



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์การอาหาร

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารพฤกษเคมีใน
น้ำองุ่น 6 สายพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทย

Effects of Cultivar and Pressing Method on Antioxidant Capacity and Phytochemicals in
Grape Juice from Six Cultivars in Thailand

นามผู้วิจัย นายฉัตรชัยนนท์ พิลาทอง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ศศิธร ตรงจิตภักดี, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณี จิระภาคย์กุล, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณี จิระภาคย์กุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญจนา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารพฤกษเคมีในน้ำองุ่น 6
สายพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทย

Effects of Cultivar and Pressing Method on Antioxidant Capacity and Phytochemicals in Grape
Juice from Six Cultivars in Thailand

โดย

นายฉัตรชัยนันท์ พิลาทอง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)

พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ฉัตรชัยนันทน์ พิลาทอง 2555: ผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารพฤกษเคมีในน้ำองุ่น 6 สายพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทย ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร) สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์ศศิธร ตรงจิตภักดี, Ph.D. 108 หน้า

งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารพฤกษเคมีในน้ำองุ่นที่ได้จาก องุ่นทำไวน์ สายพันธุ์ Shiraz Tempranillo และ สายพันธุ์ Cabernet sauvignon และองุ่นรับประทานสด สายพันธุ์ Black rose สายพันธุ์ Black queen และสายพันธุ์ Black opor โดยใช้วิธีการคั้นน้ำองุ่น 5 วิธี คือ การคั้นน้ำองุ่นด้วยการใช้ความร้อน (hot press non enzyme) (HPN) การคั้นน้ำองุ่นโดยไม่ใช้ความร้อน (cold press non enzyme) (CPN) การคั้นน้ำองุ่นด้วยการใช้ความร้อนร่วมกับเอนไซม์ (hot press enzyme) (HPE) การคั้นน้ำองุ่นโดยไม่ใช้ความร้อนร่วมกับเอนไซม์ (cold press enzyme) (CPE) และวิธีควบคุม โดยตรวจสอบผลผลิตน้ำองุ่น สี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ปริมาณโปรแอนโทไซยานินดิส ความสามารถต้านออกซิเดชัน (สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) นอกจากนั้นยังตรวจสอบปริมาณมัลลวีน-3-กลูโคไซด์และปริมาณเรสเวอร่าทรอลด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) จากผลการทดลองพบว่า ผลผลิตน้ำองุ่นมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 65.6 ถึง 82.4 โดยพบว่าองุ่นสายพันธุ์ Black opor ให้ผลผลิตน้ำองุ่นมากที่สุด เมื่อคั้นน้ำด้วยวิธี HPE และยังพบว่า การให้ความร้อนก่อนการคั้นน้ำช่วยเพิ่มผลผลิตน้ำองุ่นเฉลี่ยประมาณร้อยละ 2 และส่งผลต่อค่าสีโดยทำให้น้ำองุ่นมีสีน้ำเข้มมากกว่าการไม่ใช้ความร้อน เมื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่ามีค่าอยู่ในช่วงตั้งแต่ 310.3 ถึง 1,490.5 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อลิตรและคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันมีค่าอยู่ในช่วงตั้งแต่ 82.0 ถึง 1,474.0 มิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซีต่อลิตร โดยองุ่นสายพันธุ์ Tempranillo มีสารประกอบฟีนอลิกและคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันเฉลี่ยมากที่สุด ($p \leq 0.05$) เมื่อใช้วิธีการคั้นน้ำแบบ HPE และ HPN จากผลการทดลองยังพบว่า องุ่นสายพันธุ์ Cabernet sauvignon มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมากที่สุด ($p \leq 0.05$) เมื่อใช้วิธีคั้นน้ำแบบ HPN โดยมีค่าเท่ากับ 384.9 มิลลิกรัมของมัลลวีน-3-กลูโคไซด์ต่อลิตร นอกจากนี้การศึกษาปริมาณโปรแอนโทไซยานินดิสยังพบว่า องุ่นสายพันธุ์ Tempranillo มีโปรแอนโทไซยานินดิสมากที่สุด ($p \leq 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 2,860.7 มิลลิกรัมสมมูลของแคเทคินต่อลิตร เมื่อศึกษาปริมาณมัลลวีน-3-กลูโคไซด์ (HPLC) พบว่าองุ่นสายพันธุ์ Cabernet sauvignon ในวิธีการคั้นน้ำแบบ HPN มีปริมาณมัลลวีน-3-กลูโคไซด์มากที่สุด ($p \leq 0.05$) มีค่าเท่ากับ 291 มิลลิกรัมต่อลิตร และส่วนองุ่นสายพันธุ์ Syrah มีปริมาณเรสเวอร่าทรอลมากที่สุด ($p \leq 0.05$) โดยวิธีการคั้นน้ำแบบ HPE มีค่าเท่ากับ 4.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

Chatchainon Pilathong 2012: Effects of Cultivar and Pressing Method on Antioxidant Capacity and Phytochemicals in Grape Juice from Six Cultivars in Thailand. Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Mrs. Sasitorn Tongchitpakdee, Ph.D. 108 pages.

The objectives of this study were to investigate the effects of cultivar and processing method on the antioxidant capacity and phytochemicals of grape juice obtained from wine grapes (cv. Shiraz, cv. Tempranillo and cv. Cabernet sauvignon) and table grape (cv. Black rose, cv. Black queen and cv. Black opor). Five pressing methods, including hot press non enzyme (HPN), cold press non enzyme (CPN), hot press enzyme (HPE), cold press enzyme (CPE) and control, were used in this study. Juice yield, juice color, total phenolic content, total monomeric anthocyanin contents, total proanthocyanidin and antioxidant capacity (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) were also evaluated. Malvidin-3-glucoside and resveratrol were determined using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The results showed that juice yield ranged from 65.6 to 82.4 %. Black opor juice with HPE treatment has the highest juice yield. In general, heating increased average juice yield approximately 2% . Heating also increased juice color. Total phenolic content varied from 310.3 to 1,490.5 mg gallic acid equivalents/L. The DPPH radical-scavenging capacity of grape juice ranged from 82.0 to 1,474.0 mg vitamin C equivalents/L. Tempranillo juice treated with HPE and HPN had the total phenolic content and DPPH radical scavenging capacity. Cabernet sauvignon juice treated with HPN had the highest total monomeric anthocyanin (384.9 mg malvidin-3-glucoside/L). Tempranillo juice also had the highest total proanthocyanidin highest (2,860.7 mg catechin equivalents/L). HPLC analysis showed that Cabernet sauvignon juice treated with HPN contained the highest amount of malvidin-3-glucoside (291mg/L), while Syrah treated with HPE contained the highest amount of resveratrol (4.2mg/L).

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

กราบขอบพระคุณ ดร. ศศิธร ตรงจิตภักดี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณิ จิรภาคย์กุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษาในการเรียน การค้นคว้าวิจัย ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ ขอบพระคุณ ดร. กุลนาถ ทองขาว ประธานการสอบสัมภาษณ์ขั้นสุดท้าย และ ดร. ลูกจันทร์ ภักฤษพันธ์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกที่ตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณทุนสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และบริษัท บี บี โฮลดิ้ง จำกัด (สาขาปากช่อง) ที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องนํ้าสำหรับการวิจัย

ขอขอบคุณ เพื่อนๆ พี่ๆ ปริญญาโท และพี่ๆ ปริญญาเอก รวมทั้งน้องๆ ในห้องปฏิบัติการทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือ คำปรึกษาและกำลังใจตลอดการทำการวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำการวิจัยผ่านไปได้ด้วยดี

สุดท้ายกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ผู้ซึ่งให้การสนับสนุนในการเรียน และกำลังใจที่มีให้ตลอดมา ขอขอบคุณพี่ขวัญ น้องฝน น้องยู๋รวมถึงสมาชิกทุกคนในครอบครัว ที่คอยให้กำลังใจเสมอมาตลอดการศึกษาในระดับปริญญาโท

ฉัตรชัยนนท์ พิลาทอง

กันยายน 2555

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	35
อุปกรณ์	35
วิธีการ	38
ผลและวิจารณ์	45
สรุปและข้อเสนอแนะ	78
สรุป	78
ข้อเสนอแนะ	79
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	80
ภาคผนวก	97
ภาคผนวก ก แผนการทดลอง	98
ภาคผนวก ข กราฟสารมาตรฐาน	100
ภาคผนวก ค วิธีการทำน้ำอุ่น	104
ภาคผนวก ง สภาพภูมิอากาศระหว่างการปลูกอุ่น	106
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	108

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ชนิดของแอนโทไซยานินที่พบมากที่สุดในพื้นที่ทั้ง 6 ชนิด และตำแหน่งการเติมหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) และหมู่เมทิล (methyl)	8
2	น้ำหนักของผลอ่อนและร้อยละของปริมาณเมล็ดของอ่อนดำทั้ง 6 สายพันธุ์	45
3	ค่าสี L^* a^* b^* ของน้ำอ่อนทั้ง 6 สายพันธุ์	54
4	ปริมาณกรดคาร์ตริก (กรัมต่อลิตร), ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมด ($^{\circ}$ Brix)	58
5	ความสัมพันธ์ของคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารพฤกษเคมีในน้ำอ่อน	77
ตารางผนวกที่		
ก1	แผนการทดลอง	99
ง1	สภาพภูมิอากาศเฉลี่ยตลอดฤดูกาลปลูก	107

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของผลองุ่น	3
2	โครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานิน	7
3	การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานินที่ความเป็นกรด-ด่างต่างๆ	9
4	โครงสร้างพื้นฐานของโปรแอนโทไซยานินดิส	14
5	โครงสร้างของเรสเวอราทรอล	16
6	กลไกการสังเคราะห์เรสเวอราทรอล	17
7	โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก	31
8	กลไกการทำงานของเอนไซม์เพคตินเอส	33
9	ผลองุ่นสายพันธุ์ต่างๆที่ใช้ในการทดลอง	46
10	ผลผลิตน้ำองุ่น 6 สายพันธุ์ที่คั้นน้ำด้วยกรรมวิธีแตกต่างกัน	48
11	ความจางของสีน้ำองุ่น	51
12	ความเข้มของสีน้ำองุ่น	52
13	ภาพตัวอย่างของน้ำองุ่น	53
14	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์	60
15	ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในน้ำองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์	64
16	ปริมาณโปรแอนโทไซยานินทั้งหมดในน้ำองุ่นดำทั้ง 6 สายพันธุ์	66
17	สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำองุ่นดำทั้ง 6 สายพันธุ์	68
18	ปริมาณมัลลวินิก-3-กลูโคไซด์ของน้ำองุ่นดำทั้ง 6 สายพันธุ์	70
19	ตัวอย่าง HPLC โครมาโตแกรมของมัลลวินิก-3-กลูโคไซด์	72
20	ปริมาณของเรสเวอราทรอลของน้ำองุ่นดำทั้ง 6 สายพันธุ์	73
21	ตัวอย่าง HPLC โครมาโตแกรมของเรสเวอราทรอล	75

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
ข1 กราฟมาตรฐานของวิตามินซีสำหรับตรวจสอบ สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	101
ข2 กราฟมาตรฐานของแคเทคินสำหรับตรวจสอบปริมาณ โพรแอนโทไซยานินส์ทั้งหมด	101
ข3 กราฟมาตรฐานของเรสเวอราทรอล	102
ข4 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกสำหรับการตรวจวัดปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	102
ข5 กราฟมาตรฐานของมัลวิน-3-กลูโคไซด์	103
ค1 กรรมวิธีการผลิตน้ำองุ่น	105

ผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารพฤกษเคมีใน น้ำองุ่น 6 สายพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทย

Effects of Cultivar and Pressing Method on Antioxidant Capacity and Phytochemicals in Grape Juice from Six Cultivars in Thailand

คำนำ

องุ่นเป็นไม้เลื้อยจัดอยู่ในวงศ์ Vitaceae มีชื่อสกุลว่า Vitis องุ่นจะเจริญได้ดีและมีคุณภาพในบริเวณที่มีอากาศอบอุ่น เย็น ฝนตกน้อย องุ่นเป็นพืชที่ปลูกเพื่อนำผลมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลายเช่น การทำไวน์จากองุ่น น้ำองุ่นและรับประทานสด นอกจากนี้ยังสามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆได้ โดยผลองุ่นทั้งผลประกอบด้วยส่วนของเปลือก เนื้อ และเมล็ดซึ่งในแต่ละส่วนอุดมไปด้วยสารต้านออกซิเดชันเช่น แอนโทไซยานินส์ แทนนิน เรสเวอร่าทรอล (resveratrol) โดยแอนโทไซยานินส์ส่วนใหญ่จะพบในส่วนของเปลือก และโดยเฉพาะในเปลือกองุ่นดำและแดงเป็นส่วนมาก (Iacopini *et al.*, 2008) โดยปกติแอนโทไซยานินส์ในองุ่นทำไวน์จะมีมากกว่าองุ่นรับประทานสด (Liang *et al.*, 2008) แอนโทไซยานินส์มีบทบาทสำคัญในการลดการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ ช่วยในการมองเห็น อีกทั้งยังมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน และต้านการเกิดมะเร็ง สามารถพบได้ทั่วไปในผักและผลไม้ต่างๆ เช่น สตรอเบอร์รี่ ผักกาดแดง บลูเบอร์รี่ องุ่นแบล็กเบอร์รี่ ราสเบอร์รี่แดง พลัม เป็นต้น (Shahidi and Naczk, 2004; Stintzing and Carle, 2004; Giusti and Wrolstad, 2005) สายพันธุ์องุ่นที่ปลูกในประเทศไทยมีความหลากหลายเช่น องุ่นขาว องุ่นแดงและองุ่นดำ โดยสามารถแบ่งเป็นองุ่นทำไวน์ตัวอย่างเช่น Shiraz, Tempranillo และ Cabernet sauvignon องุ่นรับประทานสดตัวอย่างเช่น Black rose, Black queen และ Black opor เป็นต้น ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาสายพันธุ์องุ่นที่ปลูกในประเทศไทย เนื่องจากภูมิประเทศและสภาพภูมิอากาศแตกต่างจากประเทศต้นกำเนิดของสายพันธุ์องุ่น ปริมาณสารสำคัญที่พบย่อมมีความแตกต่างกันและวิธีการคั้นน้ำที่แตกต่างกันย่อมให้ปริมาณสารสำคัญที่แตกต่างจึงมีวัตถุประสงค์ในการทดลองเพื่อศึกษาผลของสายพันธุ์องุ่นและวิธีการคั้นน้ำต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารพฤกษเคมีของน้ำองุ่นที่ปลูกในประเทศไทย

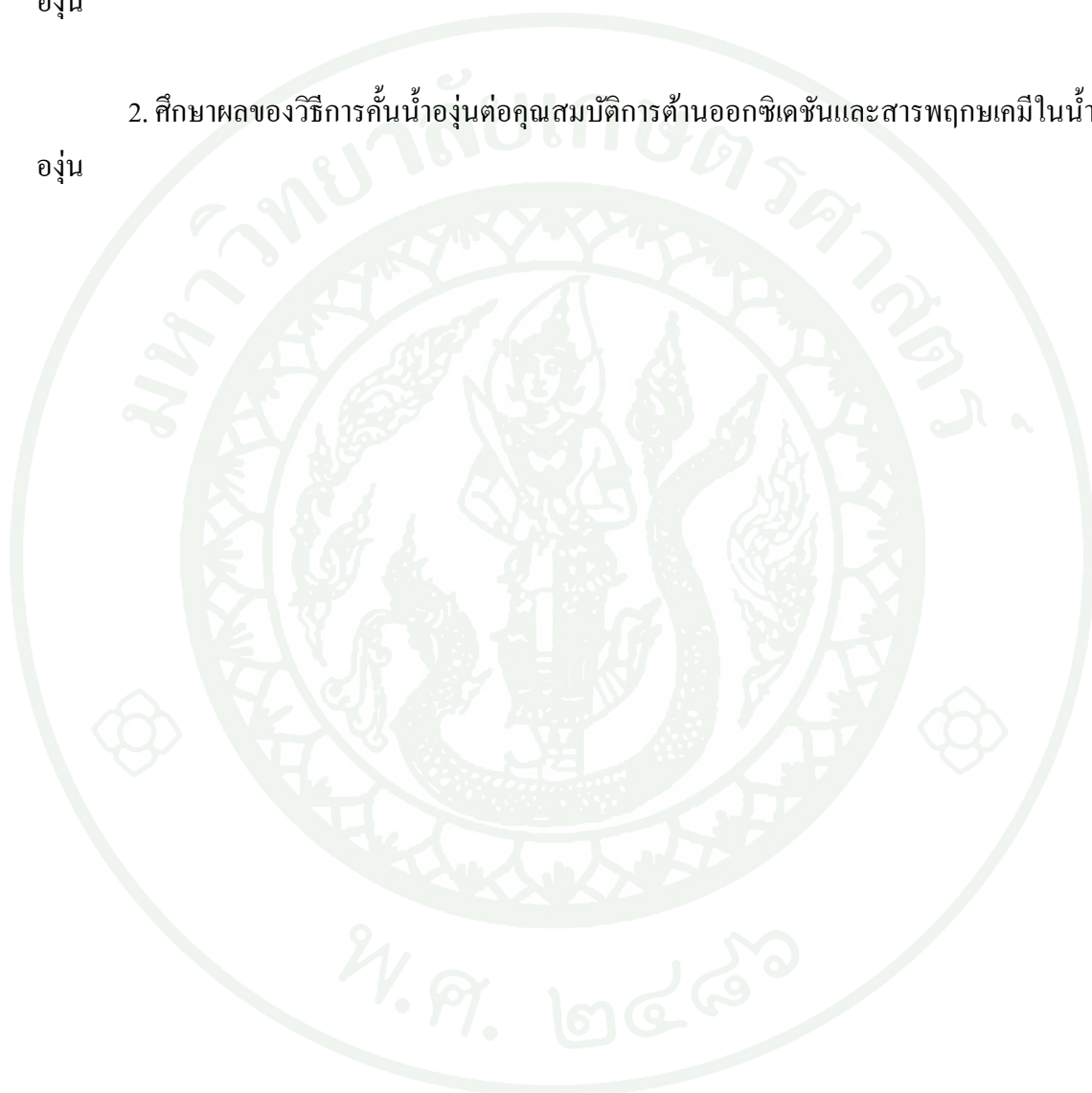
วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของสายพันธุ์อุ้งน้ต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารฟลิกษเคมีในน้ำ

อุ้งน

2. ศึกษาผลของวิธีการคั่นน้ำอุ้งน้ต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารฟลิกษเคมีในน้ำ

อุ้งน



การตรวจเอกสาร

องุ่น

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

องุ่นเป็นไม้เลื้อยชนิดหนึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Vitaceae มีชื่อสกุลว่า *Vitis* พืชสกุลนี้มีอยู่ 11 สกุล และมีมากกว่า 600 ชนิด มีลักษณะเป็นไม้พุ่มรอเลื้อย เนื้อแข็ง มีลำต้น (Trunk) กิ่งถาวรอายุเกิน 1 ฤดู (Cordon) กิ่งในฤดู (Shoot) กิ่งอายุ 1 ฤดู (Cane) ถ้าปล่อยให้เจริญเติบโตตามธรรมชาติจะเลื้อยเกาะกิ่งไม้ ใบกลม ขอบหยักเว้าลึก 5 พู โคนใบเว้าหัวใจ ดอกออกเป็นช่อแยกแขนง ดอกย่อยขนาดเล็กสีเขียว มีหมวก (Cap) จะหลุดออกเมื่อดอกบานกลีบดอกเมื่อบานสีขาว โคนเชื่อมติดกัน ปลายแยก 5 กลีบ เป็นผลเดี่ยวที่ออกเป็นพวง (เป็นผลเดี่ยวที่เกิดจากดอกช่อแต่ดอกไม่หลอมรวมกัน) ผลย่อยรูปกลมรี ฉ่ำน้ำ ผิวมีนวลเกาะ รสหวาน มีสีเขียว ม่วงแดง และม่วงดำ แล้วแต่พันธุ์ มี 1-4 เมล็ด ประเทศไทยมีการปลูกองุ่นในแถบภาคตะวันตก เช่น อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี อำเภอสางครา อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม อำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร ซึ่งสามารถให้ผลผลิตได้ดี แต่เกษตรกรบางรายได้เปลี่ยนจากองุ่นเป็นพืชอื่น เนื่องจากมีปัญหาโรคแมลงระบาดมาก และแมลงคือยาไม่สามารถกำจัดได้ ทำให้พื้นที่ปลูกองุ่นในแถบนี้ลดลง พื้นที่ปลูกองุ่นได้ขยายไปในแถบภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือบ้างเล็กน้อย แต่มีปัญหาเรื่องโรคแมลงระบาดมากทำให้พื้นที่ปลูกองุ่นไม่ค่อยขยายเท่าที่ควร ปัจจุบันนิยมปลูก บริเวณเขาใหญ่ จังหวัดนครราชสีมาเป็นส่วนใหญ่ (กาญจนา, 2547)



ภาพที่ 1 ลักษณะของผลองุ่น

ชนิดและพันธุ์องุ่น

ชนิดและพันธุ์ขององุ่นมีมากมายนับเป็นพันเป็นหมื่นชนิด เนื่องจากการนำพันธุ์ต่าง ๆ มาผสมพันธุ์กัน โดยเฉพาะนำพันธุ์จากยุโรปและอเมริกาซึ่งนิยมปลูกองุ่นกันมากมายผสมพันธุ์กัน เพื่อให้ได้พันธุ์ที่เหมาะสมกับสภาพที่ปลูก การปลูกองุ่นจะต้องคำนึงถึงความสะดวกที่จะใช้ประโยชน์ตามที่ตลาดต้องการเนื่องจากบางพันธุ์ เหมาะสมกับการรับประทานสด บางพันธุ์เหมาะกับการทำองุ่นแห้ง บางพันธุ์เหมาะกับการทำเหล้าองุ่น (Wine) ด้วยเหตุนี้จึงกล่าวถึงชนิดและพันธุ์ขององุ่น เพื่อประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ดังนี้ ใช้น้ำรับประทานสด ใช้น้ำตากแห้ง (ลูกเกด) ใช้ทำเหล้าองุ่น (wine) คั้นทำน้ำองุ่นสด บรรจุกระป๋อง สายพันธุ์บางส่วนขององุ่นที่ได้รับความนิยมในการปลูกในประเทศไทยได้แก่

1. องุ่นพันธุ์ Shiraz องุ่นผลขนาดปานกลาง ผลองุ่นสีม่วงและดำ ช่อขนาดใหญ่ ช่อองุ่นอัดแน่น (Robinson, 2006) ไวน์ที่ได้เป็นสายพันธุ์ที่มีกลิ่นรสจัดจ้านมาก สีแดงเข้ม มีสารแทนนินแก่ กลิ่นดอกไวโอเล็ต นิยมปลูกในประเทศออสเตรเลียและรัฐแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา

2. องุ่นพันธุ์ Portugieser จัดอยู่ใน *Vitis vinifera* พันธุ์นี้มีการเจริญเติบโตที่ดี ให้ผลสีน้ำเงินดำ ขนาดเล็กมีน้ำมาก ช่อองุ่นปานกลาง เหมาะสำหรับทำไวน์แดง ช่อองุ่นมีผลอัดแน่นเปลือกองุ่นค่อนข้างหนา มีสารแทนนินและปริมาณกรดต่ำ

3. องุ่นพันธุ์ Muscat Hamburg จัดอยู่ใน *Vitis vinifera* เป็นองุ่นแดงลูกผสมที่เกิดจากการผสมพันธุ์โดยธรรมชาติระหว่างสายพันธุ์ Muscat of Alexandria กับพันธุ์ Muscat สายพันธุ์อื่นที่มีสีแดงหรือดำ องุ่นพันธุ์ Muscat Hamburg ให้ผลสีม่วงแดงจนถึงดำ รูปร่างกลม มีเมล็ด 2-3 เมล็ด ลักษณะช่อขนาดปานกลาง มีปริมาณผลไม่หนาแน่น เปลือกผลหนาดกกับเนื้อ เนื้อของผลมีสีเขียวมิน้ำมาก ค่อนข้างใส

4. องุ่นพันธุ์ Cabernet Sauvignon องุ่นสายพันธุ์นี้มีขนาดผลเล็ก ผิวหนา ช่อขนาดกลาง (Vine and Harkness, 1997) ไวน์ผลิตจากองุ่นสายพันธุ์นี้ จะมีสีแดงน้ำตาลเข้ม รสฝาดเฝื่อน สารแทนนินมีกลิ่นอายหอมพริกไทยสดปนกลิ่นดิน

5. องุ่นพันธุ์ Cabernet France องุ่นสายพันธุ์นี้มีขนาดผลเล็ก ช่อขนาดกลางนิยมปลูกใน แคว้นบอร์โดซ์ ทางทิศตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศฝรั่งเศส และลุ่มแม่น้ำลัวร์ เขตเหล่านี้ผลิตไวน์ ที่มีสีแดงทับทิมกลิ่นหอมเหมือนผลราสเบอร์รี่ กลิ่นเบลคเบอร์รี่ ไวน์ที่ผลิตได้มีสีส้มแดงไม่เข้ม มาก มีอรรถรสฝาดเพื่อกลมนกล่อม มีสารแทนนินเข้มข้นน้อยกว่าองุ่นพันธุ์ Cabernet Sauvignon

6. องุ่นพันธุ์ Merlot องุ่นผลขนาดเล็ก ก้านช่อยาว ช่อขนาดกลาง ผลองุ่นมีสีม่วง องุ่นสายพันธุ์นี้เป็นองุ่นพันธุ์พื้นเมืองของแคว้นบอร์โดซ์ ทางทิศตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศฝรั่งเศส ไวน์ จากองุ่นชนิดนี้มีสีแดงปานกลาง กลิ่นผลไม้รสนุ่มนวลเข้มข้น

7. องุ่นสายพันธุ์ Pinot Noir องุ่นผลขนาดปานกลาง ช่อขนาดปานกลาง ช่อองุ่นผลอัดแน่น องุ่นสีม่วงหรือดำ (Vine and Harkness, 1997) องุ่นสายพันธุ์นี้สร้างชื่อเสียงให้ไวน์แดงในเขตโก้ต ดอร์ แคว้นเบอร์กันดี ฝรั่งเศส ถือเป็นไวน์แดงที่ดีที่สุดในโลก

องค์ประกอบทางเคมีของผลองุ่น

โดยทั่วไปคุณภาพของผลองุ่นขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ได้แก่ น้ำตาล กรด สารประกอบฟีนอลิก และสารโวลาทิลด์ องค์ประกอบเหล่านี้จะมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับ สายพันธุ์ แหล่งที่ปลูกและ สภาพภูมิอากาศ ซึ่งเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณภาพผลองุ่นที่ได้ (Terrier and Romieu, 2001)

1. น้ำตาล

ความเข้มข้นของน้ำตาลสามารถบ่งชี้ระดับความสุกขององุ่นซึ่งมีผลต่อการเก็บเกี่ยว ผลผลิตโดยพบว่าองุ่นเริ่มสุก จะมีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้น โดยน้ำตาลจะมีการสะสมเมื่อองุ่นเริ่ม เปลี่ยนสี ชนิดของน้ำตาลที่พบส่วนมากได้แก่ น้ำตาลกลูโคส และ ฟรุคโตส โดยพบถึงร้อยละ 99 ในน้ำของผลองุ่นที่สุกจัด (Terrier and Romieu, 2001)

2. กรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์ที่มีความสำคัญที่พบในผลองุ่นได้แก่ กรดมาลิก และ ทาร์ตริก โดยพบถึง ร้อยละ 90 ของกรดที่พบในผลองุ่น การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดที่พบในผลองุ่น จะมีความ

เข้มข้นลดลงเมื่อองุ่นเริ่มมีการเปลี่ยนสีและลดลงมากที่สุดเมื่อองุ่นสุกเต็มที่ โดยกรดมาลิกจะลดลงมากที่สุด ส่วนกรดทาร์ทาริกไม่ลดลง โดยพบว่ากรดทาร์ทาริกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละสายพันธุ์ โดยกรดถูกสะสมในรูปของเกลือโพแทสเซียมในใบและผลองุ่น นอกจากนี้ยังพบว่าค่า pH ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ขององุ่นแต่ละชนิด และระยะการเติบโตของผลองุ่น นอกจากนี้ ยังพบว่าปริมาณแร่ธาตุต่างๆยังมีผลต่อปริมาณกรดที่พบในองุ่น ธาตุโพแทสเซียมมีผลต่อการแลกเปลี่ยนประจุ ระหว่างการสังเคราะห์แสงของใบองุ่น และสภาวะแวดล้อมยังมีผลต่อปริมาณกรดมาลิกอย่างมาก ส่วนกรดทาร์ทาริกสภาพแวดล้อมมีผลเพียงเล็กน้อย (Ribereau Gayon *et al.*, 2000)

3. สารไนโตรเจน

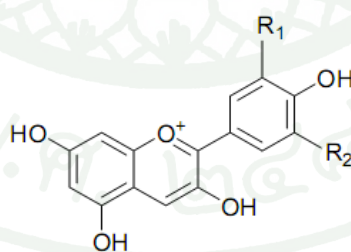
สารไนโตรเจนมีบทบาทต่อการเจริญแต่ละระยะพัฒนาของผลองุ่น ไนโตรเจนจะอยู่ในรูปของกรดอะมิโน จะพบในช่วงที่องุ่นติดลูก ถ้ามีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมากจะทำให้ให้น้ำหนักผลองุ่นเพิ่มขึ้นและจะยังส่งผลให้อองุ่นสุกช้ากว่าปกติ นอกจากนี้ยังพบว่าร้อยละ 6 ของสารประกอบไนโตรเจนของผลองุ่น จะอยู่ในรูปของกรดอะมิโนที่สำคัญได้แก่ โพรลีน และ อาร์จินีน ตลอดจนกรดอะมิโนอื่นๆ (Hilbert *et al.*, 2003)

4. สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารในกลุ่ม Secondary metabolite ปัจจุบันพบว่ามีสารประกอบ ฟีนอลิกที่ทราบโครงสร้างแน่นอนแล้วกว่า 8,000 ชนิด ตั้งแต่สารประกอบฟีนอลิกที่มีโมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acid) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นโพลิเมอร์ (polymer) เช่น แทนนิน (tannin) เป็นต้น (วิวัฒน์, 2545) โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วยเป็นวงอะโรมาติก (aromatic) และมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) อย่างน้อย 1 หมู่ (โอภา และคณะ, 2549) สามารถแบ่งได้ 3 กลุ่มใหญ่ที่สำคัญคือ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) และแทนนิน (tannin) โดยในองุ่นมีสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญคือ ฟลาโวนอยด์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแอนโธไซยานินส์

แอนโทไซยานินส์

แอนโทไซยานิดินและแอนโทไซยานินส์ (Anthocyanins) คือสารสี (pigment) ที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นแบบ diphenylpropanes ($C_6-C_3-C_6$) (ภาพที่ 2) สามารถละลายได้ในน้ำ (water-soluble) เป็นสารที่ทำให้เกิดสีแดง ชมพู ม่วง หรือน้ำเงินในพืช อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของสารประกอบฟีนอลิก แอนโทไซยานินอยู่ในรูปเอซิลไกลโคไซด์ (acylglycoside) ของแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin (aglycone)) หรือที่เรียกว่าไกลโคไซด์ (glycoside) โดยมีโมเลกุลของน้ำตาลมาเกาะที่ตำแหน่งที่ 3 ของแอนโทไซยานิดิน ความแตกต่างของแอนโทไซยานินส์แต่ละชนิดจะขึ้นอยู่กับจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิล ชนิดและจำนวนของน้ำตาลที่มาเกาะกับโมเลกุล ตำแหน่งที่เกาะ ชนิดและจำนวนของอะลิฟาติก (aliphatic) หรือกรดอะโรมาติก (aromatic acid) ที่มาต่อกับโมเลกุลของน้ำตาล (Kong *et al.*, 2003) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้แอนโทไซยานินส์มีสีตั้งแต่สีแดง น้ำเงิน จนถึงสีม่วง แอนโทไซยานิดินที่พบมากที่สุดมี 6 ชนิด คือ เพลลาโกนินิดิน (pelargonidin) ไซยานิดิน (cyanidin) เดลฟินิดิน (delphinidin) พีโอนิดิน (peonidin) เพทูนิดิน (petunidin) และมัลวิดิน (malvidin) แอนโทไซยานินส์มีบทบาทสำคัญในการลดการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ ช่วยในการมองเห็น อีกทั้งยังมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน และต้านการเกิดมะเร็ง สามารถพบได้ทั่วไปในผักและผลไม้ต่างๆ เช่น สตรอเบอร์รี่ ผักกาดแดง บลูเบอร์รี่ องุ่น แบลคเบอร์รี่ ราสเบอร์รี่แดงและพลัม เป็นต้น (Shahidi and Naczk, 2004; Stintzing and Carle, 2004; Giusti and Wrolstad, 2005)



ภาพที่ 2 โครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานินส์ (Anthocyanins)

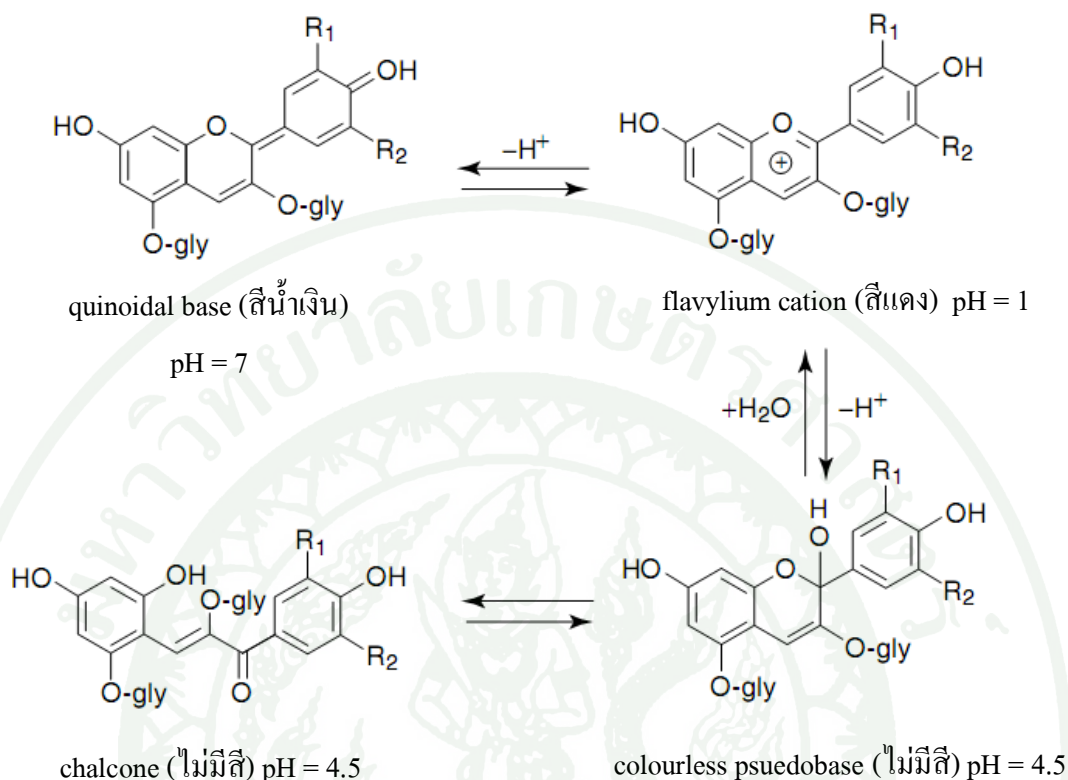
ที่มา: Green (2007)

ตารางที่ 1 ชนิดของแอนโทไซยานิดินที่พบมากที่สุดในพื้นที่ทั้ง 6 ชนิดและตำแหน่งการเติมหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) และหมู่เมทิล (methyl)

แอนโทไซยานิดิน	ตำแหน่งการเติมหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่เมทิล		
	R ₃	R _{3'}	R ₅
เพลลาโกนิน (pelargonidin)	H	H	H
ไซยานิดิน (cyanidin)	H	OH	H
เดลฟินิดิน (delphinidin)	H	OH	OH
พีโอนิดิน (peonidin)	H	OCH ₃	H
พิทูนิน (petunidin)	H	OCH ₃	OH
มัลวิดิน (malvidin)	H	OCH ₃	OCH ₃

ที่มา: ดัดแปลงจาก Kong *et al.* (2003)

แอนโทไซยานินส์เมื่ออยู่ในสารละลายทำตัวเสมือนเป็นอินดิเคเตอร์ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง และสีเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารละลายเปลี่ยนแปลงไป โดยในสถานะที่มี pH ต่ำหรือ pH เป็นกลาง แอนโทไซยานินส์จะมีโครงสร้างได้ทั้ง 4 แบบดังภาพที่ 3 คือ flavylium cation quinoidal base carbinol pseudobase และ chalcone ที่ pH ต่ำกว่า 2 แอนโทไซยานินส์จะอยู่ในรูปของ flavylium cation (สีแดง) แต่เมื่อ pH เพิ่มขึ้น flavylium cation จะอยู่ในสถานะที่ไม่เสถียรทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปเป็น colourless pseudobase (ไม่มีสี) chalcone (ไม่มีสี) และ quinoidal base (สีน้ำเงิน)



ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานินส์ที่ความเป็นกรด-ด่างต่างๆ(pH)

ที่มา: Giusti and Wrolstad (2005)

