สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัย

การศึกษาชนิดและปริมาณของสารฟลาวาโนน (Flavanone) ในส้มเขียวหวานและผลิตภัณฑ์น้ำส้ม

Study of quality and quantity of Flavanones in Tangerines orange and orange juice products

ผู้วิจัย

ระติพร หาเรือนกิจ

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ปี 2551

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH
SB
370
.M34
S2221

เลขหมู่ 120220
เลขทะเบียน
วัน, เดือน, ปี 10 ก.พ. 2555

b 12338114
i

ชื่อโครงการวิจัย	การศึกษาชนิดและปริมาณของสารฟลาวาโนน (Flavanone) ในส้มเขียวหวานและผลิตภัณฑ์น้ำส้ม Study of Quality and Quantity of Flavanone in Tangerines Orange and Orange Juice Products
ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก	เงินงบประมาณแผ่นดิน
ประจำปี	2551 จำนวนเงิน 230,780 บาท
ระยะเวลาการทำการวิจัย	1 ปี
ผู้ดำเนินงานวิจัย	ระติพร หาเรือนกิจ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณของสารฟลาวาโนนในส้มเขียวหวานและผลิตภัณฑ์น้ำส้มในประเทศไทย การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารฟลาวาโนนโดยเครื่องโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถภาพสูง ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวิธี FRAP ตัวอย่างส้มเขียวหวาน(*C. reteculata*) 6 ชนิด ได้แก่ ส้มสายน้ำผึ้ง ส้มโชกุน ส้มจีน ส้มบางมด ส้มฟรีมองท์ ส้มธนาธร ผลการวิเคราะห์สารฟลาวาโนน 2 ชนิด คือ สารเฮสเพอร์ริดิน และสารนาริรูทินในทุกตัวอย่าง ปริมาณสารเฮสเพอร์ริดินที่พบคือ 108.98, 81.32, 129.64, 161.22, 82.51และ 42.48 ppm โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ สารนาริรูทิน58.85, 19.32, 69.54, 28.57, 76.55 และ 14.07 ppm โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ สารอิริโอซิทินพบปริมาณต่ำในส้มสายน้ำผึ้ง ส้มโชกุน และส้มจีน ผลิตภัณฑ์น้ำส้มพาสเจอร์ไรส์พบสารเฮสเพอร์ริดินเฉลี่ย 91.23(74.58-103.83) ppmโดยน้ำหนักแห้ง สารนาริรูทินเฉลี่ย 48.24(37.83-66.35) ppmโดยน้ำหนักแห้ง ผลิตภัณฑ์ยูเอชทีพบสารเฮสเพอร์ริดินเฉลี่ย 72.37 (32.15-85.83) ppm โดยน้ำหนักแห้ง สารนาริรูทินเฉลี่ย 27.03 (13.13 – 46.19) ppmโดยน้ำหนักแห้ง สารประกอบโพลีฟีนอลในส้มเขียวหวานสดอยู่ระหว่าง25.40-37.25 มิลลิกรัมกรดแกลลิค/100 มิลลิลิตร ผลิตภัณฑ์น้ำส้มอยู่ระหว่าง17.02-37.82 มิลลิกรัมกรดแกลลิค/100 มิลลิลิตร ผลิตภัณฑ์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าส้มเขียวหวาน ผลิตภัณฑ์น้ำส้มมีปริมาณวิตามินซีสูงกว่าส้มเขียวหวานสดมาก

ABSTRACT

The research objectives are to study the quality and quantity of flavanones in som kiew wan (Tangerine) and orange juice products of Thailand. The analysis of flavanones was done by the high performance liquid chromatography. The antioxidant activity was measured by DPPH and FRAP methods. Six varieties of tangerines were analyzed including; Sainampeung, Shogun, Jeen, Bangmod, Fremont and Thanathorn. Two individual flavanones found in all samples were hesperidin and narirutin. The amount of hesperidin in each variety was 108.98, 81.32, 129.64, 161.22, 82.51 and 42.42 ppm (d.w) respectively. While the narirutin was 58.85, 19.32, 69.54, 28.57, 76.55 and 14.07 ppm (d.w) respectively. Eriocitrin was found in a trace amount in some variety which were Sainumpeung, Shogun and Jeen .

In the pasteurized products, the hesperidin content was averaged 91.23(78.58 – 103.83) and the narirutin was 48.24 (37.83 – 44.35) ppm (d.w). In the U.H.T. orange juice products, the hesperidin content was average 72.37 (32.15-85.83) ppm (d.w) and the narirutin was 27.03 (13.13 – 46.19) ppm (d.w)

The total polyphenol content for fresh tangerines ranged 25.04 - 37.25 mg gallic acid/100ml, for the products range 17.02 - 37.82 mg gallic acid/100ml

The antioxidant activities of the products were higher than the fresh tangerines.

The amounts of vitamin c in the products were also higher than the fresh tangerines.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
สารบัญตาราง	ค
สารบัญภาพ	ง
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ส้ม	3
2.2 สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในส้ม	6
2.3 สารฟลาวาโนนที่พบในส้ม	8
2.4 การใช้โครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถภาพสูงในการวิเคราะห์สารฟลาวาโนน	12
2.5 สิ่งเจือปนในผลิตภัณฑ์น้ำส้ม	13
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ	16
บทที่ 4 ผลการทดลอง	21
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	34
เอกสารอ้างอิง	35
ภาคผนวก	40

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สารอาหารที่พบในส้มเขียวหวาน 100 กรัม	3
2.2 ปริมาณวิตามินซีในส่วนต่างๆของส้ม	9
2.3 ปริมาณสารฟลาวาโนนในพืชตระกูลส้ม	11
2.4 แสดงสารฟลาวาโนน อไกลโคลฟอร์ม และไกลโคไซด์ฟอร์ม	11
2.5 แร่ธาตุในน้ำส้มและน้ำองุ่น	14
4.1 ชนิดและปริมาณสารฟลาวาโนนที่พบในส้มเขียวหวาน	21
4.2 ชนิดและปริมาณสารฟลาวาโนนที่พบในผลิตภัณฑ์น้ำส้ม	23
4.3 สารประกอบโพลีฟีนอลในส้มเขียวหวาน	25
4.4 สารประกอบโพลีฟีนอลในผลิตภัณฑ์	26
4.5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของส้มเขียวหวาน	27
4.6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์น้ำส้ม	28
4.7 องค์ประกอบทางเคมีของส้มเขียวหวาน	29
4.8 องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์น้ำส้ม	30
4.9 ค่าสหสัมพันธ์ของส้มเขียวหวาน	32
4.10 ค่าสหสัมพันธ์ของผลิตภัณฑ์น้ำส้ม	32
จ1 ความเข้มข้นต่อพื้นที่ใต้กราฟของสารอิริโอซิทิน	46
จ2 ความเข้มข้นต่อพื้นที่ใต้กราฟของสารนาริรูทิน	46
จ3 ความเข้มข้นต่อพื้นที่ใต้กราฟของสารเฮสเพอร์ริดิน	47
ฉ1 ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิค	50
ช1 ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอบิก	52

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 โครงสร้างหลักของสารฟลาโวนอยด์	8
2.2 โครงสร้างของสารฟลาวาโนน	10
จ1 กราฟมาตรฐานของสารอิริโอซิทินสำหรับการวิเคราะห์สารฟลาวาโนน	46
จ2 กราฟมาตรฐานของสารนาริรูทินสำหรับการวิเคราะห์สารฟลาวาโนน	47
จ3 กราฟมาตรฐานของสารเฮสเพอร์ริดินสำหรับการวิเคราะห์สารฟลาวาโนน	48
จ4 กราฟตัวอย่างการผสมสามาตรฐาน อิริโอซิทิน นาริรูทิน และเฮสเพอร์ริดิน	48
ฉ1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิคสำหรับวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอล	50
ช1 กราฟมาตรฐานกรดแอสคอบิกสำหรับวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ	52

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ผลไม้ตระกูลส้มจัดเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมจากทั่วโลกทั้งน้ำส้ม หรือส้มสด ผู้บริโภคสามารถได้รับคุณค่าทางโภชนาการ ประเทศไทยเรานั้นจัดเป็นประเทศหนึ่งที่สามารถปลูกส้มได้ดี ส้มที่ปลูกเป็นการค้าได้แก่ ส้มเขียวหวาน ส้มโอ ส้มตรา ส้มเกลี้ยง และมะนาว เนื่องจากส้มเป็นไม้ผลที่ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยพื้นที่สูงจึงทำให้มีการขยายพื้นที่ปลูกมากขึ้น ในปัจจุบันแหล่งปลูกส้มที่สำคัญของประเทศได้กระจายอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศ สารประกอบที่พบภายในน้ำส้มที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่นสารกลุ่ม โพลีฟีนอล วิตามินซี คาโรทีนอยด์

สารประกอบโพลีฟีนอลที่มีความสำคัญได้แก่กลุ่มฟลาโวนอยด์(Flavonoid) ซึ่งสามารถแยกตามลักษณะโครงสร้างออกเป็น 4 กลุ่มคือ ฟลาวาโนน (Flavanones), ฟลาโวน(Flavones), ฟลาโวนอล(Flavonols) และ ไอโซฟลาโวน(Isoflavones) (Kanaze *et.al.,* 2004)ซึ่งสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบมากในพืชตระกูลส้ม คือ ฟลาวาโนน ชนิดที่พบมากคือ Naringin, Hesperidin, Neohesperidin และ Narirutin ในส้มแต่ละพันธุ์มีปริมาณสารประกอบที่แตกต่างกันตามพันธุ์ ซึ่งสารในกลุ่มนี้ได้มีการวิจัยว่ามีส่วนช่วยในการลดคอเลสเตอรอลในเลือด ลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง ลดอาการแพ้ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ(Desiderio *et.al.,* 2005; Abeysinghe *et.al.,* 2007; Kanaze *et.al.,* 2004) ในประเทศบราซิลมีการศึกษาส้มพันธุ์ Pera และ Natal พบว่ามีปริมาณสารประกอบ Flavanones ในปริมาณที่แตกต่างกันและมีการเสนอให้ใช้ปริมาณสารนี้เป็นตัวควบคุมคุณภาพของน้ำส้ม(Pupin *et.al.,* 1997)

การศึกษาชนิดและปริมาณของสารในกลุ่ม Flavanones ในส้มพันธุ์ต่างๆที่ปลูกในประเทศไทย จะเป็นข้อมูลที่ใช้ในการสนับสนุนอุตสาหกรรมการปลูกและการผลิตส้มในประเทศอาจนำไปใช้ในการตรวจสอบคุณภาพของส้มและการปลอมปนของผลิตภัณฑ์น้ำส้ม

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1.ศึกษาชนิดและปริมาณสารฟลาวาโนน ที่พบในส้มเขียวหวานและผลิตภัณฑ์น้ำส้ม

1.2.2.ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและคุณลักษณะทางเคมีที่พบในส้มเขียวหวานและผลิตภัณฑ์น้ำส้ม

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาชนิดและปริมาณของสารฟลาวาโนที่พบในส้มเขียวหวาน 6 ชนิด เช่น สายน้ำผึ้ง โชกุน ฟรีมองท์ ส้มจีน บางมด และส้มธนาธร และเปรียบเทียบผลกับผลิตภัณฑ์น้ำส้มในท้องตลาดที่ผ่านกระบวนการผลิตแบบยูเอชที และพาสเจอร์ไรส์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบชนิดและปริมาณสารฟลาวาโนนที่พบในส้มเขียวหวานและผลิตภัณฑ์น้ำส้มในประเทศไทย

1.4.2 ใช้สารฟลาวาโนนเป็นแนวทางในการตรวจสอบการปลอมปนของผลิตภัณฑ์น้ำส้ม

บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ส้ม

พืชตระกูลส้มเป็นไม้ผลที่สามารถปลูกได้ในสภาพภูมิอากาศเขตกึ่งร้อน ตั้งแต่ซีกโลกเหนือเขตเมดิเตอร์เรเนียนจนถึงซีกโลกใต้ แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มใหญ่ คือ เลมอน มะนาว เกรฟฟรุต ส้มโอ และส้ม ประเทศไทยเป็นประเทศที่สามารถปลูกส้มได้ดี ส้มที่ปลูกเป็นการค้าได้แก่ ส้มเขียวหวาน ส้มโอ ส้มตรา ส้มเกลี้ยง และมะนาว เนื่องจากส้มเป็นไม้ผลที่ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยพื้นที่สูงจึงทำให้มีการขยายพื้นที่ปลูกมากขึ้น ในปัจจุบันแหล่งปลูกส้มที่สำคัญของประเทศได้กระจายอยู่ทั่วทุกภาค

ตารางที่ 2.1 สารอาหารที่พบในส้มเขียวหวาน 100 กรัม

ส่วนประกอบ	ปริมาณ
คาร์โบไฮเดรต	9.9 กรัม
โปรตีน	0.6 กรัม
ไขมัน	0.2 กรัม
แคลเซียม	31 มิลลิกรัม
วิตามินเอ	4,000 หน่วยสากล
วิตามินซี	18 มิลลิกรัม
วิตามินบี 1	0.04 มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	0.05 มิลลิกรัม

ที่มา : กองโภชนาการ กรมอนามัย (2535)

2.1.1 พันธุ์ส้มที่ปลูกในประเทศไทย

2.1.1.1. ส้มเกลี้ยง

จัดอยู่ในกลุ่มสวีทออเรนจ์ (Sweet orange) มี 2 พันธุ์คือ

- ส้มเกลี้ยงชนิดผลใหญ่ มีขนาดผลโต ทรงกลม เส้นผ่าศูนย์กลางผลมากกว่า 7.6 เซนติเมตร มีตุ่มน้ำมันเด่นชัดใหญ่กว่าส้มเกลี้ยงชนิดผลเล็ก ผิวผลสีเขียวถึงสีเขียวอมเหลือง และสีเหลืองชัดกว่าส้มเกลี้ยงชนิดผลเล็ก เนื้อหนากว่า และเหนียวลอกออกจากเนื้อผลได้ไม่

ยาก ผนังกลีบบาง แยกออกจากเนื้อได้ยาก เนื้อผลฉ่ำน้ำ เนื้อผลมีสีขาวอมเหลืองกุ้งขนาดเล็กและเกาะตัวกันไม่แน่น รสชาติเปรี้ยวอมหวาน ชันกระด้างไม่มีรก (placenta) มีเมล็ดเล็ก ลักษณะเม็ดค่อนข้างแบนคล้ายเมล็ดส้มโอ

- ส้มเกลี้ยงชนิดผลเล็ก รูปร่างผลทรงกลม มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางผลประมาณ 7-7.5 เซนติเมตร ผิวเปลือกเรียบ มีตุ่มน้ำมันไม่เด่นชัด ผิวผลสีเขียวถึงเขียวอมเหลือง เปลือกค่อนข้างหนาและเหนียว สามารถลอกเปลือกออกไม่ยากนัก ผนังกลีบแบ่งแยกออกจากกันค่อนข้างยาก กุ้งขนาดเล็กและอวบน้ำ เกาะตัวกันไม่แน่น เนื้อผลมีสีเหลืองอ่อน รสชาติหวานอมเปรี้ยว เมล็ดใหญ่กว่าส้มเขียวหวาน เปลือกหุ้มเมล็ดไม่ย่น

2.1.1.2 ส้มตรา

จัดอยู่ในกลุ่มสวีทออเรนจ์ (sweet orange) แต่รสชาติต่างจากส้มเกลี้ยง เพราะเป็นพวกที่ไม่มีกรด ในประเทศไทยเรียก ส้มเช้ง มีทรงผลลักษณะกลมสูง ฐานผลเว้าเล็กน้อย ปลายผลแบนราบ บางพันธุ์มีรอยเป็นวงกลมติดอยู่ มีร่อง หรือสาแหรก จากขั้วผลจนถึงปลายผล ผิวผลขรุขระ มีต่อมน้ำมันขนาดเล็กละเอียดมองไม่เด่นชัด ผิวผลสีเขียวอมเหลือง เปลือกค่อนข้างหนาเหนียวและแข็งกว่าเปลือกส้มเกลี้ยง เปลือกลอกออกจากเนื้อได้ง่ายกุ้งขนาดเล็กอวบน้ำ เนื้อผลแน่น เนื้อผลมีสีเหลืองอ่อนคล้ายส้มเกลี้ยง รสชาติหวานสนิทไม่มีรสเปรี้ยว ชันเหนียว มีเมล็ดน้อยหรือไม่มีเลยเมล็ดมีขนาดเล็ก บาง แบนลีบ เมล็ดที่สมบูรณ์จะมีรูปทรงยาว

