

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้ เพื่อ ศึกษาปริมาณสารประกอบ *trans-resveratrol* และ phenolic compounds อื่น ๆ ขององุ่นและไวน์ที่ปลูกและผลิตในประเทศไทย โดยเฉพาะไวน์ที่ผลิตจากองุ่นปลูกได้ในฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยศึกษาดูตามการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบ phenolic compounds ระหว่างกระบวนการผลิตไวน์ และศึกษาการดูดซึม การออกฤทธิ์ต้าน oxidation และ การต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งขององุ่นแดงบางสายพันธุ์ปลูกในฟาร์มมหาวิทยาลัยฯ ในรูปสารสกัดองุ่น (grape pomace extract-GPE) ไวน์ (grape wine-GWI) และสารบริสุทธิ์ *trans-resveratrol* (RES) เพื่อแสดงให้เห็นถึงประโยชน์เชิงอาหารสุขภาพของผลิตผลองุ่นแดง การทดลองประกอบด้วย

- 1) การวิเคราะห์ปริมาณ total phenolic compounds, *trans-resveratrol* และ antioxidant property ของไวน์องุ่นพันธุ์ต่าง ๆ ที่ปลูกได้ในฟาร์มของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
- 2) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ phenolic compounds ระหว่างการหมักและบ่มไวน์แดงด้วยยีสต์ต่างสายพันธุ์ 3 สายพันธุ์
- 3) ศึกษาการดูดซึมและอิทธิพลของ เรสเวอราทรอล และผลิตผลองุ่นแดงต่อโครงสร้างจุลภาคเซลล์ตับหนู
- 4) ศึกษาอิทธิพลผลิตผลองุ่นแดงต่อความเป็นพิษและการเพิ่มจำนวนของเซลล์
- 5) ศึกษาอิทธิพลของผลิตผลจากองุ่นแดงต่อโปรแกรมการตายของเซลล์ไมอโทไม

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและคุณสมบัติด้านออกซิเดชันของไวน์ผลิตจากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ทำการวิเคราะห์และเปรียบเทียบปริมาณสาร phenolic และคุณภาพการเป็นสาร antioxidant ของไวน์บางชนิดผลิตในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยเฉพาะใช้ไวน์ผลิตจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีเป็นกรณีศึกษา จากไวน์ตัวอย่างทั้งไวน์แดงและไวน์ขาว 9 สายพันธุ์ วิเคราะห์ปริมาณ total phenolic compounds (TPC) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ประสิทธิภาพการจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และประสิทธิภาพการลดประจุของธาตุเหล็กด้วยวิธี ferric reducing-antioxidant power (FRAP) พบว่าไวน์แดงมีปริมาณ TPC, flavonoids และความเป็นสาร antioxidant มากกว่าไวน์ขาวอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ผลการใช้ capillary electrophoresis (CE) ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงวิเคราะห์สาร phenolic ในไวน์ พบ *trans-resveratrol* ในไวน์สายพันธุ์ Shiraz, Zinfandel และ ไวน์ผสมหลายสายพันธุ์ของคงพญาเย็นเท่านั้น พบ (+)-catechin ในไวน์ทุกชนิดยกเว้นสายพันธุ์ Chasselas Dore

และปริมาณ (+)-catechin มีมากกว่า (-)-epicatechin และ phenolic acid ที่พบมากในไวน์แดง คือ gallic acid

การเปลี่ยนแปลงของ Phenolic Compounds ระหว่างการหมักไวน์แดงด้วยยีสต์ต่างสายพันธุ์

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลิกระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ (alcoholic fermentation- ALF) การหมัก malolactic fermentation (MLF) และการบ่ม (aging- AGE) ใช้ตัวอย่างองุ่น (*Vitis vinifera*) สายพันธุ์ Exotic และ Shiraz ที่ปลูกในฟาร์ม มทส หมักด้วยยีสต์ 3 สายพันธุ์ (*Saccharomyces cerevisiae* K1V1116, *S. cerevisiae* CY3079 และ *S. bayanus* EC1118) ร่วมกับการเติม *trans-resveratrol* (ความเข้มข้น 0, 5 และ 10 ppm) ส่วนการหมัก malolactic ใช้แบคทีเรียใช้กรดแลคติก *Oenococcus oeni* MBR.B1 บ่มไวน์ด้วยขึ้นไม้โอ๊ค และเก็บที่อุณหภูมิ 15 °C วิเคราะห์ปริมาณ *trans-resveratrol* และ phenolic compounds ใช้วิธี capillary electrophoresis และทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไวน์ที่หมักโดยไม่เติม *trans-resveratrol* และเติม 10 ppm ด้วยยีสต์ทั้ง 3 สายพันธุ์ ด้วยวิธี quantitative descriptive analysis (QDA) ใช้ผู้ประเมินที่คุ้นเคยและดื่มไวน์เป็นประจำ 7 คน คุณลักษณะที่ประเมินประกอบด้วย สี (color) กลิ่น (aroma) รสชาติ (taste) ความเข้มข้น (body) และการยอมรับโดยรวม (overall acceptance)

