บทที่ 4
ผลการวิจัย

1. ลักษณะทั่วไปของมะเขือที่ใช้ในการทดลอง

มะเขือที่รวบรวมตัวอย่างได้จากตลาดสดในอำเภอเมืองเชียงใหม่ เช่น ตลาดต้นพะยอม ตลาดขายสินค้าเกษตรปลอดสารพิษศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร และตลาดสินค้าเกษตรปลอดสารพิษ ตลาดคำเที่ยง อำเภอเมือง จ.เชียงใหม่ พบมะเขือชนิดต่างๆ จำนวน 21 สายพันธุ์ แต่นำมาศึกษาครั้งนี้นำมาใช้ในการวิจัยเพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด กิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น และกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จำนวน 16 สายพันธุ์ โดยแบ่งมะเขือสายพันธุ์ต่างๆ ออกเป็น 3 กลุ่มตามสีของผิวมะเขือ คือ มะเขือที่มีสีเขียว (Green –G) สีขาว (White – W) และสีม่วง (Purple –P) รูปร่างมะเขือที่พบมีหลายแบบ เช่น ผลกลม กลมแบน รูปไข่ ยาวรี ขนาดของผลมีตั้งแต่ขนาดเล็กกว่า 1 เซนติเมตรจนถึงยาว 30 เซนติเมตร ลักษณะของผลสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ผลกลมแป้นหรือกลมรี เนื้อบาง เมล็ดมาก (กลุ่ม A) และผลยาว เนื้อคล้ายฟองน้ำ เมล็ดน้อย (กลุ่ม B) รายละเอียดของมะเขือแต่ละชนิดที่นำมาศึกษามีลักษณะดังต่อไปนี้

1.1 กลุ่มมะเขือผลสีเขียว

มะเขือเปราะพันธุ์แจ้ (AG1) – *S. melongena* Linn.

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปร่างกลมแป้น ก้านผลสีเขียวมีขนสีเหลืองอ่อน ผิวสีเขียวอ่อน มีลายตาข่ายสีขาว ผิวเรียบ ไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 2.0-2.5 เซนติเมตรน้ำหนักผลเฉลี่ย 10.2 กรัม เนื้อสีขาวนวล เมล็ดสีเหลืองอ่อน

มะเขือเปราะ (AG2) - *S. melongena* Linn.

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปร่างกลมแป้น ก้านผลสีเขียว มีขนสีน้ำตาลอ่อน ผิวสีเขียวเข้ม มีลายตาข่ายสีเหลืองอ่อน ผิวเรียบไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 4.5-5.0 เซนติเมตรน้ำหนักผลเฉลี่ย 30.0 – 35.0 กรัม เนื้อสีขาวนวล เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

มะเขือเสวย (AG3) - *S. melongena* Linn.

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปไข่ ผิวสีเขียวอ่อน ก้านผลสีเขียว มีขนสีเหลืองอ่อน ผิวสีเขียวอ่อน มีลายตาข่ายสีขาว ผิวเรียบไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 2.0-2.5 เซนติเมตรน้ำหนักผลเฉลี่ย 10.5 กรัม เนื้อสีขาวนวล เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

มะเขือพวง (AG4) - *S. torvum* Linn.

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปร่างกลม ก้านผลสีเขียวเข้มปนน้ำตาล ผิวสีเขียวอ่อน ผลแก่มีสีเขียวเข้ม ผิวเรียบไม่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 1.0 – 1.5 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 1.1 กรัม เนื้อผลบางสีเขียวอ่อน เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

มะแว้ง (AG5) - *S. nigrum* Linn.

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปร่างกลม ก้านสีเขียว ไม่มีขน ผิวผลมีสีเขียวเมื่ออ่อน เมื่อสุกผลมีสีส้มถึงส้มแดง ผิวเรียบไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 0.8-1.2 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 1.4 กรัม เนื้อผลบางสีเขียวอ่อน เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

มะเขือเปราะเจ้าพระยา (AG6) - *S. melongena*Linn

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปร่างกลมแป้น ก้านสีเขียว มีขนสีเหลืองอ่อน ผิวผลมีสีเขียวอ่อนถึงเขียวปนเหลือง มีลายตาข่ายสีขาว ผิวเรียบ ไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 3.0 - 4.0 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 23.5 – 25.0 กรัม เนื้อผลสีเหลืองอ่อน เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

มะเขือตอแหล (AG7) - *S. melongena*Linn

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปไข่ ก้านผลสีเขียว มีขนสีน้ำตาลอ่อน ผิวผลมีสีเขียวถึงเขียวปนเหลือง ไม่มีลวดลาย ผิวเรียบไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 2.0 – 2.5 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 12.0 – 15.5 กรัม เนื้อผลสีเหลืองอ่อนปนเขียว เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

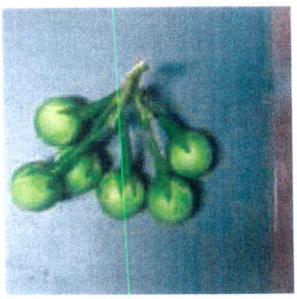
มะเขือยาว (BG) - *S. melongena*Linn

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปทรงกระบอกยาว ปลายผลโค้งมน ก้านผลมีสีเขียว มีขนสีน้ำตาล ผิวผลมีสีเขียว ไม่มีลวดลาย ผิวเรียบ ไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 3.0 – 4.5 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 80.0 – 100.0 กรัม เนื้อผลขาวจนถึงเหลืองอ่อนลักษณะคล้ายฟองน้ำ เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

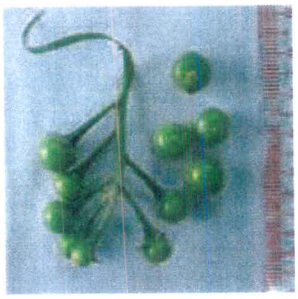
AG1

AG 2

AG 3

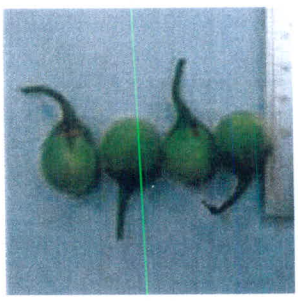


AG4



AG5

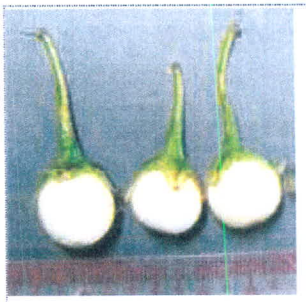
AG 6



AG7

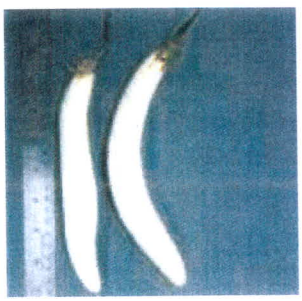
BG

ภาพที่ 4 - 1 มะเขือพันธุ์สีเขียว



AW 1

AW 2

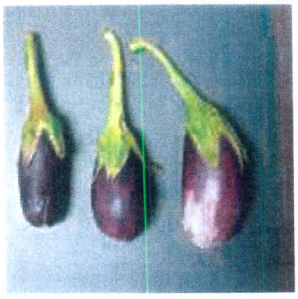


BW 1

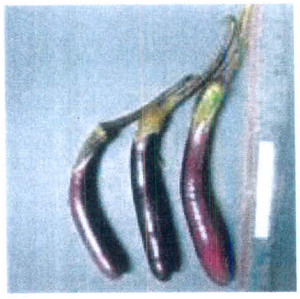
ภาพที่ 4 - 2มะเขือพันธุ์สีขาว

AP 1

AP 2



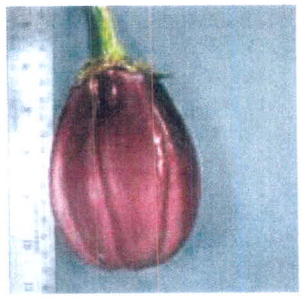
BP 1



BP 2

BP 3

BP 4



BP 5

BP6

BP7

BP8

ภาพที่ 4 - 3 มะเขือพันธุ์สีม่วง

1.2 กลุ่มมะเขือผลสีขาว

มะเขือเปราะขาว (AW1) - *S. melongena*Linn

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปร่างกลมแป้น ก้านผลมีสีเขียว ขนสีขาว ผิวผลมีสีขาว ไม่มีลวดลาย ผิวเรียบไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 2.0 – 3.0 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 2.0-2.5 กรัม เนื้อผลสีขาว เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

มะเขือไข่กา/ไข่เต่า (AW2) - *S. melongena*Linn

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปไข่ ก้านผลสีเขียว มีขนสีน้ำตาลเข้ม ผิวผลสีขาว ไม่มีลวดลาย ผิวเรียบ ไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 2.0 – 3.0 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 12.5 – 15.5 กรัม เนื้อผลสีขาว เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาลมะเขือยาวสีขาว (BW) - *S. melongena*Linn

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปทรงกระบอกยาว ปลายผลแหลม ก้านผลสีเขียว มีขนสีน้ำตาลเข้ม ผิวผลสีขาว ไม่มีลวดลาย ผิวเรียบ ไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 2.0 – 3.0 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 83.5 – 90.0 กรัม เนื้อผลสีขาวและมีลักษณะคล้ายฟองน้ำ เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

1.3 กลุ่มมะเขือผลสีม่วง

มะเขือพันธุ์แจ้ม่วง (AP1) - *S. melongena*Linn

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปร่างผลกลมแป้น ก้านผลสีเขียว ไม่มีขน ผิวผลมีสีม่วง และมีริ้วสีขาวรอบผล ผิวผลเรียบไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 2.0 – 3.0 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 22.5 – 25.5 กรัม เนื้อผลสีขาวนวล เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

มะเขือเปราะม่วง (AP2) - *S. melongena*Linn

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปร่างผลกลมแป้น ก้านผลสีเขียว มีขนสีน้ำตาลอ่อน ผลอ่อนมีผิวสีม่วงและสีม่วงเข้มขึ้นเมื่อผลแก่ ผิวเรียบไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 2 .0– 3.0 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 21.5 – 23.0 กรัม เนื้อผลสีขาวนวล เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

มะเขือทำม้า (BP1) - *S. melongena*Linn

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปทรงกระบอกสั้น ปลายผลโค้งมน ก้านผลสีเขียว มีขนสีน้ำตาลอ่อน ผิวผลสีม่วง มีริ้วสีขาวกระจายบริเวณปลายผล ผิวเรียบลักษณะด้านไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 2.5 – 3.0 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 20.5 – 26.5 กรัม เนื้อผลสีขาวลักษณะคล้ายฟองน้ำและมีความแข็ง เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

มะเขือยาวชินฮั้ว (BP2) - *S. melongena*Linn

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปทรงกระบอกยาวเรียว ปลายผลโค้งมน ก้านผลสีเขียว มีขนสีน้ำตาล ผิวผลสีม่วง สีเข้มบริเวณตอนปลายผลและจะจางลงบริเวณขั้วผล ผิวผลสีขาว ผิวเรียบเป็นมันไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 1.5 - 2.0 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 17.5 – 23.0 กรัม เนื้อผลสีขาวปนเหลืองอ่อน ลักษณะคล้ายฟองน้ำ เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

มะเขือม่วงก้านเขียว (BP3) - *S. melongena*Linn

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปทรงกระบอกยาว ปลายผลโค้ง ก้านผลสีเขียวมีขนสีน้ำตาล ผิวผลสีม่วงเข้มปนเขียว บริเวณขั้วผลมีสีเขียว ผิวเรียบมันไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 2.5 – 3.5 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 53.6 – 70.5 กรัม เนื้อผลสีขาวปนสีเหลืองอ่อน ลักษณะคล้ายฟองน้ำมีความหยุ่น เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

มะเขือม่วงญี่ปุ่นก้านม่วง (BP4) - *S. melongena*Linn

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปทรงยาวรี คล้ายหยดน้ำ ปลายผลตัดแหลม ก้านผลสีม่วงดำไม่มีขน ผิวผลสีม่วงเข้มเกือบดำ บริเวณขั้นผลมีสีม่วง ผิวเรียบด้านไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 2.0-3.0 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 79.5 – 90.0 กรัม เนื้อผลสีขาว ลักษณะคล้ายฟองน้ำมีความหยุ่น เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

มะเขือจานม่วง (BP5) - *S. melongena*Linn

ลักษณะผลสด – ผลเป็นแบบ berry รูปไข่ ปลายผลแบนออก มีร่องรอบผล ก้านผลสีเขียวอ่อน ไม่มีขน ผิวผลมีสีม่วงแดง ผิวเรียบเป็นมันไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 5.0-6.0 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 75.0 – 85.0 กรัม เนื้อผลสีขาวปนเหลืองอ่อน ลักษณะคล้ายฟองน้ำแต่มีความแข็ง เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

มะเขือยาวม่วงเล็ก (BP6) - *S. melongena*Linn

ลักษณะผล – ผลเป็นแบบ berry รูปไข่ ปลายผลตัดเฉียง ก้านผลสีเขียว มีขนสีขาวอ่อน ผิวผลมีสีม่วง บริเวณขั้วผลเป็นสีขาว ผิวเรียบเป็นมัน ไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 2.5 – 3.0 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 60.5 – 84.5 กรัม เนื้อผลสีขาว ลักษณะคล้ายฟองน้ำแต่มีความแข็ง เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

มะเขือม่วง (aubergine - BP7) - *S. melongena*Linn

ลักษณะผล – ผลเป็นแบบ berry รูปร่างกลมยาว ปลายผลโค้งมน ก้านผลสีเขียว มีขนสีน้ำตาลอ่อน ผิวผลมีสีม่วงเข้มจนเกือบดำ บริเวณขั้วผลผิวเป็นสีเขียว ผิวเรียบเป็นมัน ไม่มีขน ขนาด

เส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 9.0 – 12 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 144.5 – 190.0 กรัม เนื้อผลสีขาวปนเหลืองอ่อน ลักษณะคล้ายฟองน้ำมีความหยุ่น เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

มะเขือยาวม่วง (BP8) - *S. melongena*Linn

ลักษณะผล – ผลเป็นแบบ berry รูปร่างทรงกระบอกยาว ปลายผลโค้งมน ก้านผลสีเขียว มีขนสีน้ำตาลอ่อน ผิวผลสีม่วง บริเวณขั้วผลเป็นสีขาว ผิวเรียบไม่มัน ไม่มีขน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 2.5 – 3.0 เซนติเมตร น้ำหนักผลเฉลี่ย 75.5 – 90.0 กรัม เนื้อผลสีขาว ลักษณะคล้ายฟองน้ำมีความหยุ่น เมล็ดสีเหลืองปนน้ำตาล

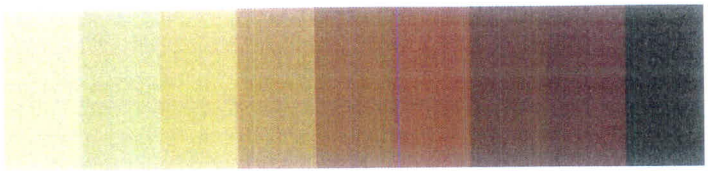
2. ดัชนีการเกิดสีน้ำตาลของมะเขือ

2.1 การเกิดสีน้ำตาลบริเวณรอยตัดของมะเขือชนิดต่างๆ

แถบสีที่ใช้เป็นดัชนีสำหรับกำหนดระดับการเกิดสีน้ำตาลบนผลมะเขือได้จากการนำค่าสี L* ค่า a* และค่า b* มาคำนวณหาค่า hue และ chroma เพื่อให้ได้ค่าสีที่แท้จริงก่อน นำค่าเฉลี่ยจากมะเขือหลายๆ สายพันธุ์ที่คำนวณได้มาทำเป็นแถบสีต่างๆ ด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS2 และนำแถบสีที่ได้ใช้เป็นดัชนีกำหนดระดับการเกิดสีน้ำตาลบนรอยตัดของผลมะเขือแต่ละชนิด

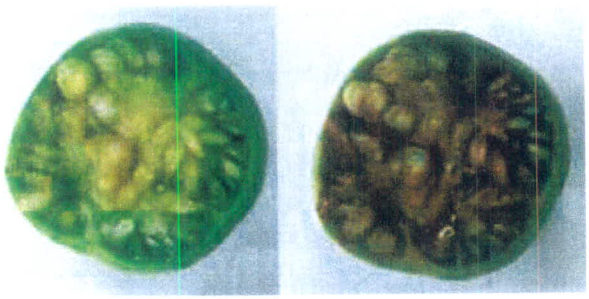
เมื่อนำแถบสีแสดงดัชนีสำหรับการเกิดสีน้ำตาลที่สร้างขึ้น (ภาพที่ 4 - 4) มาประเมินการเกิดสีน้ำตาลของผลมะเขือชนิดต่างๆ เมื่อเกิดรอยตัดพบว่า ระดับการเกิดสีน้ำตาลของมะเขือแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกัน โดยมะเขือพวงมีการเกิดสีน้ำตาลมากที่สุด (index = 10) มะเขือในกลุ่มที่มีผลลักษณะกลมแป้นและมีเนื้อผลน้อย เช่น มะเขือเปราะเจ้าพระยา มะเขือเปราะขาว มีดัชนีการเกิดสีน้ำตาลใกล้เคียงกัน (index = 8)

ส่วนมะเขือที่เกิดสีน้ำตาลบริเวณรอยตัดน้อยที่สุดคือ มะเขือที่มีเนื้อผลคล้ายฟองน้ำ เช่น มะเขือม่วงญี่ปุ่นก้านดำ มีดัชนีการเกิดสีน้ำตาลเท่ากับ 3 เนื่องจากบริเวณที่เกิดสีน้ำตาลตรงรอยตัดของผลมะเขือพบได้เฉพาะบริเวณ รก (placenta) ของผลและบริเวณที่มีเมล็ดเท่านั้น ส่วนของเนื้อผล (endocarp) เกิดสีน้ำตาลน้อยมาก ซึ่งผลมะเขือที่มีลักษณะกลมแป้นส่วนมากจะเป็นพันธุ์ที่มีเนื้อผลน้อยแต่มีเมล็ดมาก ทำให้เห็นการเกิดสีน้ำตาลบริเวณรอยตัดได้อย่างชัดเจน ส่วนมะเขือกลุ่มที่มีเนื้อผลมาก มีลักษณะเนื้อคล้ายฟองน้ำ และมีเมล็ดน้อย จะพบว่ามีสีน้ำตาลเกิดขึ้นเฉพาะบริเวณเมล็ดเท่านั้น (BP5 ภาพที่ 4 - 5) นอกจากนั้นระยะเวลาที่เกิดสีน้ำตาลของมะเขือแต่ละพันธุ์พบว่า ส่วนมากแล้วเกิดขึ้นในช่วง 20 นาทีหลังจากหั่น หลังจากนั้นความเข้มของสีน้ำตาลบริเวณรอยตัดไม่มีการเปลี่ยนแปลง



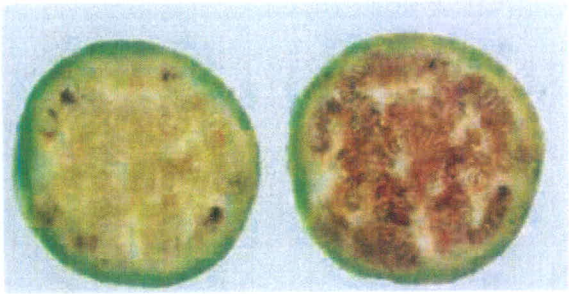
Scale 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

ภาพที่ 4 - 4 แถบสีแสดงดัชนีสำหรับการเกิดสีน้ำตาลของผลมะเขือ



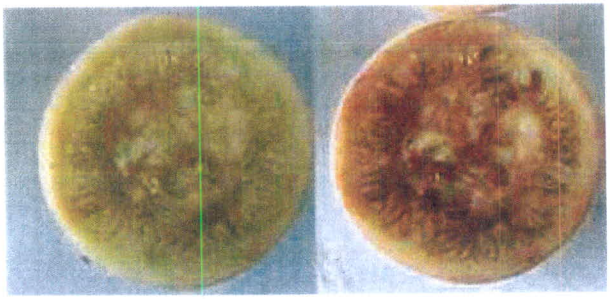
มะเขือพวง (AG4)

