บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

ปัจจุบันนี้อาหาร มีสารอนุมูลอิสระเป็นจำนวนมาก เช่น อาหารทอด อาหารปิ้ง ย่าง อาหารที่ปนเปื้อนด้วยสารเคมี สารฆ่าแมลง สารฟอกสี เป็นต้น ซึ่งอาหารและสารเหล่านี้เป็นสาเหตุทำให้เกิดภาวะเจ็บป่วยและโรคเรื้อรัง เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ หลอดเลือดอุดตันเป็นต้น ดังนั้นถ้าต้องการชะลอความชรา ต้านทานภาวะผิดปกติจากสารพิษในสิ่งแวดล้อม หยุดยั้งการเกิดโรคต่างๆ ดังที่กล่าวข้างต้นเนื่องจากสารก่ออนุมูลอิสระ ควรบริโภคอาหารและผลิตภัณฑ์โดยเฉพาะผักและผลไม้อย่างถูกต้องและมีคุณภาพ ควรได้รับสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ในงานวิจัยนี้จึงเห็นประโยชน์ของส้มโอเนื่องจาก ส้มโอเป็นผลไม้ที่อุดมด้วยวิตามินซี (Vitamin C) สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant Activity) เพคตินไฟเบอร์ (Pectin fiber) ไลโคปีน (Lycopene), ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และลิโมนอยด์ (Limonoids) ซึ่งฟลาโวนอยด์ที่พบในพืชตระกูลส้มที่สำคัญมี 2 กลุ่ม คือ โพลีเมทอกซีเลทเท็ต ฟลาโวน (Polymethoxylated Flavones) และไกลโคซิ-เลทเท็ต ฟลาวาโนน (Glycosylated Flavanones) (Bocco et al.,1998) นอกจากนี้มีการค้นพบว่าสารประกอบฟลาโวนอยด์จากพืชตระกูลส้มมีสมบัติในสารต้านโรคมะเร็งยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และไวรัส บรรเทาอาการอักเสบของเนื้อเยื่อ (Anti inflamatory) รวมทั้งมีผลต่อความแข็งแรงของหลอดเลือด Capillary Fragility) และการยับยั้งการแข็งตัวของเกร็ดเลือด (Platelet Aggregation) (Montanari et al., 1997) ความสามารถของสารประกอบฟลาโวนอยด์ช่วยในการป้องกันการเกิดโรคต่างๆดังกล่าวข้างต้น เป็นผลมาจากการที่สารประกอบดังกล่าวมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและ/หรือเป็นสารที่ออกฤทธิ์ด้วยกลไกอื่นๆในการป้องกันการเกิดโรคดังกล่าว (Benavente-Garcia et al., 1997)

ประเทศไทยเป็นแหล่งเพาะปลูกส้มโอที่หลากหลายสายพันธุ์ ที่มีศักยภาพในการใช้รักษาโรคต่างๆ อันเนื่องมาจากเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระได้ดี จึงทำให้น่าสนใจในการหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบกับยังไม่มีรายงานการศึกษาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในส่วนต่างๆของส้มโอ ดังนั้นการศึกษานี้จึงมุ้งเน้นทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส้มโอในส่วนต่างๆของส้มโอ และเป็นข้อมูลที่เป็นแนวทางการใช้ประโยชน์จากส่วนต่างๆ ของส้มโอ รวมทั้งการวิจัยต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาถึงปริมาณต่างๆ ของสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเนื้อเยื่อผลส้มโอ ได้แก่ เปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และเมล็ด ของ

ส้มโอทั้ง 7 พันธุ์ ที่ปลูกเป็นการค้า ว่าสารประกอบโพลีฟีนอลเป็นสารหลักที่แสดงระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลส้มโอหรือไม่

2. เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นจากการศึกษาปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอล และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในส้มโอ 7 สายพันธุ์ มาเป็นข้อมูลประกอบในการคัดเลือกพันธุ์ส้มโอที่เหมาะสมต่อการนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ด้านอาหาร อาหารเสริมสุขภาพ เครื่องสำอางและยาที่ให้สารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด

ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาถึงความสามารถการกระจายตัวของปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และเมล็ด ของส้มโอแต่ละสายพันธุ์ จำนวน 7 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง พันธุ์ทองดี พันธุ์ขาวแป้น พันธุ์ขาวใหญ่ พันธุ์ท่าข่อย พันธุ์ปัตตาวี และพันธุ์ขาวแตงกวา นำมาสกัดด้วยร้อยละ 95 เอทานอล เพื่อศึกษาถึงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด โดยสารประกอบโพลีฟีนอลจทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu ให้สารประกอบที่มีสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นหลังจากนั้นทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโน-เมตร โดยใช้กรดแกลลิค (gallic acid) เป็นสารมาตรฐานและศึกษาสมบัติการต้านปฏิกิริยาอนุมูลอิสระของสารสกัด ซึ่งจะได้ข้อมูลที่เป็นแนวทางการใช้ประโยชน์จากเปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และเมล็ดของส้มโอ และเป็นแนวทางในการคัดเลือกสายพันธุ์ส้มโอที่มีปริมาณการต้านปฏิกิริยาอนุมูลอิสระมากที่สุดในการพัฒนาผลิตภัณฑ์หรือการวิจัยระดับต่อไป

คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย

สารต้านอนุมูลอิสระ ส้มโอ สายพันธุ์ DPPH FRAP

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ผลที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัยในเชิงวิชาการ

1.1 ผลผลิตของงานวิจัยครั้งนี้ทำให้ทราบถึงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระส่วนต่างๆ ได้แก่ เปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และ เมล็ด ของส้มโอ 7 พันธุ์ (พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง พันธุ์ทองดี พันธุ์ขาวแป้น พันธุ์ขาวใหญ่ พันธุ์ท่าข่อย พันธุ์ปัตตาวี และพันธุ์ขาวแตงกวา) เพื่อสามารถนำความรู้จากการศึกษามาเป็นข้อมูลประกอบการคัดเลือกพันธุ์ส้มโอที่เหมาะสมต่อการนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่ให้สารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด และสามารถนำข้อมูลไปนำเสนอผลงานทางวิชาการในที่ประชุมวิชาการที่เกี่ยวข้อง และหรือตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการต่างๆ วารสารทางการเกษตร เป็นต้น

2.2 สามารถนำข้อมูลไปถ่ายทอดในด้านการเรียนการสอนและบูรณาการกับการเรียนการสอนในรายวิชาอาหารและโภชนาการ เคมีอาหาร และหลักการวิเคราะห์อาหารของนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารและเทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร

2. ผลที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัยในเชิงพาณิชย์และสังคม

2.1 ข้อมูลจากการทดลองจะเป็นประโยชน์แก่มหาวิทยาลัยต่างๆ กรมส่งเสริมการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เพื่อประชาสัมพันธ์และถ่ายทอดแก่เกษตรกร และผู้สนใจทั่วไป

2.2 เกษตรกรสามารถนำเทคโนโลยีที่ได้รับไปแปรรูปผลผลิตในท้องถิ่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ และสามารถพึ่งตนเองได้อย่างยั่งยืน

2.3 เป็นการเพิ่มขีดความสามารถการใช้ประโยชน์จากส่วนต่างๆ ของผลส้มโอ และเป็นการเพิ่มองค์ความรู้ในการเป็นนวัตกรรมผลิตภัณฑ์จากเปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และเมล็ด ต่อไป

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ส้มโอ

ส้มโอ (Pummelo) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) วงศ์ Rutaceae ชื่อสามัญ Pomelo (Pummelos), Shaddock ชื่อพื้นเมืองไทยว่า ส้มโอ (เปรมปรี ณ สงขลา, 2527)

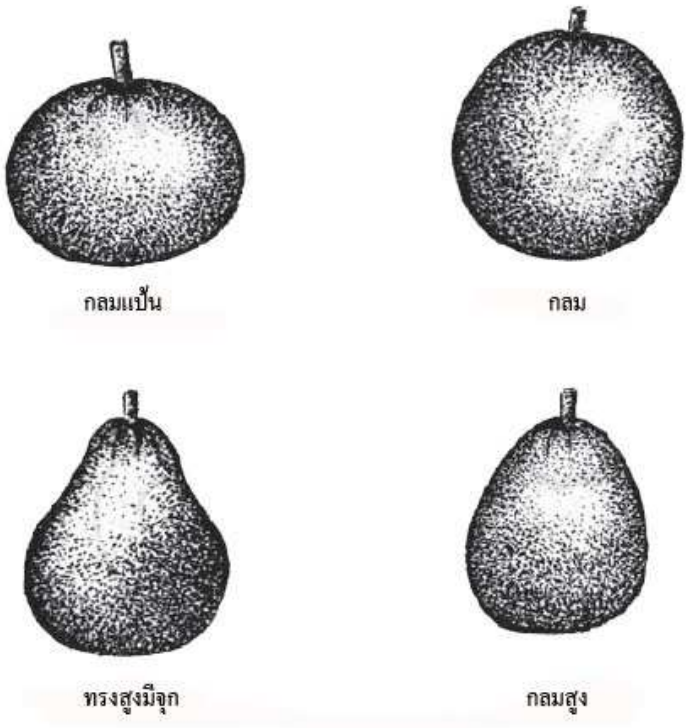
ส้มโอมีถิ่นกำเนิดในเกาะมลายูและหมู่เกาะโปลีนีเซีย ปัจจุบันแหล่งปลูกส้มโอที่สำคัญ ได้แก่ จีนตอนใต้ เวียดนาม มาเลเซีย ไต้หวัน ญี่ปุ่น ไทย อิสราเอล (เปรมปรี ณ สงขลา, 2527) สำหรับประเทศไทยแหล่งปลูกส้มโอที่สำคัญ ได้แก่ จังหวัดชุมพร นครศรีธรรมราช เชียงใหม่ เชียงราย สมุทรสงคราม ชัยนาท พิจิตร และนครปฐม ซึ่งแต่ละพันธุ์จะมีรสชาติและลักษณะแตกต่างกัน เช่น พันธุ์ทองดี ขาวน้ำผึ้ง ขาวหอม ขาวใหญ่ ขาวแตงกวา ขาวพวง ขาวแป้น ท่าข่อย และ หอมหาดใหญ่ (สมพร เกตุพงศ์, 2534)

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของส้มโอ

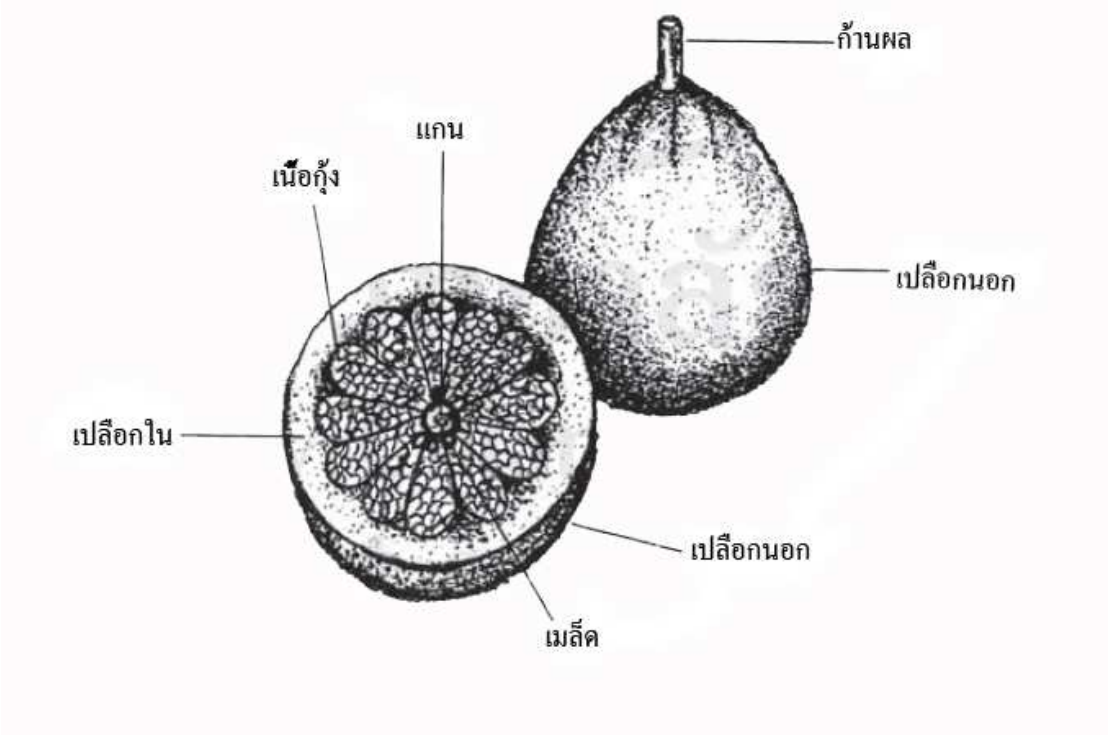
ส้มโอเป็นผลไม้ขนาดใหญ่ที่สุดในผลไม้ตระกูลส้ม ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus grandis Linn.* หรือ *Citrus maxima Merr*. อยู่ในวงศ์ Rutaceae และมีชื่อทางสามัญหลายชื่อเช่น Pummelo, Pomelo, Shaddock และ Barbados เป็นต้น ส้มโอมีลักษณะทางพฤกษาศาสตร์ดังนี้ (สมคิด เทียมรัศมี, 2548)

ส้มโอเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงขนาดกลาง ทรงต้นโปร่ง สูงประมาณ 6-15 เมตร ใบมีขนาดค่อนข้างใหญ่และหนา แผ่นใบมีรูปร่างเป็นโล่หรือคล้ายรูปไข่ สีของใบเป็นสีเขียวเข้มเป็นมัน ผลส้มโอมีขนาดค่อนข้างใหญ่ รูปทรงของผลมีหลายแบบเช่น กลมแป้น กลมมน และกลมสูง เป็นต้น บางพันธุ์มีจุกคล้ายผลสาลี่หรือผลฝรั่ง (ภาพที่ 2.1) มีขนาดของเส้นรอบวงด้านกว้างบริเวณกลางผลประมาณ 30-57 เซนติเมตร ผลขณะยังอ่อนจะมีสีเขียว เมื่อผลสุกจะมีสีเหลือง

ส้มโอมีส่วนประกอบคล้ายผลไม้ตระกูลส้มทั่วไป (เช่น มะนาว ส้ม เกรฟฟรุต) ประกอบด้วย 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนชั้นนอกสุดที่เรียกว่าเปลือกชั้นนอก (Flavedo) เป็นส่วนของเปลือกที่มีสีเขียวประกอบด้วยเซลล์สารคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ นอกจากนี้ยังมีน้ำมันหอมระเหยบริเวณชั้น Epicarp ส่วนที่สองคือส่วนชั้นกลาง เรียกว่าเปลือกชั้นใน (Albedo) มีสีขาวประกอบด้วย Spongy tissue ของเซลล์ Parenchyma ขนาดใหญ่ ส่วนใหญ่ประกอบด้วยเพคตินและเฮมิเซลลูโลส และเนื้อเยื่อ (Endocarp) เป็นส่วนที่รับประทานได้ มีลักษณะเป็นกลีบ มีอยู่ประมาณ 9-13 กลีบต่อผล ภายในกลีบประกอบด้วยเนื้อเยื่อหรือถุงบรรจุน้ำเป็นจำนวนมาก (Ting & Rouseff, 1986) ส่วนประกอบและภาพตัดขวางของผลส้มโอ แสดงดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.1 ลักษณะรูปทรงผลของส้มโอ
ที่มา: สมคิด เทียมรัศมี (2548)



ภาพที่ 2.2 ส่วนประกอบและภาพตัดขวางของผลส้มโอ
ที่มา: สมคิด เทียมรัศมี (2548)

2. เปลือกส้มโอ (Pomelo peel)

เปลือกส้มโอ เป็นส่วนที่หุ้มเนื้อในของผลส้มโอ ลักษณะของเปลือกจะหนาและเกาะติดเนื้อแกนกลางต้น โดยทั่วไปลักษณะ ความหนาของเปลือกแตกต่างกันไปตามพันธุ์ ซึ่งส่วนของเปลือกส้มโอ สามารถแบ่งออกเป็น 3 ชั้น ดังภาพที่ 2.3 (พร จันทร์ด่านกลาง, 2535)

2.1 ชั้นนอกสุด (Exocarp)

