

พืชในสกุลมะเขือของประเทศไทย

พืชในสกุลมะเขือ (*Solanum*) เป็นสมาชิกของพืชในวงศ์ Solanaceae เป็นพืชสกุลใหญ่ที่สุดของพืชดอก มีสมาชิกมากกว่า 1,400 ชนิด (Mabberley, 1987) และเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ มีการนำเอามะเขือมาปลูกเพื่อใช้เป็นสมุนไพรและนำผลมาบริโภคเป็นผักและใช้เป็นเครื่องปรุงอาหารอื่นๆ ทั้งในประเทศแถบเอเชียเช่น อินเดีย จีน และทางทวีปยุโรปและอเมริกา สำหรับในประเทศไทยมีพืชในสกุลมะเขือทั้งสิ้น 20 ชนิด (พันธุ์เพ็ง 2545) คือ มะเขือ (*S. malongana*), มะเขือขื่น (*S. xanthocarpum*), มะเขือขื่น (*S. aculeatissimum*), มะอึก (*S. ferox*), มะอึกหมวก (*S. barbisetum*), มะเขือต้น (*S. macrothum*), มะแว้ง (*S. coagulans*), มะแว้งนก (*S. nigrum*), มะแว้งเขา (*S. putii*), มะแว้งต้น (*S. indicum*), มะแว้งเครือ (*S. trilobatum*), มะเขือเครือ (*S. trilobatum*), มะเขือญี่ปุ่น (*S. wendlandii*), มะเขือพวง (*S. torvum*), มะเขือสาแหรก (*S. mammosum*), มะเขือเครือ (*S. seaforthianum*), เต้าปู้ (*S. cyanocarphitum*), ต้อยตัง (*S. spirale*), ตัวยาง (*S. verbascifolium*) และมันฝรั่ง (*S. tuberosum*) คนไทยนำมะเขือมาใช้ทั้งในรูปของสมุนไพร เช่น มะแว้งต้น และนำผลอ่อน เช่น มะเขือยาว มาบริโภคเป็นผักและใช้มะเขือพวงเป็นเครื่องปรุงในแกงเผ็ด

ในตลาดท้องถิ่นของจังหวัดเชียงใหม่พบความหลากหลายของลักษณะผลมะเขือโดยเฉพาะมะเขือในกลุ่ม *S. melogena* ทั้งในด้านรูปร่างของผล สี โดยลักษณะผลทั่วไปจะเป็นแบบกลมแป้น รูปไข่ หรือทรงกลม ส่วนสี จะมีสีที่แตกต่างกันไป เนื่องมาจากพันธุ์ที่มีการปรับปรุงเพื่อการค้า เช่น พันธุ์สีม่วง สีเขียวอ่อนไปจนถึงสีขาว โดยผลที่มีสีทั้ง 3 แบบส่วนใหญ่ผลจะมีรูปร่างค่อนข้างกลมแป้น นอกจากนั้นในปัจจุบันได้มีการนำพันธุ์มะเขือจากต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น ไต้หวัน และประเทศอื่นๆ เข้ามาปลูก เพื่อผลิตในเชิงการค้ามากขึ้น แต่ส่วนมากจะเป็นมะเขือในกลุ่มของ *S. melogena* ทำให้ผลมะเขือที่พบมีความหลากหลายของลักษณะรูปร่างและสีผลมากยิ่งขึ้น (บงการ, 2545) ผลมะเขือที่วางจำหน่ายในตลาดท้องถิ่นของจังหวัดเชียงใหม่เป็นผลผลิตที่ได้จากการปลูกของคนในท้องถิ่น นอกจากมะเขือ *S. melogena* แล้ว ยังมีการใช้มะเขือในสกุลอื่นๆ ที่มีขนาดเล็กอีก ได้แก่ มะเขือพวง และมะแว้งนก ซึ่งนำมาบริโภคเป็นผักหรือใช้ประกอบอาหารในท้องถิ่น

มะเขือที่คนไทยนิยมบริโภค

มะเขือยาว (*S. melogena*) ผลมีลักษณะยาวกลม มีทั้งสีเขียว สีม่วง และสีขาว มะเขือยาวเขียวเป็นพันธุ์ที่แพร่หลายที่สุดในประเทศไทย มะเขือยาวสีม่วงมีมากในญี่ปุ่น มะเขือยาวสีเขียวที่ซื้อขายกัน มักเป็นมะเขือผลโตที่ยังไม่แก่จัด ส่วนใหญ่มักนำไปปรุงสุก นอกจากมะเขือยาวผลโต

แล้วยังมีมะเขือยาวอ่อนหรือมะเขือยาวผลเล็ก ซึ่งชาวบ้านเรียกว่า "มะเขือตุงตุง" นิยมนำไปกินสด เป็นผักจิ้มน้ำพริก

มะเขือเปราะ (*S. meloena*) บางทีเรียก มะเขือเปราะเจ้าพระยา ลักษณะของผลเป็น ทรงกลม สีขาวอมเขียว กินได้ทั้งเป็นผักสด จิ้มน้ำพริก และปรุงอาหารหลายอย่าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งนิยมใส่ในแกง

มะเขือพวง (*S. torvum*) ผลมีขนาดเล็กเป็นพวงสีเขียวเข้ม ขนาดประมาณเมล็ดถั่วลันเตา เก็บกินขณะผลยังอ่อนเป็นสีเขียว ฝรั่งเศสเรียก "มะเขือถั่ว" หรือ pea eggplant มะเขือพวงที่นิยมนำมารับประทานจะเป็นผลอ่อนสีเขียว เปลือกหนา และเหนียวกว่ามะเขือชนิดอื่น เนื้อภายในมีรสขมและชิ้นเล็กน้อย

มะเขือม่วงเล็ก (*S. meloena*) ผลมีลักษณะเป็นทรงยาวป้อม คล้ายมะเขือม่วงใหญ่ของฝรั่ง แต่พอมากว่ามาก ความยาวประมาณ 4 นิ้ว สีผิวเป็นสีม่วงอ่อนปนลายเขียวขาว ขณะที่มะเขือม่วงใหญ่สีม่วงเข้มเป็นเงามันเสมอกันทั้งผล เรียกอีกชื่อว่า มะเขือท่าม้า มะเขือม่วงเล็กมีเนื้อนุ่ม กินดิบมีรสขมเล็กน้อย แต่เมื่อสุกมีรสหวาน นิยมกินเป็นผักสด หรือผักต้มแนมกับน้ำพริกและเครื่องจิ้มต่างๆ ส่วนมะเขือม่วงใหญ่ จะมีเนื้อแน่นและละเอียดกว่ามะเขือม่วงเล็ก ส่วนใหญ่เอามาทำอาหาร จัดเป็นมะเขือที่แพร่หลายในต่างประเทศ

มะเขือแปะ (*S. meloena*) เป็นมะเขือม่วงอีกชนิดหนึ่งของไทย สั้นและป้อมกว่ามะเขือม่วงเล็ก ผิวสีม่วงอ่อนไม่มีสีเขียวสลับ มะเขือแปะมีรสหวานเมื่อสุก นิยมนำไปผัด ชุบแป้งทอด ใส่ในแกงกะทิ และเป็นผักสดจิ้มน้ำพริก

มะเขือจาน (*S. meloena*) รูปร่างกลมแป้น มีรอยหยักขนาดใหญ่ มีทั้งสีม่วงและสีขาว มะเขือจานมีเปลือกบาง เนื้อนุ่ม และรสหวานเมื่อต้มสุก มะเขือจานไม่นิยมนำมากินสดๆ ส่วนมะเขือจานสีม่วงนิยมนำไปเผาหรือต้มเป็นผักจิ้มน้ำพริก

มะเขือเหลืองหรือมะเขือขึ้น (*S. xanthocarpum*) ทรงกลมขนาดเล็กใกล้เคียงกับมะเขือเปาะ เปลือกหนา สีเหลืองสด แต่มีรสขื่นมาก นิยมปาดเอาเฉพาะเปลือกใส่ในส้มตำลาว แกงป่า และยาที่ใส่มะพร้าวชูดคั่วแบบปักซี่ได้ หรือทำเป็นผักดองรวมกับผักชนิดอื่นๆ

