สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF TANGERINE (*CITRUS RETICULATA* BLANCO) PEEL AND SEED EXTRACTS

T061709

รุ่งทิวา วงศ์ไพศาลฤทธิ์

RUNGTHIWA WONGPAISANRIT

วพ.
ร622ส
2549

เลขหมู่..............................
เลขทะเบียน 61709
วัน,เดือน,ปี 19 ก.ค. 2549

b. 11602093
i.

วิทยานิพนธ์เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2549

ISBN 974 – 15 – 2365 - 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF TANGERINE (*CITRUS RETICULATA* BLANCO) PEEL AND SEED EXTRACTS

RUNGTHIWA WONGPAISANRIT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2006

ISBN 974 – 15 – 2365 - 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2006

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน
นักศึกษา	นางสาวรุ่งทิวา วงค์ไพศาลฤทธิ์
รหัสประจำตัว	44066001
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหาร
พ.ศ.	2549
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม

บทคัดย่อ

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดที่ได้จากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 7 ชนิดได้แก่ น้ำกลั่น เอธานอล เมธานอล อะซีโตน อะซีโตรไนไตรท์ คลอโรฟอร์มและเอทิลอะซีเตต พบว่า สารสกัดจากเปลือกส้มเขียว - หวานมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานสำหรับตัวทำละลายอินทรีย์ทุกชนิดที่ศึกษา นอกจากนี้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดที่ได้จากทั้งเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมากจะมีแนวโน้มสูงกว่าเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วน้อย เมื่อเปรียบเทียบศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการวัดความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ DPPH พบว่า สารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้ง 2 ชนิดได้ดีกว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานสำหรับตัวทำละลายอินทรีย์ทุกชนิดที่ศึกษา นอกจากนี้ตัวอย่างสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูง จะมีแนวโน้มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ$ABTS^{\bullet+}$ และDPPH สูงด้วย ($r = 0.82$ และ 0.98 ตามลำดับ) อย่างไรก็ตาม ในกรณีของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานไม่สามารถแสดงความสัมพันธ์ดังกล่าวอย่างชัดเจน จากการเปรียบเทียบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานในรูปของสารประกอบโพลีฟีนอลเท่า ๆ กันคือในช่วง 30 - 40 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมของสารสกัดพบว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานจะมีแนวโน้มความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี DPPH สูงกว่าสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Antioxidant Properties of Tangerine (*Citrus reticulata* Blanco) Peel and Seed Extracts
Student	Miss Rungthiwa Wongpaisanrit
Student ID.	44066001
Degree	Master of Science
Programme	Food Science
Year	2006
Thesis advisor	Assistant Professor Dr. Praphan Pinsirodom

ABSTRACT

Total polyphenol contents in tangerine peel and seed extracts using 7 organic solvents including distilled water, ethanol, methanol, acetone, acetronotrite, chloroform and ethyl acetate were quantified. The extracts from tangerine peel showed higher levels of total polyphenol content compared to the extracts from tangerine seed for all solvents evaluated. In addition, higher contents of total polyphenols in both peel and seed extracts were potentially observed when the more polar solvents were used. Antioxidant properties of the tangerine peel and seed extracts were then evaluated using $ABTS^{\bullet +}$ and DPPH free radical scavenging methods. The extracts from tangerine peel exhibited greater inhibition of the free radicals compared to the seed extracts for all solvents studies. The correlation between total polyphenol contents and antiradical ($ABTS^{\bullet +}$ and DPPH) capacities was noted for the extracts from tangerine seed (r = 0.82 and 0.98 respectively) but not for the extracts from the peel. When antiradical capacities of the peel and seed extracts were compared at the same level of total polyphenol content (30- 40 mg gallic acid / g extract), the extracts from tangerine seed potentially showed greater antiracical properties over the peel extracts.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จได้ด้วยความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิโรดมที่ให้เกียรติเป็นอาจารย์ควบคุมวิทยานิพนธ์ รวมทั้งกรุณาให้ความรู้ในการทดลองและคำแนะนำอันเป็นประโยชน์ ตลอดจนช่วยตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ ผศ.เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ และผศ. ดร. รุจิรา ตาปราบ ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ตลอดจนคณาจารย์ในสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาอุตสาหกรรมการเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมการเกษตร ทุกท่านที่ได้แนะแนวทางในการศึกษารวมทั้งความรู้และคำแนะนำต่างๆอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง

ขอขอบคุณสถาบันเทคโนโลยีราชมงคลที่ให้ทุนการศึกษาและสนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆ และพี่ๆนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือแนะนำในด้านต่างๆและเป็นกำลังใจให้แก่ข้าพเจ้าเสมอมา

ขอขอบคุณสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตพระนครใต้ ที่อำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ผู้เป็นที่เคารพรักยิ่ง และขอบคุณ คุณชาคริส คุณดิษธิพงศ์และ คุณจงสวัสดิ์ น้องชายที่แสนดีและน่ารักทั้ง 3 คน ที่ให้ความรัก ให้กำลังใจและให้การสนับสนุนและช่วยเหลือทุกด้านตลอดมา

ขอบคุณคุณ อ.รุ่งทิพย์ (เพื่อนแดง) คุณเบญญา (น้องเอม) อ.เสกสรร (เพื่อนอ๊อด) อ. ชลธิรา (น้องก้อย) คุณทนาวุฒิ (น้องบู) คุณสุริญญา (น้องสุ) คุณชาญชัย(น้องตู่) และคุณศิริพร (น้องหมวย) สำหรับความช่วยเหลือทุกๆอย่าง

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ข้าพเจ้าขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