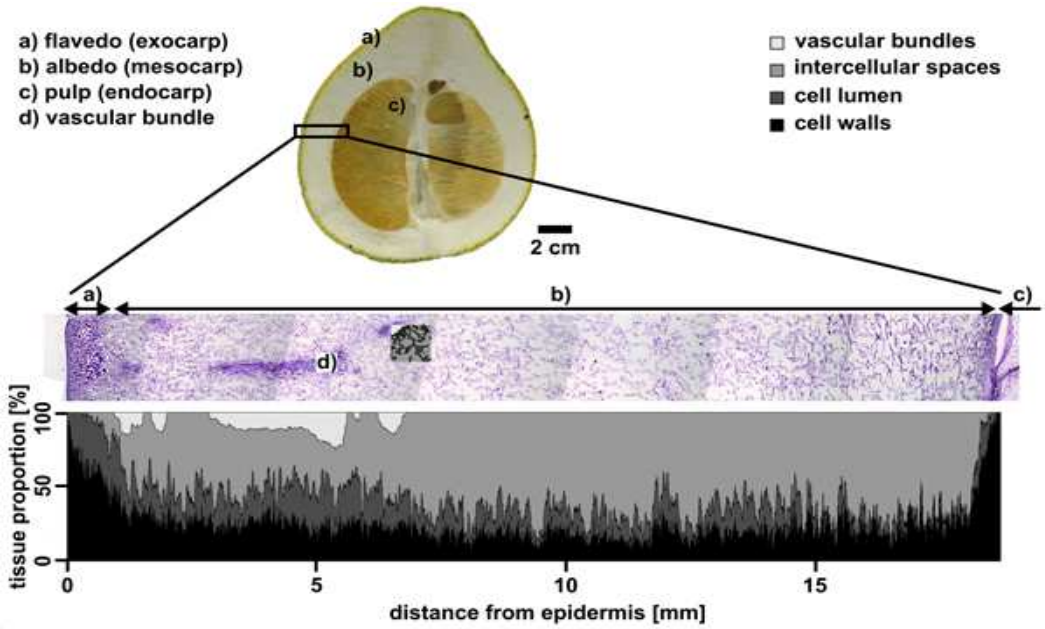
เปลือกชั้นนอกสุดบางกว่าเปลือกชั้นกลาง ประกอบไปด้วยส่วน ที่เป็นสีของเปลือก หรือเรียกว่า Flavedo ประกอบด้วยเซลล์จำนวนมากที่มีแคโรทีนอยด์เป็นองค์ประกอบในส่วนนี้จะมีน้ำมันหอมระเหยสะสมอยู่

2.2 เปลือกชั้นกลาง (Mesocarp)

เปลือกชั้นกลางมีสีขาว หนา และอ่อนนุ่ม ซึ่งในเปลือกของส้มโอมีทั้งเส้นใย เพคติน และสารพวกเมือก รวมถึงวิตามินและเอนไซม์ มีความหนาประมาณ 1-3 เซนติเมตร

2.3 เปลือกชั้นในสุด (Endocarp)

เปลือกชั้นในสุด มีลักษณะเป็นเยื่อโปร่งใสหุ้มอยู่ที่กลีบของเนื้อส้มโอ



ภาพที่ 2.3 ส่วนของเปลือกส้มโอ และเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้อง
ที่มา: Grolms (2011)

3. สายพันธุ์ส้มโอ

พันธุ์ส้มโอที่ปลูกในประเทศไทยมีอยู่หลายพันธุ์ บางพันธุ์มีลักษณะใกล้เคียงกันแต่ปลูกคนละจังหวัด จึงเรียกชื่อแตกต่างกันไป โดยพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีดังนี้
(สมคิด เทียมรัศมี, 2548)

3.1 พันธุ์ขาวทองดี หรือ ทองดี

ผลมีขนาดใหญ่ปานกลาง น้ำหนักผลประมาณ 940-1,060 กรัม เป็นทรงกลมแป้น ไม่มีจุก เส้นผ่าเส้นศูนย์กลางผลประมาณ 14-16 เซนติเมตร หัวมีจีบเล็กน้อยผิวผลเรียนมีสีเขียว เปลือกค่อนข้างบาง สีของเปลือกใน ผนังกลีบและเนื้อมีสีชมพูอ่อน มีรสหวาน แหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ จังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร และราชบุรี

3.2 พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง

ผลมีขนาดค่อนข้างใหญ่ น้ำหนักผลเฉลี่ย 1,800 กรัม ทรงผลกลม มีจุกแต่เห็นไม่ชัดเจนเหมือนพันธุ์ขาวพวง เส้นผ่าศูนย์กลางผลประมาณ 17 เซนติเมตร ผิวผลเรียบมีสีเขียวเข้ม เปลือกค่อนข้างหนา สีของเปลือกในและผนังกลีบมีสีขาว เนื้อมีสีเหลืองอมน้ำตามหรือสีน้ำผึ้ง มีรสหวานอมเปรี้ยว แหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ จังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร

3.3 พันธุ์ขาวใหญ่

ผลมีขนาดใหญ่ น้ำหนักผลประมาณ 1,200-2,300 กรัม ทรงผลกลมสูง มีจุกเส้นผ่าศูนย์กลางผลประมาณ 14 – 19 เซนติเมตร ผิวผลเรียบมีสีเขียวอมเหลือง เปลือกหนาปานกลาง สีของเปลือกในและผนังกลีบมีสีขาว เนื้อมีสีขาวอมเหลือง มีรสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อยแหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ จังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร สมุทรสงคราม และเชียงใหม่

3.4 พันธุ์ขาวแป้น

ผลมีขนาดใหญ่ปานกลาง ทรงผลกลมแป้นแต่ไม่แป้นเหมือนพันธุ์ทองดี ไม่มีจุก เส้นผ่าศูนย์กลางผลประมาณ 12-15 เซนติเมตร ผิวผลเรียบมีสีเหลืองอ่อนหรือเหลืองอมเขียว เปลือกหนา สีของเปลือกในและผนังกลีบมีสีขาว เนื้อมีสีขาวอมเหลือง มีรสหวานอมเปรี้ยว แหล่งปลูก แหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ จังหวัดนครปฐม และราชบุรี

3.5 พันธุ์ขาวแตงกวา

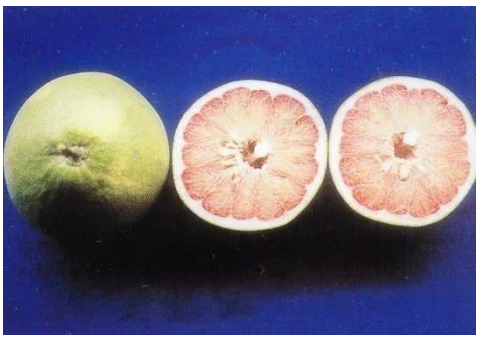
ผลมีขนาดใหญ่ปานกลาง น้ำหนักผลประมาณ 816-1,580 กรัม ทรงผลกลมแป้น ไม่มีจุก ก้นผลป้านจนถึงเว้าเล็กน้อย เส้นผ่าศูนย์กลางผลประมาณ 14-16 เซนติเมตร ผิวผลเรียบมีสีเขียว เปลือกหนา สีของเปลือกในผนังกลีบมีสีขาว เนื้อมีสีขาวอมเหลือง มีรสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย

3.6 พันธุ์ท่าข่อย

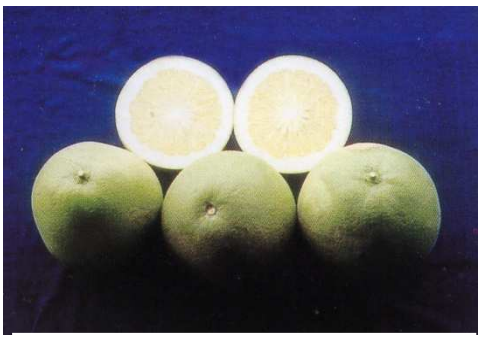
ผลมีขนาดใหญ่ ทรงผลกลมสูง ก้นผลเรียบจนถึงเว้าเล็กน้อย หัวมีจีบเล็กน้อย ไม่มีจุก เส้นผ่าศูนย์กลางผลประมาณ 15-18 เซนติเมตร ผิวผลเรียบมีสีค่อนข้างเหลือง เปลือกหนา สีของเปลือกในและผนังกลีบมีสีชมพู เนื้อมีสีชมพูอ่อน มีรสหวานอมเปรี้ยวและมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว แหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่จังหวัดพิจิตร และพิษณุโลกและเขตภาคเหนือ

3.7 พันธุ์ปัตตาเวีย

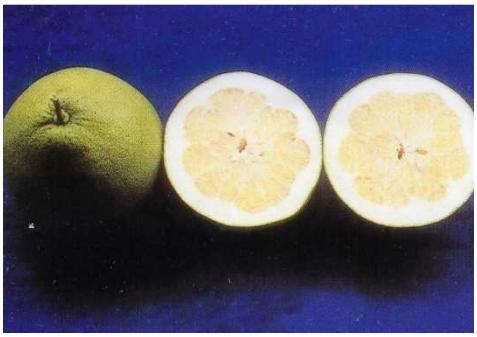
ผลมีขนาดใหญ่ปานกลาง ทรงผลกลมแป้น ก้นผลแบบเรียบ หัวมีจีบเล็กน้อย เส้นผ่าศูนย์กลางผลประมาณ 14-16 เซนติเมตร ผิวผลเรียบมีสีเขียวอมเหลือง เปลือกในค่อนข้างบางและมีสีขาว เนื้อมีสีขาวอมเหลืองถึงชมพูอ่อน มีรสจืด แหล่งปลูกที่สำคัญ ได้แก่ จังหวัดชุมพร สุราษฎานี นครศรีธรรมราช และสงขลา (ภาพที่ 2.4)



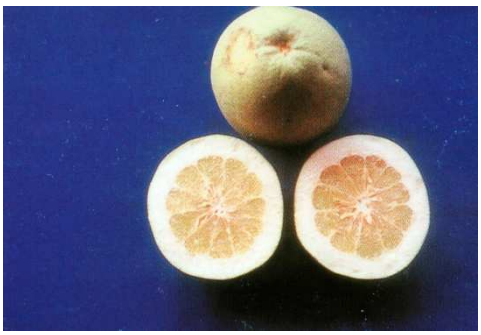
พันธุ์ทองดี



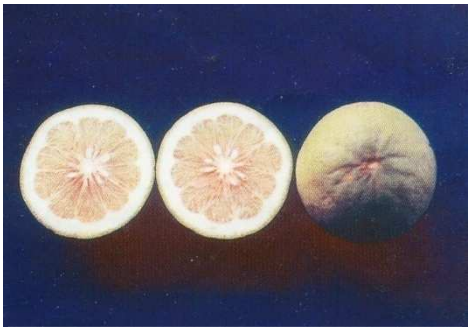
พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง



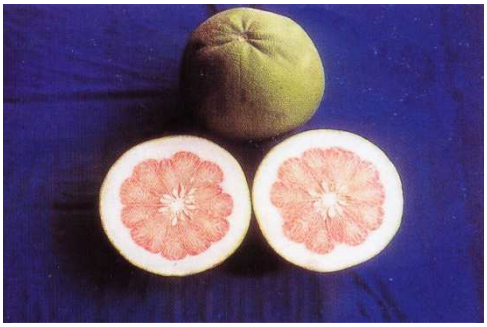
พันธุ์ขาวแตงกวา



พันธุ์ขาวใหญ่



พันธุ์ขาวแป้น



พันธุ์ท่าข่อย

พันธ์ปัตตาวี

ภาพที่ 2.4

ที่มา: Department of agriculture (2002)

4. สถานการณ์การปลูกและตลาดของส้มโอภายในและต่างประเทศ

ส้มโอเป็นผลไม้ตระกูลส้มที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากมีผู้นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ ส้มโอสามารถปลูกและเจริญเติบโต ได้ดีในทุกภูมิภาคของประเทศไทย โดยปลูกได้ในดินเกือบทุกชนิด ทั้งยังโตเร็วดูแลรักษาง่าย และให้ผลได้ตลอดทั้งปี ทำให้ส้มโอเป็นผลไม้ส่งออกที่สำคัญของประเทศ (สมคิด เทียมรัศมี, 2548) ซึ่งสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรได้ทำการเปรียบเทียบผลการผลิตและการค้าส้มโอทั้งประเทศในปี พ.ศ. 2550-2552 ดังตารางที่ 2.1 และ 2.2

ตารางที่ 2.1 ปริมาณการผลิตส้มโอทั้งประเทศปี พ.ศ. 2550-2552

รายการ	ปี พ.ศ.		
	พ.ศ. 2550	พ.ศ. 2551	พ.ศ. 2552
1. จำนวนครัวเรือน	65,638	65,579	65,455
2. เนื้อที่ให้ผล(ไร่)	200,965	203,123	200,987
3. ผลผลิต (ตัน)	308,079	320,122	305,500
4. ผลผลิตต่อไร่ (กิโลกรัม)	1,533	1,576	1,578
5. ต้นทุนการผลิต (บาท/ตัน)	6,036	6,728	6,756
6. ราคาที่เกษตรขาย (บาท/ตัน)	8,370	10.060	12.090

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2553)

ตารางที่ 2.2 ปริมาณการค้าส้มโอทั้งประเทศปี พ.ศ. 2550-2552

รายการ	ปี พ.ศ.		
	พ.ศ. 2550	พ.ศ. 2551	พ.ศ.2552
1. ส่วนแบ่งตลาดโลก (%)	0.89	1.05	1.08
2. ส่งขายในประเทศ (ตัน)	298,008	308,904	293,500
2. ส่งออกต่างประเทศ (ตัน)	10,071	11,218	12,000
4. มูลค่า (ล้านบาท)	119.95	109.23	100.00

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2553)

ตลาดของส้มโอมีทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ โดยตลาดภายในประเทศได้แก่ ตลาดท้องถิ่นในจังหวัดต่างๆ และตลาดขายส่งสี่มุมเมือง เป็นต้น ส่วนตลาดของส้มโอในต่างประเทศ ได้แก่ ประเทศฮ่องกง สิงคโปร์ มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย อเมริกา แคนาดา และในยุโรป ปัจจุบันตลาดต่างประเทศเริ่มขยายไปทางตะวันออกกลาง เช่น บาร์เรน ซาอุดิอาระเบีย คูเวต และโอมาน เป็นต้น (สมคิด เทียมรัศมี, 2548; สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2553)

สารอนุมูลอิสระ

ในยุคปัจจุบัน ผู้บริโภคได้ให้ความสำคัญต่อสุขภาพมากขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในเรื่องการบริโภค แนะนำให้บริโภคพืชผักสมุนไพรและผลไม้ให้มากขึ้นแทนการบริโภคเนื้อสัตว์และเป็นวิทยาการใหม่ๆ ได้ค้นพบว่าโรคหลายชนิดเกิดขึ้นเนื่องจากกระบวนการเสื่อมสลายของเซลล์และอวัยวะต่างๆ อันเนื่องจากปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ (Free radical) อนุมูลอิสระนี้สามารถเกิดขึ้นได้เองจากกระบวนการออกซิเดชันของสารประกอบอินทรีย์หลายชนิด เรียกว่า ออโตออกซิเดชัน (Auto oxidation) กระบวนการดังกล่าวที่เกิดขึ้นกับโมเลกุลของไขมันจะเรียกว่ากระบวนการออกซิเดชัน ลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation) การเกิดอนุมูลอนุมูลอิสระเริ่มต้นจากโมเลกุลที่เป็นสารตั้งต้นอาจได้รับความร้อน แสง หรือได้รับอิเล็กตรอนจากโมเลกุลที่เป็นสารรีดิวซิง (Reducing agent) เช่น ไอออนของเหล็ก (Fe^{2+}) หรืออาจเกิดจากปฏิกริยาของเอนไซม์บางชนิดที่กระตุ้นให้สารตั้งต้นเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระเนื่องจากอนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่ไม่คงตัว เมื่อเกิดขึ้นแล้วอนุมูลอิสระจะดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่น เพื่อให้เกิดความเสถียรมากขึ้น (นวลศรี รักอริยะ-ธรรม และอัญชนา เจนวิธีธรรม, 2545; Briante et al., 2002; Hauang et al., 2005)