มะเขือต่อแหล (*S. meloena*) ผลมีลักษณะกลมขนาดเล็ก สีเขียวจางๆ มีรสชาติขื่นเล็กน้อย เนื้อเหนียว นิยมกินเป็นผักสดจิ้มน้ำพริกและเครื่องจิ้มอื่นๆเท่านั้น

มะเขือเขี้ยวเสวย (*S. meloena*) หรือ มะเขือเสวย สีเขียวเข้มปนเส้นลายขาวบ้าง ผลมีรสหวานปรสมเล็กน้อย มีความกรอบนิยมนำมารับประทานสด

มะเขือไข่เต่า (*S. meloena*) ผลมีลักษณะรีและสีขาว เป็นมันวาวเหมือนไข่เต่ามีรสหวาน กรอบ เหมาะเป็นผักจิ้มน้ำพริก

มะแว้ง มีผลคล้ายกับมะเขือพวงมาก มีทั้งแบบเป็นต้น (*S. sanitwongsei*) และเป็นเครือ (*S. trilobatum*) แต่ผลเล็กกว่า มะแว้งกินสดร่วมกับเกลือทำให้ชุ่มคอ แต่ไม่นิยมกินสด จะนำมาเผาพอสุก แล้วบดใส่น้ำพริกกะปิ หรือแกงป่า ช่วยให้มีรสกลมกล่อม

ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในผักและผลไม้

เมื่อเตรียมผลไม้สำหรับปรุงอาหารจะสังเกตได้ว่าเนื้อ เมล็ด และผิวเปลือกของผลไม้จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอย่างรวดเร็ว หรือสีของผลไม้จะเปลี่ยนไปเมื่อนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ ต่ำ สีน้ำตาลที่เกิดขึ้นเป็นปัญหาสำคัญที่พบในการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวและการเก็บรักษามะเขือ (Concellon *et al.*, 2004) การเกิดสีน้ำตาลเป็นผลของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase-PPO) กระตุ้นปฏิกิริยาออกซิเดชันสารประกอบฟีนอล ภายใต้สภาพที่มี ออกซิเจนเอนไซม์จะเร่งการเปลี่ยนสารประกอบโมโนฟีนอลไปเป็นสารประกอบไดฟีนอล และ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจนกระทั่งได้สาร *o*-quinone ที่ไม่เสถียร สามารถทำปฏิกิริยากับกรด แอมิโนหรือโปรตีนได้สารสีน้ำตาลขึ้นจากกระบวนการพอลิเมอไรเซชัน (García-Carmen *et al.*, 1988) จากนั้นสารที่ได้จะรวมตัวกันจนโมเลกุลมีขนาดใหญ่ กลายเป็นสารสีน้ำตาลที่เรียกรวมๆ ว่า เมลานิน (จริงแท้, 2550) นอกจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลโดยการเร่งปฏิกิริยาจากเอนไซม์ PPO แล้ว ในธรรมชาติยังมีปฏิกิริยาเคมีอื่นๆ ที่ทำให้เกิดสีน้ำตาลในผักและผลไม้ ซึ่งไม่เกี่ยวข้อง กับการทำงานของเอนไซม์ เรียกว่า non-enzyme browning เช่น ปฏิกิริยา Maillard ซึ่งเกิดขึ้น เมื่อโมเลกุลของน้ำตาลได้รับความร้อน และทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของสารที่มีหมู่แอมิโน (NH_2 -) เป็นองค์ประกอบ จะได้สารสีน้ำตาลเช่นเดียวกัน (दनัย และนิธิยา, 2548)

สารประกอบฟีนอล

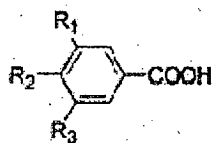
สารประกอบฟีนอล เป็นสารที่พบได้ในพืช มีคุณสมบัติเป็นสารอินทรีย์ที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็น aromatic ring ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ สามารถละลายได้ในน้ำ สารประกอบฟีนอลที่อยู่ภายในเซลล์จะอยู่ในรูปอิสระนั้นพบน้อยมาก ส่วนใหญ่มักพบ รวมอยู่กับโมเลกุลของน้ำตาลโดยเชื่อมต่อกับโมโนแซ็กคาไรด์หรือไดแซ็กคาไรด์ ได้เป็น สารประกอบในรูปของไกลโคไซด์ (glycosides) สะสมอยู่ตามช่องว่างภายในเซลล์ นอกจากนี้ สารประกอบฟีนอลยังอาจรวมกับสารประกอบอื่นอีกหลายชนิด เช่น hydroxyl-cinnamic acid อาจพบรวมกับ organic acids, amino groups, lipids, terpenoids และ phenolics กลุ่มอื่นๆ

สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากกว่า 100 ชนิด และมีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่ แตกต่างกันไป โดยสามารถจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลที่พบตามโครงสร้างพื้นฐานได้ เป็นหลายกลุ่ม ตามจำนวนคาร์บอนอะตอมที่มีอยู่ ดังตารางที่ 1

สารในกลุ่มของกรดฟีนอล (phenolic acid) ตัวอย่างเช่น cinnamic acid พบได้ในผลไม้ ทั่วไป โดยพบในรูปของ ferulic, sinapic, *p*-coumaric และ caffeic acid ซึ่งมีโครงสร้างหลัก เหมือนกันเพียงแต่แตกต่างกันที่ functional group (ภาพที่ 2 - 1) โดยทั่วไปแล้วกรดเหล่านี้จะไม่ อยู่ในรูปของกรดอิสระแต่จะอยู่รูปของสารประกอบเอสเทอร์กับ quinic acid หรือ น้ำตาลกลูโคส (Herrmann, 1989) สารในกลุ่มของกรดฟีนอลอีกชนิดคือ chlorogenic acid (5-caffeoylquinic acid) เป็นกรดฟีนอลอีกชนิดที่มีความสำคัญและพบได้ทั่วไปในผลไม้ บางครั้งยังเป็นเพียง สารประกอบฟีนอลเพียงชนิดเดียวที่พบในผลไม้ การที่ในผลไม้มี cinnamic acid เป็นปริมาณมาก

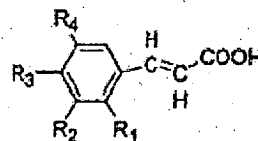
อาจเนื่องมาจากสารชนิดนี้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลชนิดอื่นๆ ที่มีโครงสร้างซับซ้อนมากขึ้น (Robard *et al.*, 1999)

ฟลาโวนอยด์ เป็นกลุ่มของสารประกอบฟีนอลหลักที่พบมากที่สุดในพืชและมีโครงสร้างหลากหลายมาก ซึ่งสารประกอบฟีนอลในกลุ่มฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ ฟลาวานอล (flavanols) ฟลาโวนอล (flavonols) และแอนโทไซยานิน (anthocyanins) ฟลาวานอล ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลหลักในผลไม้ แต่จะอยู่ในรูปของสาร proanthocyanidins หรือ tannin และอยู่ในรูปของสารโมโนเมอร์เช่น catechin, epicatechin เป็นต้น สารในกลุ่มฟลาโวนอลจะพบมากในผลไม้ ตัวอย่างเช่น quercetin, kaempferol, myricetin และ isorhamnetin สารในกลุ่มแอนโทไซยานินเป็นตัวทำให้เกิดสีแดงในผลไม้บางชนิดโดยมีสารตัวหลักในกลุ่มแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) ที่ทำให้เกิดสีในผลไม้ทั้งหมด 6 ชนิดคือ cyanidin, delphinidin, peonidin, pelargonidin, petunidin และ malvidin โดย cyanidin เป็นแอนโทไซยานินหลักและพบในผลไม้มากที่สุด



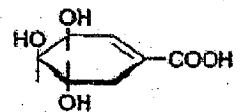
Benzoic Acids

Gallic acid $R_1=R_2=R_3=OH$
 Protocatechuic acid $R_1=H, R_2=R_3=OH$
 Vanillic acid $R_1=H, R_2=OH, R_3=OCH_3$
 Syringic acid $R_2=OH, R_1=R_3=OCH_3$