รุ่งทิวา วงศ์ไพศาลฤทธิ์

28 กุมภาพันธ์ 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ...II

กิตติกรรมประกาศ..III

สารบัญ...IV

สารบัญตาราง...VI

สารบัญภาพ...VII

บทที่ 1 บทนำ...1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา...1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย..2

1.3 ขอบเขตของการวิจัย...2

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง...4

2.1 พืชตระกูลส้ม...4

2.2 ส้มเขียวหวาน..4

2.3 อนุมูลอิสระและผลเสียต่อสุขภาพ..9

2.4 การป้องกันหรือควบคุมอนุมูลอิสระ...10

2.5 สารประกอบฟีนอลิค..12

2.6 สารประกอบเฟลโวนอยด์..22

2.7 สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่พบในพืชตระกูลส้ม..31

2.8 สมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากพืชตระกูลส้ม............35

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง..38

3.1 วัตถุดิบ...38

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ..39

3.3 สถานที่ดำเนินงาน..39

3.4 วิธีดำเนินงาน...40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง......44

4.1 การเตรียมเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานอบแห้ง......44

4.2 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน
ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ 45

4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด
ในสารสกัดที่ได้จากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน......46

4.4 การตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัด
จากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยใช้อนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$...... 50

4.5 การตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัด
จากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยใช้อนุมูลอิสระ DPPH......54

4.6 การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน
ของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานเมื่อกำหนดให้
ปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลเท่า ๆ กัน 61

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ......64

บรรณานุกรม......67

ภาคผนวก......73

ประวัติผู้เขียน......80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 โครงสร้างหลักของสารประกอบฟีนอลกลุ่มต่าง ๆ 13

2.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลในอาหารและเครื่องดื่มชนิดต่าง ๆ ที่ได้จากพืช.............15

2.3 ชนิดและปริมาณของสารประอบฟีนอลในส่วนต่าง ๆ ของพืช.................................18

2.4 บทบาทของสารประกอบฟีนอลต่อการเกิดโรคมะเร็ง..20

2.5 โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบเฟลโวนอยด์ทั้ง 13 กลุ่ม....................................23

2.6 โครงสร้างทางเคมีที่สำคัญและลักษณะการแทนที่ด้วยหมู่ต่าง ๆ
บนโมเลกุลของเฟลโวนอยด์ที่พบในพืชตระกูลส้ม..28

2.7 หมู่ฟังก์ชันของเฟลโวนอยด์ชนิดต่างที่พบในพืชตระกูลส้ม
ซึ่งมีผลต่อสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน..30

4.1 ปริมาณของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดได้
เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ 45

4.2 เปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยา
ออกซิเดชันในสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์
ชนิดต่าง ๆ กับสารมาตรฐาน...58

4.3 เปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านปฏิกิริยา
ออกซิเดชันในสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์
ชนิดต่าง ๆ กับสารมาตรฐาน...58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 โครงสร้างพื้นฐานและการระบุตำแหน่งคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลเฟลโวนอยด์..........22

2.2 โครงสร้างของเฟลวาโนน..........26

2.3 โครงสร้างของเฟลโวน..........26

2.4 โครงสร้างของเฟลโวนอล..........27

2.5 หมู่ฟังก์ชันในโครงสร้างของเฟลโวนอยด์ในลักษณะต่าง ๆ ที่มีผลต่อสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน..........29

4.1 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ผ่านการอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียส..........44

4.2 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิคสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน..........47

4.3 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ..........47

4.4 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ..........48

4.5 ความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร กับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาของสารละลายปฏิกิริยาในการตรวจวัดสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้อนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วย ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ..........50

4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร กับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาของสารละลายปฏิกิริยาในการตรวจวัดสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้อนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ของสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ..........51

4.7 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี $ABTS^{\bullet+}$ ของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวาน ที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ..........52

4.8 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี $ABTS^{\bullet+}$ ของสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวาน ที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ..........52

4.9 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวาน ที่สกัดด้วย ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ..........54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.10 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวาน ที่สกัดด้วย ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ 55

4.11 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ DPPH ในสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ.................................59

4.12 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ DPPH ในสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ.................................60

4.13 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดเท่า ๆ กัน โดยคำนวณในรูปของสารประกอบโพลีฟีนอล...61

4.14 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดเท่า ๆ กัน โดยคำนวณในรูปของสารประกอบโพลีฟีนอล...62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

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

ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ให้ความสนใจในการใช้ประโยชน์จากเปลือกและเมล็ดส้มในแง่สารพฤกษเคมีที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพโดยเฉพาะสารประกอบฟีนอลิค (phenolic compounds) ซึ่งรวมถึงกรดฟีนอลิค (phenolic acids) และเฟลโวนอยด์ (flavonoids) สำหรับเฟลโวนอยด์ที่พบในพืชตระกูลส้มที่สำคัญมี 2 กลุ่ม คือโพลีเมทอกซีเลทเท็ต เฟลโวน (polymethoxylated flavones) และไกลโคซิเลทเท็ต เฟลวาโนน (glycosylated flavanones) (Bocco *et al.*, 1998) มีการค้นพบว่าสารประกอบเฟลโวนอยด์จากพืชตระกูลส้มมีสมบัติในการต้านการเกิดโรคมะเร็ง, ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และไวรัส, บรรเทาอาการอักเสบของเนื้อเยื่อ (antiinflamatory) รวมทั้งมีผลต่อความแข็งแรงของหลอดเลือด (capillary fragility) และการยับยั้งการแข็งตัวของเกล็ดเลือด(platelet aggregation) (Montanari *et al.*, 1997; Benavente-Gaarcia *et al.*, 1997) ความสามารถของสารประกอบเฟลโวนอยด์ ในการป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้น เป็นผลมาจากการที่สารประกอบดังกล่าวมีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidants) และ/หรือเป็นสารที่ออกฤทธิ์ด้วยกลไกอื่นๆ ในการป้องกันการเกิดโรคดังกล่าว (Benavente-Garcia *et al.*, 1997)

สำหรับกลไกการทำงานของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยทั่วไป จะมีสมบัติเป็นสารทำลายอนุมูลอิสระ (free radical scarvengers) และ/หรืออาจทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ (reducing aegnts) รวมทั้งความสามารถในการจับโลหะที่มีส่วนในการส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และการทำลายออกซิเจนและอนุพันธ์ของออกซิเจน เช่น ซิงเกล็ทออกซิเจน (singlet oxygen) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogerperoxide, H_2O_2) เป็นต้น (Montanari *et al.*, 1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากความสำคัญในแง่ของสารพฤกษเคมีที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ นักวิทยาศาสตร์การอาหารยังให้ความสนใจที่จะนำสารสกัดจากพืชมาใช้เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติ (natural antioxidants) ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีปัญหาเกี่ยวกับการออกซิเดชันขององค์ประกอบประเภทไขมันรวมทั้งสารอาหารต่างๆ เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันดังกล่าวจะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีคุณภาพทั้งทางด้านประสาทสัมผัสและทางด้านโภชนาการต่ำลง

ปัจจุบันอุตสาหกรรมผลิตน้ำส้มคั้นในประเทศมีการเจริญเติบโตขึ้นเป็นลำดับทำให้เกิดวัสดุเหลือทิ้งโดยเฉพาะเปลือกและเมล็ดส้ม งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานซึ่งจะได้ข้อมูลที่เป็นแนวทางการใช้ประโยชน์จากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน รวมทั้งการวิจัยในระดับต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ

1.2.1 เพื่อเปรียบเทียบสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ 7 ชนิดได้แก่ น้ำกลั่น, เอธานอล, เมธานอล, อะซีโตน, อะซีโตรไนไตรท์, คลอโรฟอร์มและเอธิลอะซีเตต โดยดัดแปลงจากวิธีของAlonsoและคณะ (2002) ซึ่งมีหลักการดังนี้ คือ สารประกอบโพลีฟีนอลจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu ให้สารประกอบที่มีสีน้ำเงิน ดังนั้น การหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในตัวอย่างที่วิเคราะห์ สามารถทำได้โดยการวัดปริมาณของสารประกอบสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นโดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น760 นาโนเมตร และใช้กรดแกลลิค (gallic acid) เป็นสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐานและเปรียบเทียบสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานดังกล่าวซึ่งการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยใช้ 2 วิธี คือ วิธีที่ 1 จะอาศัยการติดตามความ สามารถของตัวอย่างสารสกัดในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระของ2,2-azino-di(3-ethylbenzthiazoline sulfonate) หรือABTS $^{\bullet+}$ ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่ทำให้สารละลายมีสีน้ำเงินแกมเขียวและดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร ดังนั้น ถ้าสารตัวอย่างมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระของสารดังกล่าวได้ดีจะทำให้อัตราการเกิดสีน้ำเงินแกมเขียวของสารละลายปฏิกิริยาช้า ซึ่งแสดงว่าสารนั้นมีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี (Landrault *et al.*, 2001) วิธีที่ 2 จะ

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 พืชตระกูลส้ม

พืชตระกูลส้มพบได้ในแถบหนาวและแถบกึ่งร้อนของซีกโลกเหนือและใต้ส่วนใหญ่มีการกระจายตัวอยู่ในประเทศอัฟริกาตอนใต้และออสเตรเลีย พืชในตระกูลนี้มีทั้งที่เป็นไม้ยืนต้น ไม้ล้มลุกและไม้พุ่ม ใบมีทั้งชนิดใบเดี่ยวและใบประกอบใบมีทั้งชนิดใบเดี่ยวและใบประกอบ ซึ่งมีลักษณะแบบนิ้วมือและขนนก (เคหการเกษตร, 2538) พืชตระกูลส้มเป็นพืชเศรษฐกิจมานานกว่า 50 ปี พืชตระกูลส้มที่มีความสำคัญทางการค้าแบ่งได้เป็น 8 ชนิดได้แก่ *C. sinensis* เป็นกลุ่มของส้มเกลี้ยงและส้มตรา (orange) *C. paradisi* เป็นกลุ่มของเกรฟฟรุต (grapefruit) *C. reticulata* เป็นกลุ่มของส้มจีนและส้มเขียวหวาน (mandarin) *C.limon* เป็นกลุ่มของมะนาวฝรั่ง (lemon) *C. aurantifolia* เป็นกลุ่มของมะนาว (lime) *C. medica* เป็นกลุ่มของของมะนาวมะกรูด(citron) *C. aurantium* เป็นกลุ่มของส้มที่มีรสเปรี้ยว (sour orange) และ *C. grandis* เป็นกลุ่มของส้มโอ (pummelo) (Timmer and Duncan, 1999) แต่โดยทั่วไปแล้วพืชตระกูลส้มจะแบ่งเป็น 4 กลุ่มได้แก่ กลุ่มของส้มเกลี้ยงและส้มตรา (oranges group) กลุ่มของส้มจีนและส้มเขียวหวาน (mandarin group) กลุ่มของส้มโอและเกรฟฟรุต (pomelo and grapefruit group) และกลุ่มของมะนาว (common acid group) (เคหการเกษตร, 2538) พืชตระกูลส้มเป็นที่นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายในทุกภาคของประเทศไทยโดยเฉพาะในเขตภาคกลางแถบปทุมธานี นครนายก สระบุรี ภาคเหนือแถบจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แพร่ น่าน เป็นต้น ปัจจุบันมีแนวโน้มการขยายพื้นที่ปลูกไปสู่แหล่งใหม่ๆมากขึ้น เนื่องจากแหล่งเดิมประสบปัญหาอย่างรุนแรงโดยเฉพาะในเรื่องของโรคซึ่งติดมากับกิ่งพันธุ์ที่นำไปปลูก (นิด, 2544) พืชตระกูลส้มที่นิยมปลูกในประเทศไทย ได้แก่ กลุ่มส้มเปลือกล่อนหรือพวกส้มเขียวหวานและส้มจุก (*C.reticulata* Blanco) เช่น ส้มเขียวหวานบางมด ส้มโชกุน ส้มนัมเบอร์วัน กลุ่มส้มโอ (*C.grandis* L.) และกลุ่มมะนาว (*C. aurantifolia* Swingle) (เปรมปรีดิ์ , 2544)