อนุมูลอิสระ คือ กลุ่มของสารที่มีอิเล็กตรอนวงนอกที่ไม่ครบคู่มากกว่าหรือเท่ากับหนึ่งอิเล็กตรอน ทำให้โมเลกุลมีความไวสูงต่อปฏิกิริยา โดยสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลในเซลล์ของร่างกาย โดยทั่วไปอนุมูลอิสระจะเกิดขึ้นระหว่างการถ่ายเทอิเล็กตรอนจากโมเลกุลของออกซิเจนหรืออนุพันธุ์ของออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา (Reactive oxygen species, ROS) ไปยังโมเลกุลของน้ำ สารกลุ่ม ROS ที่สำคัญได้แก่ ไฮดรอกซิลแรดดิคอล (Hydroxyl radical, $O^{\circ}H$) ซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (Superoxide anion, $O^{\circ-}_2$) ไฮเดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide, H_2O_2) ไฮโปคลอรัส (Hypochlorous, HOCL) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีกลุ่มของสารที่เป็นอนุพันธ์ของไนโตรเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา (Reactive nitrogenspeies, RNS) ได้แก่ ไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide, NO°) และเปอร์ออกซีไนไตรท์ (Peroxynitrite, $ONOO^{-}$) เป็นต้น ทั้งกลุ่มของ POS และ RNS จัดเป็นแหล่งของอนุมูลอิสระที่สำคัญในเซลล์ของร่างกาย (นวลศรี รักอริยะธรรม และอัญชนา เจนวิธีธรรม, 2545; Lee & Hendricks, 1997; Lu & Fu, 2001)

ดังนั้น อนุมูลอิสระจึงมีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ เช่น ไขมัน คาร์โบไฮเดรท และกรดนิวคลีอิก เป็นต้น ซึ่งสารประกอบดังกล่าวมีหน้าที่สำคัญในกระบวนการเมตาบอลิซึม (Metabolism) ของเซลล์เมื่อทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระจะทำให้โมเลกุลนั้นสูญเสียหน้าที่ไป ดังนั้นปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระมีผลทำลายสมดุลของระบบต่างๆ ในร่างกาย เช่นทำลายหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้โปรตีนต่างๆ ในร่างกายไม่สามารถทำงานได้ตามปกติและที่สำคัญที่สุดคือ การที่อนุมูลอิสระดึงอิเล็กตรอนจาก DNA ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมที่สำคัญที่สำคัญโดยเป็นศูนย์รวมของกิจกรรมทุกอย่างในเซลล์ เมื่อ DNA ถูกทำลายหรือสูญเสียหน้าที่ไป ส่งผลทำให้เกิดเซลล์มะเร็งและเกิดพยาธิสภาพของโรคเรื้อรังต่างๆ ได้ (Chen et al., 1997; Madhavi et al., 1996; Matsufuji & Shibamoto, 2004)

โดยปกติร่างกายของมนุษย์มีระบบกำจัดหรือทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น และการกำจัดอนุมูลอิสระหรือในสภาวะที่ร่างกายขาดความสมดุลระหว่างปริมาณอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น และการ

กำจัดอนุมูลอิสระหรือในสภาวะที่ร่างกายไม่สามารถรักษาระดับของอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ ซึ่งเรียกสภาวะดังกล่าวว่า ออกซิเดทีฟ สเตรส (Oxidative stree) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ ได้ โรคต่างๆที่เกิดจากร่างกายมีปริมาณอนุมูลอิสระสะสมอยู่ในระดับสูง เช่น โรคมะเร็ง ไขข้ออักเสบ แก่ก่อนวัย หลอดเลือดหัวใจ ต้อกระจก อัลไซเมอร์ ระบบภูมิคุ้มกันทำงานผิดปกติ พาร์กินสัน ฯลฯ โรคต่างๆ เหล่านี้สามารถควบคุมได้โดยอาศัยสารต้านอนุมูลอิสระ หรือสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเป็นสารที่ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดกระบวนการสำคัญที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระและเกิดกระบวนการออกซิเดชันเป็นกระบวนการสำคัญที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระและเกิดผลเสียต่อเซลล์ (Kawaii et al., 1999)

สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วยสารที่มีโครงสร้างและหน้าที่แตกต่างกันเป็นจำนวนมาก จัดเป็นสารทุติยภูมิ (Secondary metabolism) ที่ได้จากกระบวนการ Shikimate pathway และ Phenylpropanoid metabolism โดยทั่วไปโครงสร้างประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติกอาจมีหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ หรือมากกว่า พบในผักและผลไม้เป็นส่วนใหญ่ บางกลุ่มจัดสารประกอบเหล่านี้ว่าเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลแต่ก็ไม่ถูกต้องเนื่องจากไม่ใช่ทั้งหมดที่เป็น Polyhydroxy derivatives เช่น กรดซินนามิก (Cinnamic acid) อีลีโนลิค (Elenolic) กรดชิคิมิก (Shikimic acid) และกรดควินิก (Quinic acid)

สารประกอบฟีนอลิกมีความสำคัญมาก คือ มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการแข็งตัวของเกล็ดเลือด ต่อต้านอาการอับเสบและบวม รักษาแผลในกระเพาะอาหาร ต่อต้านอาการแพ้จากการหลั่งของสารฮีสตามีน ยังยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เป็นต้น (Middleton & Kandawami, 1994)

ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

1. พันธุ์ผลไม้ (Variety) ผลไม้แต่ละชนิดประกอบด้วยสารฟินอลิกที่แตกต่างกันไปทั้งชนิดและปริมาณ เช่น ส้มมีเฮสเปอริดิน (Hesperidin) และนาริรูทิน (Narirutin)สูง แอปเปิ้ลมีคลอโรจีนิก (Chlorogenic acid)สูง ขณะที่ผลเชอรีมีแอนโธไซยานิน (Anthocyyanin) สูง ลูกพลัมมีแทนนิน (Tannin) สูง พืชมีโพรไซยานิดิน (Procyanidin) สูง เป็นต้น ส้มยังจัดเป็นผลไม้ที่ประกอบด้วยฟลาโวโนน (Flavanone) เป็นจำนวนมาก ส่วนใหญ่ได้แก่ เฮสเปอริดินและนาริรูทิน (Albach & Redman, 1969) นอกจากนั้นยังพบอนุพันธุ์ของกรดไฮดรอกซินนะมิก (Hydroxycinnamic acid) และโพลีเมทธอกซีฟลาโวน (Polymethoxyflavone) เช่น โนบิเลติน (Nobiletin) แทงเจอเลติน (Tangeretin) ซินเนนซิติน (Sinensetin) เป็นต้น (Park et al., 1983) สารประกอบฟีนอลิกดังกล่าวมีความสำคัญในการพัฒนาสี กลิ่น รสในผลไม้ Kawaii et al. (1999) กล่าวว่าพืชตระกูลส้มพันธุ์ต่างๆ มีค่าชนิดและปริมาณของฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างกัน

2. ปริมาณสารต้านอนุมูอิสระ (Qualtity) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด ถ้าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดสูง ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระก็จะสูงเช่นกัน (Arena et al., 2001)

3. ชนิดของเนื้อเยื่อ (Type of tissue) ภายในเนื้อเยื่อของผลไม้มีสารประกอบฟินอลิกที่กระจายตัวไม่สม่ำเสมอ เช่น ในระดับเนื้อเยื่อ (Tissue level) มีฟินอลิค กระจายอยู่ตำแหน่ง ชั้นอีพิเดอมีส (*Epidermis*) เป็นผิวชั้นนอกสุด และ Subepidsermal layer ในขณะที่ในระดับเซลล์ชั้นซับเซลลูล่า (Subcellular level) มีฟินอลิคอยู่ที่ผนังเซลล์และที่แวคิวโอล (Macheix et al., 1990) และส่วนต่างๆ ของผลไม้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณที่ไม่เท่ากัน พบว่าส่วนเปลือกของพืชตระกูลส้มมีมากกว่าส่วนผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เช่น กรดเฟอรูลิก (Ferulic acid) กรดซินนะพิก (Sinapic acid) กรดพารา-คูมาลิก (p-coumaric acid) และกรดแคฟเฟอิก (Caffeic acid) พบในเปลือกมากกว่าในผล โดยสารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่อยู่ในรูปเชื่อมต่อกับสารอื่น (Bound form) เช่น น้ำตาล กรดอินทรีย์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Tanizawa et al. (1992) พบว่า เปลือกของผลไม้ตระกูลส้ม (Exocarp) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าส่วนของผล (sarcocarp) ในส่วนของผลพบว่า ส่วนที่เป็นของแข็งได้แก่ albedo layer segment และ membrane ปริมาณฟลาโวโนนมากกว่าในส่วนของน้ำ (Toma´s-Barbera´n & Clifford, 2000)

4. โลหะ (Metal) เช่น ทองแดง เหล็ก โลหะ เหล่านี้มีอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม สารเคมีที่ใช้ในการเกษตรและเครื่องมือต่างๆ ที่ใช้ในการแปรรูป นอกจากนี้ทองแดงถือเป็นปัจจัยหลักในการเร่งปฏิกิริยาทำให้สารประกอบฟีนอลิก (ในน้ำผลไม้) โดยเฉพาะทำให้สารลิวโคแอนโธไซยานิน (Leuecoanthocyanins) และอีพิคาเทชิน (Epicatechin) ลดลง และนำไปสู่การเกิดตกตะกอน นอกจากนี้เหล็กก็เป็นสาเหตุตัวหนึ่งที่ทำปฏิกริยากับสารประกอบฟีนอลิกทำให้เกิดเป็นสีน้ำตาลแต่ไม่มากกว่าทองแดง (Robard et al., 1999)

สารประกอบโพลีฟีนอล

สารประกอบโพลีฟีนอลแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) และนอนฟลาโวนอยด์ (Non-Falvonoids)

ฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ฟลาโวน (Flavonone) ไอโซฟลาโวน (Isoflavone) ฟลาโวนอล (Flavonol) ฟลาวาโนน (Flavanone) ฟลาวาโนนอล (Flavanonol) ฟลาวานอล (Flavonol) ลูโคแอนไซยานิน (lucoanthocyanin) แอนไซยานิน (Anthocynin) ซาลโคน (Chalcone) ออโรน (Aurone) ไดไฮโดรซาลโคน (Dihydrochalcone) และแซนโธน (Xanthone)

นอนฟลาโวนอยด์ เช่น สติลบิเนส (Stibinase) กรดแกลลิค (gallic acid) ไฮดรอก-ซิซินนาเมต (Hydroxycinnamate) (Burns et al., 2000)

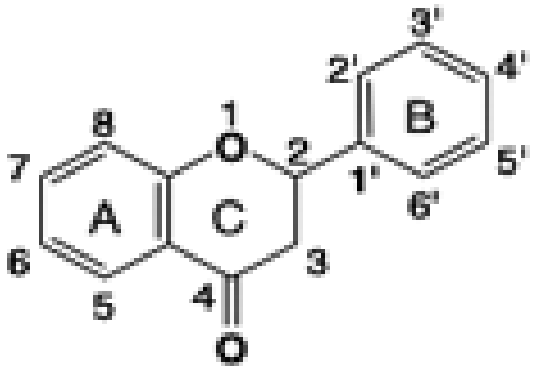
ฟลาโวนอยด์

ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบโพลีฟีนอลที่พบมากในพืชชั้นสูง ทั้งราก ลำต้น ดอก ผล และเมล็ด เปลือก ก้านดอก และละอองเกศรดอกไม้ ในขณะที่ Citrus flavonoids เป็นฟลาโวนอยด์ที่พบในพืชตระกูลส้มซึ่งมีมากกว่า 60 ชนิด

สารฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งตามโครงสร้างได้เป็น 6 กลุ่มคือ ฟลาโวโนน (Flavanones) ฟลาโวน (Flavones) ฟลาโวนอล (Flavonols) คาเตชิน (Catechins) ไอโซฟลาโวน (Isoflavones) และแอนโทไซยานิน (Anthocyanidins) (Kanaze et al., 2004)

ฟลาโวโนน (Flavanones)

ฟลาโวโนน มีสูตรโครงสร้างคล้ายฟลาโวน แต่พันธะระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 เป็นพันธะเดี่ยว ฟลาวาโนน เป็นสารฟลาโวนอยด์ที่พบมากในพืชตระกูลส้ม พบมากในส่วนของเปลือกมากว่าในน้ำ สารฟลาโวโนนมีความจำเพาะต่อพันธุ์ของพืชตระกูลส้ม ซึ่งความจำเพาะนี้จะใช้ในการแยกน้ำส้มสดและผลิตภัณฑ์น้ำส้ม เช่น ฟลาโวโนนไกลโคไซด์ในส้ม คือ เฮสเพอร์ริดีน (Hesperidin) นาริรูทิน (Narirutin) ส่วนในผลเกรฟรุตมักพบ นาริงจิน (Naringin) และนาริรูทิน (Narirutin) นอกจากนี้ที่ pH ที่มีฤทธิ์เป็นด่าง วงแหวนของเฮสเพอร์ริดีน (Hesperidin) จะเปิดออกเพื่อให้เกิดสารชาลโคล (Chalcone) (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545)

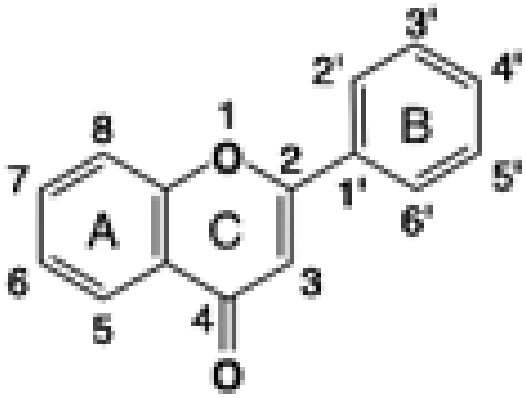


ภาพที่ 2.5 โครงสร้างสาร Flavanones
ที่มา: Tripoli et al. (2007)

ฟลาโวน (Flavones)

ฟลาโวน (Flavones) หรือ 2-ฟีนิเบนโซไพโรน(2-penylbenzopyrone) ในโมเลกุลมีพันธะคาร์บอนในตำแหน่งที่ 2 และ 3 ฟลาโวนเป็นสารประกอบที่ไม่มีสี ตัวอย่างเช่น อะจิพินีน (agipenpnin) ลูเตโอลิน (Luteolin) และไตรเซติน (Tricetin) (นิติยา รัตนาปนนท์, 2545) ฟลาโวนที่พบในความเข้มข้นต่ำ เช่น พริกแดง และฟลาโวนส่วนใหญ่ไม่พบในผลไม้ มักพบมากในเมล็ด และพืชสมุนไพร อะจิพินีนและอะจิพินีนไกลโคไซด์พบมากในเมล็ดของธัญพืช และผักบางชนิด

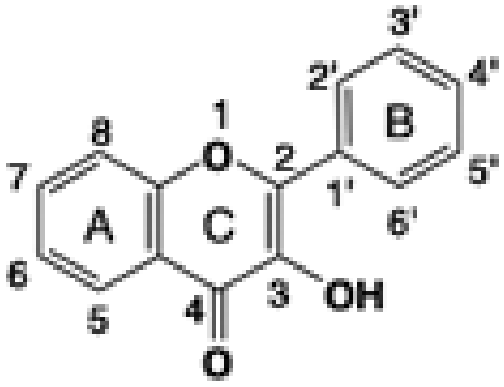
สารฟลาโวนสามารถให้สีในพืชเมื่อมีความเข้มข้นสูง หรือเมื่ออยู่กับโลหะ สารฟลาโวนบางชนิดให้รสขมในพืชตระกูลส้มเช่น สาร Nobiletin, Sinensetin และ Tangertin และบางชนิดช่วยลดความขม เช่น Neodinosmin และ Rhoifolin (Petterson & Dwyer, 1998)



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างสาร Flavones
ที่มา: Tripoli et al. (2007)

ฟลาโวนอล (Flavonols)

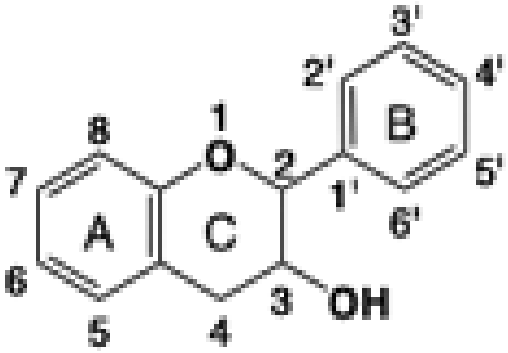
ฟลาโวนอลเกิดจากสารประกอบฟลาโวนที่มีการแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซิลเพิ่มขึ้นในตำแหน่งที่ 3 เช่น เคอร์ซิติน (Querecetin) แคมพ์ฟีรอล (Kaempferol) และไมริซิดีน (Myricetin) (นิติยา รัตนาปนนท์, 2545) เคอร์ซิตินพบมากในผัก โดยเฉพาะในหัวหอม ชา และแอปเปิ้ล เคอร์ซิทินที่พบตามธรรมชาติอยู่ในรูปของไกลโคไซด์ โดยในแอปเปิ้ลพบอยู่ในรูปของกาแลคโตไซด์ ในผลไม้เบอร์รี่พบอยู่ในรูปของอราบิโนไซด์ (Erlund, 2004) ฮอพสดมีสารเคอร์ซิทิน 700 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และสารแคมพ์ฟีรอล 550 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อยู่ในรูปของไกลโคไซด์ (Petterson & Dwyer, 1998)