ประโยชน์ของแอนโทไซยานินส์

ใช้ทำสีผสมอาหารในอุตสาหกรรมต่างๆซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มาจากธรรมชาติ ช่วยลดอาการอักเสบในทางเดินปัสสาวะ โดยไปขัดขวางไม่ให้แบคทีเรียที่ทำให้เกิดอาการอักเสบในทางเดินปัสสาวะเกาะผนังกระเพาะปัสสาวะได้ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็ง โดยแอนโทไซยานินส์จะช่วยยับยั้งการสร้างเส้นเลือดฝอยที่เลี้ยงเซลล์มะเร็งได้ ช่วยเปลี่ยนแอลดีแอล คอเลสเตอรอล ที่เป็นโทษต่อร่างกายและเพิ่มปริมาณ เอชดีแอลคอเลสเตอรอลซึ่งเป็นประโยชน์ต่อร่างกาย ช่วยลดการรวมตัวเป็นก้อนของเกล็ดเลือด ซึ่งทำให้เลือดมีความข้นน้อยลงได้ ป้องกันโรคหัวใจวายและอัมพฤกษ์ได้ ร่างกายสามารถใช้วิตามินซีได้มากขึ้นถ้ามีแอนโทไซยานินส์อยู่ด้วย ช่วยให้เส้นเลือดฝอยแข็งแรงขึ้น และรักษาเส้นเลือดฝอยที่ถูกทำลายทั้งมากและน้อยได้

(Shahidi and Naczk, 2004)

ปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินส์

1. โครงสร้างของแอนโทไซยานินส์ (structural effect)

การศึกษาของ Andersen (2002) พบว่าแอนโทไซยานิดินมีความคงตัวและละลายได้ดีในสารละลายมากกว่าแอนโทไซยานินส์ ซึ่งหมู่ไกลโคไซด์ (glycosyl) และหมู่เอซิล (acyl) ที่ต่อกับแอนโทไซยานิดิน มีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญต่อความคงตัวและการเกิดปฏิกิริยาของโมเลกุล แอนโทไซยานินส์นอกจากนี้ปัจจัยที่มีผล ที่เกิดจากโครงสร้างของแอนโทไซยานินส์ ยังมีชนิดของแอนโทไซยานิดิน จำนวนและตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่เมทอกซิลที่จับกับแอนโทไซยานิดิน ซึ่งการเติมหมู่ OH (hydroxylation) ในแอนโทไซยานิดินมีผลต่อความคงตัวโดยพบว่าเดลฟิnidin (delphinidin) มีความคงตัวมากกว่าไซยานิดิน (cyanidin) เมื่อเก็บในเมทานอลที่เติมกรด (Dao *et al.*, 1998) และพบว่าการเติมหมู่ OH แก่แอนโทไซยานิดินในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ pH 3.1 cyanidin-3-glucoside มีความคงตัวมากกว่า pelargonidin-3-glucoside แต่ delphinidin-3-glucoside มีความคงตัวน้อยกว่า cyanidin-3-glucoside และพบว่า petunidin-3-glucoside ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล 2 หมู่ ที่ B-ring มีความคงตัวน้อยกว่า peonidin-3-glucoside ซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิลหมู่เดียวในวงแหวนเดียวกัน (Cabrita *et al.*, 2000)

2. ความเข้มข้นของแอนโทไซยานินส์ (concentration effect)

การศึกษาของ Giusti and Wrolstad (2003) พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแอนโทไซยานินส์จะผลทำให้ความคงตัวของสีที่แสดงออกเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ตัวอย่างเช่นการเติมแอนโทไซยานินส์ในน้ำสตอเบอรี่เข้มข้นพบว่าความเข้มข้นของแอนโทไซยานินส์มีความสัมพันธ์โดยตรงต่อความคงตัวของสีในน้ำสตอเบอรี่ (Skrede *et al.*, 1992)

3. ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

จากงานวิจัยของ Kirca *et al.* (2007) ที่ศึกษาความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ของแคโรทมางในสารละลายซิเตรทฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ pH 2.5–7.0 ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน พบว่าความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อสารละลายซิเตรทฟอสเฟตบัฟเฟอร์มี pH มากกว่า 5.0 ในระหว่างที่ให้ความร้อนและสอดคล้องกับผลการทดลองของ Scaman (2001) พบว่า

การเปลี่ยนแปลงสีของแอนโทไซยานินส้ในน้ำคั้นผลแครนเบอร์รี่ที่ pH ต่ำ ($\text{pH} = 1$) มีสีแดงเข้ม และสีจะจางหายไปเมื่อ pH เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะที่ pH 4 - 5 แต่สีของแอนโทไซยานินส้ที่หายไปนี้จะค่อยๆ เข้มขึ้นอีกครั้งเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเป็นเบสสูง

4. อุณหภูมิ (temperature)

งานวิจัยของ Kirca and Cemeroglu (2003) ศึกษาความคงตัวของแอนโทไซยานินส้ของ blood orange ที่อุณหภูมิ 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้น ความคงตัวของ แอนโทไซยานินส้ลดลง และมีค่าครึ่งชีวิตลดลง ซึ่งความคงตัวของแอนโทไซยานินส้ ของแครอทม่วง (black carrot) ในสารละลายซิเตรทฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ pH 2.5-7.0 โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส พบว่าความคงตัวของแอนโทไซยานินส้ที่ pH เดียวกันลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น (Kirca *et al.*, 2007)

5. ออกซิเจน (oxygen)

แอนโทไซยานินส้มีแนวโน้มในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของก๊าซออกซิเจนเพิ่มขึ้น อัตราของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะขึ้นอยู่กับ pH ของสารละลายในผลิตภัณฑ์อาหาร ค่าของอุณหภูมิ และค่าความเข้มข้นของแอนโทไซยานินส้การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ hydrogen peroxide ทำให้พันธะคู่ของ pyrylium ring หายไปส่งผลให้แอนโทไซยานินส้ไม่มีสีและเกิดอนุพันธ์ของ coumarin (Arthey and Ashurst, 2001)

6. แสง (Light)

แสงมีผลต่อแอนโทไซยานินส้ แตกต่างกันคือแสงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการสังเคราะห์ของแอนโทไซยานินส้และมีผลต่อการสลายตัวของแอนโทไซยานินส้ด้วย จากการทดลองเก็บตัวอย่างแอนโทไซยานินส้ไว้ในที่มืดและที่สว่างเป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องที่ pH 2.3 พบว่าแอนโทไซยานินส้จะมีความคงตัวในที่มืดมากกว่าที่สว่าง (Kearsley and Rodriguez, 1981) และพบว่าแอนโทไซยานินส้ในน้ำองุ่นได้ลดลงร้อยละ 30 เมื่อเก็บในที่มืดและในที่ที่มีแสงแอนโทไซยานินส้ลดลงร้อยละ 50 และลดลงถึงร้อยละ 70 เมื่อเก็บภายใต้แสงของหลอดฟลูออเรสเซนต์ ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาเท่ากัน (Furtado *et al.*, 1993)

7. เอนไซม์ (enzyme)

เอนไซม์ในกลุ่มของ เอนไซม์แอนโทไซยานิน (anthocyanase) ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ เอนไซม์ไกลโคซิเดส (glycosidase) และเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินส์ โดย ไกลโคซิเดส จะทำลายพันธะของ แอนโทไซยานินส์ที่เชื่อมต่อกับน้ำตาล ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลและ อะไกลโคน (aglycone) ส่วน polyphenol oxidase จะเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอนโทไซยานินส์ที่ phenol group ได้สารผลิตภัณฑ์คือ O-diphenols ซึ่งจะรวมตัวกับโมเลกุลอื่นๆ เช่น หมูอะมิโนและ โปรตีนเกิดเป็น quinone compound ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีน้ำตาล (browning) ผลจากการใช้เอนไซม์บางชนิดในการปรับปรุงคุณภาพน้ำผลไม้ อาจเป็นสาเหตุให้แอนโทไซยานินส์มีสีซีดจางได้ (Arthey and Ashurst, 2001) และมีรายงานว่าเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenoloxidase หรือ PPO) สามารถเร่งการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินส์ได้ แต่ถึงแม้ว่าโพลีฟีนอลออกซิเดส จะไม่สามารถทำปฏิกิริยากับ แอนโทไซยานินส์ได้โดยตรง โดยทั่วไปแล้วโพลีฟีนอลออกซิเดสสามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลิกชนิดอื่นได้ดีกว่า โดย Fang *et al.* (2007) พบว่าเมื่อโพลีฟีนอลออกซิเดสทำปฏิกิริยากับแคททีกิน (D-catechin) ทำให้สูญเสียแอนโทไซยานินส์ในสตรอเบอร์รี่ไปถึง 50-60 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิห้อง

8. วิตามินซี (vitamin C)

จากการศึกษาของ Marti *et al* (2002) พบว่าวิตามินซีมีผลต่อแอนโทไซยานินส์ได้ทั้งการเพิ่มความคงตัวและเร่งการเสื่อมสภาพโดยพบว่า วิตามินซีสามารถเร่งการจางของสีแอนโทไซยานินส์ได้ โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในวิตามินซีจะทำให้เกิดการออกซิเดชันซึ่งมีผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ แต่ก็พบว่าวิตามินซีมีผลในการเพิ่มความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ได้เช่นกันโดยพบว่าแอนโทไซยานินส์ที่มีหมู่แอลคิล จะมีความคงตัวเพิ่มมากขึ้นเมื่ออยู่ร่วมกับวิตามินซี (Del Pozo-Insfran *et al.*, 2004) นอกจากนี้ วิตามินซียังช่วยลดการเสื่อมสภาพของแอนโทไซยานินส์จากเอนไซม์ได้ (Talcott *et al.*, 2003)

9. น้ำตาล (sugar)

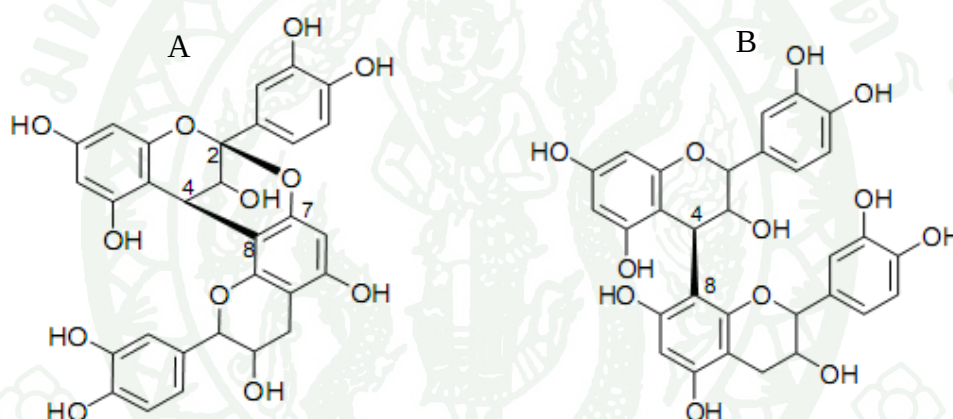
การสังเคราะห์แอนโทไซยานินส์ในพืชจำเป็นต้องอาศัยน้ำตาลอิสระ (free sugar) เป็นสารตั้งต้น โดยพบว่าปริมาณน้ำตาลและแอนโทไซยานินส์จะมีความสัมพันธ์กันอย่างชัดเจน จากการวัดการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลและแอนโทไซยานินส์ ที่บริเวณผิวของผลองุ่นในช่วงที่กำลังพัฒนาเป็นผลสุก พบว่ามีการสะสมน้ำตาลเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก ก่อนที่จะปรากฏสีของแอนโทไซยานินส์ นอกจากนี้มีรายงานว่า ก่อนการเกิดสีแดงของผลลึ้นจะมีการสะสมของน้ำตาล rhamnose ที่บริเวณเปลือกเป็นจำนวนมาก (Gross, 1987)

โปรแอนโทไซยานินส์

แทนนิน เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่สามารถละลายน้ำ (water-soluble phenolics) มีโมเลกุลขนาดใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน น้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 500-5,000 Dalton สารกลุ่มนี้สามารถฟอร์มตัวเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำได้โดยจับตัวกับคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนด้วยพันธะไฮโดรเจนของกลุ่มไฮดรอกซิล (Salunkhe *et al.*, 1989) แทนนินสามารถแบ่งออกเป็นสองประเภทหลักคือ ไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน (Hydrolysable tannins) ซึ่งอยู่ในรูปพอลิเมอร์ของกรดแกลลิก (gallic acid polymers) และ คอนเดนซ์แทนนิน (condensed tannins) หรือ โปรแอนโทไซยานินส์ (proanthocyanidins) เป็นสารที่ประกอบด้วยพอลิเมอร์ของฟลาวานอล (flavanol) (Manach *et al.*, 2004) โปรแอนโทไซยานินส์เกิดจากเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันของฟลาวานอลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ แคททีคิน (catechin) หรือ อีพิกัตทีคิน (epicatechin) โดยเกิดจากปฏิกิริยา oxidative condensation ในตำแหน่งคาร์บอนอะตอมที่ 4 ในวง C และตำแหน่งที่ 6 หรือ 8 ของวง A ของฟลาวานอลโมเลกุลเดี่ยวเชื่อมต่อกัน โปรแอนโทไซยานินส์สามารถแบ่งตามระดับของ พอลิเมอร์ไรเซชัน หรือ DP (degree of polymerization) โดย DP = 1 คือ โมโนเมอร์ (monomers) และ ค่า DP ตั้งแต่ 2 ถึง 10 คือ โอลิโกเมอร์ (oligomers) และค่า DP มากกว่า 10 จัดเป็นกลุ่มของพอลิเมอร์ (polymers) (Santos-Buelga and Scalbert, 2000) ในเปลือกองุ่น (*Vitis vinifera* L.) พบโปรแอนโทไซยานินส์มีค่าเฉลี่ยของ DP ประมาณ 85 (Monagas *et al.*, 2003) ภายใต้สภาวะกรดแก่โปรแอนโทไซยานินส์สามารถเปลี่ยนเป็นแอนโทไซยานินส์ได้โดยการสลายพันธะของคาร์บอนอะตอมที่ชื่อว่า interflavanyl ถ้าหากโปรแอนโทไซยานินส์นี้ประกอบด้วย แคททีคิน และ อีพิกัตทีคิน เพียงอย่างเดียว จะสามารถเปลี่ยนเป็นแอนโทไซยานินส์ชนิด ไซยานิดินได้เพียงอย่างเดียว จึงสามารถเรียก โปรแอนโทไซยานินส์ชนิดนี้ได้ว่า โปรไซยานิดินส์ (procyanidins) โดยโปรไซยานิดิน

ดินสัถือเป็นโปรแอนโธไซยานิดินส์หลักที่พบมากที่สุด (Santos-Buelga and Scalbert, 2000; Gu *et al.*, 2004)

โปรแอนโธไซยานิดินส์สามารถแบ่งออกเป็น 2 แบบ ตามลักษณะการเชื่อมต่อของหมู่ฟลาวันิล (flavanyl) และแบ่งตามการเติมหมู่ OH (hydroxylation) โดยโปรแอนโธไซยานิดินส์ประเภท B หมู่ฟลาวันิลจะเชื่อมต่อที่คาร์บอนอะตอมที่ 4 ของโมเลกุลหลัก และเชื่อมต่อกับอีกโมเลกุลในคาร์บอนอะตอมที่ 6 หรือ 8 (Ferreira *et al.*, 2006) โปรแอนโธไซยานิดินส์ประเภท A มีการเชื่อมต่อของโมเลกุลแรก ในตำแหน่งคาร์บอนอะตอมที่ 2 จากด้านบนและโมเลกุลแรกเชื่อมต่อที่ตำแหน่งคาร์บอนอะตอมที่ 4 กับโมเลกุลที่ 2 ในตำแหน่งคาร์บอนอะตอมที่ 8 ดังที่แสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 โครงสร้างพื้นฐานของโปรแอนโธไซยานิดินส์ (Proanthocyanidins) แบบ A-type และ B-type

ที่มา: Green (2007)

ประโยชน์ของโปรแอนโธไซยานิดินส์

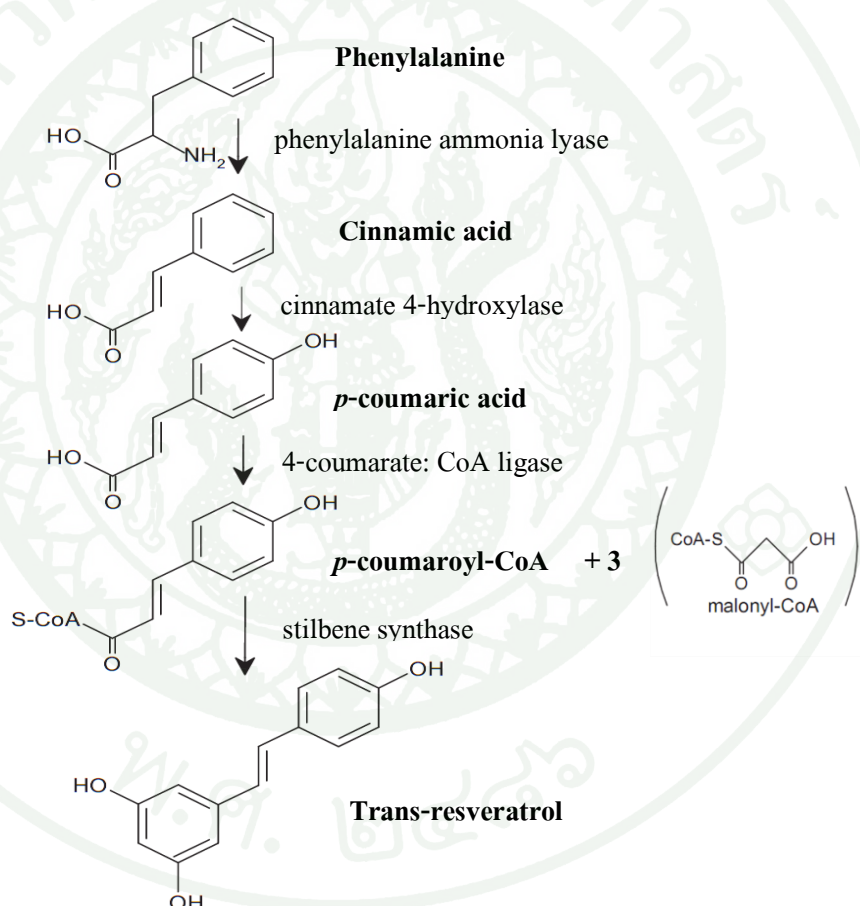
Yamakoshi *et al.* (2002) พบว่าโปรแอนโธไซยานิดินส์ที่สกัดจากเมล็ดองุ่นสามารถยับยั้งการเกิดโรคต่อกระดูกในหนูทดลองได้เนื่องจากการเกิดโรคต่อกระดูกนั้นสาเหตุเกิดจากปฏิกิริยา oxidative stress ซึ่งโปรแอนโธไซยานิดินส์สามารถยับยั้งหรือลดปฏิกิริยานี้ได้ และพบว่าโปรแอนโธไซยานิดินส์สามารถช่วยรักษาโรคกระดูกเปราะในหนูทดลองได้ (Saito *et al.*, 1998) ทั้งนี้เกิดจากคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและความสามารถในการจับกับโปรตีนของโปรแอนโธไซยานิดินส์

ดินส์ นอกจากนั้น Jackson *et al.* (1996) พบว่าสารกลุ่มแทนนินมีคุณสมบัติเป็น alkaloid gelatin มีสถานะเป็นกรดอ่อน เป็นสารที่ทำให้เกิดสฟาดหรือขม คุณสมบัติของแทนนินมีฤทธิ์ฝาดสมาน (astringent) จึงใช้ช่วยลดอาการท้องเสีย แผลไฟไหม้ แผลพุพอง ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อโรค ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย สอดคล้องกับผลการทดลองของ Foo *et al.* (2000) พบว่าโปรแอนโธไซยานินดินส์ที่พบในแคนเบอร์รี่สามารถยับยั้งการยึดเกาะของเชื้อแบคทีเรียที่ระบบทางเดินปัสสาวะได้ และยังพบอีกว่าโปรแอนโธไซยานินดินส์มีผลต่อการลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดแดงแข็งซึ่งสาเหตุเกิดจากการถูกกระตุ้นโดยไขมันแอลดีแอลโดยไม่มีการกำจัดไขมันและคอเลสเตอรอลออกที่ดีพอ โดย Fremont *et al.* (1999) พบว่าโปรแอนโธไซยานินดินส์จากสารสกัดของเมล็ดองุ่นสามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันแอลดีแอลในหลอดเลือดทดลองได้นอกจากนั้น Bomser *et al.* (1996) พบว่าโปรแอนโธไซยานินดินส์ในพืชตระกูลเบอร์รี่สามารถป้องกันการเกิดมะเร็งได้จากการยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกโดยการป้องกันการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์เนื้องอกและนอกจากนั้นยังพบว่าโปรแอนโธไซยานินดินส์ในเมล็ดองุ่นสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งในมนุษย์ เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งในปอด ได้ถึง 73 เปอร์เซ็นต์และช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์ปกติได้ นอกจากนี้ประโยชน์ต่อสุขภาพในด้านอื่นๆของโปรแอนโธไซยานินดินส์ยังพบว่าสามารถฆ่าเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคเริม (HSV-1) และสามารถฆ่าเชื้อ HIV ที่เป็นสาเหตุของโรคเอดส์ได้แต่เป็นเพียงการทดลองในหลอดทดลองเท่านั้น ยังไม่พบการทดลองในคน (Erdelmeier and Cinatl, 1996) นอกจากนี้ยังพบว่าโปรแอนโธไซยานินดินส์ที่สกัดจากเมล็ดองุ่นสามารถป้องกันสารพิษที่มีผลต่อดับที่ชื่อว่า acetaminophen ได้จากการทดลองในสัตว์ (Ray *et al.*, 1999) และยังพบว่าโปรแอนโธไซยานินดินส์ยังมีผลต่อความงาม เช่นการผสมในเครื่องสำอางช่วยลดริ้วรอย ป้องกันการอักเสบที่เป็นสิว และยังส่งผลช่วยส่งเสริมการทำงานของวิตามินอีในเครื่องสำอางด้วย (Meunier and Villie, 1994)

เรสเวอราทรอล

เรสเวอราทรอล (3,5,4'-trans-trihydroxystilbene; 3,4',5-Stilbenetriol) คือสารสเตอโรออยด์ (stilbenoid) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของสตีลเบิน (stilbene) จัดอยู่ในกลุ่มใหญ่คือกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก สามารถพบในพืชทั่วไปเช่น ถั่วลิสง พืชตระกูลเบอร์รี่ ชอคโกแลต และที่พบมากที่สุดคือในองุ่น ซึ่งพบในไวน์แดงมากที่สุด (Guerrero *et al.*, 2009) เรสเวอราทรอลส่วนมากจะพบในบริเวณเปลือกและเมล็ดซึ่งไม่พบในส่วนของเนื้อ สังกัดได้จากการพบเรสเวอราทรอลในไวน์แดงมากกว่าไวน์ขาวเนื่องจาก การผลิตไวน์แดงจะมีการหมักทั้งเปลือกและเมล็ดในการทำไวน์ ซึ่งพบว่าไวน์สีกุหลาบจะพบเรสเวอราทรอล 0.41 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งในไวน์แดงพบถึง 1.90 มิลลิกรัมต่อลิตร และไวน์ขาวพบเพียง 0.13 มิลลิกรัมต่อลิตร (Stervbo *et al.*, 2006) ปริมาณเรสเวอราทรอลที่พบในองุ่นมีปัจจัยหลายประการเช่น สายพันธุ์ขององุ่น พื้นที่ทางภูมิศาสตร์ ปัจจัยทางการเกษตร ปัจจัยภูมิอากาศและสภาวะความเครียดของพืช เป็นต้น (Vrhovsek *et al.*, 1997) เรสเวอราทรอลมีฟอร์มอยู่ 2 ฟอร์มคือ ซิส-ไอโซเมอร์ (Z, cis-isomer) และ ทรานส์-ไอโซเมอร์ (E, trans-isomer) (ภาพที่ 5) สารประกอบเรสเวอราทรอล พบทั้งในรูปที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบและในรูปอิสระ ทรานส์เรสเวอราทรอลสามารถเปลี่ยนโครงสร้าง (isomerisation) เป็นซิสเรสเวอราทรอลได้ เมื่อได้รับรังสีอัลตราไวโอเลต (ultraviolet irradiation) (Mattivi *et al.*, 1995; Lamuela *et al.*, 1995)

เรสเวราทรอลเป็นสารประกอบที่สกัดได้จากพืช เกิดขึ้นโดยการสังเคราะห์จาก ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ผ่านทางวิถีชิกิมิก (shikimic pathway) โดยมีเอนไซม์หลักสามชนิดที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์คือ ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียมไลเอส (phenylalanine ammonium lyase) โคเอนไซม์เอไลเอส (coenzyme A ligase) และ สติลเบินซินเทส (stilbene synthase) ดังภาพที่ 6 เอนไซม์ดังกล่าวสามารถชักนำให้เกิดการสร้างได้ด้วยความเครียดของพืช (Fritzsche and Kindl, 1981) ดังนั้นปริมาณเรสเวราทรอลในองุ่นจึงขึ้นอยู่กับปัจจัยจากความเครียดหรือการรบกวนทั้งจากสิ่งมีชีวิต ภูมิอากาศ สารเคมี หรือ โรคภัยขององุ่น (Roldan *et al.*, 2003)



ภาพที่ 6 กลไกการสังเคราะห์เรสเวราทรอล

ที่มา: Ferrer *et al.* (2008)

ประโยชน์ของเรสเวอราทรอล

1. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ Li *et al.* (2006) ทำการทดลองในหลอดทดลองพบว่าเรสเวอราทรอลที่ความเข้มข้นต่ำๆสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ นอกจากนั้น Wenzel *et al.* (2005) พบว่าเรสเวอราทรอลสามารถเพิ่มความจุของสารต้านออกซิเดชันในพลาสมาและยังสามารถลดปริมาณของลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) ซึ่งมีความสัมพันธ์อย่างมากกับความเสี่ยงที่เกิดโรคหลอดเลือดหัวใจและกล้ามเนื้อหัวใจตาย (Holvoet, 2004) ซึ่งผลการทดลองทั้งในหนูสุกร และมนุษย์เรสเวอราทรอลมีแนวโน้มในการต้านลิพิดเปอร์ออกซิเดชันหรืออนุมูลอิสระอื่นๆได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม แต่ยังไม่สามารถยืนยันได้อย่างชัดเจนถึงวิธีการและกลไกการเกิดที่แน่นอน (Baur *et al.*, 2006)

2. ความสามารถในการป้องกันโรคเกี่ยวกับหัวใจ เรสเวอราทรอลสามารถป้องกันการเกิดโรคในระบบหัวใจได้หลากหลายทาง (Hao and He, 2004) เมื่อใช้เรสเวอราทรอลในปริมาณหรือความเข้มข้นต่ำๆจะสามารถยับยั้งการตายเองของเซลล์ (apoptotic cell death) และยังสามารถช่วยป้องกันโรคต่างๆรวมถึงการบาดเจ็บของกล้ามเนื้อหัวใจ หัวใจขาดเลือด รวมทั้งหัวใจเต้นผิดจังหวะ ในทางกลับกันหากใช้ในปริมาณหรือความเข้มข้นมากจะไม่ส่งผลในการยับยั้งหรือช่วยเร่งการตายของเซลล์มากขึ้น (Das and Das, 2007) จากการทดลองของ Wang *et al.* (2002) พบว่าในหลอดทดลองและในมนุษย์เรสเวอราทรอลสามารถลดการจับตัวกันของเกล็ดเลือดได้ สอดคล้องกับการทดลองในกระต่ายที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงจนทำให้เกิดโรคผนังหลอดเลือดหนาตัวและเส้นเลือดอุดตัน เมื่อได้รับเรสเวอราทรอล หลอดเลือดมีการไหลเวียนที่ดีขึ้นและเป็นปกติ (Wang *et al.*, 2005) การทดลองในหนูตะเภาพบว่าการผสมเรสเวอราทรอลในน้ำดื่ม 14 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมเป็นเวลา 16 วันพบว่าหนูมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระที่กล้ามเนื้อหัวใจอย่างมีนัยสำคัญ (Floreani *et al.*, 2003) กลไกที่ส่งผลให้หลอดเลือดขยายตัวจากการได้รับเรสเวอราทรอล กลไกหลักคือการส่งเสริมการทำงานของไนตริกออกไซด์ที่ทำหน้าที่ช่วยในการขยายหลอดเลือด และยับยั้งการทำงานของอนุมูลอิสระที่เป็นตัวลดการทำงานของไนตริกออกไซด์ (Orallo *et al.*, 2002)

3. ความสามารถในการป้องกันโรคมะเร็ง พบว่าเรสเวอราทรอลสามารถยับยั้งการเกิดเนื้องอกบริเวณผิวหนังในหนูได้ 98 เปอร์เซ็นต์ และพบอีกว่าเรสเวอราทรอลสามารถยับยั้งการก่อมะเร็งได้ทั้ง 3 ระยะซึ่ง ได้แก่ ระยะเริ่มก่อตัว (Initiation) ระยะส่งเสริม (Promotion) และระยะก้าวหน้า

(Progression) เรสเวอราทรอลสามารถชะลอหรือยับยั้งการเจริญของเนื้องอกได้โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ไซโคลออกซีจีเนส (cyclooxygenase) (COX) แสดงถึงการลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งหลายชนิด อีกกลไกในการยับยั้งการเจริญของเนื้องอกคือ การชักนำให้วัฏจักรของเซลล์หยุด (cell cycle arrest) หรือชักนำให้เซลล์ผิดปกติที่ซ่อมแซมไม่ได้ให้ตายไปเอง (Apoptosis) (Aggarwal *et al.*, 2004) แต่ในบางงานวิจัยก็พบว่าเรสเวอราทรอลไม่ส่งผลยับยั้งซึ่งเกี่ยวข้องกับหลายปัจจัยเช่น วิธีการใช้ ปริมาณ แหล่งกำเนิดของเซลล์เนื้องอก หรืออาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์ เป็นต้น Athar *et al.* (2007) พบว่าเรสเวอราทรอล 25 ไมโครโมล สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง CaCo-2 ในลำไส้ใหญ่จากการผสมในน้ำดื่มและอาหารในหนูทดลองได้ 70 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ เรสเวอราทรอลจะสามารถยับยั้งการเจริญของเนื้องอกได้แล้ว ยังพบอีกว่าสามารถยับยั้งการเกิดและแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งเต้านมในหนูได้ (Provinciali *et al.*, 2005) บางงานวิจัยพบว่าการดื่มไวน์ที่มีเรสเวอราทรอลอาจสามารถลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมากได้ 60 เปอร์เซ็นต์ แต่ในการรักษาจริงในมนุษย์โดยการใช้เรสเวอราทรอลในการรักษามะเร็งยังไม่มีข้อมูลเป็นที่แน่ชัด (Fernandez-Mar *et al.*, 2012)

4. ความสามารถในการป้องกันโรคเบาหวาน เรสเวอราทรอลอาจมีความสัมพันธ์ในการป้องกันโรคเบาหวานและภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน (Harikumar and Aggarwal, 2008) การทดลองในหนูปกติโดยใช้เรสเวอราทรอลที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัมน้ำหนักตัวหนู พบว่าปริมาณอินซูลิน (insulin) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดลดลงโดยปริมาณน้ำตาลในเลือดไม่เปลี่ยนแปลงจากงานวิจัยนี้จึงมีการแนะนำให้ใช้เรสเวอราทรอลในการควบคุมอินซูลินในหนูที่ป่วยเป็นเบาหวาน (Szkudelski, 2008)

5. ความสามารถในการป้องกันโรคทางระบบประสาท เรสเวอราทรอลสามารถผ่านเข้าสู่เส้นเลือดในสมองได้ เมื่อใช้ปริมาณและความเข้มข้นต่ำ และพบอีกว่าเรสเวอราทรอลสามารถลดอาการความผิดปกติทางระบบประสาทได้เช่น โรคฮันติงตัน (Huntington's diseases) และโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's diseases) ผ่านทางวิถี SIRT 1 (Parker *et al.*, 2005) การบริโภคไวน์แดงเพียงวันละแก้วสามารถป้องกันโรคพาร์กินสันได้ (Parkinson's disease) โดยพบว่าเกิดจากกลไกการทำงานของเรสเวอราทรอลที่พบในไวน์แดง (Karlsson *et al.*, 2000) เรสเวอราทรอลอาจสามารถป้องกันความเสียหายของสมองจากการสมองขาดเลือดได้ (Dong *et al.*, 2008)

Karuppagounder *et al.* (2009) ได้ทดลองเลี้ยงหนูด้วยอาหารที่มีเรสเวอราทรอลเป็นส่วนผสมเป็นเวลา 45 วัน แล้วทำการตรวจวิเคราะห์หนูพบว่ามีการสะสมตัวของเรสเวอราทรอลในสมองส่วนกลาง 48 เปอร์เซ็นต์ ส่วนของstriatum 89 เปอร์เซ็นต์ และ ไฮโปทาลามัส 90 เปอร์เซ็นต์ และยังพบอีกว่ากลูตาไธโอนในสมองลดลง 21 เปอร์เซ็นต์ ซีสเตอีน (cysteine) เพิ่มขึ้น 54 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งงานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยที่สนับสนุนว่าเรสเวอราทรอลสามารถ ลดหรือชะลออาการที่สามารถเกิดขึ้นได้ของระบบประสาทซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับสมอง

สารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) หมายถึงสารที่ทำหน้าที่ลดหรือยับยั้งปฏิกิริยาที่ก่อให้เกิดออกซิเจนหรือสารเพอร์ออกไซด์ (peroxide) หรือหมายถึงสารในอาหารที่มีผลในการลด reactive oxygen species (ROS) หรือ reactive nitrogen species (RNS) ในร่างกาย (Huang *et al.*, 2005) ได้แก่อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide radical, $O_2^{\bullet}$) อนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical, $\bullet OH$) อนุมูลไฮโดรเพอร์ออกซิล (hydroperoxyl radical, $HO_2^{\bullet}$) อนุมูลเพอร์ออกซิล (peroxyl radical, $RO_2^{\bullet}$) อนุมูลแอลคอกซิล (alkoxyl radical, $RO^{\bullet}$) อนุมูลไนตริกออกไซด์ (nitric oxide radical, $NO^{\bullet}$) อนุมูลไนโตรเจนไดออกไซด์ (nitrogen dioxide, $NO_2^{\bullet}$) (โอภา และคณะ, 2549)

สารต้านออกซิเดชันสามารถช่วยยืดอายุการเก็บอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งไขมันหรืออาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ โดยช่วยชะลอขั้นตอนการเกิด Lipid peroxidation ซึ่งเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้อาหารเกิดการเสื่อมเสียในระหว่างกระบวนการผลิตหรือการเก็บรักษา (Goli *et al.*, 2005) Prior *et al.* (2005) รายงานว่าสารต้านออกซิเดชันสามารถแบ่งได้น้อย 4 กลุ่ม ดังนี้คือ

1. เอนไซม์ ในระดับเซลล์เอนไซม์เป็นกลไกสำคัญขั้นแรกที่ทำหน้าที่ควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสมดุล เอนไซม์ที่สำคัญได้แก่ เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase หรือ SOD) เอนไซม์กลูตาไทโอนเพอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase หรือ GPX) และเอนไซม์คาตาเลส (catalase หรือ CAT) เป็นต้น

2. สารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น อัลบูมิน (albumin) เซรูโลพลาสมิน (ceruloplasmin) เฟอริติน (Ferritin) และโปรตีนชนิดอื่นๆ โดยโปรตีนจับและแยกโลหะที่เกี่ยวข้องในขั้นตอนการเกิดอนุมูลไฮดรอกซิล ($\cdot\text{OH}$) เข้ามารวมไว้ในโครงสร้างให้อยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน โลหะจึงไม่สามารถทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระได้

3. สารที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น วิตามินซี (ascorbic acid) กลูตาไทโอน (glutathione) กรดยูริก (uric acid) วิตามินอี (tocopherol) แครอทีนอยด์ (carotenoid) และสารประกอบฟีนอลิก เป็นต้น สารต้านออกซิเดชันในกลุ่มนี้จะหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูล เช่น วิตามินอีทำปฏิกิริยาจับอนุมูลลิพิดเปอร์ออกไซด์และได้เป็นอนุมูลวิตามินอี ($\text{E-O}\cdot$) ซึ่งอนุมูลวิตามินอีนี้เป็นอนุมูลที่มีความไวต่ำทำให้ไม่สามารถเกิด lipid peroxidation ต่อไปได้

4. ฮอร์โมนบางชนิด เช่น เอสโตรเจน (estrogen) แอนจิโอเทนซิน (angiotensin) และเมลาโทนิน (melatonin) เป็นต้น

วิธีการวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชัน

เมื่อพิจารณาจากปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้อง การวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชันสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มหลัก ดังนี้

1. วิธีการวัดการแลกเปลี่ยนอะตอมไฮโดรเจน (Based on hydrogen atom transfer (HAT) reaction)