2.2 ส้มเขียวหวาน

เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง เป็นพวกส้มเปลือกล่อน สามารถปอกเปลือกได้ง่าย ขนาดทรงพุ่มประมาณ 4 - 6 เมตรและสูงประมาณ 3.5 - 5 เมตร ผลมีขนาดสูง 5 - 9 เซนติเมตร กว้าง 6 - 8 เซนติเมตร ค่อนข้างกลม แป้นเล็กน้อย บริเวณขั้วผลราบถึงเว้าเล็กน้อย ผิวผลเมื่อสุกสีเขียวอมเหลืองถึงเหลืองเข้มถ้าปลูกในที่ที่มีอากาศเย็นผิวผลจะมีสีเหลืองเข้ม เช่นแถบจังหวัดภาคเหนือ

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของประเทศ ผิวผลเรียบมีต่อมน้ำมันถี่เต็มผิวของผล กลีบผลแยกออกจากกันได้ง่าย มีกลีบประมาณ 11 กลีบ มีรกน้อย กุ้งมีขนาดสั้น ฉ่ำน้ำ เนื้อผลสีส้ม รสชาติหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย มีเมล็ดน้อย 5 - 12 เมล็ดต่อผล ตั้งแต่ออกดอกถึงเก็บผลผลิตได้ใช้เวลา 9 เดือนและเริ่มให้ผลผลิตหลังจากปลูกประมาณปีที่ 3 ขึ้นไป

ส้มเขียวหวานในประเทศไทยพบว่านำเข้ามาปลูกกว่า 100 ปีมาแล้วโดยชาวจีนอพยพ แต่เริ่มปลูกเป็นการค้าจริงจังเมื่อประมาณ 70 กว่าปีมานี้เอง โดยเริ่มที่บางมดจึงรู้จักกันดีในนามส้มบางมดแต่ต่อมาได้แพร่กระจายไปสู่ส่วนต่าง ๆ ของประเทศ และเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไปมาก พื้นที่ปลูกส้มจึงได้เปลี่ยนไปอยู่แถบจังหวัดปทุมธานี สระบุรีและนครนายกซึ่งถือเป็นแหล่งปลูกที่ใหญ่ที่สุดเนื่องจากมีน้ำชลประทานที่สมบูรณ์ นอกจากนี้ก็มีแถบน่าน แพร่ซึ่งปลูกกันมานานแล้ว

อย่างไรก็ตามปัจจุบันแหล่งปลูกส้มเขียวหวานได้กระจายไปตามแหล่งอื่นๆของประเทศทั้งนี้เพราะปัญหาการสะสมของโรคและแมลงในแหล่งปลูกเดิมซึ่งได้แก่แถบลพบุรี ปราจีนบุรี เชียงใหม่ เชียงราย หรือแม้แต่แถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือก็มีการขยายพื้นที่ปลูกกันมากขึ้น

2.2.1 คุณค่าทางอาหาร

ส้มเขียวหวานเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารสูง ดังนั้นข้อมูลจากการวิเคราะห์ของกองโภชนาการ กรมอนามัย (2535) พบว่า จากส่วนของผลส้มที่รับประทานได้จำนวน 100 กรัม จะมีปริมาณสารอาหารต่าง ๆ ดังนี้ คาร์โบไฮเดรต 9.9 กรัม โปรตีน 0.6 กรัม ไขมัน 0.2 กรัม แคลเซียม 31 มิลลิกรัม เหล็ก 0.8 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 18 มิลลิกรัม วิตามินเอ 4,000 หน่วยสากล วิตามินซี 18 มิลลิกรัม วิตามินบีหนึ่ง 0.04 มิลลิกรัม วิตามินบีสอง 0.05 มิลลิกรัม เส้นใย 0.2 กรัม ความชื้น 88.7 กรัม และพลังงาน 44 กิโลแคลอรี

2.2.2 ถิ่นกำเนิด

ถิ่นดั้งเดิมของส้มเขียวหวานอยู่ในประเทศจีนและญี่ปุ่น ได้มีการแพร่กระจายไปยังสหรัฐอเมริกาและยุโรป จนขณะนี้ ส้มเป็นพืชชนิดหนึ่งที่ปลูกทั่วไปทั้งในเขตร้อนและกึ่งร้อน