ภาพที่ 2.7 โครงสร้างสาร Flavonoles
ที่มา: Tripoli et al. (2007)

คาเตชิน (Catechin)

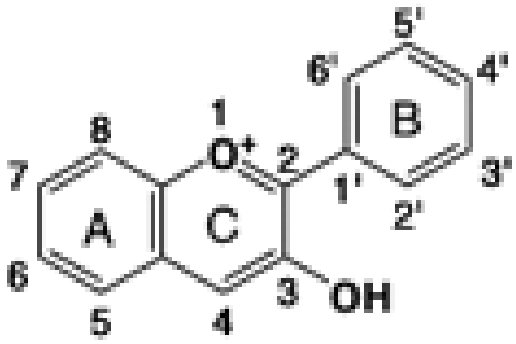
คาเตชินเป็นฟลาโวนอยด์ที่พบในชา สามารถแยกได้ 8 ชนิด คือ (-)-epigallocatechin 3-gallate (EGCG), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epicatechin 3-gallate (ECG), (-)-epicatechin (EC), (+)-gallocatechin (GC), catechin (C), (catechingallate (CG) และ gallocatechin gallate (GCG) (Tripoli et al., 2007)



ภาพที่ 2.8 โครงสร้างสาร Catechins
ที่มา: Tripoli et al. (2007)

แอนโทไซยานิน (Antocyanidins)

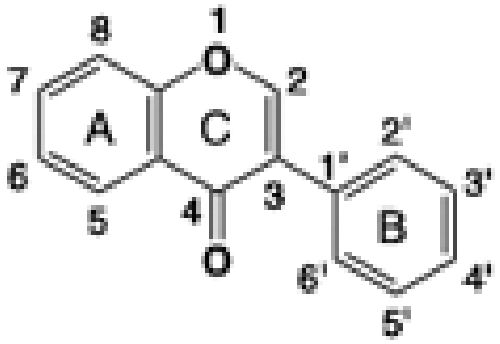
แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุจากพืชที่สามารถละลายน้ำได้ และเป็นสารที่ให้สีของดอกไม้ ผลไม้ และพืชชั้นสูง ซึ่งได้มีการพัฒนาสีของไวน์แดงเนื่องจากสามารถรวมตัวกับสารฟลาโวนอยด์อื่นๆ เกิดเป็นโพลีเมอริค พิกเมนท์ (Polymeric pigment) ได้ นอกจากนี้สารแอนโทไซยานินที่มีสีฟ้า และสีแดง พบในเบอร์รี่ เชอร์รี่ กะหล่ำปลีม่วง และพลัม ยังพบว่าสารแอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปที่รวมตัวกับสารอื่น เช่น รวมกับฟลาโวน โลหะ เช่น เหล็กหรือแม็กนีเซียมในดอกไม้ สีของแอนโทไซยานินจะขึ้นอยู่กับ pH โดย pH 3.5 จะมีสีแดง จากนั้นสีจะจางลงเมื่อ pH เพิ่มขึ้น จะเปลี่ยนเป็นสีฟ้า สารแอนโทไซยานินจะเพิ่มขึ้นเมื่อพืชเจริญเติบโต (Petterson & Dwyer, 1998)



ภาพที่ 2.9 โครงสร้างสาร Anthocyanidins
ที่มา: Tripoli et al. (2007)

ไอโซฟลาโวน (Isoflavones)

ไอโซฟลาโวน มีสูตรโครงสร้างเช่นเดียวกับฟลาโวน แต่วงแหวนฟีนิลอยู่ในตำแหน่งที่ 3 เป็น 3 –พีนิลแปนโซไพโรน (3-pyenylbenzopyrone)



ภาพที่ 2.10 โครงสร้างสาร Isoflavones
ที่มา: Tripoli et al. (2007)

ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณ ชนิด และสมบัติของฟลาโวนอยด์ในผลไม้ตระกูลส้ม

พันธุ์ผลไม้ (Varity)

พืชแต่ละชนิดมีปริมาณและชนิดของฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างกัน แม้ว่าจะเป็นพืชชนิดเดียวกัน แต่ต่างสายพันธุ์ก็มีปริมาณและชนิดของฟลาโวนอยด์ต่างกัน

ความแก่-อ่อน (Maturity)

ผลไม้ที่สุกจมีปริมาณฟลาโวนอยด์ลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณของ Naringin ใน Floroida juice ลดลงเมื่อผลไม้ผลไม้สุก ในขณะที่ปริมาณฟลาโวนอยด์ชนิดอื่นๆก็ลดลงด้วยเช่นกัน (Rouseff, 1980)

ความแตกต่างของอากาศและอุณหภูมิ (Climatic different)

ปริมาณเฮสเพอริดิน (Hepperidin) ใน Florida orange มีปริมาณสูงขึ้นในฤดูหนาว นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณนาริงจิน (Naringin) ในเกรฟฟรุต (Grapefruit) เพิ่มขึ้นหลังจากผ่านกระบวนการแช่แข็ง และเกรฟฟรุตที่ปลูกในแถบอากาศที่อบอุ่นมีปริมาณนาริงจินน้อยกว่าเกรฟฟรุตที่ปลูกในแถบอากาศเย็น (ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม และ วันทนีย์ ช้างน้อย, 2545)

กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระส่วนมากเป็นสารประกอบพวกฟีนอลิก (Phenolic Compound) ซึ่งพันธะ O-H ของฟีนอล จะเกิดการแตกหัก แบบเฮลิติค (Hymolytic) ให้อนุมูล

อิสระ เกิดปฏิกริยาได้เร็วถ้ามีตัวออกซิไดส์ เช่น $FeCl_3$, $K_3Fe(CN)_6$, PbO_2 และ MnO_2 อยู่ด้วยในสารละลายที่เป็นกลางหรือด่าง เช่น

$$PhO - H + Fe^{3+} \longrightarrow PhO^{O} + H^{+} + Fe^{3+}$$

อนุมูลฟีนอกซี (Phenoxy) มีความเสถียรภาพสูง เนื่องจากผลของเรโซแนนซ์ (resonance) ทำให้อิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ที่ตำแหน่งออร์โธ หรือ พารา อนุมูลอิสระประเภทนี้จะเกิดปฏิกริยาคู่ควบ (Coupling) ต่อได้ 2, 6 –Di-t-butyphenol

การรวมตัวของสารประกอบใดๆ กับออกซิเจนในอากาศเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (Chain reaction) ดังนั้นการเกิดปฏิกริยา Couping เป็นขั้นตอนสุดท้ายที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ได้ด้วยกลไกข้างต้น สารประกอบที่มีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกริยาออกซิเดชัน สามารถป้องกันไม่ให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน กับ ออกซิเจนในอากาศได้

การตรวจวัดสารที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ

ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง (2549) ได้กล่าวว่า โดยทั่วไปในการตรวจวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสามารถทำได้หลายวิธีแต่โดยส่วนใหญ่แล้วนิยมใช้วิธีดังต่อไปนี้ในการตรวจวิเคราะห์ได้แก่

การหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมทั้งหมด (Total phenolic compounds)

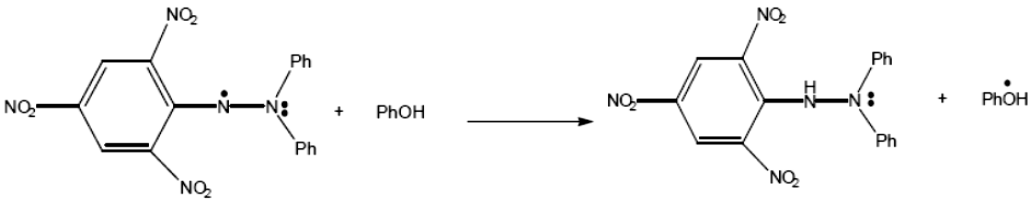
สารจำพวกฟีนอลิก (Phenolic compounds) เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่พบมากในพืชตัวอย่างของสารกลุ่มนี้ได้แก่ Flavonoids ที่มีแคทีคอล (Catechol) เป็นองค์ประกอบ สทิล บีน (Stilbenes), สารเทนนิน (Tannins) ซึ่งโครงสร้างหลักประกอบด้วยวงแหวน (Aromatic ring) แทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซี (Hydroxyl group) โดยมากเป็นสารที่มีขั้วละลายในตัวทำละลายจำพวกแอลกอฮอล์ (Alcohol) ได้ดี กลไกของสารจาพวกฟีนอลิกที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระคือเมื่อมีอนุมูลอิสระมาดึงอิเล็กตรอนไป แต่เนื่องจากในโครงสร้างของสารต้านอนุมูลอิสระมีอิเล็กตรอนที่หนาแน่นจึงสามารถเกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไปทั่วโครงสร้าง (Delocalization) มีผลทำให้โครงสร้างมีความเสถียรจึงไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระต่อไป โดยถ้าในโครงสร้างของสารฟีนอลิกมีความสามารถในการพันธะดีโลคัลไลซ์ (Delocalization) มากหรือมีคอนจูเกทของอิเล็กตรอนมากก็จะยิ่งช่วยเพิ่มความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้มาก

ในการทดสอบนั้นจะนำสารที่ต้องการทดสอบมาเติมสาร Folin-Ciocalteu reagent และตามด้วย Sodium carbonate จากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV Spectrophotometer จึงนำค่ามาคำนวณปริมาณฟีนอลิกรวมเฉลี่ยในรูปของมิลลิกรัมของ Gallic acid equivalents (GAE) เทียบกับ Standard curve ที่สร้างจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ในเมทานอลที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

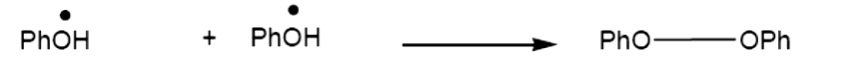
วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

หลักการคือสารที่ต้องการทดสอบมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะสามารถเปลี่ยนสีของอนุมูลอิสระ DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) ได้โดยกลไกนั้นจะเกิดจากการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH ของสารจำพวกฟีนอลิกโดยที่อนุมูลอิสระ DPPH ในรูปสารอนุมูลอิสระนั้นสารละลายจะมีสีม่วงเมื่อสารจำพวกฟีนอลิกให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH จะได้เป็นสาร DPPH ที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระต่อไป จะเห็นว่า DPPH นั้นจะกลายเป็นสีเหลืองนวล (ขั้นที่ 1) ส่วน Phenoxy radical ที่เกิดขึ้นจะจับกันทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระหมดไป (ขั้นที่ 2)



DPPH(purple) **Phendic compounds** **DPPH(yellow)**
Phenoxy radical

ภาพที่ 2.11 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ขั้นที่ 1 ของสารประกอบจำพวกฟีนอลิก
ที่มา : ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง (2549)



Phenoxy radical **Phenoxy radical** **Phenolic compounds**

ภาพที่ 2.12 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ขั้นที่ 2 ของสารประกอบจำพวกฟีนอลิก
ที่มา: ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง (2549)

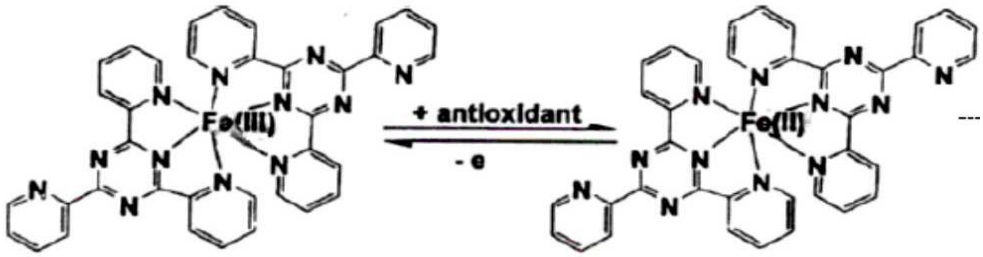
จากหลักการของกลไกดังกล่าวเมื่อทำการผสมสารทดสอบกับ DPPH แล้วจะนำไปเก็บไว้ในที่มืดและทำให้ละลายเข้ากันจากนั้นนำสารผสมระหว่าง DPPH กับสารที่ต้องการทดสอบนั้นไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรโดยจะใช้สารในการเปรียบเทียบคือ L-ascobic acid หรือ BHT (Butylatedhydroxyanisole) ให้เป็น Positive control นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณ % DPPH inhibition ได้จากสูตร

$$\% \text{ Remaining DPPH}^{\bullet} = \frac{\left[\text{Abs}_{\text{sample}} \right] \text{X100}}{\text{Abs}_{\text{control}}}$$

วิธีนี้มีข้อดีคือเป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็วง่ายต่อการวิเคราะห์ให้ความถูกต้องและมี ความแม่นยำในการวิเคราะห์สูง (Reproducibility)

วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

หลักการคือใช้ในการตรวจสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อน คือเมื่อสารประกอบเชิงซ้อน Ferric tripyridyltria -zine ($Fe3^{+-}$TPTZ) ได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชันแล้วจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน Ferrous tripyridyltriazine ($Fe2^{+-}$TPTZ) ที่มีสีม่วงน้ำเงินดังนี้



ภาพที่ 2.13 ปฏิกิริยาของ FRAP
ที่มา: ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง (2549)

วิธี FRAP สามารถติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยวัดค่า Absorbance ที่ 593 นาโนเมตร จากนั้นศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันในสารตัวอย่างโดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซีหรือ Trolox ผลที่ได้แสดงค่าเป็น Ascorbic acid equivalents (AAE)/มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งของสารสกัด

ข้อดีของวิธีนี้ก็คือเสียค่าใช้จ่ายน้อย สะดวกรวดเร็ว มีขั้นตอนในการทดลองไม่ยุ่งยากซับซ้อน

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชตระกูลส้ม

พืชตระกูลส้มเป็นพืชที่ประกอบด้วยสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ดังนั้นจึงมีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านสนใจที่จะศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระจากพืชตระกูลส้มและความเป็นไปได้ที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

ประพันธ์ และ วันทนีย์ (2545) ได้ทำการศึกษาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลและคุณสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดพืชตระกูลส้มที่ปลูกในประเทศไทย ได้แก่ ส้ม มะนาว ส้มโอ พบว่า เมล็ดส้มเขียวหวานมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลสูงที่สุด รองลงมา เมล็ดส้มฟรีมองต์ ส้มโชกุล ส้มสายน้ำผึ้ง ส้มโอขาวน้ำผึ้ง ส้มโอทองดี และมะนาว เมื่อ

เปรียบเทียบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี ABTS พบว่า สารสกัดจากเมล็ดส้มสายน้ำผึ้งมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมา เมล็ดส้มเขียวหวาน ส้มฟรีมองต์ ส้มโอทองดี มะนาว ส้มโชกุล และ ส้มสายน้ำผึ้ง

รุ่งทิวา วงค์ไพศาลฤทธิ์ (2549) ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดที่ได้จากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 7 ชนิดได้แก่ น้ำกลั่น เอธานอล เมธานอล อะซีโตน อะซีโตรไนไตรท์ คลอโรฟอร์มและเอทิลอะซีเตต พบว่าสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวาน นอกจากนี้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดที่ได้จากทั้งเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมากมีแนวโน้มสูงกว่าเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วน้อย จากนั้นเปรียบเทียบศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการวัดความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ DPPH พบว่า สารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้ง 2 ชนิดได้ดีกว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานสำหรับตัวทำละลายอินทรีย์ทุกชนิดที่ศึกษา นอกจากนี้ตัวอย่างสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงจะมีแนวโน้มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ DPPH สูงด้วย ($r = 0.82$ และ 0.98 ตามลำดับ)

จุฬนันท์ เกษรรัตน์ (2552) ทำการศึกษาชนิดและปริมาณสารฟลาโวโนน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของส้มเขียวหวานและผลิตภัณฑ์น้ำส้ม พบว่า สารโพลีฟีนอลในส้มโชกุนและส้มสายน้ำผึ้งไม่แตกต่างกันคืออยู่ในช่วง 21.78-37.30 มิลลิกรัม/100 มิลลิกรัม ผลิตภัณฑ์ทั้งสองมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อวิเคราะห์ด้วย DPPH คือ 22.27-67.6% และ วิเคราะห์ด้วย FRAP คือ 7.3-12.08 มิลลิกรัม/100 มิลลิกรัม