0 นาที – Index = 2 15 นาที – Index = 10



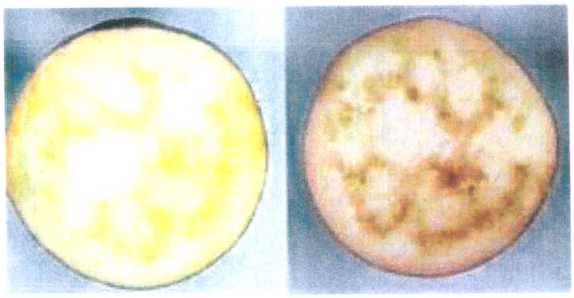
มะเขือเปราะเจ้าพระยา (AG6)

0 นาที – Index = 1 15 นาที – Index = 8



มะเขือเปราะขาว (AW 1)

0 นาที – Index = 2 15 นาที – Index = 8



มะเขือหำม้า (BP1)

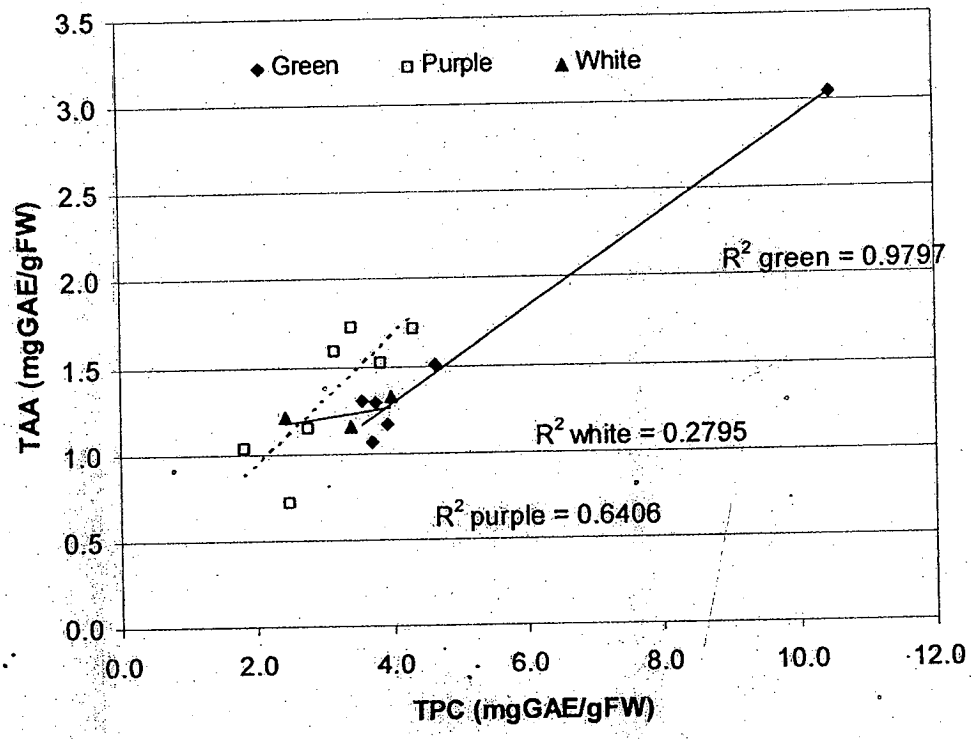
0 นาที – Index = 1 15 นาที – Index = 6

มะเขือยาวม่วงญี่ปุ่นก้านม่วง (BP 5)

0 นาที – Index = 1 15 นาที – Index = 3

ภาพที่ 4 - 5 การเกิดสีน้ำตาลบริเวณรอยตัดบนผลบนมะเขือพันธุ์ต่างๆ เมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที และการเปรียบเทียบสีน้ำตาลกับแถบสีน้ำตาลมาตรฐานที่สร้างขึ้น

เมื่อนำปริมาณสารประกอบฟีนอลและกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นไปหาความสัมพันธ์เชิงเส้น พบว่า กลุ่มมะเขือผลสีเขียว ปริมาณสารประกอบฟีนอลและความความสามารถต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นมีความสัมพันธ์กันมากที่สุด (ค่า r^2 = 0.9797:ภาพที่ 4 - 11) และมีความสัมพันธ์ในเชิงบวก ลำดับถัดมาคือกลุ่มะเขือผลสีม่วง มีความสัมพันธ์ในเชิงบวก (r^2 = 0.6406) ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลและกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของกลุ่มมะเขือผลสีขาวมีความสัมพันธ์กันน้อยที่สุด (r^2 = 0.2795)



ภาพที่ 4 - 11 ความสัมพันธ์ระหว่างสีผิวเปลือกของมะเขือและกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของมะเขือทั้ง 3 กลุ่ม

1.3 ชนิดของสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้จากมะเขือบางชนิดและกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น

เนื่องจากในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้วิธีแยกสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่สกัดได้จากมะเขือบางสายพันธุ์ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงด้วยวิธีโครมาโทกราฟฟีแบบกระดาษแล้วนำไปเปรียบเทียบกับสาร standard ที่เป็นสารประกอบฟีนอล แต่เนื่องจากเทคนิคดังกล่าวไม่สามารถแยกชนิดของสารประกอบฟีนอลได้ และเนื่องจากมีข้อจำกัดในการใช้วิธีอื่นเช่น HPLC หรือ TLC จึงไม่สามารถทำการแยกสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้และไม่สามารถทดสอบกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารฟีนอลแต่ละชนิด

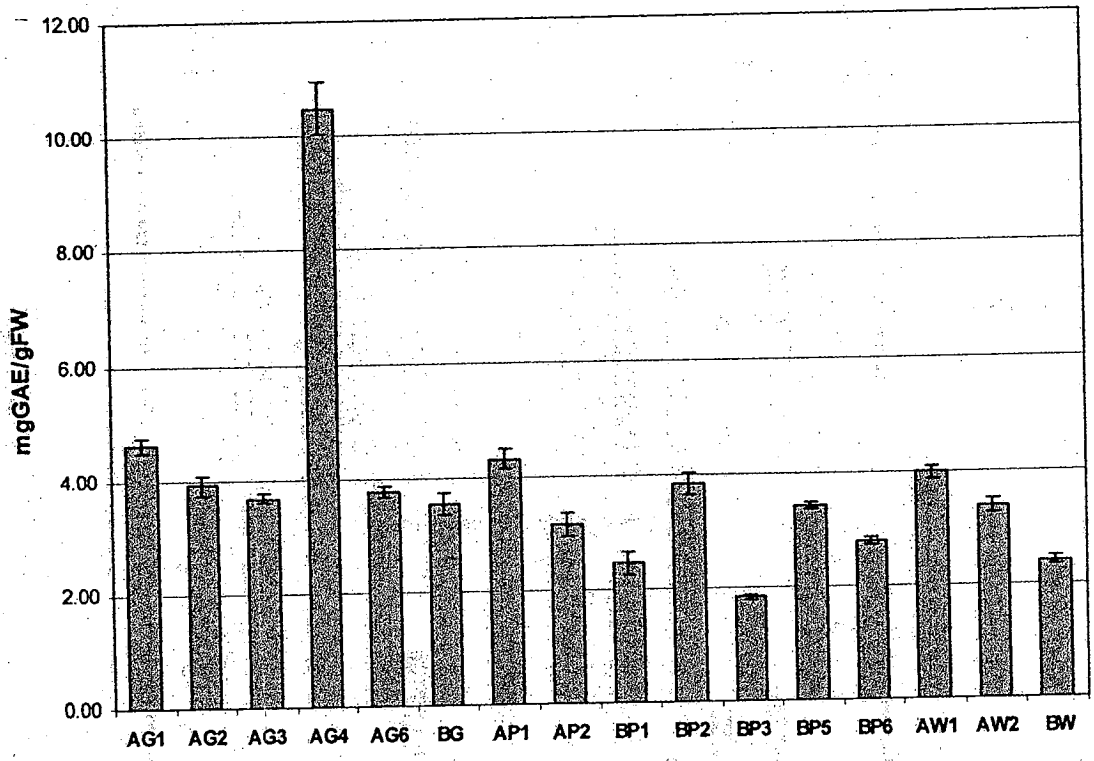
ตอนที่ 1 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลและกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของมะเขือ

1.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างมะเขือ

เมื่อนำตัวอย่างมะเขือจากตลาดสดในตัวอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 16 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในมะเขือพันธุ์ต่างๆ โดยแบ่งมะเขือออกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีผลสีเขียว (AG, BG) สีขาว (AW, BW) และสีม่วง (AP, BP) พบว่ามะเขือพวง (AG4) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดสูงสุด ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในกลุ่มมะเขือผลสีเขียวมีแนวโน้มสูงกว่ามะเขือกลุ่มสีม่วง และกลุ่มสีขาว ตามลำดับ (ภาพที่ 4 - 6)

มะเขือพวง (AG4) เป็นมะเขือที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงสุด คิดเป็น 10.49 มิลลิกรัมของกรดแกลิกต่อน้ำหนักสด 1 กรัม มะเขือเปราะพันธุ์แจ้ (AG1) และมะเขือเปราะพันธุ์แจ้ม่วง (AP1) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลเท่ากับ 4.93 และ 4.31 มิลลิกรัมกรดแกลิกต่อน้ำหนักสด 1 กรัม ตามลำดับส่วนมะเขือสายพันธุ์ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลน้อยที่สุดคือ มะเขือม่วงก้านเขียว เท่ากับ 1.83 มิลลิกรัมกรดแกลิกต่อน้ำหนักสด 1 กรัม

การที่มะเขือพวงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงกว่ามะเขือสายพันธุ์อื่นประมาณ 2 เท่า อาจเนื่องจาก มะเขือพวงเป็นมะเขือเพียงชนิดเดียวที่อยู่ในพันธุ์ *S. torvum* ส่วนมะเขือที่เหลืออีก 15 สายพันธุ์จัดอยู่ในกลุ่มของ *S. melogena* นอกจากนั้นมะเขือพวงยังมีขนาดผลเล็กมาก เมื่อเปรียบเทียบกับขนาดของมะเขือสายพันธุ์ที่เหลือ ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลต่อน้ำหนักสด ส่งผลให้มะเขือพวงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงกว่ามะเขือสายพันธุ์อื่น

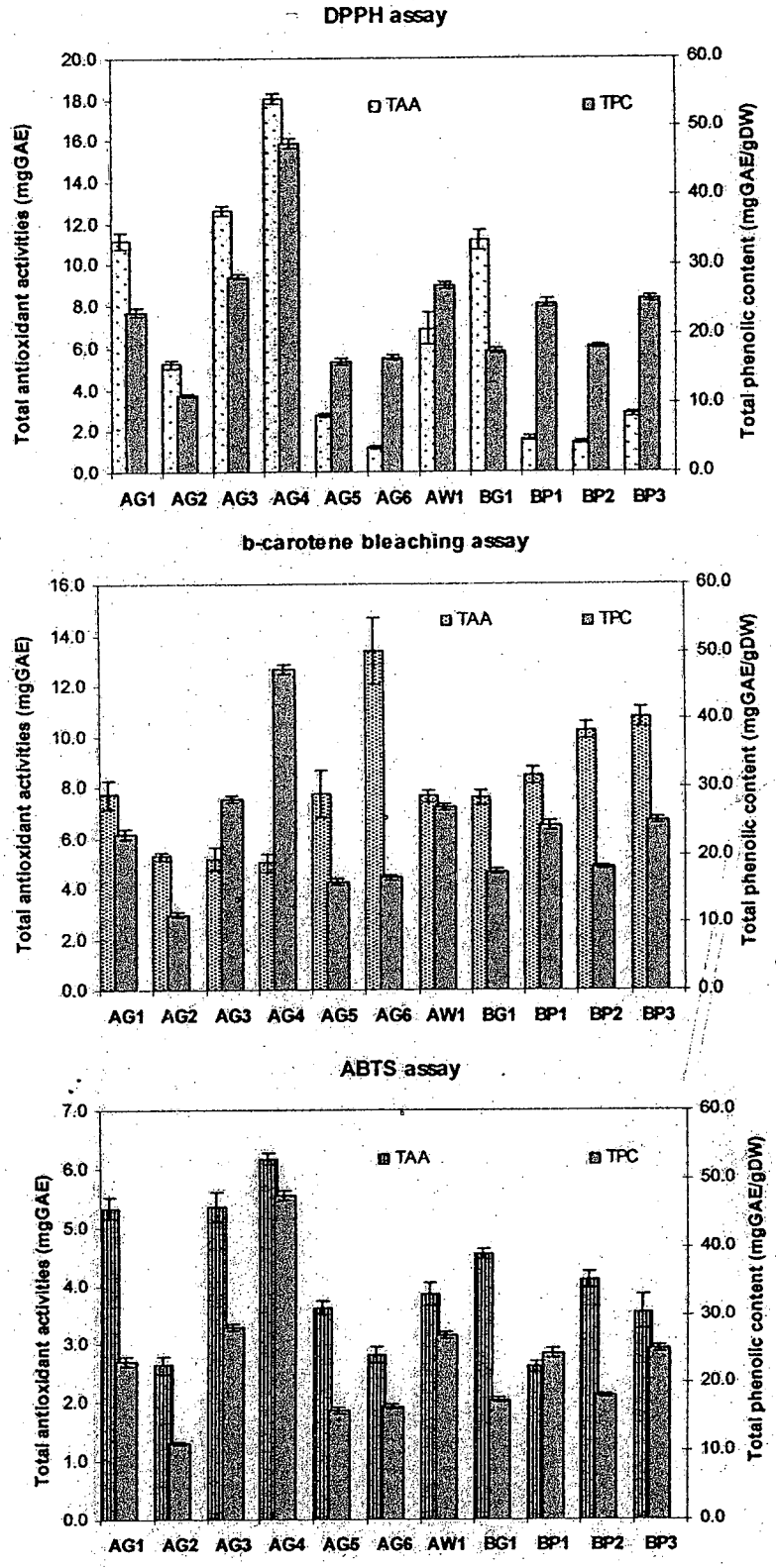


ภาพที่ 4 - 6 ปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้จากมะเขือจำนวน 16 สายพันธุ์

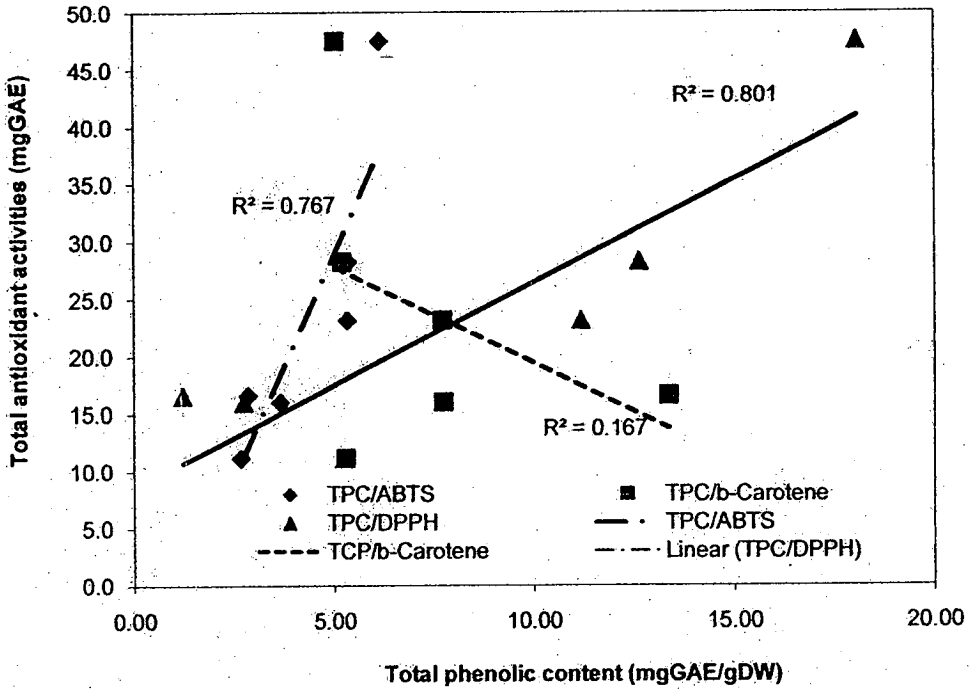
1.1 การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการวัดกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารประกอบฟีนอล

เพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการวัดกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้จากมะเขือ จึงได้เลือกใช้วิธีวิเคราะห์ 3 แบบคือ วิธียับยั้งการฟอกจางสารละลายเบต้า-แคโรทีนดัดแปลงจาก Dapkevicius *et al.* (1998) วิธียับยั้งการฟอกจางสีของสาร DDPH ตามวิธีของ Mahattanatawee *et al.*(2006) และ วิธีการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค $ABTS^{\cdot+}$ ดัดแปลงจากวิธีของ Nenadis *et al.* (2004) เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตรวจสอบกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ผลการศึกษาพบว่า DPPH assay มีแนวโน้มวัดกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารประกอบฟีนอลได้ดีที่สุด (ภาพที่ 4 - 7) และมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้ (ภาพที่ 4 - 8) สูงกว่าวิธีการอื่น ดังนั้นในการวิเคราะห์หากิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารประกอบฟีนอลจึงเลือกใช้ DPPH assay

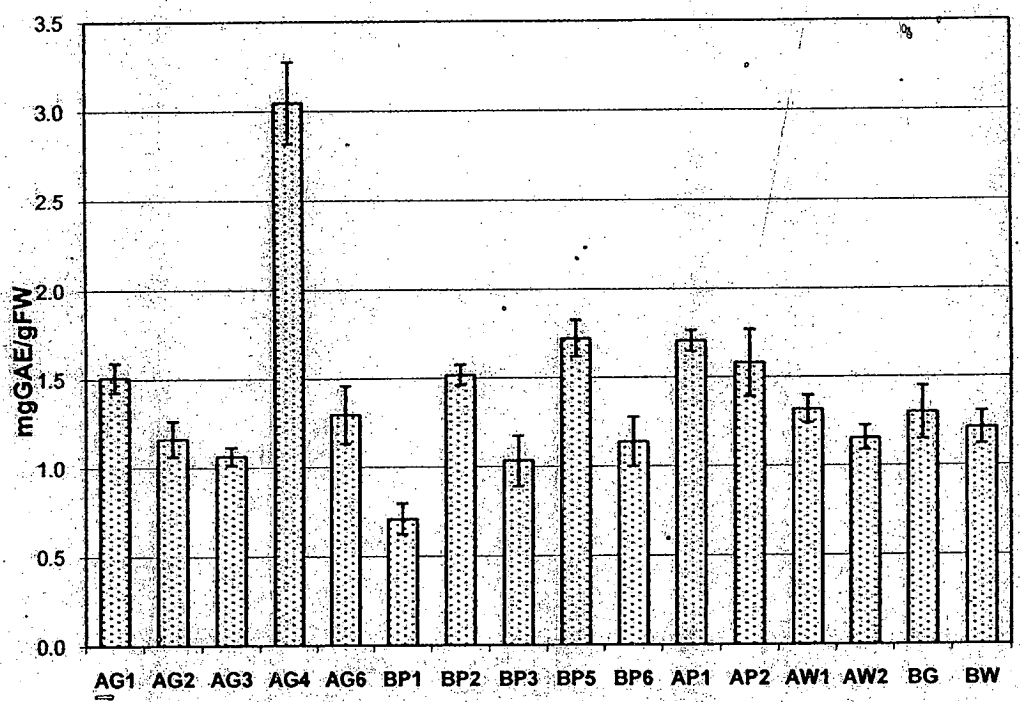
เมื่อนำสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้จากมะเขือทุกสายพันธุ์มาวัดกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นด้วยวิธี DPPH assay พบว่า มะเขือพวง (AG4) มีกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้สูงสุด (ภาพที่ 4 - 7) มีค่าเท่ากับ 3.05 มิลลิกรัมของกรดแกลิกต่อน้ำหนักสด 1 กรัม ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของมะเขือพวงที่มีปริมาณมากสุดเช่นกัน มะเขือกลุ่มสีม่วงและกลุ่มสีขาวเป็นกลุ่มที่มีกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นลำดับถัดมา