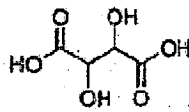


Cinnamic Acids

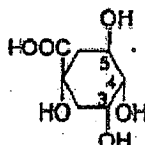
Ferulic acid $R_1=R_2=H, R_3=OH, R_4=OCH_3$
 p -Coumaric acid $R_1=R_2=R_4=H, R_3=OH$
 o -Coumaric acid $R_2=R_3=R_4=H, R_1=OH$
 Caffeic acid $R_1=R_2=H, R_3=R_4=OH$
 Sinapic acid $R_1=H, R_3=OH, R_2=R_4=OCH_3$
 Cinnamic Acid Esters



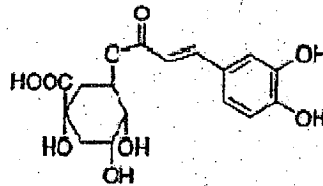
Shikimic acid



Tartaric Acid

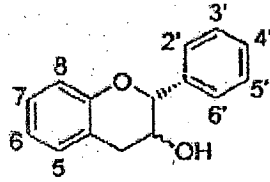


quinic acid



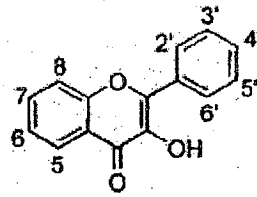
Chlorogenic acid (5-caffeoylquinic acid)
 Coutaric acid (p -coumaroyltartaric acid)
 Caffeic acid (caffeoyltartaric acid)

ภาพที่ 2 - 1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลในกลุ่มกรดฟีนอล (Robard *et al.*, 1999)



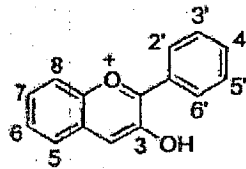
Flavanols

Catechin (2R, 3S) 5=7=3'=4'=OH
 Epicatechin (2R, 3R) 5=7=3'=4'=OH
 Epigallocatechin (2R, 3R) 5=7=3'=4'=5'=OH
 Epicatechin gallate (2R, 3R) 5=7=3'=4'=OH,
 3-gallic acid ester
 Epigallocatechin gallate (2R, 3R) 5=7=3'=4'=5'=OH,
 3-gallic acid ester



Flavonols

Fisetin 7=3'=4'=OH
 Kaempferol 5=7=4'=OH
 Morin 5=7=2'=4'=OH
 Herbacetin 5=7=8=4'=OH
 Quercetin 5=7=3'=4'=OH
 Robinetin 7=3'=4'=5'=OH
 Isorhamnetin 5=7=4'=OH, 3'=OCH₃
 Myricetin 5=7=3'=4'=5'=OH
 Gossypetin 5=7=8=3'=4'=OH



Anthocyanidins

Pelargonidin 5=7=4'=OH
 Cyanidin 5=7=3'=4'=OH
 Peonidin 5=7=4'=OH, 3'=OCH₃
 Delphinidin 5=7=3'=4'=5'=OH
 Petunidin 5=7=4'=5'=OH, 3'=OCH₃
 Malvidin 5=7=4'=OH, 3'=5'=OCH₃

ภาพที่ 2 - 2 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Robard et al., 1999)

ตารางที่ 1 การจัดกลุ่มของสารประกอบฟีนอลและชนิดของสารที่พบในผลไม้ชนิดต่างๆ

โครงสร้างหลัก	กลุ่ม	แหล่งที่พบ	ตัวอย่างสารประกอบฟีนอล
C ₆	Simple phenols Benzoquinones		catechol, hydroquinone, resorcinol
C ₆ -C ₁	Phenolic acids	พบกระจายทั่วไป	<i>p</i> -hydroxybenzoic acid, salicylic acid
C ₆ -C ₂	Phenylacetic acid		<i>p</i> -hydroxyphenylacetic acid
C ₆ -C ₃	Cinnamic acid	พบกระจายทั่วไป	caffeic acid, ferulic acid
C ₆ -C ₄	Phenylpropenes	ผลไม้ในตระกูลส้ม	eugenol, myruisicin
	Coumarins		umbelliferone, aesculetin, scopolin
	Chromones		eugenin
	Napthoquinones	วอลนัท	juglone
C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	มะม่วง	mangostin, mangiferin
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbenes	องุ่น	resveratrol
	Anthraquinones		emodin
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavones	ส้ม	sinensetin, nobiletin, tangeretin, isosinensitin, various polymethoxylated flavones
		เกรฟฟรุต	tangeretin, various polymethoxylated flavones
		มะนาว	diosmin, luteolin-7-rutinoside
	Flavonols	แอปเปิล	quercetin, kaempferol
		สาลี่	quercetin, kaempferol
	Flavonol glycoside	พบกระจายทั่วไป	rutin
	Flavanonols	องุ่น	dihydroquercetin , dihydrokaempferol glycosides
	Flavanones	ผลไม้ในตระกูลส้ม	hesperitin, naringenin
		มะเขือเทศ	naringenin
	Flavanone glycosides	ผลไม้ในตระกูลส้ม	hesperidin, neohesperidin, narirutin, naringin, eriocitrin
		สตอเบอรี่	naringin

ที่มา: ดัดแปลงจาก Robards *et al.*, 1999

ตารางที่ 1 (ต่อ) การจัดกลุ่มของสารประกอบฟีนอลและชนิดของสารที่พบในผลไม้ชนิดต่างๆ

โครงสร้างหลัก	กลุ่ม	แหล่งที่พบ	ตัวอย่างสารประกอบฟีนอล
C ₆ -C ₃ -C ₆ (ต่อ)	Anthocyanins	แอปเปิล	cyaniding glycosides
		ส้ม	glycosides of pelargonidin, peonidin, delphinidin and petunidin, malvidin
		องุ่น	glycosides of cyanidin, peonidin delphinidin, petunidin, malvidin
		สาเลี	cyanidin glycosides
		เชอรี	cyanidin-3-glucoside, 3-rutinoside
		ท้อ	cyanidin glycosides
	Flavanols (catechins)	ลูกพลัม	glycosides of cyanidin, peonidin
		มะเขือ	nasunin
		แอปเปิล	(+)-catechin, (-)-epicatechin,
		องุ่น	(+)-catechin, (-)-epicatechin, (+)-gallocatechin, (-)-epigallocatechin
C ₆ -C ₃ -C ₆	Chalcones	สาเลี	(+)-catechin, (-)-epicatechin
		ท้อ	(+)-catechin, (-)-epicatechin
		แอปเปิล	phloretin derivatives
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignins	สาเลี	arbutin, phloretin glucoside
		มะเขือเทศ	chalconaringenin
(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	Biflavonoids		pinoresinol
C ₆) ₂			agathisflavone

ที่มา: ดัดแปลงจาก Robards *et al.*, 1999

สารประกอบฟีนอลในผลไม้

ผลไม้เป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอล มีรายงานวิจัยที่ศึกษาชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลในผลไม้หลายชนิด ซึ่งผลไม้แต่ละชนิดจะมีสารประกอบฟีนอลหลักแตกต่างกันไปตามชนิดของเนื้อเยื่อและสายพันธุ์ ตัวอย่างเช่น

องุ่น เป็นผลไม้ชนิดหนึ่งที่มีการศึกษาถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุด เนื่องจากเป็นผลไม้ที่ใช้ทำไวน์ จึงมีการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลในไวน์เช่นกัน ในผลองุ่นและไวน์มีสารประกอบฟีนอลหลักๆ อยู่ 5 กลุ่ม คือ กรดฟีนอล ฟลาโวนอล ฟลาวานอล ฟลาวาโนนอล และแอนโทไซยานิน โดยแอนโทไซยานินเป็นสารประกอบฟีนอลที่พบมากที่สุดในการองุ่นดำ/แดง และฟลาวานอล เป็นสารที่พบมากที่สุดในการองุ่นเขียว/ขาว (Yi *et al.*, 1997) แต่ปริมาณแอนโทไซยานินที่พบในเปลือก เนื้อ และเมล็ดองุ่นจะแตกต่างกัน โดยที่เปลือกจะมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุด แต่ในไวน์แดงจะมีปริมาณ quercetin สูงที่สุด (Goldberg *et al.*, 1998)