Bocco et al. (1998) ศึกษาสมบัติการต้านปฏิกริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดของพืชตระกูลส้มชนิดต่างๆ โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ 2 ชนิดในการสกัด ได้แก่ Methanol และ Acetate พบว่าสารสกัดจากเมล็ดมีสมบัติในการต้านปฏิกริยาออกซิเดชันดีกว่าสารสกัดจากเปลือก นอกจากนี้สายพันธุ์ของพืชตระกูลส้มที่ต่างกันจะให้สารสกัดจากเมล็ดและเปลือกที่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันแตกต่างกันด้วย สำหรับชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้นั้นมีผลต่อกลุ่มของสารประกอบ ที่ถูกสกัดออกมาแตกต่างกัน โดยที่สารสกัดที่ได้จากการใช้ Methanol มีองค์ประกอบของ Flavones และ Glycosylated flavanones เป็นส่วนใหญ่ในขณะที่ สารสกัดที่ได้จากการใช้ Ethyl Acetate มีองค์ประกอบเป็น Phenolic acid และ Flavonols

Jamilah et al. (1998) ศึกษาการใช้สารสกัดจากเปลือกมะกรูดในน้ำมันปาล์มโอลีนที่ใช้ทอด พบว่าการใช้สารสกัดที่ระดับ 2,000 ส่วนในล้านส่วน และสารบีทีเอชที 2,000 ส่วนในล้านส่วน เติมลงในน้ำมันปาล์มโอลีลีนที่ใช้ทอดข้าวเกรียบที่อุณหภูมิ 180 $^{\circ}C$ พบว่าสารสกัดจากเปลือกมะกรูดแสดงสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้อย่างมีประสิทธิภาพดี

Gorinstein et al. (2001) ศึกษาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล และสารประกอบอื่นๆ ที่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารสกัดที่ได้จากเปลือกและผลของพืชตระกูลส้มชนิดต่างๆ รวมทั้งความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบเหล่านั้น พบว่าในส่วนของเปลือกมีปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าส่วนของผล นอกจากนี้ สารสกัดจาก

เปลือกยังแสดงสมบัติการต้านปฏิกริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าสารสกัดจากผลของพืชตระกูลส้มทุกชนิดที่ใช้ในการทดลอง

กุลธิดา เทพรักษ์ (2552) ได้ทำการตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระในส้มโอ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ขาวแป้นและขาวใหญ่ โดยแต่ละสายพันธุ์แบ่งเป็น 3 ส่วน ได้แก่ เปลือกนอก เปลือกใน และเนื้อ พบว่า การต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH สารที่สกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนให้ เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิธีการกลั่นโดยต้มรวมกับน้ำ ในขณะที่เปลือกในของส้มโอมีเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระและคุณสมบัติด้านการรีดิวซ์เหล็กสูงกว่าเปลือกนอก และเนื้อ แต่มีสารประกอบฟีนอลิกน้อยกว่าเปลือกชั้นนอก เมื่อพิจารณาถึงพันธุ์ของส้มโอซึ่งมีผลต่อปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ คือ ส้มโอพันธุ์ขาวแป้นให้เปอร์เซ็นต์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าพันธุ์ขาวใหญ่ ในขณะที่ส้มโอขาวใหญ่มีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าพันธุ์ขาวแป้น

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบ

ส้มโอ (Pummelos) มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Citrus Grandis*, Osb ส้มโอที่ใช้ในการวิจัย มี 7 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง พันธุ์ทองดี พันธุ์ขาวแป้น พันธุ์ขาวใหญ่ พันธุ์ท่าข่อย พันธุ์ปัตตาวี และ พันธุ์ขาวแตงกวา ที่ปลูกเป็นการค้ามีอายุการเก็บเกี่ยว 8 เดือน

ส้มโอ (Pummelos) 7 สายพันธุ์ ดังนี้

พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง	แหล่งเพาะปลูก	อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม
พันธุ์ทองดี	แหล่งเพาะปลูก	อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม
พันธุ์ขาวแป้น	แหล่งเพาะปลูก	อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม
พันธุ์ขาวใหญ่	แหล่งเพาะปลูก	จังหวัดสมุทรสงคราม
พันธุ์ท่าข่อย	แหล่งเพาะปลูก	จังหวัดพิจิตร
พันธุ์ปัตตาวี	แหล่งเพาะปลูก	จังหวัดนครศรีธรรมราช
พันธุ์ขาวแตงกวา	แหล่งเพาะปลูก	จังหวัดชัยนาท

เครื่องมือ

เครื่องชั่งดิจิตอล 4 ตำแหน่ง	Precica 240-A Switzerland
เครื่อง pH meter	Suntex SP 701 Suntex instrument,Taiwan
เครื่องปั่นหมุนเหวี่ยง	Beckman, America
เครื่อง Freeze Dry	Heto medel LyoPro 3000, Denmark
เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	UV-1601 Shimadzu, Japan

สารเคมี

DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazayl)	Sigma-Aldrich, USA
L-Ascorbic acid (AR grade)	Fluka, Finland
Metaphosphoric acid (HPO_3)	Merck, German
Gallic acid	Sigma-Aldrich, USA
Folin – Ciocalteu	Merck, Germany
TPTZ (2, 4, 6- Tris (2-pyridyl)-s-triazine)	Fluka, USA
$FeCl_3.6H_2O$	Merck, Germany

Potassium fericyanide [$K_3Fe(cN)_6$]	Merck, Germany
Sodium acetate trihydrate	Merck, Germany
Glacial acetic acid	Merck, Germany
$Na_2PO_4.7H_2O$ (AR grade)	Merck, Germany
$Na_2PO_4.H_2O$ (AR grade)	Merck, Germany
Sodium Carbonate (AR grade)	AjaxFinechem, Australia
Hexane (AR grade)	Merck, Germany
Acetic acid (AR grade)	Merck, Germany
NaCl (AR grade)	Merck, Germany
Ethanol 95% (AR grade)	Merck, Germany
Sodium bicarbonate (Na_5HCO_3) (AR grade)	Merck, Germany
Trolox	Merck, Germany

สถานที่ดำเนินการ

หลักสูตรเทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร โรงเรียนการเรือน มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

วิธีการทดลอง

การทดลองดังกล่าวเป็นการศึกษาด้านวิจัยในห้องปฏิบัติการ โดยมีการวางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH และ FRAP) ในผลส้มโอ ได้แก่ เปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และ เมล็ด ของส้มโอทั้ง 7 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง ทองดี ขาวแป้น ขาวใหญ่ ท่าข่อย ปัตตาวี และ ขาวแตงกวา

การเตรียมตัวอย่าง

ผลส้มโอที่ใช้งานวิจัยมี 7 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง ทองดี ขาวแป้น ขาวใหญ่ ท่าข่อย ปัตตาวี และ ขาวแตงกวา ที่มีอายุการเก็บเกี่ยว 8 เดือน

นำผลส้มโอล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง ทำการแยกส่วนต่างๆ ได้แก่ เปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และ เมล็ด (ภาพที่ 3.1) โดยเปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และเมล็ด บดอย่างหยาบโดยใช้เครื่องบด (Blender) นำไปทำแห้งด้วยเครื่อง Freeze Dry ที่อุณหภูมิ -40°C จนแห้ง (ความชื้น < 10%) จากนั้นบดด้วยเครื่องบดผ่านรูตะแกรงขนาด 100 เมช เก็บตัวอย่างแห้งใส่ถุงสูญญากาศ เก็บที่ตู้แช่เข็งที่อุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

เปลือกชั้นนอก

เปลือกชั้นใน

เนื้อเยื่อ

เมล็ด

ภาพที่ 3.1 ส่วนต่างๆ ของผลส้มโอ
ที่มา: Pichaiyongvongdee (2010)

การเตรียมสารสกัดจากผลส้มโอ

นำเปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และ เมล็ด มาสกัดไขมันโดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายโดยใช้ชุดสกัดไขมัน (Soxtech) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการสกัดไขมันออกแล้วประมาณ 2 กรัม สกัดด้วย 95% เอทานอล 20 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่ (flask joint) ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 6,000 rpm เป็น 30 นาที ที่อุณหภูมิ 80 ^{O}C กรองสารสกัดส่วนใสที่ได้ด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 4 เก็บสารที่สกัดได้ไว้ในขวดสีชาโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -4 ^{O}C เพื่อนำไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์ต่อไป

การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด

สารประกอบโพลีฟีนอลทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocaltu ได้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน หาปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลในตัวอย่างด้วยการวัดปริมาณของสารสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรและใช้กรดแกลลิคเป็นสารมาตรฐาน (Singleton el.al., 1999)

การเตรียมสารมาตรฐานของกรดแกลลิค

กรดแกลลิคความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยละลายกรดแกลลิค 0.02 กรัมในเอทานอล ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรจากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานดังกล่าวใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 10 มิลลิลิตรขวดละ 0.05, 0.15, 0.20, 0.30 และ 0.35 มิลลิลิตรตามลำดับ เติมน้ำกลั่นปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้ปริมาตรกรดแกลลิคเท่ากับ 0, 20, 40, 60, 80, 90, 100 และ 120 ไมโครกรัมตามลำดับ

นำสารมาตรฐานทั้งหมดมาเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ขวดละ 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 10% จำนวน 2 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตรเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงดังกล่าวกับปริมาณกรดแกลลิคเป็นไมโครกรัม

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด

ปิเปตสารสกัดปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 9.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ขวดละ 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาทีจากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 1% ปริมาตร 2 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร ใช้ 95% เอทานอล แทนตัวอย่างในการทำ Blank

ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างสารสกัด

การตรวจวัดสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นในเนื้อเยื่อ และเมล็ด ส้มโอโดยใช้อนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2, 2 – diphenyl-1 picrylhdrazyl)

การติดตามความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของ DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่ทำให้สารละลายมีสีม่วงและสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยเตรียมสารละลาย 2, 2 – diphenyl-1 picrylhdrazyl (DPPH) เข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ในเอทานอล 95% ปิเปตสารละลาย DPPH 0.6 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง ผสมตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตรปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 6 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอล ตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีในที่มืด คำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สูตร (Shya & Hwang, 2002)

$$\% \text{ Inhibition} = [1-(A \text{ sample} / A \text{ control})] \times 100$$

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Potential)

เตรียมสารละลาย FRAP Reagent โดยการผสมสารละลายทั้งหมดที่เตรียมไว้โดยมีอัตราส่วนของ แอซิเตต บัฟเฟอร์: สารละลาย TPTZ (2, 4, 6- Tris (2-pyridyl)-s-triazine) : สารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ (10: 1: 1) โดยปริมาตรตามลำดับ ปิเปตสารสกัดตัวอย่างจำนวน

0.2 มิลลิลิตร สารละลาย FRAP Reagent 6 มิลลิลิตร ผสมกันวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 นาที วัดค่าการดูกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานโทรอกซ์ (Benzie & Strain, 1999)

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดที่ได้จากส่วนต่างๆของส้มโอ 7 สายพันธุ์

ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในส้มโอไทยมีปริมาณมากน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญที่ได้ทำการศึกษา ซึ่งสามารถแบ่งออกได้ 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยแรกคือ ความแตกต่างของส่วนต่างๆ ของผลส้มโอ (เปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และ เมล็ด) ปัจจัยที่สองคือ ความหลากหลายของสายพันธุ์ส้มโอ (พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง พันธุ์ทองดี พันธุ์ขาวแป้น พันธุ์ขาวใหญ่ พันธุ์ท่าข่อย พันธุ์ปัตตาวี และ พันธุ์ขาวแตงกวา)

ปัจจัยที่ 1 ความแตกต่างของส่วนต่างๆ ของผลส้มโอ จากการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดที่ได้จากส่วนต่างๆ ของส้มโอ ได้แก่ เปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และ เมล็ด ทั้ง 7 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง พันธุ์ทองดี พันธุ์ขาวแป้น พันธุ์ขาวใหญ่ พันธุ์ท่าข่อย พันธุ์ปัตตาวี และ พันธุ์ขาวแตงกวา พบว่า ส่วนต่างๆ ทั้ง 4 ส่วน เมล็ดมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเฉลี่ยมากที่สุดคือ 3992.21 μg/g, Dw รองลงมาคือ เปลือกชั้นใน 1896.15 μg/g, Dw, เปลือกชั้นนอก 1808.76 μg/g, Dw, และเนื้อเยื่อ 1321.56 μg/g, Dw (ตารางที่ 4.1, ภาพที่ 4.1) นอกจากนี้ Pichaiyongvongdee (2010) ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในน้ำพบว่ามีปริมาณเท่ากับ 84.01 mg/100ml Fw ซึ่งสอดคล้องกับคำกล่าวของ Braddock & Catwallader (1995) ; Montanari et al. (1997) ; Bocco et al., (1998); Burda & Oleszek (2001) กล่าวว่า เมล็ดผลไม้ตระกูลส้มเป็นแหล่งของสารพฤกษเคมี (Phytichemicals) หลายชนิด ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และลิโมนอยด์ (Limonoids) ซึ่งสารเฟลโวนอยด์เป็นสารประกอบโพลีฟีนอลที่พบในพืชตระกูลส้มที่สำคัญมี 3 ชนิด คือ ฟลาโวนอล (Flavonols) ฟลาโวน (Flavones) และ ฟลาวาโนน (Flavanones) สารประกอบต่างๆ ดังกล่าวมีคุณสมบัติเป็นสารต้านปฏิกริยาออกซิเดชัน (Antioxidation) และสารต้านอนุมูลอิสระ

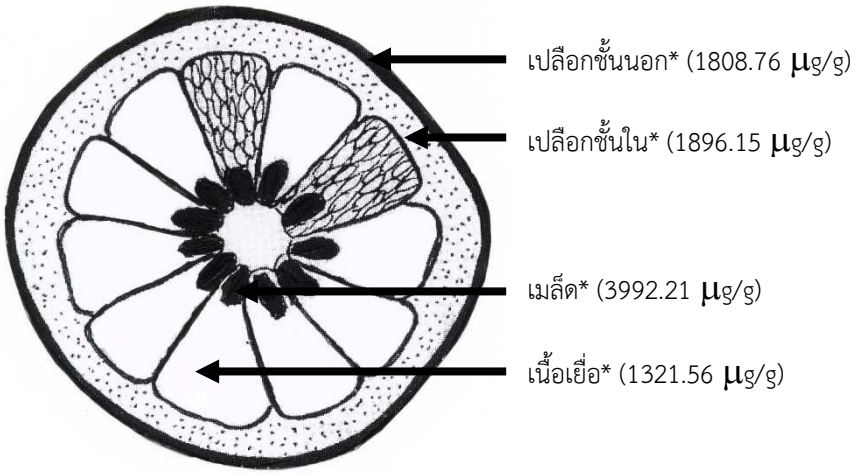
ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม และวันทนีย์ ช้างน้อย (2545) ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเมล็ดพบว่า เมล็ดส้มโอขาวน้ำผึ้งมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล 112.6 mg of GAE/100g, Dw มากกว่าเมล็ดในส้มโอทองดี 108.1 mg of GAE/100g, Dw

นอกจากนี้ยังกล่าวได้ว่าชนิดของเนื้อเยื่อของผลไม้มีผลต่อปริมาณโพลีฟีนอลที่แตกต่างกัน พบว่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในเนื้อเยื่อของส้มเขียวหวาน (ส้มเขียวหวานเป็นผลไม้ตระกูลส้มในกลุ่มเดียวกับส้มโอ) มีปริมาณมากที่สุดในขณะที่ในน้ำมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลน้อยที่สุด (Abeysinghe et al., 2007, Pichaiyongvongdee, 2010) Bocco et al. (1998) ได้รายงานว่าในส่วนของเมล็ดพืชตระกูลส้มจะมีสารประกอบที่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าส่วนของเปลือก