ภาพที่ 4 - 7 กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น 3 วิธี คือ DPPH, β-carotene bleaching และ $ABTS^{\bullet+}$



ภาพที่ 4 - 8 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลและกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นเมื่อวัดด้วย DPPH, β-carotene bleaching และ $ABTS^{\bullet+}$

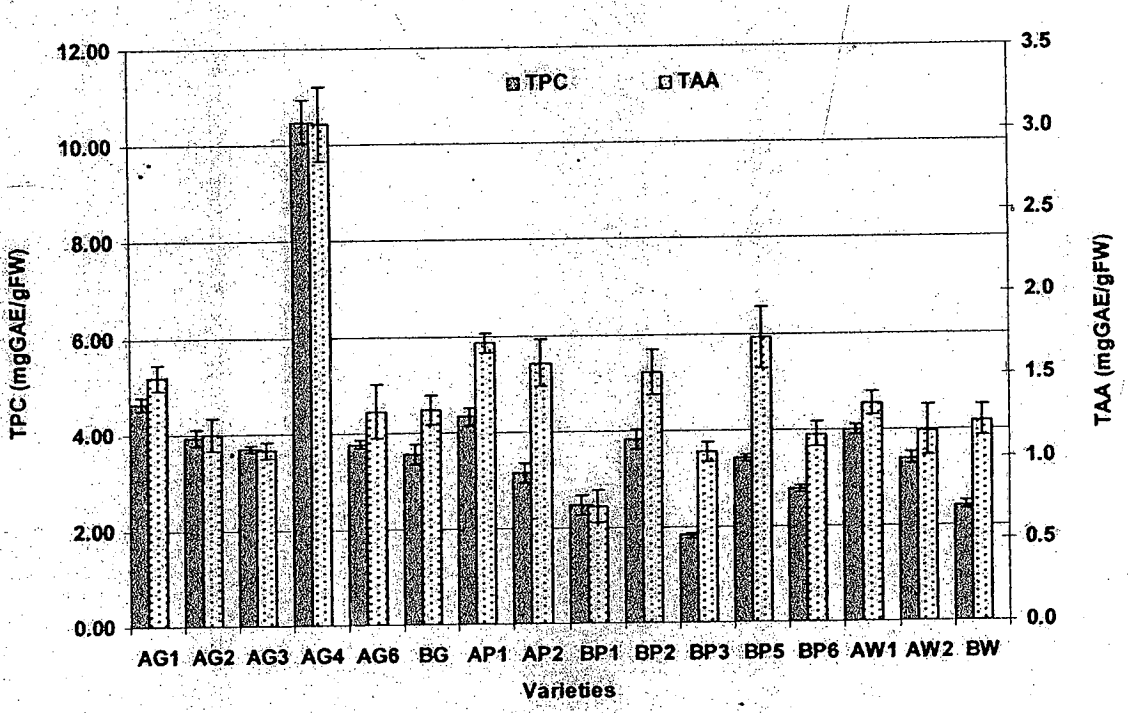


ภาพที่ 4 - 9 กิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่สกัดได้จากมะเขือจำนวน 16 สายพันธุ์วัดด้วยวิธีการ DPPH (± SE)

1.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

เมื่อพิจารณาจาก ภาพที่ 4 - 10 แสดงถึงให้เห็นว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบทั้งหมดกับกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น โดยมะเขือสายพันธุ์ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงจะมีกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นสูงเช่นกัน ตัวอย่างเช่น มะเขือพวง (AG4) มีสารปะกอบฟีนอลสูงที่สุด และมีกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นสูงเช่นกัน

ในกลุ่มของมะเขือสีเขียว พบว่า กิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลที่วัดได้ โดยมะเขือสายพันธุ์ใดที่มีสารประกอบฟีนอลปริมาณสูง จะมีกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นสูงเช่นกัน ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มของมะเขือสีม่วง (AP, BP) และสีขาว (AW, BW) บางสายพันธุ์ ในกลุ่มของมะเขือสีม่วงบางสายพันธุ์เช่น BP3 ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลต่ำที่สุดในกลุ่มมะเขือผลสีม่วง แต่กลับมีกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นสูงกว่าพันธุ์ BP1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) พันธุ์ AP2 และ BP2 ซึ่งมีกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นไม่แตกต่างกัน ($p>0.01$) แต่ปริมาณสารประกอบฟีนอลที่วัดได้มีค่าแตกต่างกัน หรือมะเขือในกลุ่มสีขาว BW มีปริมาณสารประกอบฟีนอลต่ำสุด แต่มีค่ากิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นไม่ต่างจากพันธุ์อื่นที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน

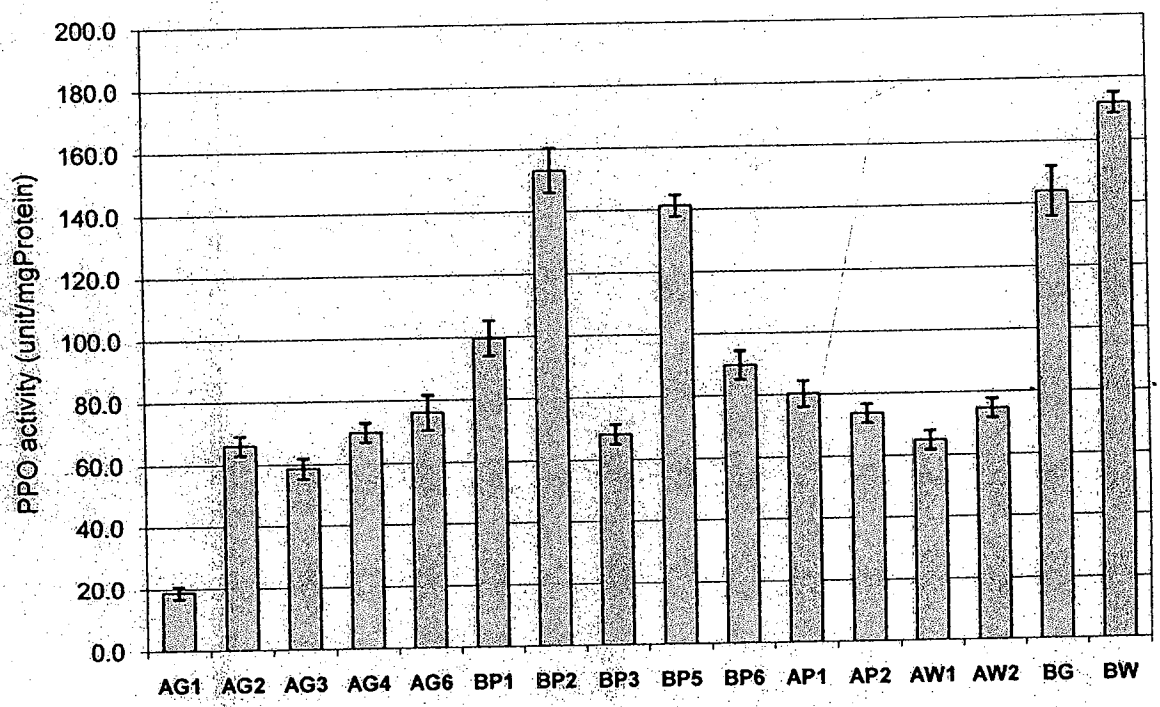


ภาพที่ 4 - 10 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดกับกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของวัดด้วยวิธีการ DPPH

1.4 กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ในมะเขือ 16 สายพันธุ์

เมื่อนำเอนไซม์สกัดหยาบที่สกัดได้จากมะเขือทั้ง 16 สายพันธุ์มาวัดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO พบว่า เอนไซม์ PPO ของมะเขือยาวสีขาว (BW) มีกิจกรรมสูงที่สุด (ภาพที่ 4 - 12) มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เมื่อใช้ 4-MC เป็นสับสเทรต เท่ากับ 171.8 หน่วยต่อปริมาณโปรตีน 1 กรัม เอนไซม์ที่สกัดได้จากมะเขือม่วงกลม (AP1) มีค่าเท่ากับ 153.1 หน่วยต่อปริมาณโปรตีน 1 กรัม และมะเขือเปราะพันธุ์แจ้ (AG1) มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ต่ำสุด เท่ากับ 18.8 หน่วยต่อปริมาณโปรตีน 1 กรัม

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มมะเขือแต่ละสี พบว่า มะเขือที่มีผลยาวและมีเนื้อคล้ายฟองน้ำ เช่น มะเขือยาวสีเขียว (BG) มะเขือยาวสีม่วง (BP) และ มะเขือยาวสีขาว (BW) มีกิจกรรมของ PPO สูงกว่ามะเขือที่มีเนื้อผลเหนียวและมีเมล็ดมาก (กลุ่มที่มีอักษร A-) ยกเว้นมะเขือยาวม่วงเล็ก (BP6) ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ต่ำสุดในกลุ่มของมะเขือยาว แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากกลุ่มมะเขือผลสีเขียว

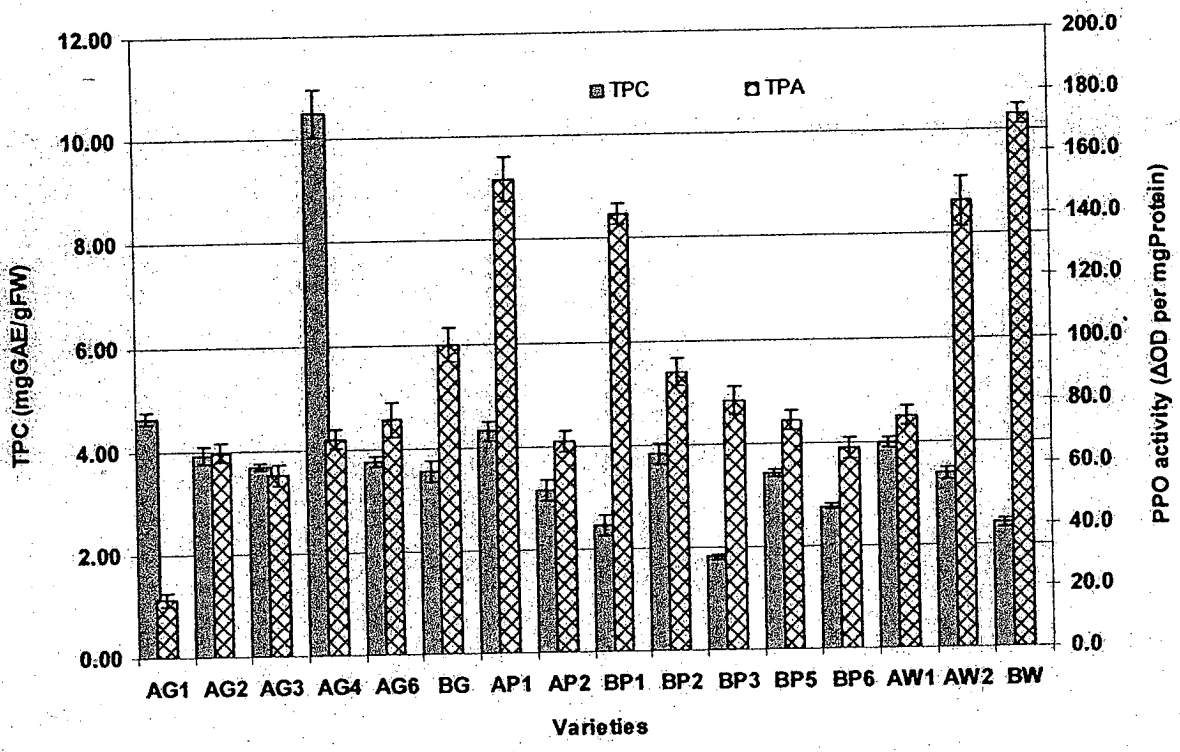


ภาพที่ 4 - 12 กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่สกัดจากผลมะเขือจำนวน 16 สายพันธุ์ เมื่อใช้ 4-MC เป็นสับสเทรตสำหรับปฏิกิริยา

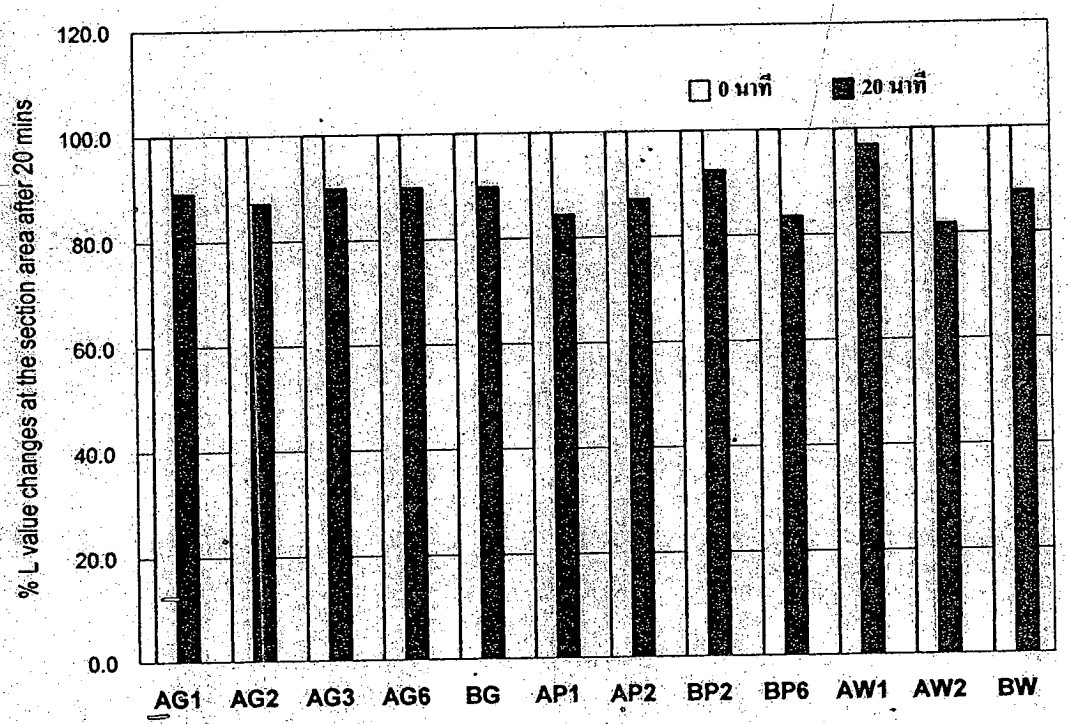
1.5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลและกิจกรรมของเอนไซม์ PPO

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่สกัดได้จากมะเขือแต่ละสายพันธุ์ เพื่อศึกษาความเกี่ยวข้องของกิจกรรมเอนไซม์ PPO ปริมาณสารประกอบฟีนอล และการเกิดสีน้ำตาลบนผลมะเขือ พบว่า มะเขือสายพันธุ์ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดต่ำ เช่น มะเขือยาวสีขาว (BW) และ มะเขือแจ้ม่วง (BP1) มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO สูงมาก (ภาพที่ 4 - 13) ส่วนมะเขือที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดสูงมากเช่น มะเขือพวง (AG4) กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ต่ำกว่าของมะเขือทั้งสอง (BW, BP1) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.01$)

จากการวัดการเปลี่ยนแปลงค่า L* ซึ่งแสดงถึงความสว่างของสีเนื้อมะเขือบริเวณรอยตัดของมะเขือบางพันธุ์ พบว่า เมื่อตัดและวางไว้นาน 20 นาที ค่า L* ของเนื้อมะเขือลดลง แสดงว่า สีเนื้อมะเขือคล้ำลง หรือเกิดสีน้ำตาลมากขึ้น (ภาพที่ 4 - 14) เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงค่า L และกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของมะเขือบางพันธุ์ที่มีกิจกรรมของ PPO สูง เช่น มะเขือยาวสีขาว (BW) ซึ่งมีกิจกรรมสูงกว่า มะเขือสีม่วง (AP2) แต่เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงค่า L มีค่าใกล้เคียงกัน แสดงว่าการเกิดสีน้ำตาลไม่แตกต่างกัน ส่วนมะเขือเปราะพันธุ์แจ้ (AG1) มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ต่ำที่สุดจากมะเขือทั้ง 16 สายพันธุ์ แต่เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงค่า L ไม่แตกต่างจากมะเขือสายพันธุ์อื่น แสดงว่าสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นมีความใกล้เคียงกันแม้ว่าจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และกิจกรรมของเอนไซม์ PPO แตกต่างกัน



ภาพที่ 4 - 13 เปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่สกัดได้จากมะเขือ 16 สายพันธุ์

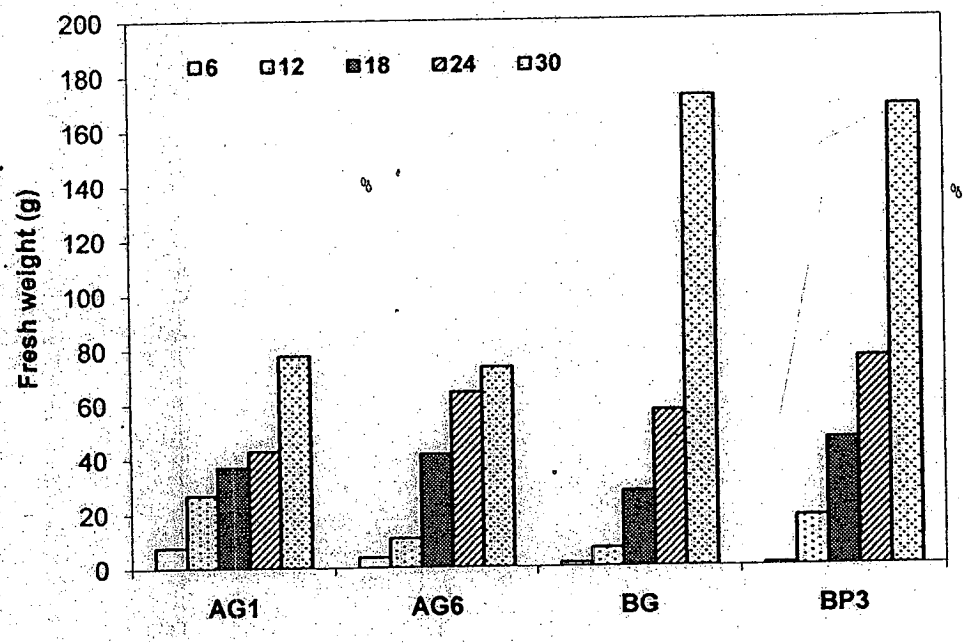


ภาพที่ 4 - 14 การเปลี่ยนแปลงค่า L (%) บริเวณรอยตัดของผลมะเขือบางสายพันธุ์เมื่อตั้งทิ้งไว้นาน 20 นาที

1.7 ปริมาณสารประกอบฟีนอลและกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างการเจริญเติบโตของมะเขือ 4 สายพันธุ์