วิธีการนี้เป็นปฏิกิริยาที่เกิดการแข่งขันระหว่างสารต้านออกซิเดชัน กับสารตั้งต้น (substrate) ของปฏิกิริยา โดยจะมีการกระตุ้นสารประกอบอะโซ (azo compounds) ด้วยความร้อนเพื่อให้เกิดการสลายตัวกลายเป็นอนุมูลเพอร์ออกซิล (peroxyl radical) เพื่อเป็นตัวแทนอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ วิธีการในกลุ่มนี้ได้แก่ oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay และ total radical trapping antioxidant parameter (TRAP) assay ซึ่งวิธีการกลุ่มนี้วัดปริมาณอะตอมไฮโดรเจนที่มีการแลกเปลี่ยน โดยวัดการเรืองแสงของสารฟลูออเรสเซนต์ ที่ลดลงเมื่อเกิดการออกซิเดชัน เมื่อระบบมีสารต้านออกซิเดชัน สารต้านออกซิเดชันไปแย่งจับสารเรืองแสง ส่งผลให้ความเข้มสารฟลูออเรสเซนต์ลดลงด้วยความเร็วที่ช้าลง (Huang *et al.*, 2005)

วิธีการวิเคราะห์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ ORAC และ TRAP จำเป็นต้องใช้สารตัวแทนเพื่อเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยา (probes or substrates) โดยสารต้านออกซิเดชันแย่งกันทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น ในระบบการทดลองประกอบด้วย สารกลุ่มอะโซเพื่อผลิตอนุมูลอิสระ (AAPH probes) สารเพื่อติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น (สารฟลูออเรสซิน) และสารต้านออกซิเดชัน โดย AAPH ถูกให้ความร้อนเพื่อสร้างอนุมูลเพอร์ออกไซด์ เมื่อใส่ฟลูออเรสซิน และสารต้านออกซิเดชันแล้ว จะเกิดการแย่งกันทำปฏิกิริยากับอนุมูลเพอร์ออกไซด์ โดยสารต้านออกซิเดชันจะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วเมื่อสารต้านออกซิเดชันทำปฏิกิริยาจนหมดแล้วสารฟลูออเรสซินจึงเข้าทำปฏิกิริยาต่อ การเรืองแสงของสารฟลูออเรสซินจึงค่อย ๆ ลดลง

2. วิธีการวัดการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนเดี่ยว (Based on single electron transfer (SET) reaction)

วิธีการนี้วัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในปฏิกิริยาการรับของตัวรับอิเล็กตรอน ปฏิกิริยานี้มีการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อเกิดการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอน โดยการเปลี่ยนสีจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชัน คือถ้าสารต้านออกซิเดชันมีความเข้มข้นมากสีของสารละลายก็จะซีดจางลงอย่างรวดเร็ว วิธีการในกลุ่มนี้ ได้แก่ total phenols assay by Folin-Ciocalteu reagent (FCR) หรือ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity assay หรือ trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay และ ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay

2.1 Total phenols assay by Folin-Ciocalteu reagent

Folin-Ciocalteu reagent (FCR) เป็นวิธีในการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ (reducing capacity) ของตัวอย่าง โดยสาร FCR นี้มีส่วนผสมของโซเดียมทังสเตต (sodium tungstate) โซเดียมโมลิบเดต (sodium molybdate) กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (concentrated hydrochloric acid) กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) ความเข้มข้น 85 เปอร์เซ็นต์ และน้ำ โดยทำการต้มส่วนผสมดังกล่าวนาน 10 ชั่วโมง หลังจากนั้นก็เติมลิเทียมซัลเฟต (lithium sulfate) ซึ่งจะได้สารละลายสีเหลือง และเมื่อมีสารที่มีสมบัติรีดิวซ์ผสมเข้าไปก็จะเปลี่ยนเป็นสีเขียว โดยหากมีการเติมสารออกซิไดซ์ เช่น โบรมีน (bromine) กลับเข้าไปก็จะได้สีเหลืองกลับคืนมา ทั้งนี้เชื่อว่า โมลิบดีนัม (molybdenum) นั้นเป็นสารที่ถูกรีดิวซ์ และเกิดการถ่ายโอนอิเล็กตรอน นอกเหนือไป

จากนั้นแล้ว สาร FCR นั้นไม่ได้จำเพาะต่อสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เท่านั้น เนื่องจากสามารถถูกรีดิวซ์ได้ด้วยสารชนิดอื่นๆ อีก เช่น วิตามินซี ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เป็นต้น ทั้งนี้วิธีการนี้จัดได้ว่าเป็นวิธีการที่สะดวก ง่าย และทำซ้ำได้ดี (reproducible) อีกทั้งการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750-765 นาโนเมตรซึ่งเป็นช่วงความยาวคลื่นที่ขาวนี้ที่ช่วยลดการรบกวน (interfere) จากลักษณะของตัวอย่าง (sample matrix) ได้จึงเป็นที่นิยมในการใช้ตรวจสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันในตัวอย่างทั่วไป แต่อย่างไรก็ตามพบว่าวิธีการนี้ใช้ระยะเวลานาน (ประมาณ 2 ชั่วโมง) อีกทั้งต้องทำการวิเคราะห์ในสารละลายน้ำจึงไม่สามารถใช้วิเคราะห์กับตัวอย่างที่เป็นไขมัน (lipophilic compounds) ได้ (Magalhaes *et al.*, 2008)

2.2 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity assay

วิธีนี้วัดความสามารถในการยับยั้ง 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) โดย DPPH เป็นสารอนุมูลในโตรเจนที่ค่อนข้างคงตัว โดยขณะเริ่มต้นการทดลองสารละลายอนุมูลอิสระมีสีเข้ม เมื่อเกิดปฏิกิริยามากขึ้นสารจะมีสีซีดจางลง ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ตามระยะเวลาที่กำหนด หากในระบบมีปริมาณสารต้านออกซิเดชันมาก สีของสารละลายก็จะซีดจางลงมาก ค่าที่ได้สามารถแสดงได้หลายรูปแบบ ได้แก่ แสดงเป็นร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% radical scavenging activity) ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ ร้อยละ 50 จากปริมาณอนุมูลอิสระเริ่มต้น (IC_{50}) หรือค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (antiradical efficiency, AE) วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย มีความแม่นยำ ใช้เวลาน้อย และใช้เครื่องมือแค่เครื่องวัดการดูดกลืนแสงเท่านั้น เหมาะสำหรับการวัดสมบัติการต้านออกซิเดชันในน้ำผักและน้ำผลไม้ หรือในสารสกัดผักและผลไม้ แต่ไม่เหมาะสำหรับการวัดสมบัติการต้านออกซิเดชันในพลาสมา เนื่องจากสาร DPPH ต้องละลายในเมทานอล จึงส่งผลให้เกิดการตกตะกอนของโปรตีน (Magalhaes *et al.*, 2008) ทั้งนี้การวัดด้วยเทคนิคนี้ปัจจัยด้านตัวทำละลาย (solvent) และความเป็นกรด-ด่าง (pH) มีผลต่อการวิเคราะห์เป็นอย่างมาก อีกทั้งพบว่าสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่ละลายในตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลกับน้ำที่อัตราส่วน 50 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร พบว่าเหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระทั้งชนิดที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และชอบน้ำมัน (lipophilic) อย่างไรก็ตามหากมีปริมาณน้ำมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ก็จะส่งผลทำให้การวัดค่านั้นลดต่ำลง เนื่องจากเกิดการเกาะรวมตัวกัน (coagulate) ของ DPPH ทำให้การเข้าทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระเป็นไปได้ยาก เนื่องจากโครงสร้างของ DPPH ที่มีความเกะกะ (steric) จึงส่งผลต่อการวัด โดยสารต้านอนุมูลอิสระที่มีขนาดเล็กจะเข้าทำปฏิกิริยาได้ดีกว่าซึ่งก็ส่งผลให้วิเคราะห์ค่าออกมา

ได้สูง ในขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระที่มีขนาดใหญ่ซึ่งทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระพวกเพอร์ออกไซด์ได้ดี อาจทำปฏิกิริยาได้ช้ามากเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้

2.3 Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay หรือ ABTS assay

วิธีนี้เป็นวิธีการวัดความเข้มข้นของ Trolox ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชันต่อ 0.1 มิลลิโมลาร์ของสารตั้งต้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS radical cation, ABTS^{•+}) โดยสาร ABTS (2, 2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate)) มีสูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 10 หลักการของวิธีนี้คือวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในการยับยั้งอนุมูลเพอร์ออกไซด์ของ ABTS วัดได้จากการลดลงของสีในสารละลาย โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร โดยปฏิกิริยาทั้งหมดควบคุมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

วิธีการวัดสมบัติการต้านออกซิเดชันในกลุ่มนี้ เช่น DPPH TEAC และ FRAP จะมีความสัมพันธ์ดีมาก ($R^2 > 0.99$) กับการวัดปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เนื่องจากกลไกในการเกิดปฏิกิริยาเป็นกลไกเดียวกัน (Huang *et al.*, 2005) แต่ในบางกรณีสารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดที่มีประสิทธิภาพดีวัดผลได้รวดเร็วเมื่อวัดด้วยวิธีอื่น อาจให้ผลที่ไม่ดีหรือให้ผลการยับยั้งช้าเมื่อวัดด้วยวิธีนี้ เนื่องจากเป็นวิธีการวัดกลไกที่แตกต่างกัน

ความสามารถต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกในผักและผลไม้มีประโยชน์ต่อสุขภาพสามารถป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ ได้ เช่น โรคหัวใจ และโรคมะเร็ง เป็นต้น ด้านการอักเสบ ด้านการแพ้ และมีคุณสมบัติในการละลายลิ่มเลือด รวมไปถึงการเป็นสารต้านการก่อมะเร็ง และสามารถลดความดันโลหิตจากฤทธิ์ขยายหลอดเลือด เป็นต้น (โอภา และคณะ, 2549) เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกมีความสามารถต้านออกซิเดชันได้ Green (2007) กล่าวว่าความสามารถต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกมีกลไกการเกิดปฏิกิริยาอยู่ 3 กลไก ดังนี้

1. ความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระ (scavenging free radical) สารที่สามารถจับกับอนุมูลอิสระได้คือสารที่สามารถให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ เพื่อยับยั้งไม่ให้อนุมูลอิสระเกิดปฏิกิริยาต่อได้ ความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีน-

นอลิกเกี่ยวกับการที่สารประกอบฟีนอลิกสามารถให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระแล้วสารประกอบฟีนอลิกก็จะเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลฟีนอล (phenol radicals) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีความคงตัวเนื่องจากอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวจะเกิด resonance stabilized delocalization ภายในวงอะโรมาติก ดังนั้นอนุมูลฟีนอลจึงเกิดปฏิกิริยาต่อได้ยาก เป็นการชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

2. ความสามารถในการจับกับโลหะ (chelating transition metals) สารประกอบฟีนอลิกสามารถจับกับโลหะ ซึ่งโลหะเป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยกรดฟีนอลิกและ ฟลาโวนอยด์สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็ก (iron) และคอปเปอร์ไอออน (copper iron) ได้

3. ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งให้เกิดอนุมูลอิสระ โดยสารประกอบฟีนอลิกสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดอนุมูลอิสระได้ เช่น ไนตริกออกไซด์ซินเทส (nitric oxide synthase) ไทโรซีนไคเนส (tyrosine kinase) และแซนทีนออกซิเดส (xanthine oxidase) Negro *et al.* (2003) ศึกษาสารประกอบฟีนอลิกและคุณสมบัติความเป็นสารต้านออกซิเดชันในสารสกัดจากกากของุ่นแดง โดยใช้กากของุ่นและส่วนประกอบคือเปลือกและเมล็ด สกัดโดยเอทานอลที่ผสมกรดพบว่าในเมล็ดมีปริมาณ Total phenols, Total flavonoids, Condensed tannins และ Proanthocyanidins สูงที่สุด ส่วนในเปลือกพบ Total anthocyanins และ free anthocyanins สูงที่สุดและที่ระดับความเข้มข้นต่ำของสารสกัดจากเปลือก, กากและเมล็ด (20 ppm) มีคุณสมบัติความเป็นสารต้านออกซิเดชันสูงถึง ร้อยละ 43 และที่ความเข้มข้นสูงๆของสารฟีนอลทั้งหมด มีความเป็นสารต้านออกซิเดชันใกล้เคียงหรือเทียบเท่า BHT (160 ppm) เนื่องจากมีปริมาณของ Proanthocyanidins ที่สูงและมีรูปแบบของ flavonoid ที่ให้คุณสมบัติความเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สูง

ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันของพืช

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันของพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันยังขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น สายพันธุ์ ระยะการเจริญเติบโตและฤดูกาลเป็นต้น

1. สายพันธุ์คือหนึ่งในปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณและองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิก (Kim *et al.*, 2003) Orak (2007) ศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

นอลิกทั้งหมด และความสามารถด้านออกซิเดชันของสารสกัดจากองุ่นสายพันธุ์ต่างๆ 16 สายพันธุ์ พบว่าองุ่นสายพันธุ์ต่างๆ มีปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด แตกต่างกัน ส่งผลให้มีความสามารถด้านออกซิเดชันแตกต่างกันด้วย Oh *et al.* (2008) ศึกษาปริมาณ แอนโธไซยานินส์ในองุ่น 4 สายพันธุ์ที่ปลูกในประเทศเกาหลีโดยใช้ HPLC ที่ต่าง detector คือ DAD, MS และ MS/MS ผลการทดลองพบว่าการใช้ column oven ที่ระดับอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ให้ผลในการแยกชนิดของแอนโธไซยานินส์ได้ดีที่สุดโดยพบปริมาณแอนโธไซยานินส์มากที่สุดใน น้ำองุ่นได้แก่สายพันธุ์ Neut-Meoru, Oll-Meoru, Muscal Bailey A. และ Campbell Early ตามลำดับ และ Liang *et al.* (2008) ศึกษาปริมาณและส่วนประกอบของแอนโธไซยานินส์ในเปลือกองุ่น 110 สายพันธุ์โดยแบ่งเป็น 3 ชนิดคือ องุ่นที่ใช้ทำน้ำองุ่น, องุ่นทานผลสดและองุ่นใช้ทำไวน์และ 5 แบบ ของสายพันธุ์ โดยมีองุ่นที่ใช้ปลูกโดยทั่วไป, องุ่นป่าของจีนและองุ่นที่ผ่านการพัฒนาสายพันธุ์โดยการตัดดา จากการศึกษพบแอนโธไซยานินส์จะมีความแตกต่างกันระหว่างสายพันธุ์โดย 16 ชนิด ของ monoglucoside แอนโธไซยานินส์ พบในสายพันธุ์ *V. vinifera* และแอนโธไซยานินส์ 29 ชนิด พบในสายพันธุ์ที่ผสมกันระหว่าง *V. labrusca* กับ *V. vinifera* และใน *Vitis* สายพันธุ์อื่นๆ ปริมาณ ของแอนโธไซยานินส์ที่พบในสายพันธุ์ป่าและสายพันธุ์ที่ผ่านการตัดดาสูงกว่าสายพันธุ์ที่ผ่านการ ผสมโดยทั่วไปและพบแอนโธไซยานินส์น้อยในสายพันธุ์ธรรมชาติองุ่นสำหรับทำไวน์มีแอนโธไซยานินส์สูงกว่าองุ่นที่ใช้ทานผล

2. ระยะการเจริญเติบโต มีอิทธิพลต่อสารชีวเคมี ลักษณะทางกายภาพ และการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของผลไม้และผัก (Menichini *et al.*, 2009) Lima *et al.* (2005) ศึกษาปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกและแคโรทีนอยด์ของผล Acerola fruit (*Malpighia emarginata* D.C.) ที่ทำการเก็บเกี่ยวที่ 3 ระยะการเจริญเติบโตคือ initial stage (ผลมีสีเขียวทั้งหมด) half-mature (ผลมีสี เหลืองถึงสีแดง) และ completely mature (ผลสีแดงถึงสีม่วง) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกของผล Acerola บางสายพันธุ์มีปริมาณลดลงเมื่อมีการเจริญเติบโตมากขึ้น ตรงข้ามกับปริมาณของแคโรทีนอยด์ โดยแคโรทีนอยด์จะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเมื่อผล Acerola เจริญเติบโตมากขึ้น และ Castrejon *et al.* (2008) ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านออกซิเดชันของบลูเบอร์รี่ (*V. corymbosum* L.) ในระหว่างการเจริญเติบโตและการสุก พบว่าเมื่อบลูเบอร์รี่มีการเจริญเติบโตมากขึ้นจะมีการสะสม แอนโธไซยานินมากขึ้น ในขณะที่ฟลาโวนอล และกรดไฮดรอกซีชินนามิกจะมีปริมาณลดลง ในส่วนของความสามารถด้านออกซิเดชันจะมีแนวโน้ม เช่นเดียวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดคือมีแนวโน้มลดลงเมื่อบลูเบอร์รี่สุกมากขึ้น

3. ภูมิอากาศหรือฤดูกาลมีอิทธิพลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของผลไม้โดย Lima *et al.* (2005) ได้พบว่าผล acerola ที่เก็บเกี่ยวในช่วงฤดูแล้งจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าผลที่เก็บเกี่ยวในช่วงฤดูฝน ทั้งนี้เนื่องมาจากน้ำฝนอาจจะเจือจางน้ำผลไม้ภายในเซลล์และทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลงและ Ferreyra *et al.* (2007) รายงานว่าการเก็บเกี่ยวสตรอเบอรี่ในช่วงฤดูร้อนจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากกว่าในช่วงฤดูหนาว

กรรมวิธีการผลิตน้ำองุ่น

ขั้นตอนหลักในการผลิตน้ำองุ่นประกอบด้วย การทำความสะอาดวัตถุดิบและแยกก้านขององุ่นออกจากนั้นนำไปตีปั่นเพื่อให้ผลองุ่นแตก สามารถแยกเมล็ดออกก่อนหรือไม่ก็ได้ เนื่องจากในเมล็ดมีสารแทนนินสูงอาจส่งผลต่อรสชาติในน้ำองุ่น ขั้นตอนสำคัญอีกขั้นตอนหนึ่งคือการคั้นน้ำซึ่งเป็นการแยกส่วนของน้ำองุ่นออกจากกาก ขั้นตอนนี้สามารถแบ่งได้ 2 วิธีโดยแบ่งเป็นการใช้ความร้อน (hot press) และแบบไม่ใช้ความร้อน (cold press) สามารถใช้เอนไซม์เข้าร่วมหรือไม่ก็ได้ ซึ่งการใช้เอนไซม์ส่วนมากจะเป็นเอนไซม์ เพคตินาส เพื่อเพิ่มปริมาณน้ำองุ่นที่คั้นได้ ปัจจุบันนิยมคั้นน้ำองุ่นโดยใช้ความร้อนและเอนไซม์เข้าร่วมเพื่อต้องการปริมาณน้ำที่ได้มากขึ้น การพิจารณาว่าควรใช้วิธีใด จำเป็นต้องคำนึงว่าวิธีการดังกล่าว มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของน้ำองุ่นมากน้อยเพียงใด และยังสามารถแบ่งวิธีการคั้นน้ำน้อยๆได้อีก 4 วิธีดังนี้ (Leblanc *et al.*, 2008) การคั้นน้ำองุ่นด้วยการใช้ความร้อน (hot press) การคั้นน้ำองุ่นด้วยการไม่ใช้ความร้อน (cold press) การคั้นน้ำองุ่นด้วยการใช้ความร้อนร่วมกับเอนไซม์ (hot press enzyme) และการคั้นน้ำองุ่นด้วยการไม่ใช้ความร้อนร่วมกับเอนไซม์ (cold press enzyme) ซึ่งวิธีการคั้นน้ำองุ่นแต่ละวิธีมีผลต่อปริมาณสารสำคัญที่พบในน้ำองุ่น

การผลิตน้ำองุ่นส่วนใหญ่นิยมผลิตด้วยวิธีการแบบใช้ความร้อนมากกว่าแบบไม่ใช้ความร้อน ข้อดีของวิธีผลิตแบบใช้ความร้อนคือ น้ำองุ่นที่ได้จะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ เม็ดสีและสารประกอบอื่นสูง แต่มีข้อเสียคือ ทำให้ปริมาณแทนนินในน้ำองุ่นสูงขึ้นด้วย ซึ่งมีผลทำให้น้ำองุ่นมีรสฝาด อย่างไรก็ตามได้มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมสำหรับวิธีคั้นน้ำแบบใช้ความร้อนเพื่อรักษาคุณภาพของน้ำองุ่นให้เป็นที่ยอมรับ โดยทั่วไปมักให้ความร้อนแก่องุ่นในช่วง 60-62.7 องศาเซลเซียส และไม่ควรมากเกิน 65.5 องศาเซลเซียส เพราะแทนนินจะถูกสกัดออกมามากขึ้นที่อุณหภูมิสูงขึ้น และโดยทั่วไปแอนโทไซยานินสัสมักถูกสกัดออกมาที่อุณหภูมิต่ำ

กว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดแทนนิน จึงไม่จำเป็นที่จะต้องใช้อุณหภูมิสูงมากในการสกัดสีออกจากเปลือก (Fuleki and Ricardo da silva, 2003; Threlfall *et al.*, 2005)

องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติหรือ FAO ได้กล่าวถึงการผลิตน้ำองุ่น โดยแนะนำถึงวิธีการผลิตแบบไม่ใช้ความร้อนเป็นการผลิตที่อุณหภูมิต่ำ องุ่นที่ใช้ผลิตด้วยวิธีนี้ มักจะเป็นองุ่นพันธุ์ที่มีสีอ่อนจนถึงสีเขียว ข้อดีของวิธีการนี้คือผลิตภัณฑ์น้ำองุ่นที่ได้จะยังคงรักษากลิ่นขององุ่นสด และยังคงรักษากรดแอสคอร์บิกไว้ได้มากกว่าผลิตภัณฑ์ที่ผลิตแบบใช้ความร้อน ถึงแม้ว่าผลผลิตน้ำองุ่นโดยวิธีไม่ใช้ความร้อนจะมีปริมาณต่ำกว่าวิธีใช้ความร้อนก็ตาม แต่ยังเป็นวิธีที่นิยมผลิตน้ำองุ่นจากองุ่นบางสายพันธุ์ เช่น จากองุ่นพันธุ์มัสคาดีนใช้ทั้งสองวิธี และนำน้ำองุ่นที่ได้จากทั้งสองวิธีมาผสมกัน ในขั้นตอนการคั้นน้ำบางโรงงานมีการใช้เอนไซม์เพคตินเอสเพื่อช่วยทำให้ น้ำองุ่นใส นอกเหนือจากเหตุผลที่ว่าเพคตินช่วยทำให้ผลผลิตน้ำองุ่นเพิ่มขึ้นและช่วยทำให้กรองเร็วขึ้น การเติมเอนไซม์มักเติมหลังจากการให้ความร้อนแก่องุ่นที่แตกแล้วซึ่งทั่วไปเรียกว่า must และปล่อยให้เอนไซม์สัมผัสกับ must เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ ในช่วงนี้อาจมีการเติมพวกเชื้อไม้หรือเซลล์โลสลงไปเพื่อช่วยในการกรองทำให้น้ำองุ่นใสมากขึ้นหลังจากนั้นจะเป็นการพาสเจอร์ไรส์และการตกตะกอนน้ำองุ่น เนื่องจากเมื่อเก็บน้ำองุ่นไว้ระยะเวลาหนึ่ง น้ำองุ่นจะเริ่มตกตะกอน จึงมีการตกตะกอนน้ำองุ่นโดยการเติมสารเร่งเช่น เบนโตไนต์ เป็นต้น ภายหลังจากทำการตกตะกอนแล้วจะแยกนำส่วนใสไปบรรจุในภาชนะบรรจุ

ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของน้ำองุ่น

1. วัตถุดิบ ปัจจัยทางด้านวัตถุดิบที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพของน้ำองุ่น ได้แก่ ความแก่อ่อนสายพันธุ์ วิธีการเพาะปลูก แหล่งเพาะปลูกและฤดูกาลเพาะปลูก เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากปัจจัยดังกล่าวมีผลทำให้องค์ประกอบทางเคมีของผลองุ่นเปลี่ยนแปลงทำให้น้ำองุ่นที่ได้มีคุณภาพแตกต่างกัน (Sady, 2007)

2. การคั้นน้ำ จากรายงานการผลิตน้ำองุ่น (Fuleki and Ricardo da silva, 2003; Leblanc *et al.*, 2008; Threlfall *et al.*, 2005) พบว่าวิธีการคั้นน้ำมีผลโดยตรงต่อองค์ประกอบทางเคมีของน้ำองุ่น เช่น ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ สารประกอบฟีนอลิก กรด และสีจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิ

3. การใช้เพคติกเอนไซม์ เพคติกเอนไซม์เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่ย่อยสลายประกอบเพคติน สามารถเพิ่มผลผลิตน้ำองุ่นได้มากขึ้น ช่วยในการกรองและความใสของน้ำองุ่น นอกจากนี้ยังส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญที่พบในน้ำองุ่น (Leblanc *et al.*, 2008; Threlfall *et al.*, 2005)

4. การตกตะกอน การตกตะกอนจะทำให้ปริมาณกรดของแข็งที่ละลายได้ แอนโทไซยานินส์ และแทนนินในน้ำองุ่นลดลง นอกจากนี้น้ำองุ่นที่ได้จากการคั้นน้ำด้วยวิธีการใช้ความร้อน เกิดตะกอนตกลงมาในขั้นตอนการตกตะกอนได้มากกว่าน้ำองุ่นที่ไม่ผ่านการใช้ความร้อน และการตกตะกอนมีผลต่อรสชาติของน้ำองุ่น

5. การเติมสารช่วยทำให้น้ำองุ่นใส มีผลต่อสีของน้ำองุ่นรวมถึงปริมาณโปรตีน รวมถึงปริมาณเพคตินซึ่งส่งผลต่อเนื้อสัมผัสของน้ำองุ่น

6. การพาสเจอร์ไรส์ ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงคือ อุณหภูมิและเวลาในการพาสเจอร์ไรส์ ทั้งนี้ถ้าใช้อุณหภูมิสูงกว่า 85 องศาเซลเซียส หรือใช้เวลานานกว่า 15 นาที จะมีผลต่อคุณภาพด้านสีของน้ำองุ่นอย่างมาก นอกจากนี้ยังทำให้กลิ่นของน้ำองุ่นเปลี่ยนแปลงไปจนไม่เป็นที่ยอมรับ

7. การเก็บรักษา ปัจจัยที่มีผลต่อการเก็บรักษาน้ำองุ่นคือ อุณหภูมิ ระยะเวลา แสง และสภาวะที่มีออกซิเจน การเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงจะทำให้น้ำองุ่นสีแดงจางลงอย่างรวดเร็ว ในทางกลับกันการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ทำให้องค์ประกอบทางเคมี เช่น ปริมาณของแข็งที่ละลาย สารประกอบฟีนอลิก น้ำตาล กรด แทนนิน และเม็ดสีลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อใช้เวลาในการเก็บรักษาที่เท่ากัน สภาวะที่มีออกซิเจนจะเร่งการเกิดสีน้ำตาลในน้ำองุ่นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน

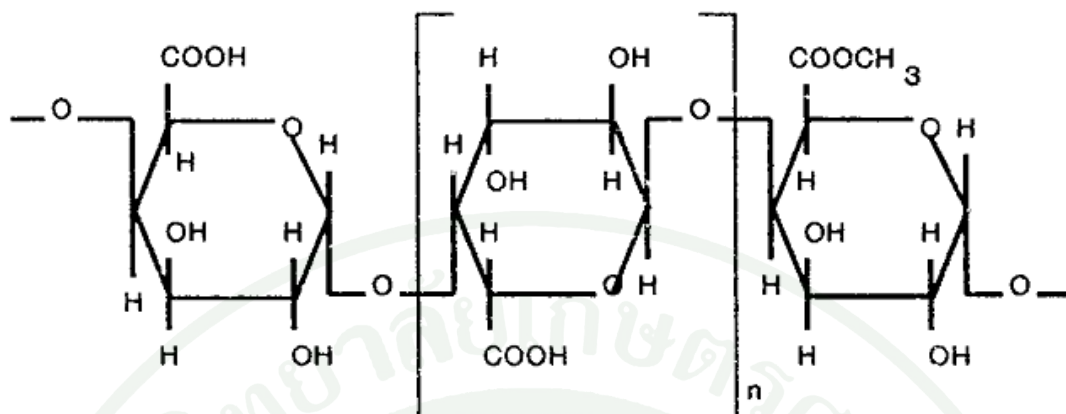
สารประกอบเพคตินและเอนไซม์เพคตินเอส

เอนไซม์เพคตินเอส (pectinases) หรือเอนไซม์เพคติก (pectic enzyme) เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่มีความสามารถในการตัดย่อยสารประกอบเพคติน (pectin substance) กรดเพคติก (pectic acid) หรือสารประกอบ oligo-D-galacturonate ได้ด้วยปฏิกิริยาต่างๆ กันดังนี้ คือ บางชนิดเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ตัดย่อยได้ผลิตภัณฑ์ที่มีหมู่รีดิวซ์ และบางชนิดเกิดปฏิกิริยา trans-elimination ตัดย่อยได้ผลิตภัณฑ์ที่มีพันธะคู่ ซึ่งปฏิกิริยาการตัดย่อยจะเกิดขึ้นได้ทั้งปฏิกิริยาตัดย่อยแบบสุ่ม (random) และปฏิกิริยาตัดย่อยจากปลาย (endwise) โดยปฏิกิริยาการตัดย่อยแบบสุ่มจัดเป็นกลุ่ม endo-enzyme (liquefying of depolymerizing enzymes) ส่วนปฏิกิริยาการตัดย่อยจากปลายจัดเป็นกลุ่ม exo-enzyme (saccharifying enzymes) พบได้ทั่วไปในพืชชั้นสูงเช่นเดียวกับที่พบสารประกอบเพคตินแต่อยู่คนละชั้นของเซลล์ และพบได้ในจุลินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ ยีสต์ รา และแบคทีเรีย เนื่องจากสับสเตรทของเอนไซม์เพคตินเอส ซึ่งได้แก่ สารประกอบเพคติน พบเป็นส่วนประกอบของพืชทุกชนิดทั่วไป และคุณสมบัติของสารประกอบเพคตินเหล่านั้นก็มีความแตกต่างกัน จึงมีผลทำให้ชนิดและกลไกการทำงานของเอนไซม์เพคตินเอสในการตัดย่อยเพคตินนั้นแตกต่างกันด้วย (เลอลักษณะ, 2544; Kashyap *et al.*, 2001)

สารประกอบเพคติน

สารประกอบเพคติน (pectin substances) เป็นสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ และเป็นสับสเตรทของเอนไซม์เพคตินเอส พบได้ในส่วน middle lamella ของ primary cell wall ในเซลล์ของพืชที่มีอายุน้อย และเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเนื้อเยื่อพาราเอนไคมา (parenchyma tissue) โดยจะพบมากในเนื้อเยื่อที่มีการขยายขนาดของเซลล์ (Pilnik and Voragen, 1991)

โครงสร้างหลักของสารประกอบ เพคติน (pectin substance) ประกอบด้วย กรดกาแลคทูโรนิก (anhydrogalacturonic acid units) ที่ต่อกันด้วยพันธะแอลฟา -1,4- ไกลโคซิดิก (α -1,4-glycosidic linkage) โดยมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30,000-300,000 ดาลตัน (Pilnik and Voragen, 1992) ดังแสดงในภาพที่ 7



ภาพที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบเพคติน

ที่มา: Pilnik and Voragen (1992)

สารประกอบเพคติน มีองค์ประกอบหลายชนิดร่วมกัน โดยมีกรดเพคตินิกที่ละลายน้ำได้ เป็นองค์ประกอบหลัก ในสภาพปกติจะพบเพคตินอยู่ในผนังเซลล์ของพืชชั้นสูง และชั้นระหว่างเซลล์ของพืช โดยอาจจะอยู่ร่วมกันกับสารโครงสร้างชนิดอื่นที่เป็นโพลีแซคคาไรด์ (structural polysaccharides) ซึ่งประมาณร้อยละ 75 ถูกทำให้เป็นเอสเทอร์ด้วยเมทานอล เป็นสารพวกคอลลอยด์ที่มีความสามารถในการเกิดเจลกับน้ำตาลและกรดได้ดีในสภาพปกติ (Kashyap *et al.*, 2001) ถ้าสารประกอบเพคตินในส่วนของ middle lamella ถูกย่อยสลาย จะทำให้เนื้อเยื่อพืชแตกแยกออกเป็นส่วนๆ เนื่องจากเซลล์แยกออกจากกัน (maceration) จากส่วนของ primary cell wall ดังนั้นการย่อยสลายส่วนนี้จึงต้องการเอนไซม์เพคตินเอสในการย่อยสารจำพวกเพคตินเช่นเดียวกับเอนไซม์ในการย่อยสลายสารอื่นๆ (Alkorta *et al.*, 1998)

เอนไซม์เพคตินเอส

จากการศึกษาการจำแนกชนิดของเอนไซม์เพคตินเอส พบว่าได้มีการจำแนกชนิดของเอนไซม์ และการเรียกชื่อเอนไซม์แตกต่างกันหลายระบบด้วยกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของสับสเตรท และปฏิกิริยาในการย่อยสลายสับสเตรท โดยหลักการจำแนกชนิดของเอนไซม์เพคตินเอส ตามวิธีการของ Jayani *et al.* (2005) ซึ่งได้จำแนกชนิดของเอนไซม์เพคตินเอสออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่

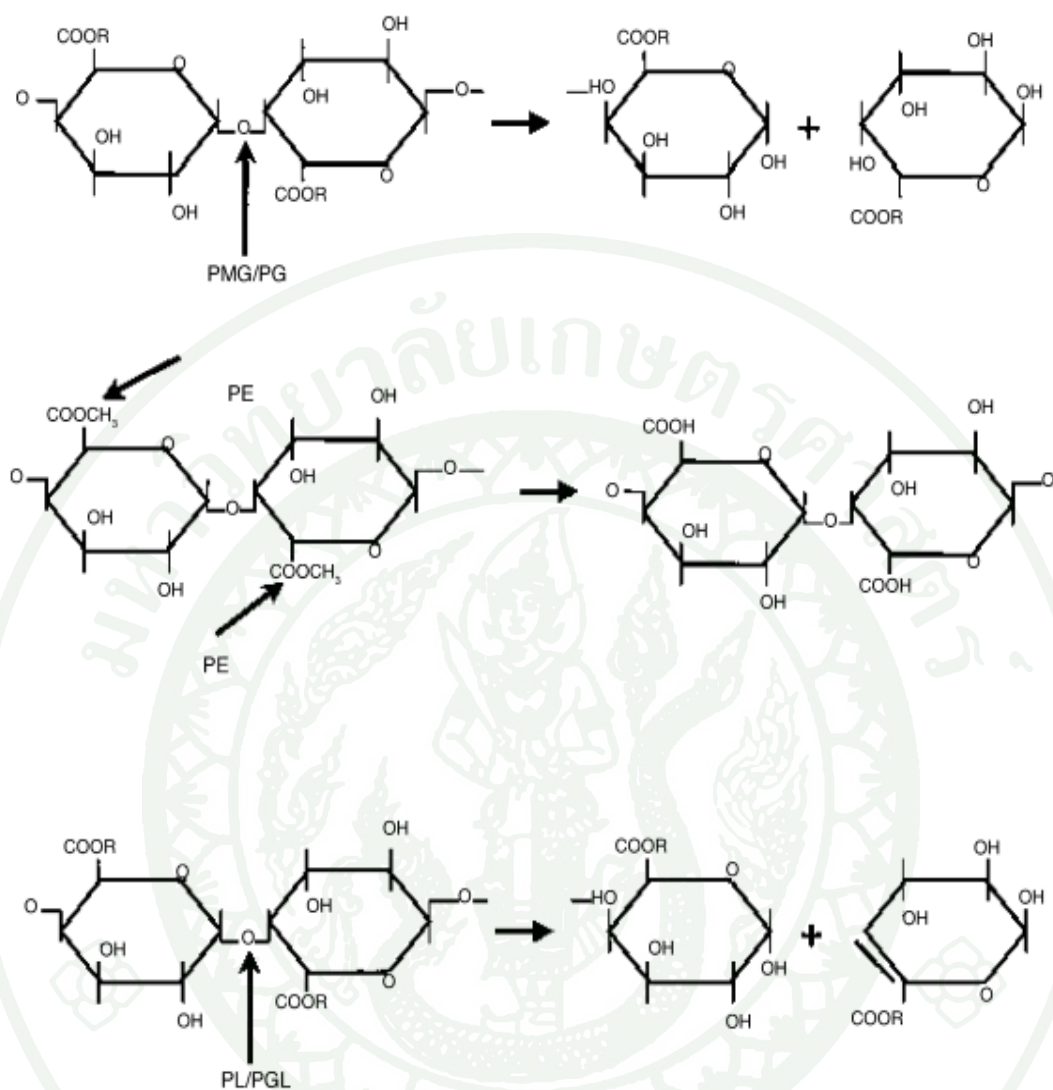
1. โปรโตเพคตินเนส (Protopectinases) จะย่อยโปรโตเพคตินที่ไม่ละลายน้ำให้สามารถละลายน้ำได้ดีขึ้น

2. เอสเทอร์เรส (Esterases) เร่งการเปลี่ยนโครงสร้างของเพคตินให้เป็นเอสเทอร์โดยนำหมู่เมทอกซิลออก โดยย่อยพันธะเมทิลเอสเทอร์

3. ดีโพลิเมอร์เรส (Depolymerases) ทำหน้าที่เร่งการแตกสลายของพันธะแอลฟา-1,4-ไกลโคซิดิกในกรด D – กาแลคโตลินิก เป็นต้น

สามารถแบ่งย่อยได้อีกโดยดูจากปฏิกิริยาที่ใช้ในการย่อยสลายว่าเป็นแบบ hydrolysis หรือแบบ trans-elimination และปฏิกิริยานั้นเป็นการตัดย่อยแบบสุ่ม (random หรือ endo-enzyme) หรือการตัดย่อยแบบจำเพาะเจาะจงจากปลาย (enwise หรือ exo-enzyme) รวมทั้งชนิดของสับสเตรตที่ใช้ด้วย

เอนไซม์เพคตินเนส พบได้ในจุลินทรีย์หลายชนิด ทั้งในยีสต์ รา และแบคทีเรีย โดยเฉพาะเชื้อราและแบคทีเรียบางชนิดที่ก่อให้เกิดโรคพืช โดยแบ่งประเภทของเอนไซม์เพคตินเนสออกเป็น 2 กลุ่ม ตามสถานะความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา และการทำกิจกรรมของเอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์เพคตินเนสที่มีพีเอชที่เหมาะสมต่อการเกิดกิจกรรมในสถานะที่เป็นกรด (acidic pectinase) และเอนไซม์เพคตินเนสที่มีพีเอชที่เหมาะสมต่อการเกิดกิจกรรมในสถานะที่เป็นด่าง (alkaline pectinase) เอนไซม์เพคตินเนสในกลุ่ม acidic pectinase ที่มีพีเอชที่เหมาะสมต่อการเกิดกิจกรรมในสถานะที่เป็นกรด โดยส่วนใหญ่จะพบเป็นเอนไซม์เพคตินเนสชนิด Polygalacturonase (PG) ที่สร้างได้จากเชื้อรา เป็นเอนไซม์ที่นิยมนำมาใช้ในการทำน้ำผลไม้เนื่องจากในน้ำผลไม้มีสถานะเป็นกรด (Jayani *et al.*, 2005) เอนไซม์จะทำการย่อยสลายเพคตินตรงตำแหน่งพันธะไกลโคซิดิกที่อยู่ระหว่างโมโนเมอร์ของกรดกาแลคทูโรนิกแต่ละตัว ทำให้โมเลกุลของเพคตินถูกย่อยให้สั้นลง (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 8 กลไกการทำงานของเอนไซม์เพคตินเนส

หมายเหตุ : PMG คือ polymethylgalacturonases

PG คือ polygalacturonases

PE คือ pectinesterase

PL คือ pectin lyase

PGL คือ polygalacturonate lyase

ที่มา: Jayani *et al.* (2005)

การประยุกต์ใช้เอนไซม์ในอุตสาหกรรมน้ำผลไม้โดยใช้เอนไซม์ในการสกัดน้ำผลไม้ ทำให้น้ำผลไม้ใสขึ้นและมีลักษณะปรากฏที่ดีขึ้น โดยใช้เอนไซม์หลายชนิดในกลุ่ม pectolytic enzyme ได้แก่ Polygalacturonase, Pectinesterase, Pectinlyase และ Hemicellulase สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ที่อุณหภูมิที่ไม่สูงมาก โดยประมาณต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ใช้ในการผลิตน้ำผลไม้ และทำงานได้ดีที่ pH ในช่วง 4-6 ส่วนมากเป็นเอนไซม์ที่ใช้เพื่อกำจัด pectin ที่แขวนลอยอยู่ในน้ำผลไม้ทำให้เพคตินเปลี่ยนสภาพไปเป็นน้ำตาลและสามารถละลายน้ำได้ดี น้ำผลไม้จึงใสขึ้น (clarification) นอกจากนี้ Blanco *et al.* (1999) พบว่าการใช้เอนไซม์เพคตินสลายช่วยลดเวลาในการกรองน้ำผลไม้ได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ และ Kaur *et al.* (2005) พบอีกว่า การใช้เอนไซม์เพคตินสลายเพิ่มปริมาณน้ำผลไม้ในการผลิตน้ำกล้วย น้ำองุ่นและน้ำแอปเปิ้ล

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

องุ่นดำ 6 สายพันธุ์ ได้แก่ Shiraz, Tempranillo, Cabernet sauvignon, Corolina black rose, Black queen และ Black opor ที่ปลูกในประเทศไทยจากไร่องุ่นบริษัท บี บี โฮลดิ้ง จำกัด (สาขาปากช่อง) ในฤดูหนาว เดือน กุมภาพันธ์ (ภาคผนวก ง)

2. สารเคมี

2.1 กรดแกลลิก (Gallic acid; $(\text{HO})_3\text{C}_6\text{H}_2\text{CO}_2\text{H}$: Analytical grade, Sigma-Aldrich, St. Louise, U.S.A.)

