บทคัดย่อ

170206

สารชีวภาพสำคัญชนิดหนึ่งที่พบในพืชผักตระกูลกะหล่ำและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ คือ สารกลูโคซิโนเลต โดยบรอคโคลีมีปริมาณสารกลูโคซิโนเลตชนิดกลูโคราฟานิน ในปริมาณสูง และสามารถเปลี่ยนเป็น สารซัลโฟราเฟน ซึ่งเป็นสารในกลุ่มไอโซไทโอไซยาเนตที่มีศักยภาพในการต้านมะเร็งที่สำคัญ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินชนิดและปริมาณของสารกลูโคซิโนเลตและสมบัติต้านอ็อกซิเดชันในเมล็ดบรอคโคลีสายพันธุ์ต่างๆที่เพาะปลูกในประเทศไทย

งานวิจัยนี้ได้อธิบายถึงการปรับปรุงวิธีวิเคราะห์สารกลูโคซิโนเลตเดิมที่เป็นทางการของเอโอซีเอส เพื่อวิเคราะห์สารกลูโคซิโนเลตจากเมล็ดบรอคโคลี โดยใช้วิธีลิควิดโครมาโทกราฟีชนิดเฟสผันกลับควบคู่ไอออน ประกอบกับเครื่องตรวจวัดชนิดแถวลำดับไดโอด พบสภาวะที่เหมาะสมด้วยการใช้คอลัมน์ไลโครสเฟียร์ ซี 18 (ความยาว 150 มิลลิเมตร) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.1 มิลลิเมตร (ขนาดอนุภาค 5 ไมโครเมตร) มีระบบเฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยอะซีโตไนทริล ในสารละลายของอะซีโตไนทริลร้อยละ 50 ต่อน้ำขจัดไอออนที่มีเตตราออกทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์อีกร้อยละ 50 มีอัตราการไหล 0.20 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 229 นาโนเมตร ได้วิเคราะห์เมล็ดบรอคโคลี สายพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทย การศึกษาพบสารกลูโคซิโนเลต ดังนี้ 3-เมธิลซัลฟิวนิลโพรพิล- 4-เมธิลซัลฟิวนิลบิวทิล- 5-เมธิลซัลฟิวนิลเพนทิล- 4-ไฮดรอกซี-3-อินโดอิวเมทิล- 4-เมธิลไทโอบิวทิล- 4-เมธ็อกซี-3-อินโดอิวเมทิล- และ 1-เมธ็อกซี-3-อินโดอิวเมทิล กลูโคซิโนเลต และพบว่า ค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เรียงตามลำดับสาร ดังนี้คือ 0.026 0.031 0.025 0.022 0.028 0.021 และ 0.022 วิธีดังกล่าว สามารถวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกลูโคซิโนเลตจากเมล็ดพันธุ์บรอคโคลีโดยไม่ต้องใช้วิธีอนุพันธ์ ชนิดและปริมาณของสารกลูโคซิโนเลตมีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่า กลูโคราฟานินเป็นสารกลูโคซิโนเลตที่พบปริมาณสูงสุดในเมล็ดบรอคโคลีทุกสายพันธุ์ เมื่อพิจารณาปริมาณรวมทั้งหมดของสารกลูโคซิโนเลตพบว่า สายพันธุ์ท็อปกรีน #067 มีปริมาณมากที่สุด (65.5 ไมโครโมลต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) และสามารถเรียงลำดับปริมาณสารกลูโคซิโนเลตจากมากไปหาน้อยที่สุด ดังนี้ สายพันธุ์แพคแมน มีปริมาณ 58.6 ไมโครโมลต่อกรัมน้ำหนักแห้ง สายพันธุ์กรีนควีน มีปริมาณ 51.2 ไมโคร-โมลต่อกรัมน้ำหนักแห้ง สายพันธุ์ปักกิ่ง มีปริมาณ 25.5 ไมโครโมลต่อ