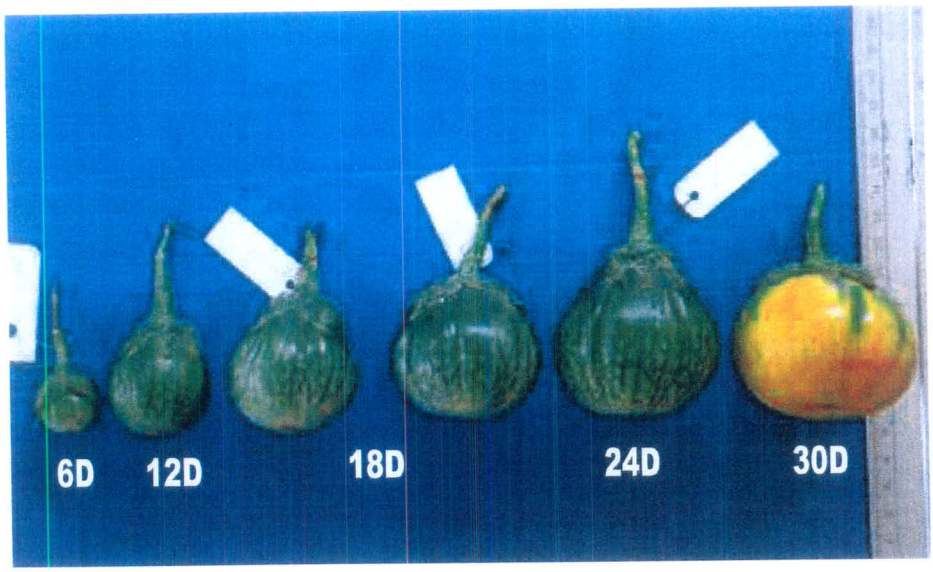
1.7.1 ระยะการเจริญของมะเขือ

มะเขือ 4 สายพันธุ์คือ มะเขือเปราะ (AG2) มะเขือยาว (BG) มะเขือยาวม่วงก้านเขียว (BP3) และมะเขือเปราะเจ้าพระยา (AG6) มาเป็นตัวแทนของมะเขือในแต่ละกลุ่ม เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นระหว่างการเจริญเติบโตของมะเขือ โดยเริ่มนับตั้งแต่วันที่เกสรตัวผู้บาน (anthesis) จนกระทั่งผลแก่จัดและเปลี่ยนเป็นสีเหลือง มะเขือทั้ง 4 สายพันธุ์มีระยะเวลาตั้งแต่ติดผลจนผลแก่จัดประมาณ 30 วันสามารถแบ่งระยะการเจริญออกเป็น 5 ระยะแต่ละระยะมีอายุต่างกัน 6 วัน คือ ระยะอายุ 6, 12, 18, 24 และ 30 วันหลังดอกบาน น้ำหนักสดของผลเพิ่มขึ้นตามระยะการเจริญ และเพิ่มขึ้นสูงสุดช่วง 12 วันสุดท้าย (ภาพที่ 4 - 15) ซึ่งผลมะเขือแต่ละพันธุ์จะอยู่ในระยะการเก็บเกี่ยวเพื่อการค้า

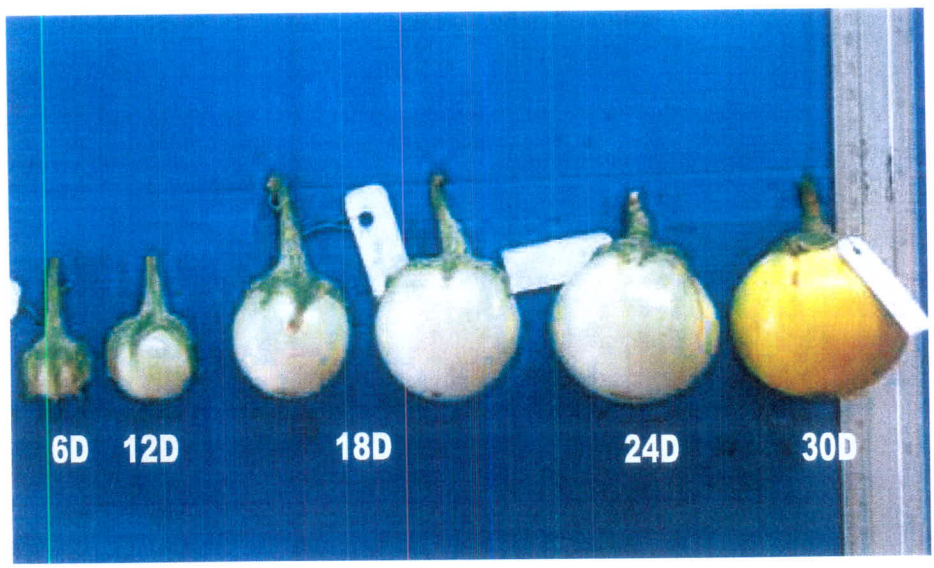


ภาพที่ 4 - 15 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสดระหว่างการเจริญของผลมะเขือทั้ง 4 สายพันธุ์

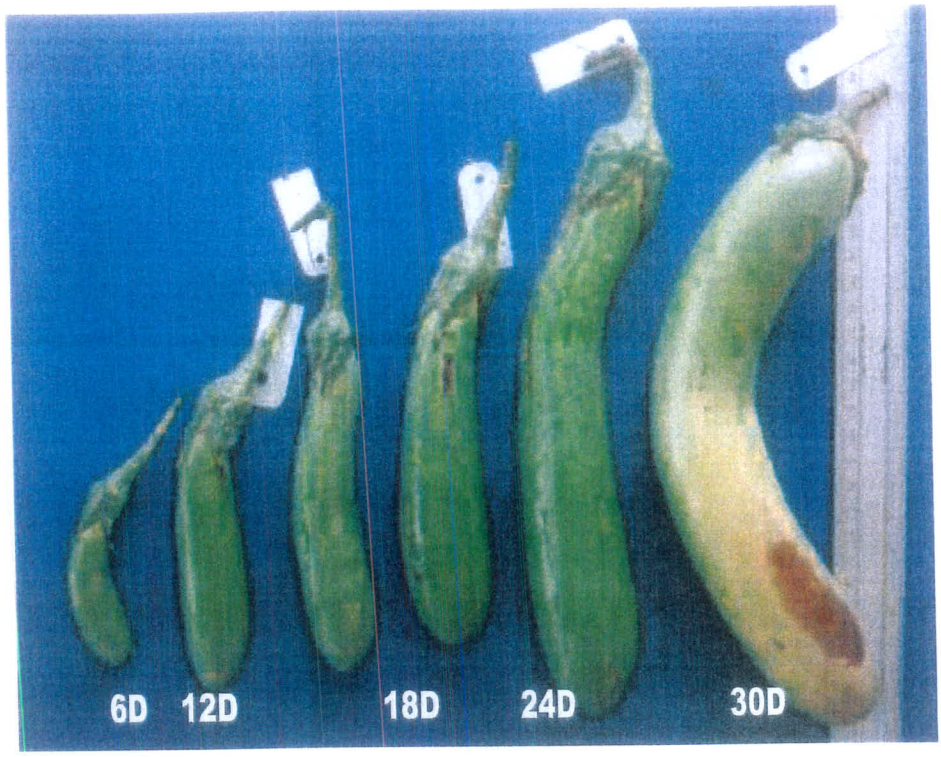
มะเขือเปราะ (AG2) และมะเขือเปราะพันธุ์เจ้าพระยา (AG6) เมื่อแก่จัด (อายุ 30 วัน) สีผลจะเปลี่ยนจากสีเขียวเข้มเป็นสีเหลือง (ภาพที่ 4 - 16) ลายที่อยู่บนผิวของผลมะเขือเปราะหายไป ส่วนมะเขือเปราะพันธุ์เจ้าพระยาจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองนวล (ภาพที่ 4 - 17) มะเขือยาวสีม่วง (BP3) จะเริ่มมีสีม่วงเมื่อผลมะเขือมีอายุได้ 12 วันและมีสีเข้มขึ้น เมื่อแก่จัด สีผิวจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (ภาพที่ 4 - 19) สีม่วงจะจางหายไป ส่วนมะเขือยาว (BG) สีเปลือกไม่มีการเปลี่ยนแปลงแต่จะจางลงเมื่อผลแก่จัด (ภาพที่ 4 - 18)



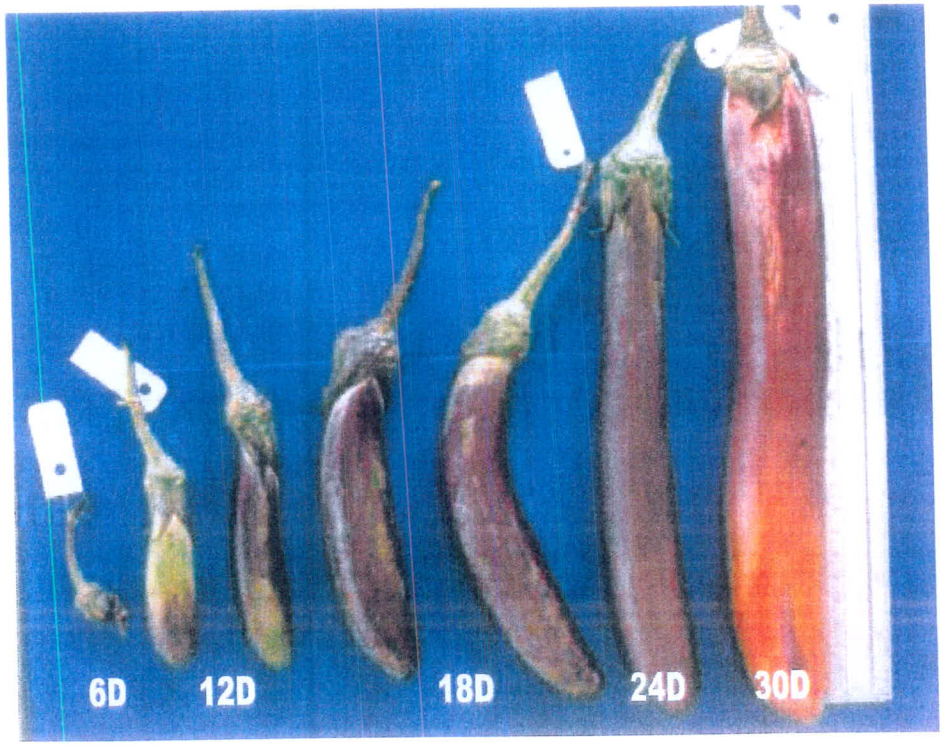
ภาพที่ 4 - 16 การพัฒนาของผลมะเขือเปราะระหว่างการเจริญ อายุของผลแต่ละระยะต่างกัน 6 วัน



ภาพที่ 4 - 17 การพัฒนาของผลมะเขือเปราะเจ้าพระยาระหว่างการเจริญ อายุของผลแต่ละระยะต่างกัน 6 วัน



ภาพที่ 4 - 18 การพัฒนาของผลมะเขือยาวระหว่างการเจริญ อายุของผลแต่ละระยะต่างกัน 6 วัน



ภาพที่ 4 - 19 การพัฒนาของผลมะเขือม่วงก้านเขียวระหว่างการเจริญ อายุของผลแต่ละระยะต่างกัน 6 วัน

1.7.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลและกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นระหว่างการเจริญเติบโตของมะเขือสายพันธุ์ต่างๆ

เมื่อวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของมะเขือแต่ละสายพันธุ์ระหว่างการเจริญเติบโต พบว่า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ (ภาพที่ 4 - 20) มะเขือเปราะ (AG1) และมะเขือยาว (BG) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงสุดในผลมะเขืออายุ 6 วัน มะเขือเปราะเจ้าพระยา (AG6) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดค่อนข้างคงที่ ส่วนมะเขือม่วงก้านเขียว BP2 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเพิ่มขึ้นตามระยะการเจริญเติบโตก่อนจะมีปริมาณลดลง

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ พบว่า มะเขือยาวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดสูงสุดในระยะผลอายุ 6 วัน เท่ากับ 19.11 มิลลิกรัมกรดแกลิกต่อน้ำหนักสด และมะเขือเปราะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 6.47 มิลลิกรัมกรดแกลิกต่อน้ำหนักสด สูงกว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลในมะเขืออีก 2 สายพันธุ์ทั้งในระยะการเจริญเดียวกันและระยะการเจริญอื่นๆ

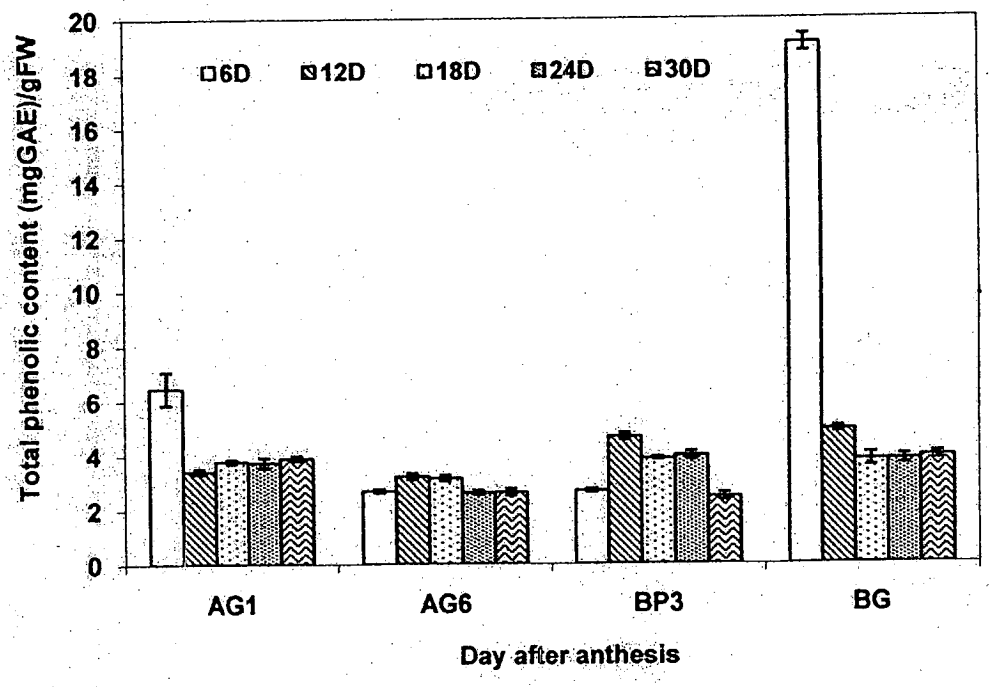
จากการนำสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่สกัดได้มาวัดกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น พบว่า เป็นไปในทิศทางเดียวกับปริมาณสารประกอบฟีนอล (ภาพที่ 4 - 20) โดยมะเขือยาว และมะเขือเปราะที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงสุดในผลอายุ 6 วัน จะมีกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นสูงสุดเช่น (ภาพที่ 4 - 21) กัน โดยผลมะเขือยาวอายุ 6 วันมีกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นเทียบเท่ากับ 11.2 มิลลิกรัมกรดแกลิกต่อน้ำหนักสด และผลมะเขือเปราะอายุ 6 วันมีกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นเทียบเท่ากับ 3.4 มิลลิกรัมกรดแกลิกต่อน้ำหนักสด

มะเขือเปราะ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นสูงสุดเมื่อผลอายุ 6 วัน (ภาพที่ 4 - 21) หลังจากนั้นปริมาณสารประกอบฟีนอลและกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นลดลงและคงที่จนกระทั่งผลอายุ 30 วัน

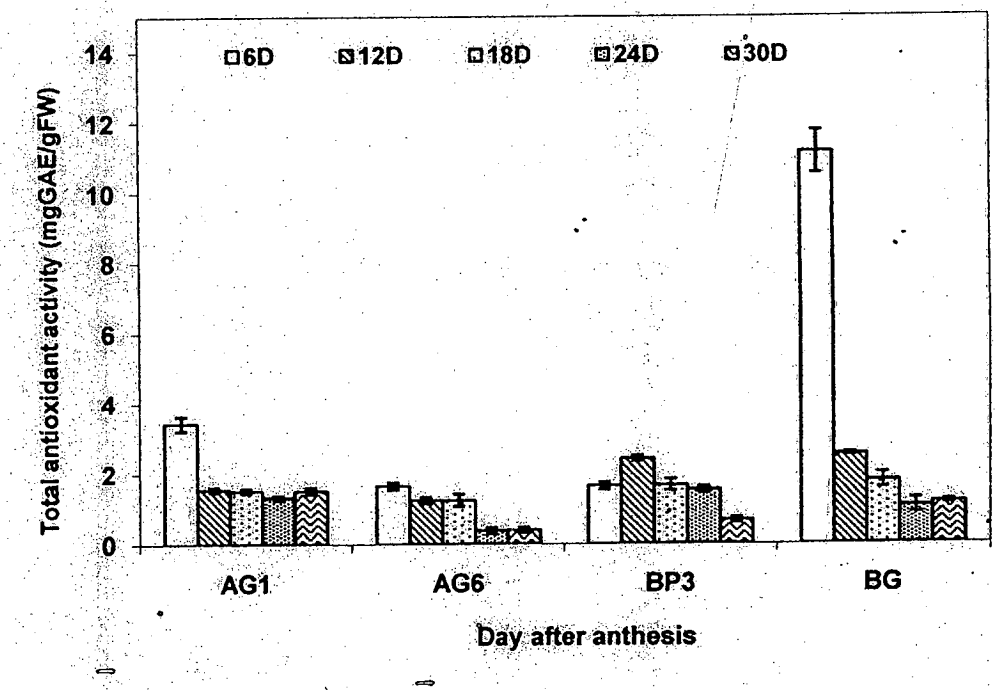
มะเขือเปราะเจ้าพระยาเป็นพันธุ์ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลต่ำสุดเมื่อเทียบกับมะเขือสายพันธุ์อื่น แต่ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเพิ่มขึ้นระหว่างการเจริญเติบโตและลดลงอีกครั้งเมื่อผลอายุ 24 วันซึ่งเป็นระยะที่ผลเจริญเต็มที่ (ภาพที่ 4 - 22) ส่วนกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นจะลดลงอย่างมากเมื่อผลเจริญเต็มที่

มะเขือม่วงก้านเขียวปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นเป็นไปในทิศทางเดียวกัน (ภาพที่ 4 - 24) คือมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อผลเจริญเติบโต และมีค่าสูงสุดเมื่อผลอายุได้ 12 วัน ก่อนจะลดลงและมีค่าต่ำสุดเมื่อผลแก่จัด

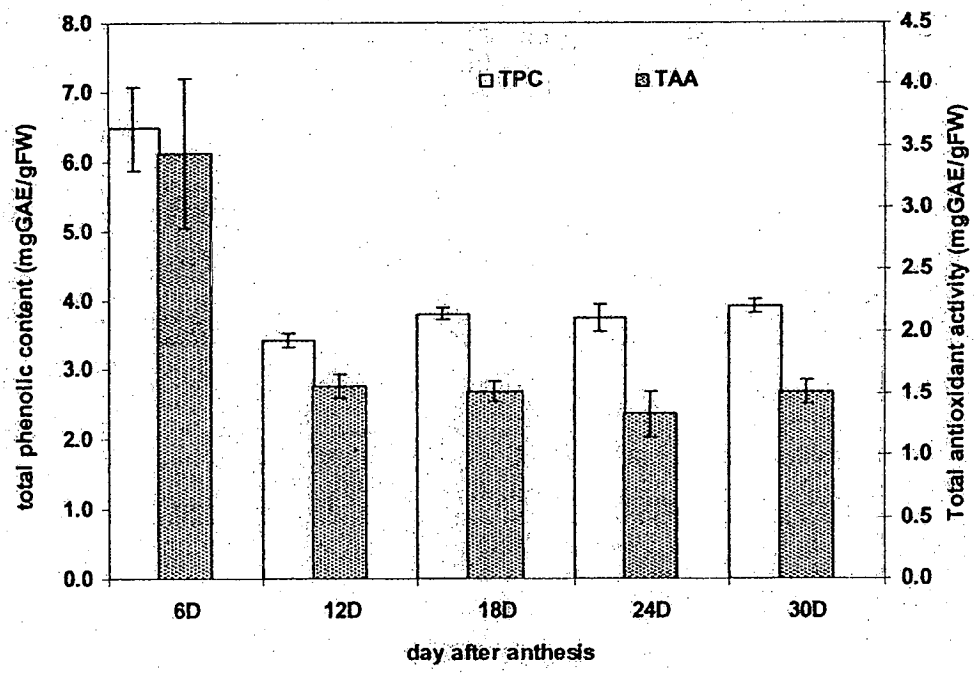
มะเขือยาวสีเขียวจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นสูงสุดเมื่อผลอายุ 6 วัน หลังจากนั้นจะลดลงอย่างรวดเร็วและมีค่าค่อนข้างคงที่ระหว่างการเจริญเติบโตของผลจนกระทั่งผลแก่จัด (ภาพที่ 4 - 25)