แอปเปิลเป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่มีการศึกษามากเช่นกัน สารประกอบฟีนอลที่พบปริมาณมากที่สุดคือ อนุพันธ์ของ cinnamic acid และฟลาวานอล (Amiot *et al.*, 1992) คิดเป็น 90% ของปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่พบในผลแอปเปิล ตัวอย่างสารอนุพันธ์ของ cinnamic acid ที่พบมากคือ chlorogenic acid ส่วนสารในกลุ่มฟลาวานอลที่พบในปริมาณสูงได้แก่ epicatechin และ procyanidin B2 (Barbanti and Farnell, 1997)

เชอร์รี่ มีแอนโทไซยานินเป็นสารประกอบฟีนอลหลัก ในผลเชอร์รี่สีแดงจะมีปริมาณแอนโทไซยานินในเนื้ออยู่ระหว่าง 82-297 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 100 กรัม ส่วนเชอร์รี่สีอ่อนจะมีเพียง 2-41 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 100 กรัม (Gao and Mazza, 1995) โดยเป็นสารอนุพันธ์ของ cyanidin ได้แก่ 3-rutinosid และ 3-glucoside ของ cyanidin จะเป็นสารที่พบมากที่สุด และมี peonidin กับ pelargonidin ในปริมาณต่ำ สารประกอบฟีนอลอื่นๆ ที่พบว่ามีปริมาณสูงในผลเชอร์รี่ได้แก่ 3-coumaroylquinic acid และ *p*-coumaroylquinic acid ผลเชอร์รี่พันธุ์เปรี้ยว (sour cherry) จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงกว่าผลเชอร์รี่พันธุ์หวาน (sweet cherry) เพราะมีปริมาณกรดฟีนอลสูงกว่า และยังมีชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลที่พบอีกหลายชนิดที่แตกต่างกันระหว่างสองสายพันธุ์ (Friedrich and Lee, 1998)

ผลไม้ในกลุ่ม berries เช่น สตอเบอร์รี่ ราสเบอร์รี่ แบล็กเบอร์รี่ แบล็กเคอเรนต์ มีแอนโทไซยานินเป็นสารประกอบฟีนอลหลัก และทำหน้าที่ให้สีของผลไม้ในกลุ่มนี้ โดยสตอเบอร์รี่จะมี pelargonidin-3-glucoside เป็นสารที่ทำให้เกิดสีแดง (Lopez-Serrano and Barcelo, 1996) cinnamic acid เช่น *p*-coumaric, caffeic และ ferulic acid เป็นสารประกอบฟีนอลอีกกลุ่มที่พบมากในสตอเบอร์รี่และแบล็กเคอเรนต์ (Häkkinen *et al.*, 1996) ส่วนสารในกลุ่มฟลาโวนอลที่พบในผลไม้กลุ่มนี้ไม่มีความแตกต่างกันมากนัก โดยสารที่พบมากคือ quercetin และ kaempferol (Robards *et al.*, 1999)

มะเขือเทศ บริเวณที่พบปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงที่สุด คือ บริเวณคิวดินบนเปลือก มะเขือเทศ สารประกอบที่สกัดแยกได้จากคิวดินของมะเขือเทศ ได้แก่ coumaric acid, naringenin, naringenin-7-glucoside และมีสารในกลุ่มของ chalcone, chalconaringenin ในปริมาณสูง แต่สารเหล่านี้จะถูกสังเคราะห์ขึ้นเมื่อผลมะเขือเทศเข้าสู่ระยะ climacteric และจะ ยึดกับชั้นคิวดิน เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างพันธุ์ พบว่าผลมะเขือเทศเชอร์รี่มีปริมาณ quercetin แตกต่างจากผลมะเขือเทศพันธุ์ธรรมดา และจะมีปริมาณลดลงเมื่อผ่านการประกอบอาหาร (Crozier *et al.*, 1997)

มะเขือเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีรายงานว่ามีสารประกอบฟีนอลในปริมาณมาก ผลการศึกษาใน มะเขือ *S. melongena* พบว่ามีสารในกลุ่มแอนโทไซยานิน คือ nasunin หรือ delphinidin-3-(*p*-coumaroylrutinoside-5glucoside เป็นสารสีหลักบนผิวของมะเขือม่วง (Matsubara *et al.*, 2005) และมีกรดฟีนอลปริมาณมาก สามารถแบ่งออกได้เป็น 5 กลุ่มคือ ไอโซเมอร์ของ chlorogenic acid, ไอโซเมอร์ของ isochlorogenic acid, hydroxycinnamic acid amide conjugated, caffeic acid conjugated และไอโซเมอร์ของ acetylated chlorogenic โดยไอโซ เมอร์ของ chlorogenic acid เป็นกรดฟีนอลที่พบปริมาณมากที่สุด คิดเป็น 63.4-96% ของ ปริมาณ hydroxycinnamic acid ที่พบ (Whitaker *et al.*, 2003)

โดยทั่วไปปริมาณสารประกอบฟีนอลในพืชแต่ละชนิดจะขึ้นอยู่กับปัจจัยทางพันธุกรรม และสภาพแวดล้อม และอาจถูกเปลี่ยนแปลงภายหลังจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในกิจกรรมสอง รูปแบบ คือ เป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidation) หรือเป็นสารที่ทำให้เกิดออกซิเดชันได้สารสี น้ำตาล (oxidative browning) สารประกอบฟีนอลหลายชนิดสามารถเป็นได้ทั้งสารต้าน ออกซิเดชันและสารตั้งต้นที่จะทำให้เกิดสารสีน้ำตาลในผักและผลไม้ (Robards *et al.*, 1999)

อนุมูลอิสระและสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

อนุมูลอิสระ (free radical)

สารใดๆ ที่มี unpaired electron อย่างน้อยที่สุด 1 อิเล็กตรอนในวงจรของโมเลกุล จัดเป็นสารอนุมูลอิสระ ทำให้มีอนุมูลอิสระได้ทั้งแบบประจุบวก หรือ อนุมูลแคทไอออน (cation radical) แทนด้วยสัญลักษณ์ $(R)^{+•}$ อนุมูลประจุลบ (anion radical) แทนด้วยสัญลักษณ์ $(R)^{-•}$ และอนุมูลที่มีประจุเป็นกลาง (neutral radical) แทนด้วยสัญลักษณ์ $(R)^{•}$ ตัวอย่างของอนุมูล อิสระ ได้แก่ อนุมูล superoxide $(O_2)^{•-}$ อนุมูลไฮดรอกซี $(OH)^{•}$ (Roberfroid and Calderon, 1995) อนุมูลอิสระเป็นสารไม่เสถียร มีช่วงครึ่งอายุสั้น (half life) และจะเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่น อย่างรวดเร็ว ลักษณะปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นมีได้ 2 แบบคือ ดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนของสารที่เข้าทำ ปฏิกิริยาออกมาหรือเพิ่มโมเลกุลของออกซิเจนให้กับสารที่เข้าทำปฏิกิริยาจนได้ peroxy radical (Steven and Salem 1997) อนุมูลอิสระมาจากหลายแหล่งทั้งจากสภาพแวดล้อมและเกิดขึ้น ภายในร่างกาย เช่น จากไมโทคอนเดรีย เพอรอกซิไซม์ xanthine oxidase, phagocytosis หรือ การอักเสบ, (Bagchi and Puri, 1998) จากสภาพแวดล้อม ได้แก่ มลพิษในอากาศ โอโซน

ในทรส์ออกไซด์ ไนโตรเจนออกไซด์ ผุ่น ควันบุหรี อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) หรืออาหารที่มีธาตุเหล็กมากกว่าปกติ แสงแดด ความร้อน รังสีแกมมา และยาบางชนิด (Brigelius-Flohe 1995)