2.1.1.3 ส้มเขียวหวาน

จัดอยู่ในกลุ่มแมนดาริน(mandarins) หรือแทนเจอรีน(tangerines)มีชื่อเรียกทางวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus reticulata* Blanco ลักษณะรูปทรงผลกลมแป้นคือส่วนสูงผลสั้นกว่าเส้นผ่านศูนย์กลางผล ด้านปลายผลราบ หรือเว้าเป็นแอ่งตื้นๆ ฐานผลส่วนใหญ่มน บางสายพันธุ์มีจุกขนาดเล็กและเตี้ย ผิวผลเรียบ มีตุ่มน้ำมันเกิดที่บนผิวผล ผลแก่จัดมีผิวสีเขียวอมเหลือง ส้มเขียวหวานที่ปลูกในเขตอากาศเย็น มีผิวผลสีเหลืองส้ม เปลือกบาง (ประมาณ 2 เซนติเมตร) เปลือกล่อน ปอกง่าย ผนังกลีบบางมีรกน้อย ชันนิ่ม กุ้งขนาดเล็กและสั้น ฉ่ำน้ำ เนื้อผลสีส้ม รสชาติหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อยประวัติการปลูกส้มเขียวหวาน เชื่อกันว่านำพันธุ์มาจากประเทศจีนนานกว่า 100 ปีมาแล้ว แต่ดั้งเดิมปลูกจากเมล็ด ต่อมากลายพันธุ์ไปเป็น 6 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ส้มหวาน เทพรส ชานนิ่ม หัวจุก บางมด และพันธุ์แดงหวาน จนในปัจจุบันเหลือแต่ พันธุ์บางมดพันธุ์เดียวเท่านั้น เนื่องจากพันธุ์อื่นไม่นิยมปลูกและบริโภคสำหรับพันธุ์บางมด เริ่มปลูกเป็นพันธุ์การค้าเมื่อประมาณ 70 ปีมาแล้วในเขตตำบลบางมด อำเภอบางขุนเทียน และได้แพร่กระจายต่อไปยังจังหวัดใกล้เคียง ได้แก่ จังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ราชบุรี ต่อมาได้เกิดโรคระบายในเขตแหล่งปลูกส้มเขียวหวานทำให้เกษตรกรบางรายต้องล้มเลิกการทำสวนส้มไปหลายสวน ในปัจจุบันพันธุ์ส้มเขียวหวานที่ปลูกเป็นการค้าในประเทศไทย ได้แก่

- ส้มบางมด หรือบางล่าง มีลักษณะเปลือกบาง แหล่งปลูกในเขตอำเภอบางขุนเทียน

- ส้มบางบน มีลักษณะเปลือกผลหนาแหล่งปลูกที่ ตำบลบางขุนนนท์ อำเภอ รังสิต จังหวัดแพร่และเชียงใหม่

- ส้มแหลมทองหรือแสงทอง มีขนาดผลใหญ่ แหล่งปลูกที่จังหวัดราชบุรี แหล่งปลูกเดิมอยู่ที่สมุทรสาคร

- ส้มฟรีมองทเป็นลูกผสมจากส้มพันธุ์คลีเมนไทน์กับส้มพันธุ์พองแกน นำพันธุ์จากประเทศสหรัฐอเมริกาเข้ามาทดลองปลูก เนื่องจากส้มพันธุ์นี้สามารถปรับตัวได้ดีในสภาพอากาศทางภาคเหนือของไทย จึงยังคงมีเกษตรกรปลูกกันอยู่จนถึงปัจจุบัน

- ส้มโชกุน หรือเพชรยะลา เป็นส้มที่ปลูกจากเมล็ดทางภาคใต้ของประเทศไทยเกษตรกรผู้ปลูกกล่าวว่าได้นำมาจากประเทศจีน มีขนาดผลใหญ่กว่าส้มเขียวหวานพันธุ์บางมดเล็กน้อย ลักษณะพิเศษคือมีคุณภาพผลดีเยี่ยม ชันนิ่ม ปริมาณกรดและน้ำตาลสูงทำให้มีเปอร์เซ็นต์น้ำส้มสูง สีเนื้อเป็นสีส้มจัด เป็นที่นิยมบริโภคกันมากในปัจจุบัน

- ส้มสายน้ำผึ้ง เป็นส้มชนิดเดียวกับส้มโชกุนนิยมปลูกทางภาคเหนือของประเทศไทย ปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิที่แตกต่างทำให้ผิวส้มสายน้ำผึ้งมีสีเหลืองทอง

2.1.1.4 ส้มจุก

เป็นส้มที่จัดอยู่ในกลุ่มแมนดาริน เป็นพันธุ์พื้นเมืองทางภาคใต้ของประเทศไทย โดยปลูกกันทั่วไปทางภาคใต้ตอนล่าง ลักษณะผลส้มจุก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผล 6.5-7 เซนติเมตร น้ำหนักผล 145 – 190 กรัม เนื้อผลมีปริมาณน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ เปลือกผลหนา 0.3 – 0.4 เซนติเมตร ผิวผลขรุขระ ผลที่สุกแก่มีการเปลี่ยนสีเพียงเล็กน้อยเท่านั้น มีตุ่มน้ำมันใหญ่และถี่ ฐานผลมีคอ (neck) สูง ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษประจำพันธุ์ของส้มพันธุ์นี้ จึงเรียกชื่อตามลักษณะผลว่า ส้มจุก ปลายผลราบหรือเว้าเล็กน้อย เปลือกผลล่อน ปอกง่าย กลีบผลแยกจากกันได้ง่าย ไม่มีแกนผล มีกลีบผลประมาณ 11 กลีบ ผนังกลีบหนาและเหนียว ชันเหนียว กุ้งน้ำหวานค่อนข้างยาว ฉ่ำน้ำ เนื้อผลสีเหลืองอ่อนและใส รสหวานอมเปรี้ยว โดยเฉพาะถ้าเก็บผลก่อนถึงระยะสุกแก่ผลจะเปรี้ยวมาก มีเมล็ดน้อยประมาณ 4 – 5 เมล็ดต่อผล

2.1.1.5 ส้มแก้ว

จัดเป็นส้มกลุ่มแมนดารินอีกพันธุ์หนึ่ง เป็นส้มพันธุ์พื้นเมืองทางภาคเหนือของประเทศไทย ส้มแก้วมีขนาดผลใกล้เคียงกับส้มพันธุ์คิง มีน้ำหนักผลประมาณ 300-310 กรัมต่อผล มีทรงผลกลมแป้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางผลประมาณ 8-9 เซนติเมตร สูง 7.5 เซนติเมตร เปลือก

หนา 1.5-2 เซนติเมตร มีผิวค่อนข้างเรียบ สีส้ม ตุ่มน้ำมันขนาดใหญ่ ถี่ และชัดเจน ฐานผลมน ปลายผลราบ มีกลีบผล 11 กลีบ เปลือกผลล่อน ปอกง่าย เนื้อผลสีส้ม ฉ่ำน้ำกุ้งขนาดใหญ่ รสชาติไม่หวานมาก ปริมาณน้ำตาลประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดน้อย มี 1- 2 เมล็ดต่อผล มีกลิ่นหอมคล้ายส้มจุก

2.1.1.6 ส้มโอ

ลักษณะเด่นคือ ผลใหญ่ ปลูกง่าย ดูแลรักษาง่ายกว่าส้มพันธุ์อื่น นอกจากนี้ยังเก็บรักษาได้นานเพราะมีเปลือกหนา (มงคล, 2536)

2.2 สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในส้ม

2.2.1 วิตามินซี

เป็นวิตามินที่ละลายน้ำได้พบมากในพืชตระกูลส้ม แต่สลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกความร้อน การชะล้างและการหั่น ดังนั้น จึงต้องใช้วิธีการรับประทานส้มสดๆ จึงจะได้รับวิตามินซีสูงที่สุดนอกจากนี้การเก็บส้มจากต้นนานเกินไปก็ส่งผลต่อการสูญเสียวิตามินซี การทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชันของวิตามินซีส่วนใหญ่จะทำหน้าที่ร่วมกับวิตามินอีจึงให้ผลในการต้านออกซิเดชันได้ดี วิตามินซีแสดงสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันได้โดยการทำหน้าที่ยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นบริเวณพันธะคู่ของกรดไขมันโดยเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันไปเป็นสารที่มีความเสถียรมากขึ้น(Mitsumoto *et al.,* 1991) และจับกับโลหะอิออนที่เป็นสารเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Frankel, 1996) ในเนื้อเยื่อของพืชวิตามินซีจะทำหน้าที่ปกป้องเซลล์โดยการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดจากกระบวนการออกซิเดชัน ในอาหารวิตามินซีจะทำหน้าที่กำจัดออกซิเจนที่เป็นสาเหตุให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและยังทำหน้าที่เป็นสารคีเลต (chelating agent) อีกด้วย ถึงแม้ว่าวิตามินซีจะทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชันได้ดี แต่ก็มีข้อจำกัดคือ ถ้าใช้ระดับความเข้มข้นสูงและอยู่ในสภาวะที่มีไอออนของโลหะอยู่ วิตามินซีจะแสดงสมบัติเป็นสารที่ส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Mitsumoto *et al.,* 1991) ส้มวาเลนเซีย เกรฟฟรุ๊ต และในส้มเขียวหวาน ระหว่างการสุกปริมาณวิตามินซีจะลดลงและในผลไม้ที่สุกแล้วปริมาณวิตามินซีจะต่ำที่สุด แต่มีแนวโน้มในการเพิ่มของวิตามินซีเนื่องจากปริมาณน้ำหรือการเพิ่มขนาดของผล (Nagy, 1980) และส้มซัทซูมาที่เจริญในอุณหภูมิ 20-22 องศาเซลเซียสในตอนกลางวัน และอุณหภูมิ11-13 องศาเซลเซียสในตอนกลางคืน มีปริมาณวิตามินซีมากกว่าส้มที่เจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียสในตอนกลางวัน และ 20-25 องศาเซลเซียส (Nagy, 1980)

ตารางที่ 2.2 ปริมาณวิตามินซีในส่วนต่างๆของพืชตระกูลส้ม

	mg of vitamin C/100g fresh weight					
	Peel					
Fruit, variety	flavedo	albedo	pulp	rag	seed[a]	juice
Orange, pineapple[b]	377	208		68		68
Orange, navel[c]	222		57			59
Grapefruit, Duncan[b]	237	140		44		40
Grapefruit, Marsh[b]	240	155		50		32
Grapefruit, Duncan[d]					1.7	
Lemon, Eureka[b]	129		53			44
Lemon, Eureka[c]	158		44			34

[a] Nongerminated seed

[b] Atkins และคณะ(1945)

[c] Birdsallและคณะ(1961)

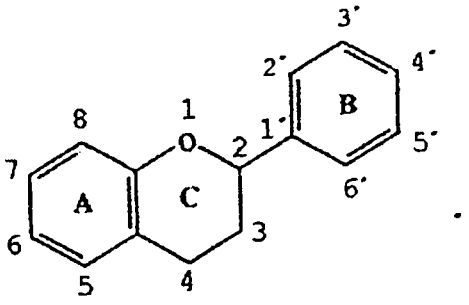
[d] Miller และ Jablonski (1949)

[e] Eaks(1964)

ที่มา : Nagy (1980) อ้างถึงโดยสุภาภรณ์ (2547)

2.2.2. สารฟลาโวนอยด์

สารฟลาโวนอยด์ที่พบในพืชตระกูลส้มเป็นสารพฤกษ์เคมีกลุ่มใหญ่ที่สุดและมีสมบัติในการต้านการออกซิเดชันที่เด่นชัดกว่าสารประกอบกลุ่มอื่นๆ ดังนั้นจึงมีผู้วิจัยถึงสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารฟลาโวนอยด์ในผลิตภัณฑ์อาหาร Das และPereira (1990) ศึกษาผลของโครงสร้างต่อการเกิดออโตออกซิเดชันในน้ำมันปาล์ม มอริน ไมริซิทิน เคมเฟอรอลและเคอร์ซิทิน ซึ่งเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอลมีสมบัติในการต้านออกซิเดชันได้ดีเมื่อใช้ในน้ำมันปาล์ม และพบว่าโครงสร้างที่มีส่วนในการสนับสนุนสมบัติการต้านการเกิดออกซิเดชัน คือจำนวนและตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิลที่อยู่ในวงแหวน B พันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2-3 และการแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซิลอิสระที่ตำแหน่ง 3และ5 บนวงแหวน C และA และหมู่ 4-oxo



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างหลักของสารฟลาโวนอยด์
ที่มา: วิวัฒน์ (2545)

2.2.3. สารแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นกลุ่มรงควัตถุที่พบได้ในเปลือกและส่วนที่เป็นน้ำของส้ม มีสีเหลืองจนถึงสีส้ม แบ่งได้ 2 กลุ่มใหญ่คือกลุ่มของแคโรทีน เช่น เบต้าแคโรทีน(ß-carotene)และไลโคปีน(lycopene) ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งคือ แซนโทฟิล (xanthophyll) เช่นเอสธาแซนทิน(asthaxanthin) และเคทธาแซนทิน แคโรทีนอยด์ที่พบในส้มจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ของส้ม ความแก่อ่อน ฤดูกาลและการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว แคโรทีนอยด์ที่พบในเปลือกส้ม เช่น อัลฟ่า และเบต้า แคโรทีน ลูทีน(lutein) และไวโอเลแซนทิน(violaxanthin) เป็นต้น จากการศึกษาของ Curl และ Baile (1956) พบว่าเปลือกและเยื่อใยของส้มพันธ์วาเลนเซีย พบสารแคโรทีนอยด์ถึง 60 เปอร์เซ็นต์ Alquezar และคณะ(2008) ทำการศึกษาส้มคารา (Cara cara) ซึ่งกลายพันธุ์มาจาก ส้มเนเวล(Naval orange) พบว่าส้มคารา ซึ่งมีเนื้อสีแดงพบสารแคโรทีนอยด์มากกว่าในส้มเนเวล เนื่องจากสารไอโซพรีนอยด์ (isoprenoid) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นพบมากในส้มคารา ซึ่งมีเนื้อสีแดงมากกว่าในส้มเนเวล

2.2.4 กรดฟีนอลิก

กรดฟีนอลิกเป็นสารอีกกลุ่มที่พบได้ในพืชตระกูลส้ม เช่น คูมาริน(coumarin) พีคูมาริน(p-coumarin) เฟอรูริก(ferulic) คาเฟอิก(caffeic) ชินนามิก(cinnamic) เป็นต้น กรดฟีนอลิกส่วนใหญ่ที่อยู่ในพืชตระกูลส้มส่วนใหญ่จะอยู่รูปที่จับกับสารประกอบอื่นๆพบมากในส่วนของเปลือก แต่จะมีปริมาณแตกต่างกันตามสายพันธุ์ สภาพภูมิอากาศและความแก่ของส้ม(Gorinstein *et al.*, 2001)

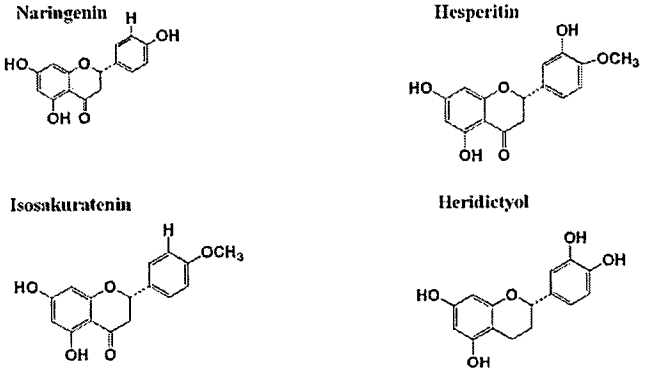
2.3 สารฟลาวาโนนที่พบในส้ม

สารฟลาวาโนนเป็นสารฟลาโวนอยด์ที่พบมากในพืชตระกูลส้ม โดยพบแตกต่างกันตามสายพันธุ์ และส่วนที่เป็นของผลพบว่า ส่วนที่เป็นของแข็งได้แก่ Albedo, segment และmembrans มีปริมาณสารฟลาวาโนนมากกว่าในน้ำ (Tomas-Barberan and Clifford, 2000)

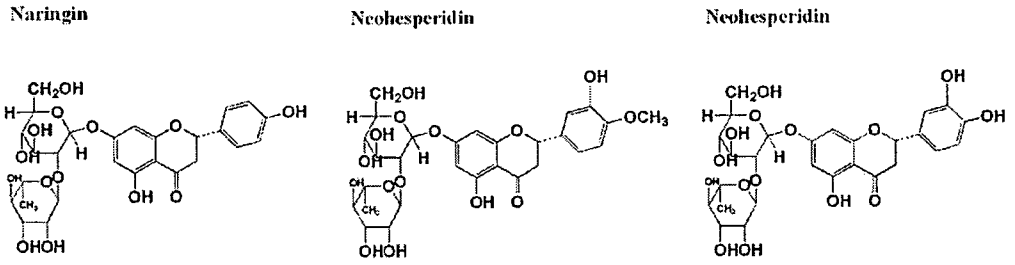
ตารางที่ 2.3 ปริมาณสารฟลาวาโนนในผลไม้ตระกูลส้ม

		Flavonone(mg/L)				
citrus fruit	type	didymin	eriocitrin	narirutin	hesperidin	reference
sweet orange	moro	4.89	-	29.8	143.2	Kelebek et al., 2008
	Sanguinello	3.77	-	32.59	112.98	
sweet orange	sweet orange	4.5	2.8	23.3	152.5	Peterson et al., 2006
Mandarin	tangerine	11.1	0.2	27	192.6	
Mandarin	palazzelli	17	-	269	489	Caro et al., 2004
C.paradisi	minneola	105	-	521	1320	
sweet orange	shamouti	66	-	588	887	
	salustiana	146		828	2060	
	pera	-	-	32.01	255.8	pupin et al., 1997
	natal	-	-	34.94	196	
Mandarin		-	-	-	493	Abeysinghe et al., 2007
sweet orange		-	-	-	640	
C. unshiu		-	-	-	400	
	orange	-	-	34	295.5	Desiderio etal., 2005
	lemon	-	160.2	-	230.8	
sweet orange	valencia	17.4		52.2	475	Mouly et al., 1998
Mandarin	Wase Satsuma	-	-	169.45	337.44	Xu et al., 2008
	Satsuma	-	-	288.12	450.6	
	Ponkan	-	-	42.63	379.92	
	Bendizao	-	-	42.44	417.94	
	Manju	-	-	43.7	415.88	
	Hybrid 439	-	-	119.8	501.44	
sweet orange	Skaggs bonaza	-	-	136.74	427.76	
	Hamlim	-	-	102.77	489.64	
	Liubencheng	-	-	89.49	506.4	
	Yinzaocheng	-	-	84.12	533.64	