2.2 โฟลิน-ซีโอเคาตู (Folin-Ciocalteu reagent; Analytical grade, Sigma-Aldrich, St. Louise, U.S.A.)

2.3 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate; Na_2CO_3 : Analytical grade, Ajax Finechem, Auckland, New Zealand)

2.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH : Analytical grade, Merck, Germany)

2.5 กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid; $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$: food grade, ห้างหุ้นส่วนจำกัดแซทเทอร์นเคมีคอล, ประเทศไทย)

2.6 อะซิโตรไนล์ (Acetonitrile; CH_3CN : HPLC grade, Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, NI, U.S.A.)

2.7 เมทานอล (Methanol; CH_3OH : Analytical grade, Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, NI, U.S.A.)

2.8 เมทานอล (Methanol; CH_3OH : HPLC grade, Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, NI, U.S.A.)

2.9 2, 2-ไดฟีนิล-1-ไพคริล-ไฮดรากล; (2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) (DPPH, Aldrich, Steinheim, Germany)

- 2.10 แคททีกินไฮเดรต (Catechin hydrate; $C_{15}H_{14}O_6 \cdot xH_2O$: Analytical grade, Sigma-Aldrich, St. Louise, U.S.A.)
- 2.11 มัลวิดอิน-3-กลูโคไซด์ (Malvidin-3-glucoside chloride; $C_{23}H_{25}O_{12}Cl$, HPLC)
- 2.12 อะซีโตรไนไทรล์ (Acetonitrile; CH_3CN : HPLC grade, Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, NI, U.S.A.)
- 2.13 กรดฟอสฟอริก 85% (85% Phosphoric acid; H_3PO_4 : Analytical grade, Merck, Germany)
- 2.14 เอนไซม์เพคตินเนส (Pectinase: Pectinex Ultra SP-L, Novozymes, Denmark)
- 2.15 กรดไฮโดรคลอริก 37% (37% Hydrochloric acid; HCl : Analytical grade, Merck, Germany)
- 2.16 กรดอะซิติก (5% Acetic acid; CH_3COOH : Analytical grade, Merck, Germany)
- 2.17 แคททีกินไฮเดรต (Catechin hydrate; $C_{15}H_{14}O_6 \cdot xH_2O$: Analytical grade, Sigma-Aldrich, St. Louise, U.S.A.)

3. อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 3.1 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer: Model Spectronic Genesys 10 UV Scanning Thermo Electron Corporation, U.S.A.)
- 3.2 เครื่องเหวี่ยงแยก (Centrifuge: Sorvall RC 5C Plus Superspeed Centrifuge, Minnesota, USA)
- 3.3 เครื่องสั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียง (Sonicator: Bandelin Sonorex, Model RK 52, Berlin, Germany)
- 3.4 เครื่องวัดสี (Colorimeter: 3500d, Model Minolta, Japan)
- 3.5 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter: Orion 2 Star, Beverly, Massachusetts., USA.)
- 3.6 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath: Model WB 7/14/22/29/45, Memmert, Schwach, Germany)
- 3.7 เครื่องรีแฟกโตมิเตอร์ (Refractometer) Model ATAGO N - α (0-32 %Brix)
- 3.8 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer: genie II, U.S.A.)
- 3.9 ตู้แช่เยือกแข็ง (Freezer: SF-C995 (GYN), Sanyo, Thailand)

- 3.10 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: Waters, Mailford, MA, U.S.A.) (Water 2298 photodiode array detector)
- 3.11 ชุดกรอง mobile phase HPLC
- 3.12 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Balance 2 decimal: Model TP2KS, OHAUS, U.S.A)
- 3.13 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Balance 4 decimal Model ED2248, Series Extend, Satorius, Germany)
- 3.14 นาฬิกาจับเวลา (Digital timer, Model TMR-71, Casio, China)
- 3.15 เครื่องกรองอัดแบบสกรู (Made by Kasetsart University)
- 3.16 เครื่องบีบอัดไฮดรอลิก (Hydraulic press)
- 3.17 เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)
- 3.18 ชุดเครื่องแก้วมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์
- 3.19 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (Hewlett Packard series 1100, California, U.S.A.) (HP 1046A fluorescence detector)

วิธีการ

1. การเตรียมวัตถุดิบ

เก็บตัวอย่างองุ่นอายุ 120-150 วันหลังจากตัดแต่งกิ่ง (ภาคผนวก ง) โดยไว่ร่องุ่นอยู่ในอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ประเทศไทยจากบริษัท บี บี โฮลดิ้ง จำกัด (สาขาปากช่อง) 6 สายพันธุ์ได้แก่ Shiraz Tempranillo Cabernet sauvignon Corolina black rose Black queen และ Black opor โดยใช้ตัวอย่างองุ่นทั้งหมดสายพันธุ์ละ 10 กิโลกรัม ทำการตรวจสอบปริมาณน้ำหนักรวมของผลองุ่น ปริมาณเมล็ดและสังเกตลักษณะปรากฏ แล้วตัดแต่งเอาเฉพาะส่วนผล ล้างด้วยน้ำจนสะอาด ใช้ลมเป่าให้แห้งเก็บตัวอย่างใส่ถุงซิปล็อค ถุงละ 1 กิโลกรัม หลังจากนั้นนำตัวอย่างองุ่นแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -22 องศาเซลเซียสเพื่อรอทำการวิเคราะห์

2. ศึกษาผลของสายพันธุ์ต่อคุณสมบัติทางกายภาพของผลองุ่น

ตรวจสอบปริมาณน้ำหนักรวมของผลองุ่น ปริมาณเมล็ดและสังเกตลักษณะปรากฏที่พบในองุ่นแต่ละสายพันธุ์โดยตรวจสอบน้ำหนักผลองุ่นจากการชั่งน้ำหนัก ผลองุ่นจำนวน 20 ผล และคำนวณน้ำหนักเฉลี่ยแต่ละผล แล้วนำผลองุ่นที่ผ่านการชั่งน้ำหนักผ่ากลางผลเอาเฉพาะส่วนของเมล็ดชั่งน้ำหนักและคำนวณปริมาณเมล็ดเป็นร้อยละจากน้ำหนักผลองุ่นทั้งหมด การตรวจสอบลักษณะปรากฏโดยสังเกตลักษณะภายนอก เช่น ขนาดผลและลักษณะของพวงองุ่น เป็นต้น

3. ศึกษาผลของสายพันธุ์องุ่นและวิธีการคั้นน้ำองุ่นต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารพฤกษเคมีในน้ำองุ่น

น้ำองุ่นที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างในข้อ 1 ละลายที่อุณหภูมิห้องโดยแบ่งไว่ร่องุ่นครั้งละ 500 กรัมในการผลิตน้ำแต่ละครั้ง จากนั้นนำผลองุ่นที่แบ่งส่วนแล้วบีบให้แตกด้วยเครื่องกรองอัดแบบสกรูและเข้าสู่กรรมวิธีการผลิตน้ำองุ่น (ภาคผนวก ค1) โดยแบ่งเป็น 5 วิธีซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ (Fuleki and Ricardo da silva, 2003; Leblanc *et al.*, 2008; Threlfall *et al.*, 2005) ดังนี้

3.1. การคั้นน้ำองุ่นด้วยการใช้ความร้อน (hot press) โดยนำผลองุ่นที่ผ่านการบีบให้แตก (Must) ด้วยเครื่องกรองอัดแบบสกรู เพิ่มอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 60-65 องศาเซลเซียสคงไว้ที่

3.3. การคั้นน้ำอุ่นด้วยการใช้ความร้อนร่วมกับเอนไซม์ (hot press enzyme) ซึ่งใช้วิธีการเดียวกับข้อ 3.1 แต่มีการเติมเอนไซม์เพคตินเนส 100 ppm (0.1 กรัมต่อกิโลกรัม) ในช่วงควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส

3.4. การคั้นน้ำองุ่นด้วยการไม่ใช้ความร้อนร่วมกับเอนไซม์ (cold press enzyme) ซึ่งใช้วิธีการเดียวกับข้อ 3.2 แต่มีการเติมเอนไซม์เพคตินเนส 100 ppm (0.1 กรัมต่อกิโลกรัมองุ่น) ในช่วงควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส

3.5. ชุดควบคุม (control) นำผลอุณหภูมิผ่านการบีบให้แตกด้วยเครื่องกรองอัดแบบ
สกรู เก็บรักษาไว้ในภาชนะปิดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศา
เซลเซียสจนไว้ที่อุณหภูมิเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดนำตัวอย่างอุณหภูมิขึ้นน้ำด้วย
เครื่องบีบอัดไฮดรอลิก กรองด้วยผ้าขาวบางและเก็บตัวอย่างไปทำการวิเคราะห์

โดยทรวจิเคราะห์น้ำองุ่น ดังนี้

ตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพโดยตรวจสอบผลผลิตน้ำอุ่นกิดเป็นร้อยละ (% Juice Yield) ในแต่ละสายพันธุ์และแต่ละวิธีการคั้นน้ำ ตรวจวัดสีน้ำอุ่นกิด โดยใช้วิธี Commission International de l'Eclairage (CIE) L^* a^* b^* และวัดค่าสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์โดยวัดค่าความเข้มของสี (CI, Colour Intensity) และ โทนสี (Tint) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Burin *et al.* (2010)

ตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีของน้ำองุ่นโดยตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดดัดแปลงวิธีจาก Kim and Lee (2002) ตรวจสอบปริมาณแอนโธไซยานินส์ด้วย pH – differential method (Rodriguez-Saona and Wrolstad, 2005) ตรวจสอบคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay (Singh *et al.*, 2002) ตรวจสอบปริมาณกรด (Tartaric acid) pH และความหวาน (°Brix) ตามวิธีของ AOAC (2000) ตรวจสอบปริมาณโปรแอนโธไซยานิน (vanillin-HCL assay) (Nakamura *et al.*, 2003) ตรวจสอบเรสเวอรอลโดยดัดแปลงจากวิธีของ Galeano-Diaz *et al.*, (2007) และตรวจสอบปริมาณของแอนโธไซยานินส์ (malvidin-3-glicoside) โดยใช้วิธีที่ดัดแปลงจากวิธีจาก Chantanawarangoon (2005) โดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography (HPLC))

3. วิธีการตรวจวิเคราะห์

3.1 ตรวจวัดปริมาณผลผลิตน้ำองุ่นโดยนำน้ำองุ่นที่ผ่านการคั้น ซึ่งน้ำหนักและคำนวณเป็นร้อยละ โดยเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้นของผลองุ่นทั้งหมดที่ใช้ในการทำน้ำองุ่นคือ 500 กรัม

3.2 ตรวจวัดค่าสีโดยใช้วิธี Commission International de l'Eclairage (CIE) L^* a^* b^* และวัดค่าสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์โดยวัดค่าความเข้มของสี (CI, Colour Intensity) และความจางของสี (Tint) ดัดแปลงจากวิธีของ Burin *et al.* (2010) โดยนำน้ำองุ่นผ่านการหมุนเหวี่ยงเพื่อนำตะกอนออกเหลือเพียงส่วนน้ำองุ่น จากนั้นแบ่งน้ำองุ่นเพื่อวัดค่า L^* a^* b^* ด้วยเครื่องวัดสี (Colorimeter: 3500d, Model Minolta, Japan) และน้ำองุ่นอีกส่วนนำไปวัดค่าสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์โดยวัดความเข้มสีน้ำองุ่นที่ค่าการดูดกลืนแสง 420 520 และ 620 นาโนเมตรแล้วนำค่าที่วัดได้คำนวณหาความเข้มของสี (สมการที่ 1) และคำนวณหาความจางของสี (สมการที่ 2) ดังนี้

$$\text{ค่าความเข้มของสีน้ำองุ่น} = \text{Abs } 420 + \text{Abs } 520 + \text{Abs } 620 \quad (1)$$

$$\text{โทนสีของน้ำองุ่น} = \text{Abs } 420 / \text{Abs } 520 \quad (2)$$

โดย $\text{Abs } 420$ = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร

$\text{Abs } 520$ = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร

Abs 620 = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร

3.3 ตรวจสอบระดับ pH ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ตามวิธีของ AOAC (2000)

3.4 ตรวจสอบปริมาณกรดด้วยวิธี ไทเทรต (titratable acidity) โดยคำนวณเป็นปริมาณกรด ทาร์ตริก (tartaric acid) ตามวิธีของ AOAC (2000) โดยนำสารตัวอย่างไทเทรตด้วยสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอโมล จนมีค่า pH เท่ากับ 8.2 นำปริมาณสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรตมาคำนวณตามสมการดังนี้

$$\text{กรดทาร์ตริก} = \frac{\text{ปริมาณ NaOH} \times \text{ความเข้มข้นของ NaOH} \times 0.075 \times 1000}{\text{ปริมาณสารตัวอย่างที่ใช้ในการไทเทรต}}$$

3.5 ตรวจระดับความหวาน (°Brix) ตามวิธีของ AOAC (2000) ด้วยรีแฟคโตมิเตอร์ (Refractometer)

3.6 การตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

ตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) โดยวิธี total phenols assay ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Kim and Lee (2002) โดยดูดสารตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ลงใน หลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมฟอลิน-ซีโอเคาท์ 0.1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้นาน 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 7 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่ อุณหภูมิห้องนาน 90 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร วัดค่าสารสกัดละ 3 ครั้ง นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (ภาพผนวกที่ ข4) ความเข้มข้น 20-100 ppm รายงานผลเป็นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำ หนึ่ง 1 ลิตร)

3.7 การตรวจวัดปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด (Total anthocyanins content)

ตรวจสอบปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดโดยวิธี pH-differential (Giusti and Wrolstad, 2005) หาค่า Dilution Factor (DF) โดยการเจือจางสารตัวอย่าง ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ โพแทสเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.025 โมลาร์และความเป็นกรด-ด่าง 1.0 (pH 1.0) และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ให้ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 0.2-0.8 จากนั้นจึงนำตัวอย่างมาเจือจางด้วยสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.025 โมลาร์และความเป็นกรด-ด่าง 1.0 (pH 1.0) และสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตทที่มีความเข้มข้น 0.4 โมลาร์และความเป็นกรด-ด่าง 4.5 (pH 4.5) แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 (A_{510nm}) และ 700 นาโนเมตร (A_{700nm}) โดยใช้น้ำกลั่นเป็นเบลงค์ (blank) จากนั้นจึงคำนวณค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (A) (สมการที่ 1) แล้วนำค่าดังกล่าวไปคำนวณเป็นปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดในตัวอย่างเริ่มต้น (สมการที่ 2)

$$A = (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH1.0} - (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH4.5} \quad (1)$$

$$\text{ปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = (A \times MW \times DF \times 1000) / (\epsilon \times 1) \quad (2)$$

โดย MW = มวลโมเลกุลของมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์ = 493.2

DF (Dilution Factor) = อัตราส่วนของปริมาตรสุดท้ายของสารละลายตัวอย่างเจือจางกับปริมาตรเริ่มต้นของตัวอย่าง

ϵ (Molar absorptivity) ของมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์ = 28000

3.8 การตรวจวัดปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์

ตรวจสอบปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์ (vanillin-HCL assay) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Nakamura *et al.* (2003) โดยนำสารตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 1% vanillin และ 9 มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกในเมทานอลอย่างละ 2.5 มิลลิลิตร เขย่า และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐานของแคททีกิน 20-300 มิลลิกรัมต่อลิตร รายงานผลเป็นปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์ (มิลลิกรัมสมมูลของแคททีกินต่อน้ำองุ่น 1 ลิตร) (ภาพผนวกที่ ข2) โดยใช้เมทานอลเป็นเบลงค์ (blank) จากนั้นจึง

คำนวณค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง โดยคำนวณเป็นปริมาณโปรแอนโทไซยานินส์ตามสมการดังนี้

$$A = (A_s - A_b) - (A_c - A_o)$$

โดย ค่า A = ปริมาณโปรแอนโทไซยานิน IN

A_s = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

A_b = ค่าการดูดกลืนแสงของแบล็ก (blank)

A_c = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม (control)

A_o = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตรของตัวอย่างที่ไม่มีแคททีกิน

3.9 การตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (DPPH Radical Scavenging Capacity)

ตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Singh *et al.* (2002) โดยนำสารตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร เติมน้ำละลาย DPPH 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่า และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐานของวิตามินซีความเข้มข้น 20-100 ppm (ภาพผนวกที่ ข1) รายงานผลเป็นสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (มิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซีต่อมิลลิลิตร)

3.10 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณมัลวิดอิน-3-กลูโคไซด์ (malvidin-3-glucoside) โดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC)

ตรวจสอบปริมาณของแอนโทไซยานินส์ (malvidin-3-glycoside) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Chantanawarangoon (2005) โดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง นีด สารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร คอลัมน์ชนิด C18 (Symmetry®, 4.6 mm x 250 mm) โมบายเฟส น้ำปราศจากไอออน (DI water) ที่มีส่วนผสมของ กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) 0.1% (A) และ acetonitrile ที่มีส่วนผสมของ กรดฟอสฟอริก 0.1% (B) อัตราการไหลของโมบายเฟส 1 มิลลิลิตรต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นลดอัตราการไหลลงเหลือ 0.3 มิลลิลิตรต่อนาทีจนถึงนาทีที่ 25 และจากนั้นคงที่อัตราการไหลที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาทีจนถึงนาทีที่ 60 อัตราส่วนโมบายเฟส A:B นาทีที่ 0 = 92:8 นาทีที่ 4 = 89:11 นาทีที่ 10 ถึง 30 = 85:15 นาทีที่ 40 = 70:30 นาทีที่ 50 =

85:15 นาทีที่ 55 ถึง 60 = 92:8 และใช้ UV diode-array detector ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร เทียบกับสารมาตรฐาน (ภาพผนวกที่ ข5)

3.11 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณเรสเวอราทรอลโดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบ สมรรถนะสูง (HPLC)

ตรวจสอบปริมาณเรสเวอราทรอล โดยดัดแปลงจากวิธีของ Teresa *et al.* (2007) โดยใช้ เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC) นิตสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร คอลัมน์ชนิด C_{18} column (Symmetry®, 3.9 x 150 mm) ใช้โมบายเฟส (mobile phase) 19% ของอะซิโตไนล์ (acetonitrile) ต่อ 81% น้ำปราศจากไอออน (DI water) (ที่มีส่วนผสมของ กรดอะซิติก (Acetic acid) 4.1%) อัตราส่วนของโมบายเฟสที่และใช้อัตราการไหลของโมบาย เฟส 0.8 มิลลิเมตรต่อนาทีเป็นเวลา 35 นาทีต่อตัวอย่าง โดยตรวจสอบปริมาณเรสเวอราทรอลที่ความ ยาวคลื่น 260/364 ($\lambda_{EX} / \lambda_{EM}$) นาโนเมตรด้วยฟลูออเรสเซนส์ดีเทคเตอร์ (ภาพผนวกที่ ข3) (fluorescence detection)

4. การประเมินผลทางสถิติ

ประเมินผลทางสถิติโดยวางแผนการทดลองแบบ 2x5x6 Factorial in CRD (Complete Randomized Design) ทำการทดลอง 5 กรรมวิธี จำนวน 6 สายพันธุ์โดยมีปัจจัย 2 ปัจจัยคือกรรมวิธี การคั้นน้ำและสายพันธุ์ร้อน (ภาคผนวก ก) วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยเทคนิค ANOVA ที่ระดับ ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple's Range Test (DMRT) และวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ด้วยวิธี Pearson Correlation โดยโปรแกรมสำเร็จรูปทาง สถิติ

5. สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์

1. ผลของสายพันธุ์ต่อสมบัติทางกายภาพของผลองุ่น

การศึกษาผลของสายพันธุ์ต่อลักษณะปรากฏขององุ่นพบว่า สามารถแบ่งองุ่นตามสายพันธุ์ได้ 2 ประเภท คือ องุ่นรับประทานสดและองุ่นทำไวน์ โดยองุ่นรับประทานสด ประกอบด้วย สายพันธุ์ Black queen สายพันธุ์ Black rose และสายพันธุ์ Black opor เป็นองุ่นที่มีขนาดผลที่ใหญ่และมีปริมาณเมล็ดน้อยซึ่งในพวงองุ่นจะมีผลองุ่นกระจายตัวไม่หนาแน่น ส่วนองุ่นทำไวน์ประกอบด้วย สายพันธุ์ Tempranillo สายพันธุ์ Cabernet sauvignon และสายพันธุ์ Syrah เป็นองุ่นที่มีขนาดผลที่เล็กและมีปริมาณเมล็ดมากกว่าองุ่นรับประทานสดซึ่งในพวงองุ่นจะมีผลองุ่นหนาแน่น (ภาพที่ 9)

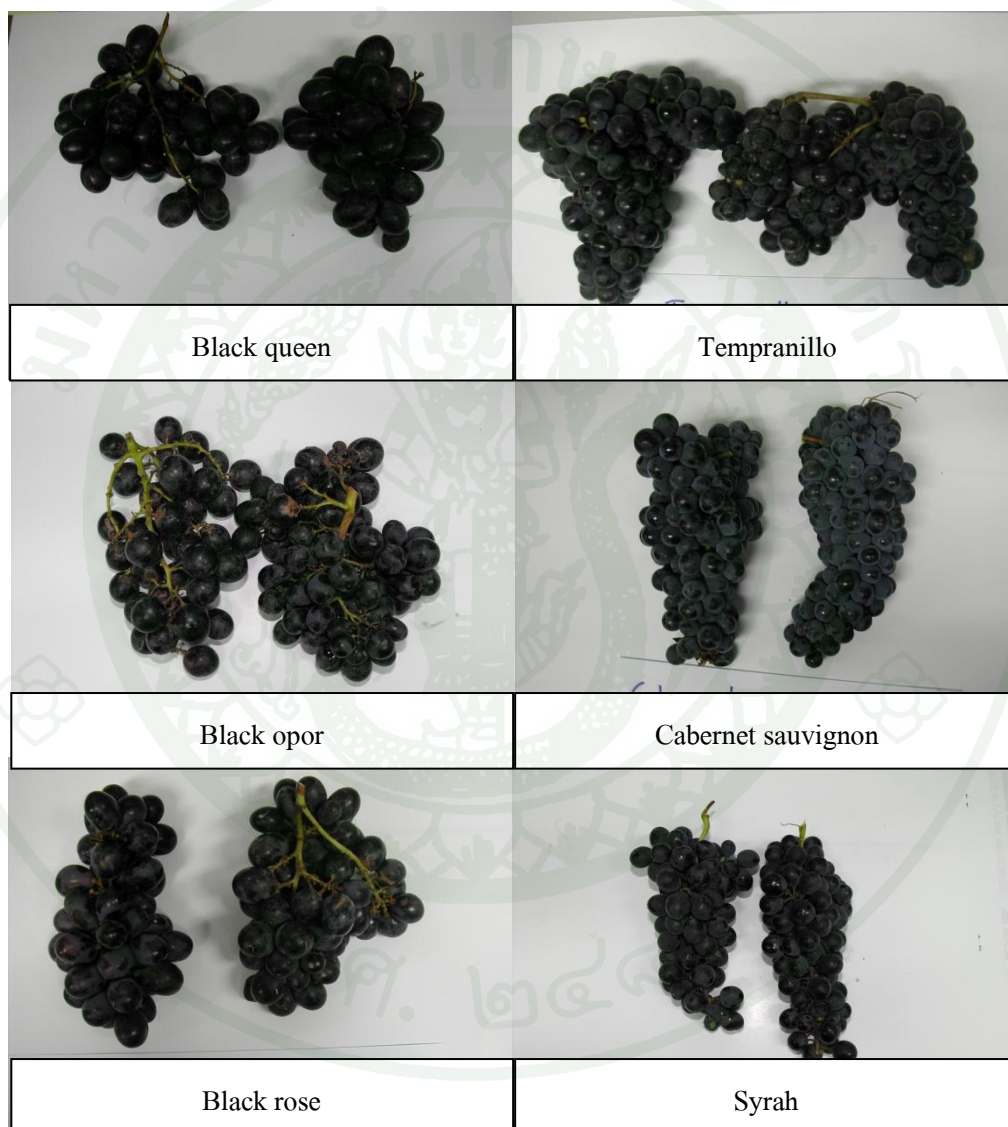
ตารางที่ 2 น้ำหนักของผลองุ่น และปริมาณเมล็ด (ร้อยละ) ขององุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์

ประเภท	สายพันธุ์	น้ำหนักของผลองุ่น (กรัม)	ปริมาณเมล็ด (ร้อยละ)
องุ่นรับประทานสด	Black queen	6.9±0.3 ^a	1.7±0.1 ^d
	Black opor	2.4±0.0 ^c	0.0±0.0 ^f
	Black rose	5.7±0.2 ^b	1.1±0.0 ^e
องุ่นทำไวน์	Tempranillo	2.0±0.0 ^d	4.5±0.0 ^c
	Cabernet sauvignon	1.2±0.0 ^f	10.9±0.1 ^a
	Syrah	1.6±0.0 ^e	9.3±0.0 ^b

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ (a-f) ที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ระหว่างคอลัมน์เดียวกัน ($n=3$)

การศึกษาผลของสายพันธุ์ต่อสมบัติทางกายภาพของผลองุ่น โดยเปรียบเทียบน้ำหนักและปริมาณเมล็ด (ร้อยละ) ของผลองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์ Black queen มีขนาดผลองุ่นใหญ่ที่สุด รองลงมาคือสายพันธุ์ Black rose สายพันธุ์ Black opor สายพันธุ์ Tempranillo สายพันธุ์ Syrah และ สายพันธุ์ Cabernet sauvignon ตามลำดับ (ตารางที่ 2) สายพันธุ์องุ่นที่มีปริมาณเนื้อและเปลือกคิดเป็นร้อยละมากที่สุดได้แก่ สายพันธุ์ Black opor รองลงมาคือสายพันธุ์ Black rose สายพันธุ์ Black

queen สายพันธุ์ Tempranillo สายพันธุ์ Syrah และ สายพันธุ์ Cabernet sauvignon ตามลำดับ สายพันธุ์องุ่นที่มีปริมาณเมล็ดคิดเป็นร้อยละมากที่สุดได้แก่ สายพันธุ์ Cabernet sauvignon รองลงมาคือ สายพันธุ์ Syrah สายพันธุ์ Tempranillo สายพันธุ์ Black queen สายพันธุ์ Black rose และ สายพันธุ์ Black opor ตามลำดับ



องุ่นรับประทานสด

องุ่นทำไวน์

ภาพที่ 9 ผลองุ่นสายพันธุ์ต่างๆที่ใช้ในการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบขนาดผลองุ่น และปริมาณเมล็ดในองุ่นทั้ง 2 ชนิดพบว่า องุ่นรับประทานสดมีน้ำหนักของผล เฉลี่ยมากกว่าองุ่นทำไวน์ ส่วนองุ่นทำไวน์มีปริมาณเมล็ดเฉลี่ยมากกว่าองุ่นรับประทานสด องุ่นที่มีปริมาณเนื้อมากที่สุดคือ สายพันธุ์ Black opor เป็นองุ่นที่ถูกพัฒนาเพื่อใช้ในการรับประทานสดจึงมีปริมาณเนื้อขององุ่นมากและไม่มีเมล็ด นอกจากนี้ยังตรวจพบว่าองุ่นทำไวน์มักมีเมล็ดมากซึ่งส่งผลกระทบต่อรสชาติของไวน์เพราะในเมล็ดองุ่นมีสารที่ทำให้เกิดรสฝาด โดยพบว่าองุ่นทำไวน์สายพันธุ์ Cabernet sauvignon เป็นองุ่นทำไวน์ที่มีปริมาณเมล็ดมากที่สุดซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลการทดลองของ Vine and Harkness (1997) พบว่าองุ่นสายพันธุ์ที่นิยมทำไวน์มีขนาดผลที่เล็ก ส่วนองุ่นรับประทานสด จะมีปริมาณเนื้อมากและมีส่วนของเมล็ดเพียงเล็กน้อย

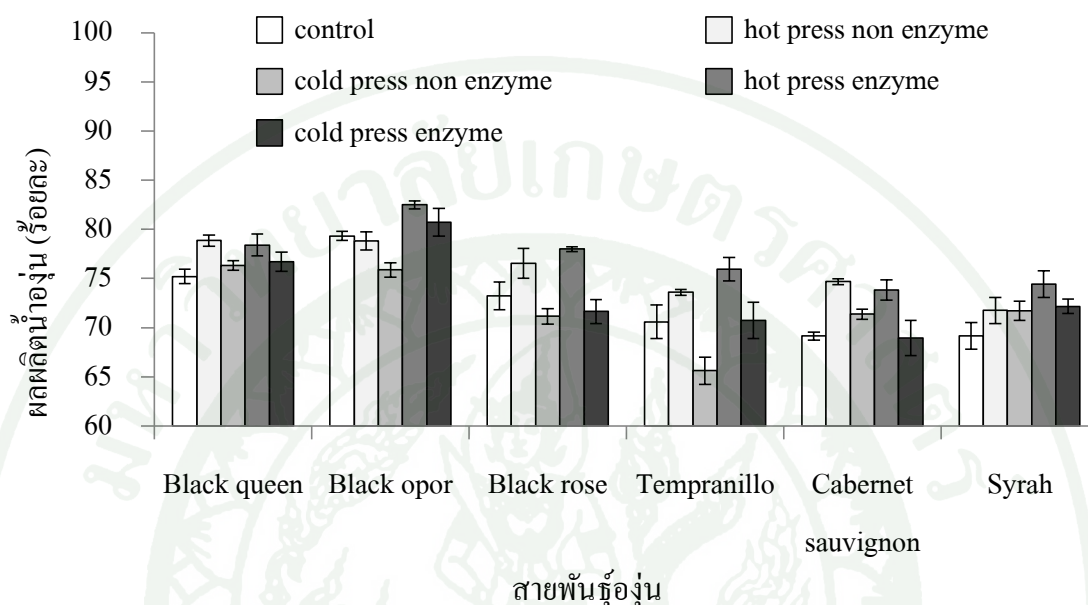
2. ผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำองุ่น

2.1 ผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อผลผลิตน้ำองุ่น

การศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อผลผลิตน้ำองุ่น โดยทั่วไปอุตสาหกรรมน้ำผลไม้มีการใช้วิธีการคั้นน้ำผลไม้ทั้งหมด 4 วิธีคือ hot press enzyme, hot press non enzyme, cold press enzyme และ cold press non enzyme ในการเพิ่มผลผลิตน้ำผลไม้ จึงนำองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์แปรรูปด้วยวิธีการคั้นน้ำทั้งหมด 5 วิธีซึ่งรวมวิธีการควบคุมแต่ส่วนมากอุตสาหกรรมน้ำผลไม้ไม่นิยมใช้วิธีการคั้นน้ำแบบ hot press enzyme จากผลการทดลองพบว่า ผลผลิตน้ำองุ่น (ร้อยละ) อยู่ระหว่าง 65.6 ± 1.4 ถึง 82.4 ± 0.4 โดยพบว่าอิทธิพลของวิธีการคั้นน้ำมีผลต่อผลผลิตน้ำองุ่นทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์องุ่นร่วมด้วย เช่นวิธีการคั้นน้ำที่เหมาะสมกับสายพันธุ์ Black rose และ สายพันธุ์ Tempranillo คือ วิธี hot press enzyme และวิธี hot press non enzyme มีผลผลิตน้ำองุ่นแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เป็นต้น (ภาพที่ 10)

จากการทดลองเปรียบเทียบผลผลิตน้ำองุ่นขององุ่นทุกสายพันธุ์เมื่อใช้วิธีการคั้นน้ำวิธีเดียวกันพบว่า สายพันธุ์องุ่นที่มีผลผลิตน้ำองุ่นมากที่สุด ($p \leq 0.05$) คือองุ่นสายพันธุ์ Black opor เมื่อทำการคั้นน้ำด้วยวิธี hot press enzyme และวิธี cold press enzyme และยังพบอีกว่าเมื่อคั้นน้ำด้วยกรรมวิธี cold press non enzyme และ วิธี control สายพันธุ์องุ่นที่มีผลผลิตน้ำองุ่นมากที่สุดและแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) คือ องุ่นสายพันธุ์ Black queen และสายพันธุ์ Black opor ส่วนวิธี hot press non enzyme องุ่นสายพันธุ์ Black queen สายพันธุ์ Black opor และองุ่นสายพันธุ์

Black rose มีผลผลิตน้ำองุ่นมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่น ซึ่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$)



ภาพที่ 10 ผลผลิตน้ำองุ่น 6 สายพันธุ์ที่คั้นน้ำด้วยกรรมวิธีแตกต่างกัน 5 วิธี

หมายเหตุ: ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n=2$)