ระหว่าง ALF ไวน์ทั้ง 2 ชนิด พบว่า ความเข้มข้นของปริมาณ *trans-resveratrol* เพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 3 และลดลงหลังจากวันที่ 5 ของการหมัก การเติม *trans-resveratrol* ก่อนกระบวนการหมักทำให้มีปริมาณของ *t-resveratrol* สูงกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้เติม เมื่อ ALF สิ้นสุดลง พบว่า ความเข้มข้นของฟีนอลิกที่ได้จากยีสต์ต่างสายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนการเติม *trans-resveratrol* บริสุทธิ์ไม่มีผลต่อความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆ หลังจาก MLF พบว่า *trans-resveratrol* เพิ่มขึ้นในทุกสถานะ โดยเฉพาะในสถานะที่มีการเติม *trans-resveratrol* นอกจากนี้ยังพบว่า phenolic acid บางชนิด เช่น gentisic, *p*-hydroxybenzoic, salicylic, caffeic และ protocatechuic acid เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมัก malolactic ด้วย ระหว่าง AGE พบว่า มีการลดลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด *trans-resveratrol* และ monomeric flavonoids รวมถึง phenolic acid บางชนิด

สายพันธุ์ของยีสต์ที่ใช้หมักในการทดลองนี้ พบว่ามีอิทธิพลต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของไวน์ โดยพบว่ายีสต์ใน 3 สายพันธุ์ที่ใช้ทดลอง สายพันธุ์ EC1118 ให้คุณลักษณะที่ดีกว่าสายพันธุ์ K1V1116 และ CY3079 ขณะที่การเติมหรือไม่เติมสารบริสุทธิ์ของ *trans-resveratrol* ในการผลิตไวน์ มีอิทธิพลน้อยหรืออาจไม่มีเลยต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของไวน์

ผลการดูดซึมและอิทธิพลของ เรสเวอราทรอล และผลิตภัณฑ์องุ่นแดงต่อโครงสร้างจุลภาคเซลล์ตับหนู

การดูดซึมของผลิตภัณฑ์องุ่นแดงสายพันธุ์ Zinfandel จากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีในหนูเมาส์ ICR ที่ได้รับสารทางปากทุกวันนานถึง 6 เดือน โดยการตรวจหาสารในน้ำเลือด (plasma) ด้วย capillary electrophoresis (CE) และสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงของเซลล์ด้วย transmission electron microscope (TEM) พบว่า ใน plasma ของหนู ตรวจพบ total phenolic compound จากน้ำองุ่นละกากองุ่นสกัดได้ 23% ใน 24 ชั่วโมง ตรวจไม่พบ resveratrol ใน plasma ของหนูที่ได้รับโดยตรงหรือ 20 mg/ml resveratrol ผสมในไวน์ อาจเนื่องความจำกัดในการตรวจของ CE แต่ตรวจพบ resveratrol ได้จาก plasma ที่นำออกจากหนูก่อนแล้วผสม 16 mg/ml resveratrol หนูที่ได้รับ 12% ethanol ทั้งระยะสั้นและระยะยาว มีโครงสร้างเซลล์ตับเปลี่ยนแปลง พบมีการเปลี่ยนการจัดตัวของเยื่อ endoplasmic reticulum และ mitochondria เปลี่ยนแปลง chromatin ความแน่นขึ้น และสะสมเม็ดไขมัน น้ำองุ่นไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์ตับ แต่ 10% Dimethylsulfoxide (DMSO), resveratrol (ละลายใน 12% ethanol) และกากองุ่นสกัด (ละลายใน 10% DMSO) เปลี่ยนแปลงโครงสร้างเซลล์เล็กน้อยหลังได้รับสาร 6 เดือน เยื่อ endoplasmic reticulum ขยายขนาด mitochondria ใหญ่ขึ้น และปรากฏมีถุง vesicles ดังนั้นผลิตภัณฑ์องุ่นแดงที่หนูทดลองได้รับทางปากถูกดูดซึมได้และเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์ตับเพียงน้อยซึ่งอาจไม่ทำให้เซลล์เปลี่ยนหน้าที่

