) ไมริเซติน (myricetin) และกลุ่มของแอนโทไซยานินคือ มัลวิดอินคลอไรด์ (malvidin), ไซยานิดินคลอไรด์ (cyanidin), เดลฟินิดินคลอไรด์ (delphinidin) ซึ่งในการทดลองเบื้องต้นพบว่าการทดลองด้วยวิธีในงานวิจัยนี้พบกรดฟีนอลิกเพียงแค่ชนิดเดียวคือ กรดพาราคูมาริก จึงเลือกใช้ความยาวคลื่นที่ 330 และ 520 นาโนเมตรเท่านั้น

ตารางที่ 11 ชนิดของสารประกอบฟีนอลและความยาวคลื่นที่ใช้ใน HPLC

ความยาวคลื่น	ชนิดของสาร
280 นาโนเมตร	กรดแกลลิก (gallic acid), กรดวานิลลิก (vanillic acid), กรดเฟอร์ูลิก (Ferulic acid)
330 นาโนเมตร	กรดพาราความาริก (<i>p</i> -coumaric), กรดซินนามิก (cinnamic), กรดไซแนปฟิก (sinapic acid), กรดซินนามิก (cinnamic acid), ควอเซติน (quercetin) แคมพ์เฟอร์อล (kaempferol) ไมริเซติน (myricetin)
520 นาโนเมตร	คีมัลวิดิดินคลอไรด์ (malvidin), ไซยานิดินคลอไรด์ (cyanidin), เดลฟินิดินคลอไรด์ (delphinidin)

9. การสกัดเพื่อวัดปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic) ปริมาณฟลาโวนอยด์ (total flavonoid) ปริมาณโมโนเมอร์แอนโทไซยานินทั้งหมด (total monomeric anthocyanin) และ กิจกรรมสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ ORAC

การสกัดดัดแปลงจากวิธีของ Teow *et al.* (2007) ซึ่งสกัดตัวอย่างแยกเป็น 2 ส่วน คือ lipophilic และ hydrophilic เพื่อนำส่วน hydrophilic ไปวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic) ปริมาณฟลาโวนอยด์ (flavonoid content) ปริมาณโมโนเมอร์แอนโทไซยานินทั้งหมด (total monomeric anthocyanin) และ กิจกรรมสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ ORAC และส่วน lipophilic ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี ORAC ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan (Duncan's Multiple Range Test, DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม SPSS (Version 16)

9.1 การสกัดส่วน Lipophilic

นำตัวอย่างแห้งที่ได้จากข้อ 5 มาชั่งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 0.300 กรัม ใส่ลงในหลอดสำหรับเครื่องหมุนเหวี่ยงขนาด 100 มิลลิลิตร เติมหกเซนปริมาตร 25 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง Vortex เป็นเวลา 2 นาที กรองสารที่ได้ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (whatman, USA) ทำการสกัดด้วยเฮกเซนอีกครั้งตามวิธีการข้างต้น จากนั้นนำสารสกัดทั้งสองส่วนมารวมกันและนำไปประเหยจนแห้งด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดันที่อุณหภูมิ 50 °ซ จากนั้นละลายและปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร ด้วย RMCD ร้อยละ 7 ใน อะซิโตนร้อยละ 50 เก็บใส่ขวดสีชาที่อุณหภูมิ -40 °ซ ให้รหัสตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 5

9.2 การสกัดส่วน Hydrophilic

นำส่วนที่เหลือจากข้อ 9.1 มาสกัด 2 ครั้ง ด้วยสารสกัดกรดอะซิติก ร้อยละ 5 ในเมทานอล ร้อยละ 70 และ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร นำไปปั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียง ที่ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ 150 วัตต์ 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (whatman, USA) นำไประเหยจนแห้งด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดันที่อุณหภูมิ 50 °ซ จากนั้นละลายและปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยสารสกัด นำสารที่ได้เก็บใส่ขวดสีชาที่อุณหภูมิ -40 °ซ ให้รหัสตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 5

10. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic)

ทำการวิเคราะห์โดยดัดแปลงวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method ตามวิธีของ Teow *et al.* (2007) โดยนำสารสกัดตามข้อ 9.2 มา 0.5 มิลลิลิตร เติมนลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นอยู่ 5.0 มิลลิลิตร แล้วเติม Folin-Ciocalteu reagent 0.5 ไมโครลิตร ทิ้งไว้นาน 3 นาที หลังจากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 1 N ปริมาตร 1 มิลลิลิตร วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 60 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร ทำการวัดค่าเช่นเดียวกันนี้สารสกัดละ 3 ครั้ง นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ดังแสดงในภาคผนวกที่ ก5 แล้วคำนวณค่าเป็นมิลลิกรัมกรดแกลลิก ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง

11. การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ (flavonoid content)

ทำการวิเคราะห์ตามวิธีของ Wolfe *et al.* (2003) โดยนำสารสกัดตามข้อ 9.2 มา 250 ไมโครลิตร เติมนลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นอยู่ 1250 ไมโครลิตร ตามด้วยโซเดียมไนไตรท์ ร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเติมอะลูมิเนียมคลอไรด์ร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 6 นาที เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 275 ไมโครลิตร นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ทำการวัดค่าเช่นเดียวกันนี้สารสกัดละ 3 ครั้ง นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของเคทเทกิน ดังแสดงในภาคผนวกที่ ก6 แล้วคำนวณเป็นมิลลิกรัมเคทเทกินต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง

12. การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน

หาค่า Dilution factor (DF) โดยการเจือจางสารสกัดด้วย โพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.025 โมลลาร์ pH 1.0 และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 นาโนเมตร ให้ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 0.2-0.8 นำค่า DF ได้มาเจือจางตัวอย่างสารสกัดด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.025 โมลลาร์ pH 1.0 จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 และ 700 นาโนเมตร ได้เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ pH 1 จากนั้นเจือจางตัวอย่างสารสกัดด้วยสารละลายโซเดียมอะซิเตต ความเข้มข้น 0.4 โมลลาร์ pH 4.5 ด้วยค่า DF ที่ได้ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 และ 700 นาโนเมตร ได้เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ pH 4.5 วัดค่าการดูดกลืนคลีนแสงควบคุม โดยใช้ น้ำกลั่น แทนสารสกัด แสดงการคำนวณปริมาณโมโนเมอร์แอนโทไซยานินที่ภาคผนวก ก7

12.1 หาค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดเจือจาง โดยแทนค่าความยาวคลื่นที่วัดได้ลงในสมการ

$$A = (A_{530} - A_{700})_{pH1.0} - (A_{530} - A_{700})_{pH4.5}$$

เมื่อ A = การดูดกลืนแสงของสารสกัดเจือจาง

A_{530} = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร

A_{700} = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

12.2 คำนวณปริมาณแอนโทไซยานิน จากสมการ

$$\text{Monomeric anthocyanin (mg/l)} = \frac{(A \times MW \times DF \times 1000)}{(\epsilon \times 1)}$$

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดเจือจางที่ได้จากข้อ 5.4.1

MW = มวลโมเลกุลของ cyaniding-3-glucoside (449.2)

DF = Dilution factor

ϵ = Molar absorptivity (26900)

13. การวิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (Antioxidant Activity: DPPH Assay)

วิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical Scavenging Capacity Assay (DPPH) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Singh *et al.* (2002) คือนำสารสกัดตามข้อ 3 มาเจือจางด้วยเมทานอล ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วนำสารสกัดแต่ละความเข้มข้นมา 100 ไมโครลิตร เติมสารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าอย่างรุนแรง ทิ้งไว้ 20 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร แล้วจึงนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คำนวณเป็น % radical scavenging activity ดังสมการที่ 18 โดยค่าการดูดกลืนคลีนแสงควบคุม (control OD) หาได้จากการวิเคราะห์ตามวิธีข้างต้นแต่ใช้เมทานอลแทน ตัวอย่าง นำค่า % radical scavenging activity ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ มาสร้างกราฟ เพื่อบ่งชี้ค่าความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัม ในสารสกัด 1 มิลลิลิตร) ที่สามารถทำให้ค่า % radical scavenging activity ลดลงร้อยละ 50 (IC₅₀) แล้วนำค่า IC₅₀ มาคำนวณเป็นค่าประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Antiradical Efficiency, AE) ดังสมการที่ 19 (กราฟมาตรฐานของตัวอย่าง และวิธีการคำนวณแสดงในภาคผนวกที่ ข1)

$$\% \text{radical scavenging activity} = \frac{(\text{control OD} - \text{sample OD})}{\text{control OD}} \times 100 \quad \text{---- สมการที่ 18}$$

เมื่อ control OD = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม
sample OD = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

$$AE = \frac{1}{IC_{50}} \quad \text{----- สมการที่ 19}$$

เมื่อ AE = Antiradical Efficiency
IC₅₀ = ความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถทำให้ค่า % radical scavenging activity ลดลงร้อยละ 50

14. การวิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ORAC (Antioxidant Activity: ORAC Assay)

วิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Assay โดยดัดแปลงจากวิธีของ Prior *et al.* (2003)

14.1 การวิเคราะห์สารสกัดส่วน lipophilic

นำสารสกัดจากข้อ 9.1 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใส่ใน well plate เติมสารละลายฟลูออเรสซิน 200 ไมโครลิตร โดยใช้สารละลายฟลูออเรสซินที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 15 นาทีแล้ว หลังจากนั้นนำ well plate ไปใส่ในเครื่องวัดการดูดกลืนแสงฟลูออเรสเซนซ์ กำหนดให้ป้อนภายในเครื่องเติมสารละลาย AAPH (ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 ที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 30 นาที) (Prior *et al.*, 2003; Prior *et al.*, 2005) ความเข้มข้น 63.4 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ลงในหลุมแล้วทำการอ่านค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพัทธ์ (relative fluorescence intensity) ทันที โดยมีการตั้งค่าความยาวคลื่น excitation เป็น 480 นาโนเมตร และ emission เป็น 520 นาโนเมตร ทำการอ่านค่าทุก 65 วินาที (Cycle time) จนกว่าค่าที่อ่านได้จะมีค่าไม่เกิน ร้อยละ 5 ของค่าเริ่มต้น หรือใช้เวลาไม่เกิน 1 ชั่วโมง (Kurilich *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2002; Prior *et al.*, 2005) รายละเอียดการตั้งค่าการวัดแสดงในภาคผนวกที่ ข2 การวิเคราะห์ผลทำได้โดยหาพื้นที่ใต้กราฟของสารสกัด จากสมการระหว่างค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพัทธ์กับเวลา ดังแสดงในสมการที่ 20 แล้วนำไปลบออกด้วยพื้นที่ใต้กราฟของ blank แล้วจึงนำค่าไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน (กราฟมาตรฐาน และกราฟของตัวอย่าง ดังแสดงในภาคผนวกที่ ข2) โดยการสร้างกราฟมาตรฐานใช้ Trolox แทนสารสกัด และการหาค่า blank ใช้ RMCD ร้อยละ 7 แทนสารสกัด ค่าที่ได้คำนวณแสดงเป็นปริมาณของ Trolox ในหน่วยไมโครโมลต่อตัวอย่างแห้ง 100 กรัม

$$AUC = (0.5 + \frac{f_5}{f_4} + \frac{f_6}{f_4} + \frac{f_7}{f_4} + \dots + \frac{f_i}{f_4}) \times CT \quad \text{--- สมการที่ 20}$$

$$net\ AUC = AUC_{sample} - AUC_{blank} \quad \text{--- สมการที่ 21}$$

เมื่อ AUC = พื้นที่ใต้กราฟ (Area Under Curve)
 $4f$ = ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์เริ่มต้นเริ่มอ่านรอบที่ 4
 (initial fluorescence reading at cycle 4)

if = ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์เมื่ออ่านที่รอบที่ i
 (fluorescence reading at cycle i)
 CT = เวลาที่ใช้ต่อรอบ มีหน่วยเป็นนาฬิกา (Cycle time)

14.2 วิเคราะห์สารสกัดส่วน hydrophilic

ใช้สารสกัดจากข้อ 9.2 โดยมีวิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการวิเคราะห์สารสกัดส่วน lipophilic เพียงแตกต่างกันที่ใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 แทนสารละลาย RMCD ร้อยละ 7 คือ หากต้องเจือจางสารสกัด ให้เจือจางด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 และเติมสารละลาย AAPH ปริมาตร 37.5 มิลลิลิตร นอกนั้นมีการวิเคราะห์และการตั้งค่าต่าง ๆ เช่นเดียวกับการวิเคราะห์สารสกัดส่วน lipophilic การวิเคราะห์ผลทำได้โดยหาพื้นที่ใต้กราฟของสารสกัด จากสมการระหว่างค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพันธ์กับเวลา ดังแสดงในสมการที่ 20 แล้วนำไปลบออกด้วยพื้นที่ใต้กราฟของ blank แล้วจึงนำค่าไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน (กราฟมาตรฐาน และกราฟของตัวอย่าง ดังแสดงในภาคผนวกที่ ข2 โดยการสร้างกราฟมาตรฐานใช้ Trolox แทนสารสกัด และการหาค่า blank ใช้ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 แทนสารสกัด ค่าที่ได้คำนวณแสดงเป็นปริมาณของ Trolox ในหน่วยไมโครโมลต่อตัวแห้ง 100 กรัม

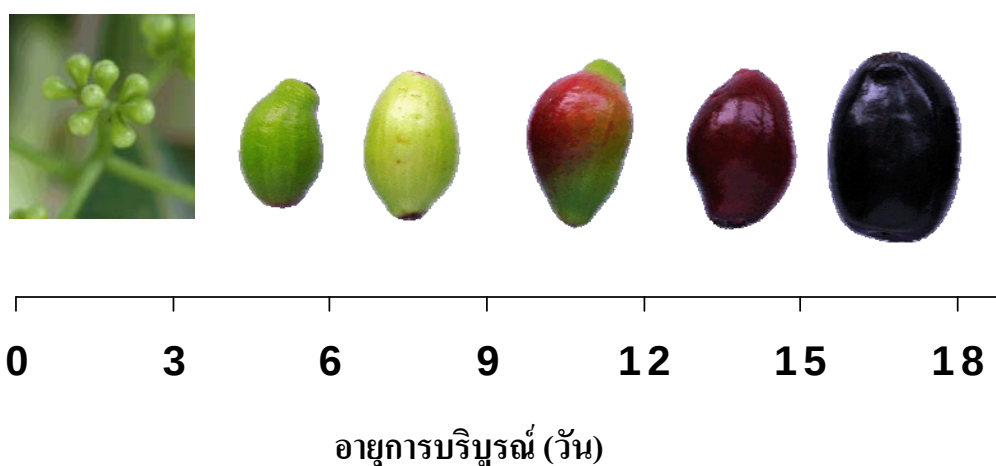
ผลและวิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้แบ่งการทดลองออกเป็นสองส่วน คือส่วนที่หนึ่งเป็นการศึกษาผลของอายุการบริบูรณ์ 5 ช่วงอายุ ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณฟลาโวนอยด์บางชนิดที่พบในส่วนของเปลือกและเนื้อของผลหว่า ซึ่งผลหว่าที่นำมาศึกษาอยู่ในช่วงการเจริญเติบโตจนพัฒนาเป็นผลสุก มีการเปลี่ยนแปลงของขนาดและสีอย่างชัดเจน โดยศึกษาฟลาโวนอยด์ในกลุ่มของ ฟลาโวนอล และแอนโธไซยานิน ด้วยวิธี HPLC รวมถึงการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณสารที่ได้จากวิธี HPLC เปรียบเทียบกับวิเคราะห์ปริมาณทั้งหมดของฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แอนโธไซยานิน ที่ได้จากวิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

ส่วนที่สองเป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันที่วัดด้วยวิธี DPPH และ ORAC โดยทำการเปรียบเทียบผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน 5 ช่วงอายุ ทั้งในส่วนเปลือกและเนื้อ เพื่อเป็นการศึกษาว่าอายุการบริบูรณ์มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอย่างไร และผลของการกระจายตัวของสารประกอบฟีนอลที่แตกต่างกันในเนื้อและเปลือกส่งผลอย่างไรต่อกิจกรรมของสารต้านออกซิเดชัน ซึ่งผลการทดลองที่ได้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานของผลหว่า และสามารถใช้เป็นส่วนหนึ่งในการพิจารณาใช้ประโยชน์จากผลหว่า เช่นการนำไปบริโภคสดหรือแปรรูป เพื่อให้ได้ประโยชน์จากสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์และความสามารถในการต้านออกซิเดชันมากที่สุด หรือในการสกัดสารให้สีควรใช้ส่วนไหนในผลหว่า เป็นต้น

1. ลักษณะทางเคมีและกายภาพของผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

ผลหว่าเกิดจากดอกสมบูรณ์เพศ ออกดอกลักษณะเป็นช่อกระจุก (cyme) มีเกสรตัวผู้จำนวนมากอยู่บนก้านเกสรที่เกาะติดอยู่กับส่วนของกลีบเลี้ยง มีรังไข่อยู่ใต้วงกลีบ (interior ovary) เมื่อเกสรได้รับการผสม ดอกจะหลุดร่วง รังไข่จะเริ่มพัฒนาเป็นผลโดยมีลักษณะเป็นผลเดี่ยว สีเขียวเป็นตุ่มเล็ก ๆ และเมื่อผลสุกจะมีสีน้ำเงิน-ดำ ขนาดประมาณ 2.3-2.7 เซนติเมตร หว่า 1 ดอกจะให้ผล 1 ผล ใน 1 ช่อกระจุก จึงมีผลหว่าจำนวนมากอยู่ในลักษณะเป็นพวงคล้ายองุ่น โดยดอกที่อยู่ข้างในจะพัฒนาเป็นผลก่อน จึงทำให้ผลหว่าในกลุ่มหนึ่ง ๆ มีอายุใกล้เคียงกัน ผลหว่าที่นำมาทดลองจัดเก็บภายบริเวณสถาบันวิจัยยาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ช่วงเดือน เมษายน – เดือนพฤษภาคม ประกอบด้วย 5 กลุ่มช่วงอายุการบริบูรณ์ โดยเริ่มนับอายุตั้งแต่ผสมเกสร และเกิดเป็นผลขนาดเล็ก ดังแสดงในภาพที่ 18 ตัวอย่าง W1-W5 มีอายุประมาณ 4 -6, 7-9, 10-12, 13-15 วัน และ W5 มีอายุมากกว่า 16 วันตามลำดับ



ภาพที่ 18 อายุของผลหว่า 5 ช่วงอายุการบริบูรณ์

W1 อายุประมาณ 4 -6 วัน, W2 อายุประมาณ 7-9 วัน, W3 อายุประมาณ 10-12 วัน, W4 อายุประมาณ 13-15 วัน, W5 อายุมากกว่า 16 วัน

ผลไม้ที่อยู่ในระหว่างกระบวนการสุกจะมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพ ในผลไม้หลายชนิด มีการเปลี่ยนแปลงสีจากสีเขียวเป็นสีแดงหรือม่วง (Pathange *et al.*, 2006) สูญเสียความแน่นเนื้อ เปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลและกรด เปลี่ยนแปลงรสชาติ กลิ่น และกลิ่นรส (Tomas-Barberan and Robins, 1997) ซึ่งในผลหว่าได้ติดตามการเปลี่ยนแปลงในเรื่องของ สี ขนาด pH ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (total soluble solid; TSS) และปริมาณกรด ที่ช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน ผลจากการศึกษาสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการแบ่งแยกอายุการบริบูรณ์ของผลหว่าตั้งแต่เริ่มพัฒนาผล จนถึงผลสุกจากการเปลี่ยนแปลงของ สี ขนาด pH ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด และปริมาณกรด

1.1 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพในเรื่องของสีและขนาดของผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

1.1.1 การเปลี่ยนแปลงขนาดของผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

ผลหว่าจะมีขนาดใหญ่ขึ้น เมื่ออายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้น โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในตัวอย่าง W1- W5 ซึ่งมีขนาด 1.36 ± 0.07 , 1.61 ± 0.08 , 1.90 ± 0.05 , 2.13 ± 0.08 และ 2.55 ± 0.05 เซนติเมตร ตามลำดับ

นอกจากผลหว่าจะมีการพัฒนาขนาดเมื่ออายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้นแล้ว ยังมีแนวโน้มในการเพิ่มน้ำหนักมากขึ้นอีกด้วย โดยในตัวอย่าง W1-W3 มีน้ำหนักไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) คือมีค่า 2.60 ± 0.11 , 3.58 ± 0.45 และ 3.84 ± 0.04 กรัม ในขณะที่ W4 และ W5 มีน้ำหนักเพิ่มมากขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ 5.70 ± 1.33 และ 1.10 กรัม ตามลำดับ

เมื่อวัดการเปลี่ยนแปลงความหนาของเนื้อผลหว่าในช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน ใน W1 และ W2 พบว่าเนื้อผลหว่ามีความหนาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ซึ่งมีค่า 0.22 ± 0.03 และ 0.22 ± 0.02 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ตัวอย่าง W3, W4 และ W5 ความหนาของเนื้อผลหว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ มีค่า 0.33 ± 0.03 , 0.41 ± 0.02 และ 0.50 ± 0.04 เซนติเมตร ตามลำดับ

การเปลี่ยนแปลงขนาดเมล็ดผลหว่า พบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ดมีขนาดเพิ่มมากขึ้น เมื่ออายุการบริบูรณ์ของผลหว่าเพิ่มมากขึ้น โดยตัวอย่าง W1, W2, W3-W4 และ W5 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) มีค่า 0.87 ± 0.01 , 1.00 ± 0.02 , 1.14 ± 0.03 และ 1.25 ± 0.03 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ตัวอย่าง W3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) กับตัวอย่าง W4 ซึ่งมีค่า 1.15 ± 0.03 เซนติเมตร

ความชื้นของผลหว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในตัวอย่าง W1-W5 โดยมีค่าร้อยละ 51.56 ± 0.22 , 54.97 ± 0.75 , 66.64 ± 0.39 , 72.79 ± 0.37 และ 83.25 ± 0.61 ตามลำดับ

เมื่อผลหว่าเมื่อมีอายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้นจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยตัวอย่าง W1-W2 มีอัตราการเพิ่มขนาดมากที่สุด ซึ่งมีอัตราการเพิ่มขนาดเส้นผ่าน

ศูนย์กลางประมาณ 1.24 เท่า หลังจากนั้นอัตราการเพิ่มขนาดจะลดลงเหลือ 1.18 และ 1.12 เท่าในตัวอย่าง W2-W3 และ W3-W4 ตามลำดับ ในตัวอย่าง W4-W5 มีอัตราการเพิ่มขนาดประมาณ 1.20 เท่า

ในช่วงแรกของอายุการบริบูรณ์ การเพิ่มขนาดผลหว่าในตัวอย่าง W1-W3 เกิดจากการเปลี่ยนแปลงขนาดของเมล็ดที่มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่อัตราการเพิ่มความหนาของเนื้อและการสะสมน้ำภายในเซลล์ยังต่ำอยู่ ในขณะที่เมื่อมีอายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้นใน W3-W4 การเปลี่ยนแปลงขนาดของเมล็ดคงที่ การเพิ่มขนาดของผลหว่าเกิดจากการพัฒนาความหนาของเนื้อและการสะสมน้ำภายในเซลล์ของผลหว่า โดยมีอัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนัก 1.48 เท่าและมีอัตราการเพิ่มของความชื้น 1.37 เท่า ในช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ W4-W5 ซึ่งเป็นช่วงที่ผลหว่าเริ่มเข้าสู่กระบวนการสุก (ripening) การเพิ่มขนาดของผลหว่าเกิดจากการขยายตัวของเมล็ด และการเพิ่มความหนาของเนื้อ โดยมีอัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนัก 1.72 เท่า และมีอัตราการเพิ่มของความชื้นเพียง 1.14 เท่า ในผลหว่าจะมีเมล็ดขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับความหนาของเนื้อโดยอัตราส่วนความหนาของเนื้อและเส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ดแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 อัตราส่วนเนื้อต่อเมล็ดของตัวอย่างผลหว่า W1-W5

อายุการบริบูรณ์	อัตราส่วนเนื้อต่อเมล็ด
W1	0.23 ± 0.03^c
W2	0.25 ± 0.02^c
W3	$0.29 \pm 0.03^{b,c}$
W4	0.36 ± 0.02^a
W5	0.40 ± 0.04^a

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งหมายถึง ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

1.1.2 การเปลี่ยนแปลงสีของผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

การเปลี่ยนแปลงของสีเมื่อผลหว่าเริ่มพัฒนา จะมีสีเขียวเข้ม และพัฒนาเป็นสีน้ำเงิน-ดำ เนื่องจากการลดปริมาณของคลอโรฟิลล์และการเพิ่มปริมาณสารกลุ่มแอนโทไซยานินเมื่อผลเข้าสู่กระบวนการสุก (Vvedenskaya *et al.*, 2004) โดยการเปลี่ยนแปลงของสีในตัวอย่างหว่าทั้ง 5 กลุ่มแสดงด้วยค่า LCH (light, chroma, hue angle) ในตารางที่ 13 โดยสามารถอธิบายถึงค่าความสว่าง ค่าความอิ่มตัว

ของสี และค่าเฉดสี ตามลำดับ ซึ่งแปลงมาจากระบบ Hunter L a b จากค่า C และ H ในตารางที่ 13 เมื่อนำมาสร้างกราฟแสดงค่า hue angle และ chroma แสดงในภาพที่ 19

ตารางที่ 13 แสดงค่า L C H ของผลหัวที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

ตัวอย่าง	ค่าสี		
	L	C	H
W1	45.36± 2.82 ^b	17.50± 0.90 ^b	112.96°± 1.35 ^a
W2	51.92± 1.49.03 ^a	20.19± 0.52 ^a	107.05°± 1.59 ^a
W3	37.99± 2.91.03 ^c	8.92± 0.68 ^c	36.30°± 10.74 ^b
W4	28.54± 1.18 ^d	6.73± 1.02 ^d	8.96°± 5.62 ^c
W5	28.97± 1.27 ^d	0.28± 0.28 ^e	286.50°± 14.18 ^d

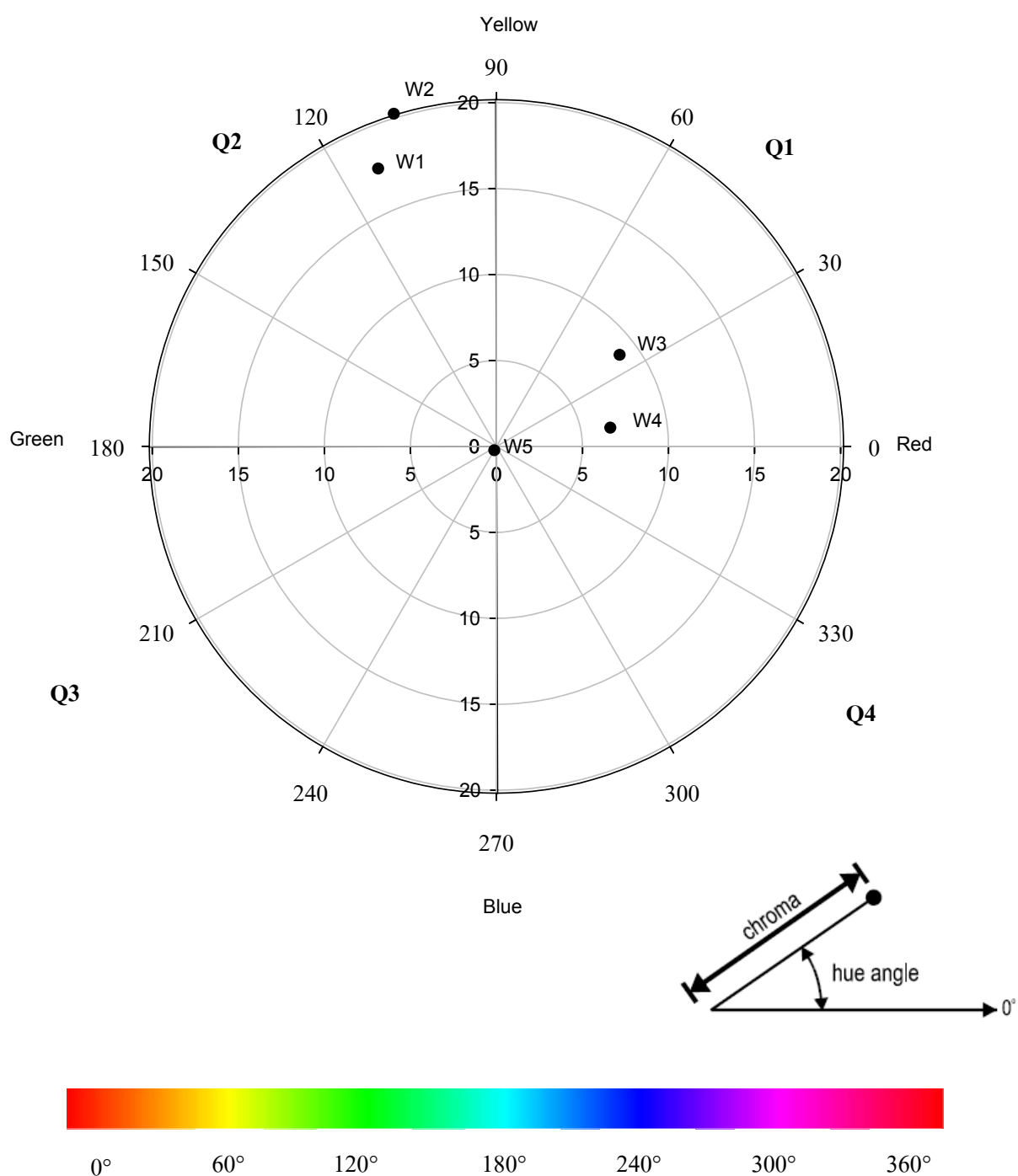
หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งหมายถึง ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตัวอย่างทั้ง 5 กลุ่มเมื่อแบ่งตามลักษณะเฉดสี จากภาพที่ 19 สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มแรก W1 และ W2 กลุ่มที่สอง W3 และ W4 และกลุ่มที่สาม W5 มีค่าอยู่ใน Q2, Q1 และ Q4 ตามลำดับ ซึ่งใน Q1 แสดงค่าเฉดสีแดง-เหลือง Q2 แสดงค่าเฉดสีเหลือง-เขียว Q3 จะแสดงค่าเฉดสีเขียว-น้ำเงิน และ Q4 แสดงค่าเฉดสีน้ำเงิน-แดง

ตัวอย่าง W1 และ W2 มีลักษณะสีเขียวเข้มและสีเขียวอ่อน ตามลำดับ (ภาพที่ 20) มีค่าเฉดสีอยู่ในเฉดสีเหลือง-เขียว (Q2) โดยมีค่าอยู่ในเฉดสีเหลืองมากกว่าสีเขียว (มีค่าใกล้เคียงมุม 90°) ค่า hue angle มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) คือ 112.96° และ 107.05° แต่ในตัวอย่าง W2 มีค่า L และค่า C แตกต่างกับ W1 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยตัวอย่าง W1 และ W2 คือมีค่า L เท่ากับ 45.36, 51.92 และค่า C คือ 17.50, 20.19 โดยตัวอย่าง W2 มีค่ามากกว่า