สำหรับประวัติการปลูกส้มเขียวหวานในประเทศไทยเริ่มมีมาตั้งแต่เมื่อใด ไม่มีหลักฐานปรากฏแน่ชัด กล่าวกันว่าบ้านเมืองเราปลูกส้มเขียวหวานมาประมาณกว่า 100 ปีแล้ว โดยเป็นพันธุ์ที่ชาวจีนอพยพได้นำเข้ามาและปลูกเป็นการค้าเมื่อประมาณ 70 กว่าปีที่ผ่านมานี้ ซึ่งปลูกกันมากในเขตตำบลบางมดซึ่งอยู่ในบริเวณเขตราษฎร์บูรณะและเขตบางขุนเทียน ซึ่งส้มเขียวหวานในแหล่งปลูกนี้มีชื่อเสียงในด้านคุณภาพตั้งแต่อดีตมาจนถึงปัจจุบันและมักเรียกว่าส้มบางมด ระยะต่อๆมาจากสภาพบริเวณบางมดที่เปลี่ยนแปลงไป รวมทั้งปัญหาในด้านน้ำเค็ม น้ำเสียและอื่นๆ ทำให้พื้นที่การปลูกส้มเขียวหวานกระจายออกไปโดยทั่ว เช่น พื้นที่จังหวัดปทุมธานี สระบุรี นครนายก ลพบุรี เป็นต้น โดยเฉพาะในจังหวัดปทุมธานีซึ่งเป็นเขตการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชลประทานที่สมบูรณ์แบบในขณะนี้จึงเป็นจังหวัดที่ปลูกส้มเขียวหวานมากที่สุด นอกจากนี้ยังแพร่ไปปลูกในแหล่งอื่นๆอีกด้วย เช่น เชียงใหม่ เชียงราย น่าน แพร่ จันทบุรี ตราด เป็นต้น

2.2.3 สภาพดินฟ้าอากาศ

ส้มเขียวหวานเป็นไม้ผลกึ่งร้อน ไม่ชอบสภาพอากาศที่หนาวจัดหรือร้อนจัดเกินไป สามารถปลูกได้ทุกลักษณะดินที่ไม่มีสภาพน้ำขัง เช่น ดินร่วน ดินร่วนปนทราย หรือดินเหนียวที่ได้ปรับปรุงสภาพให้เหมาะสม มีความอุดมสมบูรณ์และการระบายน้ำดี ดินปลูกควรมีสภาพความเป็นกรด -ด่างประมาณ 5.7 - 6.9 คือ มีสภาพดินปลูกเป็นกรดเล็กน้อยและเนื่องจากเป็นไม้ผลที่ต้องการน้ำอย่างสม่ำเสมอ พื้นที่ปลูกจึงควรมีแหล่งน้ำอย่างเพียงพอด้วย ความเปลี่ยนแปลงของฤดูกาล ช่วงของอุณหภูมิจะมีผลต่อคุณภาพส้ม เช่น การปลูกในภาคเหนือของประเทศไทยที่มีอากาศเย็น ผิวส้มจะมีสีเหลืองเข้มที่น่ารับประทานมากขึ้น

2.2.4 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ส้มเขียวหวานมีชื่อสามัญว่า Mandarin หรือ Tangerine มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus reticulate* Blanco อยู่ในวงศ์ Rutaceae จำนวนโครโมโซม 2n =18 และมีลักษณะบ่งชี้ดังนี้

2.2.4.1 การเจริญเติบโต มีทรงต้นสูงประมาณ 2-8 เมตร ทรงพุ่ม มีลักษณะแน่นทึบ จัดเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก

2.2.4.2 ลำต้น ไม่มีหนาม กิ่งแก่ มีสีเขียวเข้ม ไม่มีขน มีรอยแผลเป็นของใบและต่อมน้ำมันกระจายอยู่ไปทั่ว ลักษณะของกิ่งอ่อนเป็นเหลี่ยมเรียว

2.2.4.3 ใบ เป็นรูปไข่ค่อนข้างยาวหรือรูปไล่หรือรูปหอก ปลายและฐานใบมีลักษณะมน ส่วนปลายสุดของใบมีรอยเว้าเข้า ผิวท้องใบมีสีเขียวอมเหลือง ผิวหลังใบเป็นมันสีเขียวเข้ม ตัวใบมีกลิ่น ก้านใบมีปีกแคบหรือไม่มีปีก มีสีเขียวอมเหลือง ใบมีขนาดเล็ก

2.2.4.4 ดอก มีขนาดเล็กขนาดของดอกตูมมีความยาว 0.5-0.7 เซนติเมตร ดอกบานมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.5 - 2.5 เซนติเมตร ส่วนกลีบของดอกมีสีขาวและมีต่อมน้ำมันกระจายอยู่ แต่ละดอกจะมีจำนวนเกสรตัวผู้อยู่ในลักษณะแยกกันประมาณ 18 - 23 อัน ออกดอกในตำแหน่งซอกใบ เป็นดอกเดี่ยวหรือดอกช่อ

2.2.4.5 ผล มีรูปร่างกลมแบน ผิวเปลือกสีเขียว/เขียวอมเหลืองหรือส้มอมเหลืองจนถึงแดงอมส้ม ลักษณะของผิวเปลือกจะเรียบ มีต่อมน้ำมันอยู่ภายใน ส่วนเปลือกบาง มีความหนาประมาณ 0.2 - 0.3 เซนติเมตร มีกลิ่นหอมแรง เปลือกด้านในมีสีเหลืองอ่อน ภายใน 1 ผล ประกอบด้วยกลีบผลจำนวน 10-15 กลีบ แต่ละกลีบมีผนังบาง เนื้อมีน้ำมาก สีส้ม รสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย ก้านผลมีขนาดสั้น ขนาดผลแตกต่างกันตั้งแต่เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 - 8 เซนติเมตร และยาว 4 - 7 เซนติเมตร ติดผลในลักษณะหัวห้อยลง

2.2.4.6 เมล็ด รูปร่างแบบรูปไข่หัวกลับ เนื้อเยื่อส่วนสะสมอาหารมีสีเขียวอ่อนหรือสีเขียวอมเหลือง จำนวนเมล็ดมีมากน้อยแตกต่างกันในแต่ละกลีบ

เอกสารนี้... ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.5 พันธุ์ส้มเขียวหวาน