หากพิจารณาแบ่งตามชนิดของสายพันธุ์องุ่นพบว่า องุ่นรับประทานสดทั้ง 3 สายพันธุ์มีผลผลิตน้ำองุ่นเฉลี่ยที่มากกว่าองุ่นทำไวน์ ทั้งนี้เนื่องจากกลุ่มขององุ่นรับประทานสดมีปริมาณเนื้อมากกว่ากลุ่มขององุ่นทำไวน์ (ตารางที่ 2) ส่งผลต่อผลผลิตน้ำองุ่นโดยผลผลิตน้ำองุ่นจะแปรผันตามปริมาณเนื้อองุ่น เช่นองุ่นสายพันธุ์ Black opor เป็นสายพันธุ์ที่ไม่มีเมล็ดมีส่วนของเนื้อปริมาณมาก จึงส่งผลให้มีผลผลิตน้ำองุ่นมากที่สุดเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ ในทุกๆวิธีการคั้นน้ำซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Threlfall *et al.* (2005) และ Leblanc *et al.* (2008) พบว่าสายพันธุ์องุ่นที่แตกต่างกันมีผลต่อปริมาณน้ำองุ่นเนื่องจากมีความแตกต่างกันในลักษณะทางพันธุกรรม

เมื่อพิจารณาแยกตามวิธีการคั้นน้ำโดยแบ่งเป็นกลุ่มของการคั้นน้ำด้วยวิธี hot press ซึ่งประกอบด้วยวิธี hot press enzyme และ hot press non enzyme และกลุ่มของการคั้นน้ำด้วยวิธี cold press ซึ่งประกอบด้วยวิธี cold press enzyme และ cold press non enzyme พบว่ากลุ่มของกรรมวิธี

hot press ส่วนใหญ่ในทุกๆสายพันธุ์มีผลผลิตน้ำองุ่นเฉลี่ยที่มากกว่ากลุ่มของกรรมวิธี cold press โดยมีอัตราการเพิ่มผลผลิตน้ำองุ่นเฉลี่ยร้อยละ 2 ยกเว้นองุ่นสายพันธุ์ Black queen เช่น องุ่นสายพันธุ์ Black rose เมื่อใช้วิธีการคั้นน้ำแบบ hot press ทั้ง 2 วิธี มีผลผลิตน้ำองุ่นที่มากกว่าวิธี cold press ทั้ง 2 วิธีเช่นกัน ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลการทดลองของ Threlfall *et al.* (2005) ได้ศึกษาผลของวิธีการคั้นน้ำต่อผลผลิตน้ำองุ่นพบว่า การให้ความร้อนก่อนทำการคั้นน้ำองุ่นทำให้มีผลผลิตน้ำองุ่นเพิ่มขึ้นทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้ผนังเซลล์ของผลองุ่นอ่อนตัวลงจึงทำให้สามารถคั้นน้ำองุ่นได้มากขึ้น

นอกจากวิธีการคั้นน้ำที่แบ่งแยกด้วยอุณหภูมิแล้ว ยังมีส่วนของวิธีการคั้นน้ำที่แบ่งแยกด้วยการใช้เอนไซม์และวิธีการคั้นน้ำที่ไม่ใช้เอนไซม์ซึ่งเอนไซม์ที่ใช้คือ เอนไซม์เพคตินเอส จากการศึกษาผลผลิตน้ำองุ่นขององุ่นทุกสายพันธุ์ เมื่อใช้วิธีการคั้นน้ำที่ใช้เอนไซม์และวิธีการคั้นน้ำที่ไม่ใช้เอนไซม์ จากผลการทดลองพบว่า การใช้เอนไซม์ร่วมกับวิธีการคั้นน้ำแบบ cold press สามารถเพิ่มผลผลิตน้ำองุ่นได้เพียงเล็กน้อยหรือไม่ส่งผลต่อผลผลิตน้ำองุ่น เช่น องุ่นสายพันธุ์ Black queen, Black rose, Cabernet sauvignon และ Syrah ซึ่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เมื่อใช้เอนไซม์ร่วมกับวิธีการคั้นน้ำแบบ cold press แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ขององุ่นด้วย โดยพบว่า องุ่นบางสายพันธุ์ เช่น Black opor และ Tempranillo เมื่อใช้เอนไซม์ร่วมกับวิธีการคั้นน้ำแบบ cold press กับให้ผลผลิตน้ำองุ่นที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) กับการคั้นน้ำแบบไม่ใช้เอนไซม์ โดยเมื่อใช้เอนไซม์ร่วมกับการคั้นน้ำแบบ cold press จะส่งผลในการเพิ่มผลผลิตน้ำองุ่นมากกว่าการคั้นน้ำแบบไม่ใช้เอนไซม์ ในขณะที่การใช้เอนไซม์ร่วมกับวิธีการคั้นน้ำแบบ hot press จากผลการทดลองพบว่ามีแนวโน้มเช่นเดียวกับการใช้เอนไซม์ร่วมกับการคั้นน้ำแบบ cold press โดย มีองุ่นเพียง 2 สายพันธุ์คือ Black opor และ Tempranillo ที่เอนไซม์ส่งผลต่อผลผลิตน้ำองุ่น โดยทำให้ผลผลิตน้ำองุ่นเพิ่มขึ้น ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของผลผลิตน้ำองุ่นนอกจากปัจจัยของสายพันธุ์แล้วยังขึ้นอยู่กับปัจจัยของอุณหภูมิร่วมด้วย เพราะเอนไซม์จะทำงานได้ดีต่อเมื่ออยู่ในอุณหภูมิที่เหมาะสม แต่ในบางกรณีการเติมเอนไซม์ไม่ได้มีจุดประสงค์ในการเพิ่มผลผลิตน้ำผลไม้เพียงอย่างเดียว ยังมีผลจากเอนไซม์ในกรณีอื่นๆ เช่น ช่วยในการกรอง ความใสของน้ำผลไม้และสี เป็นต้น โดย Alkorta *et al.* (1997) รายงานถึงกลไกการทำงานของเอนไซม์โดยพบว่า เอนไซม์เพคตินเอสทำหน้าที่ย่อยสลายเพคตินซึ่งเป็นโพลีเมอร์ของคาร์โบไฮเดรต มีโมเลกุลขนาดใหญ่และมีความสามารถละลายน้ำได้น้อย เอนไซม์จะทำการย่อยสลายเพคตินตรงตำแหน่งพันธะไกลโคซิดิกที่อยู่ระหว่างโมโนเมอร์ของคาร์โบไฮเดรตแต่ละตัว ทำให้โมเลกุลของเพคตินถูกย่อยให้สั้นลง ซึ่งเพคตินเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ในผลองุ่นจึงทำให้ผลองุ่นมีผนังเซลล์บางลงส่งผลให้บีบคั้น

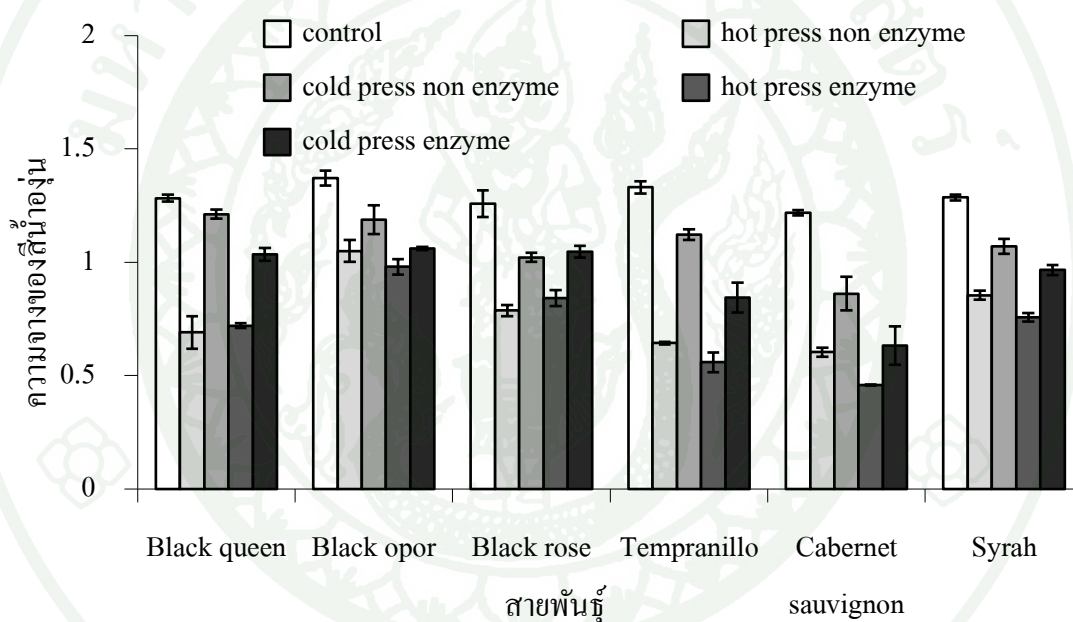
น้ำออกมาได้มากขึ้น ซึ่งปัจจัยนี้ในบางกรณีขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเอนไซม์ ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ เวลา รวมทั้งชนิดและสายพันธุ์ของผลไม้ ดังนั้นการใช้เอนไซม์อาจไม่มีผลต่อผลผลิตน้ำองุ่นซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Singh *et al.* (2012) ได้ทำการศึกษาผลของการใช้เอนไซม์เพคตินเอสในการผลิตน้ำมะตูมพบว่า เอนไซม์ไม่ส่งผลต่อผลผลิตน้ำมะตูมแต่ส่งผลต่อความหนืดคือทำให้ความหนืดลดลงและส่งผลต่อความใสโดยทำให้น้ำมะตูมใสขึ้น เนื่องจากกลไกการทำงานของเอนไซม์จะทำปฏิกิริยาบริเวณผิวของอนุภาคคอลลอยด์ ที่เกิดจากการจับตัวของเพคตินกับโปรตีนโดยโมเลกุลของเพคตินบางส่วนจะถูกย่อยและแยกออกจากโมเลกุลของโปรตีน ทำให้โอกาสที่อนุภาคคอลลอยด์ของโปรตีนรวมตัวกันเองจนมีขนาดใหญ่แล้วตกตะกอนสูงขึ้น (Leblanc *et al.*, 2008) และสอดคล้องกับผลของ Sims *et al.* (1993) ที่ศึกษาผลของเอนไซม์เพคตินเอสต่อน้ำแครอท พบว่าการใช้เอนไซม์ไม่ส่งผลต่อผลผลิตน้ำแครอทแต่ส่งผลต่อค่าสีที่พบในน้ำแครอทมากกว่า

เมื่อพิจารณาถึงวิธีการคั้นน้ำที่เหมาะสมในองุ่นแต่ละสายพันธุ์พบว่า วิธีการคั้นน้ำที่เหมาะสมกับสายพันธุ์ Black rose และ สายพันธุ์ Tempranillo คือ วิธี hot press enzyme และวิธี hot press non enzyme มีผลผลิตน้ำองุ่นมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทุกวิธีการคั้นน้ำและแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เป็นต้น ส่วนองุ่นสายพันธุ์ Cabernet sauvignon มีผลการทดลองใกล้เคียงกับ 2 สายพันธุ์ข้างต้น แต่สามารถใช้วิธีการคั้นน้ำเพิ่มอีก 1 กรรมวิธีคือ วิธี cold press non enzyme องุ่นสายพันธุ์ Black queen และสายพันธุ์ Syrah สามารถใช้วิธีการคั้นน้ำได้ทุกกรรมวิธี ยกเว้นวิธี control เฉพาะในสายพันธุ์ Syrah เพียงกรรมวิธีเดียวที่มีผลผลิตน้ำองุ่นแตกต่างจากกรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) องุ่นสายพันธุ์ Black opor เหมาะสมกับวิธีการคั้นน้ำทั้งหมด 3 วิธี คือ วิธี hot press enzyme วิธี cold press enzyme และวิธี control มีผลผลิตน้ำองุ่นมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทุกวิธีการคั้นน้ำและแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) (ภาพที่ 10)

2.2 ผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อค่าสีของน้ำองุ่น

จากการทดลองคั้นน้ำองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์ด้วยกรรมวิธีที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาค่าสีของน้ำองุ่นจากปัจจัยของสายพันธุ์องุ่นในระบบวัดค่าสีแบบ $L^* a^* b^*$ พบว่า ค่า L^* ที่แสดงถึงความสว่างของน้ำองุ่น ในกลุ่มองุ่นทำไวน์มีค่าเฉลี่ยที่น้อยกว่าองุ่นรับประทานสด เมื่อเปรียบเทียบสีของน้ำองุ่นแต่ละสายพันธุ์ในวิธีการคั้นน้ำเดียวกันคือ hot press enzyme พบว่า ค่า L^* ของน้ำองุ่นสายพันธุ์ Black queen มีค่ามากที่สุด รองลงมาคือสายพันธุ์ Black opor และ Black rose นอกจากนี้อีก 3 สายพันธุ์ คือ กลุ่มขององุ่นทำไวน์ซึ่งพบว่าค่า L^* ของน้ำองุ่นทำไวน์มีค่าใกล้เคียงกันคือ อยู่ระหว่าง

12 -17 แสดงถึงสีของน้ำองุ่นที่มีค่าความสว่างน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มองุ่นรับประทานสด ซึ่งค่า L* อยู่ระหว่าง 24 -29 นอกจากค่า L* ยังพบว่าค่า a* ในทางบวกแสดงถึงสีแดงน้ำองุ่น สายพันธุ์ Black queen มีค่า a* มากที่สุด รองลงมาคือน้ำองุ่นสายพันธุ์ Black opor, Black rose, Tempranillo, Cabernet sauvignon และสายพันธุ์ Syrah ตามลำดับ เมื่อพิจารณาถึงค่า b* ในค่าบวกแสดงถึงสีเหลืองพบว่าน้ำองุ่นสายพันธุ์ Black queen, Black opor, Black rose และสายพันธุ์ Tempranillo มีค่า b* ใกล้เคียงกันคือมีค่า b* อยู่ระหว่าง 27-29 ส่วนน้ำองุ่นอีก 2 สายพันธุ์ที่เหลือคือน้ำองุ่นสายพันธุ์ Cabernet sauvignon และสายพันธุ์ Syrah มีค่า b* ใกล้เคียงกันคือมีค่า b* อยู่ระหว่าง 19-21 แสดงถึงกลุ่มของสีเหลืองของน้ำองุ่นที่ใกล้เคียงกัน

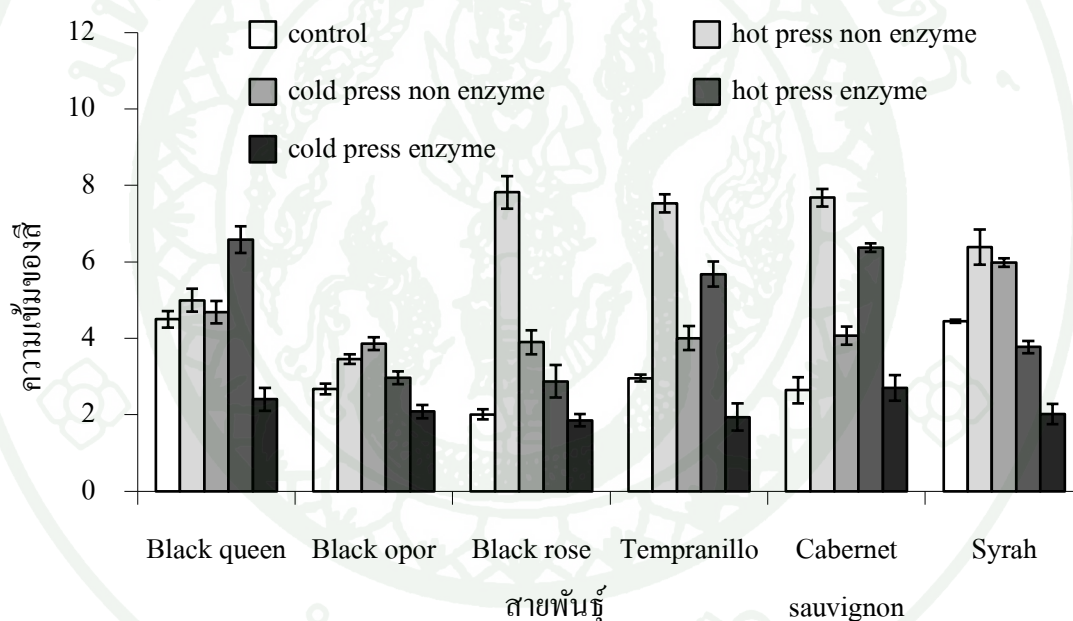


ภาพที่ 11 ความจางของสีน้ำองุ่นของน้ำองุ่น 6 สายพันธุ์ที่คั้นน้ำด้วยกรรมวิธีแตกต่างกัน 5 วิธี

หมายเหตุ: ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

เมื่อพิจารณาความจางและความเข้มของสีของน้ำองุ่นจากปัจจัยของสายพันธุ์พบว่าความจางของสีน้ำองุ่น (T หรือ tint) ในวิธีการคั้นน้ำควบคุม แต่ละสายพันธุ์มีค่าสูงแสดงถึงความจางของสีของน้ำองุ่นสังเกตได้จากภาพที่ 13 ซึ่งจากการวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ พบว่า ความจางของสีน้ำองุ่นในวิธีการคั้นน้ำควบคุมแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และมีแนวโน้มในทิศทางเดียวกันทุกสายพันธุ์และยังพบอีกว่า สายพันธุ์ Black opor เป็นสายพันธุ์

องุ่นที่มีค่าเฉลี่ยความจางของสีน้ำองุ่นมากที่สุด แสดงถึงสีของน้ำองุ่นที่อ่อนกว่าสายพันธุ์อื่น ส่วนสายพันธุ์ Tempranillo และ Cabernet sauvignon ค่าเฉลี่ยความจางของสีน้ำองุ่นน้อยที่สุด แสดงถึงสีของน้ำองุ่นที่เข้มกว่าสายพันธุ์อื่นและแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เช่นเปรียบเทียบวิธีการคั้นน้ำแบบ hot press non enzyme ในทุกๆสายพันธุ์พบว่า สายพันธุ์ Black opor มีค่าความจางของสีน้ำองุ่นมากที่สุดรองลงมาคือ Black queen Black opor และ Syrah โดยทั้ง 3 สายพันธุ์ข้างต้นแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และน้ำองุ่นของสายพันธุ์ Tempranillo และ Cabernet sauvignon มีค่าความจางของสีน้ำองุ่นน้อยที่สุดและแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เมื่อแยกตามชนิดขององุ่นพบว่า กลุ่มขององุ่นทำไวน์มีค่าความจางของสีน้ำองุ่นเฉลี่ยน้อยกว่ากลุ่มขององุ่นรับประทานสด

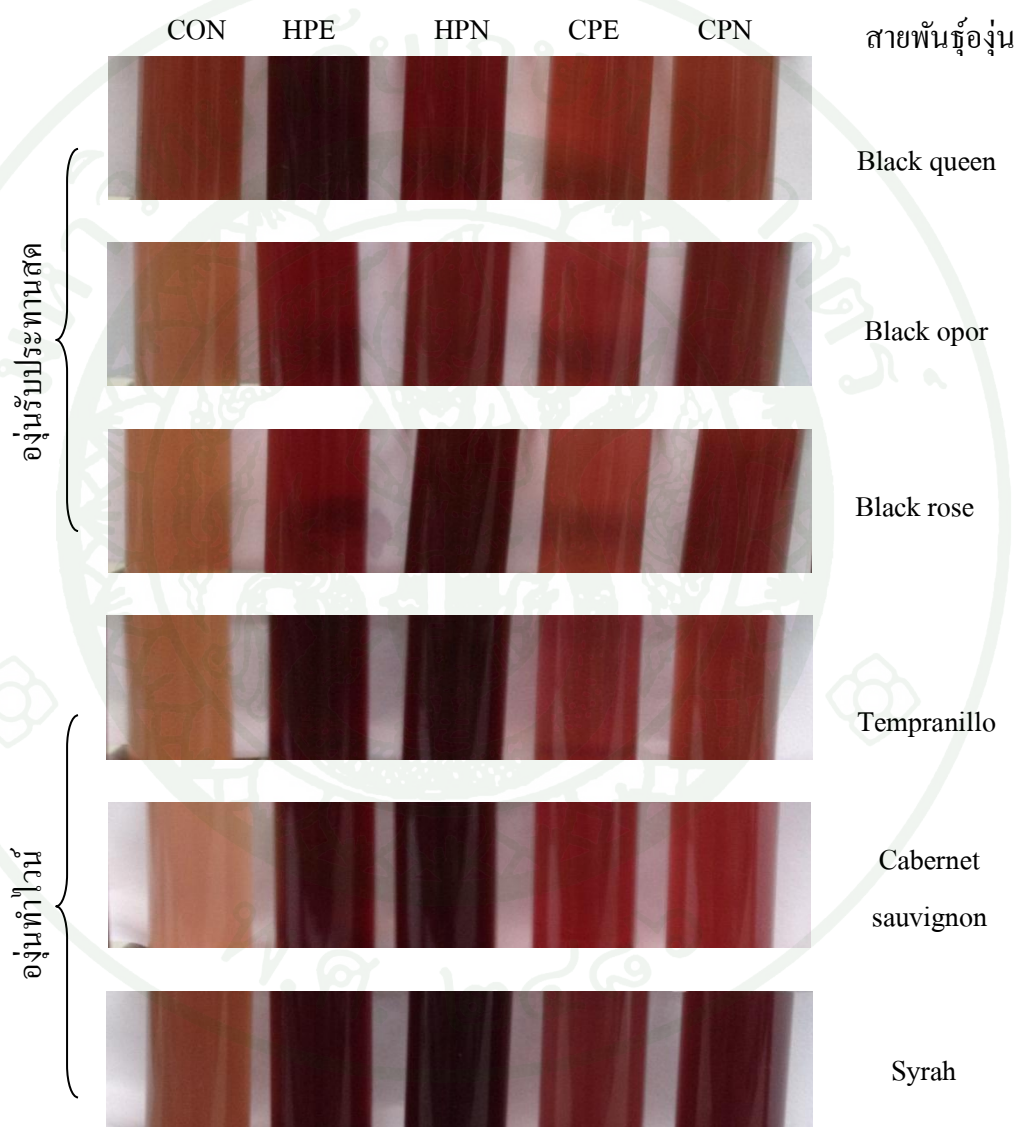


ภาพที่ 12 ความเข้มของสีน้ำองุ่น 6 สายพันธุ์ที่คั้นน้ำด้วยกรรมวิธีแตกต่างกัน 5 วิธี

หมายเหตุ: ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n=2$)

เมื่อพิจารณาส่วนของความเข้มของสีน้ำองุ่น (CI, Colour Intensity) พบว่าสายพันธุ์ Tempranillo และ Cabernet sauvignon มีค่าเฉลี่ยความเข้มของสีน้ำองุ่นมากที่สุด แสดงถึงสีของน้ำองุ่นที่เข้ม สอดคล้องกับค่า L^* a^* b^* ซึ่งค่าสีของน้ำองุ่นสัมพันธ์กับสีของเปลือกองุ่นเนื่องจากสีที่พบในน้ำองุ่นคือเม็ดสีที่อยู่ในส่วนของเปลือกองุ่นนั่นเอง (ตารางที่ 3) ทั้งนี้ผลการทดลอง

สอดคล้องกับผลการทดลองของ Liang *et al.* (2008) ที่ศึกษาปริมาณและส่วนประกอบของแอนโทไซยานินในเปลือกองุ่น 110 สายพันธุ์โดยแบ่งเป็น 3 ชนิดคือ องุ่นใช้ทำน้ำองุ่น, องุ่นรับประทานสด และองุ่นทำไวน์พบว่าองุ่นสำหรับทำไวน์มีปริมาณแอนโทไซยานินส์สูงกว่าองุ่นรับประทานสด เนื่องจากแอนโทไซยานินส์เป็นกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกที่ให้สีม่วงซึ่งมีผลต่อค่าสีของน้ำองุ่น



ภาพที่ 13 ภาพตัวอย่างน้ำองุ่น

หมายเหตุ : CON = control, HPE = hot press enzyme, HPN = hot press non enzyme

CPE = cold press enzyme, CPN = cold press non enzyme

ตารางที่ 3 ค่าสี L* a* b* ของน้ำองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์

สายพันธุ์	วิธีการคั้นน้ำ	สีของน้ำองุ่น		
		L*	a*	b*
Black queen	control	49.3±0.3b	34.2±0.1d	32.4±0.6a
	hot press non enzyme	32.5±0.9d	50.1±0.3b	31.7±0.9a
	cold press non enzyme	43.1±3.8c	42.9±2.1c	32.7±0.6a
	hot press enzyme	29.3±2.8e	53.7±0.4a	29.9±1.3b
	cold press enzyme	56.5±3.5a	41.1±3.9c	20.3±0.2c
Black opor	control	61.3±3.1a	26.7±0.1e	28.8±1.4a
	hot press non enzyme	37.7±0.3c	48.3±0.5b	22.3±1.7b
	cold press non enzyme	45.6±0.5b	41.7±1.9d	23.5±1.7b
	hot press enzyme	24.5±1.3d	51.2±1.1a	28.0±0.5a
	cold press enzyme	60.4±2.2a	45.8±0.6c	16.1±0.4c
Black rose	control	60.4±4.0b	28.5±2.4e	30.0±1.7a
	hot press non enzyme	24.9±0.4d	52.2±0.6a	28.6±1.0c
	cold press non enzyme	37.9±0.7c	47.9±1.7c	29.2±2.1b
	hot press enzyme	24.0±0.7d	50.5±1.2b	27.9±1.1d
	cold press enzyme	70.8±0.6a	44.3±2.2d	17.4±0.8e
Tempranillo	control	56.4±4.3a	33.0±3.0e	31.9±1.4a
	hot press non enzyme	18.9±0.6d	48.2±1.6c	28.8±1.3c
	cold press non enzyme	36.4±2.5c	52.0±1.2b	30.2±1.0b
	hot press enzyme	17.9±0.6e	46.2±3.8d	27.6±1.4d
	cold press enzyme	52.0±4.0b	52.9±2.7a	16.6±0.6e
Cabernet sauvignon	control	61.7±4.3a	33.8±1.7e	27.0±1.4c
	hot press non enzyme	16.5±1.3d	45.3±4.1c	29.4±0.1b
	cold press non enzyme	42.5±1.9c	55.9±1.8b	36.9±0.5a
	hot press enzyme	12.7±0.3e	43.6±0.2d	21.8±0.5e
	cold press enzyme	47.3±0.7b	62.0±1.3a	26.6±1.2d

ตารางที่ 3 (ต่อ)

สายพันธุ์	วิธีการคั้นน้ำ	สีของน้ำองุ่น		
		L*	a*	b*
Syrah	control	48.6±0.3a	35.4±1.9e	27.8±0.4a
	hot press non enzyme	11.6±1.0e	40.6±0.9d	17.7±0.8d
	cold press non enzyme	19.5±1.5c	44.4±1.1b	25.1±0.0b
	hot press enzyme	12.6±0.1d	42.2±0.5c	19.6±0.1c
	cold press enzyme	42.7±3.8b	46.3±3.0a	15.8±0.2e

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์ของสายพันธุ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (n=2)

เมื่อพิจารณาถึงค่าสีของน้ำองุ่นจากปัจจัยของวิธีการคั้นน้ำพบว่าทุกสายพันธุ์มีแนวโน้มในทิศทางเดียวกัน (ตารางที่ 3) คือ วิธีการคั้นน้ำที่ไม่ใช้ความร้อนมีค่า L* ที่มากกว่า วิธีการคั้นน้ำที่ใช้ความร้อนซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันทุกสายพันธุ์ เมื่อพิจารณาถึงค่า a* และ b* ในวิธีการ hot press non enzyme และ cold press non enzyme พบว่าวิธีการคั้นน้ำที่ใช้ความร้อน น้ำองุ่นมีค่า a* น้อยกว่าวิธีการคั้นน้ำที่ไม่ใช้ความร้อนเหมือนกันในทุกๆสายพันธุ์ แต่เมื่อพิจารณาในวิธี hot press enzyme และ cold press enzyme พบว่า ค่า b* มีแนวโน้มในทิศทางเดียวกันคือ วิธีการคั้นน้ำแบบ cold press enzyme มีค่า b* น้อยกว่าวิธี hot press enzyme แตกต่างจากวิธีการคั้นน้ำที่ไม่ใช้เอนไซม์ ซึ่งการใช้เอนไซม์มีผลต่อ ค่า b* เพียงค่าเดียวโดยทำให้สีของน้ำองุ่นในวิธีการคั้นน้ำที่ไม่ใช้ความร้อนมีค่า b* น้อยกว่าวิธีการคั้นน้ำที่ใช้ความร้อน แสดงถึงการใส่เอนไซม์ร่วมกับความร้อนทำให้สีของน้ำองุ่นมีช่วงของสีที่เหลืองมากขึ้น นอกจากนี้วิธีการคั้นน้ำยังส่งผลต่อค่าความจางของสีน้ำองุ่น (ภาพที่ 11) และความเข้มของสีน้ำองุ่น (ภาพที่ 12) โดยพบว่า วิธีการคั้นน้ำควบคุมมีค่าความจางของสีน้ำองุ่นมากที่สุดแสดงถึงลักษณะน้ำองุ่นมีสีที่จางมากที่สุด ซึ่งตรงข้ามกับวิธีการคั้นน้ำที่ใช้ความร้อนทั้งสองวิธีซึ่งจากผลการทดลองพบว่าเอนไซม์ส่งผลต่อค่าความจางของสีน้ำองุ่นทำให้มีค่าลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการคั้นน้ำแบบ hot press enzyme ในสายพันธุ์ Tempranillo และ Cabernet sauvignon มีค่าความจางของสีน้ำองุ่นน้อยที่สุดและแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ซึ่งทุกสายพันธุ์มีแนวโน้มของค่าความจางของสีน้ำองุ่นในทิศทางเดียวกันคือ control, cold press non enzyme, cold press enzyme, hot press non enzyme และ hot press enzyme

ตามลำดับ เมื่อพิจารณาถึงความเข้มของสีน้ำองุ่นพบว่า วิธีการคั้นน้ำที่ส่งผลให้ค่าความเข้มของสีน้ำองุ่นมากที่สุดคือวิธีการคั้นน้ำแบบ hot press non enzyme ในองุ่นสายพันธุ์ Black rose Tempranillo และ Cabernet sauvignon รองลงมาคือวิธี hot press enzyme โดยสังเกตจากค่าเฉลี่ย เมื่อพิจารณารวมทุกสายพันธุ์ และพบอีกว่าการใช้ความร้อนในการบ่มองุ่นก่อนการคั้นน้ำส่งผลให้มีค่าความเข้มของสีน้ำองุ่นมากกว่าการไม่ใช้ความร้อน ส่วนปัจจัยของเอนไซม์ส่งผลต่อความเข้มของสีน้ำองุ่นในบางสายพันธุ์ เช่นสายพันธุ์ Black queen เมื่อใช้วิธี hot press enzyme ทำให้มีค่าความเข้มของสีน้ำองุ่นมาก เนื่องจากการใช้เอนไซม์ร่วมกับการใช้ความร้อนทำให้น้ำเซลล์บริเวณเปลือกองุ่นอ่อนตัวลง เมื่อทำการคั้นน้ำองุ่นเอนไซม์ไฮยาลินัสที่สะสมบริเวณเปลือกจึงถูกปลดปล่อยออกมาจากเซลล์ได้มากกว่าการไม่ใช้ความร้อน แต่ความร้อนมีผลทำให้น้ำผลไม้เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลซึ่งสอดคล้องกับผลของ Bhattacharjee *et al.* (2011) พบว่าการใช้ความร้อนสามารถเพิ่มค่า b^* ในน้ำผลไม้ได้โดยการเพิ่มสีน้ำตาล แต่องุ่นสายพันธุ์ Black opor กลับพบว่า การใช้ความร้อนร่วมกับเอนไซม์ไม่ส่งผลในการเพิ่มค่าความเข้มของสีน้ำองุ่นซึ่งปัจจัยนี้ได้กล่าวแล้วข้างต้น

3. การศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อคุณสมบัติทางเคมีของน้ำองุ่น

จากการทดลองน้ำองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์คั้นน้ำด้วยกรรมวิธีที่แตกต่างกันแล้วนำไปตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีของน้ำองุ่นซึ่งประกอบด้วย ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณกรดทาร์ทาริก และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (ตารางที่ 4)

3.1. ผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

จากการศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อค่า pH พบว่า มีค่า pH แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในวิธีการคั้นน้ำที่แตกต่างกัน และพบอีกว่าแต่ละสายพันธุ์มีค่า pH เฉลี่ยประมาณ 3.8 โดยมีค่า pH อยู่ในช่วง 3.4-4.0 โดยสายพันธุ์ Cabernet sauvignon มีค่า pH เฉลี่ยที่ต่ำที่สุดคือ 3.5 ส่วนสายพันธุ์อื่นๆมีค่า pH ใกล้เคียงกัน ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ Threlfall *et al.* (2005) ที่พบว่าวิธีการคั้นน้ำที่แตกต่างกันไม่ส่งผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างและสอดคล้องกับผลการทดลองของ Fuleki and Ricardo da silva (2003) พบว่า การใช้ความร้อนและไม่ใช้ความร้อนในการคั้นน้ำองุ่นส่งผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างเพียงเล็กน้อย

3.2. ผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อปริมาณกรดทั้งหมด

จากการศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อปริมาณทั้งหมดรายงานเป็นปริมาณกรดทาร์ทาริก พบว่าน้ำองุ่นของสายพันธุ์ Tempranillo และ Cabernet sauvignon มีปริมาณกรดเฉลี่ยมากที่สุด โดยมีปริมาณกรด อยู่ระหว่าง 4.6-7.4 กรัมต่อลิตร และสายพันธุ์ Syrah มีปริมาณกรดเฉลี่ยน้อยที่สุดซึ่งความแตกต่างกันของสายพันธุ์มีผลต่อปริมาณกรด เมื่อพิจารณาถึงวิธีการคั้นน้ำ พบว่า ทุกสายพันธุ์มีแนวโน้มในทิศทางเดียวกันคือการใช้ความร้อนในการคั้นน้ำส่งผลให้มีปริมาณกรดมากกว่าวิธีคั้นน้ำที่ไม่ใช้ความร้อน นอกจากนั้นการใช้เอนไซม์ก็ส่งผลต่อปริมาณกรด เช่นเดียวกับการใช้ความร้อนคือเมื่อใช้เอนไซม์ร่วมกับการคั้นน้ำทำให้น้ำองุ่นมีปริมาณกรดมากกว่าวิธีการคั้นน้ำที่ไม่ใช้เอนไซม์ สอดคล้องกับผลการทดลองของ Fuleki and Ricardo da silva (2003) พบว่าการใช้ความร้อนและเอนไซม์มีผลโดยตรงต่อการสกัดกรดที่อยู่ในผลองุ่นให้ละลายอยู่ในน้ำองุ่นมากกว่าการคั้นน้ำที่ไม่ใช้ความร้อนและไม่ใช้เอนไซม์และสอดคล้องกับผลของ Threlfall *et al.* (2005) พบว่าการให้ความร้อนมีผลต่อปริมาณกรดที่พบในน้ำองุ่น

3.3. ผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

จากการศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อความหวานหรือปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ($^{\circ}$ Brix) สายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำเป็นปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดซึ่งพบว่า วิธีการคั้นน้ำโดยใช้ความร้อน ตรวจพบปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมากกว่าวิธีการคั้นน้ำที่ไม่ใช้ความร้อนซึ่งมีแนวโน้มในทิศทางเดียวกันทุกสายพันธุ์ รวมถึงการใช้เอนไซม์ก็มีผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเช่นกันโดยพบว่า การใช้เอนไซม์สามารถเพิ่มปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมากกว่าการไม่ใช้เอนไซม์ เมื่อพิจารณาปัจจัยของสายพันธุ์ พบว่า น้ำองุ่นสายพันธุ์ Black rose, Tempranillo และน้ำองุ่นสายพันธุ์ Syrah เป็นน้ำองุ่นที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดใกล้เคียงกัน มีค่าเฉลี่ย 20 $^{\circ}$ Brix และมากกว่า 3 สายพันธุ์ที่เหลือคือ Black queen, Cabernet sauvignon และสายพันธุ์ Black opor มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดน้อยที่สุดเฉลี่ย 14 $^{\circ}$ Brix สอดคล้องกับผลการทดลองของ Fuleki and Ricardo da silva (2003) พบว่าการใช้ความร้อนและเอนไซม์มีผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

ตารางที่ 4 ปริมาณกรดทั้งหมด (กรัมต่อลิตร) ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)

สายพันธุ์	วิธีการคั้นน้ำ	ปริมาณกรด ทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	ความเป็น กรด-ด่าง (pH)	ปริมาณของแข็ง ที่ละลายได้ ทั้งหมด (°Brix)
Black queen	Control	4.7±0.2c	3.8±0.1ns	18.0 ± 0.0a
	hot press non enzyme	5.5±0.3b	3.8±0.1	17.2 ± 0.0b
	cold press non enzyme	3.1±0.1e	3.8±0.0	15.5 ± 1.3d
	hot press enzyme	6.7±0.5a	3.8±0.1	18.0 ± 0.0a
	cold press enzyme	3.8±0.1d	3.9±0.0	16.3 ± 1.0c
Black opor	Control	3.6±0.2b	3.6±0.1ns	14.6 ± 0.0b
	hot press non enzyme	3.0±0.0c	3.8±0.1	13.2 ± 0.9c
	cold press non enzyme	3.1±0.1c	3.8±0.0	13.8 ± 0.0c
	hot press enzyme	4.9±0.2a	3.7±0.1	15.4 ± 0.0a
	cold press enzyme	2.6±0.1d	3.8±0.0	14.0 ± 1.4b
Black rose	Control	4.1±0.0c	3.6±0.1ns	20.0 ± 1.4b
	hot press non enzyme	4.7±0.2b	3.7±0.1	20.8 ± 0.0b
	cold press non enzyme	4.1±0.1c	3.7±0.0	18.5 ± 2.1c
	hot press enzyme	6.8±0.1a	3.6±0.1	21.1 ± 0.4a
	cold press enzyme	3.3±0.2d	3.7±0.0	19.0 ± 1.4c
Tempranillo	Control	4.6±0.0d	3.8±0.0ns	19.4 ± 2.0c
	hot press non enzyme	6.4±0.1b	3.8±0.0	21.3 ± 0.0a
	cold press non enzyme	5.5±0.1c	3.8±0.0	20.1 ± 1.8b
	hot press enzyme	7.4±0.1a	3.8±0.0	21.6 ± 0.0a
	cold press enzyme	5.2±0.3c	3.8±0.0	19.3 ± 1.8c