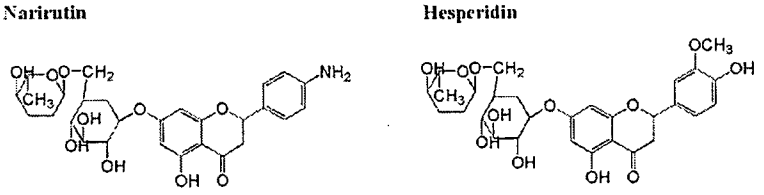
Aglycone forms



Glucoside forms: neohesperidoside



Glucoside forms: rutinoside



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของสารฟลาวาโนน

ที่มา : Majo และคณะ (2005)

2.3.1 โครงสร้างของสารฟลาวาโนน

2.3.1.1 สารฟลาวาโนนอไกลคอล (Aglycone forms)

อไกลคอลฟอร์ม(Aglycone forms) คือสารเป็นโครงสร้างหลัก สารฟลาวาโนนที่อยู่ในรูปของอไกลคอลฟอร์มเช่น นาริจินิน (nariginin (4, 5, 7-trihydroxyflavanone)) เฮสเพอร์ริ

ทิน (hesperitin (3, 5, 7-trihydroxy-4-methoxyflavanone)) ไอโซซาคูราทินีน (Isosakuratenin (3, 5-dihydroxy-4-methoxyflavanone)), ฮีริดิคทอล (Heridictyol (5, 7, 3, 4- tetrahydroxyflavanone))

2.3.1.2 สารฟลาวาโนนไกลโคไซด์ (Glycoside forms)

ไกลโคไซด์ คือสารที่มีหมู่ของสารประกอบอื่นๆเช่นน้ำตาล มาเกาะกับโครงสร้างหลัก สารฟลาวาโนนไกลโคไซด์ สามารถแบ่งออกเป็น 2 แบบตามชนิดของน้ำตาล คือ

- นีโอเฮสเพอร์ริโดส (2-O-a-L-rhamnosyl-b-D-glucose) เช่น นารินจิน (Naringenin-7-neohesperidoside), นีโอเฮสเพอร์ริดิน (Hesperitin-7-neohesperidoside) นีโออิริโอซิทิน (Heridictyol-7-neohesperidoside) สารในกลุ่มนี้มักมีรสขมพบมากในส้มเปรี้ยว *(C. aurantium)*

- รูติโนส(6-O-a-L-rhamnosyl-b-D-glucose) เช่น Hesperidin (Hesperitin-7-rutinoside), Narirutin (Naringenin-7-rutinoside) พบมากในส้มหวาน *(C. sinensis)* และส้มแมนดาริน *(C.reteculata)* สารในกลุ่มนี้ไม่มีรสชาติ

2.3.2 การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของฟลาวาโนน

ตารางที่ 2.4 แสดงสารฟลาวาโนน อไกลโคลฟอร์ม และไกลโคไซด์ฟอร์ม

Compound	C_5	C_7	$C_{3'}$	$C_{4'}$	K_a/K_c
Aglycone forms					
Hesperitin	OH	OH	OH	OCH_3	3.13±0.77
Naringenin	OH	OH	H	OH	2.73±2.75
Neohesperidoside forms					
Neohesperidin	OH	Ramnosil -1, 2 glucose	OH	OCH_3	2.14±0.30
Naringin	OH	Ramnosil -1, 2 glucose	H	OH	2.41±0.30
Rutinoside forms					
Hesperidin	OH	Ramnosil -1, 2 glucose	OH	OCH_3	2.81±0.77
Narirutin	OH	Ramnosil -1, 2 glucose	H	OH	2.46±0.22

ที่มา : Majo และคณะ (2005)

ความสัมพันธ์ระหว่างสารฟลาวาโนนในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากตารางที่ 2.6 ฟลาวาโนนที่โครงสร้างมีน้ำตาลนีโอเฮสเพอร์ริโดส(neohesperidose) ในตำแหน่งที่ 7 ของหมู่ไฮดรอกซิลมีผลต่อความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ตำแหน่ง 3

และ 4 ไม่มีผลต่อการความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ฟลาวาโนนที่โครงสร้างมีน้ำตาลนีโอเฮสเพอร์ริโดส จะลดความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (เปรียบเทียบระหว่าง นีโอเฮสเพอร์ริดิน(neoherperidin) และนีโออิริโอซิทิน(neoeriocitin)) โดยสามารถอธิบายได้ว่าน้ำตาลที่มาเกาะกับตำแหน่งที่ 7 เมื่อทำปฏิกิริยากับหมู่เมทอกซิล ในตำแหน่งที่ 4 จะลดความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของ ฟลาวาโนนที่มีน้ำตาลรูติโนส (Rutinose) (เปรียบเทียบระหว่างเฮสเพอร์ริดินและเฮสเพอร์ริทิน) ไม่แตกต่างกัน ทำให้สามารถสรุปได้ว่าไกลโคไซด์ของน้ำตาลในตำแหน่ง 7 และที่ตำแหน่ง 3 และ 4ส่งผลต่อความเป็นไปได้ในการจับกับอิเลคตรอน (Majo *et al.*, 2005)

2.3.3 ประโยชน์ทางด้านสุขภาพของสารฟลาวาโนน

สารฟลาวาโนนเฮสเพอร์ริดินมีผลในการลดการอักเสบ ซึ่งในหนูทดลองพบว่าเฮสเพอร์ริดินสามารถลดการอักเสบและบวมได้ถึง 67 เปอร์เซ็นต์ เฮสเพอร์ริดินปริมาณสูงๆ ยังสามารถยับยั้งการหลั่งสารที่ทำให้เกิดอาการอักเสบและบวม นอกจากนี้ยังต้านการหลั่งของสารฮีสตามีน เฮสเพอร์ริดินไม่ได้เป็นสารต้านการอักเสบโดยตรงแต่เมื่อได้รับสารเฮสเพอร์ริดินก่อนเป็นเวลา 30นาทีจะช่วยลดการอักเสบ (ปาริชาติ, 2545)

สารฟลาโวนอล ฟลาวานอล แอนโทไซยานิน และเฟนิลโพรพานอยด์ อาจเป็นตัวช่วยในการต้านอนุมูลอิสระหรือช่วยในการทำงานของหัวใจ(Wang *et al.*, 1997) สารนาริจินนีน และสารเฮสเพอร์ริทินช่วยในการยับยั้งมะเร็งทรวงอกในมนุษย์โดยเฉพาะเมื่อรวมอยู่กับควอซิติน(So *et al.*, 1996)และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Arachinodate 5-lipoxygenase ซึ่งจะจับกับออกซิเจนในกระบวนการหายใจกระตุ้นการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวในเยื่อบุช่องท้องของหนู สารอิริโอดิคทอล (eriodictol) สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันที่ทำให้เกิดความผิดปกติของเม็ดเลือดขาวในกระต่าย ได้มากกว่าวิตามินอี (Miyake *et al.*, 1997)และในการศึกษากับสัตว์ทดลองพบว่าสารฟลาโวนอยด์ในพืชตระกูลส้ม และลูมินอยด์ (Luminoid) สามารถแสดงให้เห็นว่าลดอาการเรื้อรังของโรคไขมันสะสมที่ผนังเส้นเลือดและโรคมะเร็ง(Poulose *et al.*, 2006)

2.4. การใช้โครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถภาพสูงในการวิเคราะห์สารฟลาวาโนน

Tura และ Robands (2002) รายงานว่าวิธีการ Reverse - phase liquid chromatography ในการหาสารโพลีฟีนอล และสารฟลาโวนอยด์เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง และการใช้ Solid

phase extraction ในการสกัดโดยมี Column C18 เป็นเฟสคงที่ พบว่ากระบวนการมีความรวดเร็วและง่ายในการทำให้สารมีความบริสุทธิ์

Kanaze และคณะ (2004) วิเคราะห์สารฟลาวาโนนเฮสเพอร์ริดิน และนาริจินินในปัสสาวะ ใช้ Column C18 โดยมีเฟสเคลื่อนที่เป็นเมทานอล/น้ำ/กรดอะซิติก (40:58:2(v/v/v)) พบว่าการเติมกรดอะซิติกในเฟสเคลื่อนที่จะช่วยยับยั้งการเกิดไอออนของสารประกอบฟีนอล และใช้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการแยก

Desiderio และคณะ (2005) ใช้วิธี Capillary electrochromatography (CE) ในการวิเคราะห์ซึ่งเป็นการผสมระหว่างการใช้ CE และ HPLC โดยใช้ Column C18 เป็นเฟสคงที่และอะซิโตรไนไตรเป็นเฟสเคลื่อนที่และที่ความเข้มข้นของอะซิโตรไนไตร 20% พบว่าสามารถแยกสารได้มีประสิทธิภาพที่สุดโดย Retention time ของสารฟลาวาโนนโดยเรียงลำดับจากสารที่ออกมาก่อน อิริโอซิทิน >นาริรูทิน >นารินจิน >เฮสเพอร์ริดิน >นีโอเฮสเพอร์ริดิน เวลาที่ใช้ในในการวิเคราะห์น้อยโดยเฉพาะเมื่อเฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยสารอินทรีย์ในปริมาณน้อย

Riberio และคณะ (2008) วิเคราะห์สารฟลาวาโนนโดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟฟีแบบของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC) ใช้ Column C18 เป็นเฟสคงที่และเฟสเคลื่อนที่ใช้สารอะซิโตรไนไตร(A) และน้ำ (B)โดยทำการวิเคราะห์แบบ Gradient elution คือการปรับความเข้มข้นของสารที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ตลอดเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ เวลา 0-8 นาที(A 23%) เวลา 8-15 นาที(A 23-65%) เวลา15-20 นาที(A 65-70%) เวลา 20-21 นาที(A 70-23%) และเวลา 21-22 นาที (A 23%)โดยตรวจวัดด้วยเครื่อง Photodiode array detector(PAD) ที่ความยาวคลื่น 200-400 nm พบว่าที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตรมีความเหมาะสมในการหาสารนารินจินและนาริจินิน ในพืชตระกูลส้ม

Xu และคณะ (2008) ใช้วิธี HPLC ในการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์และและสารฟีนอลิกที่พบในพืชตระกูลส้มที่ปลูกในประเทศจีนโดยใช้ Column C18 และใช้เฟสเคลื่อนที่เป็น เมทานอล: น้ำ: กรดอะซิติก ในสัดส่วน (37:59:4) ตรวจวัดโดยใช้ช่วงคลื่น283 นาโนเมตรพบสารฟลาวาโนน 4 ชนิด คือ นาริรูทิน เฮสเพอร์ริดิน นารินจิน และนีโอเฮสเพอร์ริดิน

2.5 สิ่งเจือปนในผลิตภัณฑ์น้ำส้ม

การดัดแปลง หรือปรับปรุงคุณภาพเป็นสิ่งที่ทำกันในผลิตภัณฑ์น้ำส้ม ปัญหาที่พบมักเกิดจากกระบวนการในการผลิตน้ำส้ม ในปัจจุบันบรรจุภัณฑ์ได้รับความสนใจในด้านการป้องกันอันตรายซึ่งไม่ได้เกิดจากกระบวนการผลิต น้ำผลไม้ส่วนใหญ่บรรจุใน กระป๋อง ขวดพลาสติก หรือกล่อง

2.5.1 การเติมน้ำ (Water addition)

บางมาตรฐานยกเว้นการเติมน้ำในผลิตภัณฑ์ เช่นผลิตภัณฑ์ที่มาจากผลิตภัณฑ์ไม่เข้มข้นและไม่ได้มาจากผลิตภัณฑ์เข้มข้น เช่น น้ำมะนาว น้ำส้ม น้ำองุ่น น้ำส้มพาสเจอร์ไรส์ น้ำส้มกระป๋อง น้ำส้มเขียวหวานกระป๋อง ซึ่งอยู่ภายใต้มาตรฐานของ USDA (The U.S. Department of Agriculture) ในบางผลิตภัณฑ์ได้รับอนุญาตให้มีการเติมน้ำได้ เช่น ผลิตภัณฑ์น้ำส้มเข้มข้น ผลิตภัณฑ์น้ำส้มแช่แข็งเข้มข้น ผลิตภัณฑ์น้ำส้มแช่แข็งที่มีการปรับปริมาณกรด ซึ่งมีการเติมน้ำมากกว่า 80% ของน้ำส้มสด การตรวจสอบเป็นไปได้ยาก แต่ก็มีการกำหนดปริมาณแร่ธาตุที่พบในน้ำส้ม น้ำส้มสดต้องมีปริมาณแร่ธาตุดังนี้

ตารางที่ 2.5 แร่ธาตุในน้ำส้มและน้ำองุ่น

	Orange juice	Grapefruit juice
Sodium	<50ppm	<50ppm
Potassium	>1400ppm	300-500ppm
Calcium	65-120ppm	100-150ppm
Magnesium	95-170ppm	90-140ppm
Phosphorus	120-130ppm	-

ที่มา: Kimball (1999)

การเติมน้ำอาจทำให้ปริมาณแร่ธาตุสูงกว่าที่กำหนด ปริมาณแร่ธาตุที่เกินกำหนดในน้ำผลไม้เป็นการแสดงการเติมน้ำในผลิตภัณฑ์ที่ผิดกฎหมาย ตั้งแต่มีการเติมเกล็ดส้มที่มีการใช้น้ำล้างเพิ่มเติม ปริมาณแร่ธาตุที่เพิ่มสูงขึ้นในน้ำผลไม้บ่งบอกได้ว่าในผลิตภัณฑ์มีการเติมเกล็ดส้ม(Pulp wash) อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้เข้มข้น (ไม่เติมเกล็ดส้ม) ได้รับการอนุญาตให้เติมน้ำได้โดยไม่ผิดกฎหมาย

2.5.2 การเติมคาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate addition)

น้ำผลไม้ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต และน้ำ การเติมคาร์โบไฮเดรตราคาถูกในน้ำผลไม้เป็นการเพิ่มผลกำไร และเป็นการปลอมปนในน้ำผลไม้ น้ำผลไม้จะถูกขายโดยใช้ปริมาณของแข็งที่ละลายเป็นตัวกำหนดราคา ซึ่งคือปริมาณคาร์โบไฮเดรต การปลอมปนของคาร์โบไฮเดรตสามารถตรวจสอบได้โดยการใช้น้ำตาลซึ่งเป็นองค์ประกอบของน้ำผลไม้ น้ำผลไม้จะประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส: กลูโคส: ฟรัคโทส ในอัตราส่วน 2:1: 1 ตามลำดับ โดยน้ำตาลกลูโคสและฟรัคโทสจัดเป็นน้ำตาลรีดิวซิ่ง (reducing sugar) ซึ่งสามารถถูกออกซิไดซ์ได้โดยการเติมสารริดิวซิ่ง เป็นวิธีที่ง่ายในการตรวจสอบคาร์โบไฮเดรตที่พบในน้ำผลไม้โดยวิธีนี้จะสามารถตรวจสอบปริมาณคาร์โบไฮเดรต

ครึ่งหนึ่งที่พบ ซึ่งจะกลายเป็นของแข็งที่ละลาย 80-90% การใช้น้ำตาลฟรัคโทสที่มาจากน้ำตาลข้าวโพด (Fructose corn syrup) หรือน้ำตาลอ้อย (Cane syrup) สามารถตรวจสอบได้โดยวิธีข้างต้น อย่างไรก็ตามการเติมน้ำตาลน้ำตาลอินเวิร์ท (Invert beet suger) น้ำตาลรีดิวซิ่ง และน้ำตาลนอนรีดิวซิ่ง ไม่สามารถตรวจสอบได้ด้วยวิธีนี้

2.5.3 การเติมเพื่อปกปิด (Cover up)

เมื่อมีการปลอมปนในน้ำผลไม้จะมีการเติมสารเพื่อปกปิดการปลอมปนนั้น เช่น การตรวจสอบการปลอมปนของเกล็ดส้ม โดยการตรวจสอบฟอร์มอล หรือฟอร์มอลดีไฮด์ การตรวจสารฟอร์มอลเป็นการตรวจสารเอมีน ในการเติมเกล็ดส้ม เกล็ดส้มจะถูกเจือจางอยู่ในกรดอะมิโนซึ่งมีปริมาณมากกว่าในน้ำผลไม้ และสามารถตรวจพบได้ อย่างไรก็ตามสามารถปกปิดได้โดยการเติมเกลืออะมิโนราคาถูกซึ่งสามารถปกปิดการเจือปนของเกล็ดส้มได้

การเติมเพื่อให้สีที่สวยในน้ำส้ม เช่นการการเติม Turmeric, annatto และ FD&C dryes เพื่อให้น้ำส้มมีสีเข้มขึ้น

2.5.4 ผสมน้ำผลไม้หรือผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้ที่ไม่ได้รับการยอมรับ (Unauthorized juice or juice product)