ผิวเปลือกส้มที่มีสีแตกต่างกันสามารถเป็นสิ่งที่บ่งชี้ถึงการจำแนกกลุ่มส้มได้ เช่น ผิวเปลือกสีส้มแก่ (tangerine) หรือผิวเปลือกสีเหลือง (mandarin) และสามารถจัดจำพวกของกลุ่มส้มเขียวหวานได้ดังนี้

2.2.5.1 ส้มพองแกน (Ponkan or Honey orange) ผลมีขนาดใหญ่ สุกในช่วงต้นฤดูซึ่งการเก็บเกี่ยวจะต้องขลิบทีละผล ถ้าเก็บเกี่ยวโดยการปลิดผลแล้วเปลือกที่ขั้วผลจะฉีกออกเป็นแผล ผลส้มพันธุ์นี้มีคุณภาพดี ลำต้นตรง กิ่งเปราะหักง่าย โดยเฉพาะช่วงเวลาการให้ผลดกและมักติดผลปีเว้นปี

2.2.5.2 ส้มซัทซูมา (Satsuma mandarin) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus unshiu* (Marc.) ลักษณะของพันธุ์นี้ สามารถทนทานต่อสภาพภูมิอากาศทั้งในฤดูร้อนและฤดูหนาวได้ดีมาก ให้ผลคุณภาพดี ไม่มีเมล็ด ผิวเปลือกสีส้มแก่สวยงาม โดยเฉพาะพันธุ์โอวารี (Owari) เป็นพันธุ์เดียวที่ปลูกเป็นการค้า และมีปลูกมากทางตอนเหนือของฟลอริดา รวมทั้งในประเทศญี่ปุ่นด้วย

2.2.5.3 ส้มออแลนโด (Orlando tangelo) เป็นส้มพันธุ์ลูกผสมระหว่างส้มพันธุ์ดันแคนกับส้มแดนซี มีลำต้นแข็งแรง สามารถทนต่อสภาพอากาศหนาวได้ดี ลักษณะขอบใบจะห่ออย่างเด่นชัด ผลที่ได้มีขนาดค่อนข้างใหญ่ เปลือกผลบางและติดค่อนข้างแน่นกับเนื้อผิวเปลือกสีส้ม คุณภาพของผลให้รสชาติดี ทนทานในการขนส่งแต่ผลแก่เร็วในรัฐฟลอริดาเป็นแหล่งที่ปลูกแพร่หลายที่สุด

2.2.5.4 ส้มแทนเจอรีน พันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้าได้แก่ คลีเมนไทน์ (Clementine) และแดนซี (Dancy) เป็นผลส้มขนาดกลางค่อนข้างเล็ก ผิวเปลือกผลสีแดงอมส้มแก่เป็นพันธุ์ที่ให้ผลดก ปริมาณผลตอบแทนที่ได้ขึ้นกับปัจจัยการปฏิบัติดูแลรักษาที่ดี ส่วนของกิ่งมีลักษณะเปราะและหักง่าย ผลส้มมีเปลือกล่อน พร้อมทั้งเป็นพุนธุ์ที่เหมาะสมกับเขตปลูกที่ร้อนชื้น

2.2.5.5 ส้มคิง (King mandarin) ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus robilis* (Lour.)เป็นพันธุ์ส้มเปลือกล่อนที่มีผลขนาดใหญ่ที่สุด เปลือกผลมีลักษณะหยาบและค่อนข้างหนา ผิวเปลือกผลและเนื้อผลมีสีเหลืองเข้มหรือสีส้มอ่อน ผลแก่ตอนช่วงปลายฤดูส่วนของเมล็ดสามารถทนต่อสภาพอากาศร้อนได้ ผลส้มพันธุ์นี้จัดได้ว่ามีคุณภาพดีมาก มีปลูกมากในออสเตรเลีย โดยเฉพาะพันธุ์ เอมเพเรอร์ (Emperor) นิยมปลูกเป็นการค้าแต่ก็ยังปลูกไม่มากหรือกล่าวได้ว่าไม่เป็นที่นิยมมากนัก

2.2.5.6 ส้มเพจ (Page) เป็นลูกผสมของส้มพันธุ์มินเนโอลากับส้มคลีเมนไทน์ ผลไม่ดกขนาดผลที่ได้สม่ำเสมอ เปลือกผลสีเหลือง เนื้อสีเข้ม รสดีมาก แต่ไม่เป็นที่นิยมปลูกกัน

2.2.5.7 ส้มเมอร์คอต (Murcott or Murcott honey) ผลรูปทรงกลมค่อนข้างแบน เปลือกผลบริเวณที่ติดกับขั้วจะยังคงสีเขียวอยู่ ผิวเปลือกโดยทั่วไปเป็นสีส้มแก่แต่ไม่เข้มเท่ากับผลส้มซัทซูมา ผิวเปลือกมีลักษณะบาง ทำให้ปอกได้ง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.5.9 ส้มมินเนโอลา (Minneola tangerine) เป็นส้มพันธุ์ลูกผสมที่มีกำเนิดจากส้มออแลนโด ลำต้นแข็งแรง ทนต่อสภาพอากาศหนาวได้บ้าง แต่ไม่ดีเท่าส้มออแลนโด ขนาดใบใหญ่ปลายใบแหลม ให้ผลลักษณะค่อนข้างกลมมีจุก เปลือกผลค่อนข้างหนา แต่ไม่ติดแน่นกับส่วนเนื้อเท่ากับผลส้มออแลนโด ผิวเปลือกมีลักษณะเรียบสีสวย จำนวนเมล็ดต่อผลน้อย รสชาติดี

2.2.5.10 ส้มลูกผสมอื่นๆ ได้แก่ ส้มออสซีโอลา (Osceola) ส้มโนวา (Nova) ส้มลี (Lee) และส้มโรบินสัน (Robinson) เป็นต้น ซึ่งเป็นลูกผสมที่มีน้ำส้มมากและรสชาติดี (เปรมปรีดิ์ , 2542)