170206

กรัมน้ำหนักแห้ง และ สายพันธุ์ที่มีปริมาณกลูโคซิโนเลตน้อยที่สุด คือ สายพันธุ์รถไฟ 20.3 ไมโครโมลต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติต้านอ็อกซิเดชันในเมล็ดพันธุ์บรอคโคลี โดยการวัดความสามารถในการต้านอนุมูลไอออนบวกเอบีทีเอสและอนุมูลเฟอริก (เอฟอาร์เอพี) การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ฟลาโวนอล กรดแอสคอร์บิค แคโรทีนอยด์ และ โทโคฟีรอล การศึกษาพบว่า สารสกัดด้วยเมธานอลและน้ำ ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลไอออนบวกเอบีทีเอสและคีเลตไอออนเหล็กสูงสุด ส่วนสารสกัดคลอโรฟอร์มให้ฤทธิ์ดังกล่าวต่ำที่สุด โดยความสามารถต้านอ็อกซิเดชันในส่วนชอบน้ำและชอบไขมันมีความแปรผันอย่างมีนัยสำคัญ พิจารณาสายพันธุ์ที่ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรวมสูงที่สุด คือ สายพันธุ์ท็อปกรีน #067 (4.871 มิลลิกรัมต่อ 100มิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง) และไม่พบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์กรีนควีน (3.855 มิลลิกรัมต่อ100มิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง) สายพันธุ์แพคแมน (3.876 มิลลิกรัมต่อ100มิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง) และสายพันธุ์ปักกิ่ง (3.934 มิลลิกรัมต่อ100มิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง) ในขณะที่สายพันธุ์รถไฟ (3.292 มิลลิกรัมต่อ100มิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง) ให้ฤทธิ์ต่ำสุด

ได้ทำการปรับปรุงวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (เอชพีแอลซี) เพื่อวิเคราะห์สารฟีนอลิกที่สำคัญ ได้แก่ แคทีชิน อีพิแคทีชิน อีพิแกลโลแคทีชินแกลเลต กรดแกลิค เคอร์เซทิน และรูทิน ใช้เวลาในการวิเคราะห์ทั้งสิ้นเพียง 35 นาที โดยใช้คอลัมน์ออกตะเดกซิลไซ-ลิว มีระบบเฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยอะซีโตไนทริล กรดอะซิติก (มีค่าความเป็นกรดเบส 3.0) และเมธานอลในอัตราส่วนต่างๆ มีอัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ค่าต่ำสุดและค่าปริมาณสารที่สามารถวิเคราะห์ได้อยู่ในช่วง 0.15-0.46 และ 0.18-2.47 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าร้อยละของการวิเคราะห์กลับคืนในช่วงร้อยละ 96-103 จากการศึกษา ไม่พบปริมาณสารฟีนอลิกดังกล่าวในเมล็ดบรอคโคลีทุกสายพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทย

ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซิโนเลตและคุณสมบัติต้านอ็อกซิเดชันจากเมล็ดบรอคโคลีสายพันธุ์ต่างๆที่เพาะปลูกในประเทศไทยครั้งนี้ จะเป็นประโยชน์ในการปรับปรุงสายพันธุ์บรอคโคลีที่มีในประเทศ เพื่อพัฒนาในด้านอาหารเพื่อสุขภาพและ/หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่อไป

ABSTRACT

170206

One of the most significant health concern of cruciferous vegetables is the presence of biological active compound, glucosinolates. Broccoli attracted attention after the discovery that it contains high levels of isothiocyanate sulforaphane [4-(methylsulfinyl)butyl isothiocyanate], produced from the breakdown of the glucosinolate glucoraphanin [4-methylsulfinyl)butyl glucosinolate] and showed great potential anticarcinogenic properties. The purposes of this study were to evaluate the content of glucosinolates and antioxidant properties in broccoli seeds cultivars widely grown in Thailand.