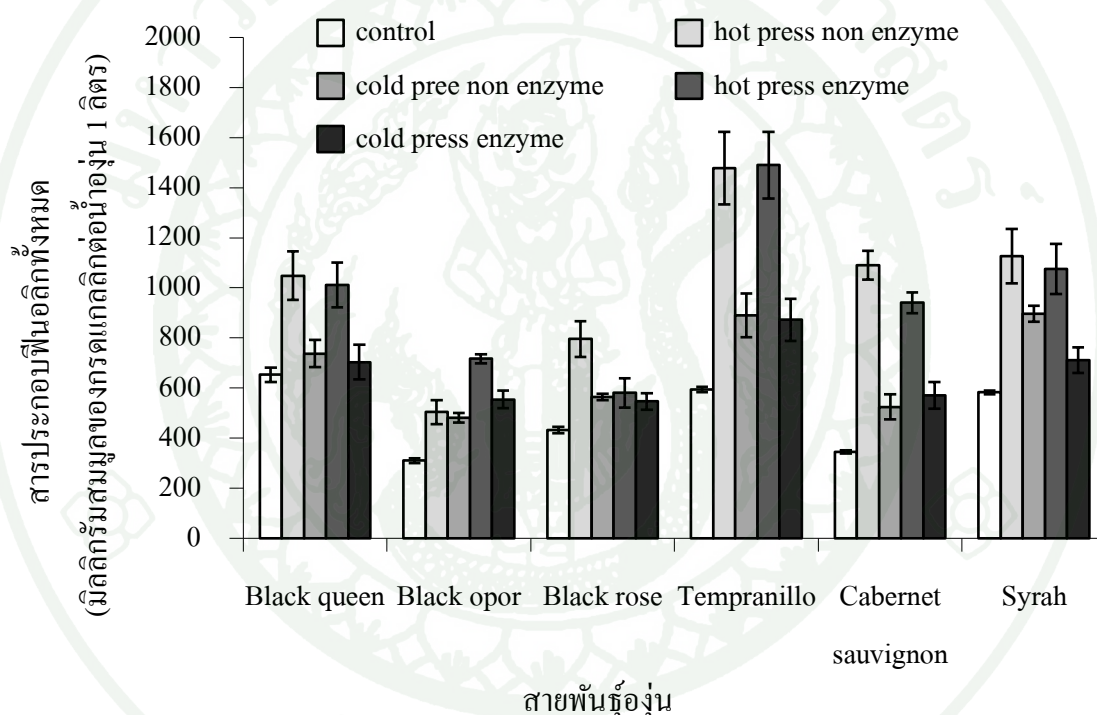
ตารางที่ 4 (ต่อ)

สายพันธุ์	วิธีการคั้นน้ำ	ปริมาณกรด ทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	ความเป็น กรด-ด่าง (pH)	ปริมาณของแข็ง ที่ละลายได้ ทั้งหมด (°Brix)
Cabernet sauvignon	Control	4.9±0.3d	3.5±0.1ns	16.5 ± 0.7b
	hot press non enzyme	6.6±0.4b	3.5±0.0	18.6 ± 0.3a
	cold press non enzyme	5.2±0.1c	3.5±0.0	16.2 ± 0.9b
	hot press enzyme	7.0±0.3a	3.4±0.0	18.8 ± 0.0a
	cold press enzyme	5.1±0.2c	3.5±0.0	16.6 ± 1.7b
Syrah	Control	4.2±0.2a	3.9±0.0ns	20.4 ± 0.0a
	hot press non enzyme	3.2±0.2b	3.9±0.1	18.5 ± 0.7b
	cold press non enzyme	3.4±0.1b	3.9±0.0	20.5 ± 0.7a
	hot press enzyme	3.5±0.2b	3.8±0.0	20.1 ± 0.1a
	cold press enzyme	2.5±0.1c	4.0±0.0	18.4 ± 0.9b

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์ของสายพันธุ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (n=2)

4. การศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

จากการศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ในน้ำองุ่นดำทั้ง 6 สายพันธุ์ที่ผ่านกรรมวิธีการคั้นน้ำที่แตกต่างกัน 5 วิธี พบว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีปริมาณตั้งแต่ 310.3 ± 9.6 ถึง 1490.5 ± 132.9 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำองุ่น 1 ลิตร (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์

หมายเหตุ: ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำองุ่น โดยแบ่งกลุ่มของน้ำองุ่นตามชนิดของสายพันธุ์ เป็นสองกลุ่มคือน้ำองุ่นรับประทานสดซึ่งประกอบด้วยองุ่นสายพันธุ์ Black queen Black opor และสายพันธุ์ Black rose สำหรับกลุ่มของน้ำองุ่นทำไวน์ประกอบด้วยองุ่นสายพันธุ์ Tempranillo Cabernet sauvignon และสายพันธุ์ Syrah จากผลการทดลองพบว่ากลุ่มขององุ่นรับประทานสดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยกว่ากลุ่มของ

องุ่นทำไวน์ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Liang *et al.* (2008) ซึ่งพบว่าสายพันธุ์ขององุ่นรับประทานสดมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยกว่าสายพันธุ์ขององุ่นทำไวน์ โดยพบว่าจำนวนของผลองุ่นที่ใช้ในการผลิตน้ำมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโดยน้ำหนักเท่ากัน พบว่าองุ่นทำไวน์มีจำนวนของผลองุ่นมากกว่าองุ่นรับประทานสด เนื่องจากผลขององุ่นทำไวน์มีขนาดเล็กกว่าและเบากว่าองุ่นรับประทานสด อีกหนึ่งปัจจัยคือปริมาณของเปลือกและเมล็ดขององุ่นทำไวน์มีปริมาณมากกว่าดังแสดงในตารางที่ 2 เมื่อเทียบโดยน้ำหนักเท่ากัน เพราะสารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่อยู่ในบริเวณเปลือกและเมล็ดขององุ่น (Negro *et al.* 2003) สอดคล้องกับผลของ Xu *et al.* (2010) พบว่าสายพันธุ์องุ่นทำไวน์ส่วนใหญ่มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเมล็ดและเปลือกโดยพบที่เมล็ดมากกว่าเปลือก จึงส่งผลให้องุ่นทำไวน์ซึ่งมีปริมาณเปลือกและเมล็ดมากกว่ามีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าองุ่นรับประทานสด

เมื่อพิจารณาถึงวิธีการคั้นน้ำต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าในทุกๆสายพันธุ์มีแนวโน้มในทางเดียวกัน โดยพบว่าการใช้ความร้อนก่อนการคั้นน้ำองุ่นส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด นั่นคือตรวจพบสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เมื่อใช้วิธีคั้นน้ำที่ใช้ความร้อนมากกว่าวิธีการคั้นน้ำที่ไม่ใช้ความร้อนซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ Threlfall *et al.* (2005) ศึกษาผลของการทำน้ำองุ่น คุณภาพและสารสำคัญที่พบในน้ำองุ่นพบว่าการใช้ความร้อนก่อนทำการคั้นน้ำองุ่นทำให้มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากขึ้นและสอดคล้องกับผลของ Auw *et al.* (1996) ที่ศึกษาผลของวิธีการคั้นน้ำต่อสารสำคัญที่พบในองุ่น พบว่าการใช้ความร้อนด้วยวิธีการ hot press ทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าวิธี cold press และพบอีกว่าการใช้ความร้อนเข้าร่วมในการคั้นน้ำองุ่นส่งผลให้เซลล์ของผลองุ่นอ่อนตัวลงและแตกได้ง่าย ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่อยู่ในบริเวณเปลือกและเมล็ดขององุ่น (Negro *et al.* 2003) เมื่อความร้อนทำให้เปลือกและเมล็ดองุ่นบีบคั้นน้ำได้มากขึ้นจึงส่งผลให้มีสารประกอบฟีนอลิกมากขึ้นด้วย เมื่อพิจารณาวิธีการคั้นน้ำโดยมีการใช้เอนไซม์เพคตินเอสเข้าร่วมในการคั้นน้ำ พบว่าน้ำองุ่นส่วนใหญ่การใช้เอนไซม์ไม่ส่งผลต่อสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เช่นน้ำองุ่นของสายพันธุ์ Black queen และ Tempranillo โดยปัจจัยส่วนใหญ่ที่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกคือการใช้ความร้อนมากกว่าการใช้เอนไซม์ และการใช้เอนไซม์ร่วมกับความร้อนในการคั้นน้ำองุ่นสายพันธุ์ Black rose และ Cabernet sauvignon ทำให้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยกว่าการไม่ใช้ความร้อนร่วมกับเอนไซม์ ในบางสายพันธุ์การใช้เอนไซม์ส่งผลให้มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากขึ้นต่อเมื่อมีการใช้ความร้อนร่วมด้วยเช่น สายพันธุ์ Black opor ซึ่งปัจจัยของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของ

องุ่นร่วมด้วย เนื่องจากองุ่นแต่ละสายพันธุ์มีรูปร่าง ขนาดผล ความหนาของเปลือกและปริมาณเพคตินที่แตกต่างกัน

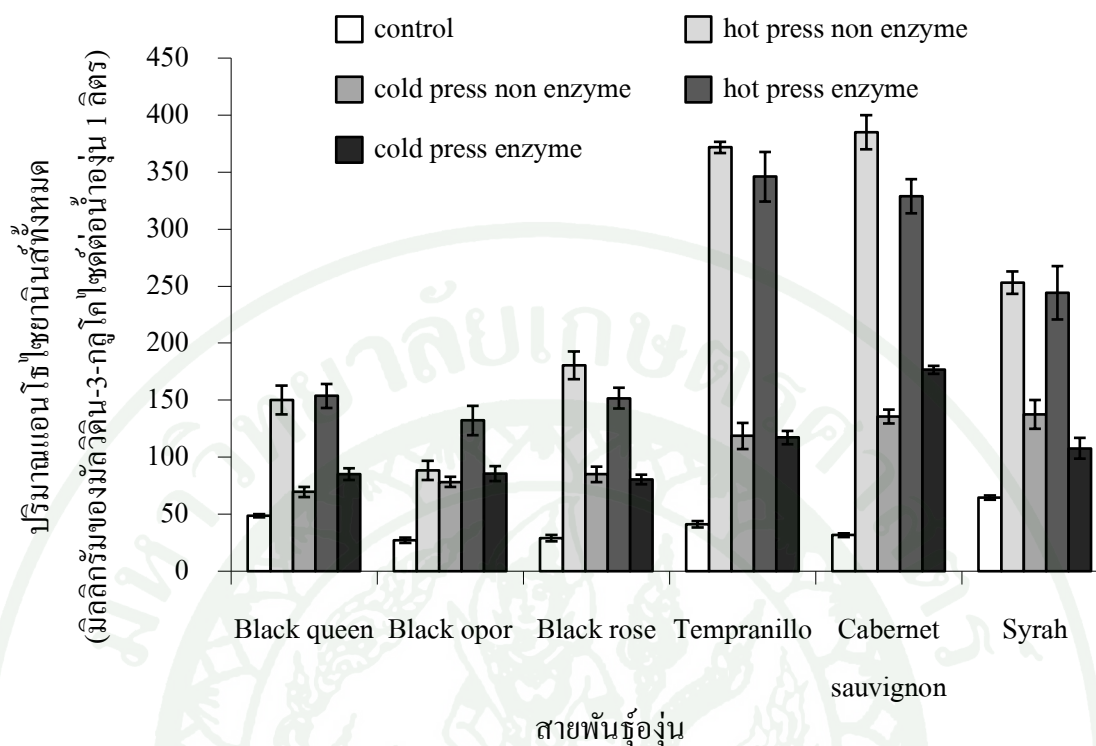
เมื่อพิจารณาวิธีการที่เหมาะสมในการคั้นน้ำองุ่นแต่ละสายพันธุ์เพื่อให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดพบว่า น้ำองุ่นสายพันธุ์ Black queen, Tempranillo และน้ำองุ่นของสายพันธุ์ Syrah มีแนวโน้มของผลการทดลองในทิศทางเดียวกันคือ เมื่อใช้วิธีการคั้นน้ำแบบ hot press non enzyme และ hot press enzyme ตรวจพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการคั้นน้ำอื่นและไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) นอกจากนี้ น้ำองุ่นจากสายพันธุ์ Black rose และสายพันธุ์ Cabernet sauvignon สามารถตรวจพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการคั้นน้ำอื่น ($p\leq 0.05$) คือการคั้นน้ำด้วยวิธี hot press non enzyme ส่วนน้ำองุ่นจากสายพันธุ์ Black opor พบว่าการคั้นน้ำด้วยวิธี hot press enzyme ทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ($p\leq 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่า น้ำขององุ่นสายพันธุ์ Tempranillo ตรวจพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ในวิธีการคั้นน้ำทุกวิธี ยกเว้นวิธี control เพียงวิธีเดียวที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรองจากน้ำองุ่นสายพันธุ์ Black queen

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่พบในน้ำองุ่นจากการทดลองกับผลงานวิจัยอื่นโดย Lutz *et al.* (2011) ศึกษาสารประกอบฟีนอลิกในน้ำองุ่นผลิตจากองุ่นรับประทานสดปลูกในประเทศชิลีพบว่าน้ำองุ่นมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 275.1 ถึง 564.6 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำองุ่น 1 ลิตร เมื่อเปรียบเทียบน้ำองุ่นที่ได้จากการทดลองมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเฉลี่ยมากกว่าน้ำองุ่นที่ปลูกในประเทศชิลี 1.1 ถึง 2.6 เท่าและมากกว่าน้ำลูกพรุนที่ศึกษาโดย Donovan *et al.* (1998) เฉลี่ย 2.2 เท่าแต่น้อยกว่าน้ำแครอทม่วง 2.4 เท่าทั้งนี้ เนื่องจากปริมาณแอนโทไซยานินส์ที่พบในน้ำแครอทม่วงมีปริมาณมากถึง 1005 มิลลิกรัมต่อน้ำแครอท 1 ลิตรจึงส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามไปด้วย (Khandare *et al.*, 2011) นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำลูกแพร์แดงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 450 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อลิตร (Tanrioven and Eksi, 2005) ซึ่งน้ำองุ่นจากการทดลองมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 3.3 เท่าโดยค่าที่ได้มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยทั้งขั้นตอนของวิธีการคั้นน้ำ สายพันธุ์ รวมถึงขั้นตอนการปลูกและภูมิประเทศที่ต่างกัน

5. การศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมด (Total monomeric anthocyanin content)

จากการศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมด ของ น้ำองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์ที่แปรรูปด้วยวิธีการคั้นน้ำแตกต่างกัน โดยวิธี pH-differential พบว่าแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดมีปริมาณตั้งแต่ 27.1 ± 2.4 ถึง 384.9 ± 15.0 มิลลิกรัมของมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อลิตร น้ำขององุ่นสายพันธุ์ Black queen สายพันธุ์ Tempranillo และสายพันธุ์ Syrah เมื่อใช้วิธีการคั้นน้ำแบบ hot press non enzyme และ hot press enzyme ตรวจพบแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการคั้นน้ำอื่นและไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำขององุ่นสายพันธุ์ Cabernet sauvignon และ Black rose ตรวจพบแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดมากที่สุด ($p \leq 0.05$) เมื่อใช้วิธีการคั้นน้ำ hot press non enzyme มีน้ำองุ่นสายพันธุ์เดียวคือ Black opor ที่พบว่าการใช้วิธีคั้นน้ำแบบ hot press enzyme ตรวจพบแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดมากที่สุด ($p \leq 0.05$) ส่วนสายพันธุ์ที่ตรวจพบปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบทุกสายพันธุ์ในทุกวิธีการคั้นน้ำยกเว้นวิธี control คือ น้ำขององุ่นสายพันธุ์ Cabernet sauvignon (ภาพที่ 15)

เมื่อแบ่งกลุ่มขององุ่นตามชนิดของสายพันธุ์เป็นองุ่นรับประทานสดและองุ่นทำไวน์พบว่า น้ำขององุ่นทำไวน์มีปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดเฉลี่ยมากกว่าน้ำขององุ่นกลุ่มรับประทานสด ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลการทดลองของ Liang *et al.* (2008) ที่ศึกษาปริมาณและส่วนประกอบของแอนโทไซยานินส์ในเปลือกองุ่น 110 สายพันธุ์โดยแบ่งเป็น 3 ชนิดคือ องุ่นใช้น้ำองุ่น, องุ่นรับประทานสดและองุ่นทำไวน์พบว่า องุ่นสำหรับทำไวน์มีปริมาณแอนโทไซยานินส์สูงกว่าองุ่นที่ใช้รับประทานสดซึ่ง Cabernet sauvignon, Tempranillo และ syrah จัดอยู่ในกลุ่มขององุ่นทำไวน์ และสอดคล้องกับผลของ Negro *et al.* (2003) ที่ศึกษาสารประกอบฟีนอลิกและคุณสมบัติความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากกากขององุ่นแดง โดยใช้กากองุ่นและส่วนประกอบคือเปลือกและเมล็ด พบว่าเปลือกองุ่นมี ปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดสูงที่สุด โดยสอดคล้องกับปริมาณเปลือกและเมล็ดในองุ่นทำไวน์ที่มีปริมาณมากกว่า นอกจากนี้ Lutz *et al.* (2011) ศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินส์ที่พบในน้ำองุ่นพบว่า มีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์มีค่าอยู่ในช่วง 6.7 ถึง 51.5 มิลลิกรัมของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อลิตร ดังนั้นสายพันธุ์องุ่นจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมด รวมถึงขั้นตอนการปลูกและภูมิประเทศที่ต่างกัน



ภาพที่ 15 ปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดในน้ำองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์

หมายเหตุ: ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

จากการศึกษาวิธีการคั้นน้ำต่อปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด พบว่าการใช้ความร้อนในการบ่มองุ่นก่อนทำการคั้นน้ำส่งผลให้มีปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นโดยวิธี hot press non enzyme มีแนวโน้มของปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดมากกว่าวิธี hot press enzyme เช่นน้ำองุ่นของสายพันธุ์ Black rose และ Cabernet sauvignon ที่เห็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ Threlfall *et al.* (2005) ศึกษาผลของการทำน้ำต่อสารสำคัญที่พบในน้ำองุ่น 2 สายพันธุ์พบว่าการให้ความร้อนก่อนทำการคั้นน้ำองุ่นทำให้มีปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น และสอดคล้องกับผลของ Fuleki and Ricardo da silva (2003) ที่ศึกษาผลของวิธีการคั้นน้ำต่อสารสำคัญที่พบในองุ่น พบว่าการให้ความร้อนด้วยวิธีการ hot press มีปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดมากกว่าวิธี cold press เมื่อพิจารณาผลของการใช้เอนไซม์ในการบ่มตัวอย่างเพื่อทำการคั้นน้ำพบว่า วิธี hot press non enzyme มีแนวโน้มของปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดมากกว่าวิธี hot press enzyme แต่เมื่อไม่ใช้ความร้อนในการบ่มองุ่นร่วมกับเอนไซม์ผลการทดลองกลับพบว่าไม่ส่งผลต่อปริมาณแอนโธไซยานินส์ มีเพียงน้ำองุ่นของสายพันธุ์

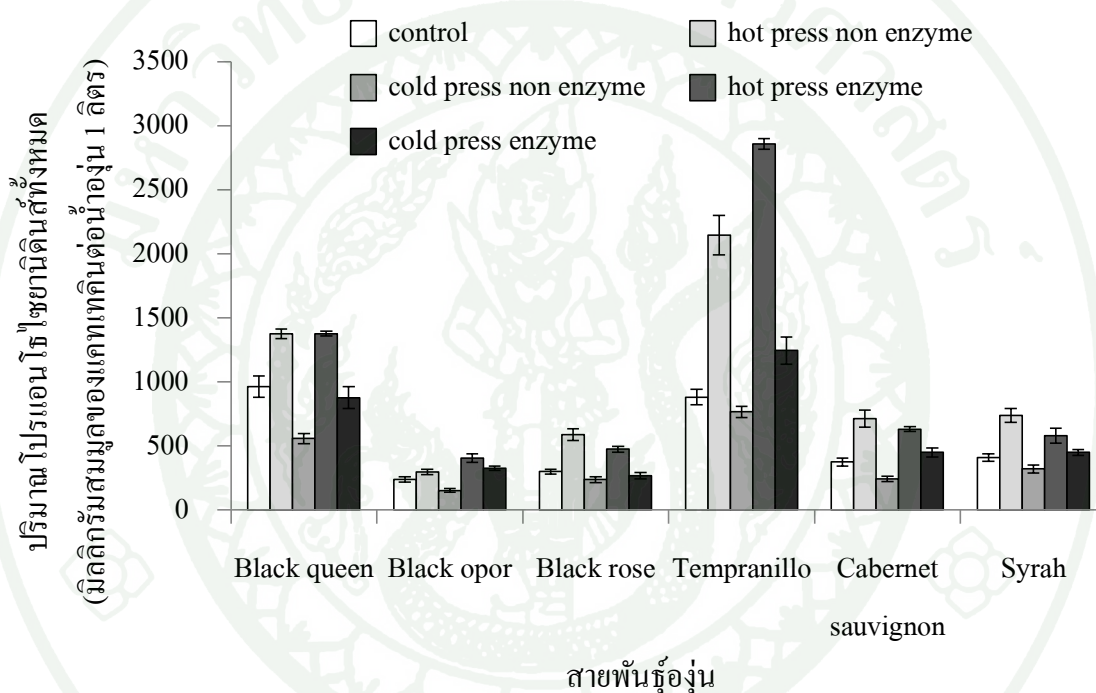
Cabernet sauvignon ที่เห็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในทุกวิธีการคั้นน้ำ เนื่องจากเอนไซม์มีผลต่อความคงตัวของแอนโธไซยานินส์ โดยเอนไซม์เพคตินเอสมีส่วนประกอบของเอนไซม์ที่สามารถตัดน้ำตาลบางชนิดออกจากโครงสร้างของแอนโธไซยานินส์ทำให้แอนโธไซยานินส์อยู่ในสถานะที่ง่ายต่อการเสื่อมสภาพ แต่ไม่ส่งผลเช่นนี้ในทุกสายพันธุ์เนื่องจากในน้ำองุ่นแต่ละสายพันธุ์มีแอนโธไซยานินส์หลายชนิดและมีน้ำตาลหลายประเภท Pricelius *et al.* (2009) พบว่าหากเก็บแอนโธไซยานินส์ในสภาวะที่มีเอนไซม์เพคตินเอสจะทำให้แอนโธไซยานินส์เสื่อมสภาพมากขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น

ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่แนะนำในการบริโภคต่อวันคือ 50 ถึง 800 มิลลิกรัม เมื่อเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่นเช่น วิตามินซี (70 มิลลิกรัม) วิตามินอี (7-10 มิลลิกรัม) (Buhler and Miranda, 2000) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวิธีการบริโภคผักผลไม้และเครื่องดื่มบางอย่างเช่น ไวน์หรือชา แต่การบริโภคจะส่งผลดีขึ้นอยู่กับลักษณะการบริโภคผักผลไม้ของแต่ละคน Lapidot *et al.* (1998) พบว่าไวน์แดง 1 แก้ว 300 มิลลิลิตรมีปริมาณแอนโธไซยานินส์ 218 มิลลิกรัมซึ่งมีปริมาณมากกว่าน้ำองุ่นที่ได้จากการทดลอง 1.9 เท่าเมื่อเทียบในปริมาณเท่ากัน ทั้งนี้เนื่องจากการหมักไวน์มีส่วนช่วยในการสกัดแอนโธไซยานินส์เช่น ตัวทำละลาย อุณหภูมิ เวลาที่ใช้ในการหมักเป็นต้น และพบอีกว่าน้ำแครอทม่วงมีปริมาณแอนโธไซยานินส์ 1005 มิลลิกรัมต่อน้ำแครอท 1 ลิตร (Khandare *et al.*, 2011) ซึ่งมากกว่าน้ำองุ่นที่ได้จากการทดลอง 2.6 เท่า แต่น้ำองุ่นที่ได้จากการทดลองมีปริมาณแอนโธไซยานินส์มากกว่าน้ำลูกพรุนถึง 100 เท่า (Donovan *et al.*, 1998)

6. การศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด (Total flavan-3-ol) ในน้ำองุ่น

จากการศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดในน้ำองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์ด้วยวิธีการคั้นน้ำแตกต่างกันโดยวิเคราะห์ด้วยวิธี vanillin-HCL assay พบว่าโปรแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดมีปริมาณตั้งแต่ 152.7 ± 14.0 ถึง 2860.7 ± 42.6 มิลลิกรัมสมมูลของแคเทคตินต่อน้ำองุ่น 1 ลิตร (ภาพที่ 16) น้ำองุ่นสายพันธุ์ Black queen เมื่อใช้วิธี hot press non enzyme และ hot press enzyme มีปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดมากที่สุด และแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนน้ำองุ่นสายพันธุ์ Black opor และ Tempranillo พบว่าปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดมากที่สุด เมื่อคั้นน้ำองุ่นด้วยวิธี hot press enzyme ($p \leq 0.05$) และพบอีกว่าน้ำองุ่นสายพันธุ์ที่เหลือซึ่งได้แก่น้ำองุ่นสายพันธุ์ Black rose, Cabernet sauvignon และสายพันธุ์ Syrah ตรวจพบปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดมากที่สุด

เมื่อคั้นน้ำด้วยวิธี hot press non enzyme ($p \leq 0.05$) และพบอีกว่าทั้ง 3 สายพันธุ์ข้างต้นมีแนวโน้มของผลการทดลองในทิศทางเดียวกันทุกวิธีการคั้นน้ำ เช่นเดียวกับน้ำขององุ่นสายพันธุ์ Black opor และ Tempranillo ที่มีผลการทดลองทิศทางเดียวกันในทุกวิธีการคั้นน้ำ มีเพียงน้ำขององุ่นสายพันธุ์ Black queen เพียงสายพันธุ์เดียวที่มีผลการทดลองแตกต่างจากสายพันธุ์อื่น คือการใช้ความร้อนและเอนไซม์ไม่ส่งผลต่อปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์ แต่เอนไซม์กลับส่งผลต่อการคั้นน้ำที่ไม่ใช้ความร้อนทั้งนี้ ปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์องุ่นด้วย



ภาพที่ 16 ปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดในน้ำองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์

หมายเหตุ: ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n=2$)

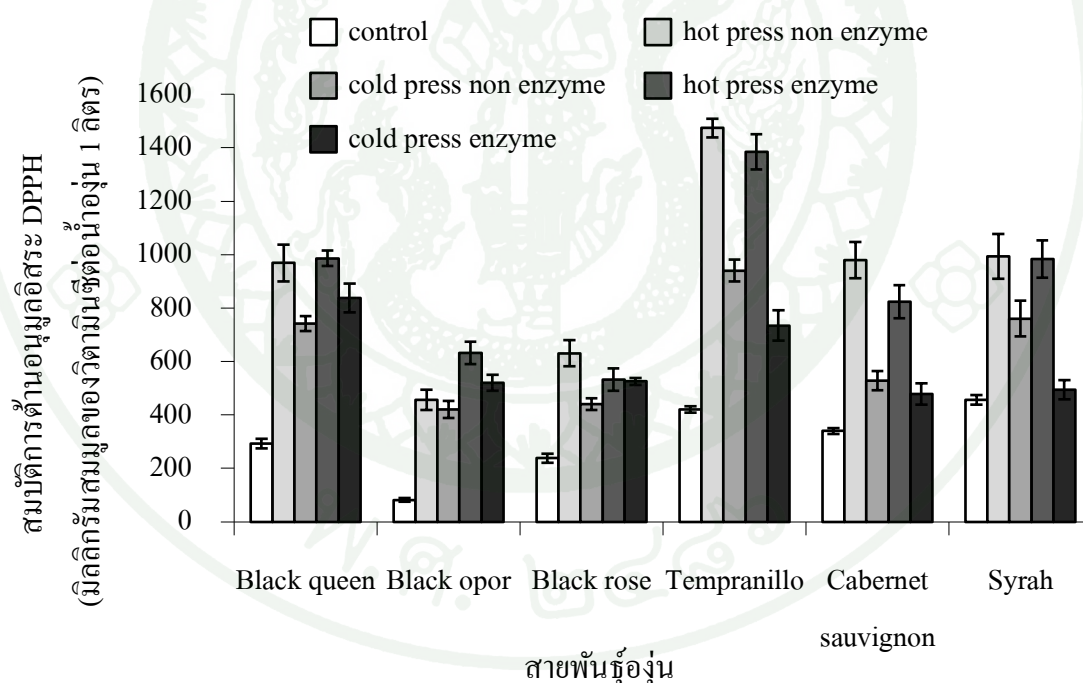
เมื่อพิจารณาส่วนของวิธีการคั้นน้ำต่อปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด พบว่าวิธี hot press มีปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดเฉลี่ยมากกว่าวิธี cold press ซึ่งอุณหภูมิหรือความร้อนที่ใช้ในการบ่มองุ่นก่อนทำการคั้นน้ำมีผลในการเพิ่มปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดในน้ำองุ่น และการใช้เอนไซม์ส่งผลต่อปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด ในสายพันธุ์ Black opor และ Tempranillo โดยพบว่าวิธีการคั้นน้ำแบบ hot press ร่วมกับการใช้เอนไซม์ช่วยเพิ่มปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด และการใช้เอนไซม์ส่งผลในการเพิ่มปริมาณโปรแอนโธไซ

ยานิดินส์ เมื่อใช้วิธีการคั้นน้ำแบบ cold press ในทุกสายพันธุ์ยกเว้นสายพันธุ์เดียวคือ สายพันธุ์ Black rose ส่วนสายพันธุ์ Black queen การใช้เอนไซม์ในวิธีการคั้นน้ำร่วมกับความร้อนไม่ส่งผลต่อปริมาณโปรแอนโทไซยานิดินส์ นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำของสายพันธุ์ Black rose Cabernet sauvignon และสายพันธุ์ Syrah การใช้เอนไซม์ร่วมกับการใช้ความร้อนทำให้มีปริมาณโปรแอนโทไซยานิดินส์น้อยกว่าการคั้นน้ำโดยใช้ความร้อนเพียงอย่างเดียว ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลการทดลองของ Fuleki and Ricardo da silva (2003) ที่ศึกษาผลของวิธีการคั้นน้ำต่อสารสำคัญที่พบในองุ่น พบว่าการให้ความร้อนด้วยวิธีการ hot press มีปริมาณโปรแอนโทไซยานิดินส์ทั้งหมดมากกว่าวิธี cold press และสอดคล้องกับผลของ Auw *et al.* (1996) พบว่าเมื่อใช้วิธี hot press ปริมาณโปรแอนโทไซยานิดินส์สูงกว่าการใช้วิธี cold press อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) Frankel *et al.* (1998) พบว่ามีปริมาณโปรแอนโทไซยานิดินส์ในน้ำองุ่นขาว อยู่ในช่วงระหว่าง 33.1 และ 51.6 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคเทคินต่อลิตร ในขณะที่ Donovan *et al.* (1999) พบว่าการบริโภคไวน์แดง 120 มิลลิกรัม มีปริมาณแคเทคิน 34 มิลลิกรัม จากผลการทดลองพบว่าในน้ำองุ่นที่ปลูกในประเทศไทยมีปริมาณแคเทคินมากกว่าไวน์แดง โดยน้ำองุ่นสายพันธุ์ Black queen ในวิธีการคั้นน้ำแบบ hot press enzyme มีปริมาณแคเทคิน 165 มิลลิกรัมซึ่งมีปริมาณแคเทคินคิดเป็น 1.9 เท่าของปริมาณแคเทคินในไวน์แดงและคิดเป็น 27 เท่าของน้ำองุ่นขาว ยังพบอีกว่าน้ำองุ่นแดงที่ปลูกในประเทศชิลีมีปริมาณแคเทคินเฉลี่ย 16 มิลลิกรัมต่อลิตร (HPLC) (Lutz *et al.*, 2011) ซึ่งน้อยกว่าองุ่นแดงที่ปลูกในประเทศไทยถึง 86 เท่าและมากกว่าน้ำกีวีซึ่งพบปริมาณแคเทคินเฉลี่ย 1.14 มิลลิกรัมต่อลิตร (HPLC) (Dawes and Keene, 1999)

7. การศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Radical Scavenging Capacity

เมื่อศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำองุ่นดำทั้ง 6 สายพันธุ์ด้วยวิธีการคั้นน้ำแตกต่างกัน พบว่ามีค่าตั้งแต่ 82.0 ± 6.5 ถึง 1474.0 ± 34.7 มิลลิกรัมต่อลิตรของวิตามินซีต่อน้ำองุ่น 1 ลิตร (ภาพที่ 17) โดยตรวจพบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุดและมีแนวโน้มในทิศทางเดียวกันในน้ำองุ่นสายพันธุ์ Black queen, Tempranillo, Cabernet sauvignon และ Syrah เมื่อใช้วิธี hot press enzyme และ hot press non enzyme ซึ่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ส่วนน้ำองุ่นสายพันธุ์ Black rose และ Black opor ไม่พบความแตกต่างของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ทุกวิธีการคั้นน้ำยกเว้นวิธี control

เมื่อแบ่งกลุ่มขององุ่นเป็นองุ่นทำไวน์และองุ่นรับประทานสดพบว่ากลุ่มขององุ่นทำไวน์ซึ่งประกอบด้วยสายพันธุ์ Tempranillo Cabernet sauvignon และ Syrah มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากกว่าสายพันธุ์องุ่นรับประทานสดซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลของ Xu *et al.* (2010) พบว่าสายพันธุ์องุ่นทำไวน์ส่วนใหญ่จะมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH .ในเมล็ดมากกว่าเปลือกดังที่ศึกษาข้างต้นพบว่าองุ่นทำไวน์นั้นมีปริมาณเมล็ดและเปลือกมากกว่าองุ่นรับประทานสด นอกจากนี้ยังพบว่าภูมิภาคในการปลูกองุ่นและสายพันธุ์มีผลต่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดังเช่นการศึกษาของ Lutz *et al.* (2011) ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในน้ำองุ่นที่ผลิตจากองุ่นรับประทานสดที่ปลูกในประเทศชิลีพบว่ามีความเข้มข้นของการต้านอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ในช่วง 1.6 ถึง 3.4 มิลลิโมลโทลลอคต่อลิตร แสดงถึงความจำเพาะของสายพันธุ์รวมถึงภูมิภาคที่แตกต่างกันในการปลูกองุ่นส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญที่พบในองุ่น



ภาพที่ 17 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์

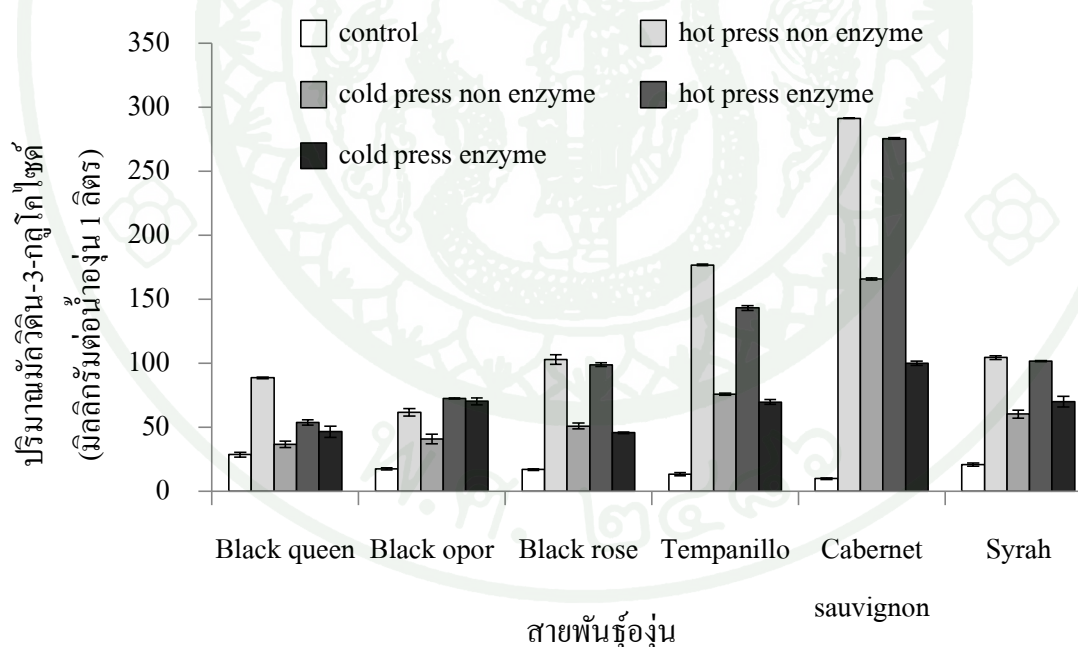
หมายเหตุ: ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