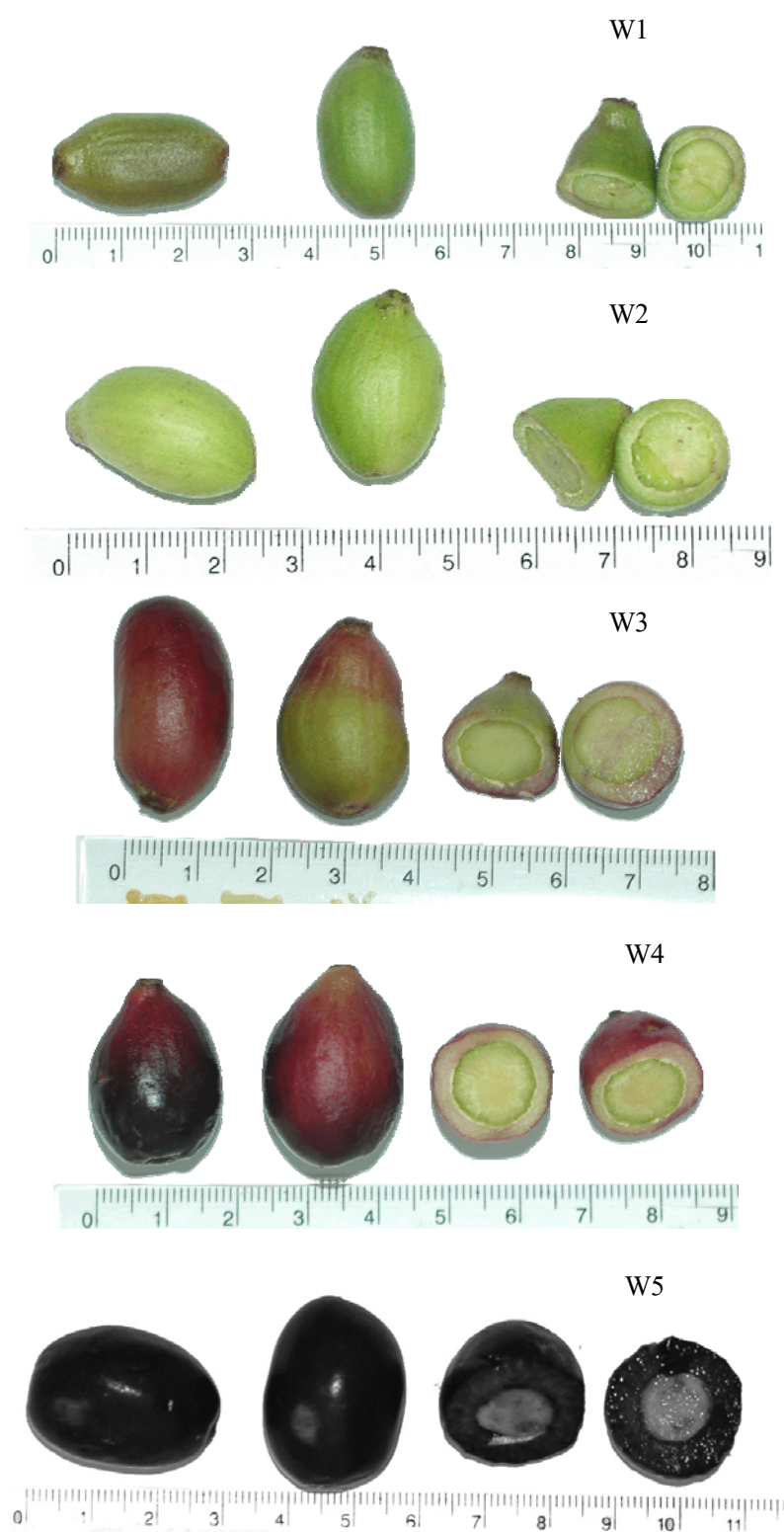
ตัวอย่าง W3 และ W4 มีลักษณะสีที่กำลังอยู่ในช่วงเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง-แดง (ภาพที่ 20) ให้ค่า L C H แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยค่า L C H ของ W4 น้อยกว่า W3 โดย W3 และ W4 มีเฉดสีแดง-เหลือง (Q2) แต่ตัวอย่าง W4 (H=8.96°) มีค่าเข้าใกล้เฉดสีแดงมากกว่า W3 (H=36.30°) ตัวอย่าง W3 มีความสว่างและความอิ่มตัวของสีมากกว่า W4 โดยมีค่า L คือ 37.99 และ 28.54 และค่า C คือ 8.92 และ 6.73 ตามลำดับ

ตัวอย่าง W5 มีลักษณะสีน้ำเงิน-ดำตลอดทั้งลูก มีเจดสีน้ำเงิน-แดง (Q4) โดยมีค่า H คือ 286.50° ($p < 0.05$) ซึ่งเข้าใกล้ค่าสีน้ำเงินมากกว่าสีแดง มีค่า L ไม่แตกต่างกับ W4 อย่างมีนัยสำคัญ คือ 28.97 ($p \geq 0.05$) และมีค่า C น้อยมากคือ 0.28 ($p < 0.05$)



ภาพที่ 19 ค่า Hue angle และ Chroma (Q1 = 0-90° มีเจดสีแดง-เหลือง, Q2 = 90-180°

มีเจดสีเหลือง-เขียว, Q3 = 180-270° มีเจดสีเขียว-น้ำเงิน, Q4 = 270-360° มีเจดสีน้ำเงิน-แดง)



ภาพที่ 20 ลักษณะสีและขนาดของผลหว่า 5 ช่วงอายุการบริบูรณ์ (จากบนลงล่าง W1- W5)

1.2 การเปลี่ยนแปลง pH, TA และ TSS ในผลหว่าที่อายุแตกต่างกัน

1.2.1 การเปลี่ยนแปลง pH เมื่ออายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

เมื่อผลหว่ามีอายุมากขึ้นค่า pH จะมีค่าลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในตัวอย่าง W1-W5 มีค่า 3.53 ± 0.01 , 3.44 ± 0.01 , 3.01 ± 0.01 , 2.96 ± 0.01 และ 2.80 ± 0.00 ตามลำดับ โดยจาก W1-W5 มีอัตราส่วนในการลดลง 1.2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบการลดลงในแต่ละช่วงอายุการบริบูรณ์ จะมีค่าลดลงค่อนข้างคงที่ประมาณ 1 เท่า เมื่อเปรียบเทียบแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของ pH ในงานวิจัยของ Hernandez *et al.* (2007) พบว่าผล Azara (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ชมพู่เหมือนกัน มี pH เพิ่มขึ้นเมื่ออายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้นแตกต่างจากในผลหว่า ค่า pH นี้สัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงสีของแอนโทไซยานิน โดยเมื่อ pH มีค่า 1.0 แอนโทไซยานินจะเปลี่ยนเป็นสีแดง ค่า pH ประมาณ 4 แอนโทไซยานินจะแสดงสีน้ำเงิน

1.2.2 การเปลี่ยนแปลงของ TA เมื่ออายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

เมื่อผลหว่ามีอายุเพิ่มมากขึ้นจะมีแนวโน้มปริมาณ TA ลดลง ซึ่งค่าปริมาณ TA คำนวณเทียบเท่ากับกรดซิตริก ผลหว่า W1 และ W2 มีค่า TA ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) คือมีค่า 0.19 จากนั้น กรดจะมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในตัวอย่าง W3-W5 มีค่า 0.17, 0.16 และ 0.15 ตามลำดับ

ทั้งนี้ปริมาณกรดที่ลดลงอาจเนื่องจาก กรดฟีนอลิกที่เพิ่มมากขึ้น (กล่าวในหัวข้อที่ 2) จับตัวกับโปรตีนหรือสารอื่นที่อยู่ในผลหว่าทำให้ไม่สามารถไตเตรดด้วยด่างได้ ค่า TA ที่ได้จึงลดลง นอกจากนี้การดูแลรักษาในการไตเตรดจะสังเกตได้ยาก เนื่องจากสีน้ำคั้นของผลหว่าในช่วงอายุการบริบูรณ์มากขึ้น จะมีค่าสีอยู่ในโทนม่วงแดงถึงม่วงน้ำเงิน

1.2.3 การเปลี่ยนแปลงของ TSS เมื่ออายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

ในผลไม้ค่า TSS นี้จะแสดงถึงปริมาณเบืองตันของน้ำตาลที่มีอยู่ในผลไม้ ซึ่งในผลหว่าค่า TSS มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น เมื่อผลหว่ามีอายุการบริบูรณ์มากขึ้น โดยในตัวอย่าง W1-W5 มีค่า 1.0, 1.0, 1.2, 1.7 และ 2.5 °Brix ตามลำดับ ซึ่งใน W5 มีปริมาณมากที่สุด อย่างไรก็ตามปริมาณ TSS ของผลหว่าไม่เหมาะสมสำหรับนำมาผลิตไวน์ เนื่องจากมีปริมาณน้ำตาลน้อยเกินไปที่จุลินทรีย์จะนำไปใช้ในกระบวนการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ โดยในองุ่นที่นิยมนำมาผลิตไวน์จะมีค่า TSS ประมาณ 18 °Brix

(สันติ, 2532) แต่ไวน์ที่ผลิตจากผลไม้ที่มี TSS ไม่เหมาะสม สามารถเติมน้ำตาลเพื่อปรับ TSS ให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมสำหรับกิจกรรมของจุลินทรีย์ (สุกพงษ์, 2531) นอกจากนี้ ผลหว่าในช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 5 เมื่อนำมาผลิตไวน์จะให้สีม่วงแดงของไวน์ที่สวยงาม

เมื่อเปรียบเทียบแนวโน้มในการเปลี่ยนแปลงปริมาณ TSS กับผลไม้ชนิดอื่นพบว่า เป็นไปในทางเดียวกับงานวิจัยของ Hernandez *et al.* (2007) ซึ่งทดลองใน ผลอราซ่า (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกัน โดยพบว่าปริมาณของ TSS เพิ่มขึ้นเมื่อผลอราซ่ามีอายุมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากในระหว่างกระบวนการสุก ผลไม้จะมีการพัฒนากลิ่นรส ปริมาณน้ำตาลจะเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเกิดจากการย่อยสลายของคาร์โบไฮเดรต และแสดงให้เห็นอย่างเด่นชัดว่าผลหว่ามีคาร์โบไฮเดรตน้อย คือ 14 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง (Morton, 1987) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ TSS กับผลไม้ที่เป็นพืชต่างวงศ์ พบว่าผลหว่ามีปริมาณ TSS น้อยกว่า แอปเปิ้ล ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 9.67 – 12.2 (Yoon *et al.*, 2005) แอปริคอต มีค่าระหว่าง 4.5-5.2 (Azodanlou *et al.*, 2003) และเชอรี่ ที่มีค่าระหว่าง 10.57-18.73 (Yoon *et al.*, 2006)

อัตราส่วนของ TSS ต่อ TA แสดงในตารางที่ 14 ซึ่งในผลหว่ามีค่าอยู่ในช่วง 5.22-16.83 และมีค่ามากที่สุดที่ W5 ซึ่งเป็นช่วงที่นิยมบริโภคสด อัตราส่วนของ TSS ต่อ TA แสดงถึงคุณภาพด้านรสชาติในด้านสัดส่วนของความหวานและเปรี้ยวของผลไม้ ซึ่งใช้เป็นดัชนีความบริบูรณ์ (maturity index) บอกรูปร่างของผลไม้หลายชนิด เช่น แอปเปิ้ล องุ่น และส้มแมนดาริน นอกจากนี้ยังแสดงถึงความยอมรับของผู้บริโภค เช่นในองุ่น และส้มแมนดาริน ผู้บริโภคจะยอมรับคุณภาพด้านรสชาติเมื่อ มีสัดส่วน TSS ต่อ TA มากกว่า 20 และ 8 ตามลำดับ (Kader, 2022)

ตารางที่ 14 ค่า TSS/TA ในผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

ผลหว่า	TSS/TA
W1	5.35± 0.05 ^d
W2	5.22± 0.02 ^d
W3	7.02± 0.11 ^c
W4	10.75± 0.18 ^b
W5	16.83± 0.21 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งหมายถึงค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ในระหว่างกระบวนการสุก ผลไม้จะมีการเปลี่ยนแปลงทั้งลักษณะภายนอกที่เกิดการเปลี่ยนแปลงขนาด สี และเนื้อสัมผัส และเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีภายในเซลล์ผลไม้ เช่น ปริมาณ TSS ซึ่งเกิดจากพีชมีการเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตที่สะสมไว้ในช่วงเริ่มการพัฒนาผลเป็นน้ำตาลในช่วงผลสุก หรือมีการเคลื่อนย้ายน้ำตาลมาจากส่วนอื่นของพีชมาสะสมในผลที่สุก หรือการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาสารระเหยให้กลิ่นเพิ่มขึ้น ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้สามารถใช้เป็น ดัชนีความบริบูรณ์ (maturity index) ของผลไม้ เพื่อนำมาประเมินปัจจัยในการเก็บเกี่ยวผลไม้ให้ได้คุณภาพตามต้องการมากที่สุด สามารถใช้ดัชนีทั้งกายภาพ เช่นขนาดและสี และทางเคมี เช่น TSS, TA และ pH หรือใช้ปัจจัยต่าง ๆ ประกอบกัน ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของผลไม้ (จริงแท้, 2541) ในผลหว่าดัชนีที่สามารถใช้ชี้วัดความสุกอย่างมีประสิทธิภาพและไม่ทำลายตัวอย่างคือ การใช้ขนาดเป็นดัชนีในการเก็บเกี่ยวผลผลิต ซึ่งสามารถให้ความแตกต่างของตัวอย่างแต่ละช่วงอายุการบริบูรณ์อย่างแม่นยำ และถ้าต้องการบริบูรณ์เฉพาะช่วงอายุที่ 5 ซึ่งเป็นช่วงอายุการเก็บที่เกี่ยวข้องที่นิยมนบริโภคและอัตราส่วนของ TSS ต่อ TA มากที่สุด สามารถใช้ค่าสี เป็นดัชนีในการบริบูรณ์ ซึ่งสามารถแยกอายุการบริบูรณ์ที่ 5 ได้อย่างชัดเจน โดยเฉพาะการใช้ค่า hue angle

จากผลการวิเคราะห์สหสัมพันธ์พบว่า ทั้งเส้นผ่านศูนย์กลางของผล น้ำหนัก ความหนาของเนื้อ เส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ด และ TSS/TA มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน และมีค่าสหสัมพันธ์ค่อนข้างสูง ส่วนค่า light, chroma และ TA มีความสัมพันธ์ ไปในทิศทางตรงข้ามกันดังแสดงในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของผล น้ำหนัก ความหนาของเนื้อ เส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ด light, chroma, TA และ TSS/TA

	Weight	Pulp	Seed	L	C	TA	TSS/TA
Size	0.892**	0.947**	0.974**	-0.833**	-0.933**	-0.948**	0.944**
Weight		0.891**	0.802**	-0.705**	-0.828**	-0.894**	0.948**
Pulp			0.882**	-0.877**	-0.945**	-0.973**	0.924**
Seed				-0.784**	-0.890**	-0.898**	0.850**
L					0.928**	0.973**	-0.861**
C						0.977**	-0.911**
TA							-0.928**

หมายเหตุ ** หมายความว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

2. สารประกอบฟีนอลในผลหว่า

สารประกอบฟีนอลในผลหว่า วิเคราะห์โดยการนำสารสกัดที่ผ่านการไฮโดรไลส์ตามวิธีในข้อ 6 และ 7 ซึ่งแยกออกเป็นสารสกัดส่วนเปลือก โดยมีรหัสตัวอย่าง S1, S2, S3, S4 และ S5 และสารสกัดส่วนเนื้อ โดยมีรหัสตัวอย่าง P1, P2, P3, P4 และ P5 การวิเคราะห์แบ่งออกเป็นการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณด้วยวิธี HPLC เทียบกับสารมาตรฐานในกลุ่มของ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแอนโทไซยานิน และการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic) ปริมาณฟลาโวนอยด์ (flavonoid content) และปริมาณโมนอเมอร์ิกแอนโทไซยานินทั้งหมด (total monomeric anthocyanin) ด้วยวิธีทางสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

ตัวอย่างแห้งของผลหว่าที่ผ่านการเตรียมตัวอย่าง โดยการแยกส่วนเปลือกและเนื้อ ผ่านการทำแห้งโดยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และบดร่อน ซึ่งมีร้อยละ yield แสดงในตารางที่ 16 ซึ่งสามารถใช้ค่า yield ในการคำนวณผลการทดลองกลับเป็นน้ำหนักสด

ตารางที่ 16 ค่าร้อยละ yield ของตัวอย่างผลหว่าที่ผ่านการทำแห้ง

Sample	% yield	
	Skin	Pulp
W1	4.74	9.10
W2	4.41	8.80
W3	4.19	8.56
W4	4.03	5.89
W5	4.26	7.20

2.1 ชนิดและปริมาณสารประกอบฟีนอลบางชนิดเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC

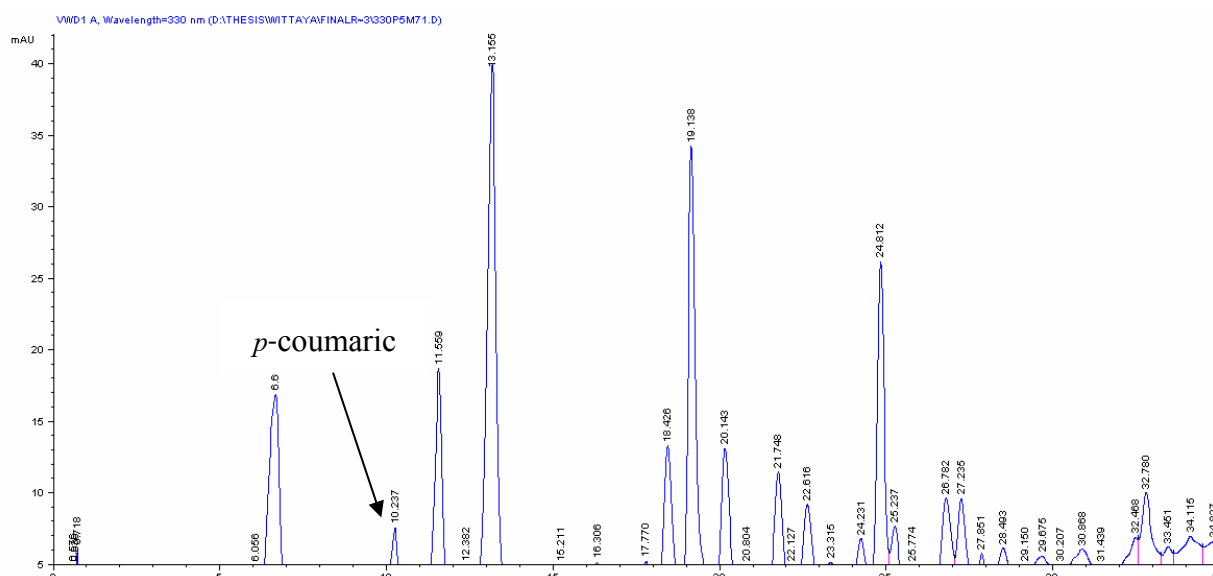
นำโครมาโตแกรมของสารสกัดจากผลหว่าทั้ง 5 กลุ่ม มาวิเคราะห์หาชนิดของกรดฟีนอลิก โดยเปรียบเทียบกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐานในกลุ่มกรดฟีนอลิก คือ กรดแกลลิก (gallic acid) กรดวานิลลิก (vanillic acid), กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid), กรดพาราควมาริก (*p*-coumaric) กรดซินนามิก (cinnamic) กรดไซแนปพิก (sinapic acid) กรดซินนามิก (cinnamic acid) กลุ่มของฟลาโวนอยด์คือ ควอเซติน (quercetin) แคมพ์เฟอร์อล (kaempferol) ไมริเซติน (myricetin) และกลุ่มของแอนโทไซยานิน คือ มัล

วิดิน (malvidin) ไซยานิดิน (cyanidin) และเดลฟินิดิน (delphinidin) โดยวิเคราะห์ปริมาณเป็นมิลลิกรัม เทียบเท่าสารมาตรฐาน/100มิลลิกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ซึ่งวิธีการทดลองและวิธีวิเคราะห์อธิบายไว้ใน ภาคผนวก ก4

เนื่องจากสารประกอบฟีนอลเป็นสารกลุ่มใหญ่ ที่มี polarity แตกต่างกันตามจำนวนหมู่ ฟังก์ชัน โครงสร้างและจำนวนอะตอมคาร์บอน สารที่นำมาสกัดจึงต้องมีสภาพ polarity ใกล้เคียงกับ สารประกอบฟีนอลที่มีอยู่ในตัวอย่าง ซึ่งแตกต่างกันตามแต่ละชนิดของตัวอย่าง ในการทดลองนี้ต้องการ วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลใน 3 กลุ่มหลักที่พบได้ทั่วไปในผักผลไม้ทั่วไป คือ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอลและแอนโธไซยานิดิน กรรมวิธีการสกัดดังแสดงในวิธีการเตรียมตัวอย่าง ซึ่งเป็นวิธีที่เหมาะสม สำหรับการจำแนกชนิด และหาปริมาณสารใน กลุ่มกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอล นอกจากนั้นสภาวะการ สกัดและการวิเคราะห์นี้ยังเหมาะสมกับการจำแนกและการหาปริมาณสารในกลุ่มแอนโธไซยานิดิน

2.1.1 ชนิดของกรดฟีนอลิกที่พบในผลหว่าที่ช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

นำตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีการสกัดสำหรับ HPLC ตามวิธีการทดลองข้อ 6 และ 7 แล้ว นำมาวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดฟีนอลิกด้วย วิธี HPLC ดังวิธีการทดลองข้อ 8 จากผลการ ทดลองพบว่าในกลุ่มกรดฟีนอลิก เมื่อเปรียบเทียบ retention time (RT) กับสารมาตรฐานกรดแกลลิก กรด วานิลิก กรดเฟอร์ูลิก กรดพาราควมาริก กรดซินนามิก กรดไซแนปพิก กรดซินนามิก ในผลหว่าทุกช่วงอายุ การบริบูรณ์ พบเพียงกรดพาราควมาริกเท่านั้น ซึ่งได้โครมาโทแกรมดังแสดงในภาพที่ 13 โดยกรดพาราควมาริกมี RT ประมาณนาที่ที่ 10.237 อย่างไรก็ตาม มีรายงานการพบกรดแกลลิกในผลหว่าสายพันธุ์อินเดีย ซึ่งรายงานในงานวิจัยของ Martinez และ Del Valle (1981)



ภาพที่ 20 โครมาโตแกรมของกรดพาราคูมาริกที่พบในผลหว่า

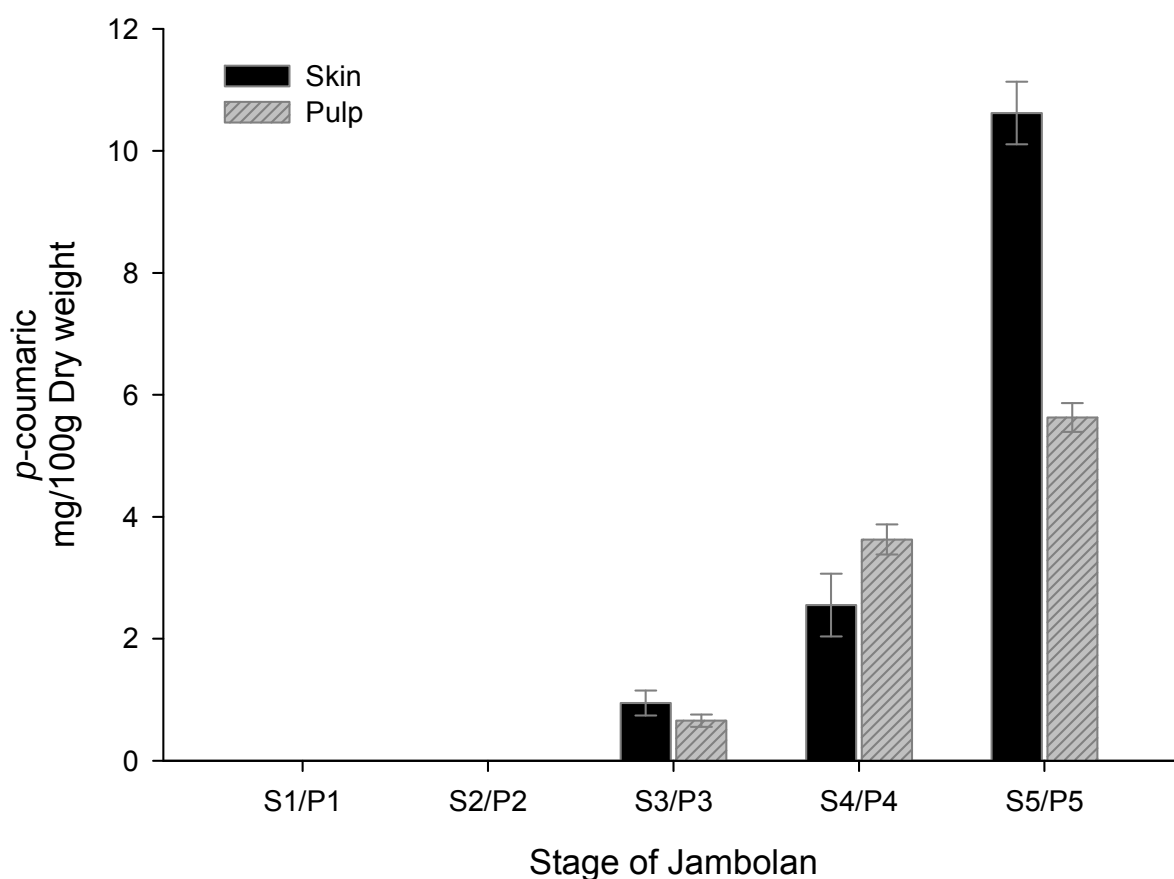
RT 10.237 = กรดพาราคูมาริก

2.1.2 ปริมาณการเปลี่ยนแปลงของกรดคูมาริกที่พบในเปลือกและเนื้อผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

การเปลี่ยนแปลงของกรดคูมาริกในเปลือกผลหว่า สามารถพบกรดพาราคูมาริกตั้งแต่ตัวอย่างที่ S3-S5 ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ 0.95 ± 0.21 , 2.55 ± 0.52 และ 10.62 ± 0.51 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง โดยในตัวอย่าง S5 มีปริมาณกรดพาราคูมาริกมากที่สุดในเปลือก เช่นเดียวกับในเนื้อ ที่สามารถเริ่มพบกรดพาราคูมาริกตั้งแต่ตัวอย่าง P3-P5 ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ 0.65 ± 0.10 , 3.63 ± 0.25 และ 5.63 ± 0.24 โดยในตัวอย่าง P5 มีปริมาณกรดพาราคูมาริกมากที่สุดในเนื้อ

ในผลหว่าสามารถพบการกระจายตัวของกรดพาราคูมาริกได้ทั้งในเปลือกและเนื้อ จากภาพที่ 21 พบการกระจายตัวกรดพาราคูมาริกในเปลือกมากกว่าในเนื้อ ซึ่งในช่วงเริ่มแรกที่พบปริมาณกรดพาราคูมาริกใน P3 และใน S3 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อเข้าสู่ S3-S4 อัตราการเพิ่มปริมาณกรดพาราคูมาริกเป็น 2.7 เท่า และใน P3-P4 มีค่า 5.6 เท่า จะเห็นได้ว่าอัตราการเพิ่มของกรดพาราคูมาริกในส่วนเนื้อสูงกว่าในส่วนเปลือก ส่งผลให้ในระยะนี้ เนื้อมีปริมาณกรดพาราคูมาริกมากกว่าในเปลือก ซึ่งค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเข้าสู่อายุการบริบูรณ์สุดท้ายอัตราการเพิ่มปริมาณของพาราคูมาริกในกลุ่ม S4-S5 เพิ่มขึ้นเป็น 4.2 เท่า ในขณะที่ส่วนเนื้ออัตราการ

เพิ่มเหลือเพียง 1.5 เท่า ส่งผลให้ปริมาณกรดพาราคูมาริกของส่วนเปลือกมากกว่าในส่วนเนื้ออย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 21 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดพาราคูมาริกในระหว่างกระบวนการสุกของผลหว่า

กรดพาราคูมาริกสามารถพบได้ในผักผลไม้ทั่วไป จากตารางที่ 17 ตัวอย่างที่มีรายงานการพบกรดพาราคูมาริกคือ บลูเบอร์รี่ มะกอกน้ำ สตรอเบอร์รี่ เป็นต้น โดยเมื่อเปรียบเทียบปริมาณกับตัวอย่างในตารางที่ 17 ผลหว่ามีปริมาณกรดพาราคูมาริก 0.43 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักสด (ใช้ค่าในตารางที่ 16 ในการเปลี่ยนเป็นน้ำหนักสด) โดยมีปริมาณน้อยกว่า บลูเบอร์รี่ black currant มะกอกน้ำ และสตรอเบอร์รี่ และมีปริมาณน้อยกว่า green mustard cabbage (*Brassica juncea*) เมื่อเทียบน้ำหนักเป็น มิลลิกรัม / กรัม น้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 17 ปริมาณกรดพาราคูมาริกที่พบในผลไม้

ตัวอย่าง	ปริมาณ	เอกสารอ้างอิง
green mustard cabbage (<i>Brassica juncea</i>)	25.6 ± 0.58^a	Fang <i>et al.</i> (2008)
บลูเบอร์รี่ (Blueberry)	0.7^b	Hertog <i>et al.</i> (1992b)
Black currant	$5.6-12^b$	Hertog <i>et al.</i> (1992b)
มะกอกน้ำ (Gooseberry green)	$0.6-2.5^b$	Wildanger and Herrmann (1973)
สตรอเบอร์รี่ (Strawberry)	$0.6-17^b$	Daniel <i>et al.</i> (1989)
เชอร์รี่ (<i>Laurocerasus officinalis</i>)	$0.49^c \pm 0.002$	Ayaz <i>et al.</i> (1997)