เนื่องจากอนุมูลอิสระมีความไวในการทำปฏิกิริยากับสารข้างเคียงได้อย่างรวดเร็ว เมื่อสารเหล่านี้เกิดขึ้นในร่างกาย จะทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆ และทำลายองค์ประกอบหลักของเซลล์ เช่น เยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งประกอบด้วยสารฟอสโฟลิพิด อนุมูลอิสระจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด เยื่อหุ้มเซลล์เสียสภาพจนเกิดการตายของเซลล์ ทำลายสารพันธุกรรม เช่น ดีเอ็นเอ โดยอนุมูลอิสระจะจับกับหมู่ฟอสเฟตและน้ำตาลดีออกซีไรโบส อนุมูลอิสระสามารถสลายพันธะเพปไทด์ของโปรตีน ทำให้โปรตีนเสียสภาพและไม่สามารถทำงานได้ สิ่งเหล่านี้ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของเซลล์และกลายเป็นเซลล์มะเร็งในที่สุด นอกจากนั้นยังเป็นหนึ่งในสาเหตุของโรคเรื้อรัง เช่น โรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด ความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ ไช้ออกเสบ เป็นต้น (Bagchi and Puri, 1998; Robards *et al.*, 1999) ถึงแม้จะเชื่อว่าอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุของโรคเรื้อรังเหล่านี้ แต่อนุมูลอิสระยังมีบทบาทอื่นๆ ในร่างกาย โดย oxygen radical ในสิ่งมีชีวิตเป็นสารที่ร่างกายต้องการใช้ระหว่างการพัฒนาของเซลล์ ส่วนในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เม็ดเลือดขาวสามารถปล่อยอนุมูลอิสระออกมาเพื่อไปทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่เข้ามาในร่างกาย (Bagchi and Puri, 1998) ดังนั้นการกำจัดอนุมูลอิสระออกไปทั้งหมดจากร่างกายจึงเป็นสิ่งที่เป็นไปได้ยากและอาจเป็นอันตรายได้เช่นเดียวกัน

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant)

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือ สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารใดๆ สามารถชะลอ หรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน รวมถึงสารที่มีความเสถียรเพียงพอที่จะให้อิเล็กตรอน หรือทำให้อนุมูลอิสระเป็นกลาง สามารถยับยั้งและควบคุมไม่ให้ไปกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Halliwell and Gutteridge, 1989; Sies, 1997) โดยปกติในร่างกายมีระบบเอนไซม์ทำหน้าที่ป้องกันและลดการทำลายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ เช่น เอนไซม์ glutathione peroxidase, superoxide dismutases, และ catalase เอนไซม์เหล่านี้ทำหน้าที่ลดปริมาณอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย นอกจากนั้นยังมีสารที่ไม่ใช่เอนไซม์ทำหน้าที่เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้อีก ซึ่งเราสามารถแบ่งกลุ่มของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันออกได้หลายกลุ่มตามลักษณะการทำงานคือ

1. Primary antioxidant สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน โดยทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนให้แก่สารประกอบฟีนอล สารโทโคเฟอรอล สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์บางชนิด เช่น *tert*-butyl-4-hydroxyanisole (BHA), *tert*-butyl-4-hydroxytoluene (BHT) และ *tert*-butyl hydroquinone (TBHQ) เป็นต้น

2. Oxygen scavenger สารในกลุ่มนี้จะเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจน ช่วยกำจัดออกซิเจนในระบบปิดได้ ตัวอย่างเช่น กรดแอสคอร์บิก หรือวิตามินซี ascorbyl palmitate, erythorbic acid และ sodium erythorbate เป็นต้น
3. Secondary antioxidant สารในกลุ่มนี้จะทำหน้าที่สลายโมเลกุลของ lipid hydroperoxide ทำให้ได้สารที่มีความเสถียร ตัวอย่างเช่น dilauryl thiopropionate และ thiopropionic acid
4. Enzymatic antioxidant เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่กำจัดออกซิเจน หรืออนุพันธ์ของออกซิเจน เช่น ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) แบ่งออกเป็น primary enzyme และ ancillary antioxidant enzyme
5. Chelating agent หรือ sequestrant สารในกลุ่มนี้จะจับกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก และทองแดง ซึ่งเป็นไอออนที่ส่งเสริมและเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด และได้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีความเสถียร ตัวอย่างของสารประกอบในกลุ่มนี้ ได้แก่ กรดซิตริก กรดแอมิโนบางชนิด และ ethylenediaminetetra-acetic acid (EDTA)

คุณสมบัติในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เป็นที่สนใจของนักวิจัยในแวดวงอุตสาหกรรมอาหารในแง่ของคุณค่าทางโภชนาการต่อร่างกายและเป็นอาหารเสริมสุขภาพ เนื่องจากช่วยลดปริมาณอนุมูลอิสระในร่างกาย จัดเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ช่วยป้องกันโรคหัวใจและมะเร็งได้ (Velioğlu *et al.*, 1998) และคุณสมบัติดังกล่าวยังถูกนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิดหรือการเสื่อมสภาพของสารอื่นจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Velioğlu *et al.*, 1998) มีการศึกษาคุณสมบัติในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในพืชหลายชนิด เช่น ในผักต่างๆ ของประเทศไทย (Chanwitheesuk *et al.*, 2005) เพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบในการเตรียมสารจากธรรมชาติเพื่อทดแทนสารต้านออกซิเดชันที่ได้จากการสังเคราะห์ เช่น BHA (Camire and Dougherty, 1998) สารที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันในพืชส่วนมากจะเป็นสารประกอบฟีนอล ซึ่งเป็นสารประกอบที่พบมากที่สุดในพืช และผลการศึกษาพบว่าพืชชั้นสูงเป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันและพบได้ในทุกส่วนของพืช (Larson, 1988) ดังนั้นจึงมีการส่งเสริมให้บริโภคผักและผลไม้ เพื่อให้ร่างกายได้รับสารต้านออกซิเดชันอย่างพอเพียง ซึ่งจะช่วยป้องกันโรคและส่งเสริมสุขภาพให้ปลอดภัยจากโรคต่างๆ

สารประกอบฟีนอลและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

สารประกอบฟีนอลเป็นสารกลุ่มใหญ่ที่พบได้ทั่วไปในพืช แบ่งย่อยออกเป็นหลายชนิดและมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีแตกต่างกันไป กลุ่มใหญ่ที่สุดคือสารประกอบฟลาโวนอยด์ และสารอื่นๆ เช่น monophenol, polyphenol และกรดฟีนอล หน้าที่ของสารประกอบฟีนอลเหล่านี้บางชนิดทราบแน่ชัดว่ามีความสำคัญอย่างไรกับพืช เช่น ลิกนิน ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างและให้ความแข็งแรงแก่ผนังเซลล์ของพืช สารแอนโทไซยานิน เป็นสารให้สีในดอกไม้และผลไม้ ส่วนสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์มีความสำคัญในการควบคุมการเจริญ ซึ่งมีรายงานว่า สารประกอบฟีนอล เช่น

สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอล มีสมบัติด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยทำหน้าที่เป็นตัวจับไล่ peroxyl ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระ โดยมีกลไกในการจับไล่ 2 แบบ คือ เมื่ออยู่ในสถานะที่มีความเข้มข้นต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับสารออกซิไดส์ สารประกอบฟีนอลจะชะลอหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน อนุมูลอิสระจะถูกทำให้เสถียร ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นต่อไปได้ หรือทำหน้าที่เป็นตัวจับไอออนของโลหะที่เป็นสารเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น quercetin ในโครงสร้างของสาร quercetin จะมี binding site ที่สามารถจับกับไอออนของโลหะ เช่น ทองแดง (Packer and Fuchs., 1996) และยังมีกลไกอื่นๆ ที่ทำให้สารประกอบฟีนอลมีประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าสารกลุ่มอื่น เช่น ทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ และกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟ (Rice-Evans *et al.*, 1997)

ศักยภาพของสารประกอบฟีนอลในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นอยู่กับค่า redox potential ของ hydroxyl group ในโมเลกุลและโครงสร้างทางเคมีซึ่งแตกต่างกันไป เช่น quercetin จะมีหมู่ hydroxyl ทั้งในวงแหวน B และ C ทำให้มีความสามารถในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่า luteolin, taxiflin และ kaempferol ซึ่งต่างไม่มีหมู่ hydroxyl ที่ตำแหน่งเดียวกับของ quercetin (Rice-Evans *et al.*, 1997) เนื่องจากสารประกอบฟีนอลที่พบในพืช มีความหลากหลายมากมาย และมีความสำคัญในแง่เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่พบในธรรมชาติ จึงได้มีผู้ศึกษาและวิจัยชนิดของสารประกอบฟีนอลและความสามารถในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในผักและผลไม้ต่างๆ มากมาย โดยใช้วิธีการศึกษาการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบเหล่านั้นแตกต่างกันออกไป

วิธีการทดสอบกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระได้รับความสนใจจากนักวิจัยเป็นอย่างมากในช่วงสิบปีที่ผ่านมา โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารที่มีอยู่ในอาหารต่างๆ ที่เราบริโภคกัน ได้แก่ สารในกลุ่มของพอลิฟีนอล วิตามินอี วิตามินซี และแคโรทีนอยด์ ซึ่งสารเหล่านี้ได้มีผลงานวิจัยสนับสนุนว่ามีสมบัติในการป้องกันโรคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับ oxidative stress ได้ เช่น อาการอักเสบ โรคหลอดเลือดหัวใจ มะเร็ง และการเสื่อมสภาพของเซลล์ แต่เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ เป็นสารประกอบที่อยู่ในอาหารทั้งผักและผลไม้ ทำให้มีความยุ่งยากในการสกัดแยกให้เป็นสารประกอบบริสุทธิ์เพียงชนิดเดียว เพื่อศึกษาสมบัติของสารเหล่านั้น ซึ่งมีราคาสูงและมักไม่ค่อยมีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาวิธีการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระ ให้เป็นวิธีที่สะดวกขึ้น และสามารถตรวจวัดได้ในเชิงปริมาณ ซึ่งปัจจุบันวิธีการที่ใช้ส่วนมากจะเป็นการศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้หลักการให้สารต้านออกซิเดชันทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารประกอบเพียงชนิดเดียวภายในหลอดทดลอง ซึ่งวิธีการนี้ได้รับการพัฒนาขึ้นและตีพิมพ์มากมาย (รวมรวมโดย Huang *et al.*, 2005) แต่ปัญหาอย่างหนึ่งของการวัดความสามารถในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากอนุมูลอิสระของสารประกอบเหล่านี้คือ ยังไม่มีวิธีการใดที่ได้รับการยืนยันและตรวจสอบได้ว่านำไปใช้ตรวจสอบความสามารถในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างจากสิ่งมีชีวิตหรืออาหารทุกชนิด และให้ผลที่แน่นอนตรวจสอบได้ (Aaby *et al.*, 2004; Huang *et al.*, 2005)

และยังคงมีข้อโต้แย้งมากมายเกี่ยวกับการนำวิธีการตรวจสอบทางเคมีกับสารชนิดเดียวมาตรวจวัดความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีสารประกอบหลายชนิดที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และสารแต่ละกลุ่มมีโครงสร้างทางเคมีแตกต่างกัน

Frankel and Mayer (2000) ได้เสนอแนะว่า ในการเลือกใช้วิธีการตรวจสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในการศึกษาตัวอย่างที่ได้จากอาหารหรือจากตัวอย่างทางชีวภาพ ควรจะคำนึงถึงชนิดของสับสเตรตที่สารดังกล่าวจะเข้าทำปฏิกิริยา ควรทดสอบสภาพแวดล้อมในการทำปฏิกิริยาหลายๆ แบบ วัดสารที่ถูกออกซิไดส์ทั้งเมื่อเริ่มต้นและเมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา นำผลที่วัดได้มาเปรียบเทียบกับการใช้สารออกฤทธิ์ในปริมาณที่เท่ากัน และหาอัตราการยับยั้ง สลาย การเกิด hydroperoxide หรือ IC_{50} (ความเข้มข้นของสารที่ใช้อย่างการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ 50%)

นอกจากนี้ยังได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจสอบกิจกรรมต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นมามากมายเพื่อใช้ตรวจสอบสารสกัดหยาบ หรือสารสกัดและทำให้บริสุทธิ์ ที่ได้จากอาหาร ผัก ผลไม้ หลักการเบื้องต้นของวิธีการเหล่านี้แตกต่างกันไป แต่สามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มวิธีที่วัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากการเคลื่อนย้ายอะตอมของไฮโดรเจน (hydrogen atom transfer assay) และวัดการเปลี่ยนแปลงจากการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (electron-transfer assay) หลักการทำงานของวิธีการวัดแบบแรก ได้จากการแข่งขันกันสร้าง peroxy radical จากปฏิกิริยาการสลายสารประกอบ azo (สารประกอบที่ได้จาก สารต้านอนุมูลอิสระหนึ่งโมเลกุลสามารถจับกับอนุมูลอิสระและออกซิเจนได้สองโมเลกุล R_2N_2) ของสารที่ต้องการตรวจสอบกับสับสเตรต ตัวอย่างเช่น วิธีการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของ low-density lipoprotein วิธี oxygen radical absorbance capacity (ORAC) วิธี total radical trapping antioxidant parameter (TRAP) และการฟอกจางสาร crocin

วิธีการในกลุ่มที่สองวัดจากปริมาณสารออกซิแดนซ์ที่ลดลง เนื่องจากกิจกรรมของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเมื่อปริมาณสารออกซิแดนซ์ลดลง สีของสารละลายที่ใช้วัดจะเปลี่ยนไป ตัวอย่างเช่น วิธี Folin-Ciocalteu reagent (FCR) วิธี Trolox equivalence antioxidant capacity (TEAC) วิธีการวัด ferric ion reducing antioxidant power (FRAP), วิธีการวัดการฟอกจางสีของ diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) เป็นต้น (ตารางที่ 2)

Rice-Evans *et al.* (1999) ได้พัฒนาวิธีตรวจสอบโดยใช้สารที่มีโครงสร้างเหมือนวิตามินอี คือ Trolox เรียกว่า TEAC assay สามารถนำมาใช้ตรวจสอบกับตัวอย่างอาหารได้หลายชนิด Sanchez-Moreno (2002) ได้ใช้สารอนุมูลอิสระชนิดหนึ่งคือ 2,2-di (4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl (DPPH) มาเป็นสารตั้งต้นในการวัดความสามารถในการฟอกจางสีของสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากน้ำผักและผลไม้ หรือสารสกัดจากผักและผลไม้ ส่วนวิธีการวัดความสามารถในการรับ oxygen radical หรือที่เรียกว่า ORAC assay เป็นอีกวิธีที่ใช้วัดความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารที่สกัดได้จากทั้งพืชตัวอย่างทางชีวภาพอื่นๆ (Coa, and Prior, 1998; Prior and Coa, 1999)

สำหรับวิธี FRAP assay เป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการต้านการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบ ferric ไปเป็น ferrous ซึ่งเดิมเป็นวิธีที่นำมาใช้วัดตัวอย่างที่ได้จากพลาสมา (Benzie and Strain, 1996) แต่ต่อมาได้นำมาใช้ศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของใบชา (Benzie and Szeto, 1999) พืชในตระกูล *Rubus* (Deighton *et al.*, 2000) พืชอาหาร และผลไม้ขนาดเล็กอื่นๆ (Moyer *et al.*, 2002)

ตารางที่ 2 Antioxidant capacity assay แบบ *in vitro*

ประเภท	วิธีการตรวจสอบ
วัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากการย้ายอะตอม ของไฮโดรเจน (hydrogen atom transfer reaction) $ROO^\bullet + AH \rightarrow ROOH + A^\bullet$ $ROO^\bullet + LH \rightarrow ROOH + L^\bullet$	- Oxygen radical absorbance capacity - ORAC - Total radical trapping antioxidant parameter - TRAP - Crocin bleaching assay - Inhibited oxygen uptake - IOU - Inhibition of linoleic acid oxidation - Inhibition of LDL oxidation
วัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากการเคลื่อนที่ของ อิเล็กตรอน (electron-transfer reaction) $M(n) + e \text{ (from AH)} \rightarrow AH^{\bullet+} + M(n-1)$	- Trolox equivalent antioxidant capacity - TEAC - Ferric ion reducing antioxidant parameter - FRAP - Diphenyl-1-picrylhydrazyl - DPPH - Copper(II) reduction capacity - Total phenols assay by Folin-Ciocalteu reagent
วิธีอื่นๆ	- Total oxidant scavenging capacity - TOSC - Inhibition of Briggs-Rauscher Oscillation reaction - Chemiluminescence - Electrochemiluminescence