2.2.6 พันธุ์ส้มเขียวหวานที่ปลูกในประเทศไทย

การปลูกส้มเพื่อการค้าในประเทศไทยส่วนใหญ่จะเน้นไปที่กลุ่มส้มเขียวหวานและส้มโอเป็นสำคัญ เนื่องจากเป็นกลุ่มที่ตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศมีความต้องการสูง แต่การปลูกส้มชนิดอื่นๆ เช่น ส้มตรา ส้มเกลี้ยงและส้มจุกยังคงมีอยู่ในบางพื้นที่ พันธุ์ส้มเขียวหวานที่นิยมปลูกและได้มีการขยายพื้นที่ปลูกแพร่หลายไปในภาคต่าง ๆ มากขึ้นมีดังนี้คือ

2.2.6 1 ส้มเขียวหวานพันธุ์แหลมทอง ส้มเขียวหวานชนิดนี้มีลำต้นขนาดใหญ่ ออกดอกติดผลค่อนข้างยาก ผลมีขนาดปานกลาง รสชาติหวานจัดแม้ผลที่ยังมีอายุไม่ถึงกำหนดการเก็บเกี่ยวก็มีรสชาติไม่เปรี้ยวมากซึ่งต่างจากส้มทั่วไป ส้มชนิดนี้เดิมมีการปลูกกันมากในแถบวัดเพลง ท่าสนุนจังหวัดราชบุรี แต่ในปัจจุบันความนิยมในการปลูกได้ลดลงเนื่องจากปัญหาเรื่องการจัดการผลผลิต และมีลูกดกสู้ส้มเขียวหวานธรรมดาไม่ได้

2.2.6.2 ส้มเขียวหวานชนิดพันธุ์ผิวเรียบ ส้มพันธุ์นี้ มีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า " ส้มบางล่าง " หรือ " ส้มบางมด " เป็นชนิดที่เกษตรกรนิยมปลูกมากที่สุด เนื่องจากเป็นส้มที่ให้ผลผลิตดก ผลมีขนาดปานกลาง ทรงผลค่อนข้างกลมถึงแป้นเล็กน้อย ก้นผลราบหรือเว้าเล็กน้อย เปลือกบาง ผิวสีเหลืองเข้มหรือเขียวอมเหลือง สีผิวสม่ำเสมอ เนื้อผลสีส้ม ชานนิ่ม ตัวกุ้งมีขนาดสั้น รสชาติหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย ส้มพันธุ์นี้เดิมปลูกกันมากในเขตกรุงเทพฯ แถบบางมด บางขุนเทียน แต่ในปัจจุบันส้มชนิดนี้ได้ถูกนำไปปลูกในหลายพื้นที่ทั่วประเทศโดยเฉพาะในเขตภาคกลางและภาคเหนือ (เรียก " ส้มผิวทอง ") ส่วนในแหล่งปลูกเดิมนั้น เนื่องจากพื้นที่ได้มีการพัฒนาและเปลี่ยนสภาพไปเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยและเขตอุตสาหกรรม รวมถึงได้รับผลกระทบจากน้ำท่วมจึงเหลือพื้นที่ปลูกอยู่น้อยมากๆ

2.2.6.3 ส้มเขียวหวานชนิดเปลือกค่อนข้างหนา หรือที่เรียกกันว่า "ส้มบางบน " ส้มชนิดนี้มีผลขนาดค่อนข้างใหญ่ ทรงผลค่อนข้างกลม ผลมีจุกนูนเล็กน้อย เปลือกค่อนข้างหนา ผิวมีสีเขียวหรือเขียวอมเหลือง เนื้อผลสีส้ม รสชาติหวานปานกลาง ส้มชนิดนี้เดิมปลูกกันมากในเขตกรุงเทพฯบริเวณบางกอกน้อย บางขุนนนท์และบางกรวยจังหวัดนนทบุรี แต่ต่อมาได้มีการนำไปปลูกในแถบรังสิตจังหวัดปทุมธานีและจังหวัดนครปฐมจนเป็นที่รู้จักมาจนถึงปัจจุบัน (เปรมปรีดิ์ , 2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 อนุมูลอิสระและผลเสียต่อสุขภาพ

ปัจจุบัน มนุษย์เราให้ความเอาใจใส่ต่อสุขภาพมากขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในเรื่องของการบริโภค ซึ่งมีการแนะนำให้บริโภคพืชผักสมุนไพรและผลไม้ให้มากขึ้นแทนการบริโภคเนื้อสัตว์ และเป็นวิทยาการใหม่ ๆ ได้ค้นพบว่าโรคหลายชนิดเกิดขึ้นเนื่องจากกระบวนการเสื่อมสลายของเซลล์และอวัยวะต่าง ๆ อันเนื่องมาจากปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งอนุมูลอิสระนี้สามารถเกิดขึ้นได้เองจากการบวนการออกซิเดชันของสารประกอบอินทรีย์หลายชนิด เรียกว่า ออโตออกซิเดชัน (autoxidation) กระบวนการดังกล่าวที่เกิดขึ้นกับโมเลกุลของไขมันจะเรียกกระบวนการออกซิเดชันนี้ว่า ลิปิด เปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) การเกิดอนุมูลอิสระเริ่มต้นจากโมเลกุลที่เป็นสารตั้งต้นอาจได้รับความร้อน หรือแสง หรือได้รับอิเล็กตรอนจากโมเลกุลที่เป็นสารรีดิวซิง (reducing agent) เช่น ไอออนของเหล็ก (Fe^{2+}) หรืออาจเกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์บางชนิดที่กระตุ้นให้สารตั้งต้นเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระเนื่องจากอนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่ไม่คงตัว เมื่อเกิดขึ้นแล้วอนุมูลอิสระ จะดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่น เพื่อให้เกิดความเสถียรมากขึ้น (นวลศรีและอัญชนา, 2545; Akaike *et al.*, 1995; Awika *et al.*, 2003; Briante *et al.*, 2002; Cao *et al.*, 1995; Hauang *et al.*, 2005; Katsube., 2004)