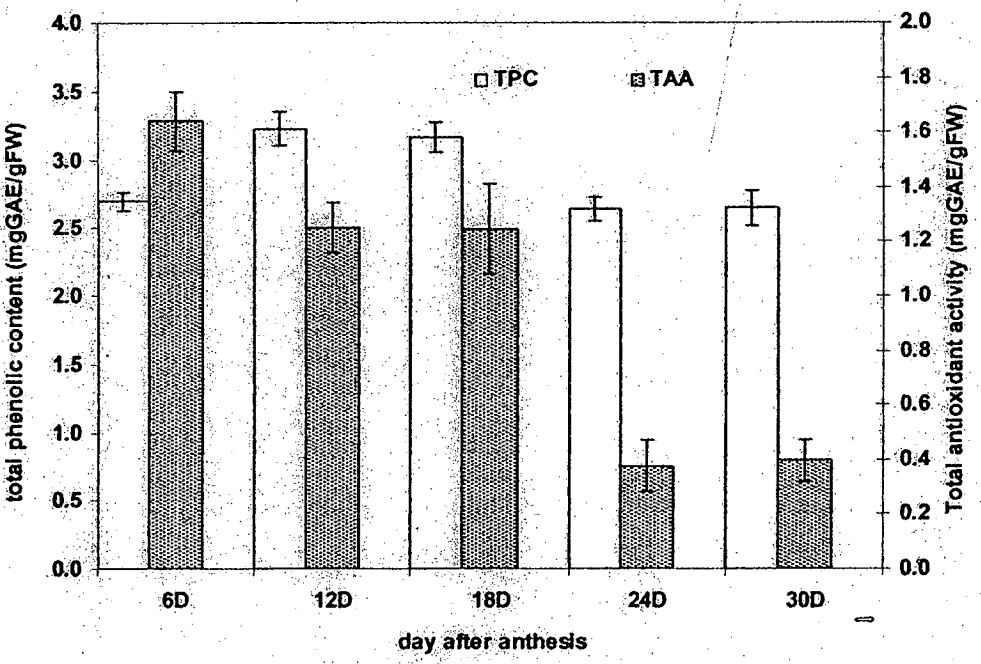
ภาพที่ 4 - 20 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลในผลมะเขือระหว่างการเจริญเติบโตเมื่อผลมีอายุตั้งแต่ 6 -30 วันหลังจากดอกได้รับการผสมของมะเขือ 4 พันธุ์



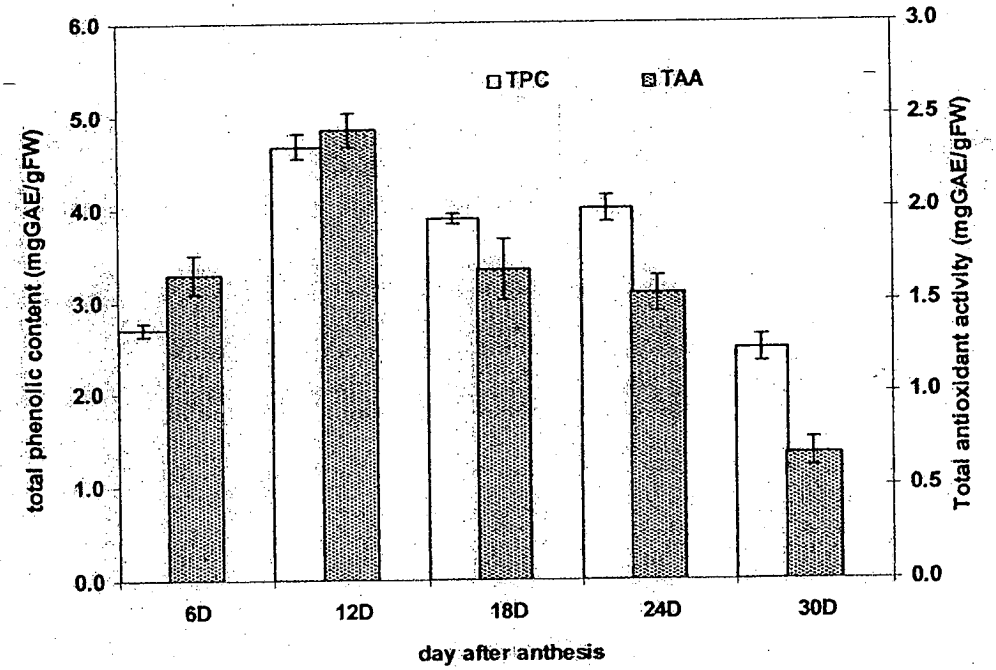
ภาพที่ 4 - 21 เปรียบเทียบกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลในผลมะเขือระหว่างการเจริญเติบโตเมื่อผลมีอายุตั้งแต่ 6 - 30 วันหลังจากดอกได้รับการผสมของมะเขือ 4 สายพันธุ์



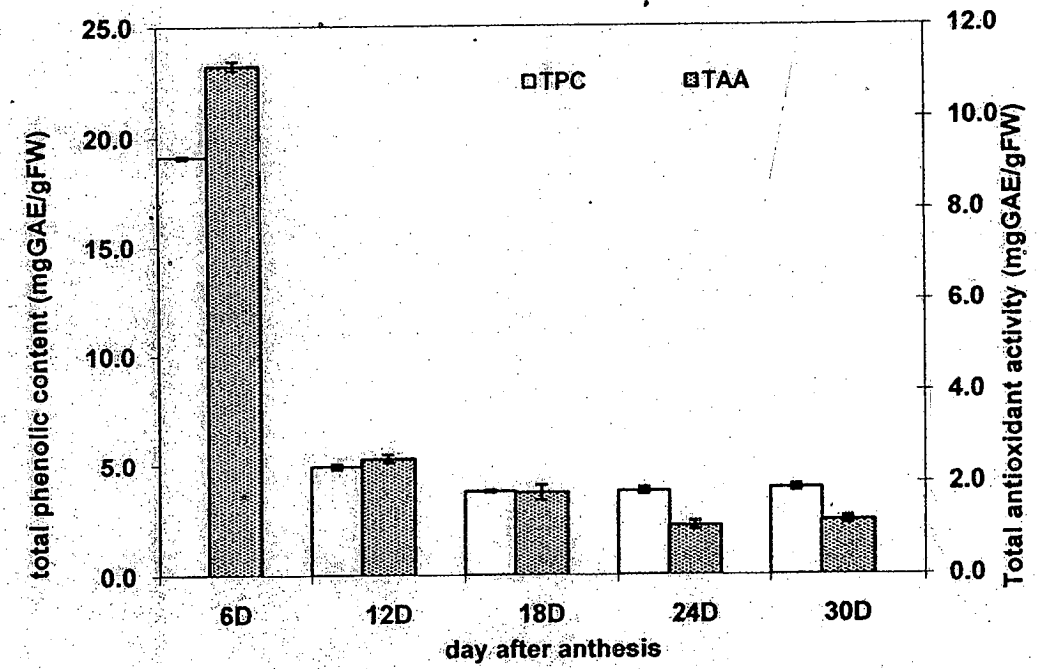
ภาพที่ 4 - 22 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอล (TPC) และกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (TAA) ที่วัดได้ของมะเขือเปราะเขียวเมื่อผลมีอายุต่างๆ กัน



ภาพที่ 4 - 23 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอล (TPC) และกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (TAA) ของมะเขือเปราะเจ้าพระยาเมื่อผลมีอายุต่างๆ กัน



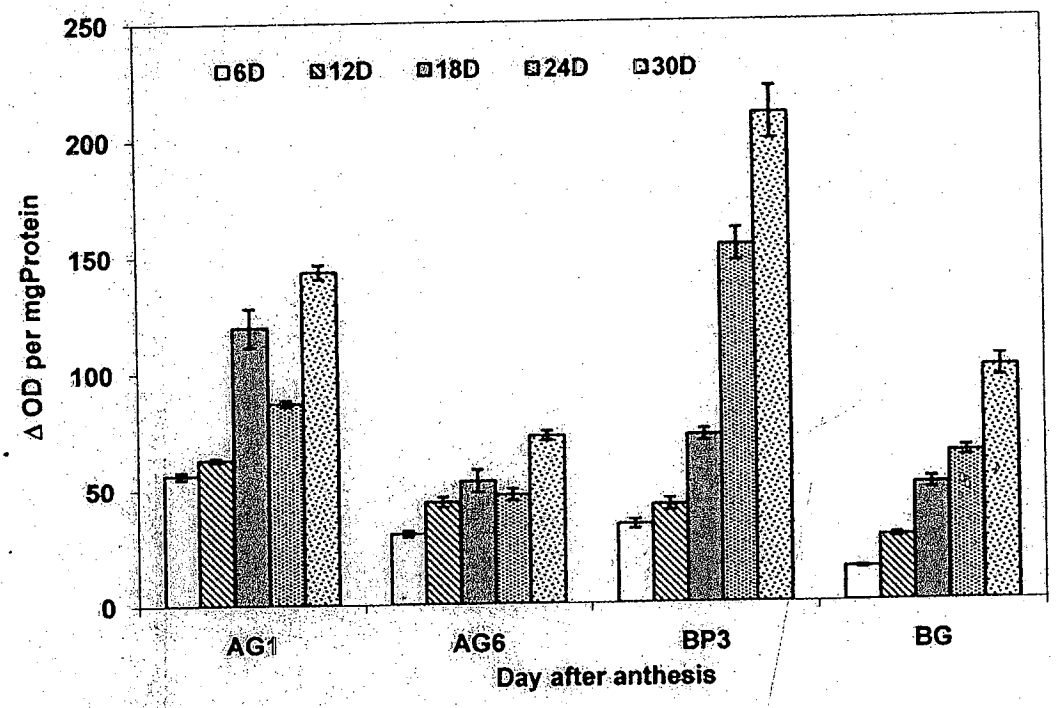
ภาพที่ 4 - 24 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอล (TPC) และกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (TAA) ของมะเขือม่วงก้านเขียวเมื่อผลมีอายุต่างๆ กัน



ภาพที่ 4 - 25 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอล (TPC) และกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (TAA) ของมะเขือยาวสีเขียวเมื่อผลมีอายุต่างๆ กัน

1.7.3 กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ระหว่างการเจริญของผลมะเขือ

กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของมะเขือแต่ละสายพันธุ์มีกิจกรรมเพิ่มขึ้นเมื่อผลมะเขือเจริญเติบโตขึ้น มะเขือทุกสายพันธุ์ที่ศึกษามีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ต่ำสุดเมื่อผลมะเขืออายุ 6 วันหลังจากดอกบาน และกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จะเพิ่มขึ้นและมีกิจกรรมสูงสุดเมื่อผลเจริญเต็มที่เมื่ออายุ 30 วันหลังดอกบาน โดยมะเขือม่วงก้านเขียว (BP3) มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO สูงสุดในผลมะเขืออายุ 30 วัน



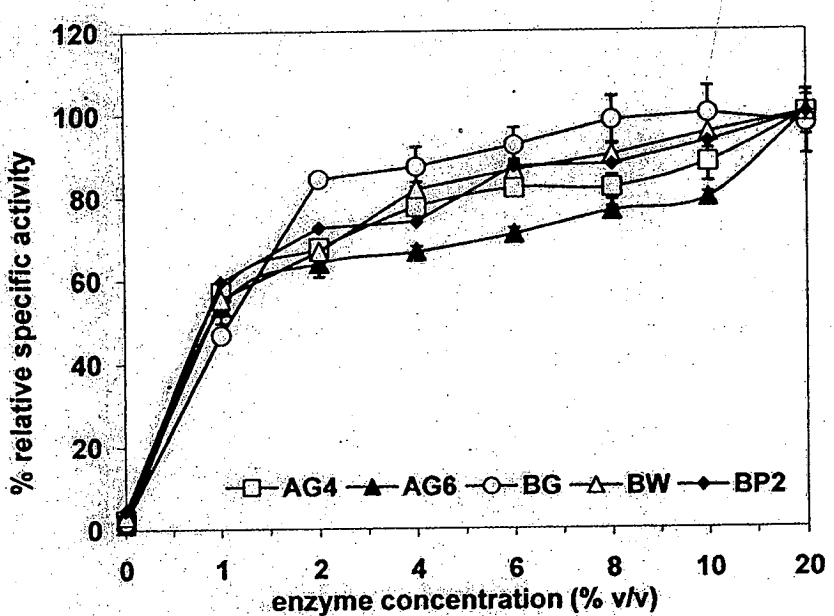
ภาพที่ 4 - 26 กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ระหว่างการเจริญของผลมะเขือ 4 สายพันธุ์

ตอนที่ 2 คุณสมบัติบางประการของเอนไซม์ PPO จากผลมะเขือบางสายพันธุ์

เลือกมะเขือมา 5 สายพันธุ์ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO สูงของมะเขือแต่ละกลุ่มสีผล คือ มะเขือพวง (AG4) มะเขือเปราะเจ้าพระยา (AG6) มะเขือยาวสีเขียว (BG) มะเขือยาวสีขาว (BW) และมะเขือยาวชินฮั่ว (BP2) นำเอนไซม์ที่สกัดได้จากมะเขือแต่ละสายพันธุ์มาศึกษาคุณสมบัติแต่ละชนิดของเอนไซม์ ได้แก่ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสม ชนิดและความเข้มข้นของสับสเทรตจำเพาะ (specific substrate) ช่วง pH (optimal pH) และ ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสม (optimal temperature) ชนิดและความเข้มข้นของสารยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ (inhibitors) และรูปแบบการกระจายตัวของโปรตีนของเอนไซม์ PPO ที่สกัดได้ ผลการศึกษามีดังต่อไปนี้

2.1 การศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสม (enzyme concentration)

เมื่อเจือจางเอนไซม์ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1M pH 6.5 โดยใช้สารละลาย 4-MC ความเข้มข้น 10mM เป็นสับสเทรต จากภาพที่ 4 - 27 แสดงเปอร์เซ็นของกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ (specific activity) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ที่มีค่าสูงสุด (% relative specific activity) ของเอนไซม์ PPO ความเข้มข้น 20% จากมะเขือแต่ละสายพันธุ์ พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ PPO เพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้น ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 1 -2 % จะมีอัตราการเพิ่มของกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุด แต่เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์ PPO สูงกว่า 2% อัตราการเพิ่มของกิจกรรมจะเริ่มชะลอลง ดังนั้นในการศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์จึงเลือกใช้ที่ความเข้มข้น 1%



ภาพที่ 4 - 27 กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เมื่อใช้สารละลาย 4-MC เป็นสับสเทรต ความเข้มข้น 10mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6.5

2.2 การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสับสเทรตที่เหมาะสมสำหรับการทำปฏิกิริยา (substrate specific and optimal concentration)

จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่สกัดจากผลมะเขือทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยใช้สับสเทรตที่เป็นสารประกอบฟีนอลทั้งหมด 6 ชนิดคือ 4-MC, catechol, pyrocatechol (PC), catechin, tert-4-butylcatechol (4-TC) และ dopamine ความเข้มข้น 4 ระดับคือ 5, 10, 15 และ 20 mM พบว่า เอนไซม์ PPO ของมะเขือแต่ละสายพันธุ์มีสับสเทรตจำเพาะแตกต่างกัน เมื่อนำค่ากิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่ใช้สับสเทรตแต่ละชนิดเปรียบเทียบกับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่ใช้ 4-MC ความเข้มข้น 10 mM เป็นสับสเทรต (% relative specific activity) ผลที่ได้คือ

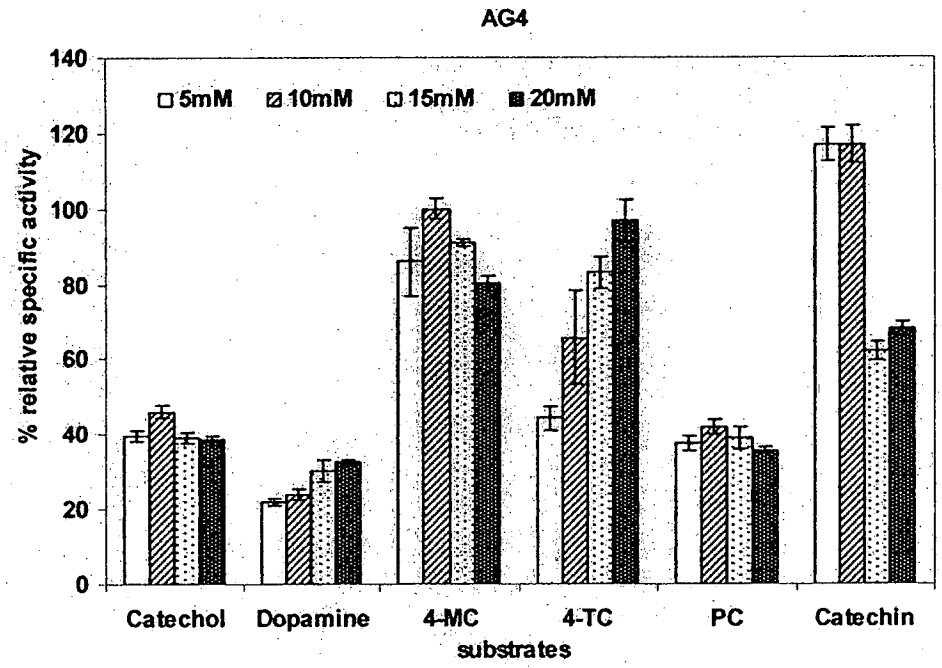
เอนไซม์ PPO ที่สกัดจากผลมะเขือพวง (AG4) สามารถใช้ catechin ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 mM ได้ดีที่สุด แต่กิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นมากกว่า 15mM นอกจากนั้นยังสามารถใช้ 4-MC และ 4-TC เป็นสับสเทรตได้ดี (ภาพที่ 4 - 28) แต่ความเข้มข้นของ 4-MC ไม่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของผลมะเขือพวง ส่วนการใช้ 4-TC นั้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นมากขึ้น กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของผลมะเขือพวงจะเพิ่มขึ้น

4-MC เป็นสับสเทรตที่ดีที่สุดสำหรับเอนไซม์ PPO ที่สกัดจากผลมะเขือเปราะเจ้าพระยา (AG6) แต่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันของ 4-MC ไม่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่วัดได้ (ภาพที่ 4 - 29) กิจกรรมของเอนไซม์ PPO เมื่อใช้ catechin PC และ 4-TC มีค่าใกล้เคียงกัน และเมื่อใช้ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน กิจกรรมของเอนไซม์ที่วัดได้ไม่แตกต่างกัน

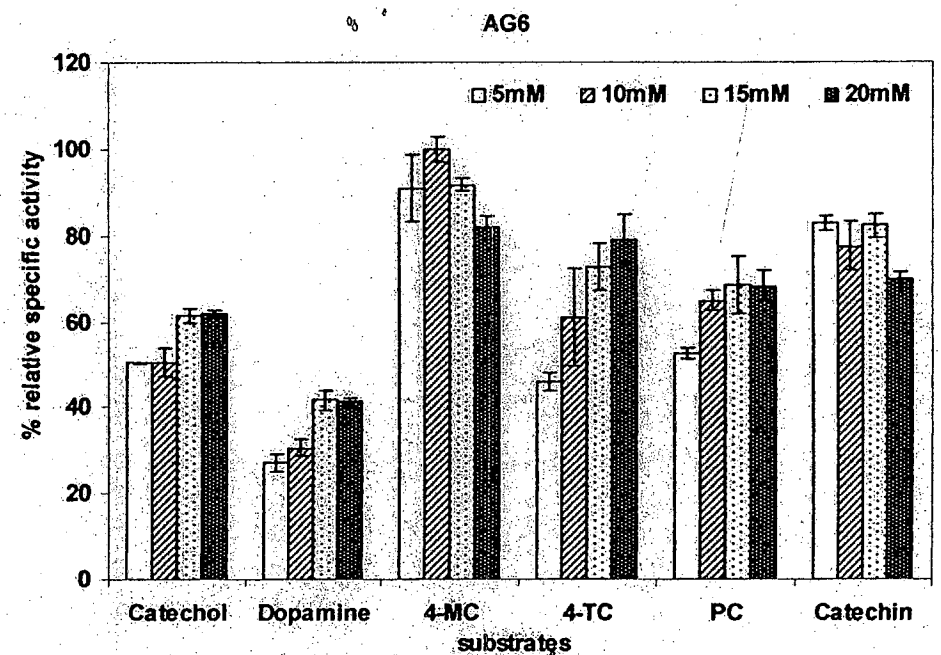
เอนไซม์ PPO ที่สกัดจากผลมะเขือยาว (BG) สามารถใช้ 4-TC เป็นสับสเทรตได้ดีที่สุด และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ 4-TC กิจกรรมของเอนไซม์ PPO เพิ่มสูงขึ้น และยังสามารถใช้ catechin เป็นสับสเทรตได้ดีอีกชนิดหนึ่ง และทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของผลมะเขือยาวสูงกว่าการใช้ 4-MC เป็นสับสเทรต (ภาพที่ 4 - 30)