ผลิตภัณฑ์ที่ระบุว่าเป็นน้ำส้ม 100 เปอร์เซ็นทั้งหมด ได้รับการอนุญาตให้เติม 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำส้มเขียวหวาน หรือน้ำส้มเขียวหวานไฮบริด ซึ่งจะยังคงเรียกว่าน้ำผลไม้ 100 เปอร์เซ็นต์ การเติมน้ำส้มเขียวหวานจะช่วยในด้านสีของน้ำส้มที่มีสีอ่อนอย่างเช่นน้ำส้มจากฟลอริด้า อย่างไรก็ตามในผลิตภัณฑ์ราคาถูกยังมีการฝ่าฝืนละเมิดข้อบังคับ โดยเติมสารที่ไม่ได้รับอนุญาต แอปเปิ้ล แพร์ องุ่นขาว และเกล็ดส้ม(pulp wash) ซึ่งมีราคาถูกกว่าน้ำส้ม และการผสมลงไปในน้ำส้มเพิ่มผลกำไรให้กับผู้ผลิต แอปเปิ้ล แพร์ องุ่นขาว องุ่น และเกล็ดส้ม การปลอมปนในน้ำส้มสามารถทำการตรวจสอบโดยใช้ วิธีตรวจสอบไอโซซิตริก การปลอมปนของน้ำองุ่นสามารถตรวจสอบได้โดยการตรวจหาสารนารินจิน และนารีจีนิน อย่างไรก็ตามยังมีการอนุญาตให้เติมเกล็ดส้ม 5-10 เปอร์เซ็นต์ในน้ำส้ม สำหรับการตรวจสอบการเติมเกล็ดส้มที่ผิดกฎหมายนั้นทางฟลอริด้าได้เรียกร้องให้มีการเติมโซเดียมเบนโซเอต (sodium benzoates)ในเกล็ดส้มเพื่อใช้เป็นสารในการตรวจติดตาม ซึ่งถ้าพบโซเดียมเบนโซเอตในน้ำส้ม 100 เปอร์เซ็นต์แสดงว่ามีการเติมเกล็ดส้ม การใช้เกล็ดส้มนิยมในน้ำส้มที่มีการเติมสารกันบูด (preservatives) เช่น เบนโซเอต (benzoates) อย่างไรก็ตามการตรวจหาโซเดียมเบนโซเอตไม่ได้เป็นการยืนยันว่าในผลิตภัณฑ์น้ำส้มไม่มีการเติมเกล็ดส้ม (Kimball, 1999)

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ส้มเขียวหวาน

- ส้มบางมด จากตลาดไท เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคม
- ส้มสายน้ำผึ้ง จากตลาดไท เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคม
- ส้มโชกุน จากตลาดไท เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคม
- ส้มธนาธร จากตลาดไท เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคม
- ส้มจากจีน จากตลาดไท เก็บตัวอย่างในช่วงมกราคม
- ส้มฟรีมองท์ จากตลาดไท เก็บตัวอย่างในช่วงเดือน สิงหาคม

3.1.2 ผลิตภัณฑ์ยูเอชที

- น้ำส้มเขียวหวาน ยี่ห้อทิปโก้ เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคม
- น้ำส้มเขียวหวาน ยี่ห้อมาลี เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคม
- น้ำส้มเขียวหวาน ยี่ห้อชบา เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคม
- น้ำส้มเขียวหวาน ยี่ห้อเทสโก้โลตัส เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคม
- น้ำส้มแมนดาริน ยี่ห้อมาลี เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคม
- น้ำส้มวาเลนเซีย ยี่ห้อชบา เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคม
- น้ำส้มโชกุนยี่ห้อทิปโก้ เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคม
- น้ำส้มสายน้ำผึ้ง ยี่ห้อทิปโก้ เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคม

3.1.3 ผลิตภัณฑ์พาสเจอร์ไรส์

- น้ำส้มโชกุนพาสเจอร์ไรส์ ยี่ห้อทิปโก้ เก็บตัวอย่างเดือนมกราคม
- น้ำส้มสายน้ำผึ้งพาสเจอร์ไรส์ ยี่ห้อทิปโก้ เก็บตัวอย่างเดือนมกราคม
- น้ำส้มเขียวหวาน ยี่ห้อเอฟแอนเอน เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนสิงหาคม

3.2 เครื่องมือ

3.2.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

3.2.2 เครื่อง pH meter — Suntex SP 701 Suntex instrument,Taiwan

3.2.3 รีเฟลกโตมิเตอร์ — ATAGO N1, Japan

3.2.4 เครื่องหมุนเหวี่ยง — Beckman, America

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

3.2.5 เครื่องโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถภาพสูง	Agilent 1100,America
3.2.6 เครื่องระเหิดสุญญากาศ	Labcono, America
3.2.7 เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	UV-1601 Shimadzu, Japan
3.2.8 คอลัมน์(ใช้กับเครื่อง HPLC)	Phenomenax, C18 120x4 mm, America

3.3 สารเคมี

3.3.1 Acetronitrite (HPLC grade)	Labscan, Thailand
3.3.2 Water (HPLC grade)	Labscan, Thailand
3.3.2 Acetic acid	Merck, Germany
3.3.3 DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazayl)	Merck, Germany
3.3.4 Methanol (HPLC grade)	Merck, Germany
3.3.5 Ascorbic acid	Merck, Germany
3.3.6 2, 6 Dichloroindophenol (Sodium salt)	Merck, Germany
3.3.7 Metaphosphoric acid (HPO_3)	Merck, Germany
3.3.8 Sodium bicarbonate ($NaHCO_5$)	Merck, Germany
3.3.9 Ethanol 95%	Merck, Germany
3.3.10 Folin – Ciocalteu regent	Merck, Germany
3.3.11 Gallic acid	Sigma-Aldrich, USA
3.3.12 Sodium Carbonate	AjaxFinechem, Australia
3.3.13 TPTZ (2, 4, 6- Tris (2-pyridyl)-s-triazine)	Sigma-Aldrich, USA
3.3.14 $FeCl_3.6H_2O$	Merck,Germany
3.3.15 Acetate buffer	Merck,Germany
3.3.16 Eriocitin	Sigma, Germany
3.3.17 Hesperidin	Sigma, Germany
3.3.18 Narirutin	Chromadex, America

3.4 สถานที่ดำเนินการ

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

120220

3.5 วิธีการดำเนินการ

3.5.1 การเตรียมตัวอย่าง

3.5.1.1 การเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ วิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอล และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

คัดเลือกผลส้มที่มีขนาดสม่ำเสมอ 10 ผลต่อ 1ซ้ำ น้ำส้ม 1 กล่องต่อ 1 ซ้ำ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ผลิตภัณฑ์ นำผลส้มล้างน้ำให้สะอาดล้างน้ำให้สะอาด คั้นน้ำส้มนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยแรง 10,976 N เป็นเวลา 15 นาที เก็บตัวอย่างส่วนใส ใส่ขวดสีชาแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C เจือจางตัวอย่างตามความเหมาะสม

3.5.1.2 การเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์สารฟลาวาโนน

เตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 3.5.1.1. จากนั้นนำตัวอย่างน้ำส้มมาทำแห้งด้วยเครื่องระเหิดสุญญากาศใช้เวลาทำแห้งทั้งหมด 5 ชั่วโมงสกัดตัวอย่างด้วยเมทานอล 99% ในอัตราส่วน 1:9 เป็นเวลา 30 นาที กรองสารสกัดผ่านเมมเบรนขนาด 0.2 ไมโครเมตรเก็บตัวอย่างในขวดสีชาขนาด 2 มิลลิลิตร

3.5.2 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารฟลาวาโนน

3.5.2.1 การเตรียมสารมาตรฐานฟลาวาโนน โดยเตรียมสารมาตรฐานเฮสเพอร์ริดินความเข้มข้น 40, 60, 80, 120 และ 200 ppm สารนาริรูทินความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 ppm สารอิริโอซิทินความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ25ppm สารทั้งสามตัวผสมให้เข้ากันปรับปริมาตรเป็น 2 มิลลิลิตรด้วยเมทานอล HPLC เกรดให้ปริมาตรก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC

3.5.2.2 การวิเคราะห์โดยใช้เครื่องโครมาโตกราฟฟีแบบของเหลวสมรรถภาพสูงทำการวิเคราะห์แบบ Gradient elution โดยในช่วงแรกเวลา 0-30นาที ใช้ 20% อะซิโตรไนไตร: 80% น้ำ (ผสมกรดอะซิติก 2%) เวลา 30-45 นาที ใช้ 25% อะซิโตรไนไตร: 75% น้ำ (ผสมกรดอะซิติก 2%) อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดโดยใช้ช่วงคลื่น 283 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

3.5.3 วิธีการวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (ดัดแปลงจาก Yieldirim และคณะ (2001)

การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด อาศัยการเกิดปฏิกิริยากับ Folin-Ciocaltu แล้วได้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีน้ำเงิน ดังนั้นการหาปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลในตัวอย่างได้โดยการวัดปริมาณของสารสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร และใช้กรดแกลลิคเป็นสารมาตรฐาน

3.5.3.1 การเตรียมสารมาตรฐานของกรดแกลลิคความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยละลายกรดแกลลิค 0.02 กรัมในเอทานอล ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรจากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานดังกล่าวใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 10 มิลลิลิตรขวดละ0.05, 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 นาทีจากนั้นเติมสารละลาย Na_2CO_3ความเข้มข้น 10% จำนวน 2 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตรเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงดังกล่าวกับปริมาณกรดแกลลิคเป็นไมโครกรัม

3.5.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในตัวอย่างส้มโชกุนและส้มสายน้ำผึ้งและผลิตภัณฑ์น้ำส้ม

ปิเปตตัวอย่างน้ำส้มจากข้อ 3.5.1.1 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรใส่หลอดทดลองเติมน้ำกลั่น 9.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ขวดละ 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาทีจากนั้นเติมสารละลาย Na_2CO_3ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 2 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร ใช้เอทานอล 95%แทนตัวอย่างในการทำ Blank

3.5.4 วิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

3.5.4.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การติดตามความสามารถในการทลายอนุมูลอิสระของ DPPH (ดัดแปลงจาก Parejo *et al.,* 2002) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่ทำให้สารละลายมีสีม่วงและสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยเตรียมสารละลาย2, 2 – diphenyl-1 picrylhdrazyl (DPPH) เข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ในเอทานอล 95% ปิเปตสารละลาย DPPH 0.6 มิลลิลิตรในหลอดทดลองผสมตัวอย่างน้ำส้ม 0.1 มิลลิลิตรปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 6 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอล ตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีในที่มืด คำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สูตร

% Inhibition = [1-(Asample / A control)] x100

3.5.4.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant potential ตามวิธีของ Benzie และ Strain. (1999)

เตรียมสารละลาย FRAP Reagentโดยการผสมสารละลายทั้งหมดที่เตรียมไว้โดยมีอัตราส่วนของ อะซิเตต บัฟเฟอร์: สารละลาย TPTZ (2, 4, 6- Tris (2-pyridyl)-s-triazine): สารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ (10: 1: 1) โดยปริมาตรตามลำดับ ปิเปตสารสกัดตัวอย่างน้ำส้มจากข้อ

3.5.1.1 จำนวน 0.2 มิลลิลิตร สารละลาย FRAP Reagent 6 มิลลิลิตร ผสมกันวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี

การเตรียมสารมาตรฐานวิตามินซีโดยปิเปตวิตามินซีใส่หลอดทดลอง โดยให้แต่ละหลอดมีความเข้มข้น 5, 10, 15 และ 20ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณวิตามินซีในหน่วยไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3.5.5 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

3.5.5.1 pH โดยใช้ pH meter

3.5.5.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Brix) โดยใช้ Hand refractometer

3.5.5.3 ปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 2000) โดยทำการเตรียมตัวอย่างตามข้อ 3.5.1.1. ปิเปตตัวอย่าง 10 มิลลิลิตรเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรในขวดแก้ว จากนั้นไตเตรทกับสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 N จนได้สารละลายสีชมพูจางๆบันทึกปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ คำนวณปริมาณกรดทั้งหมด (ดูในภาคผนวก ก)

3.5.5.4 ปริมาณกรดแอสคอบิก (AOAC, 2000) เตรียมตัวอย่างตามข้อ 3.5.1.1. ปิเปตตัวอย่าง 2 มิลลิลิตร เติมสารละลายเมตาฟอสฟอริกในกรดอะซิติก 5 มิลลิลิตร ไตเตรทกับสารละลายอินโดฟีนอลจนเป็นสีชมพูจางๆ บันทึกปริมาตรสารละลายอินโดฟีนอลที่ใช้ นำค่ามาคำนวณหาปริมาณกรดแอสคอบิก (ดูในภาคผนวก ง)

3.5.5.3 ค่า Brix/acid ratio โดยใช้อัตราส่วนระหว่างค่าของแข็งที่ละลายในน้ำต่อปริมาณกรดทั้งหมด

3.5.6 การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 วิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารฟลาวาโนน

ตารางที่ 4.1 ชนิดและปริมาณสารฟลาวาโนนที่พบในส้มเขียวหวาน

ส้มเขียวหวาน	ปริมาณสารฟลาวาโนน (ppm) โดยน้ำหนักแห้ง				
	eriocitrin	narirutin	hesperidin	total	hesperidin/ narirutin
สายน้ำผึ้ง	4.75±0.53^{b}	58.85±4.28^{c}	108.98±2.95^{c}	172.58±5.17^{b}	1.85
โชกุน	2.82±0.3^{c}	19.02±0.82^{e}	81.32±1.99^{d}	103.16±2.71^{c}	4.28
ส้มจีน	6.75±0.33^{a}	69.54±7.6^{b}	129.64±23.33^{b}	201.92±30.03^{a}	1.86
บางมด	nd	28.57±1.59^{d}	161.22±16.17^{a}	189.79±14.63^{a}	5.64
ฟรีมองท์	nd	76.55±3.01^{a}	82.51±2.29^{d}	159.06±3.79^{b}	1.08
ธนาธร	nd	14.07±0.98^{f}	42.48±0.86^{e}	56.55±1.44^{d}	3.02
ค่าเฉลี่ย	2.39	43.77	101.02	147.18	2.95

nd = not detectable

อักษรที่กำกับมุมบนขวาแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

จากตาราง 4.1 แสดงการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารฟลาวาโนนในส้มเขียวหวาน 6 ชนิด คือ ส้มสายน้ำผึ้ง ส้มโชกุน ส้มจีน ส้มบางมด ส้มฟรีมองท์ และส้มธนาธร พบสารฟลาวาโนน 3 ชนิดคือ อิริโอซิทิน นาริรูทิน และเฮสเพอร์ริดิน สารฟลาวาโนนที่พบเป็นสารฟลาวาโนนไกลโคไซด์ ซึ่งมีน้ำตาลรูติโนสมาจับกับโครงสร้างในตำแหน่งที่ 7 โดยพบว่าสารเฮสเพอร์ริดิน และสารนาริรูทิน เป็นสารฟลาวาโนนที่พบมากและมีความสำคัญในส้มเขียวหวาน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Peterson และคณะ (2006) ที่พบว่าสารฟลาวาโนนที่มีความสำคัญในส้มเขียวหวานคือ สารเฮสเพอร์ริดิน และสารนาริรูทิน โดยสารอิริโอซิทินไม่พบในส้มบางมด ส้มฟรีมองท์ และส้มธนาธร และพบในปริมาณต่ำในส้มสายน้ำผึ้ง (4.75 ppm โดยน้ำหนักแห้ง) ส้มจีน(6.75 ppm โดยน้ำหนักแห้ง) และส้มโชกุน (2.82 ppm โดยน้ำหนักแห้ง) ส้มเขียวหวานมีปริมาณสารนาริรูทินเฉลี่ย 43.77 (76.55-14.07) ppm โดยน้ำหนักแห้ง สารนาริรูทินที่พบในส้มเขียวหวานชนิดต่างๆมีความแตกต่าง

กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P \leq 0.05$) ส้มฟรีมองท์พบสารนาริรูทินสูงที่สุด รองลงมาคือ ส้มจีน ส้มสายน้ำผึ้ง ส้มโชกุน ส้มบางมด และส้มธนาธรมีปริมาณสารนาริรูทินต่ำที่สุด สารเฮสเพอร์ริดินพบในปริมาณเฉลี่ย 101.02 (161.22-42.48) ppm โดยน้ำหนักแห้ง สารเฮสเพอร์ริดินที่พบในส้มเขียวหวานชนิดต่างๆมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P \leq 0.05$) โดยพบว่าส้มโชกุนมีปริมาณสารเฮสเพอร์ริดินสูงที่สุด รองลงมาคือส้มจีน ส้มสายน้ำผึ้ง ส้มฟรีมองท์ ส้มบางมด และส้มธนาธรมีปริมาณสารเฮสเพอร์ริดินต่ำที่สุด ปริมาณสารฟลาวาโนน เฮสเพอร์ริดิน และนาริรูทินที่พบในส้มโชกุนของประเทศไทยใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Petersonและคณะ (2006)ซึ่งทำการทดสอบส้มแทนเจอรีนพบสารเฮสเพอร์ริดิน (192.6 ppm) สารนาริรูทิน (27 ppm) และสารอิริโอซิทิน (0.2 ppm)