หมายเหตุ 1. ^a มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง

2. ^b มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด

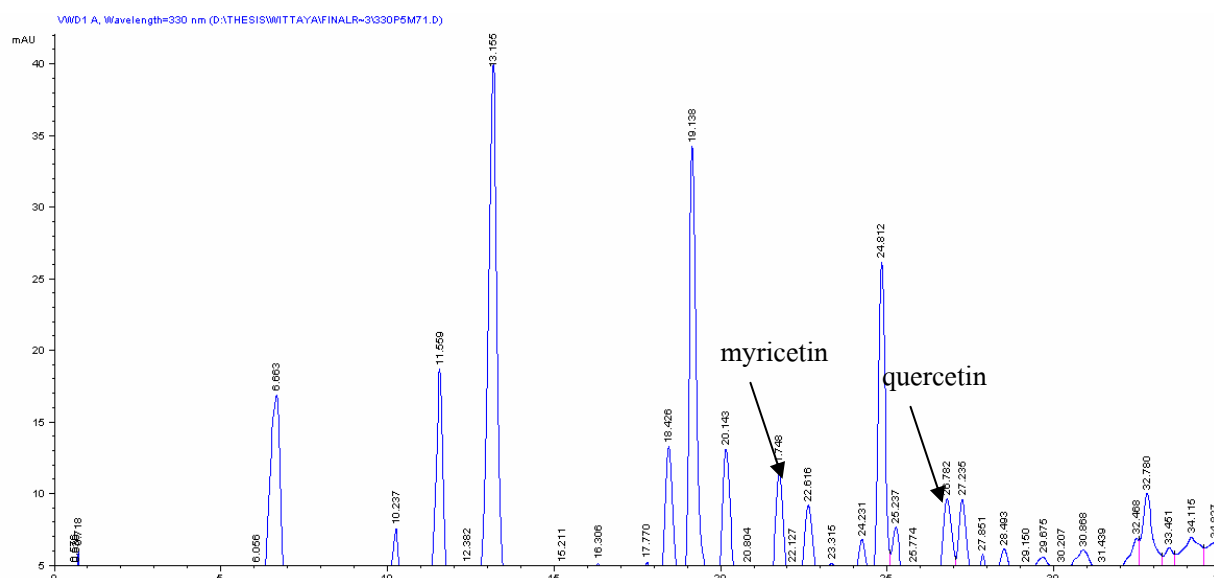
3. ^c มีหน่วยเป็น ร้อยละโดยน้ำหนัก (w/w)

ดังที่มีผู้ศึกษามาก่อนหน้านี้พบว่าผลไม้หลายชนิดเมื่อสุกจะมีปริมาณกรดฟีนอลิก ลดน้อยลง เนื่องจากเปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์โมเลกุลใหญ่ เช่น แทนนิน แอนโทไซยานิน (Macheix *et al.*, 1990) ซึ่งในการศึกษาของ Hakkien *et al.* (1999) พบว่ากรดฟีนอลิกจะพบปริมาณมากในช่วงที่ผลไม้ยังไม่สุก และจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงพัฒนาผล และเมื่อผลไม้เริ่มสุกปริมาณกรดฟีนอลิกจะลดลงอย่างช้า ๆ เช่นในราสเบอร์รี่แดง Black currant และสตรอเบอร์รี่ ซึ่งแตกต่างกับผลการทดลองนี้ ที่ในช่วงแรกของการพัฒนาผล ไม่พบกรดพาราคูมาริก โดยจะเริ่มพบในกลุ่มตัวอย่าง S4-S5 และ P4-P5 โดยมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเมื่อมีอายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้น

2.1.3 ชนิดของฟลาโวนอลที่พบในเปลือกและเนื้อผลหว่าที่ช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

นำตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีการสกัดสำหรับ HPLC ตามวิธีการทดลองข้อ 6 และ 7 แล้ว นำมาวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดฟีนอลิก วิธี HPLC ดังวิธีการทดลองข้อ 8 โดยเปรียบเทียบ RT ที่ได้กับ RT ของสารมาตรฐานคือ ไมริเซติน ควอเซติน และแกมพ์เฟอร์อล จากผลการทดลองพบว่าในผลหว่าสารกลุ่มฟลาโวนอลที่พบคือ ไมริเซติน และควอเซตินเท่านั้น โดยไม่พบแกมพ์เฟอร์อลในการทดลองนี้ สามารถพบไมริเซติน และควอเซตินได้ในเปลือกและเนื้อผลหว่าทุกช่วงอายุการบริบูรณ์ ยกเว้นควอเซตินที่สามารถพบในเนื้อตั้งแต่ P3 เป็นต้นไป ได้โครมาโทแกรมดังแสดงในภาพที่ 23 ซึ่ง ไมริเซติน มี RT ประมาณ 21.748 นาที และควอเซติน มี RT ประมาณ 26.782 นาที ซึ่งในผลหว่ายัง

ไม่มีผู้ศึกษาสารกลุ่มฟลาโวนอล และการเปลี่ยนแปลงของสารกลุ่มฟลาโวนอลเมื่ออายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน



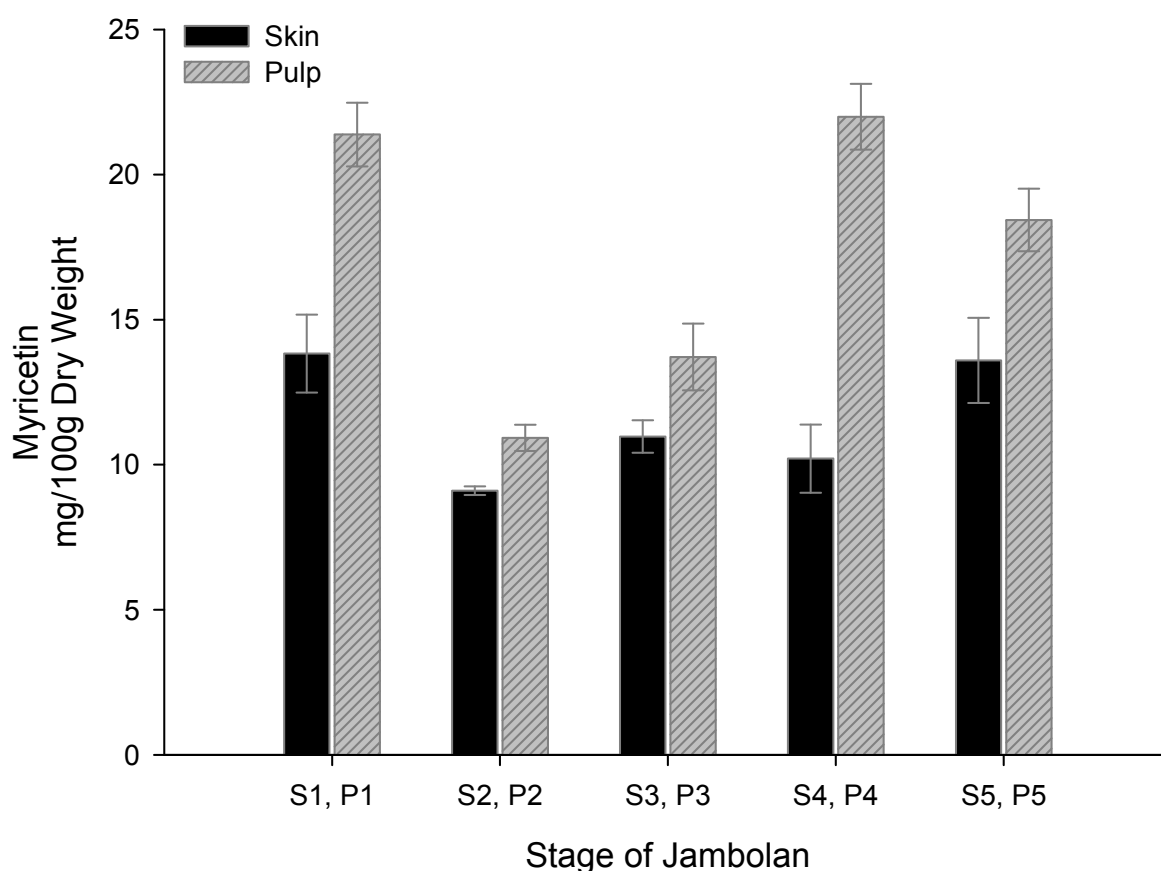
ภาพที่ 22 โครมาโตแกรมของฟลาโวนอล RT 21.748 = ไมริเซติน และ RT 26.782 = ควอเซติน

2.1.4 ปริมาณการเปลี่ยนแปลงของไมริเซตินที่พบในเปลือกและเนื้อผลหว่าเมื่ออายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

ในเปลือก สามารถพบไมริเซตินตั้งแต่ตัวอย่างที่ S1-S5 โดย S1 และ S5 ($p \geq 0.05$) พบปริมาณมากไมริเซตินมากที่สุด คือมีค่า 13.83 ± 1.34 และ 13.59 ± 1.47 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และตัวอย่าง S2-S4 ($p \geq 0.05$) มีปริมาณไมริเซตินรองลงมา คือมีค่า 9.11 ± 0.15 , 10.97 ± 0.56 และ 10.21 ± 1.17 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

ในเนื้อสามารถเริ่มพบไมริเซตินตั้งแต่ตัวอย่าง P1-P5 โดย P1 และ P4 มีปริมาณไมริเซตินมากที่สุดในเปลือก ($p \geq 0.05$) คือมีค่า 21.38 ± 1.10 และ 21.99 ± 1.13 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ปริมาณไมริเซตินรองลงมาจากมากไปน้อยคือ P5, P3 และ P2 ซึ่งมีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ 18.43 ± 1.08 , 13.13 ± 1.15 และ 10.93 ± 0.45 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

ในผลหว่าสามารถพบการกระจายตัวของไมริเซตินได้ทั้งในเปลือกและเนื้อ จากภาพที่ 23 พบการกระจายตัวไมริเซตินในเนื้อมากกว่าในเปลือก โดยการเปลี่ยนแปลงปริมาณไมริเซตินระหว่างกระบวนการสุก ในส่วนเปลือกมีแนวโน้มค่อนข้างคงที่เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนเนื้อ ที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัดเจน ในช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ P2-P2 ปริมาณไมริเซตินลดลง 1.96 เท่า และเมื่อเข้าสู่ช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ P3-P4 ปริมาณไมริเซตินจะเพิ่มมากขึ้นในอัตรา 2 เท่า ก่อนที่ปริมาณจะลดลง 1.23 เท่า ในช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ P5 ลักษณะแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเป็นไปในทางเดียวกับงานวิจัยของ Vvdenskaya *et al.* (2004) ที่พบว่า การเปลี่ยนแปลงของไมริเซตินระหว่างกระบวนการสุกในแครนเบอร์รี่สายพันธุ์ที่เพาะปลูกในประเทศอเมริกา (*Vaccinium macrocarpon* Ait) มีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงพัฒนาผล และปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงผลแก่ ก่อนที่จะมีปริมาณลดลงอีกครั้งในช่วงผลสุก แต่แตกต่างกับงานวิจัย Jaakola *et al.* (2002) ซึ่งวิจัยในบิลเบอร์รี่ (*Vaccinium myrtillus*) พบไมริเซตินเฉพาะในช่วงผลสุกเท่านั้น



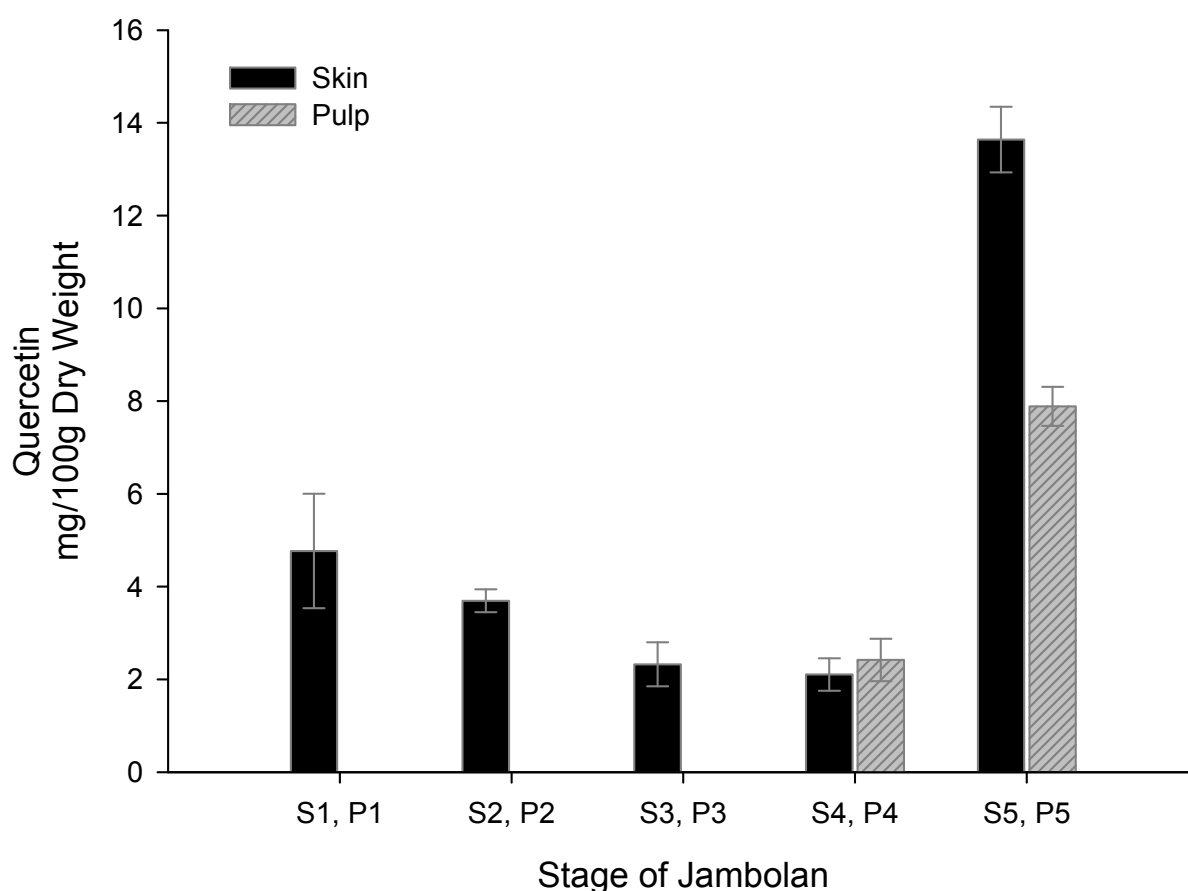
ภาพที่ 23 การเปลี่ยนแปลงของไมริเซตินที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

2.1.5 ปริมาณการเปลี่ยนแปลงของควอเซตินที่พบในเปลือกและเนื้อผลหว่าที่ช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

ในเปลือก สามารถพบควอเซตินตั้งแต่ช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ S1-S5 โดยพบปริมาณมากที่สุดใน S5 โดยมีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือมีค่า 13.64 ± 0.71 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง และตัวอย่าง S1 และ S2 มีปริมาณรองลงมา ($p < 0.05$) คือมีค่า 4.77 ± 1.23 และ 3.69 ± 0.25 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดยปริมาณควอเซตินใน S1 และ S2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) และพบปริมาณควอเซตินน้อยที่สุด ($p < 0.05$) ในช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ S3 และ S4 มีค่า 2.32 ± 0.47 และ 2.11 ± 0.35 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดยปริมาณควอเซตินใน S3 และ S4 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

ในเนื้อสามารถเริ่มพบควอเซตินตั้งแต่ตัวอย่าง P4-P5 โดยพบปริมาณมากที่สุดใน P5 ซึ่งมีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับ P4 คือมีค่า 7.86 ± 0.42 และ 2.42 ± 0.46 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

การกระจายตัวของควอเซตินในเปลือกและเนื้อที่ช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกันในภาพที่ 24 พบว่าส่วนเปลือกมีปริมาณควอเซตินลดลงในอัตรา 2.3 เท่า ในช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ S1-S4 จากนั้นเมื่อเข้าสู่ช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ S4- S5 ปริมาณควอเซตินจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในอัตรา 5.4 ในขณะที่ส่วนเนื้อเริ่มพบ ควอเซตินที่ช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ P4 โดยปริมาณที่พบไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) กับ S4 เมื่อเข้าสู่ช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ P5 ปริมาณควอเซตินจะเพิ่มขึ้น 4.1 เท่า ลักษณะแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงในการพัฒนาผลช่วงก่อนสุกใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Vvdenskaya *et al.* (2004) ที่พบว่าการเปลี่ยนแปลงของควอเซตินระหว่างกระบวนการสุกในแครนเบอร์รี่สายพันธุ์ที่เพาะปลูกในประเทศอเมริกา (*Vaccinium macrocarpon* Ait) มีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงพัฒนาผล และปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงผลแก่ อย่างไรก็ตามเมื่อผลสุกปริมาณควอเซตินในแครนเบอร์รี่จะเริ่มลดลง และเริ่มมีปริมาณคงที่ เมื่ออายุการสุกเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ แตกต่างกับผลหว่าที่ในกลุ่มช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 5 ซึ่งเป็นผลสุก แนวโน้มของปริมาณ ควอเซตินยังคงเพิ่มปริมาณอยู่ นอกจากนี้แนวโน้มของปริมาณควอเซตินยังแตกต่างกับ Bilberry (*Vaccinium myrtillus*) ในงานวิจัยของ Jaakola *et al.* (2002) ซึ่งพบว่าปริมาณควอเซตินมากที่สุดในช่วงพัฒนาดอก ก่อนจะลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อพัฒนาผล



ภาพที่ 24 การเปลี่ยนแปลงของควอเซตินที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

ไมริเซตินและควอเซตินสามารถพบได้ในผักผลไม้ทั่วไป จากตารางที่ 18 ผักและผลไม้ที่มีรายงานการพบ ไมริเซติน และควอเซตินทั้งสองชนิดคือ หอมใหญ่ ผักกาดหอม แครนเบอร์รี่และบลูเบอร์รี่ ส่วนสตรอเบอร์รี่ พบเพียงควอเซติน โดยเมื่อเปรียบเทียบปริมาณกับตัวอย่างในตารางที่ 18 ผลห้วมีปริมาณไมริเซติน 13.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักสด (ใช้ค่า yield จากตารางที่ 16 ในการเปลี่ยนค่า) ซึ่งมีปริมาณมากกว่าในผัก คือหอมใหญ่และผักกาดหอม แต่มีปริมาณน้อยกว่าในผลไม้ตระกูลเบอร์รี่เช่น แครนเบอร์รี่ และบลูเบอร์รี่ ผลห้วมีปริมาณควอเซติน 4.8 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักสดและ 136.4 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อเทียบปริมาณกับผักและผลไม้บางชนิดพบว่า ห้วมีปริมาณควอเซตินน้อยกว่าหอมใหญ่ผักกาดหอม แครนเบอร์รี่และบลูเบอร์รี่ แต่มีปริมาณควอเซตินมากกว่าสตรอเบอร์รี่

ตารางที่ 18 ปริมาณไมริเซตินและควอเซตินที่พบในผักและผลไม้

ตัวอย่าง	ปริมาณ ไมริเซติน	ปริมาณ ควอเซติน	เอกสารอ้างอิง
หัวหอมใหญ่ (<i>Allium cepa</i> L)	<1	5076 ^a	Hertog <i>et al.</i> (1992a)
	<10 ^c	347 ^b	Hertog <i>et al.</i> (1992b)
ผักกาดหอม (<i>Lactuca sativa</i> L)	<10 ^c	319 ^a	Hertog <i>et al.</i> (1992a)
	ND	14 ^b	Hertog <i>et al.</i> (1992b)
แครนเบอร์รี (<i>Vaccinium macrocarpon</i> Ait)	662 ^a	1485 ^a	Hertog <i>et al.</i> (1992a)
บลูเบอร์รี(<i>Vaccinium corymbosum</i>)	26 ^b	24 ^b	Häkkinen <i>et al.</i> (1999)
สตรอเบอร์รี (<i>Fragaria ananassa</i>)	ND	7 ^b	Häkkinen <i>et al.</i> (1999)

หมายเหตุ 1. ^a มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักแห้ง

2. ^b มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักสด

3. ^c ต่ำกว่า Limit of detection

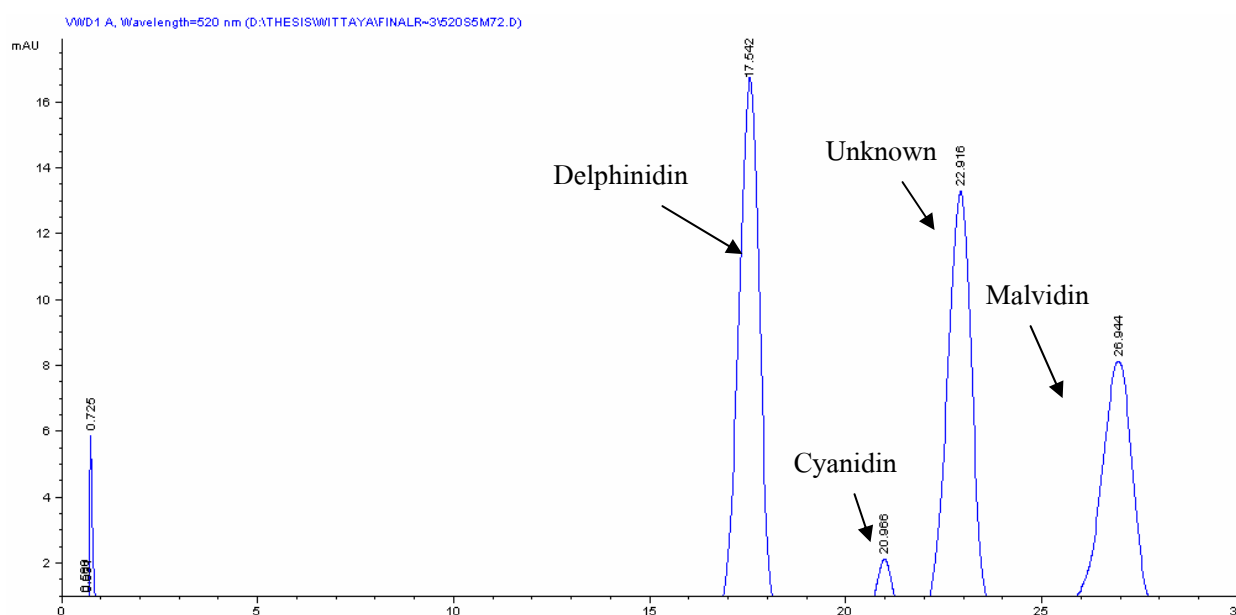
2.1.6 ปริมาณการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของแอนโทไซยานินที่พบในผลหว่าที่ช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

แอนโทไซยานินสามารถพบได้ในผลไม้ที่มีสีแดงหรือม่วงแดง หรือน้ำเงิน ซึ่งผลไม้สีแดงร้อยละ 90 มีไซยานิดินเป็นองค์ประกอบ ส่วนที่เหลือประกอบด้วยเดลฟินิดินร้อยละ 35 ฟิโอนิดินร้อยละ 30 เพลาโกนินดินร้อยละ 20 มัลวิดอินและเพททูนิดิน ร้อยละ 15 (Macheix *et al.*, 1990) ยกเว้นในพืชบางประเภท เช่น มะเขือเทศและพริกชี้ฟ้า ซึ่งสารให้สีหลักเป็นสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ การพัฒนาสารแอนโทไซยานินในผลไม้จะพัฒนาช่วงผลไม้เริ่มสุก หรือเปลี่ยนจากช่วงสีเขียวเป็นสีม่วงแดงหรือสีม่วงดำ

นำตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีการสกัดสำหรับ HPLC ตามวิธีการทดลองข้อ 6 และ 7 แล้ว นำมาวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดฟีนอลิก วิธี HPLC ดังวิธีการทดลองข้อ 8 จากผลการทดลองพบว่าในผลหว่าพบแอนโทไซยานินที่ทราบชนิด 3 ชนิดคือ เดลฟินิดิน (delphinidin) ไซยานิดิน (cyanidin) และมัลวิดอิน (malvidin)

จากโครมาโตแกรมภาพที่ 25 ที่ RT = 22.916 นาที่ซึ่งพบโครงสร้างของสารที่ยังไม่สามารถระบุได้ (unknown) ในกลุ่มแอนโทไซยานิดินอีก 1 ชนิด โดยมีปริมาณมากใกล้เคียงกับเดลฟินิดิน เมื่อเปรียบเทียบโดยร้อยละของพื้นที่จากพื้นที่ใต้กราฟทั้งหมดในตัวอย่าง S5 ซึ่งมีค่าประมาณร้อยละ 35.35 ในเดลฟินิดินและร้อยละ 34.16 ใน unknown โดยปริมาณไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ในขณะที่ มัลวิดินและไซยานิดินมีพื้นที่ร้อยละ 26.73 และ 3.77 ($p < 0.05$)

unknown (RT = 22.916) ที่พบมีความเป็นไปได้ที่จะเป็นสาร เพอญินิดิน หรือ เพโอนิดิน จากการเปรียบเทียบลำดับการแยกสารกลุ่มแอนโทไซยานิดินที่พบในรายงานของ Hosseinian *et al.* (2008) และ Jaakola *et al.* (2002) ที่รายงานลำดับการแยกสารกลุ่มแอนโทไซยานิดิน ซึ่งพบว่าลำดับการออกของสารระหว่างไซยานิดินกับมัลวิดิน มีสาร เพอญินิดิน เพลาโกนินิดิน และเพโอนิดิน และจากรายงานการวิเคราะห์ชนิดของแอนโทไซยานินที่พบในผลหว่า จากงานวิจัยของ Brito *et al.* (2007) ที่รายงานการพบ delphinidin 3,5-diglucoside, cyanidin 3,5-diglucoside, petunidin 3,5-diglucoside, peonidin 3,5-diglucoside และ malvidin 3,5-diglucoside ในผลหว่าพันธุ์ที่ปลูกในประเทศบราซิล ทั้งนี้ควรหาสารมาตรฐานเพื่อยืนยันสารชนิดดังกล่าวอีกครั้งหนึ่ง



ภาพที่ 25 โครมาโตแกรมของ เดลฟินิดิน (RT = 17.642) ไซยานิดิน (RT = 20.966)

Unknown (RT = 22.916) และมัลวิดิน (RT = 26.944)

2.1.7 ปริมาณการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ที่พบในผลหว่าที่ช่วงอายุการเจริญเติบโตต่างกัน

ปริมาณการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ที่พบในเปลือกและเนื้อผลหว่า ในเปลือกสามารถพบคลอโรฟิลล์ตั้งแต่ตัวอย่างที่ S1-S5 โดยพบปริมาณมากที่สุดใน S5 ซึ่งมีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือมีค่า 214.68 ± 4.28 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และตัวอย่าง S4 มีปริมาณมากเป็นอันดับสอง ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือมีค่า 45.21 ± 4.80 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง และใน S1-S3 พบน้อยที่สุดโดยมีปริมาณไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) คือมีค่า 17.61 ± 2.09 , 17.38 ± 0.45 และ 19.84 ± 3.55 ตามลำดับ ในเนื้อพบคลอโรฟิลล์เฉพาะใน P5 โดย มีค่า 15.82 ± 1.71 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง โดยเป็นแอนโทไซยานินชนิดเดียวที่พบในเนื้อ

2.1.8 ปริมาณการเปลี่ยนแปลงของไซยานิดินที่พบในผลหว่าที่ช่วงอายุการเจริญเติบโตต่างกัน

ผลไม้ส่วนใหญ่จะมีไซยานิดินเป็นสารหลักในการให้สีในผลไม้ เช่น แอปเปิ้ล เชอร์รี่ องุ่น แบล็กเคอเรนซ์ (Macheix *et al.*, 1990) อย่างไรก็ตามในผลหว่าพบไซยานิดินเป็นองค์ประกอบน้อยที่สุดในกลุ่มแอนโทไซยานิดินที่พบในผลหว่า ไซยานิดินที่พบในผลหว่าสามารถพบได้เฉพาะในเปลือกผลหว่า โดยสามารถพบไซยานิดินตั้งแต่ตัวอย่างที่ S4-S5 ซึ่งเป็นช่วงที่ตัวอย่างมีสีม่วง และน้ำเงิน-ดำ ตามลำดับ มีปริมาณไซยานิดินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ 2.27 ± 0.40 และ 7.34 ± 0.37 ตามลำดับ โดยพบปริมาณมากที่สุดใน S5

2.1.9 ปริมาณการเปลี่ยนแปลงของมัลวินที่พบในผลหว่าที่ช่วงอายุการเจริญเติบโตต่างกัน

มัลวินที่พบในผลหว่าสามารถพบได้เฉพาะในเปลือกผลหว่า ซึ่งสามารถพบมัลวินตั้งแต่ตัวอย่างที่ S4-S5 ซึ่งเป็นช่วงที่ตัวอย่างมีสีม่วง และน้ำเงิน-ดำ ตามลำดับมีปริมาณมัลวินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ 38.05 ± 1.92 และ 145.91 ± 5.76 โดยพบปริมาณมากที่สุดใน S5

2.1.10 การเปลี่ยนแปลงของแอนโทไซยานินในผลหว่าที่อายุการเจริญเติบโตต่างกัน

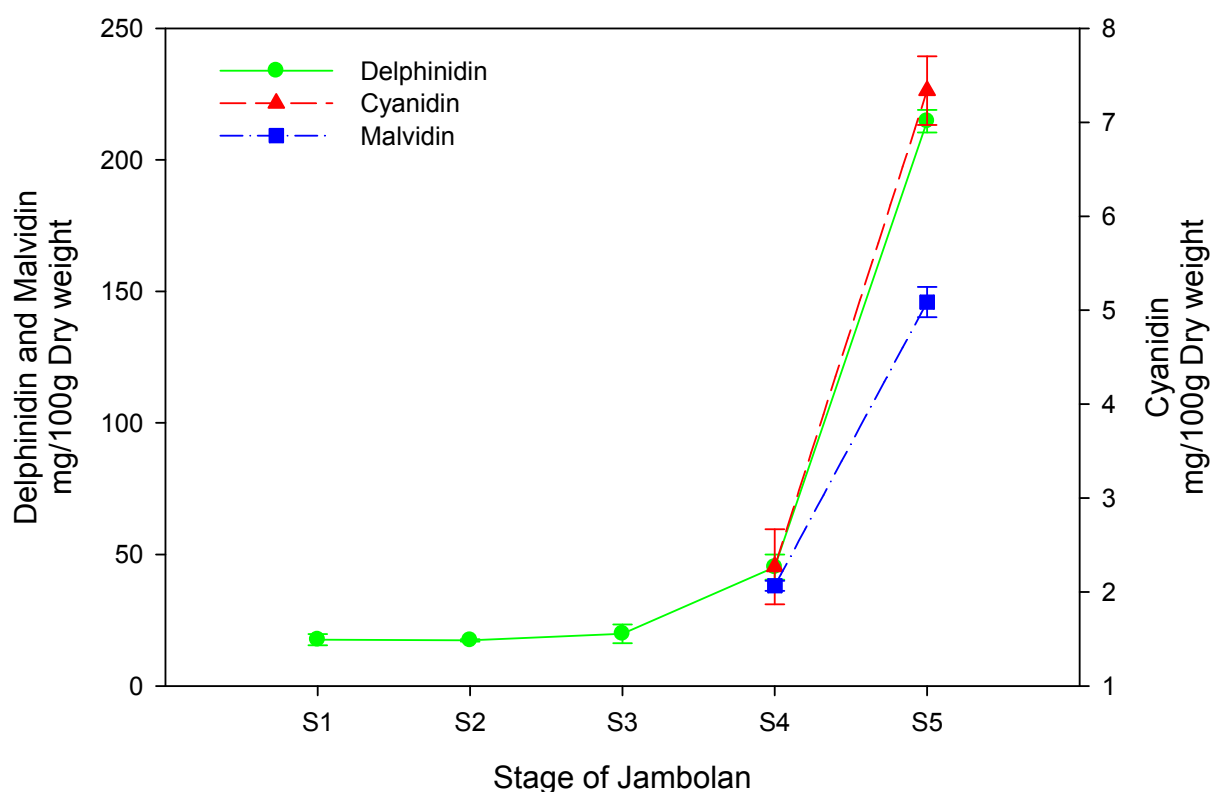
แอนโทไซยานินในผลหว่า สามารถพบในตัวอย่าง S4-S5 เป็นส่วนใหญ่ ยกเว้นคลอโรฟิลล์ที่เริ่มพบตั้งแต่ S1 ตัวอย่าง S4-S5 เป็นช่วงที่ผลเริ่มสุกและเริ่มสะสมแอนโทไซยานินบริเวณผนัง