ความเข้มข้นของ 4-MC ไม่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่สกัดจากผลมะเขือม่วงซินฮั้ว (BP2) แต่ catechin เป็นสับสเทรตที่ดีกว่าและทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของผลมะเขือม่วงซินฮั้วเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ 4-MC (ภาพที่ 4 - 31) กิจกรรมของเอนไซม์ PPO เมื่อใช้ 4-TC ที่ระดับความเข้มข้น 15 และ 20 mM เป็นสับสเทรตมีค่าใกล้เคียงกับการใช้ 4-MC เป็นสับสเทรต

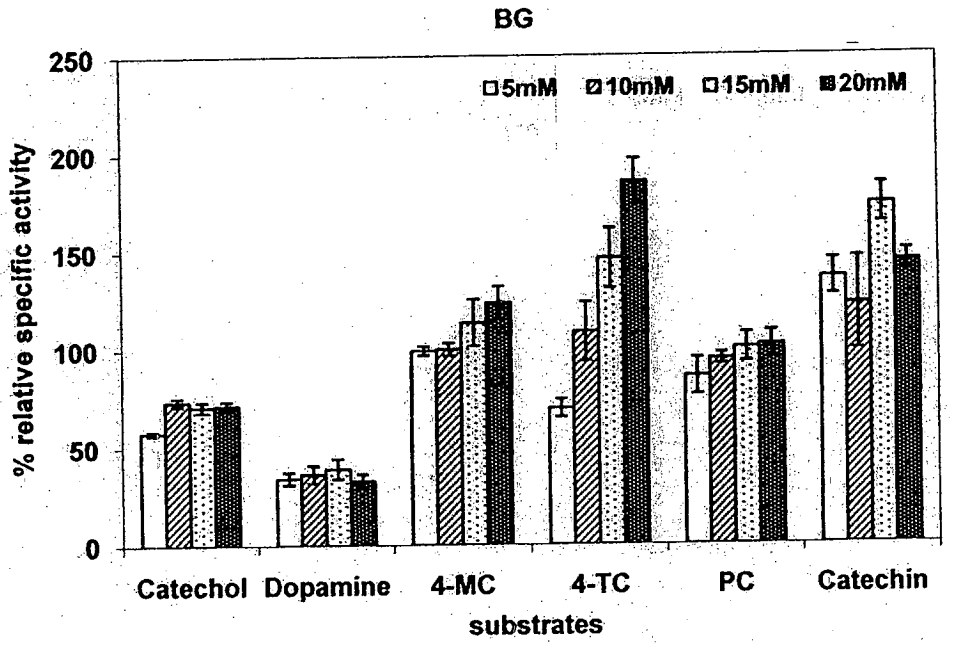
เอนไซม์ PPO ที่สกัดจากผลมะเขือยาวสีขาว (BW) มีกิจกรรมเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ catechin ที่ความเข้มข้น 15mM เป็นสับสเทรต (ภาพที่ 4 - 32) แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นอื่น กิจกรรมของเอนไซม์ที่วัดได้มีค่าไม่แตกต่างจากการใช้ 4-MC เป็นสับสเทรต และเมื่อใช้สารประกอบฟีนอลชนิดอื่นเป็นสับสเทรต กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ 4-MC



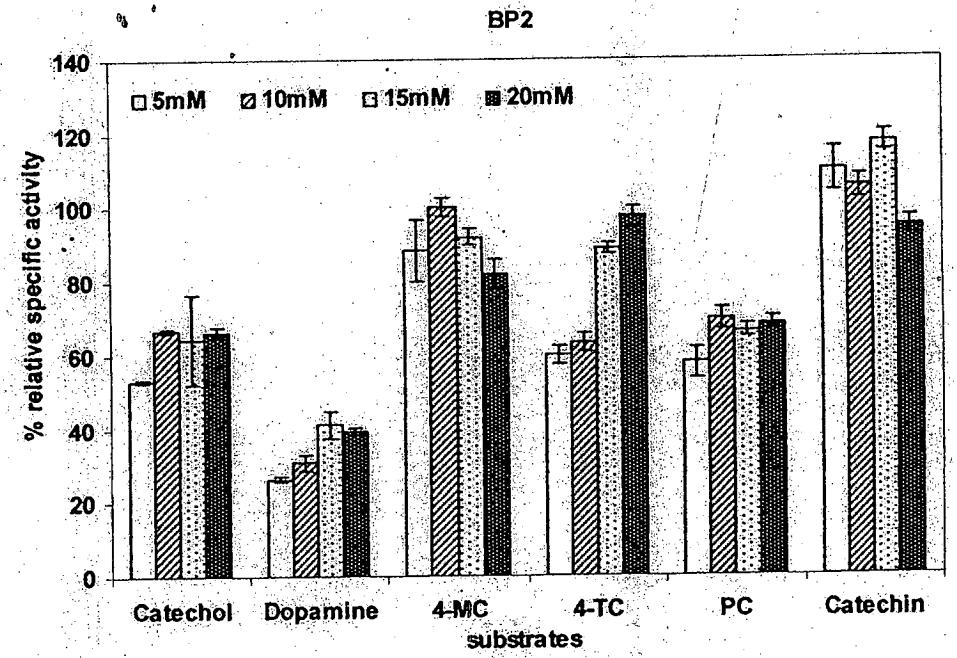
ภาพที่ 4 - 28 เปอร์เซ็นต์กิจกรรมของเอนไซม์ PPO สกัดจากผลมะเขือพวงเมื่อทดสอบด้วยสับสเทรตชนิดต่างๆ เทียบกับการใช้ 4-MC ความเข้มข้น 10mM เป็นสับสเทรต



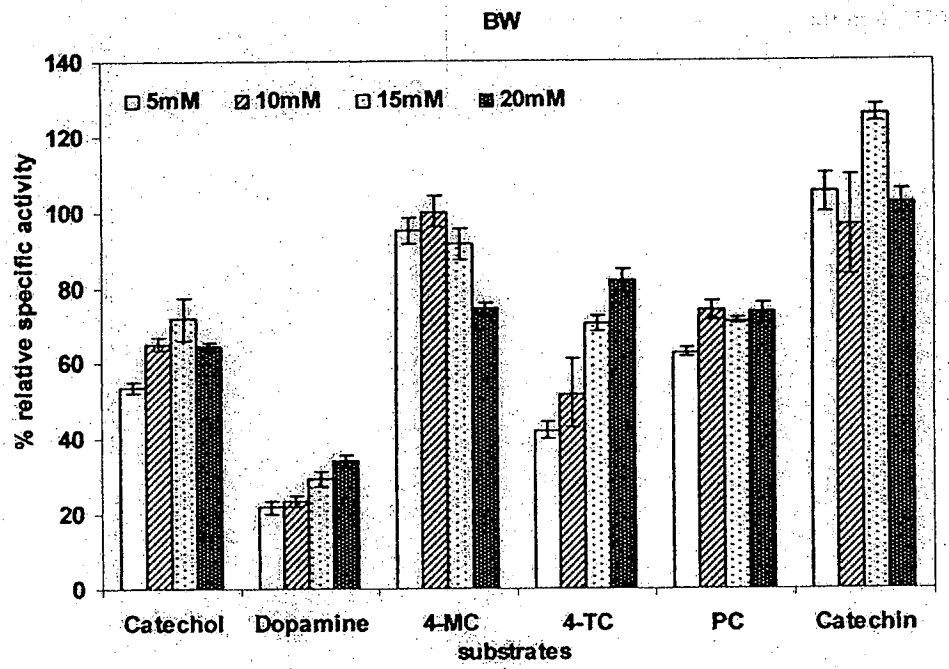
ภาพที่ 4 - 29 เปอร์เซ็นต์กิจกรรมของเอนไซม์ PPO สกัดจากผลมะเขือเปราะเจ้าพระยาเมื่อทดสอบด้วยสับสเทรตชนิดต่างๆ เทียบกับการใช้ 4-MC ความเข้มข้น 10mM เป็นสับสเทรต



ภาพที่ 4 - 30 เปอร์เซ็นต์กิจกรรมของเอนไซม์ PPO สกัดจากผลมะเขือยาวสีเขียวเมื่อทดสอบด้วยสับสเทรตชนิดต่างๆ เทียบกับการใช้ 4-MC ความเข้มข้น 10mM เป็นสับสเทรต



ภาพที่ 4 - 31 เปอร์เซ็นต์กิจกรรมของเอนไซม์ PPO สกัดจากผลมะเขือม่วงชินฮั้ว เมื่อทดสอบด้วยสับสเทรตชนิดต่างๆ เทียบกับการใช้ 4-MC ความเข้มข้น 10mM เป็นสับสเทรต

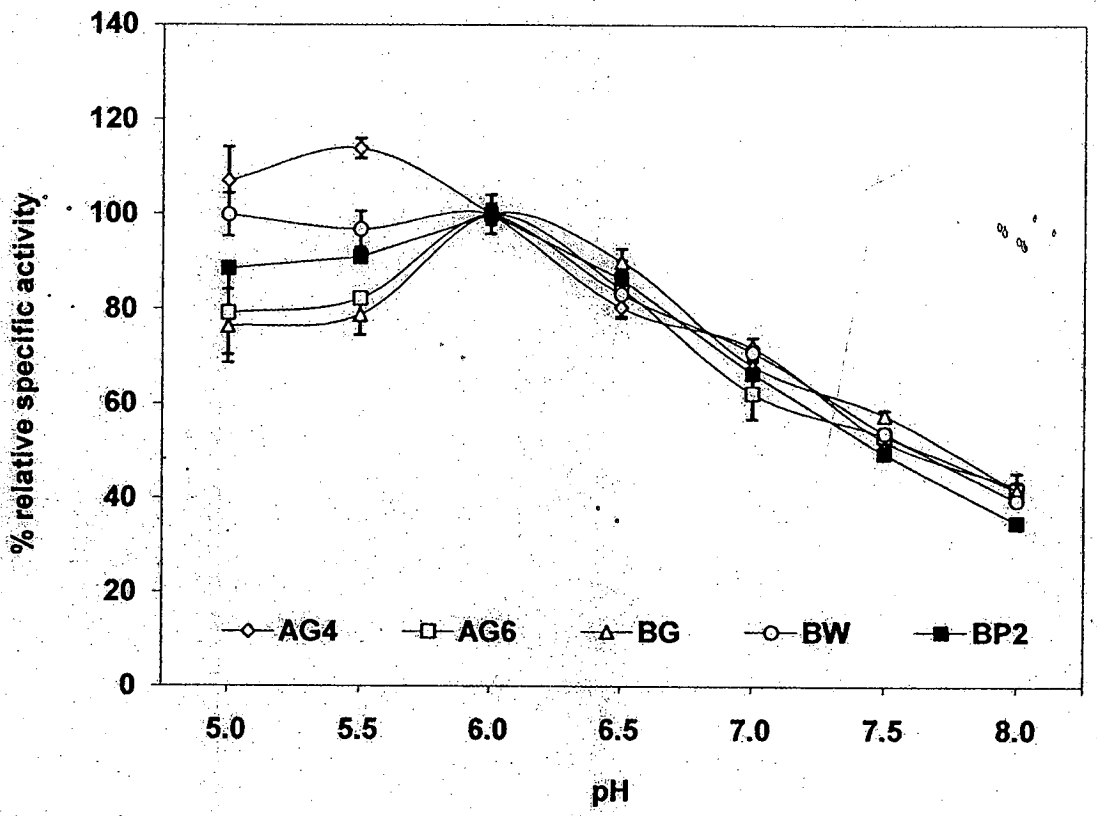


ภาพที่ 4 - 32 เปอร์เซ็นต์กิจกรรมของเอนไซม์ PPO สกัดจากผลมะเขือยาวสีขาว เมื่อทดสอบด้วยสับสเทรตชนิดต่าง เทียบกับการใช้ 4-MC ความเข้มข้น 10mM เป็นสับสเทรต

2.3 การศึกษา pH ที่เหมาะสม (Optimal pH)

จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของมะเขือทั้ง 5 สายพันธุ์เมื่อปรับ pH ของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ให้มีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 5.0 -8.0 แล้วนำค่ากิจกรรมที่วัดได้มาเปรียบเทียบกับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่วัดได้เมื่อใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช เท่ากับ 6.0 พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของมะเขือทุกสายพันธุ์ลดลงเมื่อ pH เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4 - 33) กิจกรรมเอนไซม์ PPO ของมะเขือทุกสายพันธุ์ลดลงประมาณ 50% เมื่อค่า pH ของฟอสเฟตบัฟเฟอร์เพิ่มขึ้นเท่ากับ 7.5

เมื่อค่าพีเอชของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ลดลงต่ำกว่า 6.0 กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่สกัดจากผลมะเขือทุกสายพันธุ์ลดลงเช่นกัน ยกเว้นมะเขือพวง (AG4) ที่มีกิจกรรมเพิ่มขึ้นเมื่อค่าพีเอชลดลง แต่มีแนวโน้มที่กิจกรรมของเอนไซม์ PPO จะลดลงอีกเมื่อค่า pH ต่ำลง เอนไซม์ PPO จากมะเขือพวงมีกิจกรรมสูงสุดเมื่อค่า pH ของฟอสเฟตบัฟเฟอร์เท่ากับ 5.5

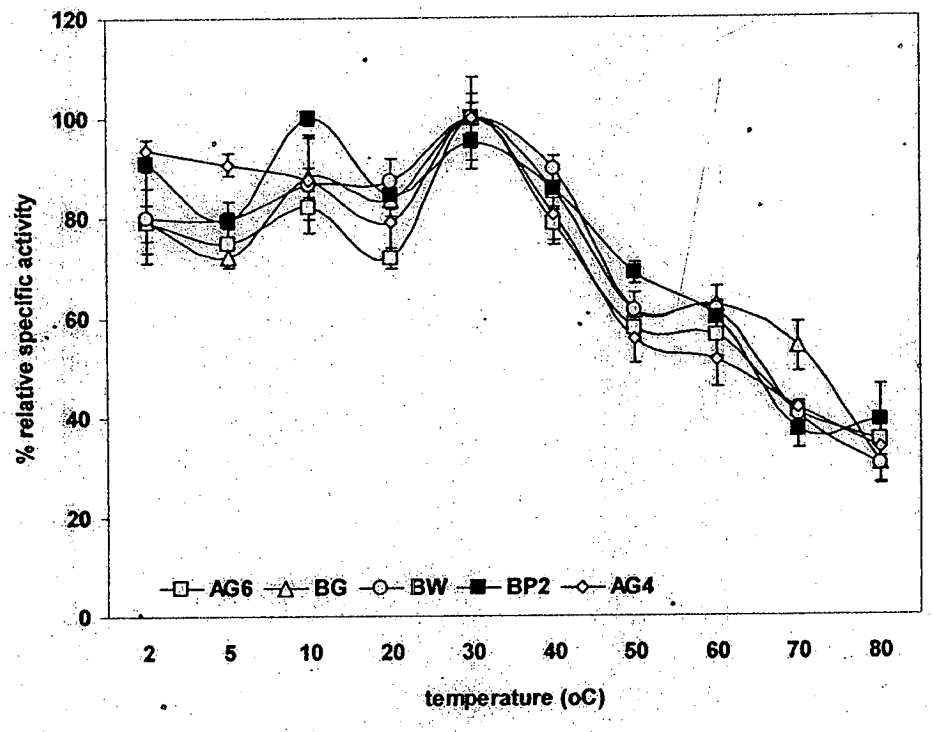


ภาพที่ 4 - 33 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของมะเขือชนิดต่างๆ ที่ระดับพีเอช 5.0-8.0 เมื่อใช้ 4-MC ความเข้มข้น 10mM เป็นสารสับสเทรต

2.4 การศึกษาช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับทำปฏิกิริยา (Optimal temperature)

จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของมะเขือทั้ง 5 สายพันธุ์เมื่ออยู่ระหว่างอุณหภูมิ 2 – 80 องศาเซลเซียส แล้วนำค่ากิจกรรมที่ได้มาเปรียบเทียบกับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่วัดได้เมื่ออุณหภูมิเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส พบว่า ที่ระดับอุณหภูมิ 2 -10 องศาเซลเซียส กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลดลงแตกต่างกัน (ภาพที่ 4 - 34) โดยเอนไซม์ PPO ที่สกัดจาก มะเขือเปราะเจ้าพระยา (AG6) มะเขือยาวสีเขียว (BG) มะเขือยาวสีขาว (BW) และมะเขือม่วงชินฮั้ว (BP2) มีกิจกรรมลดลงประมาณ 20% ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากมะเขือพวง (AG4) จะลดลงเพียง 10% เมื่อเปรียบเทียบกับกิจกรรมของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

กิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากมะเขือทุกสายพันธุ์จะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส โดยกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จะลดลงมากกว่า 50% เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส เมื่อเพิ่มอุณหภูมิถึง 80 องศาเซลเซียส พบว่า เอนไซม์ PPO ของมะเขือทุกสายพันธุ์ยังสามารถเกิดกิจกรรมได้ 20% เมื่อเปรียบเทียบกับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4 - 34 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากมะเขือชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิระหว่าง 2-80 ^{o}C เมื่อใช้ 4-MC ความเข้มข้น 10mM เป็นสารสับสเทรต

2.5 การศึกษาความสามารถในการทนอุณหภูมิและระยะเวลาที่ได้รับ (Thermal stability)

เอนไซม์ PPO จากมะเขือทั้ง 5 สายพันธุ์ มีความทนทานต่ออุณหภูมิสูงและระยะเวลาที่ได้รับแตกต่างกัน แต่กิจกรรมของเอนไซม์ PPO จะลดลงเมื่อได้รับอุณหภูมิสูงขึ้นและเป็นระยะเวลานานขึ้น เมื่อนำค่ากิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากมะเขือแต่ละสายพันธุ์ที่วัดได้เปรียบเทียบกับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่วัดเมื่ออุณหภูมิเท่ากับ 30 องศาเซลเซียสนาน 0 นาที พบว่า