จากการศึกษาผลของวิธีการคั้นน้ำต่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าการคั้นน้ำด้วยวิธี hot press ในสายพันธุ์ Black queen Tempranillo Cabernet sauvignon และ Syrah มีผลต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH อย่างชัดเจนคือมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากกว่าวิธี cold press และยังพบอีกว่าการใช้เอนไซม์ไม่ส่งผลต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เมื่อใช้วิธีการคั้นน้ำองุ่นที่ใช้ความร้อนใน 4 สายพันธุ์ข้างต้น แต่น้ำองุ่นของสายพันธุ์ Tempranillo และ Syrah กลับพบว่าเอนไซม์ส่งผลในการลดสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในวิธีการคั้นน้ำที่ไม่ใช้ความร้อน นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำองุ่นสายพันธุ์ Black rose และ Black opor ยกเว้นการคั้นน้ำวิธี control ทั้ง 2 สายพันธุ์ การใช้เอนไซม์ไม่มีผลต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ทุกวิธีการคั้นน้ำ เนื่องจากคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ เกิดจากสารสำคัญหลายชนิดที่อยู่ในน้ำองุ่นซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระเช่น สารประกอบฟีนอลิกซึ่งความร้อนส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในขณะบ่มองุ่นก่อนการคั้นน้ำ โดยความร้อนทำให้เปลือกและเมล็ดองุ่นคั้นน้ำได้มากขึ้นจึงส่งผลให้มีสารประกอบฟีนอลิกมากขึ้นตามไปด้วย แต่ในกรณีที่ใช้เอนไซม์เข้าร่วมบางสายพันธุ์พบว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงหรือน้อยกว่าไม่ใช้เอนไซม์ทั้งนี้เนื่องจากคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ส่วนหนึ่งมาจากสารประกอบฟีนอลิกคือแอนโธไซยานินส์ ซึ่งแอนโธไซยานินส์จะมีความเสถียรลดลงเมื่ออยู่ในสถานะที่มีเอนไซม์เพคตินเนส (Pricelius *et al.* 2009) นอกจากนั้นยังมีสารประกอบหลายชนิดในน้ำองุ่นที่ส่งผลต่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระเช่น โพรแอนโธไซยานินส์ เรสเวอราทรอล วิตามินซี เป็นต้น จากการทดลองสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของน้ำองุ่นพบว่าบางสายพันธุ์มีค่ามากกว่าน้ำมะนาวซึ่งมีค่าสมบัติการออกซิเดชัน 700 มิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซีต่อลิตร (Ghafar *et al.*, 2010) ถึง 2 เท่าทั้งนี้สมบัติการต้านอนุมูลอิสระในน้ำองุ่นมาจากสารประกอบฟีนอลิก เช่น แอนโธไซยานินส์ซึ่งพบมากในองุ่น จึงส่งผลให้มีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าน้ำมะนาว Lutz *et al.* (2011) พบว่าน้ำองุ่นสายพันธุ์ Autumn royal Crimson seedless Red globe และ Ribier ที่ปลูกในประเทศชิลีมีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ระหว่าง 151 ถึง 309 มิลลิโมลโทร็อกซ์ต่อลิตร

8. การศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อปริมาณสารสำคัญในน้ำองุ่นโดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

8.1 ปริมาณของแอนโธไซยานินส์ (มัลวิดอิน-3-กลูโคไซด์) (Malvidins-3-glucoside)

จากการศึกษาปริมาณมัลวิดอิน-3-กลูโคไซด์ของน้ำองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์ด้วยวิธีการคั้นน้ำแตกต่างกันโดยใช้ HPLC (UV diode-array detector) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร โดยมีโครมาโตแกรมดังภาพที่ 19 จากผลการทดลอง พบว่ามีปริมาณมัลวิดอิน-3-กลูโคไซด์ตั้งแต่ 10.1 ± 4.9 ถึง 291.1 ± 4.2 มิลลิกรัมต่อน้ำองุ่น 1 ลิตร (ภาพที่ 18) โดยน้ำองุ่นทุกสายพันธุ์ เมื่อใช้วิธี hot press non enzyme มีปริมาณมัลวิดอิน-3-กลูโคไซด์มากที่สุด ($p \leq 0.05$) ยกเว้นสายพันธุ์ Black opor เพียงสายพันธุ์เดียวที่ พบว่าการคั้นน้ำด้วยวิธี hot press enzyme มีปริมาณมัลวิดอิน-3-กลูโคไซด์มากที่สุด ($p \leq 0.05$)



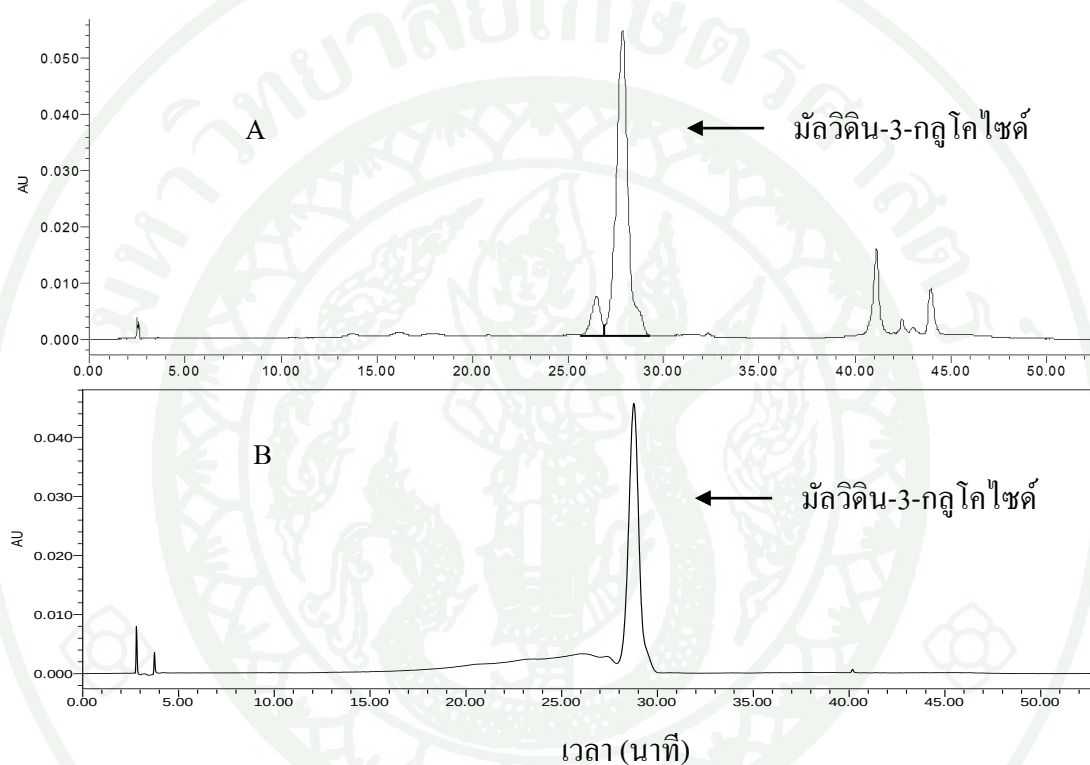
ภาพที่ 18 ปริมาณมัลวิดอิน-3-กลูโคไซด์ของน้ำองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์

หมายเหตุ: ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n=2$)

เมื่อแบ่งกลุ่มขององุ่นเป็นองุ่นรับประทานสดและองุ่นทำไวน์พบว่าองุ่นกลุ่มที่นิยมทำไวน์มีปริมาณแอนโธไซยานินส์เฉลี่ยมากกว่าองุ่นรับประทานสด สายพันธุ์องุ่นที่ตรวจพบ มัลวิดิน-3-กลูโคไซด์มากที่สุดในทุกวิธีการคั้นน้ำ ยกเว้นวิธี control ได้แก่ น้ำขององุ่นสายพันธุ์ Cabernet sauvignon รองลงมาคือน้ำขององุ่นสายพันธุ์ Tempranillo ซึ่งทั้ง 2 สายพันธุ์ข้างต้นเป็นองุ่นในกลุ่มองุ่นทำไวน์ ผลการทดลองมีหลักการเดียวกันกับปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดเนื่องจาก มัลวิดิน-3-กลูโคไซด์ เป็นแอนโธไซยานินส์ชนิดหลักที่พบในองุ่นจึงส่งผลให้มีแนวโน้มผลการทดลอง เช่นเดียวกับการหาปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ Liang *et al.* (2008) ที่พบว่าองุ่นสำหรับทำไวน์มีปริมาณแอนโธไซยานินส์สูงกว่าองุ่นที่ใช้รับประทานสด นอกจากนั้น Lutz *et al.* (2011) ศึกษาปริมาณแอนโธไซยานินส์ที่พบในน้ำองุ่นพบว่า มีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ ดังนั้นสายพันธุ์องุ่นจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อปริมาณแอนโธไซยานินส์ (มัลวิดิน-3-กลูโคไซด์) รวมถึงขั้นตอนการปลูกและภูมิประเทศที่ต่างกัน

เมื่อพิจารณาส่วนของวิธีการคั้นน้ำต่อปริมาณมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์ พบว่าเมื่อใช้วิธีคั้นน้ำหลังจากบ่มองุ่นด้วยความร้อน ตรวจพบปริมาณมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์เฉลี่ยมากกว่าวิธีการคั้นน้ำที่ไม่ใช้ความร้อนในทุกสายพันธุ์ ยกเว้นน้ำขององุ่นสายพันธุ์ Black opor เมื่อใช้วิธีการคั้นน้ำแบบ cold press enzyme ตรวจพบปริมาณมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์ใกล้เคียงกับวิธีการคั้นน้ำแบบ hot press ที่ใช้และไม่ใช้เอนไซม์ การใช้เอนไซม์ไม่ส่งผลต่อน้ำองุ่นสายพันธุ์ Black rose Tempranillo และ Syrah นอกจากนั้นยังพบว่าการใช้เอนไซม์มีผลต่อการลดลงของปริมาณมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์ ในน้ำองุ่นสายพันธุ์ Cabernet sauvignon และ Black rose ทั้งการคั้นน้ำด้วยวิธี hot press และ cold press แต่ในน้ำองุ่นของสายพันธุ์ Black queen Black opor และ Syrah การใช้เอนไซม์กลับส่งผลในการเพิ่มปริมาณมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์ โดยเฉพาะวิธีการคั้นน้ำที่ไม่ใช้ความร้อน ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ Threlfall *et al.* (2005) ที่ศึกษาผลของการคั้นน้ำต่อสารสำคัญที่พบในน้ำองุ่นพบว่า การให้ความร้อนก่อนทำการคั้นน้ำองุ่นทำให้มีปริมาณแอนโธไซยานินส์มากกว่าการไม่ใช้ความร้อน และสอดคล้องกับผลของ Fuleki and Ricardo da silva (2003) พบว่าการให้ความร้อนด้วยวิธีการ hot press มีปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดมากกว่าวิธี cold press เนื่องจากความร้อนทำให้เปลือกและเมล็ดองุ่นบีบคั้นน้ำได้มากขึ้นจึงส่งผลให้มีปริมาณมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์มากขึ้นตามไปด้วย (Leblanc *et al.*, 2008) ในบางกรณีเอนไซม์อาจมีผลต่อ ความคงตัวของแอนโธไซยานินส์ เนื่องจากเอนไซม์เพคตินเอสมีส่วนประกอบของเอนไซม์ที่สามารถตัดน้ำตาลออกจากโครงสร้างของแอนโธไซยานินส์ทำให้แอนโธไซยานินส์อยู่ในสถานะที่ง่ายต่อการเสื่อมสภาพโดย Pricelius *et al.* (2009) พบว่าหากเก็บแอนโธไซยานินส์ในสถานะที่มีเอนไซม์เพคตินเอสจะทำให้แอนโธไซยา

นินส์เสื่อมสภาพมากขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น Beer *et al.* (2002) ตรวจพบปริมาณมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์ในไวน์แดงที่ผลิตจากองุ่นสายพันธุ์ Cabernet sauvignon ที่ปลูกในประเทศแอฟริกาใต้ 46.7 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำองุ่นสดที่ได้จากการทดลองพบว่าน้ำองุ่นสดสายพันธุ์ Cabernet sauvignon ที่ปลูกในประเทศไทยมีปริมาณมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์มากกว่าเฉลี่ย 4.2 เท่าเนื่องจากแอนโทไซยานินส์ในองุ่นขึ้นอยู่กับการปฏิบัติทางภูมิศาสตร์และสภาพอากาศร่วมด้วย

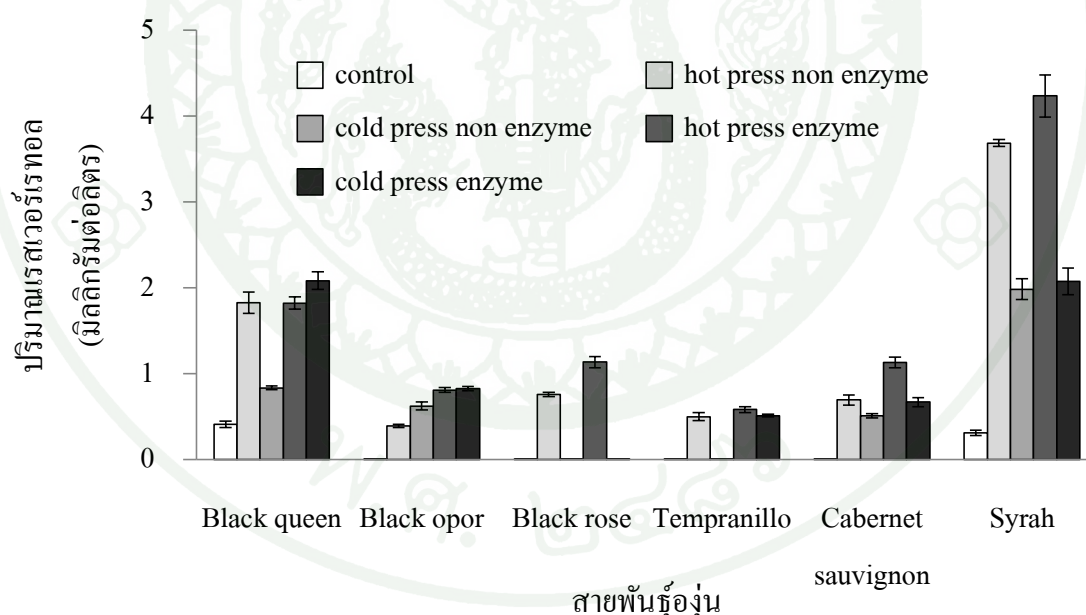


ภาพที่ 19 ตัวอย่าง HPLC โครมาโตแกรมของมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์ (A: น้ำองุ่นสายพันธุ์ Black opor B: สารมาตรฐานของมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร) (UV diode-array detector) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

8.2 ปริมาณของเรสเวอราทรอล (resveratrol)

จากการศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อปริมาณของเรสเวอราทรอลในน้ำองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์ด้วยวิธีการคั้นน้ำที่แตกต่างกัน โดยตรวจสอบปริมาณเรสเวอราทรอลที่ความยาวคลื่น 260/364 ($\lambda_{EX} / \lambda_{EM}$) นาโนเมตรด้วยฟลูออเรสเซนส์ดีเทคเตอร์ (ภาพที่ 21) พบว่ามีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ 0.00 หรือ ตรวจไม่พบ (not detect) ถึง 4.2 ± 0.2 มิลลิกรัมต่อน้ำองุ่น 1 ลิตร (ภาพที่ 20) โดย

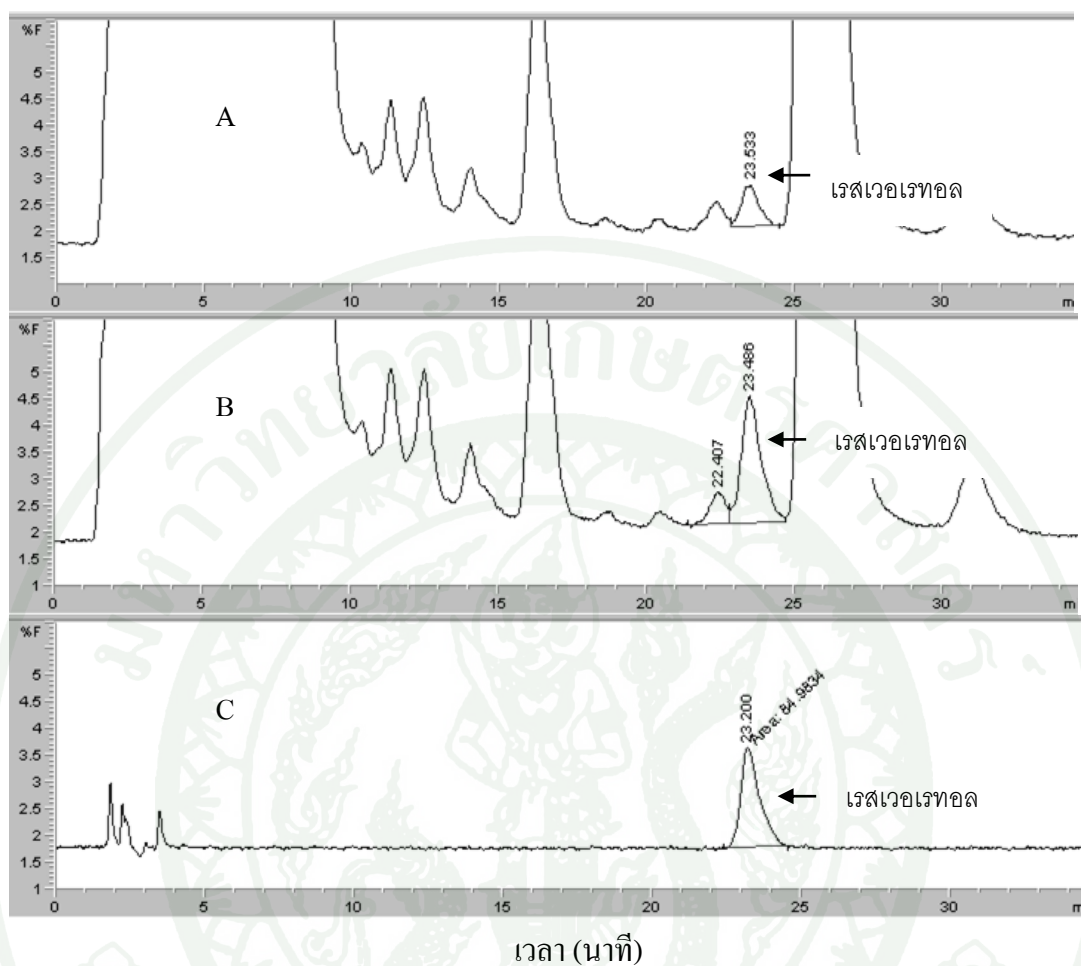
ตรวจพบปริมาณของเรสเวอราทรอลมากที่สุด ($p \leq 0.05$) ในสายพันธุ์ Syrah ซึ่งคั้นน้ำด้วยวิธี hot press enzyme และเป็นสายพันธุ์ที่มีค่าเฉลี่ยของปริมาณเรสเวอราทรอลมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทุกสายพันธุ์ รองลงมาคือน้ำองุ่นสายพันธุ์ Black queen, Cabernet sauvignon, Black opor และ Black rose ซึ่งตรวจพบปริมาณเรสเวอราทรอลเพียง 2 วิธีคือ hot press enzyme และ hot press non enzyme ส่วนน้ำองุ่นสายพันธุ์ Black rose, Cabernet sauvignon และสายพันธุ์ Syrah ตรวจพบเรสเวอราทรอลมากที่สุดเมื่อคั้นน้ำด้วยวิธี hot press enzyme รองลงมาคือวิธี hot press non enzyme ส่วนสายพันธุ์ Black queen การคั้นน้ำด้วยวิธี hot press ทั้งสองวิธีแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) นอกจากนี้พบว่าเมื่อคั้นน้ำด้วยวิธี control ในสายพันธุ์ Black opor, Black rose, Tempranillo และ Cabernet sauvignon ตรวจพบเรสเวอราทรอลน้อยกว่า 0.01 และเมื่อคั้นน้ำด้วยวิธีการ cold press non enzyme ในสายพันธุ์ Black rose และสายพันธุ์ Tempranillo ก็ตรวจไม่พบเรสเวอราทรอลเช่นกัน และพบอีกว่าน้ำองุ่นสายพันธุ์ Tempranillo ในวิธีการคั้นน้ำแบบ cold press enzyme กับ hot press ทั้ง 2 วิธี ตรวจพบปริมาณเรสเวอราทรอลแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)



ภาพที่ 20 ปริมาณของเรสเวอราทรอลของน้ำองุ่นทั้ง 6 สายพันธุ์

หมายเหตุ: ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n=2$)

เมื่อพิจารณาผลของการใช้เอนไซม์ต่อปริมาณเรสเวอราทรอลพบว่า เอนไซม์ส่งผลในการเพิ่มปริมาณเรสเวอราทรอลในวิธีการคั้นน้ำที่ใช้ความร้อนในทุกสายพันธุ์ ยกเว้นสายพันธุ์ Black queen และ Tempranillo นอกจากนี้เอนไซม์ส่งผลในการเพิ่มปริมาณเรสเวอราทรอลอย่างชัดเจนเมื่อใช้วิธีการคั้นน้ำแบบ cold press ทุกสายพันธุ์ ยกเว้นสายพันธุ์ Black rose เมื่อใช้วิธีการคั้นน้ำแบบ cold press ทั้ง 2 วิธีกลับตรวจไม่พบปริมาณเรสเวอราทรอล ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลการทดลองของ Karacabey and Mazza (2008) ศึกษาสารสกัดขององุ่นหลายสายพันธุ์พบว่าปริมาณเรสเวอราทรอล 1.3 ถึง 4.1 มิลลิกรัมต่อกรัมและ Cetin *et al.* (2011) พบว่าปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณเรสเวอราทรอลคือสายพันธุ์ซึ่งจากการศึกษาสารสกัดขององุ่นหลากหลายสายพันธุ์พบว่า มีค่าอยู่ระหว่าง 0.95 ถึง 3.94 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัมสารสกัด นอกจากนี้ปริมาณเรสเวอราทรอลที่พบในองุ่นมีปัจจัยหลายประการเช่น สายพันธุ์ขององุ่น พื้นที่ทางภูมิศาสตร์ ปัจจัยทางการเกษตร ปัจจัยภูมิอากาศและสภาวะความเครียดของพืช เป็นต้น (Vrhovsek *et al.*, 1997; Roldan *et al.*, 2003) จากผลการทดลองของ Lopez *et al.* (2007) พบว่าปริมาณเรสเวอราทรอลในไวน์แดงที่ผลิตด้วยองุ่นที่ปลูกในประเทศสเปน มีค่าตั้งแต่ 0.0 ถึง 2.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำองุ่นสดที่ปลูกในประเทศไทยพบว่าปริมาณเรสเวอราทรอลมากกว่าไวน์แดงในประเทศสเปน 2 เท่าเมื่อเทียบกับองุ่นสายพันธุ์ Syrah ในวิธีการ hot press แต่ในสายพันธุ์อื่นๆเช่น Black opor Black rose Tempranillo และ Cabernet sauvignon มีปริมาณเรสเวอราทรอลใกล้เคียงกับไวน์ในประเทศสเปน แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณเรสเวอราทรอลที่ควรได้รับต่อวันคือ 20 มิลลิกรัมต่อวันสามารถชะลอความชราในมนุษย์ได้ (Xi Zhao, 2007) เป็นปริมาณที่แนะนำสำหรับมนุษย์สูงที่สุดโดยไม่เกิดอันตราย ซึ่งผลการทดลองพบปริมาณเรสเวอราทรอล 0 ถึง 4.2 มิลลิกรัมต่อน้ำองุ่น 1 ลิตร เมื่อคำนวณจากปริมาณน้ำองุ่นอาจมีปริมาณเรสเวอราทรอลเพียงเล็กน้อยไม่พอเพียงต่อความต้องการ แต่ในการบริโภคอาหารทั้งวันจะมีปริมาณเรสเวอราทรอลจากแหล่งอื่นมากกว่าการบริโภคอย่างใดอย่างหนึ่งเพียงอย่างเดียวเช่น ดินหม่อน บลูเบอรี่ ถั่วลิสง ใบชา เป็นต้น



ภาพที่ 21 ตัวอย่าง HPLC โครมาโตแกรมของเรสเวอราทรอล (resveratrol) (A: น้ำองุ่นสายพันธุ์ Syrah B: สารมาตรฐานเรสเวอราทรอล (resveratrol) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร + น้ำองุ่นสายพันธุ์ Syrah C: สารมาตรฐานเรสเวอราทรอล (resveratrol) 5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ตรวจสอบปริมาณเรสเวอราทรอลที่ความยาวคลื่น 260/364 ($\lambda_{EX} / \lambda_{EM}$) นาโนเมตรด้วยฟลูออเรสเซนส์ดีเทคเตอร์

9. การศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อความสัมพันธ์ของคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารพฤกษเคมีที่พบในน้ำองุ่น

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อความสัมพันธ์ของคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารสำคัญที่พบในน้ำองุ่นโดยพิจารณาเป็นคู่ ดังตารางที่ 5 พบว่า วิธีการคั้นน้ำมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมด คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์และปริมาณเรสเวอราทรอลอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % และวิธีการคั้นน้ำมีผลต่อโพรแอนโทไซยานินส์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % นั่นคือกรรมวิธีการคั้นน้ำที่แตกต่างกันมีผลต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารสำคัญที่พบในน้ำองุ่นซึ่งสอดคล้องกับผลของ Threlfall *et al.* (2005) และ Fuleki and Ricardo da Silva (2003) ที่ศึกษาผลของวิธีการคั้นน้ำต่อสารสำคัญที่พบในองุ่น พบว่าวิธีการคั้นน้ำที่ต่างกันมีผลต่อปริมาณสารสำคัญที่พบแตกต่างกัน ส่วนความสัมพันธ์ของสายพันธุ์องุ่นต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารสำคัญที่พบในน้ำองุ่นนั้น พบว่าสายพันธุ์มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมด สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์และปริมาณเรสเวอราทรอลอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % มีผลต่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และไม่มีผลต่อปริมาณโพรแอนโทไซยานินส์ที่พบในน้ำองุ่น สายพันธุ์องุ่นส่วนใหญ่ส่งผลต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารสำคัญที่พบในน้ำองุ่นเนื่องจากลักษณะเฉพาะของแต่ละสายพันธุ์ทั้งปริมาณเนื้อ เปลือก เมล็ด และขนาดผลที่แตกต่างกัน ต่างส่งผลให้มีคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและปริมาณสารสำคัญแตกต่างกันดังที่ศึกษาไว้ข้างต้น เมื่อพิจารณาปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมด มีความสัมพันธ์กับสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์ มีค่ามากกว่า 0.8 แสดงถึงความสัมพันธ์ในเชิงบวกเนื่องจาก มัลวิดิน-3-กลูโคไซด์ เป็นแอนโทไซยานินส์ชนิดหลักที่พบในองุ่น และแอนโทไซยานินส์เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH จึงทำให้ค่าการทดลองทั้ง 4 มีความสัมพันธ์กันมากถึง 99 % และนอกจากนั้นโพรแอนโทไซยานินส์ยังจัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกเช่นกันจึงส่งผลให้มีความสัมพันธ์ถึง 0.79 และผลการทดลองสอดคล้องกับ Lutz *et al.* (2011) ที่พบว่าสารประกอบฟีนอลิก แอนโทไซยานินส์และคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันในน้ำองุ่นมีความสัมพันธ์กัน

และยังพบอีกว่าสารประกอบฟีนอลิกเป็นปัจจัยสำคัญต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันที่พบในน้ำองุ่น ซึ่งแอนโทไซยานินสัจัดเป็น สารประกอบฟีนอลิก ชนิดหนึ่งและเป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดหลักในน้ำองุ่นด้วย (Yilmaz and Toledo 2004, Hogan *et al.*, 2009) ซึ่งยังมีการศึกษาของ Dani *et al.* (2007) และ Gollucke *et al.* (2009) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์อย่างมากต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันในน้ำองุ่น

ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ของคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารพฤกษเคมีในน้ำองุ่น

	Anthocyanins	DPPH	Total phenol	Resveratrol	Malvidin	Proanthocyanidin
วิธีการคั้นน้ำ	-.546**	-.559**	-.503**	-.276**	-.510**	-.160*
สายพันธุ์	.376**	.150*	.205**	.258**	.348**	-.070
Anthocyanins		.800**	.828**	.338**	.878**	.557**
DPPH			.938**	.415**	.553**	.757**
Total phenol				.428**	.561**	.790**
Resveratrol					.161*	.072
Malvidin						.280**

หมายเหตุ: * แสดงความสัมพันธ์ที่ความเชื่อมั่น 95 %, ** แสดงความสัมพันธ์ที่ความเชื่อมั่น 99 %

โดยวิธี Pearson Correlation (Anthocyanins = ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด,

DPPH = คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH, Total phenol = สารประกอบฟีนอลิก

ทั้งหมด Resveratrol = เรสเวอราทรอล, Malvidin = มัลวิดิน-3-กลูโคไซด์,

Proanthocyanidin = โพรแอนโทไซยานิน)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. สายพันธุ์องุ่นส่งผลต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารพฤกษเคมีในน้ำองุ่น โดยองุ่นสายพันธุ์ Black opor มีผลผลิตน้ำองุ่นเฉลี่ยมากที่สุด โดยคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารพฤกษเคมีโดยเฉลี่ยพบมากที่สุดในองุ่นสายพันธุ์ Tempranillo และกลุ่มขององุ่นทำไวน์ส่วนใหญ่มีคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันมากกว่ากลุ่มขององุ่นรับประทานสด แต่ให้ปริมาณน้ำที่น้อยกว่าและให้สีของน้ำองุ่นที่เข้มกว่า

2. วิธีการคั้นน้ำองุ่นส่งผลต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารพฤกษเคมีในน้ำองุ่น โดยวิธี hot press enzyme และ hot press non enzyme ส่งผลในการเพิ่มผลผลิตน้ำองุ่น แต่ไม่มีผลต่อสารพฤกษเคมีเพราะบางชนิดเพิ่มขึ้นเมื่อคั้นน้ำด้วยการให้ความร้อนและบางชนิดลดลงเมื่อใช้วิธีการเดียวกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์องุ่นแต่ละสายพันธุ์ซึ่งมีความจำเพาะต่อวิธีการคั้นน้ำ

3. ปัจจัยของวิธีการคั้นน้ำองุ่นและสายพันธุ์องุ่นส่งผลร่วมกันต่อคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารพฤกษเคมีในน้ำองุ่น เนื่องจากองุ่นแต่ละสายพันธุ์มีความจำเพาะของวิธีการคั้นน้ำ โดยเฉลี่ยวิธีการที่เหมาะสมที่สุดที่สามารถเพิ่มผลผลิตน้ำองุ่นและสารพฤกษเคมีคือวิธีการคั้นน้ำแบบ hot press enzyme

ข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้ศึกษาผลของสายพันธุ์และวิธีการคั้นน้ำต่อปริมาณสารสำคัญในน้ำองุ่น โดยองุ่นที่ใช้ผ่านการแช่แข็งแล้วทำละลาย สารสำคัญบางชนิดอาจมีปริมาณลดลงเมื่อเทียบกับองุ่นสด และในการทดลอง การแปรรูปน้ำองุ่นยังไม่สิ้นสุดกระบวนการทั้งหมด เพียงแบ่งส่วนการทดลองที่เกี่ยวข้องกับการบ่มองุ่นก่อนการคั้นน้ำมาเป็นปัจจัยในการทดลอง ควรศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของการฆ่าเชื้อ การบรรจุและอายุการเก็บรักษา นอกจากนี้ในการทดลองมุ่งเน้นที่ผลผลิตน้ำองุ่นและสารสำคัญ ยังขาดส่วนของรสชาติ และการยอมรับของผู้บริโภคเนื่องจากน้ำองุ่นที่มีคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันมาก อาจมีรสชาติที่ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคก็เป็นได้

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กาญจนา โมธินา. 2547. การศึกษาคุณลักษณะองุ่นทำไวน์แดงพันธุ์ Shiraz ที่ปลูกในจังหวัด นครราชสีมา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- เลอลักษณ์ จิตรคอน. 2544. เอนไซม์ย่อยเพคติน. เอกสารประกอบคำสอนวิชาเอนไซม์จาก จุลินทรีย์. ภาควิชาจุลชีววิทยา, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, บางเขน, กรุงเทพฯ. น. 173-200.
- วิวัฒน์ หวังเจริญ. 2545. บทบาทของสารประกอบฟีนอลิกต่อสุขภาพ. วารสารอาหาร. 32(4): 245-253.
- โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจง, จันทนา บุญยะรัตน์ และ มาลีรักษ์ อัดดีสินทอง. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์พี. เอส. พรินท์, นนทบุรี.
- Aggarwal, B., A.Bhardwaj, R. S. Aggarwal, N. P. Seeram, S. Shishodia and Y. Takada. 2004. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: Preclinical and clinical studies. **Anticancer Research**. 24 (5A): 2783–2840.
- Alkorta, I., C. Garbisu, M. J. Llama and J. L. Serra. 1998. Industrial applications of pectic enzymes-a review. **Process Biochemistry**. 33: 21-8.
- Andersen, O. M. 2002. **Anthocyanins: Encyclopedia of life sciences**. MacMillan Publishers Ltd., London, p.597-605
- Arthey, D. and P.R. Ashurst. 2001. **Fruit Processing**. 2nd ed. Aspen Publishers, Inc., New York.
- Association of Official Analytical Chemists. 2000. **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 17th edition. Gaithersburg, Maryland.

- Athar, M., J. H. Back, X. Tang, K. H. Kim, L. Kopelovich and D. R. Bickers. 2007. Resveratrol: A review of preclinical studies for human cancer prevention. **Toxicology and Applied Pharmacology**. 224 (3): 274-283.
- Auw, J. M., V. Blanco, S. F. O’Keefe and C. A. Sims. 1996. Effect of processing on the phenolics and color of Cabernet Sauvignon, Chambourcin, and Noble wines and juices. **American Journal of Enology and Viticulture**. 47 (3):279-86.
- Baur, J. A., K. J. Pearson, N. L. Price, H. A. Jamieson, C. Lerin and A. Kalra. 2006. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. **Nature**. 444 (7117): 337-342.
- Beer, D. D., E. Joubert, W. C. A. Gelderblom and M. Manley. 2002. Phenolic compounds: a review of their possible role as in vivo antioxidants of wine. **South African Journal for Enology and Viticulture**. 23(2): 48-61.
- Bhattacharjee, A. K., D. K. Tandon, A. Dikshit and S. Kumar. 2011. Effect of pasteurization temperature on quality of aonla juice during storage. **Journal of Food Science and Technology**. 48 (3): 269-273.
- Blanco, P., C. Sieiro, T. G. Villa. 1999. Production of pectic enzymes in yeasts. **FEMS Microbiology Letters**. 175: 1-9.
- Bomser, J., D. L. Madhavi, K. Singletary and M. A. L. Smith. 1996. In vitro anticancer activity of fruit extracts from *Vaccinium* species. **Planta Medica**. 62: 212–216.
- Buhler, D.R. and C. Miranda. 2000. Antioxidant Activities of Flavonoids. **Linus Pauling Institute**.

- Burin, V. M., L. D. Falcao, L. V. Gonzaga, R. Fett, J. P. Rosier and M. T. Bordignon-luiz. 2010. Colour, phenolic content and antioxidant activity of grape juice. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 30(4): 1027-1032.
- Cabrita, L., T. Fossen and O. M. Andersen. 2000. Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. **Food Chemistry**. 68: 101-107.
- Castrejon, A.D.R., I. Eichholz, S. Rohn, L.W. Kroh and S. Huyskens-Keil. 2008. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. **Food Chemistry**. 109: 564-572.
- Chantanawarangoon, S. 2005. **Characterization and concentration of phenolic compounds in tart cherry and plum juices**. Ph.D. Thesis, Cornell University.
- Cetin, E. S., D. Altinoz, E. Tarcin and N. G. Baydar. 2011. Chemical composition of grape canes. **Industrial Crops and Products**. 34: 994-998.
- Dani, C., L. S. Oliboni, R. Vanderlinde, D. Bonatto, M. Salvador and J. A. P. Henriques. 2007. Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically or conventionally produced grapes. **Food and Chemical Toxicology** 45: 2574-2580.
- Dao, L. T., G. R. Takeoka, R. H., Edwards and J. D. J. Berrios. 1998. Improved method for the stabilization of anthocyanidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 46: 3564-3569.
- Das, S. and D. K. Das. 2007. Anti-inflammatory responses of resveratrol. **Inflammation and Allergy: Drug Targets**. 6 (3): 168-173.