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในส่วนต่างๆ ของผลส้มโอ

ส่วนต่างๆ ของผลส้มโอ	พันธุ์ส้มโอ	สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (μg/g)
เปลือกชั้นนอก	ทองดี	2163.63±180.66
	ท่าข่อย	2056.16±195.90
	ขาวน้ำผึ้ง	2014.08 ±153.68
	ขาวใหญ่	1854.42 ±130.65
	ขาวแตงกวา	1895.75±251.92
	ปัตตาวี	1581.04±179.32
	ขาวแป้น	1096.27±66.78
ค่าเฉลี่ย		1808.764
เปลือกชั้นใน	ทองดี	2718.48±167.66
	ท่าข่อย	3384.81±155.91
	ขาวน้ำผึ้ง	1416.43±101.02
	ขาวใหญ่	1362.60±98.84
	ขาวแตงกวา	1209.08±97.78
	ปัตตาวี	2005.10±232.18
	ขาวแป้น	1176.58±62.88
ค่าเฉลี่ย		1896.154
เนื้อเยื่อ	ทองดี	1825.06±86.61
	ท่าข่อย	2266.66±216.40
	ขาวน้ำผึ้ง	825.68±84.06
	ขาวใหญ่	1030.41±93.18
	ขาวแตงกวา	1144.97±25.35
	ปัตตาวี	1100.05 ±80.44
	ขาวแป้น	1058.14 ±46.39
ค่าเฉลี่ย		1321.56
เมล็ด	ขาวแป้น	4957.97±121.28
	ท่าข่อย	ND
	ขาวน้ำผึ้ง	4195.74±434.96
	ขาวใหญ่	ND
	ขาวแตงกวา	3108.78±284.91
	ปัตตาวี	3114.05±65.24
	ขาวแป้น	4584.51 873.41
ค่าเฉลี่ย		3992.21

หมายเหตุ : Nd คือ Not detected



ภาพที่ 4.1 : ค่าเฉลี่ยปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในส่วนต่างๆ ของผลส้มโอ 7 สายพันธุ์

ปัจจัยที่ 2 คือ ความหลากหลายของสายพันธุ์ส้มโอ พบว่าพันธุ์ส้มโอเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลอย่างมากต่อปริมาณโพลีฟีนอล ซึ่งแต่ละพันธุ์สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 คือ เปลือกชั้นใน และเนื้อเยื่อมีสีชมพูอ่อน ได้แก่ ส้มโอพันธุ์ทองดี และส้มโอพันธุ์ท่าข่อย

กลุ่มที่ 2 คือ เปลือกชั้นใน และเนื้อเยื่อ มีสีขาวอมเหลือง ได้แก่ ส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง พันธุ์ขาวแป้น พันธุ์ขาวแตงกวา พันธุ์ขาวใหญ่ และ พันธุ์ปัตตาวี

ผลการวิเคราะห์ปริมาณโพลีฟีนอลในส้มโอไทยทั้ง 7 สายพันธุ์ พบว่า พันธุ์ท่าข่อย และส้มโอพันธุ์ทองดี ซึ่งมีเปลือกชั้นใน และเนื้อเยื่อ มีสีชมพูอ่อน มีปริมาณโพลีฟีนอลมากกว่าพันธุ์ส้มโอในกลุ่มที่ 2 ได้แก่ พันธุ์ปัตตาวี พันธุ์ขาวใหญ่ พันธุ์ขาวแตงกวา พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และ พันธุ์ขาวแป้น

ผลรวมปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในทุกๆ ส่วนของผลส้มโอ พบว่า ส้มโอพันธุ์ทองดีมีผลรวมปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในทุกๆ ส่วน คือ 11665.14 μg/g รองลงมาคือ พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง 8451.93 μg/g พันธุ์ขาวแป้น 7915.5 μg/g พันธุ์ปัตตาวี 7800.24 μg/g พันธุ์ท่าข่อย 7707.63 μg/g พันธุ์ขาวแตงกวา 7358.58 μg/g และ พันธุ์ขาวใหญ่ 4247.43 μg/g ตามลำดับ แต่เนื่องจากพันธุ์ท่าข่อยที่นำมาวิเคราะห์ไม่มีเมล็ดทำให้ผลรวมปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดมีปริมาณน้อย

ตารางที่ 4.2 ผลรวมปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในส่วนต่างๆ ของพันธุ์ส้มโอ แต่ละสายพันธุ์

พันธุ์ส้มโอ	**ส่วนต่างๆ ของผลส้มโอ**	**สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (μg/g)**
(กลุ่มที่ 1) ทองดี	เปลือกชั้นนอก	2163.63±180.66
	เปลือกชั้นใน	2718.48±167.66
	เนื้อเยื่อ	1825.06±86.61
	เมล็ด	4957.97±121.28
ผลรวม		11665.14
(กลุ่มที่ 1) ท่าข่อย	เปลือกชั้นนอก	2056.16±195.90
	เปลือกชั้นใน	3384.81±155.91
	เนื้อเยื่อ	2266.66±216.40
	เมล็ด	ND
ผลรวม		7707.63
(กลุ่มที่ 2) ขาวน้ำผึ้ง	เปลือกชั้นนอก	2014.08±153.68
	เปลือกชั้นใน	1416.43±101.02
	เนื้อเยื่อ	825.68±84.06
	เมล็ด	4195.74 434.96
ผลรวม		8451.93
(กลุ่มที่ 2) ขาวใหญ่	เปลือกชั้นนอก	1854.42±130.65
	เปลือกชั้นใน	1362.6±98.84
	เนื้อเยื่อ	1030.41±93.18
	เมล็ด	ND
ผลรวม		4247.43
(กลุ่มที่ 2) ขาวแตงกวา	เปลือกชั้นนอก	1895.75±251.92
	เปลือกชั้นใน	1209.08±97.78
	เนื้อเยื่อ	1144.97±25.35
	เมล็ด	3108.78±284.91
ผลรวม		7358.58
(กลุ่มที่ 2) ปัตตาวี	เปลือกชั้นนอก	1581.04±179.32
	เปลือกชั้นใน	2005.10±232.18
	เนื้อเยื่อ	1100.05±80.44
	เมล็ด	3114.05±65.24
ผลรวม		7800.24

ตารางที 4.2 (ต่อ)

พันธุ์ส้มโอ	ส่วนต่างๆ ของผลส้มโอ	สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (μg/g)
(กลุ่มที่ 2) ขาวแป้น	เปลือกชั้นนอก	1096.27±66.78
	เปลือกชั้นใน	1176.58±62.88
	เนื้อเยื่อ	1058.14±46.39
	เมล็ด	4584.51±873.41
ผลรวม		7915.5

นอกจากนี้ เมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลแต่ละส่วนของผลส้มโอทั้ง 2 กลุ่ม ดังภาพที่ 4.2 ดังนี้

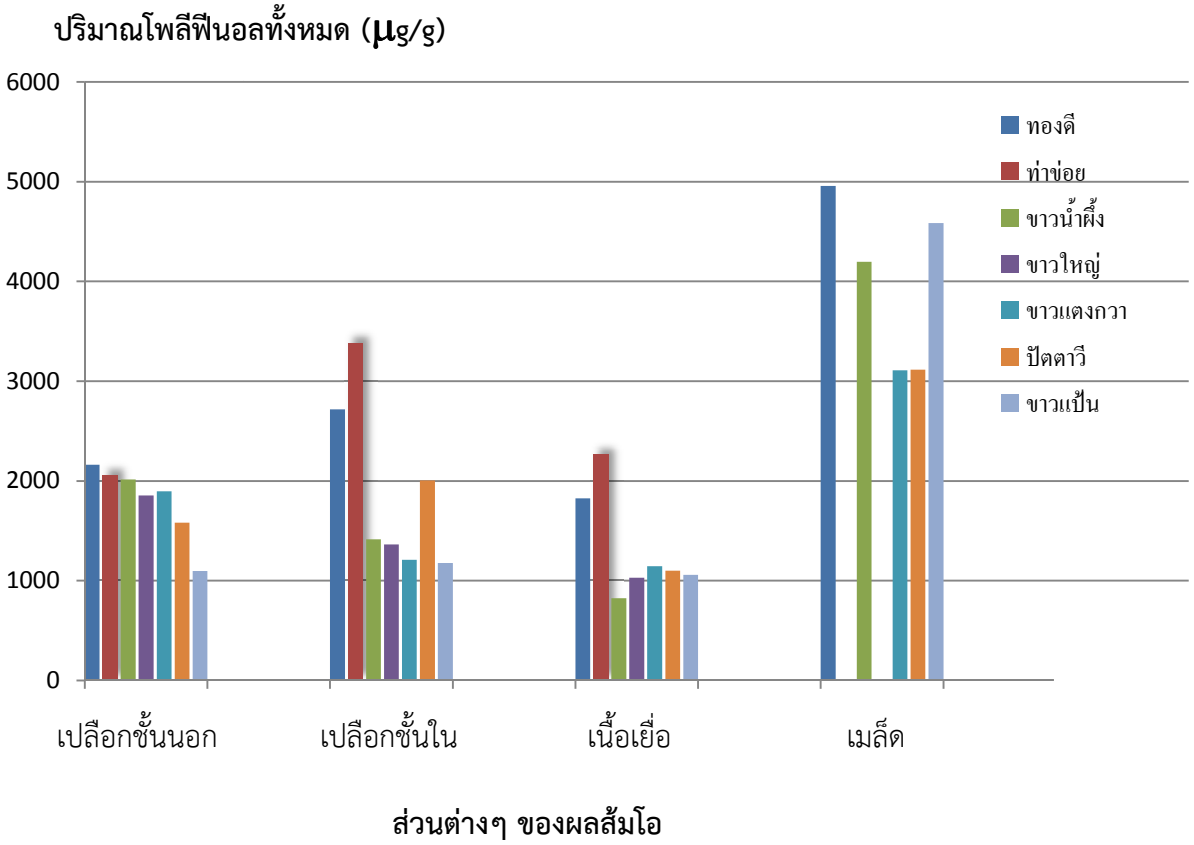
ส่วนที่ 1 เปลือกชั้นนอก พบว่า ส้มโอพันธุ์ทองดีมีปริมาณมากที่สุดคือ 2163.63 μg/g รองลงมาคือ พันธุ์ท่าข่อย 2056.16 μg/g ในขณะที่พันธุ์ขาวแป้นมีปริมาณน้อยที่สุดคือ 1096.27 μg/g

ส่วนที่ 2 เปลือกชั้นใน พบว่า ส้มโอพันธุ์ท่าข่อย มีปริมาณมากที่สุดคือ 3384.81 μg/g รองลงมาคือ พันธุ์ทองดี 2718.48 μg/g ในขณะที่พันธุ์ขาวแป้นมีปริมาณน้อยที่สุดคือ 1176.58 μg/g

ส่วนที่ 3 เนื้อเยื่อ พบว่า ส้มโอพันธุ์ท่าข่อย มีปริมาณมากที่สุดคือ 2266.66 μg/g รองลงมาคือ พันธุ์ทองดี 1825.06 μg/g ในขณะที่พันธุ์ขาวน้ำผึ้งมีปริมาณน้อยที่สุดคือ 825.68 μg/g

ส่วนที่ 4 เมล็ด พบว่า ส้มโอพันธุ์ทองดี มีปริมาณมากที่สุดคือ 4957.97 μg/g รองลงมาคือ พันธุ์ขาวแป้น 4584.51 μg/g ในขณะที่พันธุ์ขาวแตงกวามีปริมาณน้อยที่สุดคือ 3108.78 μg/g

ส่วนในกรณีของน้ำส้มโอ Pichaiyongvongdee (2010) ได้ทำการวิเคราะห์สารปริมาณโพลีฟีนอลทั้ง 7 สายพันธุ์ของส้มโอเช่นกันพบว่า ส้มโอพันธุ์ท่าข่อย มีปริมาณมากที่สุดคือ 150.30 mg/100 ml, FW รองลงมา คือ พันธุ์ทองดี 137.041 mg/100 ml, FW ในขณะที่พันธุ์ขาวแป้นมีปริมาณน้อยที่สุดคือ 40.66 mg/100 ml, FW



ภาพที่ 4.2 เปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดแต่ละส่วนของผลส้มโอ

ผลของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างสารสกัด

การตรวจวัดสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และเมล็ด โดยใช้อนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP

ทดสอบการตรวจวัดสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และเมล็ด ส้มโอโดยใช้ DPPH (2, 2 – diphenyl-1 picrylhdrazyl radicals) ซึ่งเป็นอนมูลอิสระชนิดหนึ่ง (Chen et al, 1999)

ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ศึกษาเป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการรวมตัวกับ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่เสถียรในสารละลายโดยในการทดสอบจะให้ DPPH (สีม่วงเข้ม) ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในระยะเวลาที่กำหนด ซึ่งได้ทำการวัดค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดจากเปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และเมล็ดส้มโอ ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH จะลดลง สีของสารละลายจะมีสีอ่อนลง DPPH (สีอ่อนลง) จะบ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ (Duangnak, 2008)

ส่วนอีกวิธีหนึ่ง คือ FRAP เป็นอีกที่ใช้ในการตรวจสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อนคือเมื่อสารประกอบเชิงซ้อน Ferric tripyridyltria -zine ($Fe3^{+-}$TPTZ) ได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชันแล้วจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน Ferrous tripyridyltriazine ($Fe2^{+-}$TPTZ) ที่มีสีม่วงน้ำเงิน (ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง, 2549)

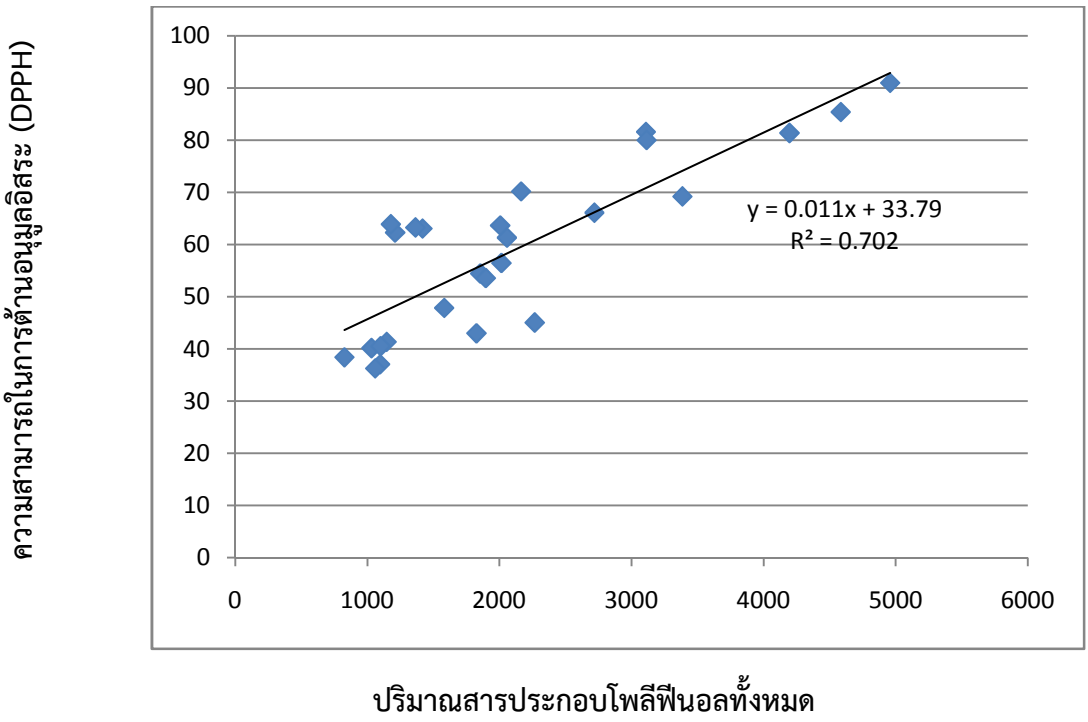
ดังนั้นสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของผลส้มโอนี้เกือบทุกส่วนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ FRAP พบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ FRAP สูงที่สุดคือ ในส่วนเมล็ด คือ มีค่าร้อยละ 79.97-90.92 และ 3108.78-4957.97 mgTE/100 ml ตามลำดับ ในขณะที่ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ FRAP น้อยที่สุดคือ เนื้อเยื่อมีค่า DPPH ร้อยละ 38.36-45.02 และ FRAP 294.89-1354.79 mgTE/100ml ตามลำดับ แต่ Pichaiyongvongdee (2010) ได้ทำการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ FRAP ในส่วนของน้ำส้มโอ พบว่า มีค่า DPPH ร้อยละ 10.75-25.62 และ FRAP เท่ากับ 17.65-54.71 mgTE/100 ml ตามลำดับ

จากการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบโพลีฟีนอลและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าค่าที่ได้มีความสัมพันธ์ในเชิงบวก โดยมีค่า r^2 = 0.702 ดังภาพที่ 4.3 เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบโพลีฟีนอลและความสามารถในการต้านต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าค่าที่ได้มีความสัมพันธ์ในเชิงบวก โดยมีค่า r^2 = 0.659 ดังภาพที่ 4.4