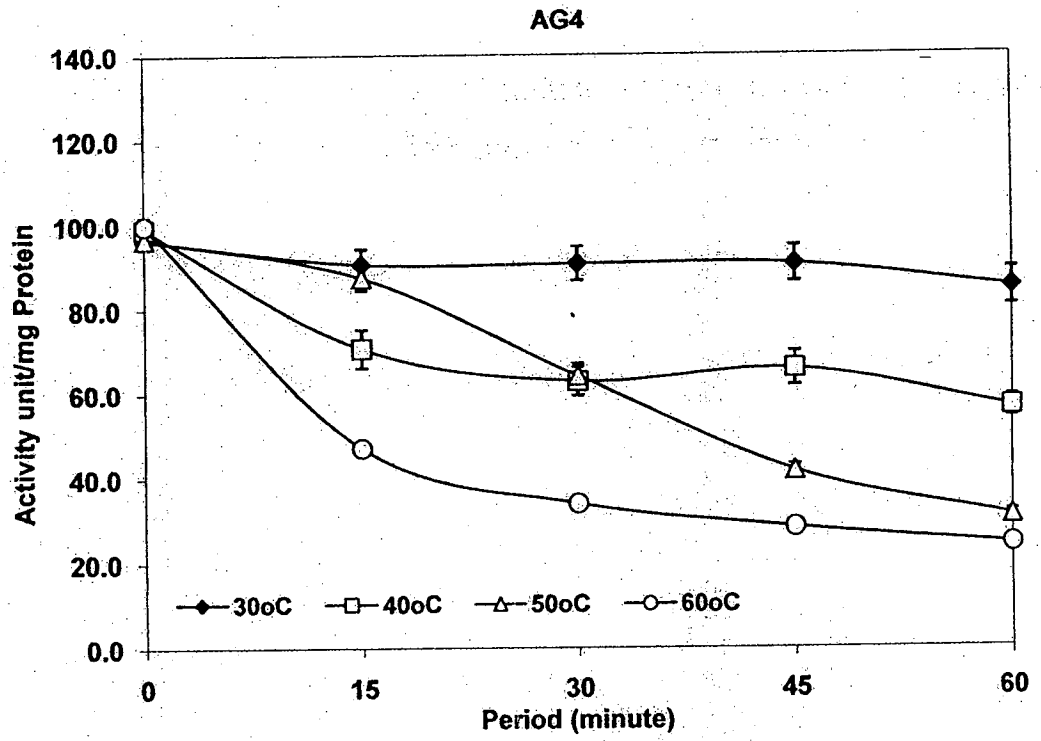
เอนไซม์ PPO ของมะเขือพวงมีความเสถียรที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 4 - 35) กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่วัดได้หลังจากได้รับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสนาน 60 นาทีลดลงเพียง 15% แต่เมื่อเอนไซม์ได้รับอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลดลง 53% และกิจกรรมของเอนไซม์เหลือ 24% เมื่อได้รับอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนาน 60 นาที

เอนไซม์ PPO ของมะเขือเปราะเจ้าพระยามีความเสถียรที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 4 - 36) กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ไม่มีการเปลี่ยนแปลงแม้ว่าจะบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสนาน 60 นาที แต่กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือเพียง 34% เมื่อได้รับอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที และมีกิจกรรมเหลืองเพียง 12% เมื่อบ่มที่ 60 องศาเซลเซียสนาน 60 นาที

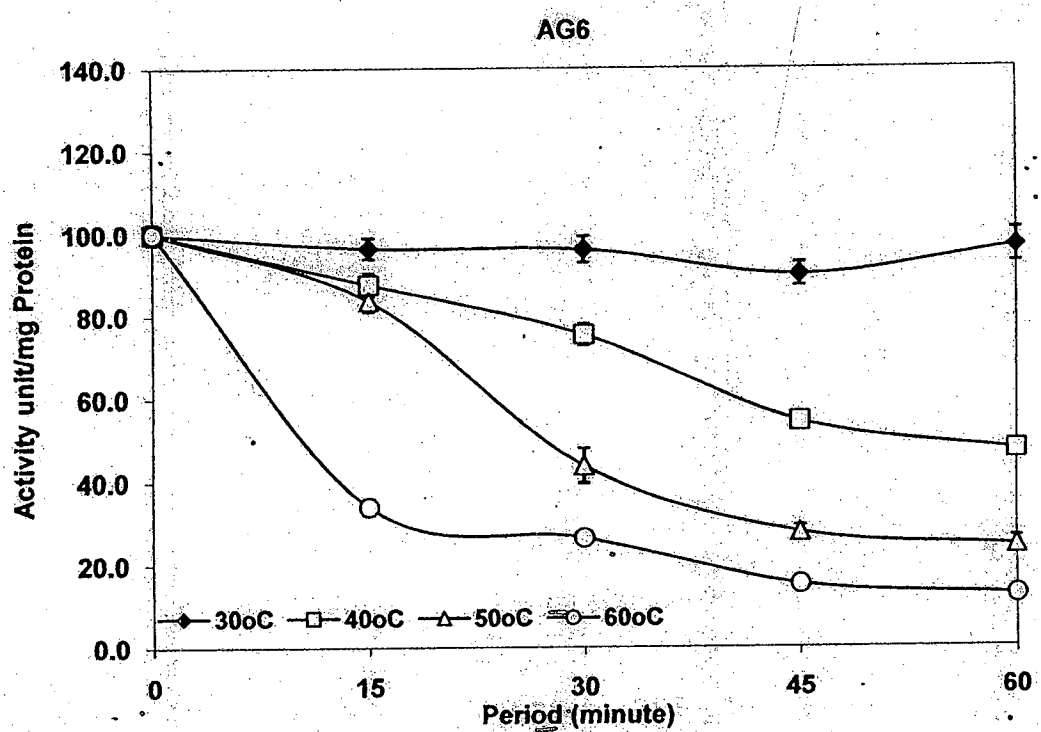
เอนไซม์ PPO ของมะเขือยาวสีเขียวมีความเสถียรที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 4 - 37) เอนไซม์ PPO ของมะเขือยาวสีเขียวยังสามารถเกิดกิจกรรมได้ดีแม้ว่าจะบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสนาน 60 นาที กิจกรรมของเอนไซม์ PPO จะลดลงมากกว่า 50% เมื่อบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนานกว่า 30 นาที แต่เมื่อเวลาบ่มนานขึ้น กิจกรรมของเอนไซม์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงแม้จะบ่มที่ 60 องศาเซลเซียสนาน 60 นาที

เอนไซม์ PPO ของมะเขือม่วงชินฮั่วจะค่อยๆ ลดลงหลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสตั้งแต่ 45 นาทีขึ้นไป เหลือเพียง 82% กิจกรรมของเอนไซม์ (ภาพที่ 4 - 38) PPO จะลดลงมากกว่า 50% เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที และกิจกรรมของเอนไซม์ PPO เหลือเพียง 18% เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนาน 60 นาที

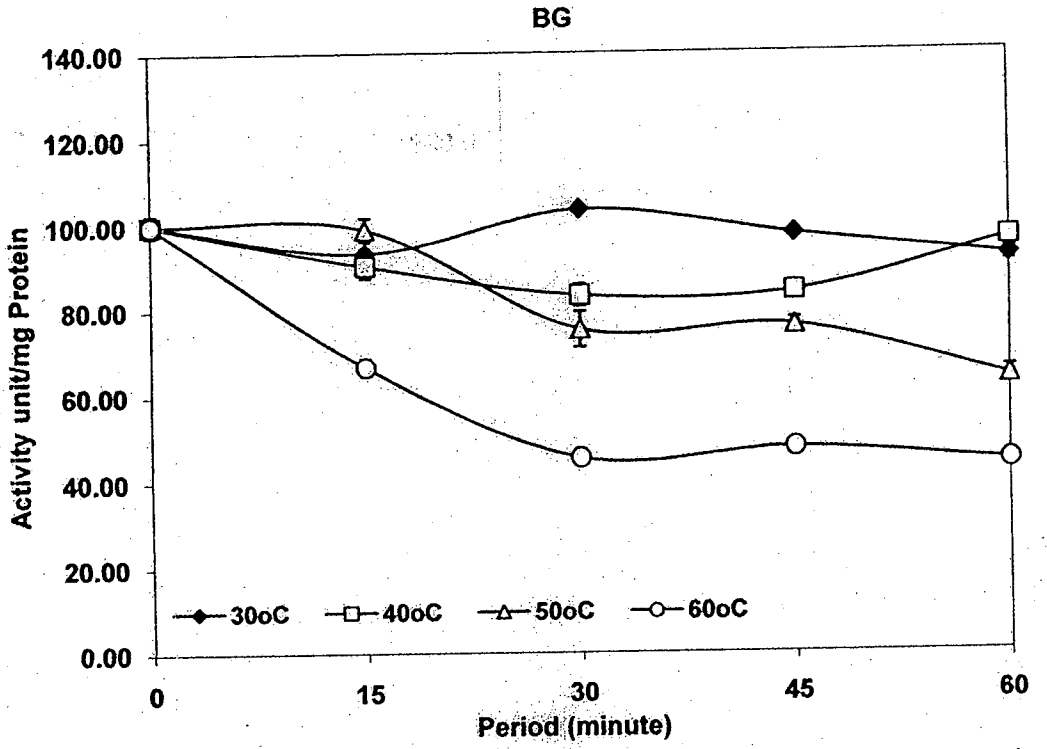
กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่สกัดจากผลมะเขือยาวสีขาวเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และกิจครรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการบ่มนานขึ้น (ภาพที่ 4 - 39) กิจกรรมของเอนไซม์ PPO จะลดลงมากกว่า 50% เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนานกว่า 15 นาที กิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากมะเขือยาวสีขาวยังมีกิจกรรมเหลืออยู่ 20% แม้จะบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนานถึง 60 นาที



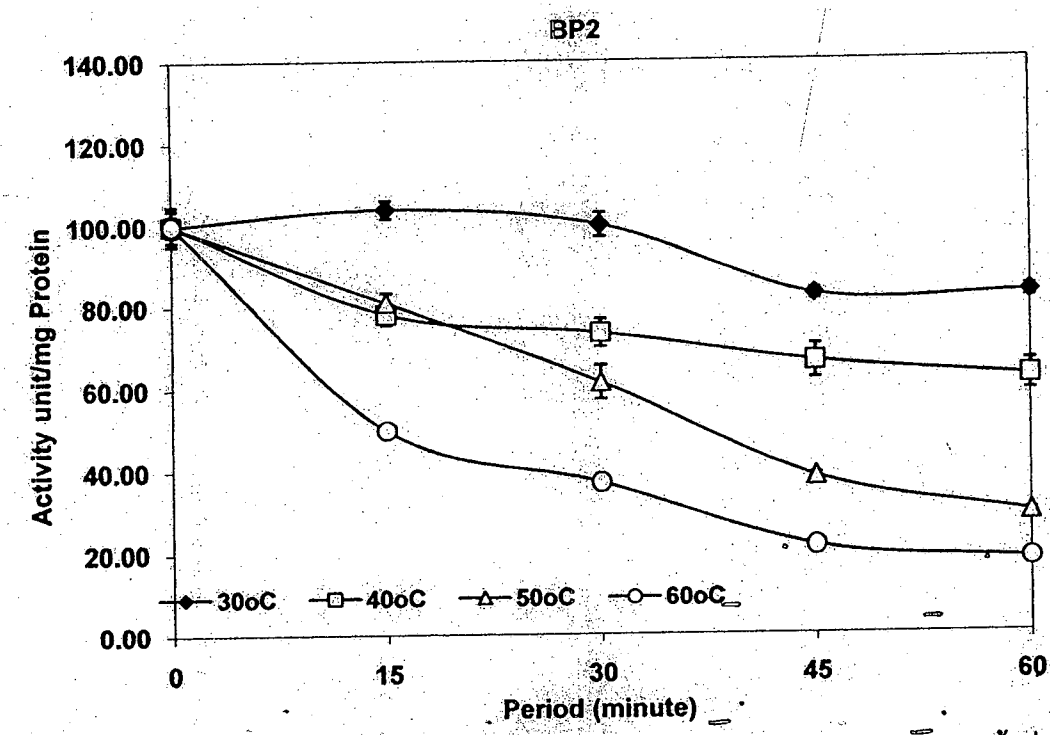
ภาพที่ 4 - 35 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO สกัดจากผลมะเขือพวงผ่านความร้อนระดับต่างๆ ด้วยระยะเวลา ตั้งแต่ 30-60 นาที



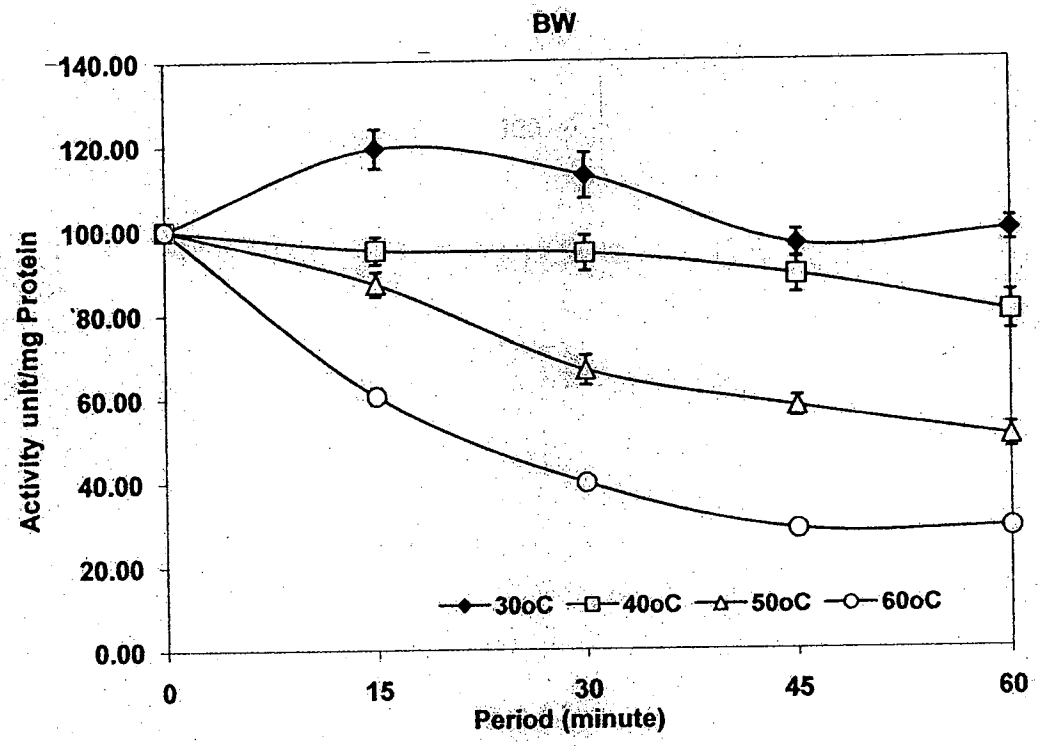
ภาพที่ 4 - 36 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO สกัดจากผลมะเขือเปราะเจ้าพระยาที่ผ่านความร้อนระดับต่างๆ ด้วยระยะเวลา ตั้งแต่ 30-60 นาที



ภาพที่ 4 - 37 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO สกัดจากผลมะเขือยาวสีเขียวที่ผ่านความร้อนระดับต่างๆ ด้วยระยะเวลา ตั้งแต่ 30-60 นาที



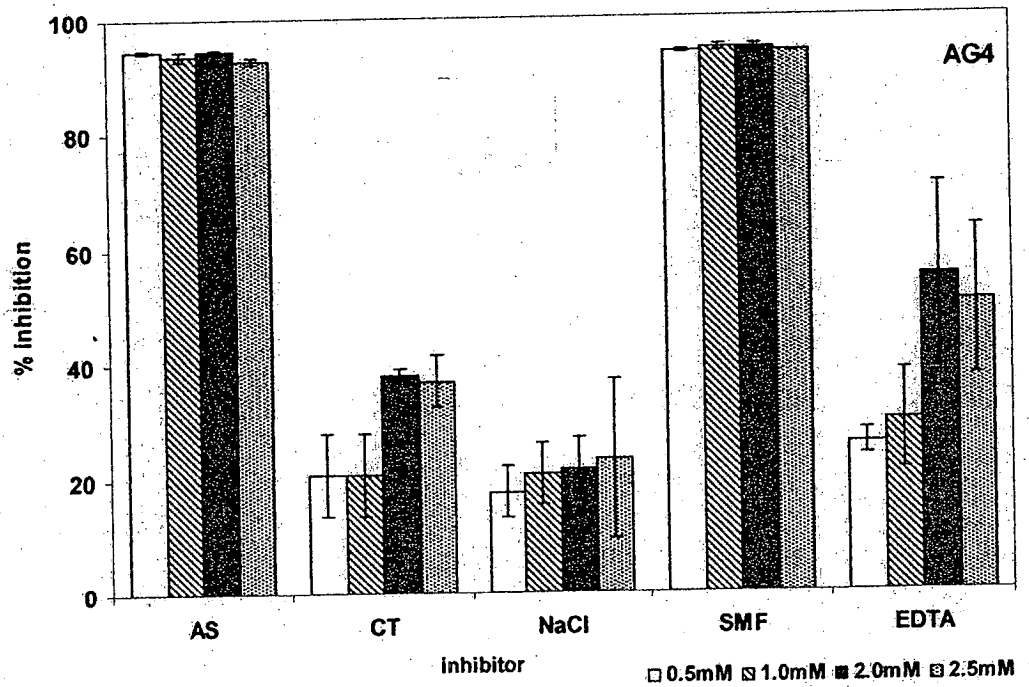
ภาพที่ 4 - 38 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO สกัดจากผลมะเขือยาวชินฮั้วที่ผ่านความร้อนระดับต่างๆ ด้วยระยะเวลา ตั้งแต่ 30-60 นาที



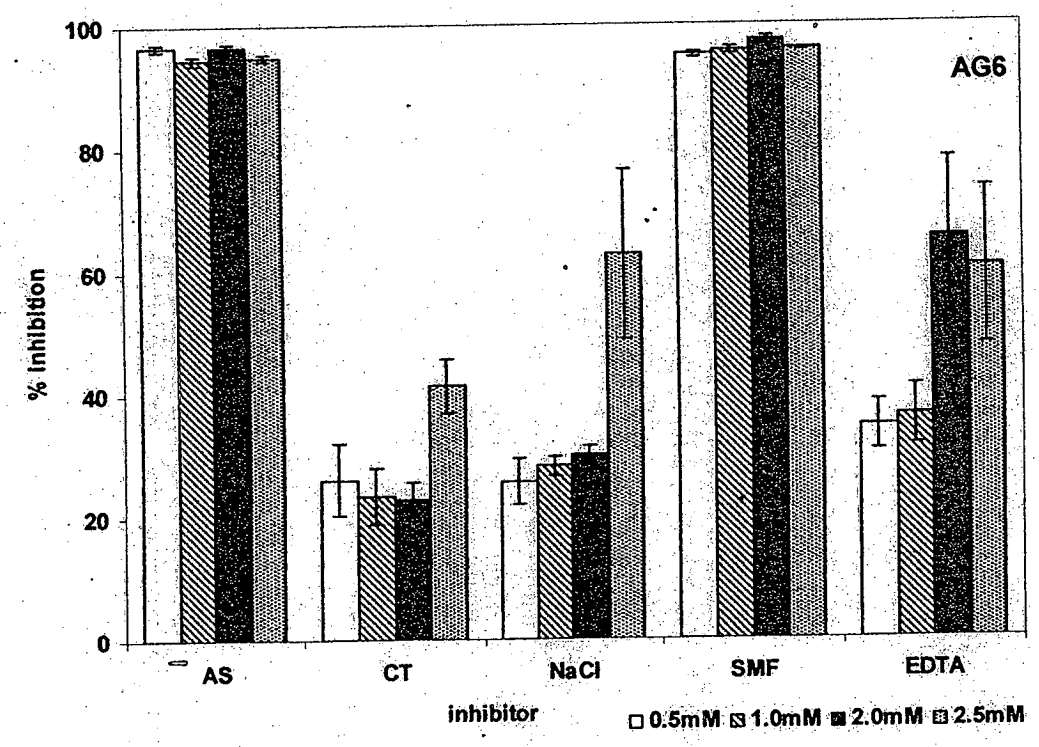
ภาพที่ 4 - 39 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO สกัดจากผลมะเขือยาวสีขาวที่ผ่านความร้อนระดับต่างๆ ด้วยระยะเวลาที่ตั้งแต่ 30-60 นาที

2.6 การศึกษาสารยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ (enzyme inhibitors)