เชลล์ (Macheix *et al.*, 1990) แอนโรไซยานิดินที่ทราบชนิดที่พบในผลหว่าคือ เดลฟินิดิน ไชยานิดิน และมัลวิดิน โดยมีเดลฟินิดินเป็นแอนโรไซยานิดินทราบชนิดที่พบมากที่สุดในหว่าคือ 214.68 มิลลิกรัม / 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ($p < 0.05$) ซึ่งมากกว่าที่พบในเนื้อถึง 14 เท่า เดลฟินิดินเป็นแอนโรไซยานิดินที่พบในเฉพาะผลไม้บางชนิดเท่านั้น ซึ่งส่วนใหญ่จะพบในผลไม้ที่สีออกม่วงดำ หรือน้ำเงินดำเป็นส่วนใหญ่ เช่น แบล็กเคอเรนท์ เรดเคอเรนท์ (Wu *et al.*, 2004) เนื่อมะม่วงหิมพานต์ (Brito *et al.*, 2007a) บลูเบอร์รี และมัลเบอร์รีเป็นต้น (Macheix *et al.*, 1990)

มัลวิดินเป็นแอนโรไซยานิดินที่ทราบชนิดที่พบปริมาณมากเป็นอันดับสองในผลหว่า ซึ่งปริมาณมากที่สุดพบใน S5 มีปริมาณคือ 145.91 มิลลิกรัม / 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ($p < 0.05$) โดยมีปริมาณน้อยกว่าเดลฟินิดิน 1.5 เท่า และไชยานิดินที่พบปริมาณน้อยที่สุดในผลหว่ามีค่า 7.34 มิลลิกรัม / 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ($p < 0.05$) ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าเดลฟินิดินและมัลวิดินประมาณ 29 และ 20 เท่า ตามลำดับ

แนวโน้มในการพัฒนาแอนโรไซยานิดินในการศึกษารั้งนี้ ทั้งเดลฟินิดิน ไชยานิดิน unknown และ มัลวิดิน มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นในระหว่างกระบวนการสุก ดังแสดงในภาพที่ 26 ผลหว่าสามารถพบแอนโรไซยานิดิน ในช่วงที่ผลเริ่มสุกใน S4 และ S5 โดยเป็นการสร้างขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งในผลหว่าใช้เวลาในการสร้างแอนโรไซยานิดินประมาณ 4 วัน จากช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ S4 ไป S5 ยกเว้น เดลฟินิดินที่สามารถพบปริมาณเล็กน้อยตั้งแต่ S1

แนวโน้มการพัฒนากลุ่มสารแอนโรไซยานิดินในผลหว่าเป็นไปในแนวทางเดียวกับผลไม้ส่วนใหญ่คือ เริ่มสร้างในช่วงผลไม้เริ่มสุกและมีปริมาณมากที่สุดในช่วงผลไม้แก่จัด เช่นใน บิลเบอร์รี (*Vaccinium myrtillus*; Jaakola *et al.*, 2002) และแครนเบอร์รี (*Vaccinium macrocarpon* Ait) แต่ในผลไม้กลายพันธุ์บางประเภทปริมาณจะลดลงจนถึงไม่มีเมื่อผลแก่จัด เช่นใน แครนเบอร์รีที่มีสีขาว (Vvdenskaya *et al.*, 2004)



ภาพที่ 26 ปริมาณแอนโทไซยานิดินที่พบในส่วนเปลือกของผลหว่า

2.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ และปริมาณโมโนเมอร์แอนโทไซยานินทั้งหมดเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2.2.1 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเมื่ออายุการบริบูรณ์ผลหว่าแตกต่างกัน

นำผลหว่าทั้ง 5 ช่วงอายุการบริบูรณ์ทั้งส่วนเปลือกและส่วนเนื้อ คือ S1-S5 และ P1-P5 ที่ผ่านการสกัดตามวิธีการทดลองข้อ 9 แล้วไปวัดปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดตามวิธีการทดลองข้อ 10 นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์ แล้วคำนวณค่าเป็นหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกในผลหว่าแห้ง 100 กรัม เพื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในส่วนเปลือกและส่วนเนื้อของผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์ต่างกัน พบว่าค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่ตรวจวัดได้แสดงในภาพที่ 27

เมื่อเทียบเปลือกหว่าทั้ง 5 ช่วงอายุการบริบูรณ์ ตัวอย่าง S1 และ S3 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ($p < 0.05$) มีค่าเป็น $18,227.31 \pm 1382$ และ $17,809.60 \pm 1376$ มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ แนวโน้มปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าลดลงเมื่ออายุการบริบูรณ์ของผลหว่าเพิ่มมากขึ้น โดยมีค่าน้อยที่สุดในช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ S4 และ S5 ($p < 0.05$) มีค่า $14,339.21 \pm 1613$ และ $12,884.06 \pm 1344$ ($p \geq 0.05$) มิลลิกรัมกรด แกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ S3 มีค่ามากกว่า S5 ประมาณ 1.4 เท่า และ S2 มีปริมาณไม่แตกต่างกับ S4 อย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) มีค่าเป็น $15,259.95 \pm 1578$ มิลลิกรัมกรด แกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง

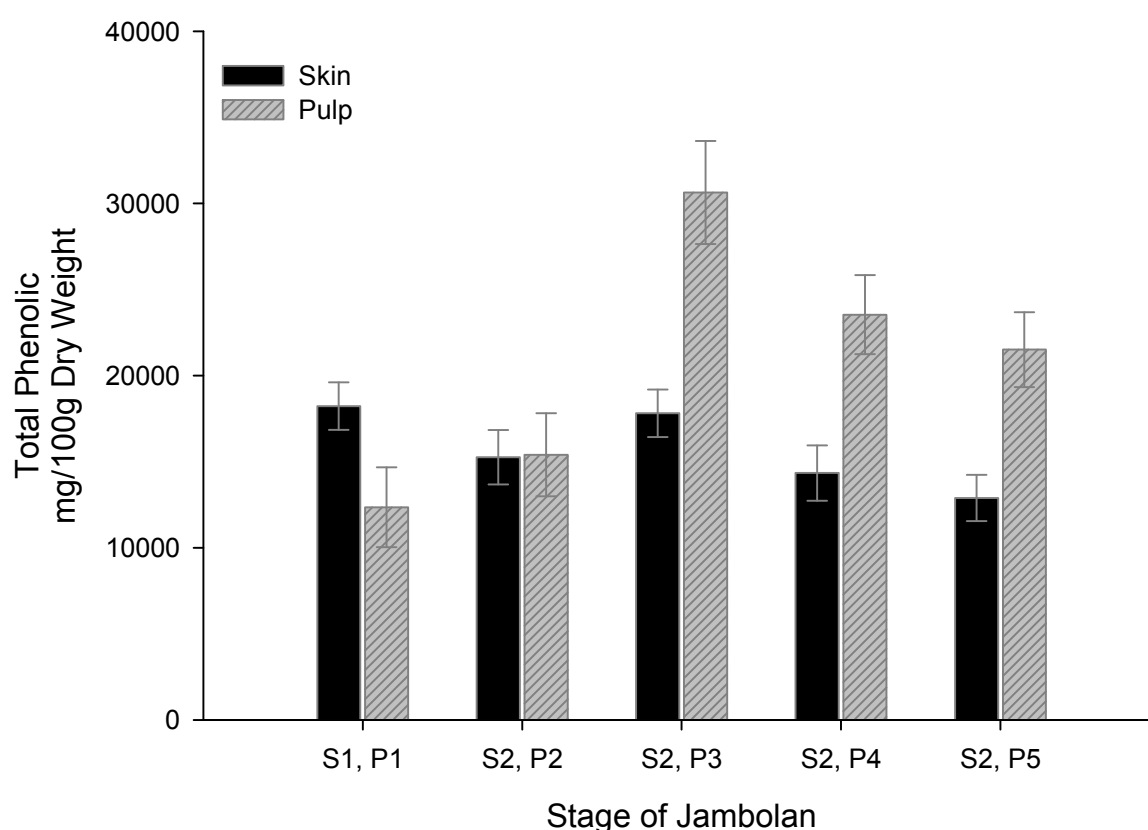
จากภาพที่ 27 เมื่อพิจารณา ในเนื้อผลหว่าช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ P3 พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ($p < 0.05$) เป็น $30,639.84 \pm 2991$ มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง และมีค่าน้อยที่สุดในช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ P1 และ P2 ($p < 0.05$) มีค่า $12,347.68 \pm 2320$ และ $15,397.80 \pm 2411$ มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดย P1 และ P2 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่ P1 และ P2 มีค่าน้อยกว่า P3 ประมาณ 2.5 เท่า

แนวโน้มของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุดที่ P1 และค่อย ๆ เพิ่มปริมาณจนมากที่สุดที่ P3 และลดลงที่ P4 และ P5 เมื่อช่วงอายุการบริบูรณ์ของผลหว่าเพิ่มมากขึ้น โดย P4 และ P5 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ซึ่งมีค่า $23,539.14 \pm 2302$ และ $21,511.17 \pm 2172$ มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจากการทดลองนี้มีปริมาณน้อยกว่าการทดลองในผลหว่าสายพันธุ์อินเดียซึ่งมีปริมาณ 340.0 กรัมกรดแกลลิกต่อ กิโลกรัมน้ำหนักแห้งในงานวิจัยของ Benheral and Arumugan (2007)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในผลหว่าพบโดยนำปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือกและเนื้อ มารวมกัน พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ออกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีปริมาณมากที่สุดคือช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 3 และกลุ่มที่มีปริมาณรองลงมาคือช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 4 และ 5 และกลุ่มที่มีปริมาณน้อยที่สุดคือ ช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 1 และ 2

การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในช่วงก่อนที่ผลไม้จะสุกโดยเฉพาะในผลไม้ที่มีสีม่วงหรือสีแดง เกิดจากการสะสมปริมาณฟีนอลิกในแวคิวโอของเซลล์ ก่อนที่จะเริ่มเปลี่ยนเป็นสารกลุ่มอื่น เช่น แอนโทไซยานิน (Macheix *et al.*, 1990) ซึ่งเป็นธรรมชาติของผลไม้ส่วนใหญ่และปริมาณ

ฟีนอลิกทั้งหมดจะลดลงเมื่อผลไม้สุกมากขึ้น การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดระหว่างกระบวนการสุก ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่างผักหรือผลไม้ ดังในงานวิจัยของ Kulkarni and Aradhya (2005) ซึ่งศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในผลทับทิมระหว่างการสุก พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าลดลงเมื่อทับทิมสุกมากขึ้น โดยจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรกและค่อย ๆ คงที่ในช่วงหลัง



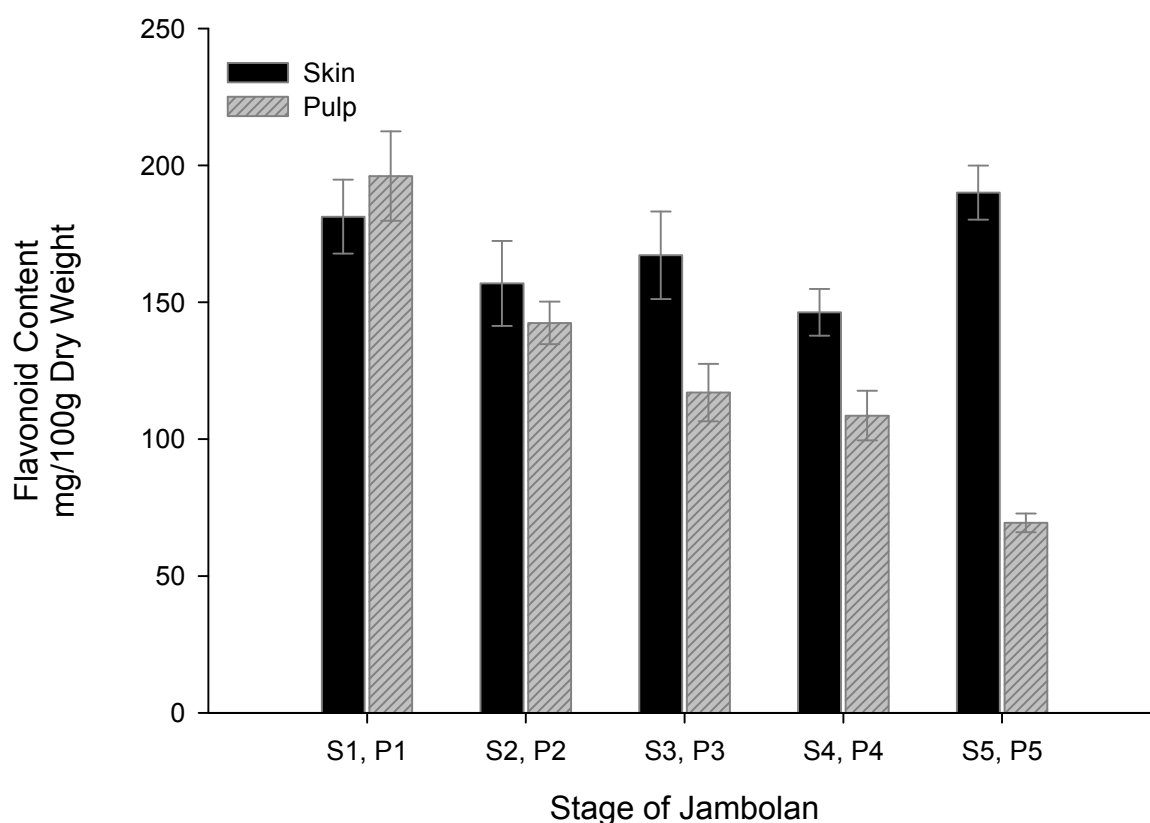
ภาพที่ 27 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่พบในส่วนเปลือกและเนื้อของผลหว่า

2.2.2 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณฟลาโวนอยด์เมื่ออายุการบริบูรณ์ผลหว่าแตกต่างกัน

นำผลหว่าทั้ง 5 อายุการบริบูรณ์ทั้งส่วนเปลือกและส่วนเนื้อ คือ S1-S5 และ P1-P5 ที่ผ่านการสกัดตามวิธีการทดลองข้อ 9 ไปวัดปริมาณฟลาโวนอยด์ตามวิธีการทดลองข้อ 11 แล้วนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของเคทเทกินซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐาน คำนวณค่าเป็นหน่วยมิลลิกรัมของ

เคทเทคินต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง เพื่อเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์ในผลหว่าส่วนเปลือกและเนื้อที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน แสดงในภาพที่ 28 ซึ่งวิธีการวิเคราะห์ด้วยอะลูมิเนียมคลอไรด์นี้จำเพาะกับสารกลุ่มฟลาโวน ฟลาโวนอลและไอโซฟลาโวน (Benheral and Arumughan, 2007)

การเปลี่ยนแปลงของปริมาณฟลาโวนอยด์ในเปลือกมีแนวโน้มไม่แน่นอนมีค่าเปลี่ยนแปลงขึ้น ๆ ลง ๆ ในแต่ละช่วงอายุการบริบูรณ์ อย่างไรก็ตามสามารถแบ่งกลุ่มตามปริมาณมากน้อยได้ 4 กลุ่ม ซึ่งปริมาณค่อนข้างคาบเกี่ยวกันไม่แตกต่างกันมาก โดยตัวอย่าง S1 และ S5 มีปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุด ($p < 0.05$) มีค่า 108.97 ± 8.34 และ 114.20 ± 9.35 ($p \geq 0.05$) มิลลิกรัมเคทเทคินต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง และมีค่าน้อยที่สุดที่ S2 และ S4 ($p < 0.05$) มีค่า 94.60 ± 9.35 และ 88.41 ± 5.11 ($p \geq 0.05$) มิลลิกรัมเคทเทคินต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดย S3 มีค่า 101.49 ± 9.64 มิลลิกรัมเคทเทคินต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง

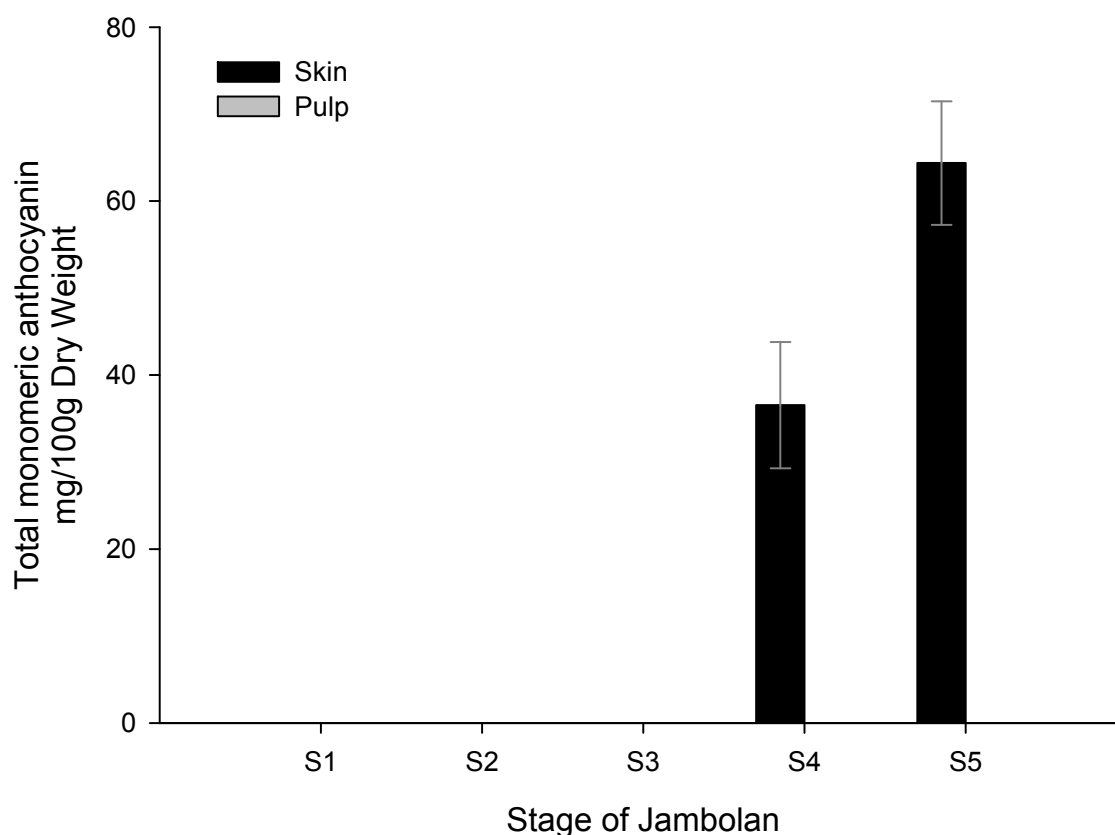


ภาพที่ 28 ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่พบในส่วนเปลือกและเนื้อของผลหว่า

ในเนื้อผลหว่ามีปริมาณฟลาโวนอยด์จากมากที่สุดไปน้อยที่สุดคือ ($p < 0.05$) มีค่า 119.36 ± 9.91 , 86.02 ± 5.04 , 70.25 ± 6.24 , 65.92 ± 4.89 และ 41.86 ± 2.29 มิลลิกรัมเคทเทคินต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งในตัวอย่าง P5- P1 ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ยกเว้นตัวอย่าง P3 และ P4 ที่มีปริมาณไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) ในเนื้อผลหว่าปริมาณฟลาโวนอยด์มีการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัด โดยลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่ออายุการบริบูรณ์ผลหว่าเพิ่มมากขึ้น โดยปริมาณมากที่สุดที่ P1 มีปริมาณมากกว่า P5 ประมาณ 2.9 เท่า ปริมาณฟลาโวนอยด์จากการทดลองนี้มีปริมาณมากกว่าการทดลองในผลหว่าสายพันธุ์อินเดียซึ่งมีปริมาณ 5 มิลลิกรัมเคทเทคินต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ในงานวิจัยของ Benheral and Arumugan (2007)

2.2.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโมโนเมอร์ิกแอนโธไซยานินทั้งหมดเมื่ออายุการเก็บเกี่ยวผลหว่าแตกต่างกัน

นำผลหว่าทั้ง 5 อายุการบริบูรณ์ทั้งส่วนเปลือกและส่วนเนื้อ คือ S1-S5 และ P1-P5 ที่ผ่านการสกัดตามวิธีการทดลองข้อ 4 แล้วไปวัดปริมาณโมโนเมอร์ิกแอนโธไซยานินทั้งหมดตามวิธีการทดลองข้อ 6 นำค่าที่ได้มาคำนวณค่าเป็นหน่วยมิลลิกรัมของไซยานิดินทริกคูโคไซด์ต่อผลหว่าแห้ง 100 กรัม เพื่อเปรียบเทียบโมโนเมอร์ิกแอนโธไซยานินทั้งหมดในส่วนเปลือกและส่วนเนื้อของผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์ต่างกัน พบว่าค่าปริมาณโมโนเมอร์ิกแอนโธไซยานินทั้งหมดที่ตรวจวัดได้แสดงในภาพที่ 29



ภาพที่ 29 ปริมาณโมโนเมอร์แอนโทไซยานินที่พบในส่วนเปลือกของผลหว่า

ผลการวิเคราะห์ปริมาณโมโนเมอร์แอนโทไซยานินทั้งหมด สามารถพบได้เฉพาะในเปลือกช่วงอายุการเจริญที่ S4 และ S5 โดยมีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) 36.54 ± 7.26 และ 64.38 ± 7.10 มิลลิกรัมของไซยานิดินทริกลูโคไซด์ต่อผลหว่าแห้ง 100 กรัม ตามลำดับ ค่าโมโนเมอร์แอนโทไซยานินทั้งหมด ที่ได้สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิดินด้วยวิธี HPLC ที่พบแอนโทไซยานิดินเฉพาะในเปลือกช่วงอายุการเจริญที่ S4 และ S5 แต่ในเนื้อช่วงอายุการเจริญที่ P5 ซึ่งพบคลอโรฟิลล์ปริมาณเล็กน้อยเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC ไม่สามารถหาค่าโมโนเมอร์แอนโทไซยานินทั้งหมดได้ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ค่าที่วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC มีความแม่นยำ (accuracy) และความไว (sensitivity) มากกว่าวิธีการทางสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

เมื่อเปรียบเทียบค่าปริมาณแอนโธไซยานินที่ได้จากวิธี HPLC และวิธีทางสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยนำปริมาณของแอนโธไซยานินทั้งสามชนิดมารวมกัน คือ เคลฟินิดิน ไซยานิดิน และมัลวิดิน โดยไม่นำ unknown มาคำนวณ (เนื่องจากไม่มีสารมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์ปริมาณที่แน่นอน) พบว่ามีปริมาณรวม 367.93 มิลลิกรัมสารมาตรฐาน/100 กรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีค่ามากกว่าปริมาณโมโนเมอร์ิกแอนโธไซยานินทั้งหมด โดยปกติค่าโมโนเมอร์ิกแอนโธไซยานินที่หาจากวิธีทางสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ จะแสดงปริมาณรวมของแอนโธไซยานินทั้งหมดที่ไม่อยู่ในรูปพอลิเมอร์หรือแอนโธไซยานินอิสระ (free anthocyanin) ซึ่งปริมาณโมโนเมอร์ิกแอนโธไซยานินทั้งหมด ที่มีค่าน้อยกว่าวิธี HPLC นี้ อาจเกิดจากตัวอย่างที่ใช้ในวิธีทางสเปกโตรโฟโตมิเตอร์เพียงสกัดด้วยเมทานอล ไม่ได้ผ่านการไฮโดรไลส์ จึงทำให้แอนโธไซยานิน ซึ่งส่วนใหญ่ที่พบในพืชตามธรรมชาติ มักอยู่ในรูปของโปรไซยานิน หรือโปรแอนโธไซยานิน หรือแอนโธไซยานิน-แทนนิน ซึ่งเป็นโครงสร้างที่เป็นพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ (Macheix *et al.*, 1990) ทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า หรือกลายเป็นสารไม่ให้สี หรือมีความคงทนต่อสภาวะ pH เปลี่ยนไป (Wrolstad and Giusti, 2001) โดยปัจจัยเหล่านี้ ส่งผลต่อการวัดด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ในขณะที่การวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC ตัวอย่างผ่านการไฮโดรไลส์ด้วยกรดไฮโดรคลอริก ทำให้แอนโธไซยานินอยู่ในรูปโมโนเมอร์ิก (แอนโธไซยานิดิน) และสารมาตรฐานที่ใช้ยังจำเพาะต่อสารนั้น ๆ จึงทำให้ปริมาณแอนโธไซยานินที่ได้จากวิธี HPLC มีค่ามากกว่าวิธีทางสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโมโนเมอร์ิกแอนโธไซยานินทั้งหมดที่ได้ กับผลไม้ชนิดอื่น พบว่ามีค่าน้อยกว่า แครนเบอร์รี่ และบลูเบอร์รี่ ซึ่งรายงานในวิจัยของ Pior *et al.* (2001) และมีค่าน้อยกว่าผลหัวสาขพันธุ์ที่พบในอินเดียซึ่งรายงานในงานวิจัยของ Benheral and Arumughan (2007)

2.3 ผลการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (correlation analysis) ของการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลบางชนิดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC และวิธีทางสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ในส่วนเปลือกและเนื้อของผลหัวที่มีอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

จากผลการวิเคราะห์ค่าต่างๆ ที่ได้รายงานมาแล้วข้างต้น ได้แก่การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลบางชนิด (กรดพาราคูมาริก ไมริเซติน ควอเซติน เคลฟินิดิน ไซยานิดิน และ มัลวิดิน) ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic) ปริมาณฟลาโวนอยด์ (flavonoid content) ปริมาณโมโนเมอร์ิกแอนโธไซยานิน (monomeric anthocyanin content) นำค่าต่างๆ มาวิเคราะห์สหสัมพันธ์ เพื่อหาความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงค่าต่างๆ ในส่วนเปลือกและเนื้อของผลหัวที่ช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

2.3.1 สหสัมพันธ์ (correlation analysis) ของการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลบางชนิดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC และวิธีทางสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ในส่วนเปลือกของผลหว่าที่มีอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือก มีความสัมพันธ์ค่อนข้างต่ำ และเป็นไปในทิศทางตรงข้ามกันกับ การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดพาราคูมาริกในเปลือก ($r = -0.621$) และเคลฟีนิดินในเปลือก ($r = -0.621$)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟลาโวนอยด์ ในเปลือกผลหว่า มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน และมีค่าสหสัมพันธ์สูงกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณไซยานิดินในเปลือก ($r = 0.899$) และมัลวิดินในเปลือก ($r = 0.925$)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณโมโนเมอร์แอนโทไซยานินทั้งหมดในเปลือกผลหว่าหว่า มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน และมีค่าสหสัมพันธ์สูงกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดพาราคูมาริกในเปลือก ($r = 0.907$) ควอเซตินในเปลือก ($r = 0.934$) ไมริเซตินในเปลือก ($r = 0.891$) เคลฟีนิดินในเปลือก ($r = 0.882$) ไซยานิดินในเปลือก ($r = 0.860$) และมัลวิดินในเปลือก ($r = 0.890$)

ตารางที่ 19 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลบางชนิดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC และวิธีทางสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ในเปลือกผลหว่า

	Cou S	Que S	Myr S	Del S	Cya S	Mal S
TTP S	-0.621**	-0.194	0.496**	-0.606**	-0.364	-0.371
FC S	0.461**	0.784**	0.626**	0.490	0.899**	0.925**
TTA S	0.907**	0.934**	0.891**	0.882**	0.860**	0.890**

หมายเหตุ ** หมายความว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

Cou S = กรดพาราคูมาริกส่วนเปลือก

Que S = ควอเซตินส่วนเปลือก

Myr S = ไมริเซตินส่วนเปลือก

Del S = เคลฟีนิดินส่วนเปลือก

Cya = ไซยานิดินส่วนเปลือก

Mal S = มัลวิดินส่วนเปลือก

TTP S = ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือก

TA S = ปริมาณโมโนเมอร์ไอโซไซยานินทั้งหมดในเปลือก

FC S = ปริมาณฟลาโวนอยด์ในเปลือก

2.3.2 สหสัมพันธ์ (correlation analysis) ของการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลบางชนิดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC และวิธีทางสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ในส่วนเปลือกของผลหว่าที่มีอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเนื้อ มีความสัมพันธ์ค่อนข้างสูง และเป็นไปในทิศทางตรงข้ามกันกับ การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดพาราคูมาริกในเนื้อ ($r = -0.838$) และมีความสัมพันธ์ค่อนข้างสูง ไปในทิศทางเดียวกัน เคลฟินิดินในเปลือก ($r = -0.760$)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟลาโวนอยด์ ในเนื้อผลหว่า มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางตรงข้ามกัน และมีค่าสหสัมพันธ์สูงกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดพาราคูมาริกในเนื้อ ($r = -0.867$) และไม่รีเซตินในเนื้อ ($r = 0.970$)

ตารางที่ 20 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลบางชนิดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC และวิธีทางสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ในเนื้อผลหว่า

	Cou P	Que P	Myr P	Del P
TTP P	-0.838**	-0.165	0.318	0.760**
FC P	-0.867**	0.056	-0.970**	-0.358

หมายเหตุ ** หมายความว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

Cou P = กรดพาราคูมาริกส่วนเนื้อ

Que P = ควอเซตินส่วนเนื้อ

Myr P = ไมรีเซตินส่วนเนื้อ

Del P = เคลฟินิดินส่วนเนื้อ

TTP P = ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเนื้อ

FC P = ปริมาณฟลาโวนอยด์ในเนื้อ

3. คุณสมบัติด้านออกซิเดชันของผลหว่าในส่วนเปลือกและเนื้อเมื่ออายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

3.1 กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันในผลหว่าเมื่อวัดด้วยวิธี DPPH

นำสารสกัดผลหว่าในส่วนเปลือกและเนื้อ ตามวิธีการทดลองข้อ 9.2 มาเจือจางให้แต่ละตัวอย่าง มีความเข้มข้นแตกต่างกันแล้วทำการวัดกิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ตามวิธีการทดลองข้อ 12 คำนวณเป็นค่า % radical scavenging activity นำค่าที่ได้ ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน มาสร้างกราฟเพื่อคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัมในสารสกัดผลหว่า 1 มิลลิตร) ที่สามารถทำให้ค่า % radical scavenging activity ลดลงร้อยละ 50 (IC50) หลังจากนั้นนำค่า IC50 ที่ได้มา คำนวณเป็นค่าประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Antiradical Efficiency, AE)

3.1.1 กิจกรรมต้านออกซิเดชันในเปลือกผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