ปริมาณสารฟลาวาโนนในส้มเขียวหวานแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P \leq 0.05$) อาจเนื่องมาจากการดูแลในระหว่างการปลูก และความแก่อ่อนของส้มแตกต่างกัน ประกอบกับความแตกต่างของภูมิประเทศและปริมาณน้ำฝนส่งผลให้ปริมาณสารฟลาวาโนนที่พบแตกต่างกัน Del Río และคณะ(2004) พบว่าปริมาณเฮสเพอร์ริดินในพืชตระกูลส้มมีปริมาณสูงเมื่อพืชยังไม่สุก เมื่อเริ่มสุกสารเฮสเพอร์ริดินจะลดลง และเมื่อสุกจะมีปริมาณเฮสเพอร์ริดินต่ำที่สุด Kimbell (1999) จากการสะสมน้ำที่เพิ่มขึ้นจะทำให้สารเฮสเพอร์ริดินเจือจาง เฮสเพอร์ริดินไม่ละลายในสารละลายธรรมชาติแต่จะละลายในสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นกรด เช่นในน้ำส้ม ฤดูกาลมีผลต่อสารเฮสเพอร์ริดิน ในช่วงปลายฤดูเฮสเพอร์ริดินจะมีปริมาณสูง อาจเนื่องมาจากปริมาณกรดที่ต่ำซึ่งจะลดการละลายของสารเฮสเพอร์ริดิน และความหนาของเปลือกของผลไม้ในช่วงปลายฤดูอาจส่งผลให้ปริมาณเฮสเพอร์ริดินในน้ำสูงขึ้น จากการศึกษาของ Aisling และ Nora (2002) พบว่าฤดูกาลและแสงแดดส่งผลต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ โดยพบว่าพืชที่ปลูกในฤดูร้อนมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงกว่าในฤดูอื่นๆ และการได้รับแสงแดดที่เหมาะสมส่งผลให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงกว่าการปลูกพืชในที่ร่ม

ตารางที่ 4.2 ชนิดและปริมาณสารฟลาวาโนนที่พบในผลิตภัณฑ์น้ำส้ม

		ปริมาณสารฟลาวาโนน (ppm) โดยน้ำหนักแห้ง				
		eriocitrin	narirutin	hesperidin	total	hesperidin/ narirutin
ผลิตภัณฑ์ยูเอชที						
ทิปโก้	น้ำส้มเขียวหวาน	2.96±0.12	13.13±0.57^{g}	76.8±1.57^{b}	92.9±1.68^{e}	5.85
ทิปโก้	น้ำส้มโชกุน	nd	22.18±0.28^{e}	79.86±2.97^{b}	102.03±3.88^{cd}	3.60
มาลี	น้ำส้มเขียวหวาน	nd	39.97±2.02^{b}	85.28±1.83^{a}	125.25±3.39^{a}	2.13
ชบา	น้ำส้มเขียวหวาน	nd	22.05±2.98^{e}	77.66±1.91^{b}	99.81±4.84^{d}	3.52
ทิปโก้	น้ำส้มสายน้ำผึ้ง	nd	29.19±1.81^{c}	82.9±2.44^{a}	112.09±3.73^{b}	2.84
มาลี	น้ำส้มแมนดาริน	nd	46.19±2.19^{a}	58.54±2.82^{c}	104.73±4.23^{c}	1.26
ชบา	น้ำส้มวาเลนเซีย	nd	24.51±2.24^{d}	85.83±4.02^{a}	110.04±5.13^{b}	3.50
เทสโก้	น้ำส้มเขียวหวาน	nd	18.99±1.52^{f}	32.15±1.25^{d}	51.34±2.45^{f}	1.69
	ค่าเฉลี่ย	0.37	27.03	72.37	99.76	3.05
ผลิตภัณฑ์พาสเจอร์ไรส์						
ทิปโก้	น้ำส้มโชกุน	nd	37.83±2.55^{b}	95.3±2.73^{a}	133.13±4.11^{a}	2.52
มาลี	น้ำส้มสายน้ำผึ้ง	nd	40.46±2.7^{b}	103.83±11.53^{a}	144.39±13.69^{a}	2.57
เอฟแอนเอน	น้ำส้มเขียวหวาน	2.52±0.67	66.35±4.0^{a}	74.58±5.67^{b}	143.65±9.69a	1.12
	ค่าเฉลี่ย	0.84	48.24	91.23	140.32	2.07

nd = not detectable

อักษรที่กำกับมุมบนขวาแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

จากตารางที่ 4.2 แสดงการวิเคราะห์สารฟลาวาโนนที่พบในผลิตภัณฑ์น้ำส้มยูเอชที และน้ำส้มพาสเจอร์ไรส์ที่วางขายในท้องตลาดของประเทศไทยพบสารฟลาวาโนน 3 ชนิดคือ สารอิริโอซิทิน สารนาริรูทิน และสารเฮสเพอร์ริดิน โดยพบว่าสารเฮสเพอร์ริดิน และสารนาริรูทิน มีความสำคัญในผลิตภัณฑ์น้ำส้ม เช่นเดียวกับในส้มเขียวหวานสด สารอิริโอซิทินพบในผลิตภัณฑ์ทิปโก้น้ำส้มเขียวหวานแบบยูเอชที (2.96 ppm โดยน้ำหนักแห้ง) และผลิตภัณฑ์เอฟแอนเอนน้ำส้มเขียวหวาน (2.52 ppm โดยน้ำหนักแห้ง) ไม่พบในผลิตภัณฑ์ยูเอชที และพาสเจอร์ไรส์ชนิดอื่นๆ ที่นำมาทดสอบ ผลิตภัณฑ์ยูเอชทีพบว่าผลิตภัณฑ์มาลีน้ำส้มเขียวหวานมีปริมาณสารเฮสเพอร์ริดินและนาริรูทินสูงที่สุด(85.28, 39.97 ppm โดยน้ำหนักแห้ง) รองมาคือทิปโก้น้ำส้มสายน้ำผึ้ง(82.19, 29.19 ppm โดยน้ำหนักแห้ง) ชบาน้ำส้มวาเลนเซีย (85.83, 24.51 ppm โดยน้ำหนักแห้ง) และเทสโก้

น้ำส้มเขียวหวานมีปริมาณต่ำที่สุด(32.15, 18.99 ppm โดยน้ำหนักแห้ง) ผลิตภัณฑ์พาสเจอร์ไรส์พบว่าเอฟแอนเอนมีปริมาณสารเฮสเพอร์ริดินและนาริรูทินสูงที่สุด (74.58, 66.35 ppm โดยน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือมาลีน้ำส้มสายน้ำผึ้ง(103.83, 40.46 ppm โดยน้ำหนักแห้ง) และทิปโก้น้ำส้มโชกุน (95.3, 37.83 ppm โดยน้ำหนักแห้ง)สารเฮสเพอร์ริดินเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลิตภัณฑ์น้ำส้มขุ่น โดยในกระบวนการผลิตสารเฮสเพอร์ริดินจะจับกับกรดในน้ำผลไม้ทำให้เกิดเป็นผลึก (Kimball, 1999)

สารเฮสเพอร์ริดินพบในผลิตภัณฑ์พาสเจอร์ไรส์เฉลี่ย 91.23(74.58-103.83) ppm โดยน้ำหนักแห้ง Vanamala และคณะ(2006) ทำการทดสอบปริมาณสารฟลาวาโนนจากน้ำส้มที่ผลิตจากน้ำส้มเข้มข้น(made from concentrate) และน้ำส้มสด (non from concentrate)ในท้องตลาดของประเทศอเมริกา บราซิล และแม็กซิโก พบสารฟลาวาโนน 3 ชนิดคือ สารเฮสเพอร์ริดิน สารนาริรูทิน และสารไดมิน น้ำส้มเข้มข้นพบสารเฮสเพอร์ริดินเฉลี่ย 441(329-528) ppm สารนาริรูทิน 67(44-78) ppm สารไดมิน 17.1(11.7-25.7)ppm ผลิตภัณฑ์จากน้ำส้มสดพบสารเฮสเพอร์ริดินเฉลี่ย 305(180-428) ppm สารนาริรูทิน 41(29.5-54.1) ppm สารไดมิน 18(11.4-31.4)ppmสารฟลาวาโนนที่พบในผลิตภัณฑ์น้ำส้มที่ผลิตในประเทศไทยมีปริมาณต่ำกว่าที่ผลิตจากประเทศอเมริกา บราซิล และแม็กซิโก ความแตกต่างของสารฟลาวาโนนในผลิตภัณฑ์น้ำส้มอาจเนื่องมาจากพันธุ์ส้มที่ต่างกัน กระบวนการผลิต และจากปัจจัยอื่นๆ

Pupin และคณะ (1997) ได้ใช้อัตราส่วนของสารเฮสเพอร์ริดินต่อสารนาริรูทินในส้ม peraมีค่าเฉลี่ย 8.4 (5.1-11.3) และน้ำส้มเข้มข้นที่ผลิตจากส้ม pera มีค่าเฉลี่ย 8.2 (6.3-9.5) พบว่าส้มสดและผลิตภัณฑ์มีอัตราส่วนของเฮสเพอร์ริดินต่อนาริรูทินใกล้เคียงกัน ถ้าผลิตภัณฑ์มีอัตราส่วนของเฮสเพอร์ริดินต่อนาริรูทินสูงกว่าส้มสดมากอาจแสดงถึงการปลอมปนของเกล็ดส้มได้

ส้มเขียวหวานที่ปลูกในประเทศไทยพบว่ามีอัตราส่วนของสารเฮสเพอร์ริดินและนาริริทินเฉลี่ย 2.95(1.08-5.64) ผลิตภัณฑ์ยูเอชทีมีค่าเฉลี่ย 3.05(1.26-5.85) และผลิตภัณฑ์พาสเจอร์ไรส์มีค่าเฉลี่ย 2.07(1.12-2.57) พบว่าผลิตภัณฑ์ยูเฮชทีมีค่าใกล้เคียงกับน้ำส้มสด และผลิตภัณฑ์พาสเจอร์ไรส์มีค่าต่ำกว่าส้มสด

4.2 วิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอล

ตารางที่ 4.3 สารประกอบโพลีฟีนอลในส้มเขียวหวาน

ส้มเขียวหวาน	สารประกอบโพลีฟีนอล (mg gallic acid/100ml)
สายน้ำผึ้ง	30.08±0.5[bc]
โชกุน	27.93±0.54[d]
ส้มจีน	30.97±0.54[b]
บางมด	37.15±0.32[a]
ฟรีมองท์	29.55±2.11[c]
ธนาธร	25.40±0.38[e]
ค่าเฉลี่ย	30.16

อักษรที่กำกับมุมบนขวาแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)
ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

แสดงผลในตารางที่ 4.3 สารประกอบโพลีฟีนอลที่พบในส้มเขียวหวานค่าเฉลี่ย 30.16(25.40-37.15) มิลลิกรัมกรดแกลลิก/100 มิลลิลิตร ส้มต่างชนิดกันมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยพบว่าส้มบางมดมีสารประกอบโพลีฟีนอลสูงที่สุด รองมาคือส้มจีน ส้มสายน้ำผึ้ง ส้มฟรีมองท์ ส้มโชกุน และส้มธนาธรมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลต่ำที่สุด ปริมาณสารโพลีฟีนอลที่พบสอดคล้องกับงานวิจัยของสุภาภรณ์ (2547) พบว่าส้มเขียวหวานมีสารประกอบโพลีฟีนอล 24.12 มิลลิกรัม/100มิลลิลิตร สารประกอบโพลีฟีนอลมีการเปลี่ยนแปลงตลอดช่วงการเจริญเติบโต สารประกอบโพลีฟีนอลจะมีปริมาณสูงสุดเมื่อผลไม้ยังไม่สุก เมื่อผลไม้เริ่มสุกสารประกอบโพลีฟีนอลจะลดต่ำลง และผลไม้ที่สุกแล้วจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลต่ำที่สุด (Xu *et al.*, 2008)

ตารางที่ 4.4 สารประกอบโพลีฟีนอลในผลิตภัณฑ์

		Total polyphenol (mg gallic acid/100ml)
ผลิตภัณฑ์ยูเอชที		
ทิปโก้	น้ำส้มเขียวหวาน	24.06±0.52[a]
ทิปโก้	น้ำส้มโชกุน	23.38±0.59[ab]
มาลี	น้ำส้มเขียวหวาน	23.89±0.7[a]
ชบา	น้ำส้มเขียวหวาน	17.02±2.0[d]
ทิปโก้	น้ำส้มสายน้ำผึ้ง	24.18±0.45[a]
มาลี	น้ำส้มแมนดาริน	22.76±0.14[b]
ชบา	น้ำส้มวาเลนเซีย	24.21±0.11[a]
เทสโก้	น้ำส้มเขียวหวาน	21.27±0.42[c]
	ค่าเฉลี่ย	22.6
ผลิตภัณฑ์พาสเจอร์ไรส์		
ทิปโก้	น้ำส้มโชกุน	23.28±0.84[b]
มาลี	น้ำส้มสายน้ำผึ้ง	24.42±0.57[b]
เอฟแอนเอน	น้ำส้มเขียวหวาน	37.82±1.82[a]
	ค่าเฉลี่ย	28.44

อักษรที่กำกับมุมบนขวาแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)
ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

แสดงผลในตารางที่ 4.4 สารระกอบโพลีฟีนอลที่พบในผลิตภัณฑ์น้ำส้มที่มีการผลิตแบบยูเอชทีและแบบพาสเจอร์ไรส์ พบว่าผลิตภัณฑ์น้ำส้มที่มีการผลิตแบบพาสเจอร์ไรส์มีสารประกอบโพลีฟีนอลเฉลี่ย 28.44 (23.28-37.82) มิลลิกรัมกรดแกลลิค/100 มิลลิลิตร สูงกว่าในผลิตภัณฑ์ยูเอชทีซึ่งมีสารประกอบโพลีฟีนอลเฉลี่ย 22.26 (17.02-24.21) มิลลิกรัมกรดแกลลิค/100 มิลลิลิตร ผลิตภัณฑ์พาสเจอร์เอฟแอนเอนน้ำส้มเขียวหวานมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลสูงที่สุด (37.82 มิลลิกรัมกรดแกลลิค/100 มิลลิลิตร) รองมาคือ มาลีน้ำส้มเขียวหวาน(24.42 มิลลิกรัมกรดแกลลิค/100 มิลลิลิตร) และทิปโก้น้ำส้มโชกุนมีปริมาณต่ำที่สุด (23.28 มิลลิกรัมกรดแกลลิค/100 มิลลิลิตร) ผลิตภัณฑ์ยูเอชทีพบว่าชบาวาเลนเซีย ทิปโก้น้ำส้มเขียวหวาน ทิปโก้น้ำส้มสายน้ำผึ้ง มาลีน้ำส้มสายน้ำผึ้ง และทิปโก้น้ำส้มโชกุนมีค่า (24.21, 24.18, 24.06, 23.89 และ 23.38 มิลลิกรัมกรดแกลลิค/100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) รองลงมาคือมาลีน้ำส้มแมนดาริน(22.76 มิลลิกรัมกรดแกลลิค/100มิลลิลิตร) เทสโก้น้ำส้มเขียวหวาน(21.27 มิลลิกรัมกรดแกล

ลิค/100มิลลิลิตร) และชบาน้ำส้มเขียวหวานมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลต่ำที่สุด(17.02 มิลลิกรัมกรดแกลลิค/100 มิลลิลิตร) ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลที่แตกต่างกันในผลิตภัณฑ์ต่างๆ อาจมาจากปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในตัวอย่างส้มก่อนทำการแปรรูปมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลแตกต่างกัน จากการศึกษาของ Klimczak และคณะ (2007) พบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2, 4 และ 6 เดือนมีผลทำให้สารประกอบโพลีฟีนอลลดลง

4.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 4.5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของส้มเขียวหวาน

ส้มเขียวหวาน	DPPH (%)	FRAP mg ascorbic/100ml
สายน้ำผึ้ง	30.94±2.28^{c}	6.49±0.6^{b}
โชกุน	23.54±0.56^{e}	5.44±0.06^{d}
ส้มจีน	28.87±0.35^{c}	6.18±0.08^{c}
บางมด	48.09±1.2^{a}	8.55±0.19^{a}
ฟรีมองท์	44.71±1.09^{b}	8.41±0.29^{a}
ธนาธร	29.83±0.39^{cd}	6.33±0.15^{c}
ค่าเฉลี่ย	34.33	6.9

อักษรที่กำกับมุมบนขวาแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)
ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และ FRAP ซึ่งวิธีทั้งสองจะแสดงความสามารถต้านอนุมูลอิสระต่อสารต่างกันโดยที่ FRAP assay ให้ผลต่อสารที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยการรีดิวซ์เหล็ก (Fe^{3+}) ให้เป็นเหล็ก (Fe^{2+}) ได้ดี (Prior *et al.*, 2005) DPPH เป็นอนุมูลอิสระสังเคราะห์ ที่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ (Arnao *et al.*, 2001) เป็นการวัดความสามารถในการจับอิเลคตรอนที่ไม่ครบคู่ (unpaired-electron)ทำให้สีที่เกิดขึ้นจางหายไป (Brand-Willam *et al.*, 1995)

จากตารางที่ 4.5 พบว่าส้มเขียวหวานต่างชนิดกันมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH พบว่าส้มบางมดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดรองมาคือส้มฟรีมองท์ ส้มสายน้ำผึ้ง ส้มธนาธร ส้มจีน และส้มโชกุนมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อวัดด้วยวิธี DPPH ต่ำ