This study also describes a newly validated reverse-phase paired-ion liquid chromatography (RP-PIC) with diode array detector method to determine the intact glucosinolates in various Thai broccoli seed genotypes. It is a modified of the official AOCS method and followed the extraction glucosinolates step from broccoli seeds. The analyses were carried out on a Lichrospher RP-18 column (150 mm x 2.1 mm i.d., 5 μm), with a mobile phase gradient, which increases the acetonitrile level in a 50% acetonitrile plus 50% de-ionized water containing 5mM tetraoctylammonium bromide. The flow rate was 0.20 ml/min and detection set at 229 nm. These procedures were applied to samples of broccoli seeds cultivars grown in Thailand, in order to resolve and identify its major glucosinolates: 3-methylsulfinylpropyl-, 4-methylsulfinylbutyl-, 5-methylsulfinylpentyl-, 4-hydroxy-3-indolylmethyl-, 4-methylthiobutyl-, 4-methoxy-3-indolymethyl- and 1-methoxy-3-indolylmethyl glucosinolate and the detection limits were 0.026 μg/ml, 0.031 μg/ml, 0.025 μg/ml, 0.022 μg/ml, 0.028 μg/ml, 0.021 μg/ml and 0.022 μg/ml, respectively. Thus, this analytical methodology provides a powerful technique for identifying and quantitating glucosinolates in broccoli seeds extracts without derivatization. Total and individual glucosinolate levels significantly varied among cultivars. The compound 4-methylsulfinylbutyl glucosinolate (glucoraphanin) was the predominant glucosinolate in all broccoli seeds. Total glucosinolates were 65.5 μmol/g DW in 'Top Green #067' cultivar and was the highest level found in this study, while 'Packman' (58.6 μmol/g DW), 'Green Queen'

(51.2 μmol/g DW), 'Pak Ging' (25.5 μmol/g DW) cultivars were lower and 'Rod Fai' cultivar (20.3 μmol/g DW) was the lowest.

The antioxidant capacities, including ABTS radical scavenging activity, ferric reducing antioxidant power (FRAP), phenolics, flavonoids, flavonols, ascorbic acid, carotenoids and tocopherols within and between each genotype were determined. The results showed that the methanol and water extracts exhibited high ABTS radical scavenging activity and high chelating ability; while the chloroform extract was the least. The variability in hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity found among these genotypes suggests that potential efficiency from antioxidants vary considerably from genotype to genotype. Results indicated that there was a substantial variation both within and between subspecies. Total antioxidants capacity were significantly higher in 'Top Green #067' (4.871 mg/100mg DW) cultivar than in 'Green Queen' (3.855 mg/100mg DW), 'Packman' (3.876 mg/100mg DW), 'Pak Ging' (3.934 mg/100mg DW) cultivars which were no significantly different, while 'Rod Fai cultivar was demonstrated significant lower concentrations (3.292 mg/100mg DW).

A high-performance liquid chromatographic (HPLC) separation method has been developed for the simultaneous determination of the main phenolics classes including, catechin, epicatechin, epigallocatechin gallate, gallic acid, quercetin and rutin. Phenolic compounds were separated within 35 min, using an octadecylsilyl column and a gradient elution system of acetonitrile—acetic acid solution (pH 3.0)—methanol as the mobile phase with a flow rate of 1.0 ml/min. The analysis was monitored at 280 nm. The detection limits and quantitation limits of these compounds were in the range of 0.15–0.46 and 0.18–2.47 μ g/ml, respectively. The recovery rates of all compounds range of 96–103% were obtained. This method was applied to the analysis of phenolic compounds in broccoli seeds genotypes cultivated in Thailand. There was no detectable phenolic compounds in broccoli seeds in all extractable solutions from this study.

This research describes glucosinolate levels and antioxidant activities in broccoli seeds of Thai' s cultivar cultivated throughout Thailand. The improvement of new cultivars can be further produced for commercial crops used in the health food and/or nutraceuticals industries.