จากผลการทดลองหาค่าประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Antiradical Efficiency, AE) ของเปลือกผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 21 พบว่าเปลือกผลหว่า S1 มีค่า AE มากที่สุด ($p < 0.05$) คือมีค่า 0.78 รองลงมาเป็นตัวอย่างเปลือก ($p < 0.05$) S2 และ S3 มีค่า AE เป็น 0.46 และ 0.51 โดย S2 และ S3 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ส่วนตัวอย่าง S4 และ S5 มีประสิทธิภาพน้อยที่สุด คือมีค่า AE เป็น 0.38 และ 0.32 โดย S4 และ S5 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

3.1.2 กิจกรรมต้านออกซิเดชันในเนื้อผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

จากผลการทดลองหาค่าประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Antiradical Efficiency, AE) ของเนื้อผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 22 พบว่าเนื้อผลหว่า P1 มีค่า AE มากที่สุด ($p < 0.05$) คือมีค่า 0.85 รองลงมาเป็นตัวอย่าง ($p < 0.05$) P2 มีค่า 0.43 และอันดับถัดไปคือ P3 และ P4 มีค่า AE เป็น 0.36 และ 0.34 โดย P3 และ P4 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ส่วนตัวอย่าง P5 มีประสิทธิภาพน้อยที่สุด คือมีค่า AE เป็น 0.25

ตารางที่ 21 ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Antiradical Efficiency, AE) ในเปลือกผล
หว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

ช่วงอายุการบริบูรณ์	ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน Antiradical Efficiency, AE
S1	0.78 ^a
S2	0.46 ^b
S3	0.51 ^b
S4	0.38 ^c
S5	0.32 ^c

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งหมายถึง ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($p < 0.05$)

ตารางที่ 22 ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Antiradical Efficiency, AE) ในเนื้อผล
หว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

ช่วงอายุการบริบูรณ์	ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน Antiradical Efficiency, AE
P1	0.85 ^a
P2	0.43 ^b
P3	0.36 ^c
P4	0.34 ^c
P5	0.25 ^d

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งหมายถึง ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($p < 0.05$)

3.2 กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันในผลหว่าเมื่อวัดด้วยวิธี ORAC

นำสารสกัดผลหว่าในส่วนเปลือกและเนื้อ ตามวิธีการทดลองข้อ 9 มาเจือจางให้แต่ละตัวอย่าง มีความเข้มข้นแตกต่างกันแล้วทำการวัดกิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธีโดยแยกเป็นส่วน lipophilic และส่วน hydrophilic มาสารสกัดทั้งสองส่วนมาวิเคราะห์ตามวิธีการทดลองข้อ 13 ได้เป็นค่ากิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันสองส่วน คือส่วน lipophilic (L-ORAC) และส่วน hydrophilic (H-ORAC) เพื่อหากิจกรรมของสารต้านออกซิเดชัน และวิเคราะห์ว่าส่วน lipophilic และส่วน hydrophilic มีความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันในสัดส่วนที่มากหรือน้อย แตกต่างกันอย่างไรร แล้วนำค่าทั้งสองส่วนที่ได้มารวมกันเป็นค่ากิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันทั้งหมด (Total Antioxidant Capacity : TAC) มีหน่วยเป็นไมโครโมล ของสาร Trolox (TE) ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง

3.2.1 กิจกรรมต้านออกซิเดชันในเปลือกผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

จากผลการทดลองพบว่าค่ากิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันในส่วน lipophilic มีค่าน้อยกว่าในส่วน hydrophilic เนื่องจากผลหว่ามีไขมันปริมาณเล็กน้อย (Morton, 1987; USDA, 2006) ทำให้มีปริมาณเนื้อสารน้อย และสาเหตุหลักคือสารที่มีผลต่อความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันเป็นสารที่ละลายได้ในน้ำเช่นสารในกลุ่มพอลิฟีนอล โดยผลค่ากิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันทั้งหมด (TAC) ในเปลือกหว่ามีค่ามากที่สุดใน S5 ($p < 0.05$) คือมีค่าเป็น 5.90×10^5 ไมโครโมลของสาร Trolox ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ในขณะที่ S2 มีค่าน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) คือ 3.53×10^5 ไมโครโมลของสาร Trolox ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 23

3.2.2 กิจกรรมต้านออกซิเดชันในเนื้อผลหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

จากผลการทดลองพบว่าค่ากิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันในส่วน lipophilic มีค่าน้อยจนไม่สามารถวัดปริมาณได้ โดยผลค่ากิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันทั้งหมด (TAC) ในเนื้อหว่ามีค่ามากที่สุดใน P1 ($p < 0.05$) คือมีค่าเป็น 8.77×10^5 ไมโครโมลของสาร Trolox ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณลดลงเมื่อมีอายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้นดังแสดงในตารางที่ 24

ตารางที่ 23 ค่า L-ORAC, H-ORAC และ TAC ที่วัดด้วยวิธี ORAC ในเปลือกผลหว่า

ช่วงอายุการบริบูรณ์	L-ORAC ^a	H-ORAC ^b	TAC
S1	2.56 ^b	5.88 ^b	5.90 ^b
S2	9.73 ^a	3.43 ^d	3.53 ^d
S3	10.43 ^a	5.77 ^b	5.88 ^b
S4	9.84 ^a	4.81 ^c	4.91 ^c
S5	7.99 ^a	8.31 ^a	8.39 ^a

หมายเหตุ 1. ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวตั้งหมายถึง ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2. หน่วย : ไมโครโมลของสาร Trolox ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง

3. L-ORAC^a ค่าที่แสดง $\times 10^3$

4. H-ORAC^b ค่าที่แสดง $\times 10^5$

ตารางที่ 24 ค่า L-ORAC, H-ORAC และ TAC ที่วัดด้วยวิธี ORAC ในเนื้อผลหว่า

ช่วงอายุการบริบูรณ์	L-ORAC ^a	H-ORAC ^b	TAC
P1	ND	8.77 ^a	8.77 ^a
P2	ND	5.20 ^b	5.20 ^b
P3	ND	2.11 ^c	2.11 ^c
P4	ND	1.46 ^d	1.46 ^d
P5	ND	1.35 ^d	1.35 ^d

หมายเหตุ 1. ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวตั้งหมายถึง ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2. หน่วย : ไมโครโมลของสาร Trolox ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง

3. L-ORAC^a ค่าที่แสดง $\times 10^3$

4. H-ORAC^b ค่าที่แสดง $\times 10^5$

5. ND = ปริมาณน้อยจนไม่สามารถตรวจพบ

ค่าประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (AE) เมื่อวัดด้วยวิธี DPPH และค่ากิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันทั้งหมด (TAC) เมื่อวัดด้วยวิธี ORAC ของเนื้อผลหว่าช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 1 ซึ่งเป็นช่วงอายุที่มีค่า AE และ TAC สูงที่สุด และเปลือกผลหว่าช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 5 ซึ่งเป็นช่วงอายุที่นิยมรับประทานสด โดยคำนวณเป็น ไมโครโมลของสาร Trolox ต่อ กรัมน้ำหนักแห้งเปรียบเทียบกับผักและผลไม้ชนิดอื่นที่เคยมีผู้วิเคราะห์มาก่อน แสดงในตารางที่ 25

ตารางที่ 25 ค่า AE เมื่อวัดด้วยวิธี DPPH และค่า TAC เมื่อวัดด้วยวิธี ORAC ของเนื้อผลหว่าช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 1 เปรียบเทียบกับผักและผลไม้ชนิดอื่น

ตัวอย่าง	AE	TAC	เอกสารอ้างอิง
เนื้อหว่า P1	0.85	877000	
เปลือกหว่า S5	0.32	839000	
เปลือกหว่า (สายพันธุ์อินเดีย)	0.006	-	Banerjee et al. (2005)
เปลือกและเนื้อหว่า (สายพันธุ์อินเดีย)	0.006	-	Benherlal and Arumughan (2007)
ถั่วลันเตา (pea)	-	19	Ou et al. (2002)
หัวหอมใหญ่	-	85	Ou et al. (2002)
กะหล่ำดอก	-	102	Ou et al. (2002)
สตอเบอรี่	-	35.8	Wu et al. (2004)
บลูเบอรี่	-	62.2	Wu et al. (2004)
ราสเบอรี่	-	49.3	Wu et al. (2004)
แตงโม	-	1.4	Wu et al. (2004)
กีวี	-	9.2	Wu et al. (2004)
แครอท	-	12.2	Wu et al. (2004)
มะเขือเทศ	-	3.4	Wu et al. (2004)
บร็อคโคลี่	-	15.9	Wu et al. (2004)

หมายเหตุ หน่วย : ไมโครโมลของสาร Trolox ต่อ กรัมน้ำหนักแห้ง

3.3 สารประกอบฟีนอลต่อค่า AE และ TAC ในเปลือกและเนื้อผลหว่าที่ช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

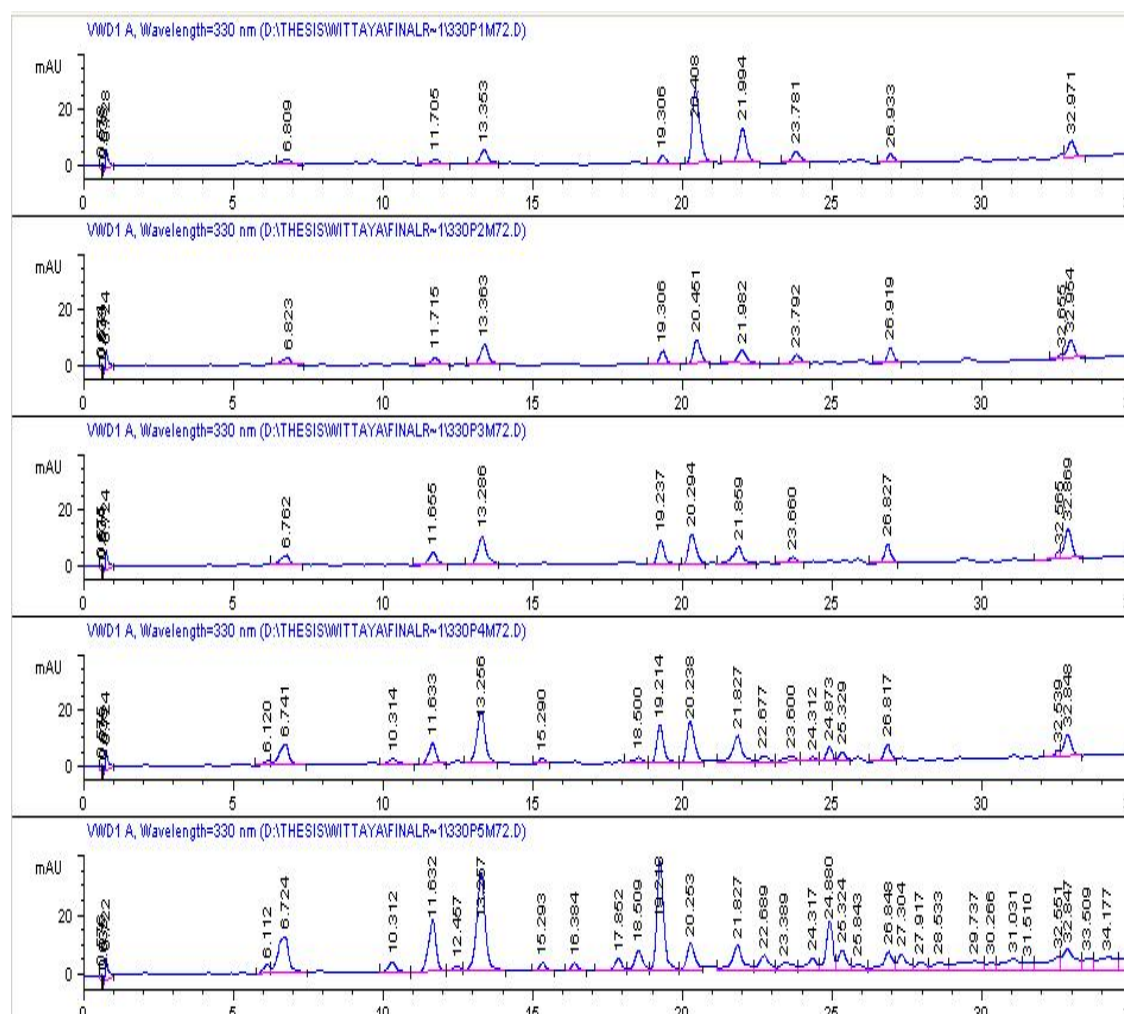
เนื่องจากในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ระบุชนิดของสารประกอบฟีนอลทุกชนิดที่พบในผลหว่า แต่ศึกษาสารประกอบฟีนอลชนิดที่พบมากในผักผลไม้ทั่วไป ในกลุ่มกรดฟีนอลิก กลุ่มฟลาโวนอล และ แอนโทไซยานินเท่านั้น ซึ่งในผลหว่าอาจประกอบไปด้วยสารประกอบฟีนอลอีกหลายชนิด โดยสารประกอบที่ไม่ทราบชนิดเหล่านั้น อาจส่งผลต่อการศึกษาเรื่องกิจกรรมต้านออกซิเดชัน

จากการศึกษากิจกรรมต้านออกซิเดชันในเนื้อผลหว่า พบว่าช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 1 มีประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันมีค่ามากที่สุด และมีค่าสอดคล้องกันในรูปของค่า AE และ TAC ในขณะที่อายุการบริบูรณ์ที่ 5 มีค่าน้อยที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 21 และ 23 แต่ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลที่ทราบชนิด (กรดพาราควมาริก ไมริเซดิน ควอเซดิน เคลฟินิดิน ไชยานิดินและมัลวิดิน) ในเนื้อ ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC ไม่สอดคล้องกับค่า AE และ TAC ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลที่ทราบชนิดมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่ออายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ ค่า AE และ TAC มีค่าน้อยลงเมื่อช่วงอายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้น โดยอาจกล่าวได้ว่า สารประกอบฟีนอลที่ทราบชนิด (กรดพาราควมาริก ไมริเซดิน ควอเซดิน เคลฟินิดิน) ที่พบในผลหว่า ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า AE และ TAC น้อยมาก กรณีดังกล่าวสามารถอธิบายได้จากภาพที่ 30 ซึ่งแสดงโครมาโตแกรมของเนื้อผลหว่า 5 ช่วงอายุการบริบูรณ์ โดยอายุการบริบูรณ์ที่ 1 แสดงที่ภาพบนสุด และช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 5 แสดงที่ภาพล่างสุด จะเห็นได้ว่ามีเพียงสารที่มี retention time ที่ประมาณนาที่ที่ 20 เท่านั้นที่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณลดลงเมื่ออายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้นและสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของค่า AE และ TAC สารประกอบฟีนอลนาที่ที่ 20 จึงน่าจะเป็นสารหลักที่ส่งผลต่อค่า AE และ TAC ในผลหว่า โดยให้ผลมากกว่าการเพิ่มปริมาณของสารประกอบฟีนอลที่ทราบชนิดจากการศึกษาด้วยวิธี HPLC ในครั้งนี้

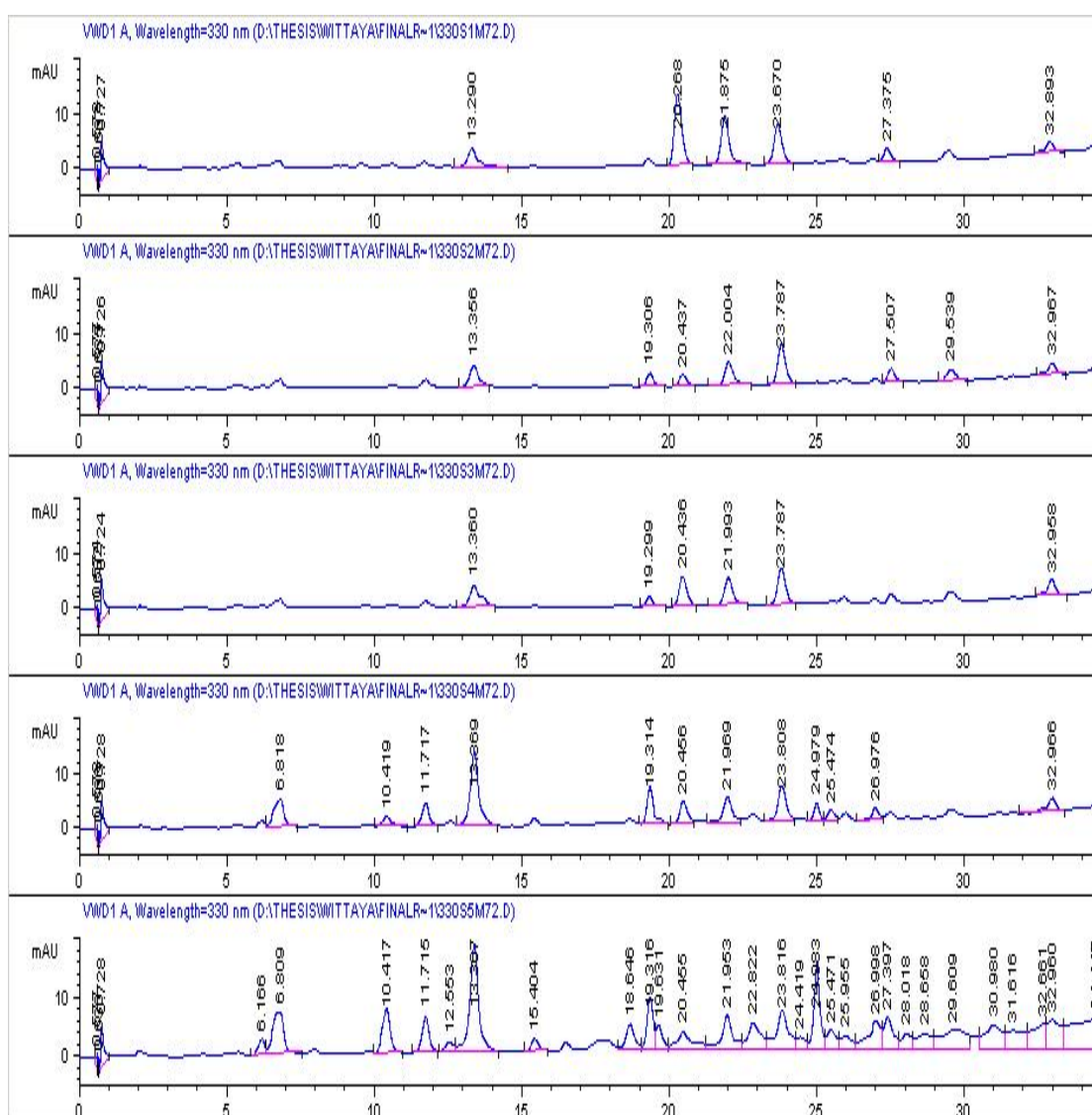
จากการศึกษาคุณสมบัติต้านออกซิเดชันในเปลือกผลหว่า พบว่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชัน ค่า AE มากที่สุดในเปลือกอายุการบริบูรณ์ที่ 1 ดังแสดงในตารางที่ 19 ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับในเนื้อผลหว่าที่มีปริมาณลดลงเมื่ออายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้สาเหตุน่าจะเกิดจากสารนาที่ที่ 20 เช่นเดียวกับในเนื้อผลหว่า เพราะจากภาพที่ 31 พบการลดลงของกราฟสารนาที่ที่ 20 เมื่ออายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้น สารนาที่ที่ 20 จึงน่าจะเป็นปัจจัยหลักในค่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชัน

สารนาที่ที่ 20 ในผลหว่าจึงเป็นสารที่มีศักยภาพในการนำไปศึกษาเพิ่มเติม ในการระบุชนิดของสาร และประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน

จากตารางที่ 23 พบว่าเปลือกอายุการบริบูรณ์ที่ 5 มีค่า TAC มากที่สุด และไม่สอดคล้องกันกับค่า AE ในขณะที่ค่า TAC และ AE ในเนื้อมีความสอดคล้องกัน ซึ่งสาเหตุน่าจะเกิดจากในเปลือกและเนื้อผลหว่า มีสารประกอบฟีนอลแตกต่างกัน จากตารางที่ 25 พบว่าในเปลือกหว่าที่ช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 4 และ 5 มีแอนโทไซยานินปริมาณมาก แต่สารกลุ่มนี้ไม่พบในเนื้อ จึงอาจกล่าวได้ว่าค่า TAC ที่เพิ่มมากขึ้นในช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 5 เป็นผลมาจากปริมาณแอนโทไซยานินที่พบในเปลือก และส่งผลต่อค่า TAC มากกว่าค่า AE เนื่องจากค่า AE ซึ่งวิเคราะห์มาจากการทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งมีโครงสร้างที่ขัดขวางสารโมเลกุลใหญ่ๆ เช่น แอนโทไซยานิน หรือฟลาโวนอล เข้าทำปฏิกิริยา



ภาพที่ 30 โครมาโตแกรมเนื้อผลหว่า 5 ช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 330 นาโนเมตร (บนลงล่าง P1-P5)



ภาพที่ 31 โครมาโตแกรมเปลือกผลหว่า 5 ช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 330 นาโนเมตร (บนลงล่าง S1-S5)

3.4 ผลการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (correlation analysis) ของการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอล และกิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันในส่วนเปลือกและเนื้อของผลหว่าที่ช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

จากผลการวิเคราะห์ค่าต่างๆ ที่ได้รายงานมาแล้วข้างต้น ได้แก่ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด(total phenolic) ปริมาณฟลาโวนอยด์ (flavonoid content) ปริมาณโมโนเมอร์ิกแอนโทไซยานิน (monomeric anthocyanin content) ปริมาณสารประกอบฟีนอลบางชนิดที่วัดด้วยวิธี HPLC และกิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันเมื่อวัดด้วยวิธี DPPH (AE) และ ORAC (TAC) นำค่าต่างๆ มาวิเคราะห์สหสัมพันธ์ เพื่อหาความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงค่าต่างๆ ในส่วนเปลือกและเนื้อของผลหว่าที่ช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 26 และ 27

การเปลี่ยนแปลงของค่า AE ในเปลือกของผลหว่า มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน และมีค่าสหสัมพันธ์ปานกลางกับ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือกผลหว่า ($r = 0.672$) และ ปริมาณโมโนเมอร์ิกแอนโทไซยานินทั้งหมดในเปลือกผลหว่า ($r = 0.518$) ดังแสดงในตารางที่ 26

การเปลี่ยนแปลงค่า TAC ในเปลือกผลหว่า มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน และมีค่าสหสัมพันธ์ปานกลางกับ ปริมาณฟลาโวนอยด์ในเปลือกผลหว่า ($r = 0.653$) และมีสหสัมพันธ์ค่อนข้างสูงกับปริมาณโมโนเมอร์ิกแอนโทไซยานินทั้งหมดในเปลือกผลหว่า ($r=0.857$) ดังแสดงในตารางที่ 26

การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟลาโวนอยด์ในเปลือกผลหว่า มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน และมีค่าสหสัมพันธ์สูง กับปริมาณโมโนเมอร์ิกแอนโทไซยานินทั้งหมดในเปลือกผลหว่า ($r=0.940$) ดังแสดงในตารางที่ 26

ตารางที่ 26 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพด้านออกซิเดชัน และปริมาณของสารประกอบฟีนอลที่วิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ในเปลือกผลหว่าที่ช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

	TAC S	TTP S	FC S	TA S
AE S	-0.139	0.672**	0.236	0.518*
TAC S		-0.186	0.653**	0.857**
TTP S			0.420	-0.423
FC S				0.940**

หมายเหตุ ** หมายความว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นน้อยกว่า 0.05 และ 0.01 ตามลำดับ

AE S = ค่า AE ในเปลือก

TAC S = ค่า TAC ในเปลือก

TTP S = ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือก

TA S = ปริมาณโมโนเมอร์ิกแอโนโซไซยานินทั้งหมดในเปลือก

FC S = ปริมาณฟลาโวนอยด์ในเปลือก

ตารางที่ 27 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพด้านออกซิเดชัน และปริมาณของสารประกอบฟีนอลที่วิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ในเนื้อผลหว่าที่ช่วงอายุการบริบูรณ์แตกต่างกัน

	TAC P	TTP P	FC P
AE P	0.928**	-0.637**	0.914**
TAC P		-0.752**	0.916**
TTP P			-0.565**

หมายเหตุ ** หมายความว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นน้อยกว่า 0.01

AE P = ค่า AE ในเนื้อ

TAC P = ค่า TAC ในเนื้อ

TTP P = ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเนื้อ

FC P = ปริมาณฟลาโวนอยด์ในเนื้อ

การเปลี่ยนแปลงของค่า AE ในเนื้อของผลหว่า มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน และมีค่าสหสัมพันธ์สูงกับ ค่า TAC ในเนื้อผลหว่า ($r = 0.928$) และปริมาณฟลาโวนอยด์ในเนื้อผลหว่า ($r = 0.914$) นอกจากนี้ยังมีความสัมพันธ์ค่อนข้างสูงไปในทิศทางตรงข้ามกันกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเนื้อผลหว่า ($r = -0.637$) ดังแสดงในตารางที่ 27

การเปลี่ยนแปลงของค่า TAC ในเนื้อของผลหว่า มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน และมีค่าสหสัมพันธ์สูงกับ ปริมาณฟลาโวนอยด์ในเนื้อผลหว่า ($r = 0.916$) นอกจากนี้ยังมีความสัมพันธ์ค่อนข้างสูงไปในทิศทางตรงข้ามกันกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเนื้อผลหว่า ($r = -0.752$) ดังแสดงในตารางที่ 27

การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเนื้อผลหว่ามีความสัมพันธ์ค่อนข้างต่ำในทิศทางตรงข้ามกันกับปริมาณฟลาโวนอยด์ในเนื้อผลหว่า ($r = -0.565$) ดังแสดงในตารางที่ 27

4. ข้อเสนอแนะและแนวทางในการใช้ประโยชน์จากผลหว่า

สารประกอบฟีนอล โดยเฉพาะสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์มีผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภคในหลายด้าน เช่น ด้านการระคายเคือง (antiallergic) ด้านการอักเสบ (anti-inflammatory) (Muruganandan *et al.*, 2001) ด้านเชื้อไวรัส (Antiviral) ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) ด้านมะเร็ง (anticancer) ด้านสารก่อมะเร็ง (anticarcinogen) ด้านโรคหลอดเลือดหัวใจ (Beecher *et al.*, 1999) ด้านโรคเบาหวาน (antidiabetic) ลดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (reduce Lipid-peroxidation) (Ray *et al.*, 2004) ลดความเสียหายของ DNA (Reduce DNA damage) คุณสมบัติด้านสุขภาพดังกล่าวนี้ทำให้ มีการนำสารประกอบฟีนอลที่พบในผักและผลไม้มาใช้ประโยชน์ เป็นผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้แปรรูปที่มีสารประกอบฟีนอลเป็นองค์ประกอบ ที่มีมูลค่าการตลาดถึง 8,441 ล้านบาท (ฐานเศรษฐกิจ, 2551) ทั้งนี้ในผลหว่าประกอบไปด้วยฟลาโวนอยด์หลายชนิด มีศักยภาพเป็นที่น่าสนใจ เหมาะกับการนำมาแปรรูปเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม

4.1 สารประกอบฟีนอลในผลหว่า

สารประกอบฟีนอลที่ทราบชนิดในผลหว่าที่ได้จากการทดลองนี้ประกอบด้วย 3 กลุ่มคือ กลุ่มกรดฟีนอลิก ซึ่งพบกรดพาราควมาริก กลุ่มฟลาโวนอล ซึ่งพบไมริเซตินและควอเซติน กลุ่มแอนไซยานิดินซึ่งพบ เดลฟินิดิน ไซยานิดิน และมัลวิดิน โดยสารประกอบฟีนอลทั้ง 3 กลุ่มที่พบกระจายตัวอยู่ในทั้งส่วนเปลือกและเนื้อ จากตารางที่ 25 แสดงให้เห็นถึง ชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอล ในส่วนเปลือกของผลหว่าช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 5 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุด และมีความหลากหลายของสารประกอบฟีนอลที่ทราบชนิดมากที่สุด 6 ชนิด จากจำนวนสารมาตรฐาน 13 ผลหว่าในช่วงอายุการเก็บที่ 5 จึงเหมาะในการนำไปใช้ประโยชน์ในการรับประทานผลหว่าสดหรือการแปรรูปผลหว่า ให้ได้ประโยชน์สูงสุดในแง่ของปริมาณ รสชาติและความหลากหลายของชนิดฟลาโวนอยด์

ตารางที่ 28 สารประกอบฟีนอลที่พบในส่วนเปลือกและเนื้อ ที่พบในช่วงอายุการบ่มสุกแตกต่าง
กัน 5 ช่วงอายุการบ่มสุก

ช่วงอายุการบ่มสุก	สารประกอบฟีนอลที่พบ	
	เปลือก	เนื้อ
1	Myr, Que, Del	Myr*
2	Myr, Que, Del	Myr
3	Cou, Myr, Que, Del	Cou, Myr
4	Cou, Myr, Que, Del, Cya, Mal	Cou, Myr*, Q
5	Cou*, Myr, Que*, Del*, Cya*, Mal*	Cou, Myr, Q, Del

หมายเหตุ 1. Cou = *p*-coumaric, Myr = myricetin, Que = quercetin, Del = Delphinidin, Cya = cyanidin, Mal = malvidin

2. * หมายถึงมีปริมาณมากที่สุด

4.2 กิจกรรมด้านออกซิเดชันในผลหว่า

จากข้อมูลการศึกษาทั้งในเปลือกและในเนื้อ ที่กล่าวในหัวข้อ 3.2 อาจสรุปได้ว่า สารนาที่ที่ 20 น่าจะเป็นสารประกอบฟีนอลที่มีขนาดเล็ก เช่นพวกกรดฟีนอลิก เนื่องจากทำปฏิกิริยาได้ดีกับอนุมูล DPPH และสารนี้เป็นสารหลักที่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงประสิทธิภาพของการเป็นสารต้านออกซิเดชันในผลหว่า โดยส่งผลต่อค่า AE มากกว่า ค่า TAC สารชนิดนี้จึงมีศักยภาพในการนำไปศึกษาและวิจัยต่อ

4.3 การนำผลการศึกษาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม

ปัจจุบันสังคมเมืองเช่น ในกรุงเทพ และเขตหัวเมืองใหญ่ อยู่ในสถานะที่มีการแข่งขันและเร่งรีบ ทำให้ผู้บริโภคมีเวลาในการออกกำลังกายและรับประทานอาหารให้ถูกสุขลักษณะหรือดูแลสุขภาพได้น้อยลง ผู้บริโภคที่ใส่ใจสุขภาพหันไปพึ่งผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ เช่น ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตเสริมวิตามินและเกลือแร่ เป็นต้น และกลุ่มผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อความสวยงาม เช่น ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารบำรุงผม รักษาผิว เพิ่มความขาว เป็นต้น โดยผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีมูลค่าการตลาดถึง 8,441 ล้านบาท (ฐานเศรษฐกิจ, 2551) ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเหล่านี้ส่วนใหญ่จะเป็นสารสกัดจากผัก ผลไม้ตามธรรมชาติ เช่น ผลิตภัณฑ์เบอร์รี่สกัด นอกจากนี้