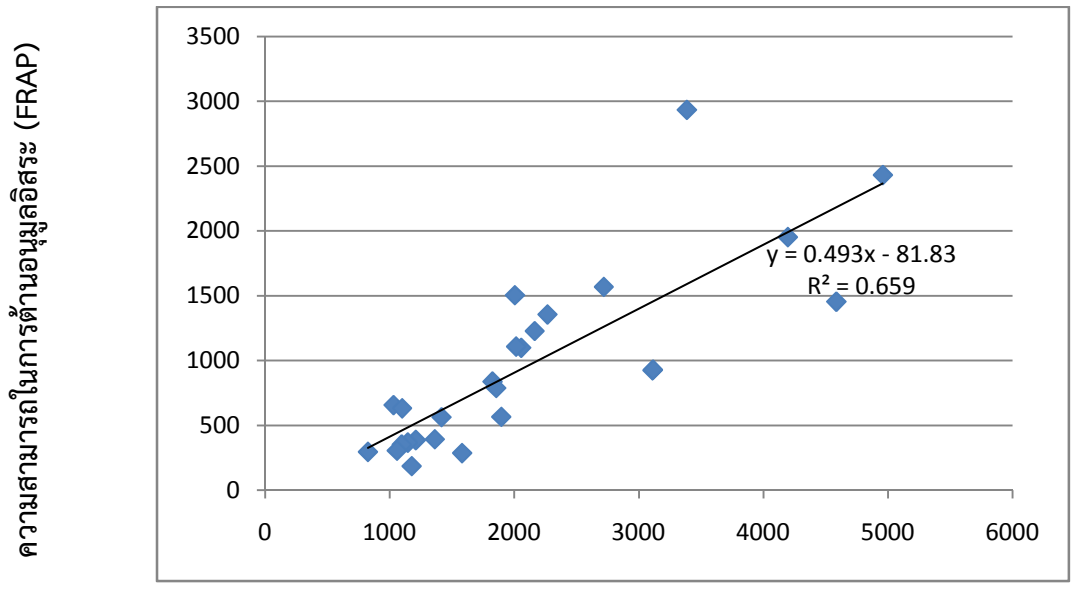
ผลจากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบโพลีฟีนอลและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระกล่าวได้ว่า สารประกอบโพลีฟีนอลมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ฉะนั้นถ้ามีสารประกอบโพลีฟีนอลสูงก็มีค่าความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูง และถ้ามีสารประกอบโพลีฟีนอลต่ำก็มีค่าความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระต่ำร่วมด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของส่วนต่างๆ ในส้มโอทั้ง 7 สายพันธุ์ด้วยวิธี DPPH และ FRAP มีความสัมพันธ์ในเชิงบวก จึงเป็นไปได้ว่าทั้ง 2 วิธีนี้สามารถที่จะทำหน้าที่ในการต้านออกซิเจนโดยอาศัยกลไกการออกฤทธิ์โดยการส่งผ่านอิเล็กตรอนเหมือนกัน ให้ผลการตรวจวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านอนุมูลอิสระได้ผลที่สอดคล้องในทิศทางเดียวกัน ดังนั้นสามารถเลือกใช้วิธี DPPH และ FRAP วิธีใดวิธีหนึ่งในการตรวจวิเคราะห์ได้

ตารางที่ 4.3 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP

พันธุ์ส้มโอ	ส่วนต่างๆ ของผลส้มโอ	DPPH (%)	FRAP (mg TE/100 ml)
ทองดี	เปลือกชั้นนอก	70.14	1227.13
	เปลือกชั้นใน	66.07	1567.78
	เนื้อเยื่อ	42.96	837.46
	เมล็ด	80.92	2431.31
ท่าข่อย	เปลือกชั้นนอก	61.28	1098.07
	เปลือกชั้นใน	69.18	2933.50
	เนื้อเยื่อ	45.02	1354.79
	เมล็ด	ND	ND
ขาวน้ำผึ้ง	เปลือกชั้นนอก	56.42	1107.40
	เปลือกชั้นใน	63.02	562.69
	เนื้อเยื่อ	38.36	294.89
	เมล็ด	81.34	1951.82
ขาวใหญ่	เปลือกชั้นนอก	54.41	786.93
	เปลือกชั้นใน	61.23	392.39
	เนื้อเยื่อ	40.12	655.77
	เมล็ด	ND	ND
ขาวแตงกวา	เปลือกชั้นนอก	53.54	565.40
	เปลือกชั้นใน	62.26	385.72
	เนื้อเยื่อ	41.33	366.39
	เมล็ด	81.56	924.23
ปัตตาวี	เปลือกชั้นนอก	47.83	285.11
	เปลือกชั้นใน	63.61	1503.83
	เนื้อเยื่อ	40.49	630.97
	เมล็ด	79.97	928.75
ขาวแป้น	เปลือกชั้นนอก	47.03	350.81
	เปลือกชั้นใน	63.86	185.10
	เนื้อเยื่อ	36.24	304.72
	เมล็ด	85.34	1453.63



ภาพที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างสารปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH)



ภาพที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างสารปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (FRAP)

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล

งานวิจัยครั้งนี้ ได้ศึกษาถึงปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ในเนื้อเยื่อผลส้มโอ ได้แก่ เปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และเมล็ด ของส้มโอทั้ง 7 พันธุ์ ที่ปลูกเป็นการค้า ได้แก่ พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง ทองดี ขาวแป้น ขาวใหญ่ ท่าข่อย ปัตตาวี และขาวแตงกวา พบว่าทุกส่วนมีคุณสมบัติเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลและมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่เหมาะสมต่อการนำไปแปรรูปเป็นอาหารเสริมสุขภาพ ผลิตภัณฑ์ด้านอาหาร เครื่องสำอางและยาที่ให้สารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการแปรรูปต่างๆ จึงสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในส้มโอไทยมีปริมาณมากน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญที่ได้ทำการศึกษา ซึ่งสามารถแบ่งออกได้ 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยแรกคือ ความแตกต่างของส่วนต่างๆ ของผลส้มโอ (เปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และ เมล็ด) ปัจจัยที่สองคือ ความหลากหลายของสายพันธุ์ส้มโอ (พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง พันธุ์ทองดี พันธุ์ขาวแป้น พันธุ์ขาวใหญ่ พันธุ์ท่าข่อย พันธุ์ปัตตาวี และ พันธุ์ขาวแตงกวา)

2. ส่วนต่างๆ ทั้ง 4 ส่วน ได้แก่ เปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ และ เมล็ด ของส้มโอ จากการศึกษา พบว่า เมล็ดมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเฉลี่ยมากที่สุดคือ 3992.21 μg/g, Dw รองลงมาคือ เปลือกชั้นใน 1896.15 μg/g, Dw, เปลือกชั้นนอก 1808.76 μg/g และเนื้อเยื่อ 1321.56 μg/g, Dw ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pichaiyongvongdee & Haruenkit (2009) ได้มีการวิเคราะห์เฉพาะเจาะจงสารประกอบโพลีฟีนอลคือลิโมนิน และนาริงจิน จากผลการวิเคราะห์พบว่าปริมาณลิโมนินพบมากที่สุดในเมล็ด>เปลือกชั้นใน > เปลือกชั้นนอก > เนื้อเยื่อ และน้ำ ตามลำดับ ปริมาณนาริงจินพบมากที่สุดในเปลือกชั้นใน>เปลือกชั้นนอก>เนื้อเยื่อ>เมล็ด และน้ำ ตามลำดับ

3. ปริมาณโพลีฟีนอลในส้มโอไทยทั้ง 7 สายพันธุ์ พบว่า พันธุ์ท่าข่อย และ ส้มโอพันธุ์ทองดี ซึ่งมีเปลือกชั้นใน และเนื้อเยื่อ มีสีชมพูอ่อน มีปริมาณโพลีฟีนอลมากกว่าพันธุ์ส้มโอที่มีเปลือกชั้นในและเนื้อเยื่อ มีสีขาว ได้แก่ พันธุ์ปัตตาวี ขาวใหญ่ พันธุ์ขาวแตงกวา พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และพันธุ์ขาวแป้น เนื่องจากรงควัตถุสีชมพูมีสารแคโรตินอยด์เป็นส่วนประกอบอยู่ จึงเหมาะแก่การนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่อไป และควรมีการส่งเสริมในการเพาะปลูกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ท่าข่อยมากขึ้นเนื่องจากเป็นพันธุ์ที่มีสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด

4. สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของผลส้มโอนี้เกือบทุกส่วนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ FRAP พบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ FRAP สูงที่สุดคือ ในส่วนเมล็ด คือมีค่าร้อยละ 79.97-90.92 และ 3108.78-4957.97 mg TE/100 ml ตามลำดับ

5. ความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบโพลีฟีนอลและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าค่าที่ได้มีความสัมพันธ์ในเชิงบวก โดยมีค่า r^2 = 0.702

6. ความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบโพลีฟีนอลและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าค่าที่ได้มีความสัมพันธ์ในเชิงบวก โดยมีค่า r^2 = 0.659

7. สารประกอบโพลีฟีนอลมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ฉะนั้นถ้ามีสารประกอบโพลีฟีนอลสูงก็มีค่าความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูง และถ้ามีสารประกอบโพลีฟีนอลต่ำก็มีค่าความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระต่ำร่วมด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของส่วนต่างๆ ในส้มโอทั้ง 7 สายพันธุ์ด้วยวิธี DPPH และ FRAP มีความสัมพันธ์ในเชิงบวก จึงเป็นไปได้ว่าทั้ง 2 วิธีนี้สามารถที่จะทำหน้าที่ในการต้านออกซิเจนโดยอาศัยกลไกการออกฤทธิ์โดยการส่งผ่านอิเล็กตรอนเหมือนกัน

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

1. ทุกส่วนของผลส้มโอได้แก่ เปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อ เมล็ด และน้ำ มีคุณสมบัติเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลและมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเหมาะสมต่อการนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ด้านอาหาร หรืออาหารเสริมสุขภาพ เครื่องสำอางและยาที่ให้สารต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะเปลือกชั้นในมีปริมาณน้ำหนักเกือบร้อยละ 35-50 ของน้ำหนักผล และมีปริมาณใยอาหารทั้งหมดมาก ซึ่งน่าจะนำไปสกัดเป็นใยอาหารเพื่อเติม ทดแทน และหรือเสริมในผลิตภัณฑ์อาหารต่อไปและเป็นการเพิ่มมูลค่าของเปลือกส้มโอเนื่องจากเป็นเหล่งที่ดีของต้านอนุมูลอิสระและใยอาหารด้วย

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

1. ควรมีการศึกษากระบวนการลดความขมในส่วนต่างๆ ก่อนนำไปใช้ประโยชน์เนื่องจากความขมที่เกิดขึ้นเกิดจากสารลิโมนิน และนาริงจิน ความขมที่เกิดขึ้นอาจมีปัญหาในเรื่องรสชาดได้

2. เปลือกชั้นในของส้มโอมีอยู่ประมาณร้อยละ 35-50 โดยน้ำหนัก เป็นส่วนที่เหลือใช้ หากทางอุตสาหกรรมอาหารสามารถนำเปลือกส้มโอมาใช้ประโยชน์ในด้านอาหารน่าจะมีประโยชน์มาก จึงควรมีการศึกษาการผลิตใยอาหารผงจากเปลือกชั้นในของส้มโอที่ผ่านการลดความขมและศึกษาคุณสมบัติทางด้านกายภาพและเชิงหน้าที่ เพื่อนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป เช่น หมูยอ ลูกชิ้น เค็ก คุกกี้ มาล์มาเลต แยม เยลลี และเครื่องดื่ม เป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าของเหลือทิ้งจากการเกษตรและนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์มากขึ้น

บรรณาณุกรม

กุลธิดา เทพรักษ์. (2552). *การตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหยจากส้มโอ.* ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต โครงการจัดตั้งสายวิชาเคมี**.**

จุฬนันท์ เกษร. (2552). *การศึกษาชนิดและปริมาณสารฟลาโวโนน และความารถในการต้านอนุมูลอิสระของส้มเขียวหวานและผลิตภัณฑ์น้ำส้ม***.** ปริญญานิพนธ์. โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นวลศรี รักอริยะธรรม และอัญชนา เจนวิธีธรรม. (2545). *แอนติออกซิเดนท์ สารต้านมะเร็งในผักสมุนไพรไทย*. เชียงใหม่: นพบุรีการพิมพ์.

นิธิยา รัตนาปกรณ์. (2545). *เคมีอาหาร.* กรุงเทพฯ : โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮาส์.

สมพร เกตุพงศ์. (2534). *รายงานการวิจัย การศึกษาสภาพการทำสวนส้มโอของเกษตรกรในภาคกลาง.* สำนักงานส่งเสริมการเกษตรภาคกลาง. ชัยนาท.

สมคิด เทียมรัศมี. (2548). *การปลูกส้มโอ.* สำนักพิมพ์อักษรสยามการพิมพ์. กรุงเทพฯ

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2553). *ข้อมูลพื้นฐานกิจการเกษตรปี 2552* [online]. Avaiilable:http://www.oae.go.th/download/downloadjournal/fundamation-2552.pdf [2553,สิงหาคม]

พร จันทร์ด่านกลาง. (2535). *การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับพืชไล่แมลง.* ภาควิชาเคมี. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง. (2549). *ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด.*คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

รุ่งทิวา วงค์ไพศาลฤทธิ์. (2549). *สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน.* ปริญญานิพนธ์. โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตรสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม และวันทนีย์ ช้างน้อย.(2545). *ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดพืชตระกูลส้มที่ปลูกในประเทศไทย.* โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เปรมปรี ณ สงขลา. (2527). *ทำสวนส้ม.* บริษัทมอนซานโต้ไทยแลนด์ จำกัด, กรุงเทพฯ.

Abeysinghe, D.C., Li, X., Sun, C.S., Z,C. & Chen, K. (2007). Bioactiv compounds and antioxidant capacities in different edible tissue of citrus of citrus fruit of four species. *Food Chemistry.* 104, 1338-1344.

Albach, R.F. & Redman, G.H. (1969). Composition and inheritance of flavanones in citrus fruit. *Phytochem,* 8, 530-534.

Arena, E., Fallico, B. & Maccarone, E. (2001). Evalution of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storange. *Food Chemistry,* 74, 423-427.

Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Narin, F.R., Ortuno, A. & Del Rio, J.A. (1997). Uses and phomolic composition of citrus peel and seed extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 6, 2123-2129.

Benzie, I.F.F., & Strain, J.J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299, 15–27.

Bocco, A., Cuvelier, M.E., Richard, H. & Berset, C. (1998). Antioxidant activity and phenilic composition of citrus peel and seed extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9), 2123-2127.

Braddock, R.J. & Catwallader, K.R. (1995). By-products of Citrus Fruit. *Food Technol*, 49(9), 74-77.

Briante, R., Patumi, M., Terenziani, S., Bismuto, E., Febbraio, F. & Nucci, R. (2002). Olea europaea L. leaf extract and derivative: antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4934-4940.

Burda, S. & Oleszek, W. (2001). Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2774-2779.

Burns, J., Gardner, P.T., O'Neli, J., Crawford, S., Morecroft, I. & McPhail, D.B. (2000). Relation among Antioxidant Activity, Vasodilation Capcity and Phenolic Content of Red Winnes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 48, 220-230.

Chen, J., Montanati, A. M. & Widmer, W.W. (1997). Two new polymethoxylated flavones, a class of compounds with potential antioxidant acyivity, isolated from cold pressed Dancy tangerine peel oil solids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(2), 364-368.

Chen,Y.,Wang, M.F., Rosen,R.T, & Ho, C.T. (1999). 2,2-Diphenyl-l-picrylhydrazl radical scavenginga active components from Polygonum multiforum Thumb. *Journal of Natural Products,* 47, 2226-2228.

Department of agriculture. (2002). *Good agricultural practice (GAP) for pummelo*. Bangkok, the agricultural Co- operative federation of Thailand, Ltd. 26 p.

Duangnak P. (2008). *Antioxidant.* Retrieved April 28 2007. http://priun.ku.ac.th/~b4755242/index.html.

Erlund, I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology. *Nutrition Research*, 24, 851-875.

Goristein, S., Martin-Belloso, O., Park, Y.S., Karuenkit, R., Lojek, A., Ciz,M., Caspi, A., Libmom. I. & Trakhtenberg, S. (2001). Comparison of some biochemical characterics of different citrus fruit. *Food Chemistry*, 74(1), 309-315.