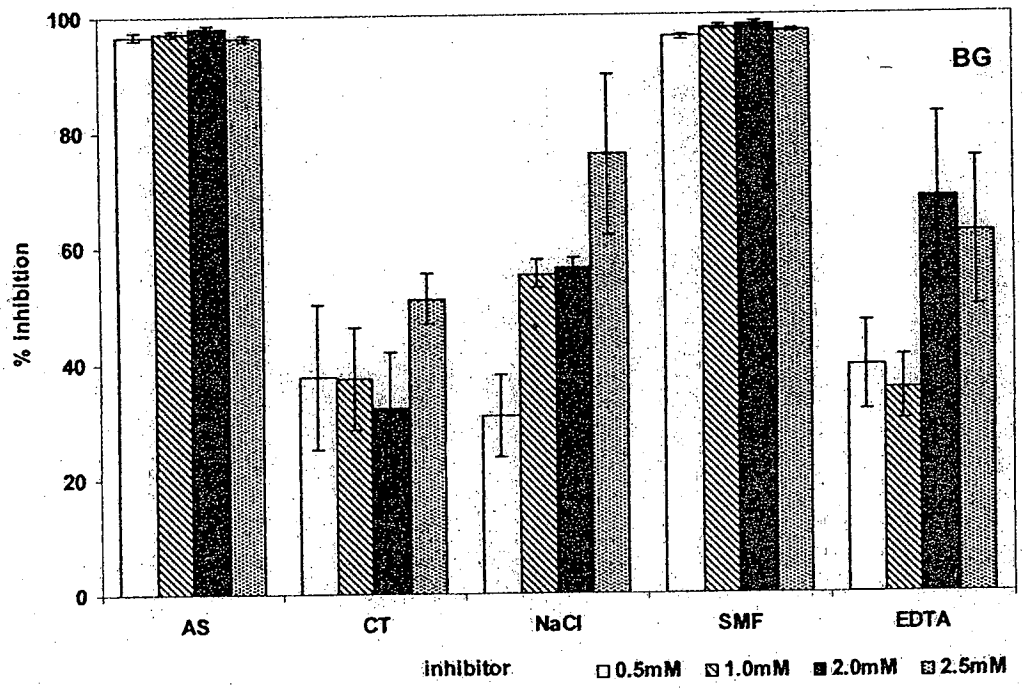
จากการศึกษาผลของสารยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ 5 ชนิดคือ กรดแอสคอร์บิก (AS) กรดซิทริก (CT) เกลือแกง (NaCl) โซเดียมเมทาไบซัลไฟต์ (SMF) และ Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) ที่ 4 ระดับความเข้มข้น (0.5, 1.0, 2.0 และ 2.5mM) ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากมะเขือ 5 สายพันธุ์ พบว่า กรดแอสคอร์บิก และ โซเดียมเมทาไบซัลไฟต์ เป็นสารที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากมะเขือทุกสายพันธุ์ (ภาพที่ 4 - 40 -ภาพที่ 4 - 44) โดยสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO มากกว่า 95% เมื่อใช้ความเข้มข้นเพียง 0.5mM EDTA สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากมะเขือแต่ละสายพันธุ์ได้มากกว่า 50% เมื่อใช้ความเข้มข้นตั้งแต่ 2mM กรดซิทริกและเกลือแกงมีประสิทธิภาพต่ำที่สุดในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากมะเขือทั้ง 5 สายพันธุ์



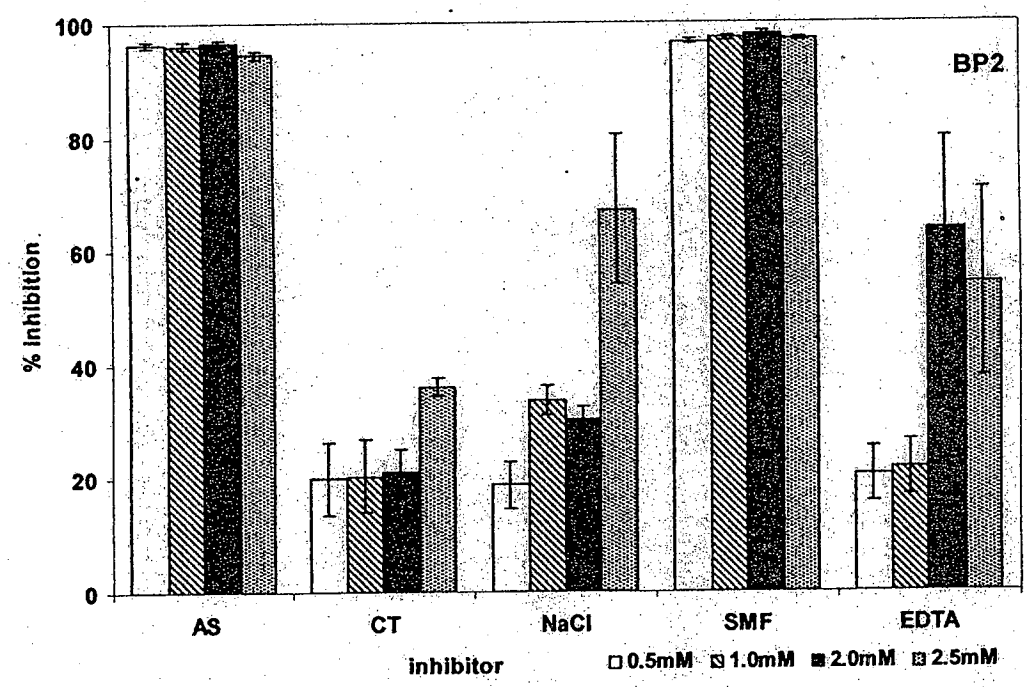
ภาพที่ 4 - 40 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากมะเขือพวงเมื่อใช้สารยับยั้งชนิดต่างๆ ที่มีความเข้มข้น 4 ระดับ



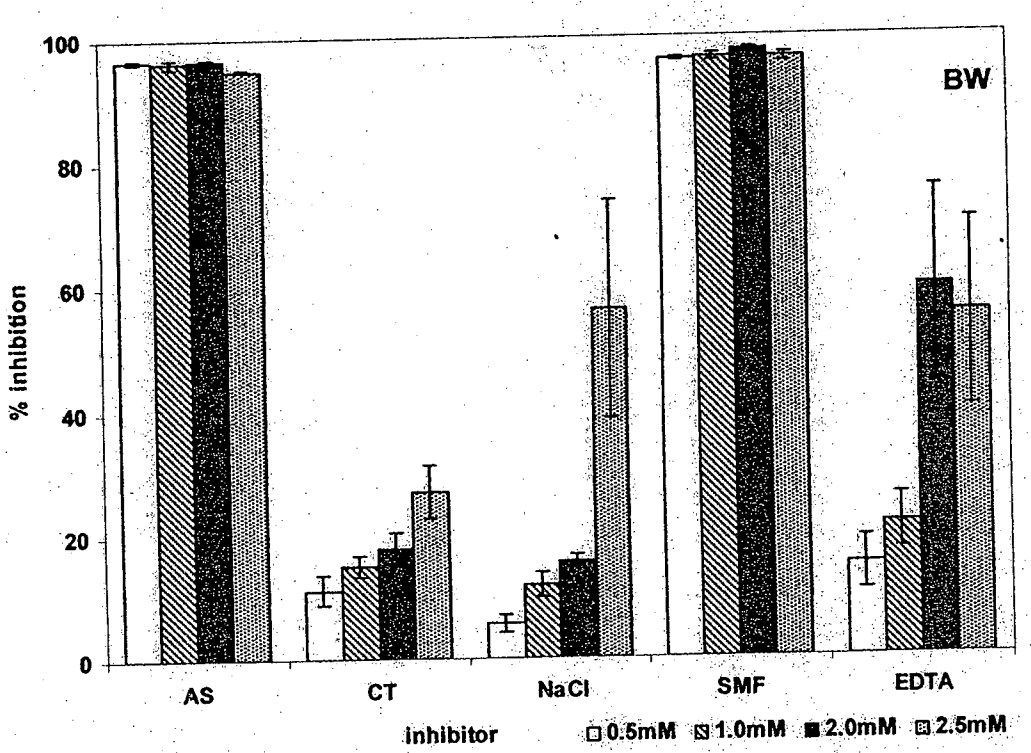
ภาพที่ 4 - 41 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากมะเขือเปราะเจ้าพระยาเมื่อใช้สารยับยั้งชนิดต่างๆ ที่มีความเข้มข้น 4 ระดับ



ภาพที่ 4 - 42 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากมะเขือยาวสีเขียวเมื่อใช้สารยับยั้งชนิดต่างๆ ที่มีความเข้มข้น 4 ระดับ



ภาพที่ 4 - 43 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากมะเขือม่วงชินฮั่ว (BP2) เมื่อใช้สารยับยั้งชนิดต่างๆ ที่มีความเข้มข้น 4 ระดับ



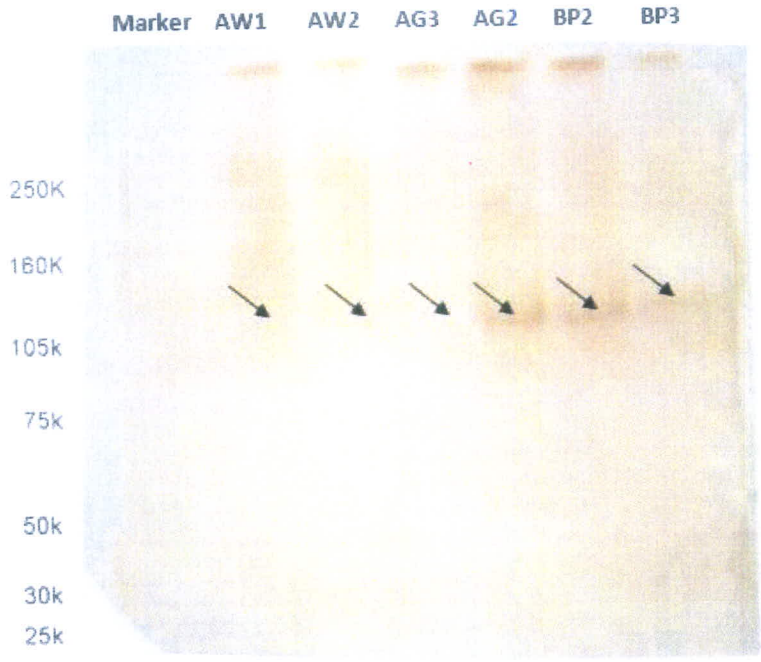
ภาพที่ 4 - 44 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากมะเขือยาวสีขาวเมื่อใช้สารยับยั้งชนิดต่างๆ ที่มีความเข้มข้น 4 ระดับ

2.7 การศึกษารูปแบบการกระจายตัวของ PPO และกิจกรรมบนสับสเทรต (Partial separation and activity on substrate immersed paper)

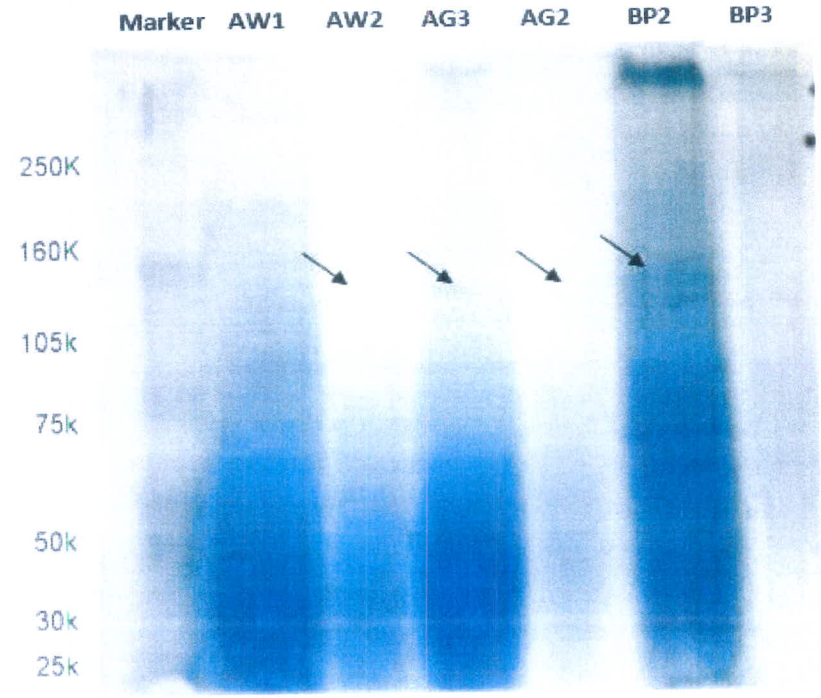
เมื่อนำเอนไซม์ PPO ที่สกัดได้จากมะเขือสายพันธุ์ต่างๆ มาแยกขนาดของโปรตีนด้วยเทคนิค non-denatured electrophoresis เพื่อศึกษารูปแบบการกระจายตัวของโปรตีนและตรวจสอบกิจกรรมของโปรตีนที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารประกอบฟีนอลที่อยู่บนกระดาษกรองและเกิดแถบสีน้ำตาลขึ้น ซึ่งบ่งบอกว่าเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากการศึกษาพบว่า สับสเทรตที่เหมาะสมสำหรับการใช้ทำ substrate immersed paper คือ สาร catechol ความเข้มข้น 10mM เมื่อนำกระดาษกรองที่อิ่มตัวด้วยสารละลาย catechol มาทดสอบกับ แถบโปรตีนที่แยกด้วยกระแสไฟฟ้า และใช้ acrylamide gel ความเข้มข้น 7% พบว่า เกิดแถบสีน้ำตาลขึ้นดังภาพที่ 4 - 45 และเมื่อนำแผ่น acrylamide gel ที่ใช้ปริมาณโปรตีนเท่ากันและแยกแถบโปรตีนในเวลาเดียวกัน มาย้อมด้วยสีย้อม Coomassie blue เพื่อศึกษารูปแบบการกระจายตัวของโปรตีนจากเอนไซม์ PPO (ภาพที่ 4 - 46) พบว่า มีแถบของโปรตีนที่มีตำแหน่งเดียวกับบริเวณที่เกิดสีน้ำตาลบนเจลที่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลบนกระดาษสับสเทรต ซึ่งมีขนาดประมาณ 160kD

เมื่อนำเอนไซม์ PPO ที่ได้จากมะเขือบางสายพันธุ์เป็นตัวแทนของมะเขือแต่ละกลุ่มสีผลและมีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO สูง มาแยกแถบโปรตีนและวางบนกระดาษ catechol พบว่ามะเขือแต่ละสายพันธุ์มีรูปแบบการกระจายตัวของโปรตีนที่สามารถใช้ catechol เปลี่ยนเป็นแถบสีน้ำตาลได้ แตกต่างกันไป (ภาพที่ 4 - 47) ตัวอย่างเช่น มะเขือพวง (AG4) ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO สูงมาก พบว่ามี แถบสีน้ำตาลเกิดขึ้น 2 แถบ คือ แถบโปรตีนที่มีขนาดประมาณ 160 kDa และ 60 kDa ส่วนมะเขือในกลุ่มสีเขียว คือ มะเขือยาวสีเขียว (BG) มีแถบสีน้ำตาลที่เกิดจากกิจกรรมของโปรตีนขนาดใกล้เคียงกับแถบสีน้ำตาลของมะเขือเปราะเจ้าพระยา (AG6) และของมะเขือเปราะสีขาว (AW1)

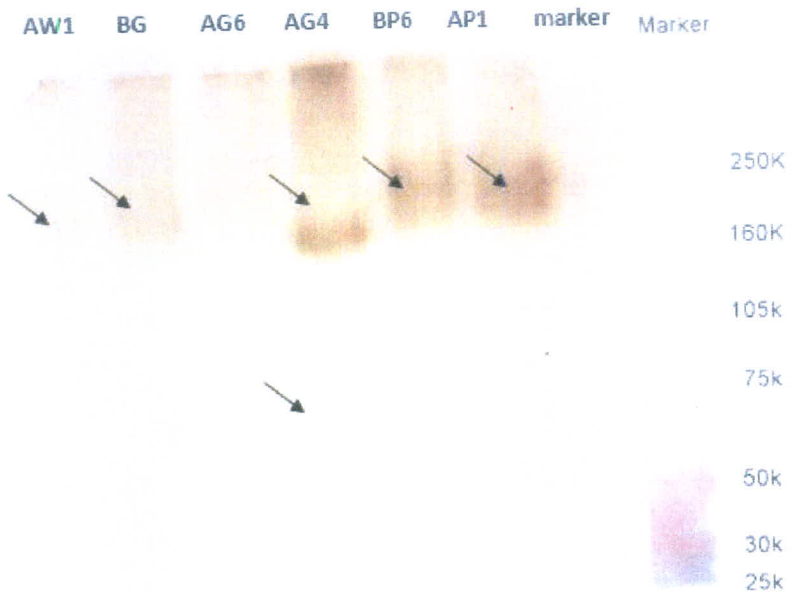
นำเอนไซม์ PPO ที่สกัดจากผลมะเขือม่วงซินฮั้ว (BP2)ระยะต่างๆ ระหว่างการเจริญมาแยกแถบโปรตีนและและวางบนกระดาษ catechol พบว่า เกิดแถบสีน้ำตาลขึ้น 2 ชุด คือ ชุด A และ ชุด B (ภาพที่ 4 - 48) โดย แถบสีน้ำตาลชุด A พบได้ตั้งแต่ผลของมะเขือม่วงซินฮั้วอายุ 6 วัน และแถบสีน้ำตาลมีขนาดใหญ่สุดเมื่อผลมะเขือมีอายุ 18 วันก่อนที่แถบสีน้ำตาลจะจางลง และหายไปในเมื่อผลมะเขืออายุได้ 30 วัน ซึ่งเกิดจากโปรตีนที่มีขนาดประมาณ 150 kDA ส่วนแถบสีน้ำตาลชุด B มีแถบสีน้ำตาลทั้งหมด 3 แถบ พบได้เมื่อผลมะเขือมีอายุ 18 และ 24 วัน ซึ่งทั้งสองวันนั้น แถบสีน้ำตาลทั้ง 3 แถบมีความเข้มไม่แตกต่างกัน ซึ่งอาจเกิดจากโปรตีน 3 แถบ ที่มีขนาดอยู่ระหว่าง 40 – 60 kDa



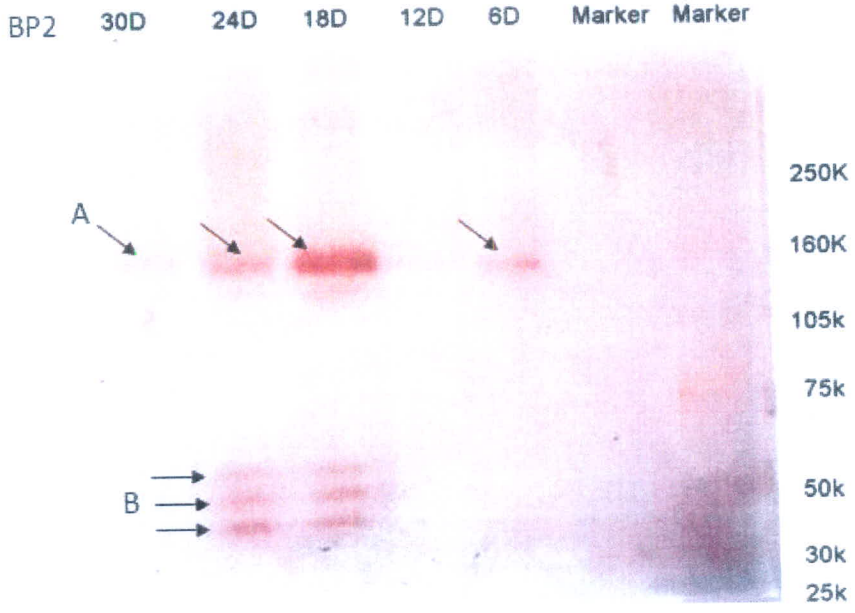
ภาพที่ 4 - 45 แถบของสารประกอบสีน้ำตาล (ลูกศรชี้) แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของมะเขือ ที่ใช้ catechol ความเข้มข้น 10mM บนกระดาษกรองเป็นสับสเทรต



ภาพที่ 4 - 46 แถบโปรตีนที่แยกด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซีส บน acrylamide gel ความเข้มข้น 7% และย้อมด้วยสี Coomassie blue ที่สอดคล้องกับแถบสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นบน assay gel



ภาพที่ 4 - 47 แถบสารประกอบสีน้ำตาล (ลูกศรชี้) แสดงถึงกิจกรรมเอนไซม์ PPO บนแถบโปรตีนของเอนไซม์ PPO จากผลมะเขือบางสายพันธุ์



ภาพที่ 4 - 48 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO บนแถบโปรตีนที่แยกได้จากเอนไซม์ PPO ของผลมะเขือม่วงซินฮั้ว (BP2) ระหว่างการเจริญเติบโต