ยังอยู่ในรูปของ functional food ที่เป็นอาหารรูปแบบปกติ หรือเป็นน้ำดื่ม โดยการกล่าวอ้างสรรพคุณทั้งหลายจะอยู่ในแง่ของการเป็นสารต้านออกซิเดชัน หรือต้านออกซิเดชัน คุณสมบัติด้านมะเร็ง คุณสมบัติลดความเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจ เป็นต้น ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวเป็นคุณสมบัติของสารประกอบฟีนอล และสารเหล่านั้นพบใน ผลหว่า กอปรกับผลหว่ามีสีสรรสวยงามน่ารับประทาน ผลหว่าจึงมีศักยภาพในการนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ

4.3.1 การประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

การนำผลการศึกษาวิจัยไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร สืบเนื่องมาจากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ทำให้ทราบชนิดของสารประกอบฟีนอลบางชนิด และคุณสมบัติด้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพสูงในผลหว่า ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวสามารถนำไปใช้กล่าวอ้างหรือเป็นข้อมูลพื้นฐาน ในผลิตภัณฑ์อาหารดั้งเดิมที่มีอยู่ในตลาดซึ่งปัจจุบันผลิตกันในรูปแบบของ หนึ่งผลิตภัณฑ์หนึ่งตำบล ซึ่งขาดข้อมูลพื้นฐานสนับสนุน เช่นผลิตภัณฑ์ไวน์ลูกหว่า น้ำลูกหว่าบรรจุกระป๋อง นอกจากนี้ผลหว่ายังมีศักยภาพในการนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ เช่น แยม และน้ำส้มสายชู จากผลหว่า ซึ่งยังไม่มีผลิตในประเทศไทย นอกจากจะนำไปผลิตอาหารในรูปแบบดั้งเดิมแล้ว ผลหว่ายังสามารถนำไปผลิตเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์อื่น เช่นนำไปสกัดและผลิตแอนโทไซยานิน ซึ่งเป็นสารให้สีม่วงหรือน้ำเงิน สำหรับผสมอาหาร นอกจากนี้ตัวผลหว่าเองยังมีคุณสมบัติด้านออกซิเดชัน ซึ่งเมื่อผลหว่าเป็นส่วนผสมของอาหารยังสามารถช่วยในเรื่องของการกันการหืนในผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันหรือน้ำมันเป็นส่วนประกอบ ซึ่งถ้ามีการศึกษาประสิทธิภาพและการใช้งานเพิ่มมากขึ้น อาจสามารถนำไปใช้เป็นสารกันหืน แทนสารกันหืนทางการค้า เช่นพวก TBHQ หรือ BHA แต่เนื่องจากในผลหว่ามีสีม่วงหรือน้ำเงินจึงอาจส่งผลกระทบต่ออาหารที่ไม่ต้องการสี

4.3.2 การประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอื่น

ในตำราแผนโบราณมักใช้ผลหว่าดิบในการรักษาโรคท้องร่วง และใช้ผลหว่าสุกและเมล็ดในการรักษาโรคเบาหวานและให้ผลดีกว่ายารักษาเบาหวานในปัจจุบัน รวมถึงสามารถใช้ในปริมาณมากได้ (Pepato *et al.*, 2005; Vikrant *et al.*, 2001; Grover *et al.*, 2000; Shamar *et al.*, 2006) ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวผลหว่าจึงมีศักยภาพในการผลิตเป็นยารักษาโรค นอกจากนี้ในผลหว่ายังมีศักยภาพในการผลิตเวชภัณฑ์สำอางค์ ซึ่งนิยมใช้สารสกัดจากผักและผลไม้เป็นส่วนผสม เพื่อต้องการคุณสมบัติต้านออกซิเดชัน หรือต้องการลดการทำงานของเมลานิน เช่นใช้ผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ ซึ่งมีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบหลักเหมือนกับผลหว่า

สรุป

1. ผลจากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นของผลหว่า ซึ่งยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน ซึ่งสามารถใช้เป็นดัชนีเบื้องต้น เพื่อวัดอายุการบริบูรณ์ของผลหว่าที่เหมาะสม ซึ่งในการทดลองนี้คือการใช้ขนาดผลหว่าในการแบ่งช่วงอายุการบริบูรณ์ โดยไม่ทำลายตัวอย่างและสามารถแบ่งแยกได้อย่างแม่นยำ และสามารถใช้ค่าสี (Light Chroma และ Hue angle) ในการแบ่งช่วงอายุ โดยค่า Hue angle เพียงค่าเดียวสามารถแยกตัวอย่างกลุ่มช่วงอายุที่ 5 ซึ่งเป็นช่วงอายุที่เหมาะสมกับการรับประทานสด ออกจากกลุ่มอื่นได้ ซึ่งมีค่า $286.50 \pm 14.8^\circ$

2. เมื่อศึกษาสารกลุ่มกรดฟีนอลิกด้วยวิธี HPLC พบกรดพาราควมาริกเพียงชนิดเดียวจากสารมาตรฐาน กรดแกลลิก, กรดวานิลลิก, กรดเฟอรูลิก, กรดพาราควมาริก, กรดซินนามิก, กรดไซแนปฟิก, กรดซินนามิก ในเปลือก (S) และเนื้อ (P) ในผลหว่าสามารถพบกรดพาราควมาริกตั้งแต่ช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 3- 5 โดยมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่ออายุการบริบูรณ์เพิ่มมากขึ้น และพบการกระจายตัวของกรดพาราควมาริกในเปลือกมากกว่าเนื้อของผลหว่า โดยพบปริมาณมากสุดในเปลือกช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 5 (S5) มีค่า 10.63 มิลลิกรัม/100กรัมน้ำหนักแห้ง ($p < 0.05$) โดยมีค่ามากกว่าในเนื้อที่อายุเดียวกัน (P5) ประมาณ 2 เท่า กรดพาราควมาริกมีปริมาณน้อยกว่าปริมาณที่พบในบลูเบอร์รี่ ประมาณ 1.6 เท่า

3. สารกลุ่มฟลาโวนอลที่พบในผลหว่าเมื่อศึกษาด้วยวิธี HPLC คือ ไมริเซตินและควอเซติน โดยไม่พบแคมฟีรอลในการศึกษาครั้งนี้ ไมริเซตินสามารถพบได้ทุกช่วงอายุการบริบูรณ์ของผลหว่า และกระจายตัวทั้งส่วนเปลือกและส่วนเนื้อของผลหว่า โดยมีปริมาณมากที่สุดในส่วนเนื้อช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 1 (P1) และ 4 (P5) ($p < 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 21.38 -21.99 มิลลิกรัม/100กรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งเปลือกที่ช่วงอายุเดียวกันมีปริมาณน้อยกว่าประมาณ 1.5 เท่า

ควอเซตินพบในเปลือกทุกช่วงอายุการบริบูรณ์ โดยการกระจายตัวของควอเซตินในเปลือกมากกว่าในเนื้อ ซึ่งมีปริมาณควอเซตินมากที่สุดที่ช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 5 (S5) มีค่า 13.64 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง โดยพบควอเซตินมากกว่าในเนื้อที่ช่วงอายุเดียวกันประมาณ 1.7 เท่า ในขณะที่ส่วนเนื้อสามารถพบควอเซตินช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 4-5 เท่านั้น แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงควอเซตินในเปลือก มีค่าต่ำในช่วงอายุที่การบริบูรณ์ S1 – S4 ก่อนจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ประมาณ 6.5 เท่าใน S5

4. สารกลุ่มแอนโธไซยานิดินที่พบมี 3 ชนิดคือ เดลฟินิดิน ไชยานิดิน และมัลวิดิน และพบ unknown อีก 1 ชนิด ซึ่งน่าจะเป็น petunidin หรือ peonidin จากการเปรียบเทียบลำดับการแยกสารกลุ่มแอนโธไซยานิดินที่พบในรายงานของ Hosseinian *et al.* (2008) และ Jaakola *et al.* (2002) ที่รายงานลำดับการแยกสารกลุ่มแอนโธไซยานิดิน ซึ่งพบว่าลำดับการแยกของสารระหว่างไชยานิดินกับมัลวิดิน มีสาร เพตุนิดิน (petunidin) เฟลาโกนิดิน (pelargonidin) และพีโอนิดิน (peonidin) และชนิดของแอนโธไซยานินที่พบในผลหว่า จากงานวิจัยของ Brito *et al* (2007) ที่รายงานการพบ delphinidin 3,5-diglucoside, cyanidin 3,5-diglucoside, petunidin 3,5-diglucoside, peonidin 3,5-diglucoside, malvidin 3,5-diglucoside ในผลหว่าพันธุ์ที่ปลูกในประเทศบราซิล

เดลฟินิดินและ unknown เป็นแอนโธไซยานินที่มีปริมาณมากที่สุดในหว่าโดยเดลฟินิดินมีค่า 214.68 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง และไชยานิดินมีปริมาณน้อยที่สุดคือ 7.34 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง แอนโธไซยานิดินในหว่าเริ่มพบตั้งแต่ช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 4 ยกเว้นเดลฟินิดินที่พบตั้งแต่อายุการบริบูรณ์ที่ 1 การกระจายตัวของแอนโธไซยานิดิน ทั้งสามชนิดพบเฉพาะในเปลือกยกเว้นเดลฟินิดินที่พบในเนื้อช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 5 (P5)

5. การศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธีสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ พบว่าเนื้อหว่าช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 3 (P3) มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดคือ 30,639.84 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/100 กรัมน้ำหนักแห้ง และเนื้อหว่าอายุการบริบูรณ์ที่ 1 (P1) พบปริมาณฟลาโวนอยด์ซึ่งศึกษาด้วยวิธีสเปคโตรโฟโตมิเตอร์มากที่สุดคือ 119.36 มิลลิกรัมเคทเทคิน/100 กรัมน้ำหนักแห้ง และพบปริมาณโมโนเมอร์แอนโธไซยานินมากที่สุดที่เปลือกช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 5 (S5) มีค่า 64.38 มิลลิกรัมของไชยานิดินทริกลูโคไซด์ต่อเปลือกหว่าแห้ง 100 กรัม

6. เปลือกหว่ามีค่าประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antiradical efficiency, AE) เมื่อวัดด้วยวิธี DPPH มากที่สุดที่อายุการบริบูรณ์ที่ 1 คือมีค่า 0.78 และมีค่าต่ำสุดที่ S5 คือ 0.32 โดยแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงค่า AE เมื่อผลหว่ามีอายุการบริบูรณ์มากขึ้น จะมีค่า AE

ค่าประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Antiradical Efficiency, AE) ของเนื้อหว่าที่อายุการบริบูรณ์แตกต่างกันเมื่อวัดด้วยวิธี DPPH สอดคล้องกับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟลาโวนอยด์เมื่อวัดด้วยวิธีสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ค่า AE พบมากที่สุดเนื้อผลหว่าอายุการบริบูรณ์ที่ 1 (P1) คือมีค่า 0.85 ซึ่งมากกว่าในเปลือก

7. กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันทั้งหมด (TAC) ของเปลือกห้วเมื่อวัดด้วยวิธี ORAC มีผลต่างจากการวัดค่า AE ด้วยวิธี DPPH โดยมีค่า TAC เพิ่มขึ้นเมื่ออายุการบริบูรณ์มากขึ้น ค่า TAC มีปริมาณมากที่สุดที่อายุการบริบูรณ์ 5 (S5) คือมีค่า 8.39×10^5 ไมโครกรัม Trolox ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง โดยค่ากิจกรรมส่วน lipophilic (L-ORAC) และส่วน hydrophilic (H-ORAC) มีค่า 7.99×10^3 และ 8.31×10^5 ไมโครกรัม Trolox ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ การเปลี่ยนแปลง TAC ในเปลือกเมื่อผลห้วมีอายุการบริบูรณ์แตกต่างกันสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟลาโวนอยด์และปริมาณโมโนเมอริกแอนโทไซยานินทั้งหมดที่หาด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันทั้งหมด (TAC) ของเนื้อห้วเมื่อวัดด้วยวิธี ORAC สอดคล้องกับค่า AE ด้วยวิธี DPPH โดยมีค่า TAC และ AE ลดลงเมื่ออายุการบริบูรณ์มากขึ้น ค่า TAC มีปริมาณมากที่สุดที่อายุการบริบูรณ์ 1 (P5) คือมีค่า 8.77×10^5 ไมโครกรัม Trolox ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง โดยเป็นค่ามาจากกิจกรรมต้านออกซิเดชันส่วน hydrophilic การเปลี่ยนแปลง TAC ในเนื้อ เมื่อผลห้วมีอายุการบริบูรณ์แตกต่างกันสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟลาโวนอยด์และปริมาณโมโนเมอริกแอนโทไซยานินทั้งหมดที่หาด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กระทรวงพาณิชย์. 2551. สิ้นค้านำเข้าสำคัญ 100 รายการแรกของไทย ปี 2545 – 2549

(ม.ค.- ธ.ค.). <http://www.moc.go.th>. แหล่งที่มา

http://www2.ops2.moc.go.th/import/import_topn_5y/report.asp, 15 กุมภาพันธ์ 2551.

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2543. สมุนไพร..ไม่พื้นบ้าน. พิมพ์ครั้งที่ 1.

ประชาชน, กรุงเทพฯ.

จริงแท้ ศิริพานิช. 2541 . สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. มหา

วิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ฐานเศรษฐกิจ. 2549. นุสกินเปิดตัวจี 3 เครื่องดื่มสุขภาพ ดันยอดขายโต 10%.

<http://www.thannews.th.com>. แหล่งที่มา:

<http://www.thannews.th.com/detailnews.php?id=M2221534&issue=2153>, 1-4 ,

มกราคม 2551.

ปรีชา อร่ามพงษ์พันธุ์. 2535. พรรณไม้มงคลพระราชทาน. พิมพ์ครั้งที่ 1. มูลนิธิสถาบัน

ราชพฤกษ์, กรุงเทพฯ.

ศุภพงษ์ ภูพัฒนะพันธุ์. 2531. รายงานวิจัยโครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตไวน์ในระดับ

อุตสาหกรรม. การพัฒนาการผลิตไวน์จากองุ่นและผลไม้. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

และกรมสรรพสามิต, กรุงเทพฯ.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2548. สรีรวิทยาพืช. พิมพ์ครั้งที่ 4. จามจุรีโปรดักท์, กรุงเทพฯ.

โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุญยะรัตน์ และ มาลีรักษ์ อัดดีสินทอง. 2550.

สารต้านออกซิเดชัน. พิมพ์ครั้งที่ 2. นิวไทยมิตรการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

- Al-Zaid, M. M., A. M. M. Hassan, N. Badir. and K. A. Gumaa. 1991. Evaluation of blood glucose lowering activity of three plant diet additives. **Int. J. Pharmacognesy.** 29: 81-88.
- Andersen., O. M. and K. R. Markham. 2006. **Flavonoids.** CRC Press Taylor & Francis Group, United States of America.
- AOAC. 2000. Official methods of analysis of AOAC International, 17thed. W, Horwitz ed. **Association of Official Analytical Chemists.**Gaithersburg, Md. USA.
- Ayaz, F. A., A. K. lu, M. Reunanen and M. Var. 1997. Phenolic acid and fatty acid composition in the fruits of *Laurocerasus officinalis* Roem. and Its cultivars. **J. Of Food Compostion and Analysis.** 10: 350–357.
- Azodanlou, R., C. Darbellay, J. Luisier, J. Villettaz and R. Amadò. 2003. Development of a model for quality assessment of tomatoes and apricots. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie.** [36](#): 223-233.
- Banerjee, A., D. Nabasree and D. Bratati. 2005. In *Vitro* study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. **Food Chemistry.** 90: 727–733.
-
2005. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. **Food Chemistry** (90): 727–733. Cited Martinez, S. B., & Del Valle, M. J.. 1981. Storage stability and sensory quality of duhat (*Syzygium cumini* Linn.) anthocyanins as food colorant. **UP Home Economic Journal.** 9 (1): 139, 147.
- Beecher, G. R. 1999. Flavonoid in Foods, pp. 269-281. In L. Packer, M. Hiramatsu, T. Yoshikawa, eds. **Antioxidant Food supplements in Human Health.** Academic Press, San diego.

- Benherlal, P., S. and C. Arumughan. 2007. Chemical composition and in vitro antioxidant studies on *Syzygium cumini* fruit. **J Sci Food Agric.** 87: 2560–2569.
- Brito, E. S., M. C. P. Araujo, R. E. Alves, C. Carkeet, B. A. Clevidence, and J. A. Novotny. 2007a. Anthocyanins present in selected tropical fruits: Acerola, Jambolão, Jussara, and Guajiru. **J. Agric. Food Chem.** 55: 9389–9394.
- _____, L. Lin and J. Harnly. 2007b. Determination of flavonoid components of cashew apple (*Anacardium occidentale*) by LC-DAD-ESI/MS. **Food Chemistry.** 105: 1112-1118.
- Chandrasekaran M. and V. Venkatesalu. 2004. Antibacterial and antifungal activity of *Syzygium jambolanum* seeds. **J. Ethnopharmacol.** 91: 105-108.
- Dangles, O., G. Fargeix and C. Dufour. 2000. Antioxidant properties of anthocyanins and tannins: a mechanistic investigation with catechin and the 3_,4_,7-trihydroxyflavylium ion. **J. Chem. Soc.** 2: 1653–1663.
- Daniel, E. M., A. S. Krupnick, Y. Heur, J. A. Blinzler, R. W. Nims and G. D. Stoner. 1989. Extraction stability and quantitation of ellagic acid in various fruits and nuts. **J. of Food Composition and Analysis.** 2: 338-349.
- Das, I., Y. Singh, S. A. Ansari and N. R. Agrawal. 2005. In vitro dissolution of gallbladder stone by edible leaves, fruits and homoeopathic medicines. **J. of Crystal Growth.** 283: 508-513.
- Djipa, C. D., M. Delmee and J. Quetin-Leclercq. 2000. Antimicrobial activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). **J. of Ethnopharmacology.** 71: 307-313.

- D'Mello, P. M., M. A. Jadhav. and C. I. Jolly. 2000. Free radical scavenging activity of *Syzygium cumini* and *Ficus bengalensis* -plant used in Ayurveda diabetes mellitus. **Indian Drug.** 37.
- Downey, M. O., M. Mazza and M. P. Krstic. 2007. Development of a stable extract for anthocyanin and flavonols from grap skin. **Am. J. Enol. Vitic.** 58: 358-364.
- Garcia-Marino, M., J. C. Rivas-Gonzalo, E. Ibanez, C. Garcia-Moreno. 2006. Recovery of catechins and proanthocyanidins from winery by-products using subcritical water extraction. **Analytica Chimica Acta.** 563: 44–50.
- Grover, J. K., V. Vats and S. S. Rathi. 2000. Anti-hyperglycemic effect of *Eugenia jambolan* and *Tinospora cordifolia* in experimental diabetes and their effects on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. **J. of Ethnopharmacology.** 73: 461-470.
- Fang, Z., Y. Hu, D. Liu, J. Chen and X. Ye. 2008. Changes of phenolic acids and antioxidant activities during potherb mustard (*Brassica juncea*, Coss.) pickling. **Food Chemistry.** 108: 811–817.
- Häkkinen, S. 2000. **Flavonols and phenolic acids in berries and berry product.**
Ph.D thesis. Kuopio university
- _____. S. Auriola. 1998. High-performance liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometry and diode array ultraviolet detection in the identification of flavonol aglycones and glycosides in berries. **J. of Chromatography A.** 829: 91-100.
- _____. O. Kärenlampi, I. M. Heionen, H. M. MyKKänen and A. R. Törrönen. 1999. Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berried. **J. Agric. Food Sci.** 47: 2274-2279.

- Hernández, M.S., O. Martínez and J.P. Fernández-Trujillo. 2007. Behavior of arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) fruit quality traits during growth, development and ripening. **Scientia Horticulturae**. 11: 220-227.
- Hertog, M. G. L., P. C. H. Hollman and D. P. Venema. 1992a. Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. **J. Agric. Food Chem.** 40: 1591-1598.
- _____ and M. B. Katan. 1992b. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands. **J. Agric. Food Chem.** 40: 2379-2383.
- Hosseinian, F. S., W. Li and T. Beta. 2008. Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat. **Food Chemistry**. 109: 916–924.
- Huang, D., B. Ou and R. L. Prior. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J. Agric. Food Chem.** 53: 1841-1856.
- Hutzler, P., R. Fischbach, W. Heller, T. Jungblut, S. Reuber, R. Schmitz, M. Veit, G. Weissenböck and J. Schnitzler. 1999. Tissue localization of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy. **J. of Experimental Botany**. 49: 953-965
- Jaakola, L., K. Maatta, A. M. Pirttilä, R. Torronen, S. Karenlampi and A. Hohtola. 2002. Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to anthocyanin, proanthocyanidin, and flavonol levels during Bilberry fruit development. **Plant Physiology**. 130: 729–739.
- Jagetia, G. C. and M. S. Baliga. 2002. *Syzygium cumini* (Jamun) Reduces the radiation-induced DNA damage in the cultured human peripheral blood lymphocytes: a preliminary study. **Toxicology Letters**. 132: 19–25.

- Kader, A. A. 2002. **Postharvest Technology of Horticulture Crops**. 2nd ed. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, Calif , USA.
- Kim, D. and C. Y. Lee. 2002. **Current protocols in food analytical chemistry: Supplement 6**. John Wiley & Son, Inc., New York.
- Kulkarni, A. P. and S. M. Aradhya. 2005. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. **Food Chem.** 93: 319-324.
- Kurilich, A. C., E. H. Jeffery, J. A. Juvik, M. A. Wallig and B. P. Klein. 2002. Antioxidant capacity of different broccoli (*Brassica oleracea*) genotypes using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. **J. Agric. Food Chem.** 50: 5053-5057.
- Leucuta, S., L. Vlase, S. Gocan, L. Radu and C. Fodorea. 2005. Determination of phenolic compounds from *Geranium sanguineum* by HPLC. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies.** 28: 3109-3117.
- Macheix, J., A. Fleuriet and J. Billot. 1990. **Fruit phenolics**. 1 ed. CRC Press, United States of America.
- Mahmoud, I. I., S. A. Marzouk, F. A. Moharram, M. R. El-Gindi and M. K. Hassan. 2001. Acylated flavonol glycosides from *Eugenia jambolana* leaves. **Phytochemistry.** 58: 1239-1244.
- Martin, T. S., K. Ohtani, R., Kasaic and K. Yamasaki. 1998. Lignan glucoside from *Syzygium cumini*. **Natural Medicines.** 52: 360-363.
- Martinez, S. B. and M. J. Del Valle. 1981. Storage stability and sensory quality of duhat (*Syzygium cumini* Linn.) anthocyanins as food colorant. **UP Home Economic J.** 9. Cited G. Mazza and E. Miniati. 1993. **Anthocyanin in fruits, vegetables and grain**. CRC Press, London.

- Molnar-Perl, I. and Zs Fuzfai. 2005. Chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrochromatographic techniques in the analysis of flavonoids. **J. of chromatography A.** 1703: 201-227.
- Morton, J., F. 1987. **Fruit of warm climates.** 1 ed. Media Incorporated, United States of America.
- Muruganandan S., K. Srinivasan, S. Chandra, S.K. Tandan, J. Lal and V. Raviprakash. 2001. Anti-inflammatory activity of *Syzygium cumini* bark. **Fitoterapia.** 72: 369-375.
- Oliver, R. W. A. 1989. **Hplc of macromolecules.** IRL press, Oxford, English.
- Ou, B., D. Huang, M. Hampsch-Woodill, J. A. Flanagan and E. K. Deemer. 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. **J. Agric. Food Chem.** 50: 3122-3128.
- Pathange, L. P., P. Mallikarjunan, R. P. Marini, S. O'Keefe and D. Vaughan. 2006. Non-destructive evaluation of apple maturity using an electronic nose system. **J. of Food Engineering.** 77: 1018–1023.
- Pepato, M.T., D.M. Mori, A.M. Baviera, J.B. Harami, R.C. Vendramini, and I.L. Brunetti. 2005. Fruit of the jambolan tree (*Eugenia jambolana* Lam.) and experimental diabetes. **J. of Ethnopharmacology.** 96: 43–48.
- Prince, P. S. M., N. Kamalakkannan and V. P. Menon. 2003. *Syzygium cumini* Seed extracts reduce tissue damage in diabetic rat brain. **J. of Ethnopharmacology.** 84: 205-209.
- Prior, R. L., H. Hoang, L. Gu, X. Wu, M. Bacchiocca, L. Howard, M. Hampsch-Woodill, D. Huang, B. Ou and R. Jacob. 2003. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and

other biological and food samples. **J. Agric. Food Chem.** 51: 3273-3279.

_____. X. Wu and K. Schaich. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplement. **J. Agric. Food Chem.** 53: 4290-4302.

Prodanov, M. P., J. A. Dominguez, I. Blazquez, M. R. Salinas and G. L. Alonso. 2005. Some aspects of the quantitative/qualitative assessment of commercial anthocyanin-rich extracts. **Food Chemistry.** 90: 585–596.

Rey, A. I., A. Hopia, R. Kivikari, M. Kahonen. 2004. Use of natural food/plant extract: Coudberry (*Rubus chamaemorus*), Beetroot (*Beta vulgaris* “*Vulgaris*”) or Willow herb (*Epilobium angustifolium*) to reduce lipid oxidation of cooked pork patties. **LWT.** 38: 363-370.

Rice-evans, C. A., N. J. Miller and G. Paganga. 1995. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology & Medicine.** 20: 933-956.

Sharma, S. B., A. Nasir, K. M. Prabhu and P. S. Murthy. 2006. Antihyperglycemic effect of the fruit-pulp of *Eugenia jambolana* in experimental diabetes mellitus. **J. of Ethnopharmacology.** 104: 367-373.

Spanos, G. A. and R. E. Wrolstad. 1992. Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage. **J. Agric. Food Chem.** 40: 1478-1487.

Singh, A. 1980. **Fruit physiology and production.** 1 ed. Kamla Nagar, India.

Singh, R. P., K. N. Chidambaram Murthy and G. K. Jayaprakash. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. **J. Agric. Food Chem.** 50: 81-86.

- Teixeira, C. C., L. P. Pinto, F. H. P. Kessler, L. Knijnik, C. P. Pinto, G. J. Gastaldo and F. D. Fuchs. 1997. The effect of *Syzygium cumini* (L.) Skeels on post-prandial blood glucose level in non-diabetes mellitus. **Journal of Ethnopharmacology**. 56: 209-213.
- _____, C. A. Rava, P. M. Mallman, R. Melchior, R. Argenta, F. Anselmi, C. R. Almeida and F.D. Fuchs. 2000. Absence of antihyperglycemic effect of jambolan in experimental and clinical models. **Journal of Ethnopharmacology**. 71: 343-347.
- Teow, C. C., V. Truong, R. F. McFeeters, R. L. Thompson, K. V. Pecota and G. C. Yencho. 2007. Antioxidant activities, phenolic and b-carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. **Food Chemistry**. 103: 829–838.
- Timbola, A. K., B. Szpoganicz, A. Branco, F. D. Monache and M. G. Pizzolatti. 2002. A new flavonol from leaves of *Eugenia jambolana*. **Fitoterapia**. 73: 174-176.
- Tomas-barberan, F. A. and R. J. Robins. 1997. **Phytochemistry of fruit and vegetables**. Clarendon Press, Oxford. England.
- United stated department of agriculture(USDA). 1999. Plant profile. *Syzygium cumini* (L.) **Skeels Java plum**. Available Source: [tp://plants.usda.gov/java/profile?Symbol=SYCU](http://plants.usda.gov/java/profile?Symbol=SYCU), April 16, 2006.
- _____. Nutrient Data Laboratory, Food Composition Laboratory, Beltsville Human Nutrition Research Center, Agricultural Research Service,. 2003. **USDA database for the flavonoid content of selected foods**. Available source: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>, January 2, 2005.

- Veigas, J. M., M. S. Narayan, P. M. Laxman and B. Neelwarne. 2007. Chemical nature stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *syzygium cumini* Skeels. **Food Chemistry**. 105: 619-627.
- Vermerris, W. and R. Niicholson. 2006. **Phenolic compound biochemistry**. Springer, Netherlands.
- Vikrant, V., J. K. Grover, N. Tandon, S. S. Rathi and N. Gupta. 2001. Treatment with extracts of *Momordica charantia* and *Eugenia jambolan* prevents hyperglycemia and hyperinsulinemia in fructose fed rat. **J. of Ethnopharmacology**. 76: 139-143.
- Vvedenskaya, I. O. and N. Vorsa. 2004. Flavonoid composition over fruit development and maturation in American Cranberry, *Vaccinium macrocarpon* Ait. **Plant Science**. 167: 1043–1054.
- Wang, S. Y., W. Zheng and G. J. Galletta. 2002. Cultural system affects fruit quality and antioxidant capacity in strawberries. **J. Agric. Food Chem.** 50: 6534-6542.
- Wildanger, W. and K. Herrmann. 1973. Qualitativer nachweis und quantitative bestimmung von flavonolen und flavonen. **J. of Chromatography A**. 76: 433-440.
- Wolfe, K., X. Wu and R. H. Liu. 2003. Antioxidant activity of apple peels. **J. Agric. Food Chem.** 51: 609-614.
- Wu, X., L. Gu, J. Holden, D. B. Haytowitz, S. E. Gebhardt, G. Beecher and R. L. Prior. 2004. Development of a database for total antioxidant capacity in foods: a preliminary study. **J. Food Comp. Anal.** 17: 407-422.
- _____. R. L. Prior and S. McKay. 2004. Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of *Ribes*, *Aronia* and *Sambucus* and their antioxidant capacity. **J. Agric. Food Chem.** 52: 7846-7856.

Yoon, K. Y., E. E. Woodams and Y. D. Hang. 2005. Relationship of acid phosphates activity and Brix/acid ratio in apples. **Lebensm.-Wiss. u-Technol.** 38: 181-183.