Jamilah, B., Che-Man, Y.B. & Ching, T.L. (1998). Antioxidant activity of Citrus hysteix peel extract in RBD palm olein during frying of fish crackers. *Journal Food lipids,* 5(2), 149-157.

Kawaii, S., Tomono, Y. Katase, E., Ogawa, K. & Yano, M. (1999). Quantitation of flavanoid constituents in citrus fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3565-3571.

Lee, M.J., Chou, F.P., Tseng, T.H. Hsigh, M.H., Lin, M.C. & Wang C.J. (2002). *Hibiscus* protocatechuic acid or esculetin can inhibit oxidative LDL induced by either copper ion or nitric oxide donor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7), 2130-2136.

Lu, Y. & Foo, L.Y. (2001). Antioxidant activity of polyphenols from Sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*, 75(1), 197-202.

Macheix, J.J., Fleuriet, A. & Billot, J. (1990). *Fruit phenolics*. Boca Raton : CRC Press.

Madhavi, D.L., Deshpanande, S.S. & Salunkhe, D.K. 1996. *Food Antioxidant : Technological, Toxicological and Health Perspective.* New York : Makker Dekker Inc.

Matsufuji, H. & Shibamoto, T. (2004). The role of EDTA in malonaldehyde formation from DNA oxidized by Fenton reagent systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 52(10), 3136-3140.

Middleton, Jr. & Kandawami, C. (1994). Potential health promoting properties of citrus flavonoids. *Food Technology*, November, 115-119.

Montamari, A., Widmer, W. & Nagy, S. (1997). *Health Promoting Phytochemicals in Citrus Fruit and Juice Products*. *In* Functionality of Food Phytochemicals, Johns, A., and Romeo, B., eds. New York: Plenum Press. 31-35.

Park, G.L., Avery, S.M., Byer, J.L & Nelson, D.B. (1983). Identification of bioflavoids from citrus. *Food Technology,* 37, 998-105.

Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A, Flerlage, N., Burillo.J. & Codina, C. (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23), 6882-6890.

Petterson, J. and Dwyer, J. 1998. Flavonoid: Dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research*, 18(12), 1995-2018.

Pichaiyongvongdee, S. & Haruenkit, R. (2009). Comparative Studies of Limonin &Naringin Distribution in Different Parts of Pummelo [Citrus grandis (L.) Osbeck] Cultivars Grown in Thailand. *Kasetsart Journal : Natural Science,* 43 (1), 28 – 36.

Pichaiyongvongdee, S. (2010). *Characterizations of limonoids, Flavanones and Antioxidant Capacity of Pummelo and Effect of Ethylene Treatment on Limonin reduction.* Ph.D.. Research of King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok,Thsailand.

Rouseff, R.L. (1980). *Flavonoid and Citrus Quality*. In: Nagy, S, and Attaway, L.A.(ed). Citrus Nutrition and Quality. PP 83-108. Fla. Dept. of Citrus, washinton D.C.

Robard, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P. & Glover, W. (1999). Phenolic compound and their role in oxidant process in fruits. *Food Chemistry*, 66, 401-436.

Singleton, V.L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology***,** 299:152.

Shyu, Y.S., & Hwang, L.S. (2002). Antioxidant activity of the crude extract of crude extract of lignan glycosides fromunroasted Burma black sesame meal. *Food Research International*, 35, 357–365.

Tanizawa , H., Ohkawa, Y., Takino, Y., Miyase, T., Ueno, A., Kageyama, T.& Hara, S. (1992). Studies on natural antioxidants in citrus species.I Determination of antioxidant activities of citrus fruits. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 40, 1940-1942.

Ting, S.V. & Rouseff, R. L. (1986). Morphology and physiology. *In*: Citrus fruits and their products : analysis and technology. pp 1-6. New York: Marcel Dekker.

Tripoli, E., Guardia, M. G., Giammanco, S., Majo, D. D & Giammanco, M. (2007). Citrus flavonoid: Molecular structure, biological activity and properties: A review. *Food Chemistry*, 104, 466-479.

Toma´s-Barbera´n, F.A. & Clifford, M.N. (2000). Review flavanones, chalcones and dihydrochalocones nature, occurrence and dietary burden. *Journal of Science and Food Agricultural,* 80, 1073-1080.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

Determination of total polyphenol content

(Singleton et al., 1999)

I. Equitment

Spectrophotometer (Shimudzu Model UV-1601, Japan)

II. Glasswares

- test tube
- 50 mL volumetric flask

III. Chemicals

- Standard of gallic acid, Sodium Carbonate (Na_2CO_3), Folin-Ciocalteu reagent, 95 % ethanol

IV. Reagents

A. 10% Na_2CO_3: Dissolve 10 g of Na_2CO_3 in distilled water and shake vigorously.

B. Gallic acid standard solutions: Prepare a stock solution of 400 µg/L by dissolve 0.02 g of gallic acid in 10 mL of 95 % ethanol in a volumetric flask and make to 50 mL with 95 % ethanol . Prepare standard solutions weekly by diluting the stock solution to 2.5, 5, 10, 15, 25 and 30 mg/L with 95 % ethanol

V. Procedures

1. 0.5 mL the juice and 9.5 mL distilled water was added to 2 mL of 10% Na_2CO_3**,** stand for 5 min

2. 0.5 mL the 25% Folin-Ciocalteu reagent was added to the mixture and allowed to stand for 10 min.

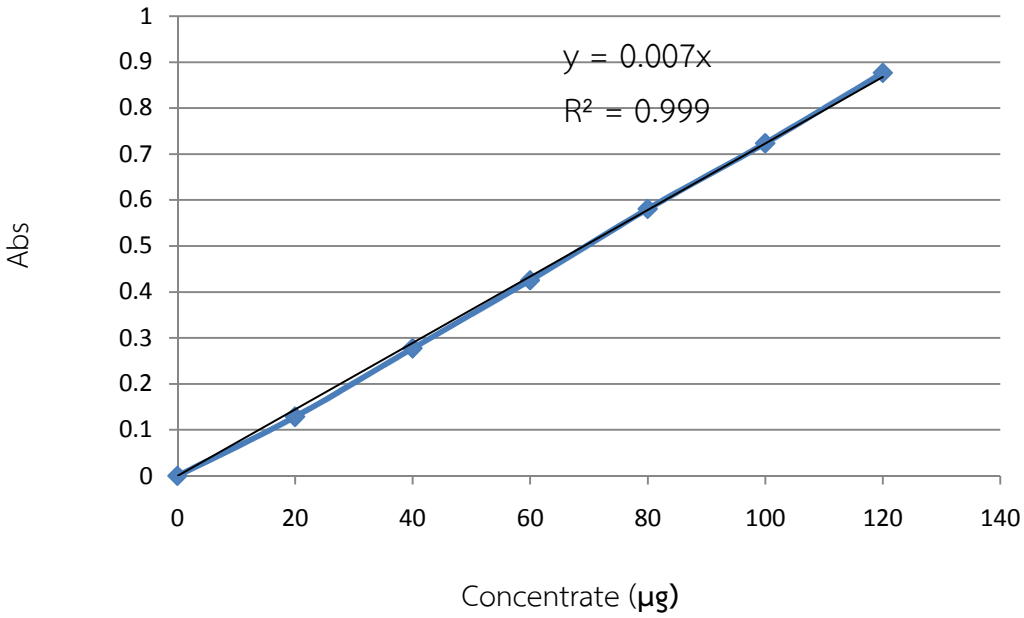
3. Read at 760 nm

VI. Calculations

The total polyphenol in sample is calculated from sample absorbance based on a linear regression equation of the standard curve of absorbance at 760 nm against concentration of Gallic acid.

Linear regression for Gallic acid standards. (The total polyphenol were expressed as mg Gallic acid equivalent GAE/100mL FW)

PA Standard = a + b × Concentration Standard (mg/L)



รูปภาพผนวก ก-1 Standard curve of gallic acid.

ภาคผนวก ข

DPPH free radical scavenging activity

(Shyu & Hwang, 2002)

I. Reaction mechanism:

2,2-Diphenyl-1-1-picrylhydrazl (DPPH), a relatively stable synthetic radical, is deep violet in methanolic solution with a strong absorption at 517 nm

The method is based on the reduction of alcoholic DPPH solution in the presence of hydrogen donating antioxidant. Oxidizing radical is reduced by amtioxidant

$$\underset{\text{(Deep violet)}}{DPPH + AH} \longrightarrow \underset{\text{(Colorless)}}{DPPH + A}$$

The decolorization is associated with is stoichiometric with respect to degree of reduction. The disappearance of DPPH is measured by spectophotometry until the absorbances remain constants.

II. Equitment

Spectrophotometer (Shimudzu Model UV-1601, Japan)

III. Glasswares

Test tube and 50 mL volumetric flask.

IV. Chemicals

0.8 mM DPPH solution (0.0175 g in 50 mL 0f 95% ethanol), 95% ethanol

V. Procedures

1. 0.6 mL of 0.8 mM solution of DPPH**,** followed by
2. 0.1 mL of sample (pummelo juice)
3. Adjust to 6 mL final volume using 95 % ethanol
4. Keep in the dark at room temperature for 30 min
5. Read at 517 nm after 30 min of the initial mixing.
6. The same concentration of methanol (6 mL) was used as control.

VI. Calculations

The inhibitory percentage of DPPH was calculated with the following equation:

$$\% \text{ inhibition} = \left[1-(A1/A0) \right] x100$$

Where: A0 is the absorbance of the control and A1 is the absorbance in the presence of sample.

ภาคผนวก ค

Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

(Benzie & Strain, 1999)

I. Reaction mechanism:

Reduction of ferric tripydytridytriazine (Fe^{III} -TPTZ) complex to the ferrous form (Fe^{III} -TPTZ) occur at low pH resulting in intense blue color which can be monitored at 593 nm. The reaction is not specific, therefore any substance which can donate an electron, shown an reducting power. The change in absorbance is directly related to the combined or total reducing power of electron donating antioxidants.

$$(Fe^{III} – TPTZ\ ) \longrightarrow (Fe^{III}\text{-}TPTZ)$$

I. Equitment

Spectrophotometer (Shimudzu Model UV-1601, Japan)

II. Chemicals

- 0.1 M acetate buffer ,pH 3.6 (3.1 g sodium acetate trihydrate, plus 16 mL glacial

  acetic acid made up to 1000 mL with distilled water.
- 10 mM TPTZ in 40 mM HCl
- 20 mL $FeCl_3$ $6H_2O$ in deionized water
- FRAP reagent : The ratio of 10:1:1 will be freshly prepared as re required

III. Glasswares

- Test tube and 50 mL volumetric flask.

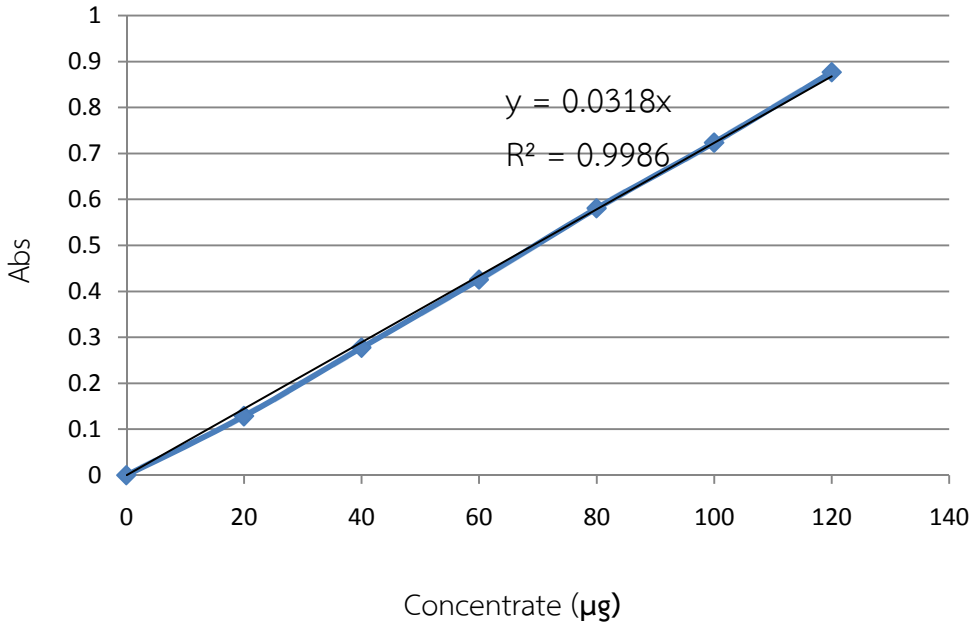
IV. Procedures

1. 0.1 mL of the pummelo juices, followed by
2. 3 mL of FRAP reagent.
3. Read at the absorbance 593 nm and the reaction was monitored for 8 min

V. Calculations

Aqueous solution of know Fe(ll) concentration (FeSo4.7H2O) is used for calibration of the FRAP assay. The antioxidant power is expressed as µM/g FRAP

The standard curve of trolox or ascorbic acid can be used to calculate the standard equivalent.



ภาพภาคผนวก ค-1 Standard curve of trolox

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ อาจารย์ ดร. สุวรรณา พิชัยยงค์วงศ์ดี
ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์หลักสูตรวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
สถานที่ติดต่อ หลักสูตรวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร โรงเรียนการเรือน มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต เลขที่ 228-228/1-9 ถ.สิรินธร บางบำหรุ บางพลัดกรุงเทพมหานคร 10700 โทร 02-4239435
E-mail Address suwanna_pi@yahoo.com
ประวัติการศึกษา วท.บ. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม
วท.ม. วิทยาศาสตร์การอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปร.ด. วิทยาศาสตร์การอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

งานวิจัย

1. การศึกษาปริมาณสารให้ความขมในมะนาวและผลของเอทธิลีนต่อระดับความขม (วิทยานิพนธ์ปริญญาโท)
2. ผลของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ต่อระดับความขมนาริงจิ้นในน้ำมะนาว (ทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต ปีงบประมาณ 2546)
3. โครงการวิจัยและพัฒนาตำรับชุดอาหารสุขภาพไทยจากท้องถิ่นสู่ครัวโลก“ อาหารท้องถิ่นไทย ภาคเหนือ” (ทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต ปีงบประมาณ 2547)
4. โครงการวิจัยและพัฒนาตำรับผัดไทย อาหารสุขภาพไทยจากท้องถิ่นสู่ครัวโลก (ทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต ปีงบประมาณ 2548)
5. ศึกษาชนิดและปริมาณสารซัลไฟท์ที่ใช้ในทุเรียนกวนและความปลอดภัยเบื้องต้น (ทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต ปีงบประมาณ 2549)
6. การลดความขมของน้ำส้มโอพาสเจอไรซ์ (ทุนสนับสนุนจากสกอ. ปีงบประมาณ 2550)
7. Characterizations of limonoids, Flavanones and Antioxidant Capacity of Pummelo and Effect of Ethylene Treatment on Limonin reduction. (Research : Doctor of Philosophy 2010)
8. วิจัยชั้นเรียน เรื่อง ศึกษาพฤติกรรมการบริโภคอาหารของนักศึกษาในวิชาอาหารและโภชนาการ (ทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต ปีงบประมาณ 2555)
9. วิจัยชั้นเรียน เรื่อง การพัฒนาพฤติกรรมความรับผิดชอบของนักศึกษาในการทำวิจัยในรายวิชาปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร (ทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต ปีงบประมาณ 2555)

บทความ

สุวรรณา พิชัยยงค์วงศ์ดี และระติพร หาเรือนกิจ. (2544). การศึกษาสารให้ความขมในมะนาวและผลของเอทธิลีนต่อความขม. ว. พระจอมเกล้าลาดกระบัง ปีที่ 9 ฉบับที่ 3: 39-44.

Pichaiyongvongdee, S. & Haruenkit, R. (2009). Comparative Studies of Limonin & Naringin Distribution in Different Parts of Pummelo [Citrus grandis (L.) Osbeck] Cultivars Grown in Thailand. *J. Kasetsart (Nat. Sci.)* 43 (1): 28 – 36.

Pichaiyongvongdee, S. & Haruenkit, R. (2009). Investigation of Limonoids, Flavanones, Total Polyphenol Content & Antioxidant Activity in Seven Thai Pummelo Cultivars. *J. Kasetsart (Nat. Sci.)* 43(3): 458-466.

Pichaiyongvongdee, S. & Haruenkit, R. (2011). Effect of Ethylene Treatments on Limonin Reduction in Thai Pummelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) Fruit. *J. Kasetsart (Nat. Sci.)* 45 : 1105 – 1114.