- Dawes, H. M. and J. B. Keene. 1999. Phenolic composition of kiwifruit juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 47: 2398-2403.
- Del Pozo-Insfran, D., C. H. Brenes and S. T. Talcott. 2004. Phytochemical composition and pigment stability of acai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 52: 1539-1545.
- Dong, W., N. Li, D. Gao, H. Zhen, X. Zhang and F. Li. 2008. Resveratrol attenuates ischemic brain damage in the delayed phase after stroke and induces messenger RNA and protein express for angiogenic factors. **Journal of Vascular Surgery**. 48(3): 709-714.
- Donovan, J. L., J. R. Bell, S. Kasim-Karakas, J. B. German, R. L. Walzem, R. J. Hansen and A. L. Waterhouse. 1999. Catechin is present as metabolites in human plasma after consumption of red wine. **Journal of Nutrition**. 129: 1662-1668.
- _____, A. S. Meyer and A. L. Waterhouse. 1998. Phenolic composition and antioxidant activity of prunes and prune juice (*Prunus domestica*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 46: 1247-1252.
- Erdelmeier, C. A. and J. Cinatl. 1996. Antiviral and antiphlogistic activities of Hamamelis virginiana bark. **Planta Medica**. 62(3): 241-245.
- Fang, Z., M. Zhang, Y. Sun and J. Sun. 2007. Polyphenol oxidase from bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) and its role in anthocyanin degradation. **Food Chemistry**. 103 (2): 268-273.
- Fernández-Mara, M. I., R. Mateos, M. C. García-Parrilla, B. Puertas and E. Cantos-Villar. 2012. Bioactive compounds in wine: Resveratrol, hydroxytyrosol and melatonin: A review. **Food Chemistry**. 103 (4): 797-813

- Ferreira, D., D. Slade and J. P. J. Marais. 2006. Flavans and Proanthocyanidins, pp. 553-616. *In* O. M. Anderson and K. R. Markham., eds. **Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications**. Chemical Rubber Company Press. Boca Raton, FL.
- Ferrer, J. L., M. B. Austin, C. Steward and J. P. Noel. 2008. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. **Plant Physiology and Biochemistry**. 46(3): 356-370.
- Ferreira, R. M., S. Z. Vina, A. Mugridge and A. R. Chaves. 2007. Growth and ripening season effects on antioxidant capacity of strawberry cultivar Selva. **Scientia Horticulturae**. 112: 27-32.
- Floreani, M., E. Napoli, L. Quintieri and P. Palatini. 2003. Oral administration of trans-resveratrol to guinea pigs increases cardiac DT-diaphorase and catalase activities, and protects isolated atria from menadione toxicity. **Life Sciences**. 72 (24): 2741-2750.
- Foo, L. Y., Y. Yu, A. B. Howell and N. Vorsa. 2000. A-type proanthocyanidins trimers from cranberry that inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated Escherichia coli. **Journal of Natural Products**. 63: 1225-1228.
- Frankel, E. N., C. A. Bosanek, A. S. Meyer, K. Silliman and L. L. Kirk. 1998. Commercial grape juices inhibit the in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 46: 834-838.
- Fremont, L., L. Belguendouz and S. Delpal. 1999. Antioxidant activity of resveratrol and alcohol-free wine polyphenols related to LDL oxidation and polyunsaturated fatty acids. **Life Sciences**. 64: 2511-2521.

- Fritzemeier, K. H and H. Kindl. 1981. Coordinate induction by UV light of stilbene synthase, phenylalanine ammonia-lyase and cinnamate 4-hydroxylase in leaves of Vitaceae. **Planta**. 151: 48-52.
- Fuleki, T. and J. M. Ricardo-da-Silva. 2003. Effects of cultivar and processing method on the contents of catechins and procyanidins in grape juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 51 (3): 640-646.
- Furtado, P., P. Figueiredo, H. Chaves das Neves and F. Pina. 1993. Photochemical and thermal degradation of anthocyanidins. **Journal of Photochemistry and Photobiology**. A 75: 113-118.
- Galeano-Diaz T., I. Duran-Meras and D. Airado-Rodriguez. 2007. Isocratic chromatography of resveratrol and piceid after previous generation of fluorescent photoproducts: Wine analysis without sample preparation. **Journal of Separation Science**. 30: 3110-3119.
- Ghafar, M. F., K. N. Prasad, K. K. Weng and A. Ismail. 2010. Flavonoid, hesperidine, total phenolic contents and antioxidant activities from citrus species. **African Journal of Biotechnology**. 9(3): 326-330
- Giusti, M. M. and R. E. Wrolstad. 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. **Biochemical Engineering Journal**. 14: 217-225.
- _____ and _____. 2005. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy, pp. 19-31. In R.E. Wrolstad, T.E. Acree, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwartz, C.F. Shoemaker, D. Smith and P. Sporns, eds. **Handbook of Food Analytical Chemistry**. Wiley-Interscience, Hoboken, New Jersey.

- Gollucke, A. P. B., R. R. Catharino, J.C. de Souza, M. N. Eberlin and D. Tavares. 2009. Evolution of major phenolic components and radical scavenging activity of grape juices through concentration process and storage. **Food Chemistry**. 112: 868-73.
- Goli, A.H., M. Barzegar and M.A. Sahari. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. **Food Chemistry**. 92: 521-525.
- Green, R.C. 2007. **Physicochemical properties and phenolic composition of selected saskatchewan fruits: buffaloberry, chokecherry and sea buckthorn**. Ph.D. Thesis, Saskatchewan University.
- Gross, J. 1987. **Pigments in Fruits**. Academic Press Inc. (London). Ltd., London.
- Gu, L., M. A. Kelm, J. F. Hammerstone, G. Beecher, J. Holden, D. Haytowitz, S. Gebhardt and R. L. Prior. 2004. Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. **Journal of Nutrition**. 134: 613-617.
- Guerrero, R. F., M. C. García-Parrilla, B. Puertas and E. Cantos-Villar. 2009. Wine, resveratrol and health: A review. **Natural Product Communications**. 4(5): 635-658.
- Hao, H. D. and L. R. He. 2004. Mechanisms of cardiovascular protection by resveratrol. **Journal of Medicinal Food**. 7 (3): 290-298.
- Harikumar, K. B. and B. B. Aggarwal. 2008. Resveratrol: A multitargeted agent for age-associated chronic diseases. **Cell Cycle**. 7 (8): 1020-1035.
- Hilbert, G., J.P. Soyer, C. Molot, J. Giraudon, S. Milin, and J.P. Gaudillere. 2003. Effects of nitrogen supply on must quality and anthocyanin accumulation in berries of cv. Merlot. **Journal of Grapevine Research**. 42 (2): 69-76.

- Hogan, S., L. Zhang, J. Li, B. Zoecklein and Z. Zhou. 2009. Antioxidant properties and bioactive components of Norton (*Vitis aestivalis*) and Cabernet Franc (*Vitis vinifera*) winegrapes. **LWT-Food Science and Technology**. 42: 1269-74.
- Holvoet, P. 2004. Oxidized LDL and coronary heart disease. **Acta Cardiologica**. 59 (5): 479-484.
- Huang, D., B. Ou and R. L. Prior. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 53: 1841-1856.
- Iacopini, P., M. Baldi, P. Storchi and L. Sebastiani. 2008. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. **Journal of Food Composition and Analysis**. 21: 589-598.
- Jackson, F. S., W. C. McNabb, T. N. Barry, Y. L. Foo and J. S. Peters. 1996. The condensed tannins of a range of subtropical and temperate forages and the reactivity of condensed tannin with ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (Rubisco) protein. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 72: 483-492.
- Jayani, R. S., S. Saxena and R. Gupta. 2005. Microbial pectinolytic enzymes: A review. **Process Biochemistry**. 40: 2931-2944.
- Karacabey, E. and G. Mazza. 2008. Optimization of solid-liquid extraction of resveratrol and other phenolic compounds from milled grape canes (*Vitis vinifera*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 56: 6318-6325.
- Karlsson, J., M. Emgard, P. Brundin and M. J. Burkitt. 2000. Trans-resveratrol protects embryonic mesencephalic cells from tert-butyl hydroperoxide: Electron paramagnetic resonance spin trapping evidence for a radical scavenging mechanism. **Journal of Neurochemistry**. 75(1): 141-150.

- Karuppagounder, S. S., J. T. Pinto, H. Xu, L. H. Chen, M. F. Beal and G. E. Gibson. 2009. Dietary supplementation with resveratrol reduces plaque pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease. **Neurochemistry International**. 54(2):111-118.
- Kashyap, D. R., P. K. Vohra, S. Chopra and R. Tewari. 2001. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. **Bioresource Technology**. 77: 215-227.
- Kaur, G., S. Kumar and T. Satyanarayana. 2005. Production, characterization and application of a thermostable polygalacturonase of a thermophilic mould *Sporotrichum thermophile* Apinis. **Bioresource Technology**. 94: 239-43.
- Kearsley, M. W and N. Rodriguez. 1981. The stability and use of natural colors in foods: anthocyanin, beta-carotene and riboflavin. **Journal of Food Technology**. 16: 421-431.
- Khandare, V., S. Walia, M. Singh and C. Kaur. 2011. Black carrot (*Daucus carota*ssp.sativus) juice: Processing effects on antioxidant composition and color. **Food and Bioproducts Processing**. 89: 482-486.
- Kirca, A. and B. Cemeroglu. 2003. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. **Food Chemistry**. 81: 583-587.
- _____, M. Ozkan and B. Cemeroglu. 2007. Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. **Food Chemistry**. 101: 212-218.
- Kim, D. O. and C. Y. Lee. 2002. Extraction and Isolation of polyphenolics. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. R.E. Wrolstad. New York, Wiley: 11.2.1-11.2.12.
- _____, S. W. Jeong and C. Y. Lee. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**. 81: 321-326.

- Kong, J. M., L. S. Chia, N. K. Goh, T.F. Chia and R. Brouillard. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**. 64: 923-933.
- Lamuela, R. , M. Rosa, P. Romero, I. Ana, Waterhouse, L. Andrew, B. D. L. Torre and M. Carmen. 1995. Direct HPLC Analysis of cis and trans Resveratrol and Piceid Isomers in Spanish Red *Vitis vinifera* Wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 43 (2): 281.
- Lapidot, T., S. Harel, R.Granit and J. Kanner. 1998 Bioavailability of red wine anthocyanins as detected in human urine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 46: 4297–4302.
- Leblanc, M. R., C. E. Johnson and P. W. Wilson 2008. Influence of pressing method on juice stilbene content in muscadine and bunch grapes. **Journal of Food Science**. 73(4): 58-62.
- Li, Y., Z. Cao and H. Zhu 2006. Up regulation of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes by the red wine polyphenol, resveratrol in cultured aortic smooth muscle cells leads to cytoprotection against oxidative and electrophilic stress. **Pharmacological Research**. 53 (1): 6-15.
- Liang, Z., B. Wu, P. Fan, C. Yang , W. Duan, X. Zheng, C. Liu and S. Li. 2008. Anthocyanin composition and content in grape berry skin in *Vitis* germplasm. **Food Chemistry**. 111: 837-844.
- Lima, V.L.A.G., E.A. Melo, M.I.S. Maciel, F.G. Prazeres, R.S. Musser and D.E.S. Lima. 2005. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry**. 90: 565-568.
- Lopez, R., P. Dugo and L. Mondello. 2007. Determination of trans-resveratrol in wine by micro-HPLC with fluorescence detection. **Journal of Separation Science**. 30: 669-672.

- Lutz, M., K. Jorquera, B. Cancino, R. Ruby and C. Henriquez. 2011. Phenolics and antioxidant capacity of table grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars grown in Chile. **Journal of Food Science**. 76 (7): 1088-1093.
- Magalhaes, L.M., M.A. Marcela, S. Reis and J.L.F.C. Lima. 2008. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. **Analitica Chemica Acta**. 613 (1): 1-19.
- Manach, C., A. Scalbert, C. Morand, C. Remesy and L. Jime' nez. 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**. 79: 727-747.
- Marti, N., A. Perez-Vicente and C. Garcia-Viguera. 2002. Influence of storage temperature and ascorbic acid addition on pomegranate juice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 82: 217-221.
- Mattivi, F., F. Reniero and S. Korhammer. 1995. Isolation, characterization, and evolution in red wine vinification of resveratrol monomers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 43 (7): 1820-1825.
- Menichini, F., R. Tundis, M. Bonesi, M. R. Loizzo, F. Conforti, G. Statti, B. D. Cindio, P. J. Houghton and F. Menichini. 2009. The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum chinense* Jacq. cv Habanero. **Food Chemistry**. 114: 553-560.
- Meunier, M. T. and F. Villie. 1994. The interaction of *Cupressus sempervirens* L. proanthocyanidolic oligomers with elastase and elastins. **Journal de pharmacie de Belgique**. 49(6): 453-461.

- Monagas, M., C. Gomez-Cordoves, B. Bartolome, O. Laureano and J. M. Ricardo da Silva. 2003. Monomeric, oligomeric, and polymeric flavan-3-ol composition of wines and grapes from *Vitis vinifera* L. Cv. graciano, tempranillo and cabernet sauvignon. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 51: 6471-6481.
- Nakamura, Y., S. Tsuji and Y. Tonogai. 2003. Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. **Journal of Health Science**. 49(1): 45-54.
- Negro, C., L. Tommasi and A. Miceli. 2003. Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. **Bioresource Technology**. 87: 41-44.
- Oh, Y.S., J.H. Lee, S.H. Yoon, C.H. Oh, D.-S. Choi, E. Choe, and M.Y. Jung. 2008. Characterization and quantification of anthocyanins in grape juices obtained from the grapes cultivated in Korea by HPLC/DAD, HPLC/MS, and HPLC/MS/MS. **Journal of Food Science**. 73(5): 378-389.
- Orak, H.H. 2007. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. **Scientia Horticulturae**. 111: 235-241.
- Orallo, F., E. Álvarez, M. Camiña, J. M. Leiro, E. Gómez and P. Fernández. 2002. The possible implication of trans-resveratrol in the cardioprotective effects of long-term moderate wine consumption. **Molecular Pharmacology**. 61 (2): 294-302.
- Parker, J. A., M. Arango, S. Abderrahmane, E. Lambert, C. Tourette and H. Catoire. 2005. Resveratrol rescues mutant polyglutamine cytotoxicity in nematode and mammalian neurons. **Nature Genetics**. 37(4): 349-350.

Pilnik and A.G.J. Voragen. 1991. The Significance of endogenous and exogenous pectic enzyme in fruit and vegetable processing, In P.F. Fox (ed.). **Food Enzymol.** Elsevier Science Publishers, Amsterdam. pp. 303-336.

_____ and _____. 1992. Gelling Agents (Pectins) from Plants for the food industry. **Advances in Plant Cell Biochemistry and Biotechnology.** 1: 219.

Pricelius, S., M. Murkovic, P. Souter and G. M. Guebitz. 2009. Substrate specificities of glycosidases from *Aspergillus* species pectinase preparations on elderberry anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 57: 1006-1012.

Prior, R. L., X. Wu and K. Schaich. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplement. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 53: 4290-4302.

Provinciali, M., F. Re, A. Donnini, F. Orlando, B. Bartozzi and G. Di Stasio. 2005. Effect of resveratrol on the development of spontaneous mammary tumours in HER-2/neu transgenic mice. **International Journal of Cancer.** 115 (1): 36-45.

Ray, S. D., M. A. Kumar and D. Bagchi. 1999. A novel proanthocyanidin IH636 grape seed extract increases in vivo bcl-Xl expression and prevents acetaminophen-induced programmed and unprogrammed cell death in mouse liver. **Archives of Biochemistry and Biophysics.** 369(1): 42-58.

Ribereau-Gayon, P., D. Dubourdieu, B. Doneche, and A. Lonvaud. 2000. **Handbook of Enology, Volume 1: The Microbiology of Wine and Vinifications.** Wiley press, New York.

Robinson, J. 2006. Vine varieties. **The oxford companion to wine third edition,** Oxford University. p 746

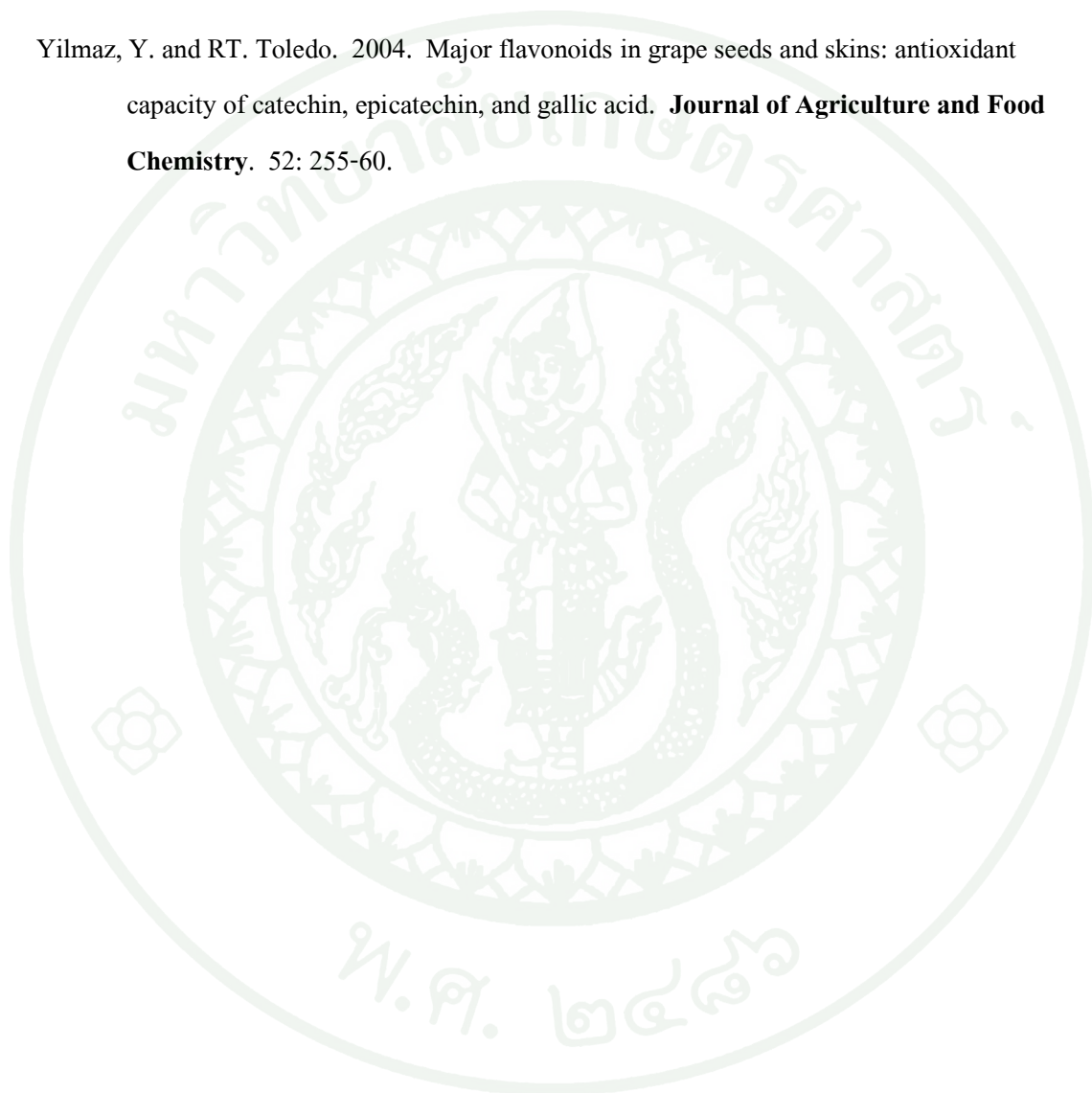
- Rodriguez-Saona, L.E. and R.E. Wrolstad. 2005. Extraction, isolation, and purification of anthocyanins, pp. 7-17. In R.E. Wrolstad, T.E. Acree, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwartz, C.F. Shoemaker, D. Smith and P. Sporns, eds. **Handbook of Food Analytical Chemistry**. Wiley-Interscience, Hoboken, New Jersey.
- Roldan, A., V. Palacios, I. Caro and L. Perez. 2003. Resveratrol content of Palomino Fino grapes: Influence of vintage and fungal infection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 51 (5): 1464–1468
- Sady, M. B. 2007. Field Test to Rapidly Screen Grape Juice for Phenolic Content. **Journal of Chemical Education**. Western Nevada Community College. Nevada, USA
- Saito, M., H. Hosoyama, T. Ariga, S. Kataoka and N. Yamaji. 1998. Antiulcer activity of grape seed extract and procyanidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 46: 1460-1464.
- Salunkhe, D. K., J. K. Chavan and S. S. Kadam. 1989. **Dietary Tannins: Consequences and Remedies**. Chemical Rubber Company Press. Boca Raton, FL.
- Santos-Buelga, C., and A. Scalbert. 2000. Proanthocyanidins and tannin like compounds nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 80: 1094-1117.
- Scaman, C. 2001. Food Colourants Module. **Chemistry of Food System**.
http://www.agsci.ubc.ca/courses/fnh/410/colour/3_22.htm, April 4, 2001
- Sims, C. A., M. O. Balaban and R. F. Maithews. 1993. Optimization of Carrot Juice Color and Cloud Stability. **Journal of Food Science**. 58: 1129-1131.

- Singh, R.P., K.N. Chidambara and G.K. Jayaprakasha. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro model. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 50: 81-86.
- Singh, A., S. Kumar and H.K. Sharma. 2012. Effect of Enzymatic Hydrolysis on the Juice Yield from Bael Fruit (*Aegle marmelos* Correa) Pulp. **American Journal of Food Technology**. 7 (2): 62-72.
- Skrede, G., R. E. Wrolstad, P. Lea and G. Enersen. 1992. Color stability of strawberry and black currant syrups. **Journal of Food Science**. 57: 172-177.
- Shahidi, F. and M. Nacz. 2004. **Phenolics in Food and Nutraceuticals**. Chemical Rubber Company Press, New york.
- Stervbo, U., O. Vang and C. Bonnesen. 2006. Time and concentration dependent effects of resveratrol in HL-60 and HepG2 cells. **Cell Proliferation**. 39 (6): 479-493.
- Stintzing, F.C. and R. Carle. 2004. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. **Trends in Food Science and Technology**. 15: 19-38.
- Szkudelski, T. 2008. The insulin suppressive effect of resveratrol: An in vitro and in vivo phenomenon. **Life Sciences**. 82 (7-8): 430-435.
- Talcott, S. T., C. H. Brenes, D. M. Pires and D. Del Pozo-Insfran. 2003. Phytochemical stability and color retention of copigmented and processed muscadine grape juice. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. 51: 957-963.
- Tanrioven, D. and A. Eksi. 2005. Phenolic compounds in pear juice from different cultivars. **Food Chemistry**. 93: 89-93.

- Terrier, N. and C. Romieu. 2001. Grape berry acidity, pp. 35-57. *In* K. A. Roubelakis-Angelakis., eds. **Molecular biology and biotechnology of the grapevine**. Kulwer, Netherlands.
- Vine, R. P. and E. M. Harkness. 1997. **Winemaking From Grape Growing to Marketplace**, International Thomson Publishing.
- Vrhovsek, U., S. Wendelin and R. Eder. 1997. Effects of various vinification techniques on the concentration of cis- and trans-resveratrol and resveratrol glucoside isomers in wine. **American Journal of Enology and Viticulture**. 48: 214-219.
- Wang, Z., Y. Huang, J. Zou, K. Cao, Y. Xu, and J. M. Wu. 2002. Effects of red wine and wine polyphenol resveratrol on platelet aggregation in vivo and in vitro. **International Journal of Molecular Medicine**. 9 (1): 77-79.
- _____, J. Zou, K. Cao, T. Hsieh, Y. Huang and J. M. Wu. 2005. Dealcoholized red wine containing known amounts of resveratrol suppresses atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits without affecting plasma lipid levels. **International Journal of Molecular Medicine**. 16 (4): 533-540.
- Wenzel, E., T. Soldo, H. Erbersdobler and V. Somoza. 2005. Bioactivity and metabolism of trans-resveratrol orally administered to Wistar rats. **Molecular Nutrition and Food Research**. 49 (5): 482-494.
- Xi Zhao-Wilson. 2007. What dose of resveratrol should humans take?. **Life Extension Magazine**. 36-45.
- Xu, C. , Y. Zhang, L. Cao and J. Lu. 2010. Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China. **Food Chemistry**. 119: 1557-1565.

Yamakoshi, J., M. Saito, S. Kataoka and S. Tokutake. 2002. Procyanidin-rich extract from grape seeds prevents cataract formation in hereditary cataractous (ICR)/f rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 50: 4983-4988.

Yilmaz, Y. and RT. Toledo. 2004. Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. 52: 255-60.







ภาคผนวก ก
แผนการทดลอง

แผนการทดลองแบบ 2x5x6 Factorial in CRD (Complete Randomized Design) ทำการทดลอง 5 กรรมวิธี จำนวน 6 สายพันธุ์ โดยมีปัจจัย 2 ปัจจัยคือ

ปัจจัยที่ 1 คือวิธีการทำน้ำประกอบด้วย การคั้นน้ำองุ่นด้วยการใช้ความร้อน, การคั้นน้ำองุ่นด้วยการใช้ความร้อนร่วมกับเอนไซม์, การคั้นน้ำองุ่นด้วยการไม่ใช้ความร้อน, การคั้นน้ำองุ่นด้วยการไม่ใช้ความร้อนร่วมกับเอนไซม์, การคั้นน้ำองุ่นด้วยวิธีการควบคุม

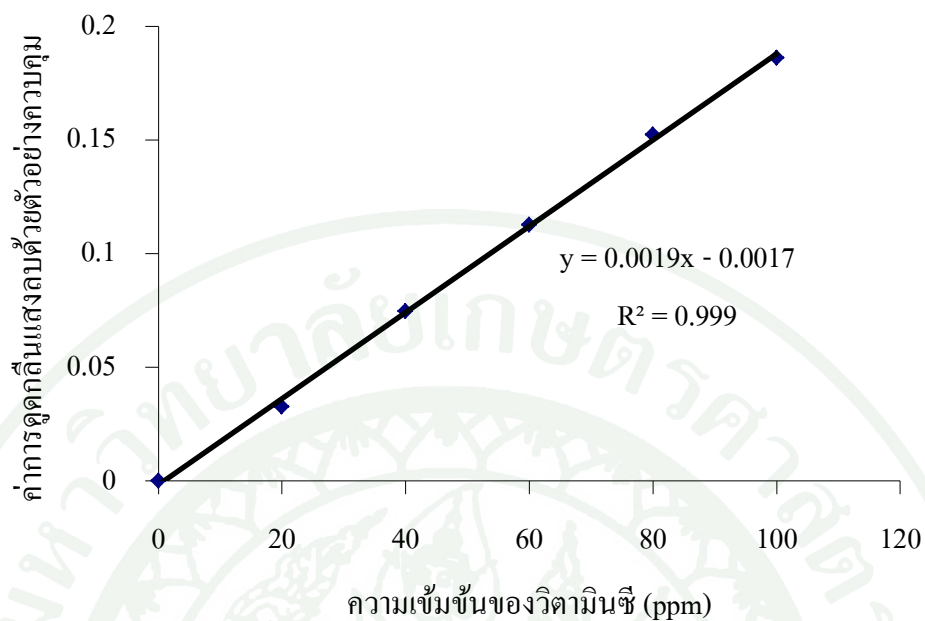
ปัจจัยที่ 2 คือสายพันธุ์องุ่นประกอบด้วย องุ่นสายพันธุ์ Black opor, องุ่นสายพันธุ์ Black queen, องุ่นสายพันธุ์ Corolina black rose, องุ่นสายพันธุ์ Tempranillo, องุ่นสายพันธุ์ Cabernet sauvignon, องุ่นสายพันธุ์ Syrah

วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยเทคนิค ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple's Range Test (DMRT) โดยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

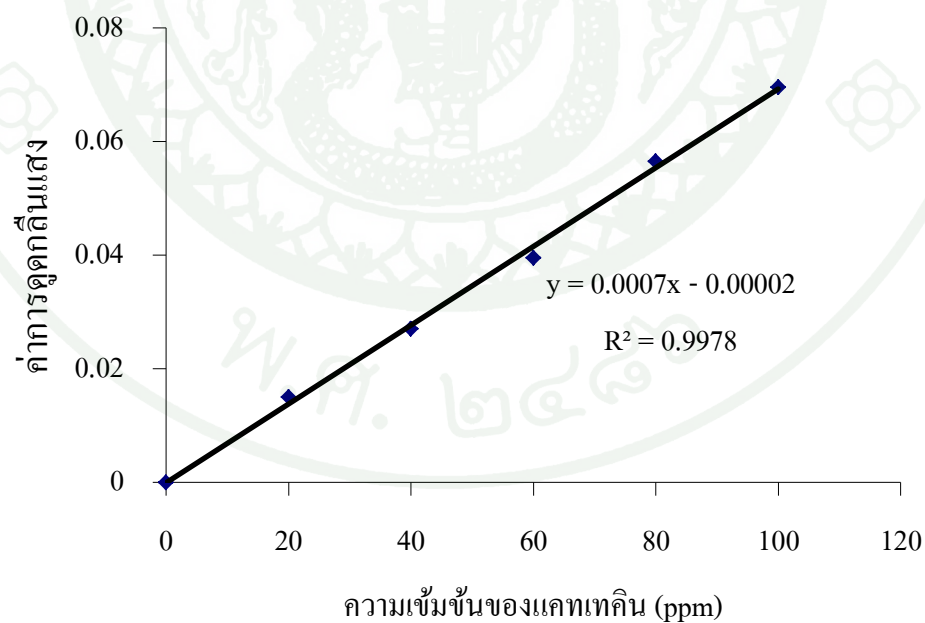
ตารางผนวกที่ ก1 แผนการทดลอง

สายพันธุ์องุ่น วิธีการทำน้ำ	Black opor	Black queen	Black rose	Tempranillo	Cabernet sauvignon	Syrah
control						
hot press enzyme						
cold press enzyme						
hot press non enzyme						
cold press non enzyme						

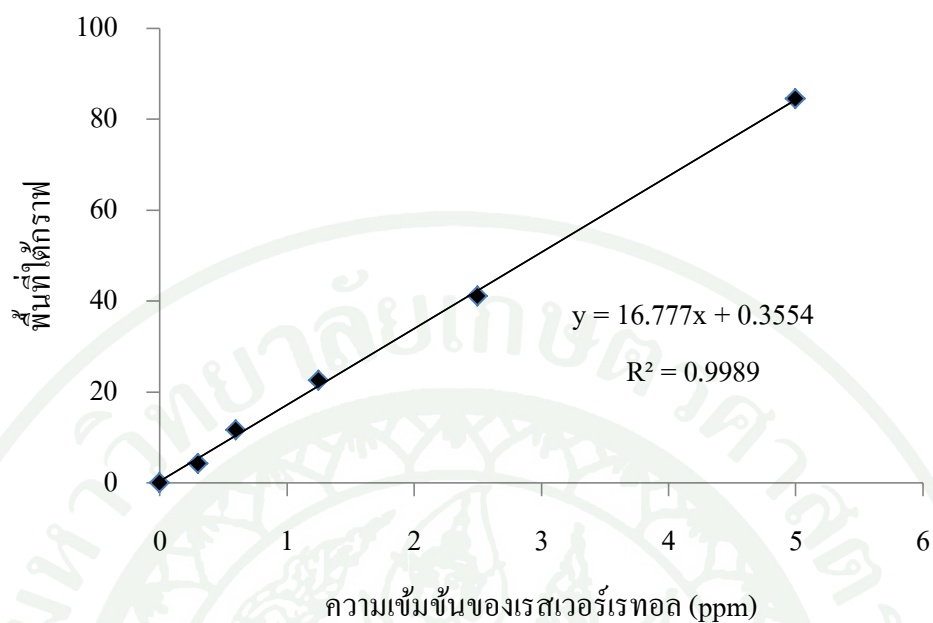




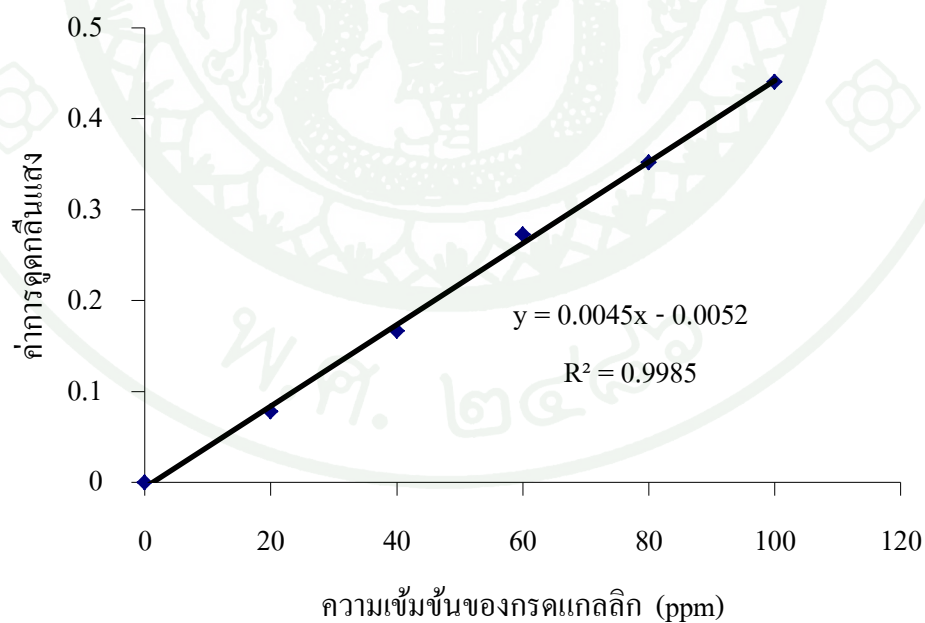
ภาพผนวกที่ ข1 กราฟมาตรฐานของวิตามินซีสำหรับตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH



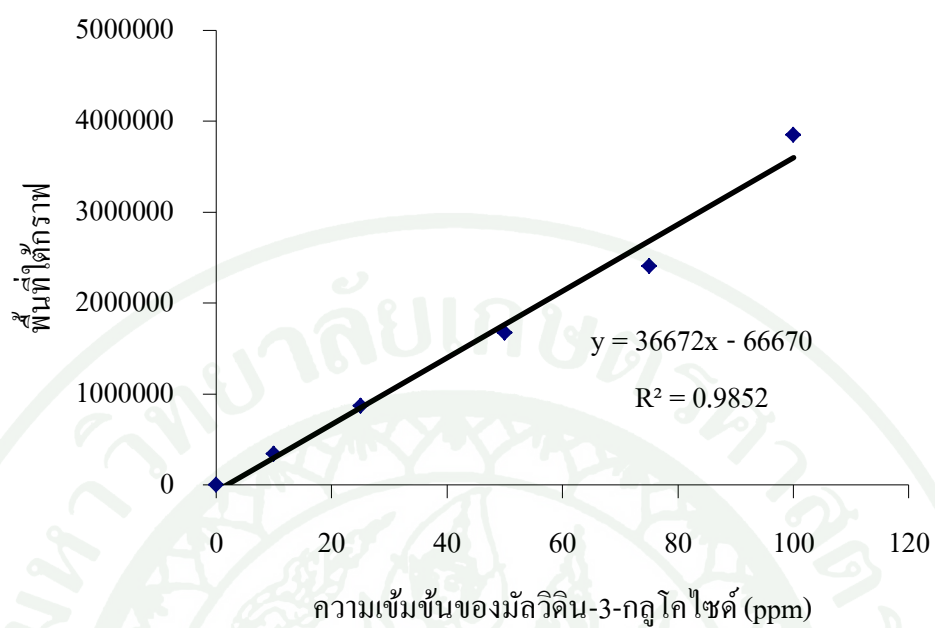
ภาพผนวกที่ ข2 กราฟมาตรฐานของแกดเทคินสำหรับตรวจสอบปริมาณโปรแอนโทไซยานินส์ทั้งหมด



ภาพผนวกที่ ๓ กราฟมาตรฐานของเรสเวอรัเรทอล (Resveratrol)



ภาพผนวกที่ ๔ กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกสำหรับการตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด



ภาพผนวกที่ ๖5 กราฟมาตรฐานของมัลวิดิน-3-กลูโคไซด์ (Malvidin-3-glucoside)



นำองุ่นที่ผ่านการตัดจากไร่องุ่นล้างทำความสะอาดเด็ดก้านขององุ่นออกให้เหลือแต่ผลองุ่น



แพคใส่ถุงซิปล็อคใบละ 1 กิโลกรัมนำไปเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส



นำองุ่นออกมาทิ้งไว้ในตู้แช่เย็นที่อุณหภูมิห้องโดยแบ่งองุ่นออกเป็น 2 ชุดการทดลอง



นำองุ่นไปบีบอัดให้แตกด้วยเครื่องกรองอัดแบบสกรู



ควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียสในวิธี hot press และควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 20-22 องศาเซลเซียสในวิธี cold press จากนั้นควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีนำไปคั้นน้ำด้วยเครื่องบีบอัดไฮโดรลิก กรองด้วยผ้าขาวบางและเก็บตัวอย่างไปทำการวิเคราะห์

ภาพผนวกที่ ค1 กรรมวิธีการผลิตน้ำองุ่น



ตารางผนวกที่ 1 สภาพภูมิอากาศเฉลี่ยตลอดฤดูกาลปลูก*

	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	เฉลี่ย
ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	76.5	119	86.5	103.5	168	203	222	128	44.5	0	47	48	103.8
อัตราการระเหยของน้ำ(มิลลิเมตร)	108	85	81	92	72	85	71	58	104	96	117	91	88.3
อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส)	18	18	19	22	20	21	22	19	14	14	15	19	18.4
อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส)	35	35	34	32	32	33	32	33	34	33	33	34	33.3
อุณหภูมิเฉลี่ยตลอดทั้งวัน (องศาเซลเซียส)	26.6	26.8	26.7	27.5	26.6	27.2	26.6	25.8	23.9	23.8	23.9	25.9	26

*ฤดูกาลปลูกของปี 2552 ถึง 2553 โดยนับจากหลังตัดแต่งกิ่งในช่วงเดือนมีนาคมและสามารถเก็บผลผลิตได้ในเดือนกุมภาพันธ์ของปีถัดไป

ที่มา : โรงเรือนบริษัท บี บี โฮลดิ้ง จำกัด (สาขาปากช่อง) จังหวัดนครราชสีมา

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นาย จัตรชัยนันท์ พิลาทอง
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 30 กันยายน 2527
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดนครพนม
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร) คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร (พ.ศ. 2550)
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์