.2006. Relationship of acid phosphates activity and Brix/acid ratio in cherries. **Lebensm.-Wiss. u-Technol.** 39: 316-320.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

ก1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1.1.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

1.1.2 ถ้วยอะลูมิเนียม (moisture can)

1.1.3 เดสิคเคเตอร์ (desiccator)

1.2 วิธีการวิเคราะห์

อบถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝา ที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปลดปล่อยให้เย็นใน เดสิคเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน นำตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอนปริมาณ 1.0-1.5 กรัม ลงในถ้วย อะลูมิเนียม อบแห้งในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 100 °ซ จนน้ำหนักคงที่

1.3 วิธีคำนวณ

สามารถคำนวณหาปริมาณร้อยละของความชื้นในตัวอย่างได้จากสมการด้านล่าง

$$\text{ร้อยละของความชื้น} = \frac{A}{B} \times 100$$

เมื่อ A แทน น้ำหนักของตัวอย่างที่หายไปหลังทำแห้ง (กรัม)
B แทน น้ำหนักของตัวอย่างก่อนทำแห้ง (กรัม)

ก2. ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA, titratable acidity) (AOAC, 2000)

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.1.1 Burette ขนาด 50 mL

2.1.2 Pipette ขนาด 1, 5 mL

2.1.3 Beaker ขนาด 100, 250 และ 500 mL

2.1.4 Erlenmeyer flask ขนาด 100 และ 250 mL

2.1.5 Volumetric flask ขนาด 100 mL

2.2 สารเคมี

2.2.1 สารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.1 N

2.2.2 สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนร้อยละ 1

2.3 วิธีการวิเคราะห์

นำน้ำคั้นที่เตรียมมาเติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีนร้อยละ 1 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และนำมาไทเทรตด้วย NaOH ความเข้มข้น 0.1 N จนถึงจุดยุติ นำค่าปริมาณของ NaOH ที่ใช้มาคำนวณปริมาณกรดเทียบกับร้อยละของกรดซิตริก จากสูตร

$$\% \text{ ของกรดซิตริก} = \frac{M \times \text{meq.wt} \times 100}{V}$$

เมื่อ M เป็นความเข้มข้นของสารละลาย NaOH ในหน่วย Normal

V เป็นปริมาตรของน้ำคั้น

meq.wt (milliequivalent weight) ของกรดซิตริก เท่ากับ 0.006404

ก3. การทำแห้งตัวอย่างผลหว่าแบบเยือกแข็ง (Freeze dryer)

นำตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมในข้อ 5 ซึ่งแบ่งออกเป็นส่วเปลือกและเนื้อแช่แข็งและเก็บที่อุณหภูมิ -40 °ซ นำมาทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ที่บริษัทแวมอุตสาหกรรมเครื่องมือกลจำกัด ตั้งอยู่เลขที่ 1032/259-260 ซอยพหลโยธิน 18/1 ถนนพหลโยธิน แขวงจอมพล เขตจตุจักร จังหวัดกรุงเทพฯ ประเทศไทย โดยใช้เครื่องและสภาวะดังนี้

เวลาที่แช่แข็ง (นาท)	60
จำนวนหัววัดอุณหภูมิ (หัว)	2
อุณหภูมิขณะแช่แข็ง (°ซ)	-40
อุณหภูมิขณะทำแห้ง (°ซ)	40

ก4. สภาวะการวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง HPLC

4.1 สภาวะในการวิเคราะห์

เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง HPLC (HP 1100)

Column	Zorbax SB C18 (4x125 mm, 5 µm)
Mobile phases	A : methanol B : บัฟเฟอร์ KH_2PO_4 ความเข้มข้น 40 mM pH 2.3
Detector	UV-vis; 280, 330 และ 520 nm
Column temperature	48 °ซ
Stop time	38 min
Post time	5 min
Injection volume	10 µl
Max pressure	300 bar
Gradient system	ดังแสดงในตารางที่ 5

4.2 สารเคมี

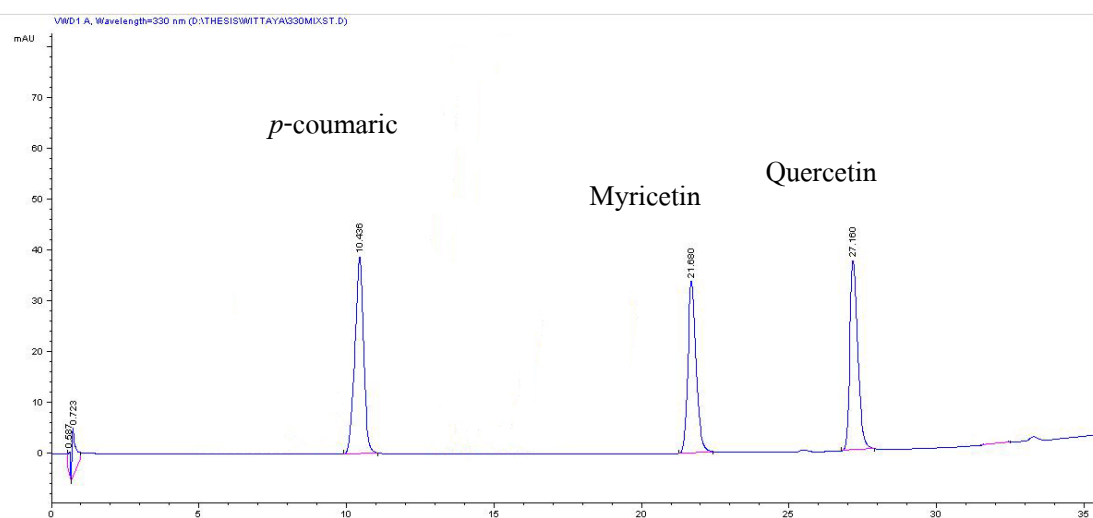
- 4.2.1 กรดฟอสฟอริก 85%
- 4.2.2 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต
- 4.2.3 เมทานอล
- 4.2.4 สารมาตรฐานควอเซติน
- 4.2.5 สารมาตรฐานไมริเซติน
- 4.2.6 สารมาตรฐานมัลวินดินคลอไรด์
- 4.2.7 สารมาตรฐานไซยานิดินคลอไรด์
- 4.2.8 สารมาตรฐานเคลฟินีดินคลอไรด์

4.3 วิธีการวิเคราะห์

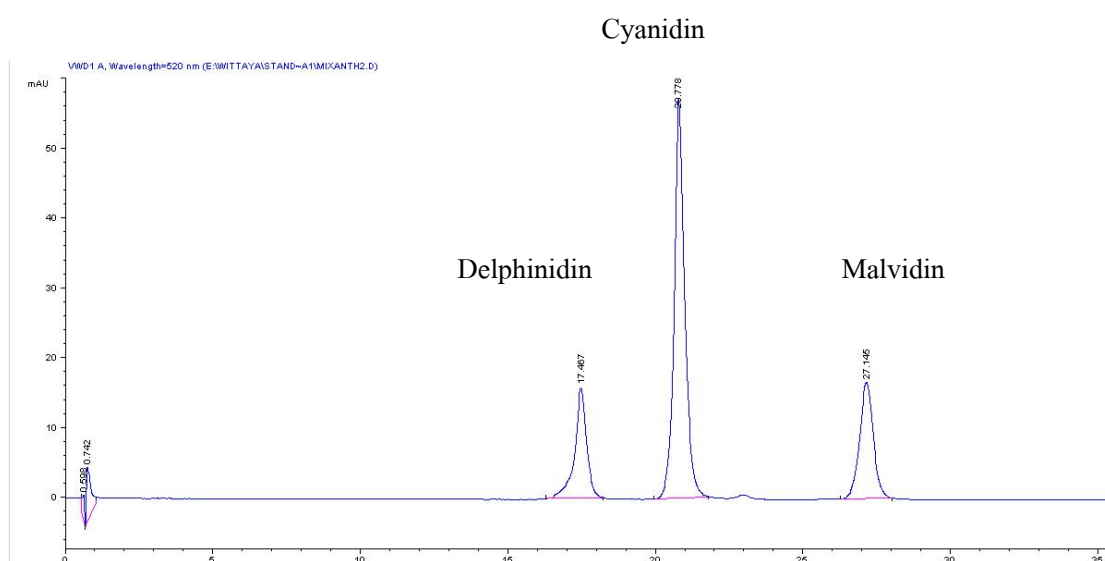
- 4.3.1 นำสารสกัดมากรองผ่านตัวกรองชนิด regenerated cellulose ขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร
- 4.3.2 ฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC เพื่อทำการวิเคราะห์
- 4.3.3 สร้างกราฟมาตรฐานผสม (mix standard) ควอเซติน : แคมป์เฟอร์อล : เกทเทกิน : และกรดแกลลิก เตรียมสารมาตรฐานให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 320 : 40 : 8 : 8 ถึง 20 : 2.5 : 0.5 : 0.5 โดยกรองสารมาตรฐาน ตามข้อ 3.3.1 ได้โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานดังแสดงในภาพผนวกที่ ก3 และได้กราฟมาตรฐานของสารดังภาพผนวกที่ ก4-ก7

4.4 วิธีการคำนวณ

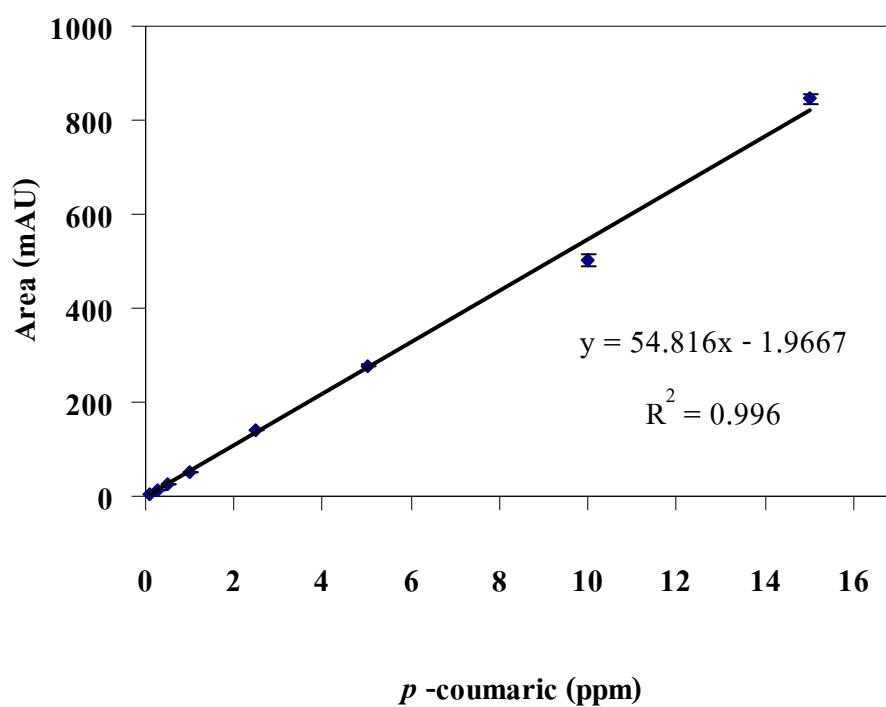
- 4.4.1 อ่านค่าพื้นที่ใต้กราฟของสารที่เวลาที่พบ (retention time) ตรงกับเวลาของสารมาตรฐาน โดยพื้นที่ใต้กราฟถูกคำนวณออกมาจากโปรแกรม
- 4.4.2 ปริมาณสารต่าง ๆ ที่พบในตัวอย่างคำนวณได้โดยแทนที่พื้นที่ใต้กราฟลงในสมการจากกราฟมาตรฐาน



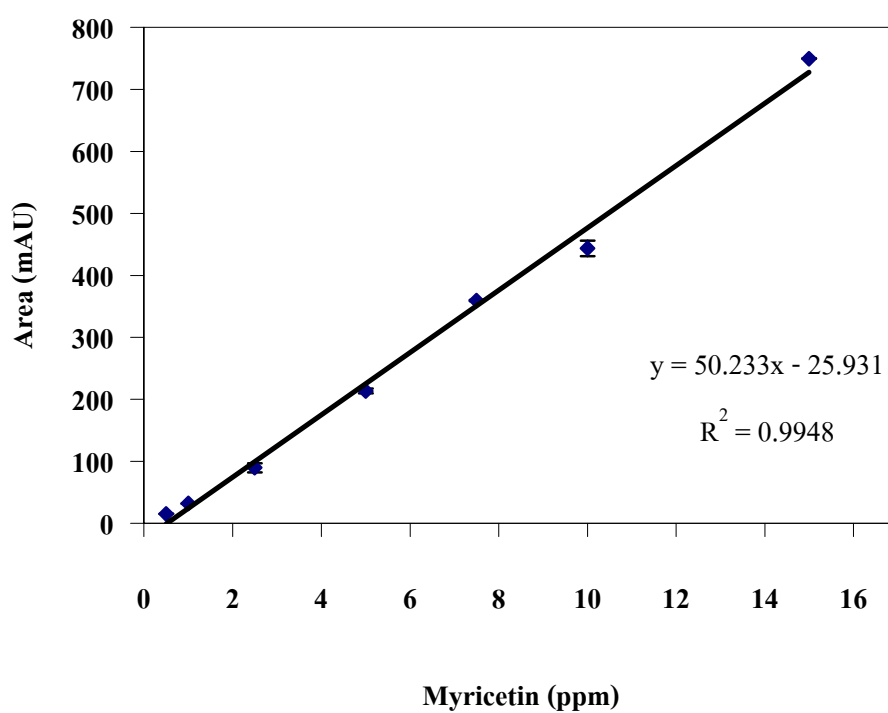
ภาพผนวกที่ ก1 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสมกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอล



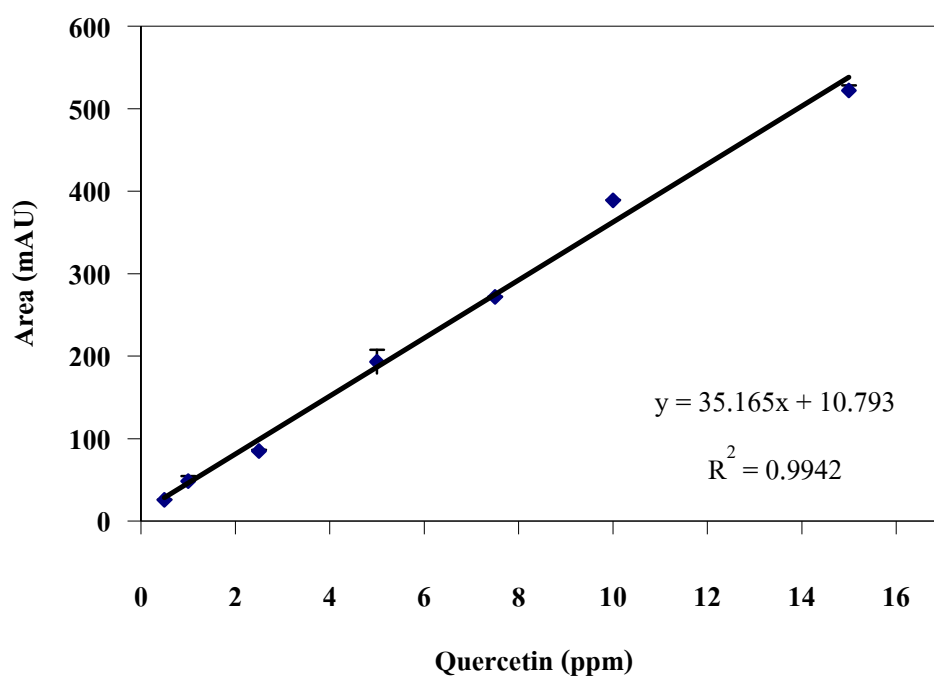
ภาพผนวกที่ ก2 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสมแอนโทไซยานิดิน



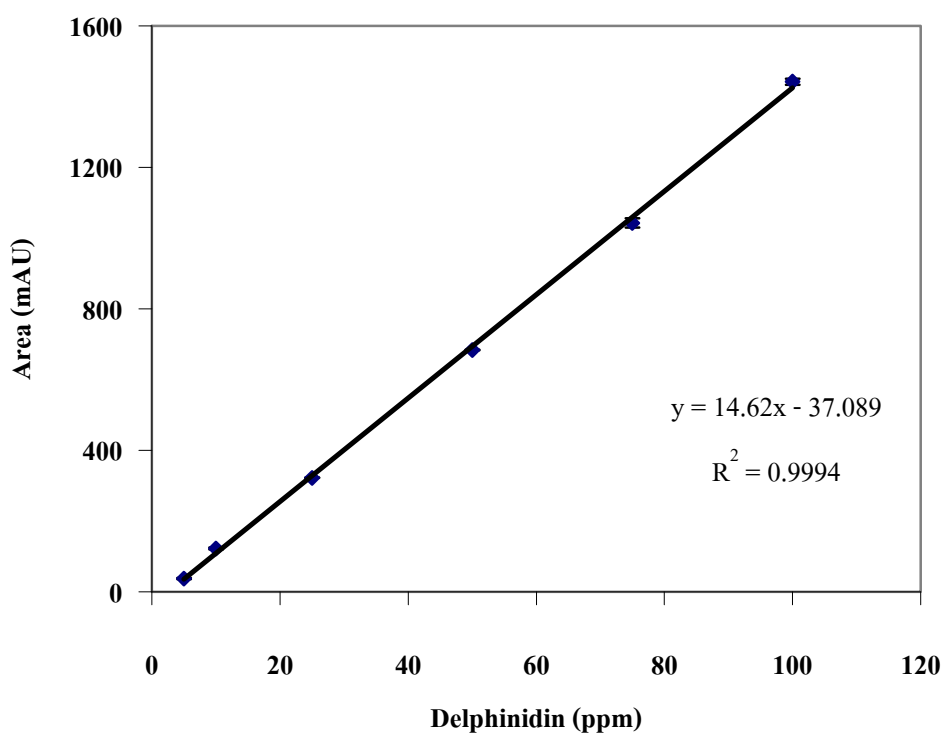
ภาพผนวกที่ ก3 กราฟมาตรฐานของกรดพาราคูมาริก



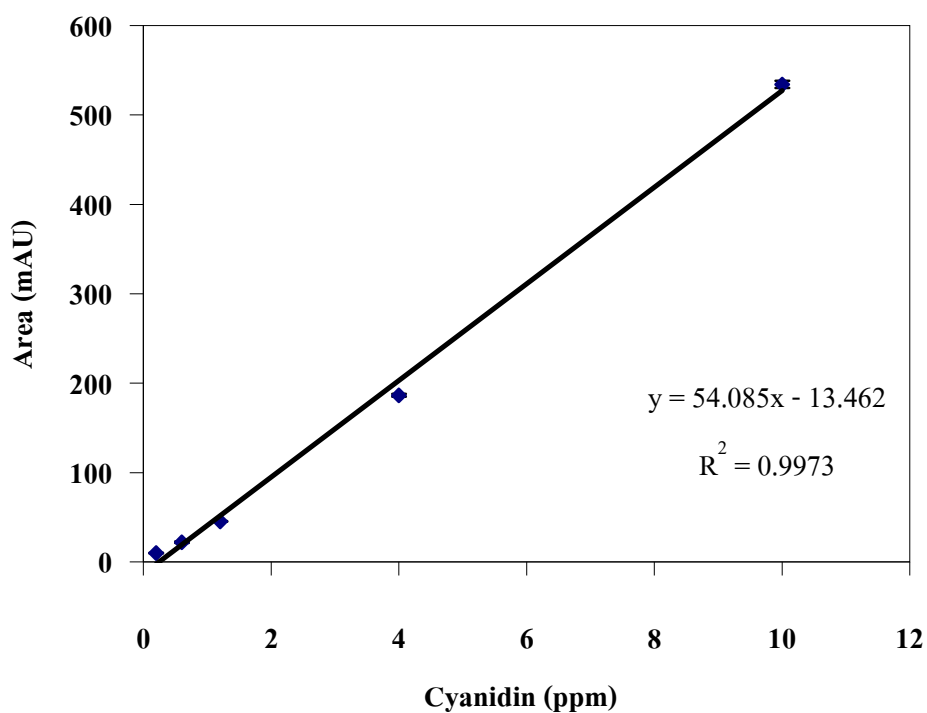
ภาพผนวกที่ ก4 กราฟมาตรฐานของไมริเซติน



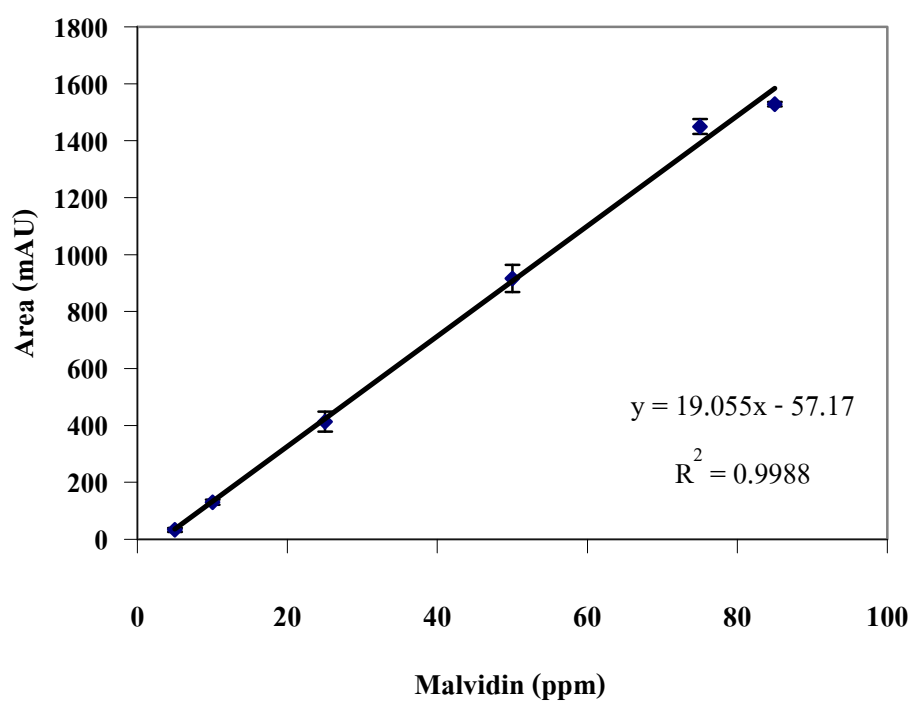
ภาพผนวกที่ ก5 กราฟมาตรฐานของควอเซติน



ภาพผนวกที่ ก6 กราฟมาตรฐานของเดลฟินิดิน



ภาพผนวกที่ ๗ กราฟมาตรฐานของไซยานิดิน



ภาพผนวกที่ ๘ กราฟมาตรฐานของมัลวิดิน

ตารางผนวกที่ ก1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลที่พบในส่วนเปลือกของผลหว่า

สารประกอบ	S1	S2	S3	S4	S5
ฟีนอลิก	ปริมาณ	ปริมาณ	ปริมาณ	ปริมาณ	ปริมาณ
กรดพาราคูมาริก	ND	ND	$0.95^a \pm 0.21$	$2.55^b \pm 0.52$	$10.14^c \pm 1.26$
ไมริเซติน	$13.83^b \pm 1.34$	$9.11^a \pm 0.15$	$10.97^a \pm 0.56$	$10.21^a \pm 1.17$	$12.55^b \pm 2.52$
ควอเซติน	$4.77^b \pm 1.23$	$3.69^{ab} \pm 0.25$	$2.32^a \pm 0.47$	$2.11^a \pm 0.35$	$11.38^c \pm 3.59$
เคิลฟีนิดิน	$17.15^a \pm 2.31$	$18.28^a \pm 1.78$	$19.83^a \pm 3.55$	$45.20^b \pm 4.80$	$214.72^c \pm 26.61$
ไซยานิดิน	ND	ND	ND	$2.27^a \pm 0.40$	$6.85^b \pm 0.80$
มัลลวีน	ND	ND	ND	$34.92^a \pm 6.61$	$132.02^b \pm 23.08$

ตารางผนวกที่ ก2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลที่พบในส่วนเนื้อของผลหว่า

สารประกอบ	P1	P2	P3	P4	P5
ฟีนอลิก	ปริมาณ	ปริมาณ	ปริมาณ	ปริมาณ	ปริมาณ
กรดพาราคูมาริก	ND	ND	$0.65^a \pm 0.10$	$3.62^b \pm 0.25$	$6.83^c \pm 2.06$
ไมริเซติน	$21.38^c \pm 7.87$	$10.93^a \pm 0.45$	$14.11^{ab} \pm 1.75$	$21.99^c \pm 1.13$	$17.78^{bc} \pm 2.34$
ควอเซติน	ND	ND	ND	$2.44^a \pm 0.46$	$9.86^b \pm 4.64$
เคิลฟีนิดิน	ND	ND	ND	ND	15.82 ± 1.71
ไซยานิดิน	ND	ND	ND	ND	ND
มัลลวีน	ND	ND	ND	ND	ND

^{a b c} = ในแนวนอนหมายถึงค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

หน่วย = มิลลิกรัม / 100 กรัมน้ำหนักแห้ง

ND = ไม่พบ

S = ตัวอย่างส่วนเปลือกในกลุ่มช่วงอายุการบริบูรณ์

P = ตัวอย่างส่วนเนื้อในกลุ่มช่วงอายุการบริบูรณ์

ก5. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Content)

5.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

5.1.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

5.1.2 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง

5.1.3 คิวเวต

5.1.4 หลอดทดลอง

5.1.5 ไมโครปิเปตขนาดช่วง 500-200 และ 200-1000 ไมโครลิตร

5.1.6 ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

5.2 สารเคมี

5.2.1 สารฟอลิน-ซีโอเคาเทล (Folin-Ciocalteu reagen)

5.2.2 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 1 นอร์มัล

5.2.3 สารมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid)

5.3 วิธีการวิเคราะห์

5.3.1 สร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร (แกน X) และความเข้มข้นของกรดแกลลิก (แกน Y) โดยความเข้มข้นของกรดแกลลิกอยู่ในช่วง 90-200 ppm ได้กราฟมาตรฐานดังภาพผนวกที่ ก1

5.3.2 ปิเปตสารสกัด 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นอยู่ 0.5 มิลลิลิตร

5.3.3 เติมสารฟอลิน-ซีโอเคาเทล 0.5 มิลลิลิตร ปล่อยให้ 3 นาที

5.3.4 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 1 นอร์มัล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

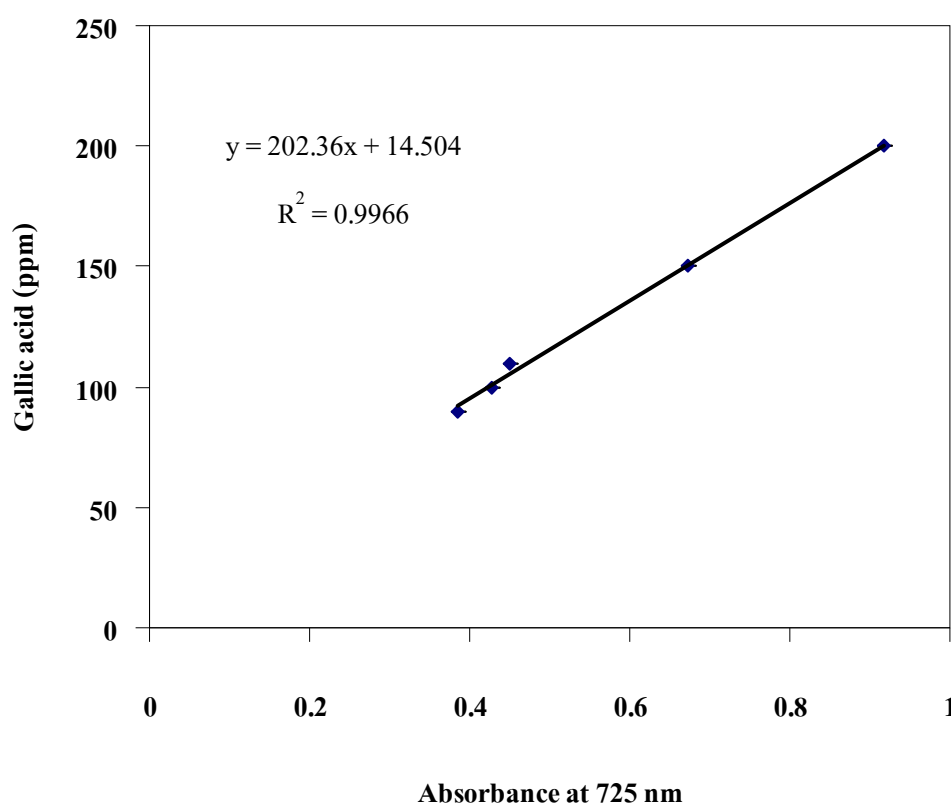
5.3.5 ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที

5.3.6 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร

5.3.7 วัดค่าการดูดกลืนแสงควบคุมโดยใช้น้ำกลั่น

5.4 วิธีการคำนวณ

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดคำนวณได้โดยแทนค่าความยาวคลื่นที่วัดได้ลงในสมการจากกราฟมาตรฐาน



ภาพผนวกที่ ก9 กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร และความเข้มข้นของกรดแกลลิก

ก6. การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ (Flavonoid content)

6.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

6.1.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

6.1.2 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง

6.1.3 คิวเวต

6.1.4 หลอดทดลอง

6.1.5 ไมโครปิเปตขนาดช่วง 500-200 และ 200-1000 ไมโครลิตร

6.1.6 ขวดปรับปริมาตรขนาด 25 และ 50 มิลลิลิตร

6.2 สารเคมี

- 6.2.1 สารละลายโซเดียมไนไตรท์เข้มข้นร้อยละ 5
- 6.2.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลาร์
- 6.2.3 สารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5
- 6.2.4 สารมาตรฐานเคทเทคิน ((+)- catechin)

6.3 วิธีการวิเคราะห์

6.3.1 สร้างกราฟมาตรฐานเคทเทคิน ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร (แกน X) และความเข้มข้นของเคทเทคิน (แกน Y) โดยความเข้มข้นของเคทเทคินอยู่ในช่วง 75-200 ppm ได้กราฟมาตรฐานดังภาพผนวกที่ ก2

6.3.2 บีบสารสกัด 250 ไมโครลิตรในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่น 1250 ไมโครลิตร

6.3.3 เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์เข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร
ปล่อยไว้ 5 นาที

6.3.4 เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร
ปล่อยทิ้งไว้ 6 นาที

6.3.5 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร

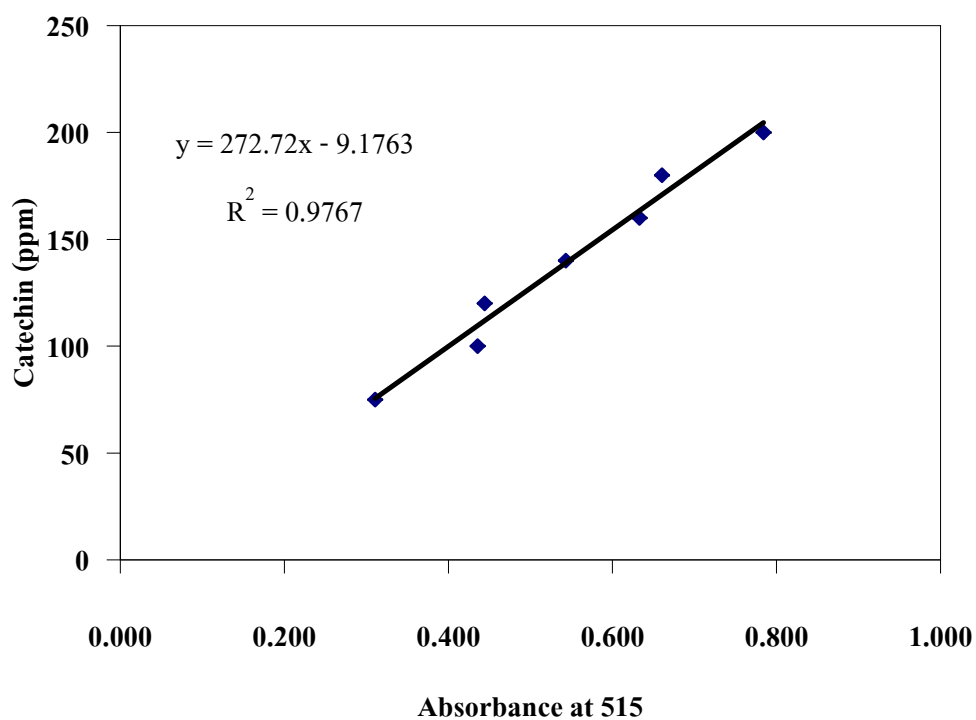
6.3.6 เติมน้ำกลั่น 275 ไมโครลิตร

6.3.7 วัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

6.3.8 วัดค่าการดูดกลืนแสงควบคู่กัน โดยทำตามขั้นตอน 4.3.2-4.3.7 แต่ใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัด

6.4 วิธีการคำนวณ

ปริมาณฟลาโวนอยด์คำนวณได้โดยแทนค่าความยาวคลื่นที่วัดได้ลงในสมการจากกราฟมาตรฐาน



ภาพผนวกที่ ก10 กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และความเข้มข้นของแคเทชิน

ก7. การวิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานิน (Anthocyanin content)

7.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

7.1.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

7.1.2 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง

7.1.3 คิวเวต

7.1.4 หลอดทดลอง

7.1.5 ไมโครปิเปตขนาดช่วง 500-200 และ 200-1000 ไมโครลิตร

7.2 สารเคมี

7.2.1 สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.025 โมลลาร์ pH 1.0

7.2.2 สารละลายโซเดียมอะซิเตต ความเข้มข้น 0.4 โมลลาร์ pH 4.5

7.3 วิธีการวิเคราะห์

7.3.1 หาค่า Dilution factor (DF) โดยการเจือจางสารสกัดด้วย โพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ pH 1.0 และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 นาโนเมตรให้ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 0.2-0.8

7.3.2 เจือจางตัวอย่างสารสกัดด้วย โพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ pH 1.0 ด้วยค่า DF ที่ได้จากข้อ 5.3.1 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 และ 700 นาโนเมตร

7.3.3 เจือจางตัวอย่างสารสกัดด้วยสารละลายโซเดียมอะซิเตต ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ pH 4.5 ด้วยค่า DF ที่ได้จากข้อ 5.3.1 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 และ 700 นาโนเมตร

7.3.4 วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงควบคุม โดยใช้ น้ำกลั่น แทนสารสกัด

7.4 วิธีการคำนวณ

7.4.1 หาค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดเจือจาง โดยแทนค่าความยาวคลื่นที่วัดได้ลงในสมการ

$$A = (A_{530} - A_{700})_{pH1.0} - (A_{530} - A_{700})_{pH4.5}$$

เมื่อ A = การดูดกลืนแสงของสารสกัดเจือจาง

A_{530} = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร

A_{700} = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

7.4.2 คำนวณปริมาณแอนโทไซยานิน จากสมการ

$$\text{Monomeric anthocyanin (mg/l)} = \frac{(A \times MW \times DF \times 1000)}{(\epsilon \times 1)}$$

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดเจือจางที่ได้จากข้อ 5.4.1

MW = มวลโมเลกุลของ cyaniding-3-glucoside (449.2)

DF = Dilution factor

ϵ = Molar absorptivity (26900)

ภาคผนวก ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชัน

วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชัน

ข1. การวิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH) assay (ดัดแปลงจาก Singh *et al.*, 2002)

1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1.1.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 1.1.2 เครื่องสั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียง (sonicator)
- 1.1.3 เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)
- 1.1.4 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง
- 1.1.5 ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร
- 1.1.6 หลอดทดลอง
- 1.1.7 ปิเปตขนาด 5 มิลลิลิตร
- 1.1.8 สารเคมี
- 1.1.9 เมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80
- 1.1.10 สารละลาย DPPH เข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์

1.2 สารเคมี

- 1.2.1 สารละลาย DPPH เข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์
- 1.2.2 เมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80

1.3 วิธีการสกัด

- 1.3.1 นำตัวอย่างแห้งซึ่งให้น้ำหนักที่แน่นอน 2.000 กรัม
- 1.3.2 เติมเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
- 1.3.3 ปั่นด้วยเครื่องทำให้เป็นเนื้อเดียวที่อุณหภูมิ 4 °ซ นาน 1 นาที
- 1.3.4 นำไปเข้าเครื่องสั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียงที่อุณหภูมิ 4 °ซ นาน 20 นาที
- 1.3.5 หมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 °ซ ด้วยความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที ด้วยหัว rotor F28/36 (ประมาณ 4598 xg) นาน 20 นาที

แยกส่วนได้ไว้ และนำส่วนตะกอนไปสกัดอีกครั้งหนึ่งตั้งแต่ข้อ 1.3.2

นำส่วนใสมารวมกัน ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 ให้ได้ 50 มิลลิลิตร

1.4 วิธีการวิเคราะห์

1.4.1 นำสารสกัดมาเจือจางให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80

1.4.2 นำสารสกัด 100 ไมโครลิตรใส่ในหลอดทดลอง เดิมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าอย่างรุนแรง ปล่อยให้ 20 นาที

1.4.3 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

1.4.4 วัดค่าการดูดกลืนคลีนแสงควบคุม (control OD) โดยทำตามข้อ 1.3.2-1.3.3 แต่ใช้สารละลายเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 แทนสารสกัด

1.5 วิธีการคำนวณ

1.5.1 นำค่าการดูดกลืนคลีนแสงมาคำนวณค่า % radical scavenging activity ดังสมการที่ 21 เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง % radical scavenging activity กับความเข้มข้นของสารสกัดดังแสดงในภาพผนวกที่ ข1 และภาพผนวกที่ ข2

1.5.2 หาปริมาณของสารสกัดที่ทำให้ค่า % radical scavenging activity ลดลงร้อยละ 50 ได้เป็นค่า IC₅₀

1.5.3 นำค่า IC₅₀ มาคำนวณเป็นค่าประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชัน (Antiradical Efficiency, AE) ด้วยสูตรดังสมการที่ 22

$$\% \text{radical scavenging activity} = \frac{(\text{control OD} - \text{sample OD})}{\text{control OD}} \times 100 \quad \text{---- สมการที่ 18}$$

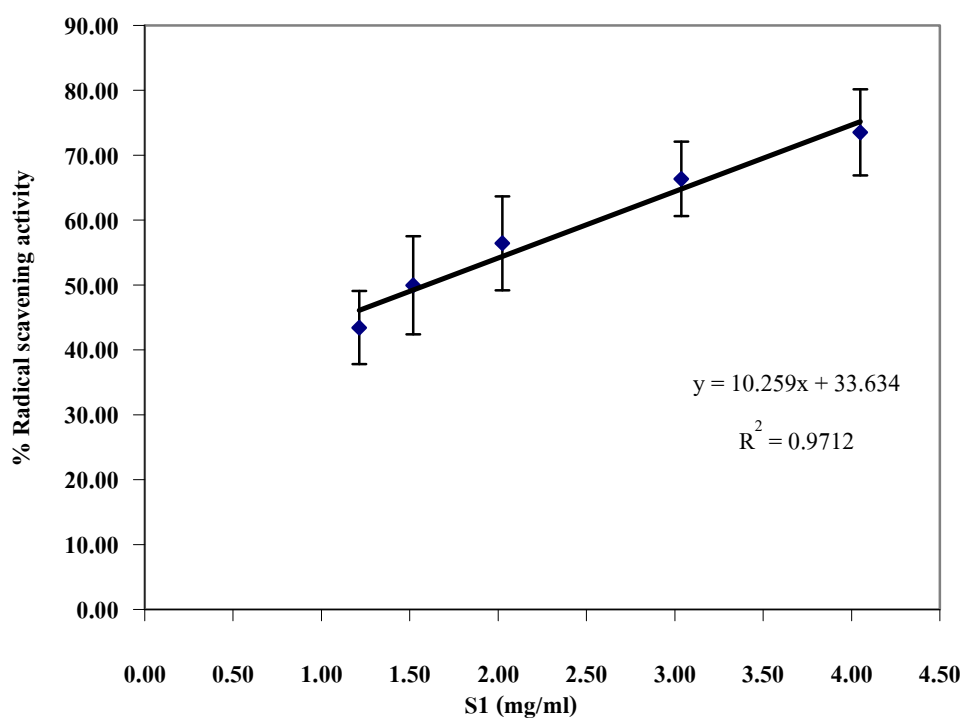
เมื่อ control OD = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

sample OD = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

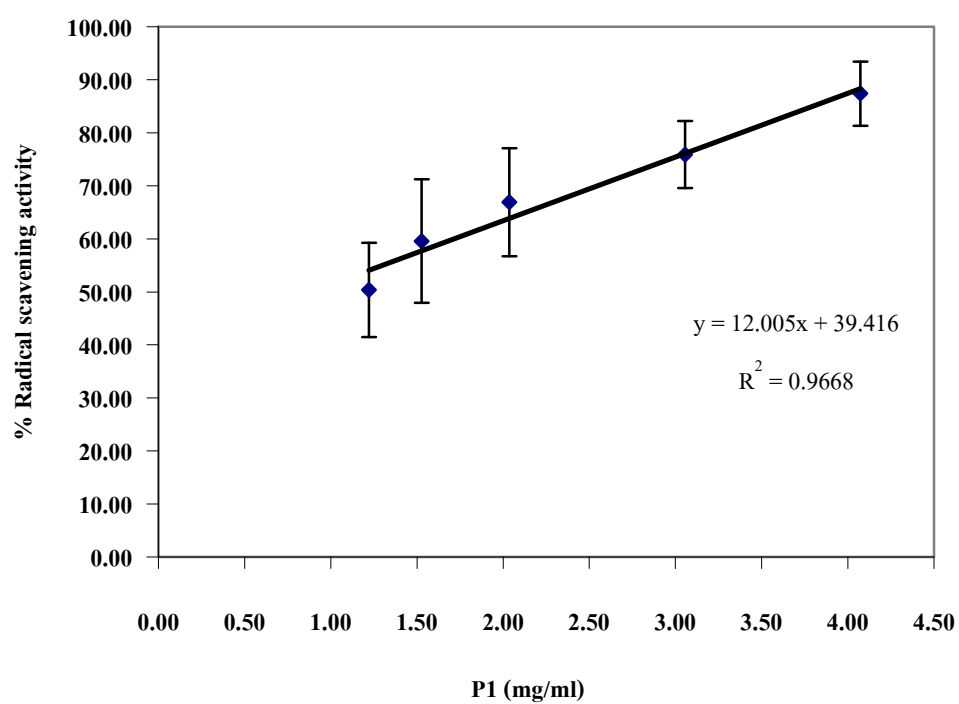
$$AE = \frac{1}{IC_{50}} \quad \text{----- สมการที่ 19}$$

เมื่อ AE = Antiradical Efficiency

IC₅₀ = ความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถทำให้ค่า % radical scavenging activity ลดลงร้อยละ 50



ภาพผนวกที่ ข1 กราฟมาตรฐานระหว่าง % radical scavenging activity กับความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกผลหว่าช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 1



ภาพผนวกที่ ข2 กราฟมาตรฐานระหว่าง % radical scavenging activity กับความเข้มข้นของสารสกัดจากเนื้อผลหว่าช่วงอายุการบริบูรณ์ที่ 1

ข2. การวิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ORAC

Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) assay (ดัดแปลงจาก Prior *et al.*, 2003)

2.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 2.1.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 2.1.2 เครื่องหมุนเหวี่ยง
- 2.1.3 ตู้ดูดควัน
- 2.1.4 เครื่องผสมสาร (vortex mixer)
- 2.1.5 เครื่องสั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียง
- 2.1.6 เครื่องวัดการดูดกลืนคลื่นแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence spectrophotometer)

พร้อม well plate สีดำ

- 2.1.7 ไมโครปิเปตขนาดช่วง 5-20, 20-200 และ 1000-5000
- 2.1.8 ขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร

2.2 สารเคมี

- 2.2.1 เฮกเซน
- 2.2.2 สารละลายอะซีโตน/น้ำ/กรดอะซิติก สัดส่วน 70/29.5/0.5 (v/v/v)
- 2.2.3 อะซีโตน
- 2.2.4 สารละลาย RMCD เข้มข้นร้อยละ 7 ในสารละลายอะซีโตน/น้ำ 50/50
- 2.2.5 สารละลายฟลูออเรสซิน
- 2.2.6 สารละลาย AAPH
- 2.2.7 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.075 โมลาร์ พีเอช 7.0
- 2.2.8 สารมาตรฐาน Trolox

2.3 วิธีการเตรียมสารเคมี

2.3.1 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.075 โมลาร์ พีเอช 7.0 ซึ่งโซเดียม ไดไฮโดรเจน ฟอสเฟต (มวลโมเลกุล 137.99) 4.00 กรัม รวมกับไดโซเดียม ไฮโดรเจนฟอสเฟต (มวลโมเลกุล 141.96) 6.53 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับให้ได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร วัดพีเอชและปรับให้ได้ 7.0

2.3.2 สารละลายฟลูออเรสซิน

FL #1 ชั่งสารฟลูออเรสซิน 0.0225 กรัม ละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.075 โมลาร์ พีเอช 7.0

FL #2 ปิเปต FL #1 มา 50 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.075 โมลาร์ พีเอช 7.0

FL working solution

ปิเปต FL #2 มา 320 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.075 โมลาร์ พีเอช 7.0

2.3.3 สารมาตรฐาน Trolox (ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.075 โมลาร์ พีเอช 7.0)

Stock standard

ชั่ง Trolox 0.0062 กรัม ละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 50 มิลลิลิตร

Trolox เข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ (T50)

ปิเปต Stock standard มา 1 มิลลิลิตร เติมหละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร

Trolox เข้มข้น 25 ไมโครโมลาร์ (T25)

ปิเปต T50 มา 5 มิลลิลิตร เติมหละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 5 มิลลิลิตร

Trolox เข้มข้น 12.5 ไมโครโมลาร์ (T12.5)

ปิเปต T50 มา 5 มิลลิลิตร เติมหละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 5 มิลลิลิตร

Trolox เข้มข้น 6.25 ไมโครโมลาร์ (T6.25)

ปิเปต T50 มา 5 มิลลิลิตร เติมหละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 5 มิลลิลิตร

2.3.4 สารละลาย AAPH

ชั่งสาร AAPH 0.1720 กรัม ละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.075 โมลาร์ พีเอช 7.0 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 °ซ

2.4 วิธีการสกัด

2.4.1 ชั่งตัวอย่างแห้งมา 0.500 กรัม เติมเฮกเซน 10 มิลลิลิตร

2.4.2 หมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3500 รอบต่อนาที ด้วยหัว rotor F28/36 (ประมาณ 1565 xg) นาน 15 นาที

2.4.3 แยกส่วนเฮกเซนออกมา แล้วนำส่วนตะกอนไปสกัดอีกครั้ง แล้วนำส่วนเฮกเซนมารวมกัน ได้เป็นสารสกัดส่วนชอบไขมัน (lipophilic)

2.4.4 ระเหยเฮกเซนออกจากส่วนตะกอนด้วยแก๊สไนโตรเจนภายใต้สุญญากาศ

2.4.5 เติมสารละลายอะซิโตน/น้ำ/กรดอะซิติก 10 มิลลิลิตร

2.4.6 ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องผสมสาร (vortex mixer) นาน 30 วินาที

2.4.7 นำไปปั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียงนาน 15 นาที โดยมีการเขย่าหลอดเป็นครั้งคราว ปล่อยให้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที และมีการเขย่าหลอดเป็นครั้งคราว

2.4.8 หมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3500 รอบต่อนาที ด้วยหัว rotor F28/36 (ประมาณ 1565 xg) นาน 15 นาที

2.4.9 แยกส่วนใสออกมา ปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตรด้วยสารละลายอะซิโตน/น้ำ/กรดอะซิติก ได้เป็นสารสกัดส่วนชอบน้ำ (hydrophilic)

2.5 วิธีการเตรียมสารสกัด

2.5.1 วิธีการเตรียมสารสกัดส่วนชอบไขมัน นำสารสกัดมาระเหยเฮกเซนออกให้แห้ง เติมอะซิโตน 250 ไมโครลิตร และสารละลาย RMCD 750 ไมโครลิตร เขย่าตัวอย่างจนละลายหมด เจือจางตัวอย่างให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วย สารละลาย RMCD

2.5.2 วิธีการเตรียมสารสกัดส่วน hydrophilic เจือจางสารสกัดด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.075 โมลาร์ พีเอช 7.0

2.6 วิธีการวิเคราะห์

2.6.1 นำสารสกัด 20 ไมโครลิตร ใส่ในไมโครเพลต

2.6.2 อุ่นสารละลายฟลูออเรสซินที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 15 นาที แล้วเติมลงในไมโครเพลตหลุมละ 200 ไมโครลิตร

2.6.3 ใส่ไมโครเพลตลงในเครื่องวัดการดูดกลืนคลื่นแสงฟลูออเรสเซนซ์

2.6.4 กำหนดให้เครื่องเติมสารละลาย AAPH หลุมละ 37.5 และ 75 ไมโครลิตร สำหรับส่วนขอบน้ำและส่วนขอบไขมันตามลำดับ โดยเริ่มเติมสาร AAPH ที่รอบที่ 4

2.6.5 อ่านค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพันธ์ทันที โดยมีการตั้งค่าได้แก่

No. of cycles 50

Cycle time (s) 65

No. of flashes 10

Excitation filter 480 nm

Emission filter 520 nm

Positioning delay (s) 0.2

Shaking width (mm) 3

Shaking mode orbital

Additional shaking 8 s after injection cycle

Injection speed (μ l/s) 310

Injection cycle 4

Injection start time (s) 0.0

Target temperature 37.0

2.6.6 เติมสารฟลูออเรสซิน 200 ไมโครลิตรลงในไมโครเพลตเพื่อให้เครื่องอ่านค่า gain adjustment

2.6.7 วัดค่าความเข้มแสงควบคุมโดยใช้ละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์แทนสารสกัด

2.6.8 สร้างกราฟมาตรฐานของ Trolox ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นของ Trolox โดยใช้สารมาตรฐาน Trolox ความเข้มข้น 50, 25, 12.5 และ 6.25 ไมโครโมลาร์

2.7 วิธีการคำนวณ

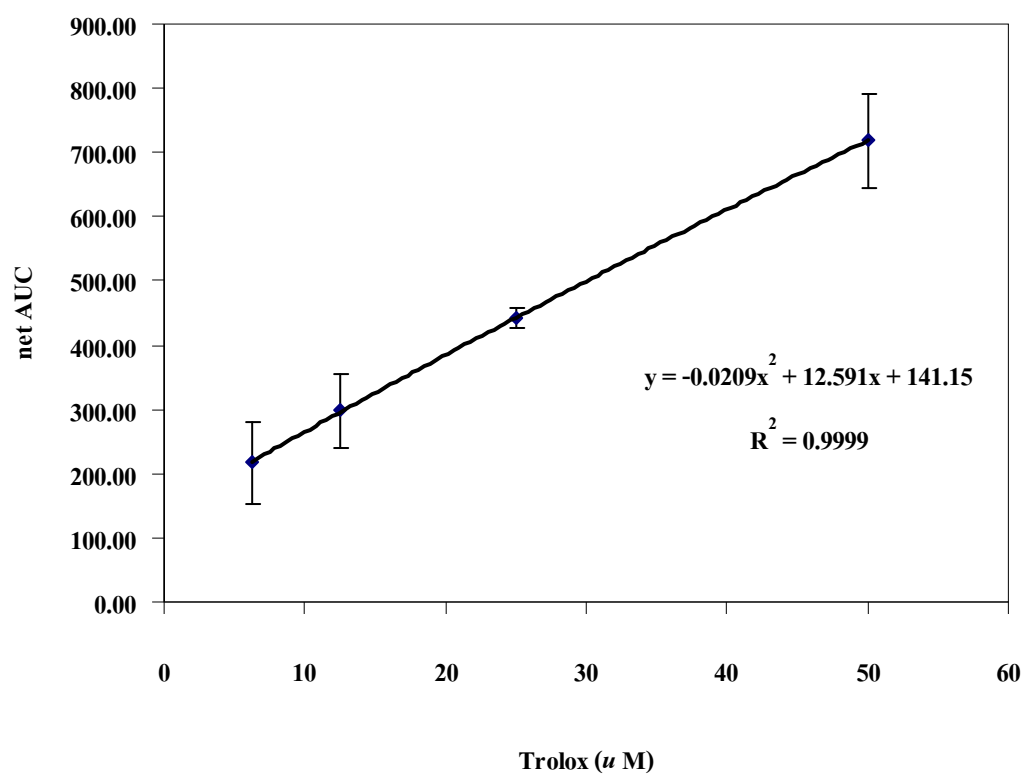
2.7.1 คำนวณพื้นที่ใต้กราฟสุทธิ (net AUC) ของตัวอย่าง ดังแสดงในสมการที่ 20 และ 21

2.7.2 นำค่าพื้นที่ใต้กราฟสุทธิแทนที่ในสมการของกราฟมาตรฐานของ Trolox แล้วนำมาคำนวณเป็นปริมาณของ Trolox ในหน่วยไมโครโมลต่อต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด โดยกราฟมาตรฐานของส่วนชอบไขมัน แสดงในภาพผนวกที่ ข3 และส่วนชอบน้ำแสดงในภาพผนวกที่ ข4

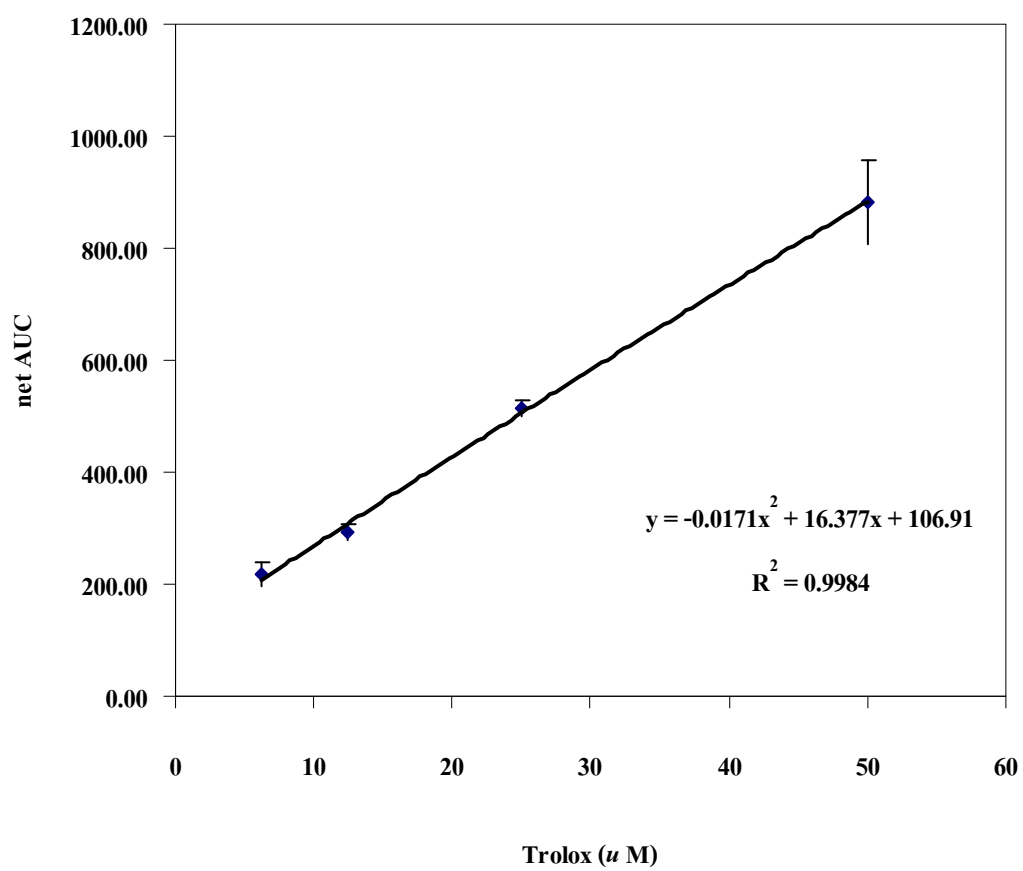
$$AUC = (0.5 + \frac{f_5}{f_4} + \frac{f_6}{f_4} + \frac{f_7}{f_4} + \dots + \frac{f_i}{f_4}) \times CT \quad \text{--- สมการที่ 20}$$

$$net\ AUC = AUC_{sample} - AUC_{blank} \quad \text{--- สมการที่ 21}$$

เมื่อ	AUC	= พื้นที่ใต้กราฟ (Area Under Curve)
	$4f$	= ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์เริ่มต้นเริ่มอ่านรอบที่ 4 (initial fluorescence reading at cycle 4)
	if	= ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์เมื่ออ่านที่รอบที่ i (fluorescence reading at cycle i)
	CT	= เวลาที่ใช้ต่อรอบ มีหน่วยเป็นนาที (Cycle time)



ภาพผนวกที่ ข3 กราฟมาตรฐานของส่วนชอบไขมัน



ภาพผนวกที่ ข4 กราฟมาตรฐานของส่วนชอบน้ำ

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางผนวกที่ ค1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของขนาดผลหว่า W1-W5

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	4.221	4	1.055	232.725	.000
Error	.091	20	.005		
Total	95.590	25			

ตารางผนวกที่ ค2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักผลหว่า W1-W5

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	162.270	4	40.567	63.561	.000
Error	12.765	20	.638		
Total	825.489	25			

ตารางผนวกที่ ค3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติความหนาของเนื้อผลหว่า W1-W5

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	.299	4	.075	76.073	.000
Error	.020	20	.001		
Total	3.162	25			

ตารางผนวกที่ ค4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ดหัว W1-W5

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	.265	4	.066	100.385	.000
Error	.013	20	.001		
Total	29.137	25			

ตารางผนวกที่ ค5 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติอัตราส่วนระหว่างความหนาของเนื้อและเส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ด ในตัวอย่างผลหัว W1-W5

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	.130	4	.032	32.610	.000
Error	.020	20	.001		
Total	2.527	25			

ตารางผนวกที่ ค6 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติความชื้นของผลหัว W1-W5

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	2695.497	4	673.874	2.617E3	.000
Error	3.863	15	.258		
Total	89401.423	20			

ตารางผนวกที่ ค7 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า L ของผลหว่า W1-W5

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	2087.962	4	521.990	120.635	.000
Error	86.540	20	4.327		
Total	39340.172	25			

ตารางผนวกที่ ค8 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า Chroma ของผลหว่า W1-W5

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	1315.929	4	328.982	614.907	.000
Error	10.700	20	.535		
Total	4220.378	25			

ตารางผนวกที่ ค9 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า Hue angle ของผลหว่า W1-W5

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	163249.998	4	40812.500	578.983	.000
Error	1409.799	20	70.490		
Total	189244.671	25			

ตารางผนวกที่ ค10 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ pH ของผลหว่า W1-W5

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatmint	7.183	4	1.796	1.995E4	.000
Error	.000	5	9.000E-5		
Total	76.932	10			

ตารางผนวกที่ ค11 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณกรดที่ได้เตรตได้ของผลหว่า W1-W5

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatmint	7.183	4	1.796	1.995E4	.000
Error	.000	5	9.000E-5		
Total	76.932	10			

ตารางผนวกที่ ค12 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณกรดพาราควมาริกในเปลือกผลหว่า

Type III Sum					
Source	of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	482.118	4	120.530	1.053E3	.000
Error	2.861	25	.114		
Total	724.172	30			

ตารางผนวกที่ ค13 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณกรดพาราควมาริกในเนื้อผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	153.736	4	38.434	1.525E3	.000
Error	.630	25	.025		
Total	272.176	30			

ตารางผนวกที่ ค14 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไนโตรเจนในเปลือกผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	104.716	4	26.179	23.062	.000
Error	28.379	25	1.135		
Total	4130.551	30			

ตารางผนวกที่ ค15 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไนโตรเจนในเนื้อผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	560.520	4	140.130	134.858	.000
Error	25.977	25	1.039		
Total	9554.474	30			

ตารางผนวกที่ ค16 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณควอเซตินในเปลือกผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	548.871	4	137.218	280.727	.000
Error	12.220	25	.489		
Total	1405.700	30			

ตารางผนวกที่ ค17 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณควอเซตินในเนื้อผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	280.994	4	70.248	910.511	.000
Error	1.929	25	.077		
Total	410.519	30			

ตารางผนวกที่ ค18 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณพื้นที่กราฟ HPLC ในเปลือกผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	3617.729	3	1205.910	401.045	.000
Error	60.138	20	3.007		
Total	18677.867	24			

ตารางผนวกที่ ค19 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณแคลฟีนดินในเปลือกผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	175981.370	4	43995.343	3.754E3	.000
Error	292.989	25	11.720		
Total	295123.961	30			

ตารางผนวกที่ ค20 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณแคลฟีนดินในเนื้อผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	1200.801	4	300.200	516.962	.000
Error	14.518	25	.581		
Total	1515.519	30			

ตารางผนวกที่ ค21 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไซยานิดินในเปลือกผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	243.125	4	60.781	1.037E3	.000
Error	1.465	25	.059		
Total	355.297	30			

ตารางผนวกที่ ค22 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณมูลวิดินในเปลือกผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	95817.778	4	23954.444	3.247E3	.000
Error	184.425	25	7.377		
Total	136611.005	30			

ตารางผนวกที่ ค23 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือกผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
treatment	1.873E8	4	4.683E7	21.878	.000
Error	8.562E7	40	2140403.981		
Total	1.137E10	45			

ตารางผนวกที่ ค24 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเนื้อผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
treatment	1.849E9	4	4.621E8	76.603	.000
Error	2.413E8	40	6032834.626		
Total	2.135E10	45			

ตารางผนวกที่ ค25 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณฟลาโวนอยด์ในเปลือกผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	3925.555	4	981.389	15.769	.000
Error	2489.400	40	62.235		
Total	470326.847	45			

ตารางผนวกที่ ค26 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณฟลาโวนอยด์ในเนื้อผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	29508.269	4	7377.067	192.345	.000
Error	1534.132	40	38.353		
Total	295662.015	45			

ตารางผนวกที่ ค27 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณโมโนเมอริกแอนโทไซยานินในเปลือกผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	3487.838	1	3487.838	67.670	.000
Error	824.672	16	51.542		
Total	50143.234	18			

ตารางผนวกที่ ค28 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า AE ในเปลือกผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	1.151	4	.288	100.748	.000
Error	.114	40	.003		
Total	12.178	45			

ตารางผนวกที่ ค29 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า AE ในเนื้อผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	1.999	4	.500	277.671	.000
Error	.072	40	.002		
Total	11.085	45			

ตารางผนวกที่ ค30 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า H-ORAC ในเปลือกผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	1.149E12	4	2.872E11	188.108	.000
Error	6.107E10	40	1.527E9		
Total	1.552E13	45			

ตารางผนวกที่ ค31 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า L-ORAC ในเปลือกผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	37574.691	4	9393.673	9.760	.000
Error	38499.405	40	962.485		
Total	371965.830	45			

ตารางผนวกที่ ค32 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า H-ORAC ในเนื้อผลหว่า

Type III Sum of					
Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	3.692E12	4	9.229E11	903.723	.000
Error	4.085E10	40	1.021E9		
Total	1.016E13	45			

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายวิทยา ทรัพย์เย็น
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 17 มิถุนายน 2524
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (วิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (2547)
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนบัณฑิตศึกษา โครงการพัฒนาศักยภาพและวิจัย เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทุนบัณฑิตวิทยาลัย โครงการสนับสนุนการตีพิมพ์ผลงาน วิทยานิพนธ์ในวารสารระดับนานาชาติ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์