ที่สุด(48.09, 44.71, 30.94, 29.83, 28.87, 23.54% ตามลำดับ) วิธี FRAP พบว่าส้มบางมดมีความสามารถในการต้านออกซิเดชั่นสูงที่สุด รองมาคือส้มฟรีมองท์ ส้มสายน้ำผึ้ง ส้มธนาธร และส้มโชกุนมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันต่ำที่สุด (8.85, 8.41, 6.49, 6.33, 6.18, 5.44 มิลลิกรัมกรดแอสคอบิก/100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งสองวิธีมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน เมื่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงวิธี FRAP ก็จะสูงด้วยเช่นกันความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระไม่ได้เกิดจากสารตัวใดตัวหนึ่ง แต่เป็นผลมาจากสารทุกตัวที่มีประกอบกัน(Raspirada *et al.,* 1999)

ตารางที่ 4.6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์น้ำส้ม

		DPPH (%)	FRAP mg ascorbic/100ml
ผลิตภัณฑ์ยูเอชที			
ทิปโก้	น้ำส้มเขียวหวาน	61.72±0.56^{b}	8.31±0.15^{e}
ทิปโก้	น้ำส้มโชกุน	60.97±0.3^{c}	10.38±0.07^{b}
มาลี	น้ำส้มเขียวหวาน	60.28±0.94^{c}	9.86±0.34^{c}
ชบา	น้ำส้มเขียวหวาน	20.12±0.36^{g}	4.44±0.12^{g}
ทิปโก้	น้าส้มสายน้ำผึ้ง	55.70±0.54^{e}	9.48±0.18^{d}
มาลี	น้ำส้มแมนดาริน	20.33±0.64^{g}	3.91±0.11^{h}
ชบา	น้ำส้มวาเลนเซีย	63.76±0.46^{a}	11.05±0.23^{a}
เทสโก้	น้ำส้มเขียวหวาน	23.22±0.67^{f}	4.88±0.13^{f}
	ค่าเฉลี่ย	45.76	7.79
ผลิตภัณฑ์พาสเจอร์ไรส์			
ทิปโก้	น้ำส้มโชกุน	55.13±0.13^{c}	8.48±0.35^{e}
มาลี	น้ำส้มสายน้ำผึ้ง	57.56±0.12^{b}	9.81±0.1^{b}
เอฟแอนเอน	น้ำส้มเขียวหวาน	69.72±2.19^{a}	12.49±0.22^{a}
	ค่าเฉลี่ย	60.81	10.26

อักษรที่กำกับมุมบนขวาแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)
ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

แสดงผลในตารางที่ 4.6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์น้ำส้ม พบว่าผลิตภัณฑ์น้ำส้มพาสเจอร์ไรส์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าผลิตภัณฑ์น้ำส้มยูเอชที ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์น้ำส้มยูเอชทีพบว่าชบาน้ำส้มวาเลนเซียมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (63.76%) รองมาคือทิปโก้น้ำส้มเขียวหวาน(61.72%)

ทิปโก้น้ำส้มโชกุน (60.97%) และพบว่าชบาน้ำส้มเขียวหวานความสามารถต่ำที่สุด(20.12%) เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP พบว่า ชบาวาเลนเซียมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด(11.05 มิลลิกรัมกรดแอสคอบิก/100 มิลลิลิตร) รองมาคือทิปโก้น้ำส้มโชกุน(10.38 มิลลิกรัมกรดแอสคอบิก/100 มิลลิลิตร) มาลีน้ำส้มเขียวหวาน(9.86 มิลลิกรัมกรดแอสคอบิก/100 มิลลิลิตร) และมาลีน้ำส้มแมนดารินมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด(3.91 มิลลิกรัมกรดแอสคอบิก/100 มิลลิลิตร)

ผลิตภัณฑ์พาสเจอร์ไรส์พบว่าเมื่อทดสอบโดยวิธี DPPH เอฟแอนเอนน้ำส้มเขียวหวานมีความสามารถสูงที่สุด (69.72%) รองมาคือ มาลีน้ำส้มสายน้ำผึ้ง (57.56%) และทิปโก้น้ำส้มโชกุนมีความสามารถต่ำที่สุด (55.13%) เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP พบว่าเอฟแอนเอนน้ำส้มเขียวหวานมีความสามารถสูงที่สุด (12.49 มิลลิกรัมกรดแอสคอบิก/100 มิลลิลิตร) รองมาคือมาลีน้ำส้มสายน้ำผึ้ง และทิปโก้น้ำส้มโชกุนมีความสามารถต่ำที่สุด (8.48 มิลลิกรัมกรดแอสคอบิก/100 มิลลิลิตร) ผลิตภัณฑ์น้ำส้มพบว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าส้มสดมาก อาจเนื่องมาจากปริมาณวิตามินซีที่สูงกว่ามาก มีรายงานที่แสดงว่าสารประกอบที่เกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบ Maillard reaction จะทำให้ค่าความสามารถต้านอนุมูลอิสระเมื่อวัดโดยวิธี DPPH สูงขึ้น (Kim และ Lee, 2009) การที่ผลิตภัณฑ์น้ำส้มมีสารประกอบโพลีฟีนอลต่ำกว่าในส้มสดแต่มีปริมาณวิตามินซีสูงกว่า จึงอาจกล่าวได้ว่าวิตามินซีส่งผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์น้ำส้ม

4.4 องค์ประกอบทางเคมี

ตารางที่ 4.7 องค์ประกอบทางเคมีของส้มเขียวหวาน

ส้มเขียวหวาน	ascorbic acid (mg/100ml)	pH	acid value (%)	TSS ^{o}Brix	°brix/acid ratio
สายน้ำผึ้ง	17.19±0.23^{b}	3.25±0.02^{e}	0.6±0.01^{b}	10.66±0.3^{c}	17.75±0.47^{d}
โชกุน	15.73±0.83^{bc}	3.41±0.01^{c}	0.54±0.01^{c}	9.88±0.8^{e}	18.34±0.21^{d}
ส้มจีน	17.03±0.39^{b}	3.29±0.01^{d}	0.59±0.01^{b}	11.8±0.11^{b}	20.18±0.49^{c}
บางมด	15.22±0.14^{c}	4.31±0.03^{a}	0.4±0.01^{d}	12.12±0.07^{a}	30.27±0.68^{b}
ฟรีมองท์	23.30±2.2^{a}	2.91±0.05^{f}	0.89±0.06^{a}	8.84±0.35^{f}	10.0±0.58^{e}
ธนาธร	16.89±3.23^{b}	3.77±0.01^{b}	0.52±0.01^{c}	10.13±0.09^{d}	47.64±1.41^{a}
ค่าเฉลี่ย	17.56	3.49	0.59	10.57	24.03

อักษรที่กำกับมุมบนขวาแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

แสดงผลในตารางที่ 4.7 องค์ประกอบทางเคมีของส้มเขียวหวานพบว่าส้มชนิดต่างกันมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยพบว่าส้มเขียวหวานมีวิตามินซีเฉลี่ย 17.08(12.33-23.3) มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร ส้มฟรีมองท์มีวิตามินซีสูงที่สุด รองมาคือส้มสายน้ำผึ้ง ส้มจีน ส้มธนาธรส้มโชกุน และส้มบางมดมีปริมาณวิตามินซีต่ำที่สุด ค่าpH ในส้มเขียวหวานมีค่าเฉลี่ย 3.49 (2.91-3.77) ปริมาณกรดเฉลี่ย 0.59(0.4-0.89) % ปริมาณกรดและ pH มีความสัมพันธ์กันโดยส้มเขียวหวานที่มีปริมาณกรดสูง จะมีค่า pH ต่ำ อัตราส่วนของของแข็งที่ละลายต่อค่าความเป็นกรดพบว่า มีค่าเฉลี่ย 24.03(10.0-47.64) จากรายงานของ Salumkhe และ Desai (1986) แบ่งระดับความสุกของส้มโดยใช้อัตราส่วนของ °brix/acid โดยอยู่ในช่วง 8-10 เป็นผลไม้ที่มีความสุกเล็กน้อย ช่วง 10-16 ผลไม้ที่สุกได้ที่ และมากกว่า 20 หมายถึงผลไม้ที่มีความสุกมาก เมื่อพิจารณาจาก °brix/acid พบว่าส้มฟรีมองท์ที่นำมาทดสอบเป็นผลไม้ที่มีความสุกเล็กน้อย และส้มสายน้ำผึ้ง ส้มโชกุน ส้มบางมด ส้มจีน และส้มธนาธรที่นำมาทดสอบเป็นส้มที่สุกมาก

ตารางที่ 4.8 องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์น้ำส้ม

ผลิตภัณฑ์ยูเอชที		ascorbic acid (mg/100ml)	pH	acid value (%)	TSS °Brix
ทิปโก้	น้ำส้มเขียวหวาน	27.17±0.2^{c}	3.57±0.01^{e}	0.51±0.03^{b}	11.76±0.04^{f}
ทิปโก้	น้ำส้มโชกุน	30.08±0.36^{a}	3.54±0.01^{f}	0.54±0.03^{a}	11.71±0.04^{g}
มาลี	น้ำส้มเขียวหวาน	26.97±0.25^{c}	3.5±0.01^{g}	0.49±0.02^{c}	12.59±0.02^{c}
ชบา	น้ำส้มเขียวหวาน	6.49±0.02^{f}	4.04±0.02^{b}	0.41±0.01^{e}	13.36±0.04^{a}
ทิปโก้	น้ำส้มสายน้ำผึ้ง	22.18±0.26^{d}	3.82±0.01^{c}	0.51±0.01^{b}	11.96±0.03^{e}
มาลี	น้ำส้มแมนดาริน	3.87±0.22^{g}	3.62±0.05^{d}	0.52±0.01^{b}	12.22±0.06^{d}
ชบา	น้ำส้มวาเลนเซีย	29.12±0.26^{b}	4.22±0.01^{a}	0.44±0.01^{d}	13.4±0.04^{a}
เทสโก้	น้ำส้มเขียวหวาน	8.22±0.26^{e}	3.45±0.02^{h}	0.52±0.01^{b}	12.88±0.06^{b}
	ค่าเฉลี่ย	19.26	3.72	0.49	12.48
ผลิตภัณฑ์พาสเจอร์ไรส์					
ทิปโก้	น้ำส้มโชกุน	19.73±0.25^{b}	4.03±0.05^{a}	0.47±0.01^{b}	12.64±0.04^{b}
มาลี	น้ำส้มสายน้ำผึ้ง	19.79±0.29^{b}	3.89±0.01^{b}	0.48±0.01^{b}	12.79±0.02^{a}
เอฟแอนเอน	น้ำส้มเขียวหวาน	37.45±1.73^{a}	3.11±0.05^{b}	0.71±0.07^{a}	12.8±0.12^{a}
	ค่าเฉลี่ย	25.66	3.67	0.56	12.74

อักษรที่กำกับมุมบนขวาแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

แสดงผลในตารางที่ 4.8 องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์น้ำส้มพบว่าผลิตภัณฑ์พาสเจอร์ไรส์มีปริมาณวิตามินซีเฉลี่ย 25.66 (19.73-37.45) มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร สูงกว่าในผลิตภัณฑ์ยูเอชทีซึ่งมีค่าเฉลี่ย 19.26(3.87-30.08) มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร ปริมาณวิตามินซีที่พบในผลิตภัณฑ์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ผลิตภัณฑ์ทิปโก้น้ำส้มโชกุนมีวิตามินซีสูงที่สุด (30.08 mg/100ml) รองมาคือชบาน้ำส้มวาเลนเซีย (29.12 มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร) และมาลีน้ำส้มแมนดารินมีปริมาณวิตามินซีต่ำที่สุด(3.87 มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร) ผลิตภัณฑ์น้ำส้มพาสเจอร์ไรส์พบว่าเอฟแอนเอนน้ำส้มเขียวหวานมีวิตามินซีสูงที่สุด(37.45 มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร) รองมาคือมาลีน้ำส้มสายน้ำผึ้ง(19.79 มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร) และทิปโก้น้ำส้มโชกุน(19.73 มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร) วิตามินซีมีความไวต่อการสูญเสียเนื่องจากความร้อน ปริมาณออกซิเจน (Vieira *et al* ., 2000) ออกซิเจนมีผลต่อการสลายตัวของวิตามินซีโดยเพิ่มปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Solomon และ Svanberg, 1995) และนอกจากนี้ในผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณวิตามินซีสูงอาจมีการเติมวิตามินสังเคราะห์ภายหลังกระบวนการผลิตเพื่อเพิ่มคุณค่า สำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณวิตามินซีต่ำวิตามินซีอาจสูญเสียในระหว่างกระบวนการผลิตหรือการเก็บรักษา มีการแนะนำปริมาณวิตามินซีในผลิตภัณฑ์น้ำส้มโดยกลุ่มประเทศในยุโรป (EU) และอเมริกา (US) โดย EU ได้มีคำแนะนำว่าปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มควรสูงกว่า 20 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตรในวันหมดอายุ (Polydera *et al.*, 2003).US กำหนดว่าขั้นต่ำของวิตามินซีต้องไม่ต่ำกว่า 25มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตรในวันหมดอายุ (Yeom *et al.*, 2000) ค่า pH พบว่าผลิตภัณฑ์พาสเจอร์ไรส์ 3.72(3.45-4.22) สูงกว่าในผลิตภัณฑ์ยูเอชทีซึ่งมีค่าเฉลี่ย 3.67 (3.11-4.03) ค่าความเป็นกรดพบว่าผลิตภัณฑ์ยูเอชทีมีค่าเฉลี่ย 0.56(0.47-0.71)% สูงกว่าในผลิตภัณฑ์พาสเจอร์ไรส์ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 0.49(0.41-0.54)% ค่าของแข็งที่ละลายในน้ำพบว่าผลิตภัณฑ์พาสเจอร์ไรส์มีค่าเฉลี่ย 12.74(12.64-12.8) สูงกว่าในผลิตภัณฑ์ยูเอชทีซึ่งมีค่าเฉลี่ย 12.48(11.71-13.4)

4.5 ค่าสหสัมพันธ์

ตารางที่ 4.9 ค่าสหสัมพันธ์ของส้มเขียวหวาน

	DPPH	FRAP
DPPH		
FRAP	0.977**	
eriocitrin	-0.578**	-0.556**
narirutin	0.294	0.319
hesperidin	0.422*	0.438**
polyphenol	0.654**	0.619**
ascorbic acid	0.331*	0.388**

** มีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

*มีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4.10 ค่าสหสัมพันธ์ของผลิตภัณฑ์น้ำส้ม

	DPPH	FRAP
DPPH		
FRAP	0.959**	
eriocitrin	0.398*	0.310**
narirutin	0.207	0.329**
hesperidin	0.615**	0.565**
polyphenol	0.616**	0.685**
ascorbic acid	0.955**	0.953**

** มีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

*มีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 4.9 และ4.10 แสดงให้เห็นว่าวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระDPPH และวิเคราะห์การต้านออกซิเดชั่น FRAP มีความสัมพันธ์กันในระดับสูง สารเฮสเพอร์ริดิน สารประกอบโพลีฟีนอล และกรดแอสคอบิกมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงทั้งในส้มสด และในผลิตภัณฑ์ ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระกับสารประกอบโพลีฟีนอล และวิตามินซี ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆเช่นโครงสร้างทางเคมี

ของสารแต่ละตัว การทำงานร่วมกันของสารประกอบ และความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ การให้อิเลคตรอนของสารประกอบโพลีฟีนอลกับอนุมูลอิสระ DPPH ขึ้นอยู่กับจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลที่อยู่ในโมเลกุล และความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระของหมู่ไฮดรอกซิล(Rapisarda และคณะ 2008) Xu และคณะ (2008) พบว่าสารฟลาวาโนนและวิตามินซีมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ Raspisada และคณะ (1999) พบว่าสารประกอบโพลีฟีนอลมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

สารฟลาวาโนนที่พบในส้มเขียวหวานและส้มสายน้ำผึ้งคือ สารเฮสเพอร์ริดิน สารนาริรูทิน และสารอิริโอซิทิน โดยสารฟลาวาโนนพบในปริมาณที่แตกต่างกัน สารอิริโอซิทินพบปริมาณน้อยในส้มสายน้ำผึ้ง ส้มโชกุน ส้มจีน ผลิตภัณฑ์ทิปโก้น้ำส้มเขียวหวาน และเอฟแอนเอนน้ำส้มเขียวหวาน ส้มเขียวหวานสดมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลสูงกว่าในผลิตภัณฑ์ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระพบว่าในผลิตภัณฑ์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าในส้มสดทั้งวิธี DPPH และวิธี FRAP โดยทั้งสองวิธีมีแนวโน้มเป็นไปในทางเดียวกัน ความสามารถในการต้านต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์น้ำส้มอาจมาจากปริมาณวิตามินซีที่สูงกว่าในส้มเขียวหวานสดมาก องค์ประกอบทางเคมีพบว่าผลิตภัณฑ์น้ำส้มมีประมาณวิตามินซีสูงกว่าส้มเขียวหวาน ของแข็งที่ละลาย pH ในผลิตภัณฑ์สูงกว่าในส้มเขียวหวานสด อัตราส่วนของของแข็งที่ละลายต่อความเป็นกรดพบว่าตัวอย่างส้มเขียวหวานที่นำมาทดสอบมีความสุกมาก และส้มฟรีมองท์มีความสุกได้ที่

แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์น้ำส้มบางชนิดยังไม่ได้มาตรฐานสากล และมีการเติมวิตามินซีในผลิตภัณฑ์เกือบทุกยี่ห้อ เนื่องจากปริมาณวิตามินซีในส้มสดมีต่ำกว่าในผลิตภัณฑ์

ข้อเสนอแนะ

1. ปริมาณสารฟลาวาโนนที่พบมาจากการเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานและผลิตภัณฑ์ในช่วงเดียว หากเก็บตัวอย่างในช่วงอื่นปริมาณสารฟลาวาโนนอาจมีการเปลี่ยนแปลง
2. ปริมาณสารฟลาวาโนนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์มีปริมาณน้อยกว่าในส้มสดอาจเนื่องจากกระบวนการผลิต หรือการเก็บรักษา ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของกระบวนการผลิตและเวลาในการเก็บรักษาต่อปริมาณของสารฟลาวาโนน

เอกสารอ้างอิง

กองโภชนาการ กรมอนามัย. 2532. **ตารางแสดงคุณค่าอาหารไทยในส่วนที่กินได้ 100 กรัม.** กรุงเทพฯ: กองโภชนาการ กรมอนามัย.