- ดัดแปลงจาก Huang *et al.*, 2005

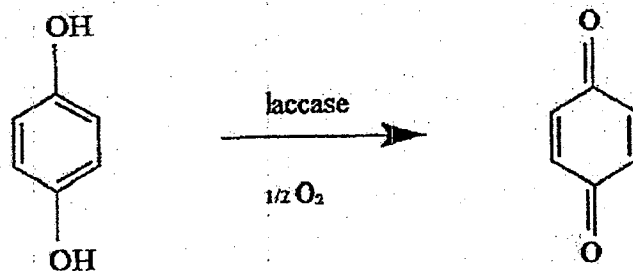
เอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส – Polyphenol oxidase (PPO)

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลแล้วได้สารสีน้ำตาล ได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางโดยศึกษาจากกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และหาวิธีการควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์เนื่องจากเกี่ยวข้องกับการเกิดสีคล้ำลงของผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรภายหลังการเก็บเกี่ยวและระหว่างการเก็บรักษา ทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เช่น มันฝรั่ง แตงกวา สาเล่ แอปเปิล มะม่วง องุ่น (review โดย Martinez and Whitaker, 1995) ลิ้นจี่ (Jiang *et al.*, 2004) ลำไย (Jiang, 1999) และมะเขือ (Concellon *et al.*, 2004) รวมถึงการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในวัตถุดิบที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร แต่สมบัติการเกิดสีน้ำตาลของสารประกอบฟีนอลสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น เร่งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีสีตามที่ต้องการ เช่น ลูกเกด อินทผาลัม หรือใบชา (Robards *et al.*, 1999) หรือนำมาใช้เติมลงในผลิตภัณฑ์อาหารเป็นสีอาหารที่ได้จากธรรมชาติ สมบัติทั่วไปของ PPO

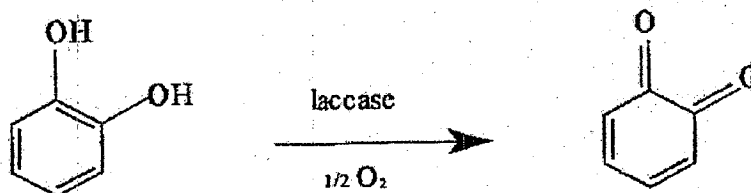
PPO เป็นเอนไซม์ที่จัดอยู่ในกลุ่ม oxidoreductase มีความจำเพาะในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลกับออกซิเจนร่วมกัน และมีทองแดง (Cu) เป็นองค์ประกอบอยู่ใน active site ของเอนไซม์ (Mayer and Harel, 1979, Zawistowski *et al.*, 1991) PPO เป็นเอนไซม์ที่พบได้ทั้งในสัตว์ พืช และจุลินทรีย์ โดยในพืชจะพบได้อยู่ทั่วไปในส่วนต่างๆ ของลำต้น ใบ ดอก และผล ในสัตว์จะพบเฉพาะบริเวณผิวหนัง ผมห และตา เอนไซม์ชนิดนี้จึงถูกจัดอยู่ในกลุ่มของเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์ (intercellular enzyme) พบได้ในคลอโรพลาสต์ ไมโทคอนเดรีย เพอรอกซิโซม และของเหลวภายในเซลล์ โดยอยู่ในรูปของโปรตีนที่จับกับเยื่อหุ้มเซลล์ (insoluble form) หรืออยู่ในรูปที่ละลายได้ (soluble form) ในพืชที่มีอายุน้อย จะมีปริมาณ PPO ต่ำ เนื่องจากเอนไซม์จะเกาะอยู่กับเยื่อหุ้มเซลล์ ระหว่างที่พืชเจริญเติบโต ปริมาณเอนไซม์จะเพิ่มสูงขึ้น และมีปริมาณมากที่สุดในช่วงก่อนที่พืชจะโตเต็มที่ จากนั้นจะค่อยๆ ลดลงเมื่อเข้าสู่ระยะการเสื่อมสภาพหรือเมื่อผลไม่สุก (Yoruk and Marshall, 2003; Zawitowski *et al.*, 1991)

PPO สามารถจำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม คือ laccase หรือ *p*-diphenol: oxygen oxidoreductase (E.C. 1.10.3.2) และ catechol oxidase หรือ *o*-diphenol:oxygen oxidoreductase (E.C. 1.10.3.1) (Mayer and Harel, 1979, Zawistowski *et al.*, 1991) ซึ่งแต่ละกลุ่มมีรายละเอียดดังนี้

1. Laccase เป็นเอนไซม์ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ monophenol, *o*-diphenol, *p*-diphenol และ triphenols รวมทั้ง ascorbic acid แล้วได้สารประกอบ ควิโนน ดังภาพที่ 2 - 3 และภาพที่ 2 - 4 เอนไซม์ laccase พบมากในเชื้อรา และพบบ้างในพืชกลุ่มสน (Gymnospermae) และพืชดอก (Angiospermae) เอนไซม์ที่พบในพืชชั้นสูงจะอยู่ในส่วน secretory tissue และอยู่ในรูปที่ละลายได้



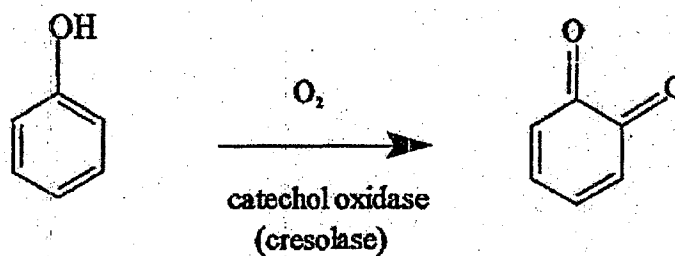
ภาพที่ 2 - 3 การทำงานของเอนไซม์ laccase แบบที่ 1



ภาพที่ 2 - 4 การทำงานของเอนไซม์ laccase แบบที่ 2

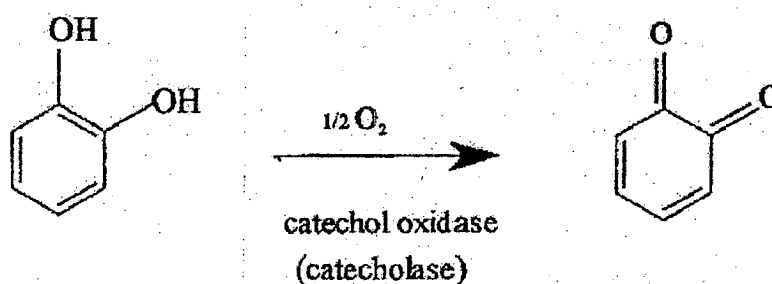
2. Catecholase เป็นเอนไซม์ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ 2 แบบ ตามชนิดของสารตั้งต้น คือ

2.1 Cresolase activity ช่วยเร่งการเติมออกซิเจนในตำแหน่ง *ortho* ของหมู่ไฮดรอกซิลเดิมของ monophenol ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ diphenol ต่อเนื่องตามมา ทำให้ได้สารประกอบควิโนนในที่สุด



ภาพที่ 2 - 5 การทำงานของเอนไซม์ cresolase

2.2 Catecholase activity ช่วยเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ *O*-diphenol แล้วได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบควิโนนในที่สุด



ภาพที่ 2 - 6 การทำงานของเอนไซม์ catecholase

Catechol oxidase เป็นเอนไซม์ที่พบได้ทั้งในแบคทีเรีย สาหร่าย เชื้อรา พืชไม่มีท่อลำเลียง พืชในกลุ่มสนและพืชดอก ในพืชชั้นสูงจะพบเอนไซม์นี้ในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ราก ลำต้น ใบ และผล เอนไซม์ที่พบจะมีทั้งแบบที่จับอยู่กับเยื่อหุ้มเซลล์ของคลอโรพลาสต์ ไมโทคอนเดรีย และอยู่ในรูปที่ละลายได้

