

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในกระบวนการผลิตน้ำส้มคั้น โดยทั่วไปจะได้ส่วนที่เป็นน้ำประมาณร้อยละ 50 ส่วนที่เหลือจะเป็นวัสดุที่เหลือทิ้งส่วนใหญ่ได้แก่ เปลือกและเมล็ดโดยมีส่วนของกากที่ได้จากการคั้นน้ำเล็กน้อย (Braddock, 1995) ได้มีการนำเปลือกส้มมาใช้ประโยชน์โดยเป็นแหล่งของผลิตภัณฑ์พลอยได้ (by products) ต่าง ๆ เช่น โมลาส (molasses), เพคติน (pectin), น้ำมันหอมระเหย (essential oils) และลิโมนีน (limonene) นอกจากนี้ ยังสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์อีกด้วย สำหรับเมล็ดส้มเป็นแหล่งของน้ำมันที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง แต่ยังไม่มีการสกัดน้ำมันเมล็ดส้มในเชิงการค้า เนื่องจากปัญหาในการรวบรวมเมล็ดส้มเพื่อให้ได้ปริมาณมากพอในพื้นที่ใดพื้นที่หนึ่งเพื่อการผลิต เมล็ดส้มยังเป็นแหล่งของลิโมนอยด์ (limonoids) ซึ่งเป็นสารพฤษเคมีที่พบเฉพาะในพืชตระกูลส้ม สารดังกล่าวมีรสขมมากและพบว่ามีสมบัติในการยับยั้งการเกิดเซลล์มะเร็งในสัตว์ทดลองได้ดี (Braddock, 1995; Bocco *et al.*, 1998)

ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ให้ความสนใจในการใช้ประโยชน์จากเปลือกและเมล็ดส้มในแง่สารพฤษเคมีที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพโดยเฉพาะสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ซึ่งรวมถึงกรดฟีนอลิก (phenolic acids) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สำหรับฟลาโวนอยด์ที่พบในพืชตระกูลส้มที่สำคัญมี 2 กลุ่ม คือ โพลีเมทอกซีเลทเท็ด ฟลาวอน (polymethoxylated flavones) และไกลโคซิเลทเท็ด ฟลาวานอน (glycosylated flavanones) (Bocco *et al.*, 1998) มีการค้นพบว่าสารประกอบฟลาโวนอยด์จากพืชตระกูลส้มมีสมบัติในการต้านการเกิดโรคมะเร็ง, ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และไวรัส, บรรเทาอาการอักเสบของเนื้อเยื่อ (antiinflammatory) รวมทั้งมีผลต่อความแข็งแรงของหลอดเลือด (capillary fragility) และการยับยั้งการแข็งตัวของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) (Montanari *et al.*, 1997; Benavente-Garcia *et al.*, 1997) ความสามารถของสารประกอบฟลาโวนอยด์ ในการป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้น เป็นผลมาจากการที่สารประกอบดังกล่าวมีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidants) และ/หรือเป็นสารที่ออกฤทธิ์ด้วยกลไกอื่นๆ ในการป้องกันการเกิดโรคดังกล่าว (Benavente-Garcia *et al.*, 1997)

สำหรับกลไกการทำงานของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยทั่วไป จะมีสมบัติเป็นสารทำลายอนุมูลอิสระ (free radical scavengers) และ/หรืออาจทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ (reducing agents) รวมทั้งความสามารถในการจับโลหะที่มีส่วนในการส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และการทำลายออกซิเจนและอนุพันธ์ของออกซิเจน เช่น ซิงเกิลท์ออกซิเจน (singlet oxygen) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide,  $H_2O_2$ ) เป็นต้น (Montanari *et al.*, 1997)

นอกจากความสำคัญในแง่ของสารพฤกษเคมีที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ นักวิทยาศาสตร์การอาหารยังให้ความสนใจที่จะนำสารสกัดจากพืชมาใช้เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติ (natural antioxidants) ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีปัญหาเกี่ยวกับการออกซิเดชันขององค์ประกอบประเภทไขมันรวมทั้งสารอาหารต่างๆ เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันดังกล่าวจะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีคุณภาพทั้งทางด้านประสาทสัมผัสและทางด้านโภชนาการต่ำลง

ปัจจุบันอุตสาหกรรมผลิตน้ำส้มกั้นในประเทศมีการเจริญเติบโตขึ้นเป็นลำดับทำให้เกิดวัสดุเหลือทิ้งโดยเฉพาะเปลือกและเมล็ดส้ม งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานซึ่งจะได้ข้อมูลที่เป็นแนวทางการใช้ประโยชน์จากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน รวมทั้งการวิจัยในระดับต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ

1.2.1 เพื่อเปรียบเทียบสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

## 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ 7 ชนิดได้แก่น้ำกลั่น, เอทานอล, เมทานอล, อะซีโตน, อะซีโตรโนไทรล์, คลอโรฟอร์มและเอทิลอะซีเตต โดยดัดแปลงจากวิธีของAlonsoและคณะ (2002) ซึ่งมีหลักการดังนี้ คือ สารประกอบโพลีฟีนอลจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu ให้สารประกอบที่มีสีน้ำเงิน ดังนั้น การหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในตัวอย่างที่วิเคราะห์ สามารถทำได้โดยการวัดปริมาณของสารประกอบสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นโดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร และใช้กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐานและเปรียบเทียบสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานดังกล่าวซึ่งการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยใช้ 2 วิธี คือ วิธีที่ 1 จะอาศัยการติดตามความ สามารถของตัวอย่างสารสกัดในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระของ 2,2-azino-di(3-ethylbenzthiazoline sulfonate) หรือ ABTS<sup>•+</sup> ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่ทำให้สารละลายมีสีน้ำเงินแกมเขียวและดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร ดังนั้น ถ้าสารตัวอย่างมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระของสารดังกล่าวได้ดีจะทำให้อัตราการเกิดสีน้ำเงินแกมเขียวของสารละลายปฏิกิริยาช้า ซึ่งแสดงว่าสารนั้นมีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี ( Landrault *et al.*, 2001 ) วิธีที่ 2 จะ

อาศัยการติดตามความสามารถของตัวอย่างสารสกัดในการทำลายอนุมูลอิสระของ DPPH ซึ่ง เป็นอนุมูลอิสระที่ทำให้สารละลายมีสีม่วงและสามารถดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร (Parejo *et al.*, 2002) โดยจะเปรียบเทียบกับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมาตรฐาน 3 ชนิด คือโพรพิลแกลเลต , วิตามินซีและโทรอกซ์ และจากนั้นจะทำการเปรียบเทียบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดในรูปของปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลเท่า ๆ กันคืออยู่ในช่วง 30 – 40 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก โดยใช้วิธีทดสอบอนุมูลอิสระ DPPH