ปาริชาติ สักกะทำนุ. 2545. **ส้มเม็ด ฟลาโวนอยด์และวิตามินซีเสริมสุขภาพ.**สำนักพิมพ์รวมทรรศน์ กรุงเทพฯ

มงคล แซ่หลิม. 2536. **การผลิตส้ม.** ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

รุ่งทิวา วงศ์ไพศาลฤทธิ์. 2549. **สมบัติการต้านออกซิเดชั่นของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน.** วิทยานิพนธ์ สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วิวัฒน์. 2545. **บทบาทของสารประกอบฟีนอลต่อสุขภาพ.** อาหาร. 32(4) : 245-253

สุภาภรณ์ รพีศักดิ์. 2547. **ผลของการพาสเจอร์ไรส์การเก็บรักษาและสารถนอมอาหารต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มเขียวหวาน.** วิทยานิพนธ์ สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

AOAC, 2000. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 17th ed. Gaithersburg, Maryland

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

Aisling, A. S. and Nora, M.O'Brien. 2002. Dietary Flavonols: Chemistry, Food Content, and Metabolism. **Nutrition.** 18:75– 81.

Alquezar, B., Rodrigo, J .M., Zacaŕas, L. 2008. Regulation of carotenoid biosynthesis during fruit maturation in the red-fleshed orange mutant Cara Cara. **Phytochemistry.** 69: 1997–2007.

Arnoa, M., Cano, A. and Acosta, M. 2001.The hydrophilic and lipophillic contribution to total antioxidant activity. **Food Chemistry.** 73:239-244

Benzie, I. F. F.and Strain, J. J. 1996.The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': The FRAP assay.**Analytical Biochemistry**, 239(1): 70–76.

Caro, D. A., Piga, A., Vacca, V. and Agabbio M. 2004. Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. **Food Chemistry.** 84: 99–105

Curl, A.L. and Bailey, G.F. 1956. Comparision of carotenoids of Vanlencia orange peel and plup. **Journal of Agricultural Food Chem.** 4(2) : 156-159.

Das, N. P. and Pereira, T.A. 1990. Effect of flavonoids on thermal autoxidation of palm oil: structure activity and relationships. J.AM.Oil Chem. Soc. 67: 255-258.

Del Río, J.A., Fuster, M.D., Gómez, P., Porras, I., García-Lidón, A. and Ortuno, A. 2004. *Citrus limon*: a source of flavanoids of pharmaceutical interest. **Food Chemistry**. 84: 457-461.

Desiderio, C., Rossi, A.D. and Sinibaldi, M. 2005. Analysis of 7-O-glysosides in citrus juices by short-end capillary eletrochromatography. **Journal of Chromatography A.** 1081: 99-104.

Frankel,E.N 1996. Naturals Phenolic Antioxidants and their impact on Heath. In "Antioxidants food supplement in Human Heath" Editors: Packer, L., Hiramatsu. And Yoshikawa, T. Academic press, San Diego, pp385-392

Gorinstein, S., Martin-Belloso, O., Park, Y. S., Haruenkit, R., Lojek, A., Ciz, M., Caspi, A. and Libmon, I. 2001. Comparison of some biochemical characteristics of difference citrus fruits. **Food Chem**. 74: 309-315.

Kanaze, F. I., Kokkacou, E., Georgarakis, M. and Niopas, I. 2004. Validated high-performance liquid chromatographic method utilizing solid-phase extraction for the simultaneous determination of naringenin and hesperetin in human plasma. **Journal of Chromatography B.** 801: 363–367.

Kelebek, H., Canbas, A. and Selli, S. 2008.Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of blood orange juices obtained from cvs. Moro and Sanguinello (Citrus sinensis (L.) Osbeck) grown in Turkey. **Food Chemistry**. 107: 1710–1716

Kim, J.S., and Lee, Y.S. 2009. Antioxidant activity of Maillard reaction products derived from aqueous glucose/glycine, and triglycin model system as a function of heating time. **Food Chemistry,** Vol.116 (1):227-232.

Kimball, D.A. 1999. **Citrus processing**. A chapman& Hall food science book. Aspas publishers, INC . Gaitherburg, Maryland

Klimczak, I., Malecka, M., Szlachta, M. and Gliszczynska-Swiglo A. 2007. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. **Journal of Food Composition and Analysis.** 20:313–322.

Nagy, S. 1980. Vitamin C contents of citrus fruit and their products: **A review. Journal of Agricultural Food Chem.** 28: 8-18

Majo,D.D., Giammanco, M., Guardia, M.L., Tripoli, E., Giammanco,S. and Finotti,E. 2005. Flavanones in Citrus fruits: Structure-antioxidant activity relationships. **Food Research International.** 38: 11161-1166.

Mitsumoto, M., Faustman, C., Cassens, R.G., Aronold, R. N., Schaefer, D.M. and Scheller, K.K. 1991. Vitamin C and E improve pigment and lipid stability in ground beef. J.Food Sci. 56: 194-197

Miyake, Y., Yamamoto, K., Morimitsu, Y., and Osawa,T. 1997. Isolation of C-glucosulflavone from lemon peel and antioxidant activity of flavoniod compounds in lemon fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.**45:4619-4623

Mouly, P., Arzouyan, C., Gaydou, E. and Estienne, J. M. 1994. Differentiation of citrus juices by factorial discriminant analysis using liquid chromatography of flavanone glycosides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 42: 70–79.

Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J. and 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 Food Chem**. 50: 6882-6890.

Petterson, J. J., Beecher, G. R., Bhagwat, S. A., Dwyer, J. T., Gebhardt, S. E., Haytowitz, D. B. and Holden, J. M. 2006. Flavanones in oranges, tangerines (mandarins), tangors, and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature. **Journal of food Composition and analysis. 19**: S66-S73.

Pratt,D.E. 1992. Natural Antioxidants form Plant Material. In"Phenolic compounds in food and their Effects on Heath II: Antioxidants and cancer prevention" Editors: Huang,M.T ., Ho, C. T. and Lee, C. Y. American Chemical So iety,Washington D. C. pp 54-71.

Prior, R.L., Wu, X. and Schaich, K. 2005.Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 52: 1879-1886.

Polydera, A. C., Stoforos, N. G. and Taoukis, P. S. 2003. Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurized and high pressure processed reconstituted orange juice. **Journal of Food Engineering,** 60: 21–29.

Poulose, S. M., Harris, E. D. and Patil, B. S. 2006. Cyctotoxic effect of citrus luminoids: Glycosides are more lethal than aglycones agent human neuoblastoma and colonic adenocarcinoma cells.**Nutrition cancer.** 56:103-111.

Pupin, A. M., Dennis, M. J. and Toledo, M. C. F. 1998. Flavanone glycosides in Brazilian orange juice. **Food Chemistry,** 61: 275–280.

Rapisarda, P., Bianco, M.L., Pannuzzo, P. and Timpanaro, N. 2008. Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. **Postharvest Biology and Technology**. 49: 348–354.

Rapisarda, p., Tomaino, A., Lo Cascio, R., Bonima, F., De Pasquale, A. and Saija, A. 1999. Antioxidant effectiveness as influenced by Phenolic content of fresh orange juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.**47: 4718-4723.

Riberio, S.A. and Riberio-Maria, H.l. 2008. Naringin and Naringenin determination and control in grapefruit juice by a validated HPLC method. **Food Control**. 19: 432-438.

Salumke, D.K. and Desai, B.B. 1986. **Postharvest biotechnology of fruit.**Vol.1. boca Raton press.

So, F.V., Guthrei, N., Chambers, A.F., Moussa, M. and Carrol, K.K. 1996.Inhibition of human breast cancer cell proliferation and delay of mammary tumorigenesis by flavonid and citrus juice. **Nutrition and cancer**.26:167-181.

Solomon, O. and Svanberg, U. 1995. Effect of oxygen and fluorescent light on the quality of orange juice during storage at 8°C. **Food chem.** 53: 363-368.

Tomás-Barberán, F.A. and Clifford, M.N. 2000. Review flavonones, Chalcone and dihydrochalcone nature, occurrence and dietary burden. **J.Sci.Food Agric.** 80: 1073-1080

Tura, D. and Robards, K. 2002. Sample handling strategies for the determination of biophenols in food and plants. **Journal of Chomatography A.** 975:71-93.

Vanamala, J., Reddivari, L., Yoo, S. K., Pike, M. L. and Patil, S. B. 2006. Variation in the content of bioactive flavonoid in difference brands of orange and grapefruit juices.**Journal of Food Composition and Analysis**. 19: 157-166.

Vieira, M. C., Teixeira, A. A., and Silva, C. L. M. 2000. Mathematical modeling of thethermal degradation kinetics of vitamin C in cupuacbu(Theobroma grandiflorum) nectar. **Journal of Food Engineering**. 43: 1–7.

Wang, H., Cao, G. and Prior, R. L. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 45: 304-309.

Xu, G., Liu, D., Chen, J., Ye, X., Ma, Y., and Shi, J. 2008. Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in china. **Food Chemistry**. 106: 545-551

Xu, G., Ye, X., Liu, D., Ma, Y. and Chan, J. 2008.Composition and distribution of phenolic acids in Ponkan (Citrus poonensis Hort. ex Tanaka) and Huyou (*Citrus paradise* Macf . Changshanhuyou) during maturity. **Journal of Food Composition and Analysis.** 21: 382–389

Yeom, H. W., Streaker, C. B., Zhang, Q. H. and Min, D. B. 2000. Effects of pulsed electric fields on the quality of orange juice and comparison with heat pasteurization. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 48, 4597–4605.

Yildirim, A., Mavi, A., Oktay, A. A., Algur, O. F. and Bilaloglu, V. 2000.Comparison of antioxidant and antimicrobial activity of tilia (Tiliaargenta Desf. Ex. D.C.), sage (Salvia triloba L.) and black tea (Camellia sinensis L.) extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** 48, 5030–5034.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ค่าความเป็นกรด (AOAC, 2000)

สารเคมี

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N
2. ฟีนอล์ทาลีน 1%

วิธีการ

1. ปิเปตน้ำส้มที่กรองแล้ว 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
2. หยดฟีนอล์ฟทาลีน 1% จำนวน 2-3 หยด
3. ไตเตรทกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N จนได้สีชมพูจางๆนาน 30 วินาที บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ
4. การคำนวณ

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (\%)} = \frac{(V)(N)(eq.wt.)(100)}{(1000)(v)}$$

V = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้

N = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้

Eq.wt. = น้ำหนักสมมูลย์ของกรดเป็นกรัม

v = ปริมาตรของน้ำส้ม

ภาคผนวก ข
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดของน้ำส้มและผลิตภัณฑ์น้ำส้มวัดด้วย Hand refratometer บันทึกผลเป็น ° Brix ของน้ำส้มวัด 3 ซ้ำต่อ 1 ตัวอย่าง

ภาคผนวก ค
pH

วัด pH ของน้ำส้มและผลิตภัณฑ์น้ำส้มด้วยเครื่องวัด pH วัด 3 ซ้ำต่อ 1 ตัวอย่าง+

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอบิก (AOAC, 2000)

สารเคมี

1. กรดอะซิติก (CH_3COOH)
2. กรดแอสคอบิก
3. 2,6 Dichloroindophenol (Sodium salt)
4. กรดเมตาฟอสฟอริก (HPO_3)
5. โซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$)

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกในกรดอะซิติก

เจือจางกรดอะซิติก 20 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ก่อนเติมกรดเมตาฟอสฟอริก 7.5 กรัม ละลายให้เข้ากันแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 250 มิลลิลิตร

2. สารละลายกรดแอสคอบิก

ชั่งกรดแอสคอบิก 50 มิลลิกรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกในกรด อะซิติกให้ครบ 50 มิลลิลิตร

3. สารละลายอินโดฟีนอล

ละลาย 2, 6 Dichloroindophenol 50 มิลลิกรัม ในน้ำกลัน 50 มิลลิลิตรแล้วเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต 42 มิลลิกรัมละลายให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 200 มิลลิลิตร กรองแล้วเก็บในขวดสีชา

4. การเตรียมตัวอย่าง

Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 10000 rpm เป็นเวลา 15 นาที

วิธีการวิเคราะห์

1. การปรับปริมาตรสารละลายอินโดฟีนอล

1.1 ปิเปตสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกในกรดอะซิติก 5 มิลลิลิตรลงในขวดรูปชมพู่เติมสารละลายกรดแอสคอบิก 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

1.2 ไตเตรทด้วยสารละลายอินโดฟีนอลอย่างรวดเร็วจนสารละลายในข้อ 1.1 เปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน บันทึกปริมาตรสารละลายอินโดฟีนอลที่ใช้

1.3 ทำ Blank โดยใช้สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกในกรดอะซิติก 7 มิลลิลิตรเติมน้ำกลั่นปริมาตรเท่ากับสารละลายอินโดฟีนอลที่ใช้ในข้อ 1.2

1.4 ไตเตรทด้วยสารละลายอินโดฟีนอลอย่างรวดเร็วจนเปลี่ยนเป็นสีชมพูจางๆ บันทึกปริมาตรสารละลายอินโดฟีนอลที่ใช้

2. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

2.1 ปิเปตสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกในกรดอะซิติก 5 มิลลิลิตรลงในขวดรูปชมพู่เติมเติมตัวอย่างน้ำส้ม 2 มิลลิลิตร ผสมให้กัน

2.2 ไตเตรทด้วยสารละลายอินโดฟีนอลอย่างรวดเร็วจนเปลี่ยนเป็นสีชมพูจางๆ บันทึกปริมาตรสารละลายอินโดฟีนอลที่ใช้

วิธีการคำนวณ

1. การคำนวณ Titer of dye

F = Ascorbic acid (mg)/(S-B)

เมื่อ F คือ Titer of dye

Ascorbic acid (mg) คือปริมาณกรดแอสคอบิกที่ใช้คำนวณได้จาก

(ascorbic acid (mg)/ 50 ml) x 2 ml

S = สารละลายอินโดฟีนอลที่ใช้ในการปรับมาตรฐาน

B = สารละลายอินโดฟีนอลที่ใช้กับ Blank (มิลลิลิตร)

2. คำนวณปริมาณกรดแอสคอบิกในตัวอย่างคำนวณได้จากสูตร

mg ascorbic acid/ ml = (X-B)x(F/E)x(V/Y)

X = ปริมาณของอินโดฟีนอลที่ใช้กับตัวอย่าง

B = สารละลายอินโดฟีนอลที่ใช้กับ Blank (มิลลิลิตร)

F = Titer of dye

E = ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้

V = ปริมาตรของสารละลายเริ่มต้น (มิลลิลิตร)

Y = ปริมาตรของสารละลายที่นำมาไตเตรท (มิลลิลิตร)

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารฟลาวาโนน

(ดัดแปลงจาก Riberio, 2008)

สารเคมี

1. กรดอะซิติก (CH_3COOH)
2. อะซิโตรไนไตร (Acetronitri HPLC grade)
3. น้ำ (Water HPLC grade)

วิธีการเตรียมสารมาตรฐาน

1. ทำการฉีดสารมาตรฐานเพื่อทราบ Retention time ของสารมาตรฐาน เปรียบเทียบกับสารตัวอย่างที่มี Retention time เดียวกัน

2. เตรียมสารมาตรฐานเฮสเพอร์ริดินเตรียมที่ 20, 40, 60, 80 และ 100 ppm สารนาริรูทินเตรียมที่ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 ppm สารอิริโอซิทินที่ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25ppm ผสมสารทั้งสารตัวให้เข้ากันปรับปริมาตรด้วยเมทานอล HPLC เกรดให้ปริมาตรรวมเป็น 2 มิลลิลิตร

3. ฉีดสารมาตรฐานโดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็น 20% อะซิโตรไนไตร: 80% น้ำ (เจือจางกรดอะซิติก 2% ในน้ำ) เวลา 30-45 นาที ใช้ 25% อะซิโตรไนไตร: 75% น้ำ (เจือจางกรดอะซิติก 2% ในน้ำ) อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดโดยใช้ช่วงคลื่น 283 นาโนเมตร