หน้าที่ของเอนไซม์ PPO ในพืชมีหลายประการ เช่น มีส่วนในการสร้างสาร *di*-phenol และสารเมแทบอลิต์บางชนิด (Mayer and Harel, 1979; Ridgway and Tucker, 1999) ทำหน้าที่ในการถ่ายทอดอิเล็กตรอน ช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Mayer and Harel, 1979) เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช (Mayer and Harel, 1979; Ridgway and Tucker, 1999) การสร้างลิกนิน (Richardson and McDougall, 1997) และทำหน้าที่สร้างเมลานิน ซึ่งช่วยเพิ่มความต้านทานให้แก่พืชต่อผู้บุกรุก โดยเมื่อเกิดบาดแผลขึ้นบนต้นพืชจากการถูกบุกรุก เช่น จากจุลินทรีย์หรือแมลงต่างๆ เอนไซม์ PPO ในคลอโรพลาสต์จะออกซิไดส์สารประกอบฟีนอลที่อยู่ในภายในแวคิวโอลของเซลล์ ได้สารประกอบควิโนน ซึ่งสามารถจับกับโปรตีน และทำให้โปรตีนที่อยู่ในเซลล์เสียสภาพไปจนไม่สามารถนำไปใช้โดยผู้บุกรุก และมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของผู้บุกรุกได้ (Busch, 1999; Zawistowski *et al.*, 1991)

เอนไซม์ PPO มีความสำคัญต่อผลผลิตทางการเกษตร และอุตสาหกรรมอาหารอย่างมาก เนื่องจาก เอนไซม์ PPO จะทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลและให้ควิโนนเป็นผลิตภัณฑ์ ซึ่งควิโนนเป็นสารที่สามารถเกิดปฏิกิริยาพอลิเมไรเซชันได้สารประกอบสีน้ำตาลแดง หรือดำ ทำให้สีของเนื้อผลไม้หรือวัตถุดิบเปลี่ยนไป และไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค (Espin *et al.*, 1997; Jiang, 1999) สารควิโนนยังสามารถจับกับกรดแอมิโนของโปรตีนได้ ทำให้โปรตีนดังกล่าวไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ เนื่องจากจะไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของระบบย่อยอาหาร (Partington and Bolwell, 1996; Singh *et al.*, 1999) ถึงแม้ว่าเอนไซม์ PPO จะเร่งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล แต่มีการนำมาใช้ประโยชน์ในหลายด้านเช่นกัน เช่น นำไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิต

ไวน์ ชา กาแฟ และโกโก้ เพื่อให้ได้สีและกลิ่นของผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการ (Ridgway and Tucker, 1999; Busch, 1999) หรือการนำเอนไซม์ PPO ไปใช้ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียที่มีสารประกอบฟีนอลปนเปื้อน (Russell and Burton, 1999)

เอนไซม์ PPO มีบทบาทอย่างมากในการทำให้เกิดสีน้ำตาลในผักและผลไม้ ส่งผลให้ผลิตผลเหล่านั้นไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นจึงมีผู้พยายามศึกษาหาสารประกอบที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO ซึ่งจากผลงานวิจัยต่างๆ พบว่า มีสารหลายชนิดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO ได้ เช่น วิตามินซี (ascorbic acid) โดยทำหน้าที่เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และทำให้สารประกอบควิโนนเปลี่ยนกลับไปเป็นสารประกอบฟีนอล การปรับสภาพแวดล้อมให้เป็นกรด โดยการปรับค่าพีเอชของสารละลายให้ต่ำลง จะรบกวนการทำงานของเอนไซม์ได้ เช่น การใช้กรดซิตริก ซึ่งจะทำให้ค่าพีเอชต่ำลงจนไม่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ แต่การใช้กรดซิตริกจะส่งผลต่อกลิ่นและรสของผักและผลไม้ สารอื่นๆ ที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO ได้แก่ สารในกลุ่มของ aromatic carboxylic acid เช่น กรดเบนโซอิก และอนุพันธ์ของ cinnamic acid จะจับกับเอนไซม์ และขัดขวางการจับกันระหว่างเอนไซม์กับสารตั้งต้น (Kermasha et al., 1993; Robert et al., 1997; Zawistowski et al., 1991) โซเดียมไบซัลไฟต์ หรือสารประกอบซัลไฟต์ชนิดอื่นๆ จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้โดยไปจับกับสารประกอบควิโนน ทำให้มีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาลดลง และยังทำหน้าที่เป็น chelating agent ได้เช่นกัน โดยจะจับกับทองแดงไอออนที่ active site ในโมเลกุลของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ (Zawistowski et al., 1991) กรดแอมิโนซิสเตอีน (cysteine) เป็นสารอีกชนิดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO ได้ โดยการจับกับสารประกอบควิโนนได้เป็นสารประกอบที่ไม่มีสี (Espin et al., 1997; Zawistowski et al., 1991) เกลือแกง (sodium chloride – NaCl) สามารถรบกวนการทำงานของเอนไซม์ PPO ได้และทำให้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นลดน้อยลง แต่การใช้เกลือจะไม่เสถียรและมีผลต่อรสชาติ หากต้องใช้ที่ความเข้มข้นสูงและอาจไม่เหมาะสมกับการบริโภค

กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ในมะเขือ

มะเขือจัดเป็นผลไม้ชนิดหนึ่งที่มีสารประกอบฟีนอลสูง และเนื้อของมะเขือเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลได้ไวเมื่อสัมผัสกับอากาศ มีรายงานการศึกษาเอนไซม์ PPO และกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่สกัดได้จากมะเขือ ในกลุ่ม *S. melongena* (Fujita and Tono, 1988; Perez-Gilabert and Garcia-Carmona, 2000) กิจกรรมของเอนไซม์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (Concellon et al., 2004) และระหว่างการทำแห้ง (Dogan et al., 2002) พบว่าเอนไซม์ PPO ของมะเขืออยู่ในรูปของ soluble form มากกว่าที่จะเป็นโปรตีนที่เกาะอยู่กับเยื่อหุ้มเซลล์ (membraned bound protein) แสดงกิจกรรมของ catecholase และใช้ catechol เป็นสับสเตรต ช่วง pH ที่เหมาะสมสำหรับการทำงานคือ pH 6.3-7.0 และเป็นเอนไซม์ที่ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ โดยการแช่มะเขือที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส กิจกรรมของเอนไซม์ PPO เพิ่มขึ้น แต่กิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงเมื่อลดอุณหภูมิที่เก็บรักษาเหลือ 0 องศาเซลเซียส (Concellon et al., 2004) และ tropolone เป็นสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO ได้ดีที่สุด (Dogan et al., 2002)

มะเขือเป็นพืชที่คนไทยนำผลมาบริโภคเป็นผัก ใช้เป็นเครื่องปรุงอาหารอื่นๆ และเป็นสมุนไพรที่สำคัญในชีวิตประจำวัน มะเขือในกลุ่มของ *S. melongena* มีปริมาณสารประกอบฟีนอล และกิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสสูง จะเห็นได้จากสีของเนื้อและเมล็ดมะเขือจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอย่างรวดเร็วระหว่างการเตรียมหรือหั่นชิ้น ดังนั้นมะเขือชนิดต่างๆ ในประเทศไทยน่าจะเป็นแหล่งวัตถุดิบที่ดีในการสกัดสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากธรรมชาติที่ได้ เนื่องจากมะเขือที่คนไทยบริโภคมีหลายชนิด ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาถึงปริมาณสารประกอบฟีนอล กิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส และสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของผลมะเขือแต่ละชนิด ความรู้ที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้จะทำให้ทราบถึงปริมาณ และชนิดของสารประกอบฟีนอล ที่มีสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารเหล่านั้น เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปเป็นแหล่งวัตถุดิบสำหรับการผลิตสารสกัดจากธรรมชาติทดแทนสารสังเคราะห์ และเป็นความรู้เพื่อส่งเสริมการบริโภคมะเขือชนิดต่างๆ ของคนไทยในฐานะที่เป็นทางเลือกสำหรับอาหารเสริมสุขภาพราคาถูก และมีประโยชน์ สามารถทดแทนสารต้านออกซิเดชันที่ได้มาจากแหล่งอื่นๆ ได้