อิทธิพลผลิตภัณฑ์องุ่นแดงต่อความเป็นพิษและการเพิ่มจำนวนของเซลล์

ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดกากองุ่นและไวน์จากองุ่นแดงสายพันธุ์ชีราซที่ปลูกในฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีด้านความเป็นพิษเซลล์โดยวิธี brine shrimp lethality assay (BSLA) และด้านการต้านต่อการเจริญเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งสายพันธุ์ไมอีโลมา (P3X63Ag8.653) ของหนูเมาส์ BALB/c ด้วยวิธี MTT ความเป็นพิษและฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของผลิตภัณฑ์องุ่นโดยเปรียบเทียบฤทธิ์ที่ 50% (LC_{50} และ IC_{50}) ใช้ resveratrol เป็นสารมาตรฐานเทียบฤทธิ์ ความเป็นพิษและการยับยั้งการเจริญของเซลล์ขึ้นกับความเข้มข้นและเวลาที่ได้รับสารอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) LC_{50} ของสารสกัดกากองุ่นที่ 6 ชม. เท่ากับ 512.86 ug/ml ที่ 12 ชม. เท่ากับ 371.53 ug/ml และ ที่ 24 ชม. เท่ากับ 28 ug/ml ค่า LC_{50} ของไวน์องุ่นที่ 6 ชม. เท่ากับ 158.49 ug/ml ที่ 12 ชม. เท่ากับ 12.30 ug/ml และ ที่ 24 ชม. เท่ากับ 10.23 ug/ml resveratrol มีค่า LC_{50} ที่ 6 ชม. เท่ากับ 2.40 ug/ml ที่ 12 ชม. เท่ากับ 1.41 ug/ml และวิเคราะห์หาไม่ได้ ที่ 24 ชม. ส่วนฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งสายพันธุ์เม็ดเลือดขาว (myeloma cell) ของผลิตภัณฑ์องุ่นที่ IC_{50} ของสารสกัดกากองุ่นที่ 6 ชม. เท่ากับ 371.54 ug/ml ที่ 12 ชม. เท่ากับ 131.83 ug/ml และ ที่ 24 ชม. เท่ากับ 75.86 ug/ml ที่ IC_{50} ของไวน์องุ่น

ที่ 6 ชม. เท่ากับ 199.53 ug/ml ที่ 12 ชม. เท่ากับ 81.28 ug/ml และ ที่ 24 ชม. เท่ากับ 43.65 ug/ml ที่ IC_{50} ของ resveratrol ที่ 6 ชม. เท่ากับ 63.10 ug/ml ที่ 12 ชม. เท่ากับ 21.38 ug/ml และ ที่ 24 ชม. เท่ากับ 6.03 ug/ml แสดงให้เห็นว่าผลผลิตของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมีพิษและฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวของหนูเมาส์ ซึ่งอาจสามารถนำไปใช้ในการป้องกันมะเร็งได้

อิทธิพลของผลผลิตจากองุ่นแดงต่อโปรแกรมการตายของเซลล์ไมโอโตมา

อิทธิพลชักนำโปรแกรมการตาย (apoptosis) ของเซลล์สายพันธุ์มะเร็งเม็ดเลือดขาวไมโอโตมาของหนูเมาส์ (mouse myeloma cells) จากผลผลิตขององุ่นแดงชีราซ (Shiraz) โดยศึกษาจากการเปลี่ยนรูปร่างลักษณะตายของเซลล์ การแตกหักเป็นชิ้นของสาย DNA และการปรากฏมีของโปรตีนที่เกี่ยวข้องด้วยเทคนิค Western blotting พบว่าผลผลิตขององุ่นชักนำเซลล์ให้ตายหลังได้รับสาร 6 ชั่วโมงและประมาณ 4-7 เท่าน้อยกว่าสาร resveratrol การแตกหักของสาย DNA มากหลังได้รับสาร 12 ชั่วโมง โปรตีน p53 และ caspase-8 ถูกชักนำมากที่ความเข้มข้นของสารต่ำ (10 -100 ug/ml) และที่ 3 ชั่วโมง ตรงกันข้ามกับ Bcl-2 ที่ความเข้มข้นสูงปรากฏมากในช่วงต้นและลดลงเมื่อเวลานานขึ้นถึง 24 ชั่วโมง ในขณะที่ p53, caspase-8 และ caspase-3 เพิ่มขึ้นตามเวลา และเมื่อได้รับสารมาก (1000 ug/ml) ผลผลิตขององุ่นนี้อาจชักนำการตายผ่านวิถีภายนอกโดย caspase-8 และ caspase-3 ในช่วงต้นที่ได้รับสาร และผ่านวิถีภายใน โดย Bcl-2 และ caspase-3 เมื่อได้รับเป็นเวลานาน การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าผลผลิตองุ่น Shiraz ชักนำให้เซลล์สายพันธุ์มะเร็งเม็ดเลือดขาวของหนูตายแบบ apoptosis ได้ และผลผลิตองุ่นเหล่านี้ อาจสามารถประยุกต์ใช้เป็นสารธรรมชาติในการป้องกันการเกิดมะเร็งหรืออาจใช้รักษามะเร็งได้