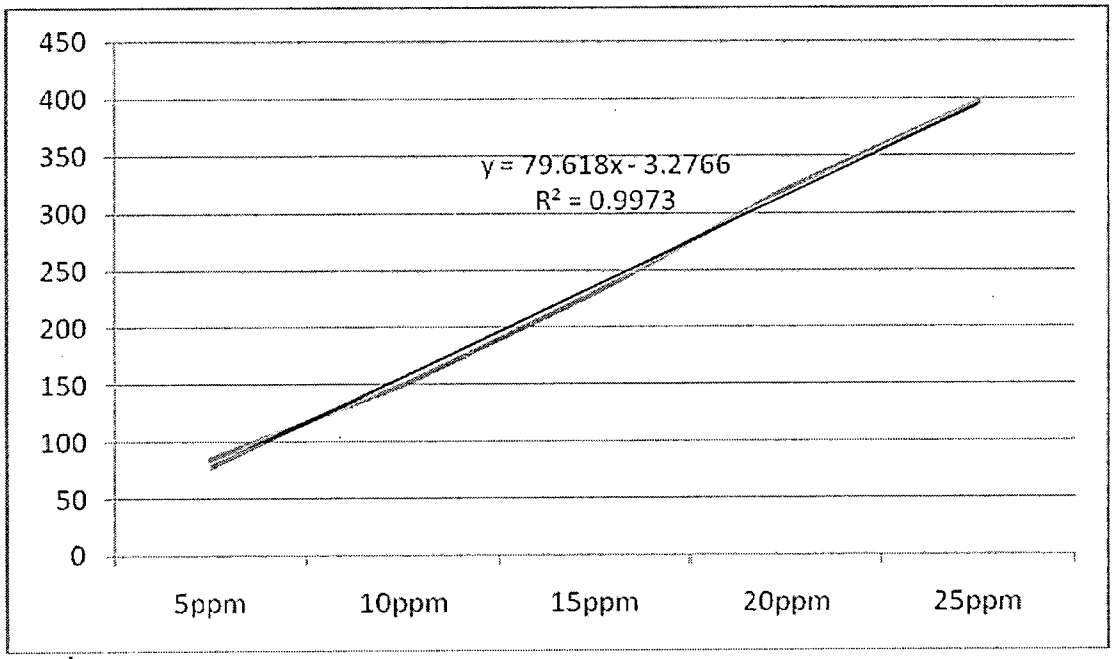
การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารฟลาวาโนน

1. ตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้ง แล้วสกัดด้วยเมนานอล HPLC gradeในอัตราส่วน 1:9 กรองด้วยตัวกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร

2. ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างโดยใช้เครื่อง HPLC ทำการวิเคราะห์แบบ Gradient elution เวลา 0-30นาที ใช้ 20% อะซิโตรไนไตร: 80% น้ำ (เจือจางกรดอะซิติก 2% ในน้ำ) เวลา 30-45 นาที ใช้ 25% อะซิโตรไนไตร: 75% น้ำ (เจือจางกรดอะซิติก 2% ในน้ำ) อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดโดยใช้ช่วงคลื่น 283 นาโนเมตร

ตารางที่ จ1 ความเข้มข้นต่อพื้นที่ใต้กราฟของสารอิริโอซิทิน

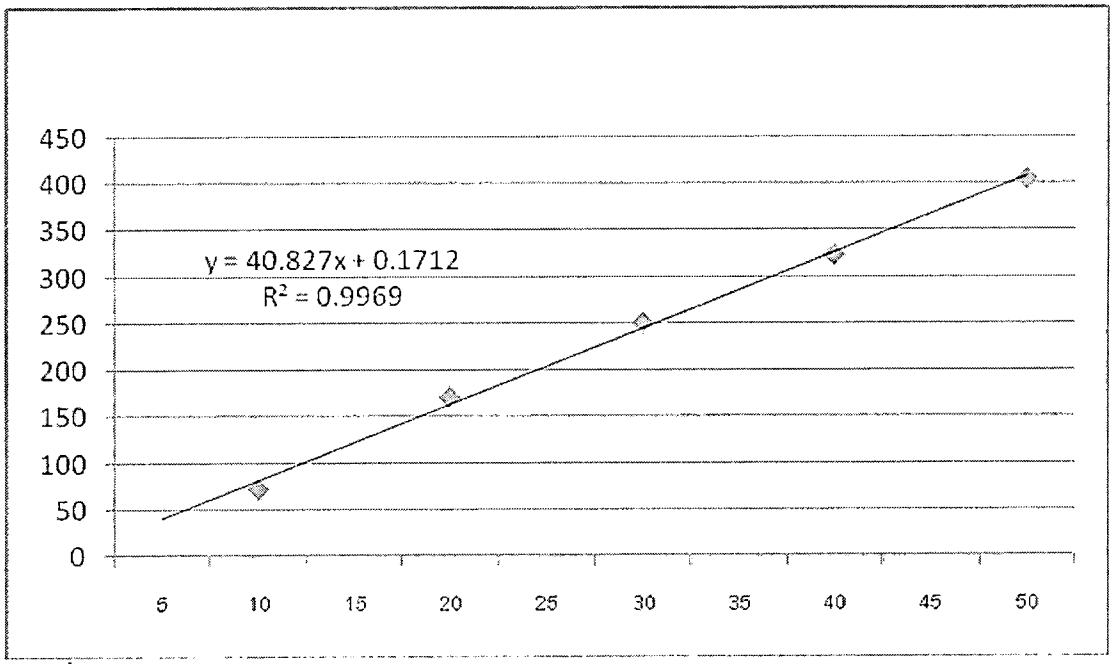
ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน(ppm)	พื้นที่ใต้กราฟ(mAu)
5	83.76
10	148.59
15	229.39
20	320
25	396.144



ภาพที่ จ1 กราฟมาตรฐานของสารอิริโอซิทินสำหรับการวิเคราะห์สารฟลาวาโนน

ตารางที่ จ2 ความเข้มข้นต่อพื้นที่ใต้กราฟของสารนาริรูทิน

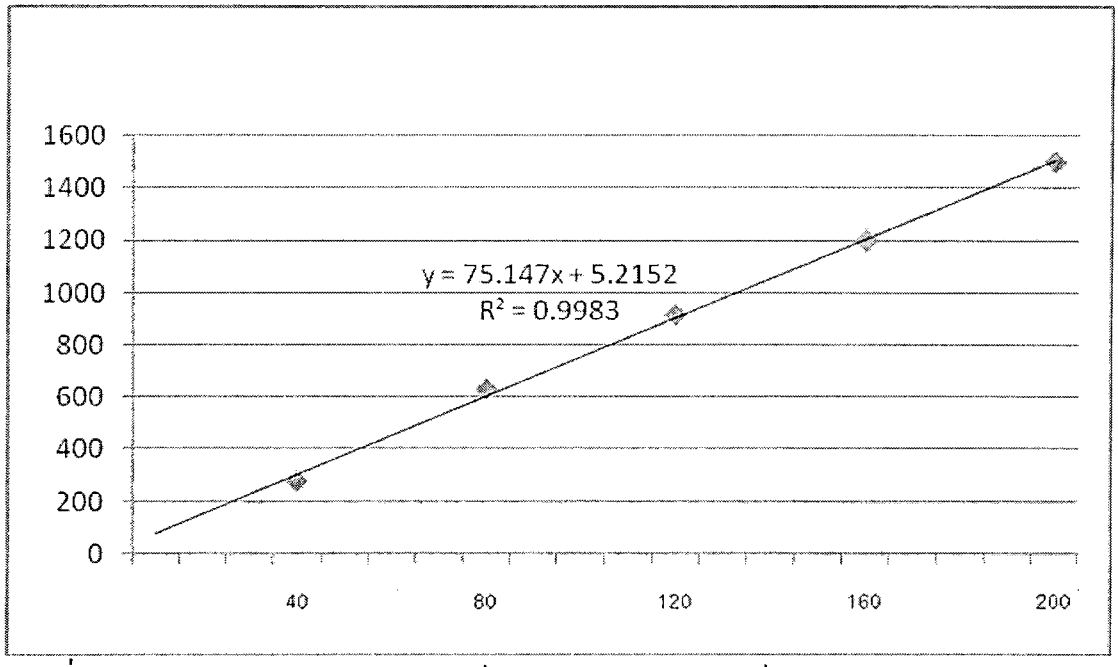
ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน(ppm)	พื้นที่ใต้กราฟ(mAu)
10	73.01
20	171.8
30	251.65
40	324.04
50	405.157



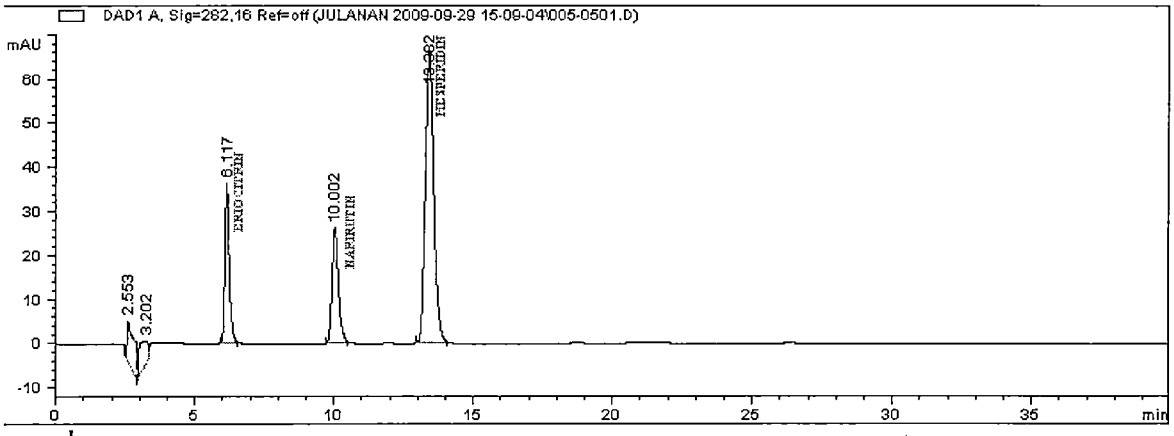
ภาพที่ จ2 กราฟมาตรฐานของสารนาริรูทินสำหรับการวิเคราะห์สารฟลาวาโนน

ตารางที่ จ3 ความเข้มข้นต่อพื้นที่ใต้กราฟของสารเฮสเพอร์ริดิน

ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน(ppm)	พื้นที่ใต้กราฟ(mAu)
40	281.88
80	633.18
120	918.096
160	1200.62
200	1501.09



ภาพที่ จ3 กราฟมาตรฐานของสารเฮสเพอร์ริดินสำหรับการวิเคราะห์สารฟลาวาโนน



ภาพที่ จ 4 กราฟตัวอย่างการผสมสามาตรฐาน อิริโอซิทิน นาริรูทิน และเฮสเพอร์ริดิน

ภาคผนวก ฉ

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล

(ดัดแปลงจาก Yieldirim และคณะ.2001)

สารเคมี

1. Folin - Ciocateu regent
2. กรดแกลลิค
3. Na_2CO_3 10%
4. เอธานอล 95%

การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิค

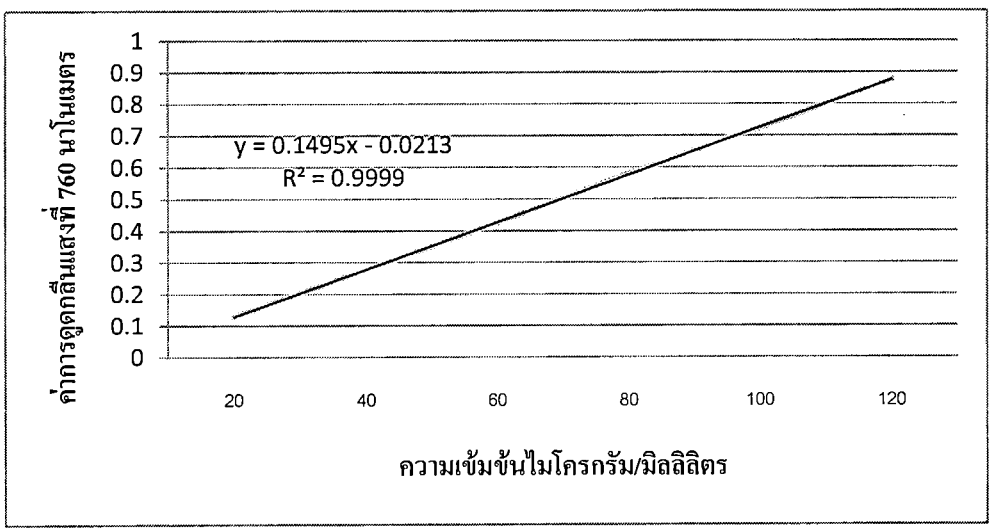
1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิคความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (โดยละลายกรดแกลลิค 0.02 กรัม ในเอทานอล 95% ปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร)
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิค 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30 และ 0.35 ตามลำดับปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นลงในหลอดทดลอง
4. ปิเปตสารละลาย Folin - Ciocateu regent ที่เจือจาง 5 เท่าหลอดละ 0.5 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที
5. เติมสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
6. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร โดยใช้ เอทานอล 95% เป็นBlank

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในน้ำส้มและผลิตภัณฑ์น้ำส้ม

1. ปิเปตสารสกัดน้ำส้ม 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 9.5 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย Folin - Ciocateu regent 0.5 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที
3. เติมสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร โดยใช้ เอทานอล 95% เป็นBlank

ตารางที่ ฉ1 ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิค

ความเข้มข้นของกรดแกลลิค (ไมโครกรัม/มิลลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง
20	0.1285
40	0.2775
60	0.4255
80	0.5805
100	0.7235
120	0.8765



ภาพที่ ฉ1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิคสำหรับวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอล

ภาคผนวก ช1

ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric reducing antioxidative potential,FRAP)

(Benzie และ Strain. 1999)

สารเคมี

1. Acetate buffer pH 3.6 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

   ชั่ง Sodium acetate trihydrate 3.1 กรัม ผสมกับ glacial acetic acid 16 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

2. สารละลาย TPTZ (2,4,6- Tris (2-pyridyl)-s-triazine) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ใน HCL ความเข้มข้น 40 มิลลิลิตรโมลาร์ ชั่ง TPTZ 0.156 กรัมละลายใน HCL ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์แล้วปรับปริมาตาตรเป็น 50 มิลลิลิตร

3. สารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

   ชั่ง $FeCl_3.6H_2O$ 0.27กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร

4. FRAP reagent

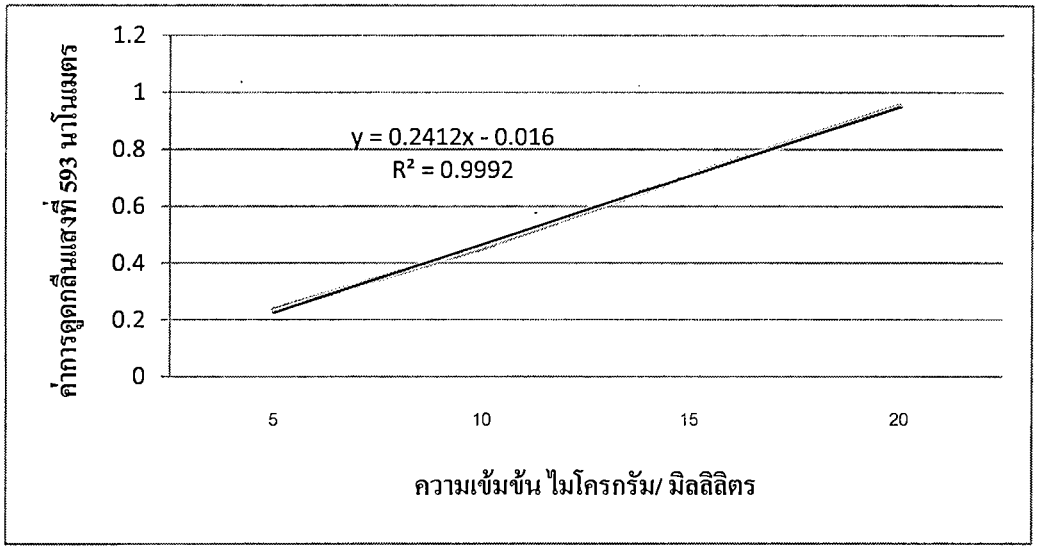
   ผสมสารละลายทั้งหมดที่เตรียมไว้โดยมีอัตราส่วนของ อะซิเตะ บัฟเฟอร์ : สารละลาย TPTZ : สารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ เป็น 10 : 1 : 1 โดยปริมาตรตามลำดับ ซึ่งต้องเตรียมใหม่ทุกวัน

การเตรียกราฟมาตรฐานวิตามินซี

1. ปีเปตสารละลายมาตรฐานวิตามินซีใส่หลอดทดลอง โดยให้แต่ละหลอดมีความเข้มข้น 5, 10, 15 และ 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรตามลำดับ
2. เติมสารละลาย FRAP reagent หลอดละ 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 นาที
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร
4. เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณวิตามินซีในหน่วยไมโครกรัม

ตารางที่ ช1 ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอบิก

ความเข้มข้นของกรดแอสคอบิก (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง
5	0.2335
10	0.454
15	0.7075
20	0.953



ภาพที่ ช1 กราฟมาตรฐานกรดแอสคอบิกสำหรับวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ภาคผนวก ช2

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

(Parejo และคณะ 2004)

สารเคมี

1. 2,2 – diphenyl-1 picrylhdrazyl
2. เอธานอล 95%

วิธีการ

1. เตรียมสารละลาย2,2 – diphenyl-1 picrylhdrazyl (DPPH) เข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ในเอทานอล 95% (โดยการชั่ง DPPH 0.0158 กรัมละลายในเอทานอล 95% ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร)
2. สารละลาย DPPH 0.6 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง ผสมตัวอย่างน้ำส้ม 0.1 มิลลิลิตรปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 6 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอล ตั้งทิ้งไว้ 30นาทีในที่มืด
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร

วิธีการคำนวณ

% Inhibition = [1-(Asample / A control)] x100