อนุมูลอิสระ คือ กลุ่มของสารที่มีอิเล็กตรอนวงนอกที่ไม่ครบคู่มากกว่า หรือเท่ากับหนึ่งอิเล็กตรอน ทำให้โมเลกุลดังกล่าวมีความไวสูงต่อปฏิกิริยา โดยสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลในเซลล์ของร่างกาย โดยทั่วไปอนุมูลอิสระจะเกิดขึ้นระหว่างการถ่ายเทอิเล็กตรอนจากโมเลกุลของออกซิเจนหรืออนุพันธุ์ของออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา(reactive oxygen species, ROS) ไปยังโมเลกุลของน้ำ สารกลุ่ม ROS ที่สำคัญได้แก่ไฮดรอกซิลแรดดิคอล (hydroxyl radical, $O^{\circ}H$) ซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion, $O^{\circ-}_2$) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) ไฮโปคลอรัส (hypochlorous , HOCL) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีกลุ่มของสารที่เป็นอนุพันธ์ของไนโตรเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา (reactive nitrogenspeies , RNS) ที่สำคัญได้แก่ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide , NO°) และเปอร์ออกซีไนไตรท์ (peroxynitrite, $ONOO^-$) เป็นต้น ทั้งกลุ่มของ ROS และ RNS จัดเป็นแหล่งของอนุมูลอิสระที่สำคัญในเซลล์ของร่างกาย (นวลศรีและอัญชนา, 2545; Lee and Hendricks, 1997; Lu and Fu, 2001; Madhavi *et al.*, 1996)

ดังนั้น อนุมูลอิสระจึงมีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ เช่น ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และกรดนิวคลีอิก เป็นต้น ซึ่งสารประกอบดังกล่าวมีหน้าที่สำคัญในกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) ของเซลล์เมื่อทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระจะทำให้โมเลกุลนั้นสูญเสียหน้าที่ไป ดังนั้นปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระมีผลทำลายสมดุลของระบบต่าง ๆ ในร่างกายเช่นทำลายหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้โปรตีนต่าง ๆ ในร่างกายไม่สามารถทำงานได้ตามปกติและที่สำคัญที่สุดคือ การที่อนุมูลอิสระดึงอิเล็กตรอนจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DNA ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมที่สำคัญโดยเป็นศูนย์รวมของกิจกรรมทุกอย่างในเซลล์ เมื่อดีเอ็นเอถูกทำลายหรือสูญเสียหน้าที่ไป จะส่งผลทำให้เกิดเซลล์มะเร็งและเกิดพยาธิสภาพของโรคเรื้อรังต่าง ๆ ได้ (Chen *et al.*, 1997; Madhavi *et al.*, 1996; Matsufuji and Shibamoto, 2004)

โดยปกติร่างกายของคนเราจะมีระบบกำจัดหรือทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้ แต่ในสภาวะที่ร่างกายขาดความสมดุลระหว่างปริมาณอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น และการกำจัดอนุมูลอิสระหรือในสภาวะที่ร่างกาย ไม่สามารถรักษาระดับของอนุมูลอิสระ ให้อยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ ร่างกายได้ซึ่งเรียกสภาวะดังกล่าวว่า ออกซิเดทีฟ สเตรส (oxidative stress) ก็จะเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคภัยไข้เจ็บต่าง ๆ ได้ โรคต่าง ๆ ที่เกิดจากร่างกายมีปริมาณอนุมูลอิสระสะสมอยู่ในระดับสูง เช่น โรคมะเร็ง หลอดเลือดหัวใจ ระบบภูมิคุ้มกันทำงานผิดปกติ ข้ออักเสบ แก่ก่อนวัย ต้อกระจก อัลไซเมอร์ พาร์กินสัน ฯลฯ ภาวะเหล่านี้เราสามารถควบคุมได้โดยอาศัยสารต้านอนุมูลอิสระ หรือสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) ซึ่งเป็นสารที่ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดกระบวนออกซิเดชันซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระและเกิดผลเสียต่อเซลล์ (Kawaii *et al.*, 1999; Mortensen and Skibsted, 1997; Valentao *et al.*, 2002)

2.4 การป้องกันหรือควบคุมอนุมูลอิสระ

โดยปกติร่างกาย มีระบบควบคุมป้องกันอนุมูลอิสระที่เรียกว่า ระบบแอนติออกซิแดนท์ (antioxidant defense system) ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 วิธี วิธีแรกคือใช้เอนไซม์ต่าง ๆ ในร่างกาย เช่น คาตาเลส(catalase), ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส(superoxide dismutase, SOD) และ กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส(glutathione peroxidsae) เป็นต้น และวิธีที่ 2 คือไม่ใช้เอนไซม์ ซึ่งเป็นกลุ่มของสารประกอบต่าง ๆ และโปรตีนบางชนิดได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี เบตาแคโรทีน กลูตาไธโอน (glutathione), ยูเรต (urate), ไบลิรูบิน (bilirubin), ไบควินอล (biquinol), อัลบูมิน (albumin), คาอีโรพลาสมิน(caeroloplasmin) และทรานส์เฟอริน (transferrin) (นวลศรีและอัญชนา, 2545)

การป้องกันหรือควบคุมอนุมูลอิสระสามารถทำได้โดยการใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นแอนติออกซิแดนท์ซึ่งจะช่วยยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระเหล่านี้ไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ สารแอนติออกซิแดนท์มีสมบัติในการต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดจากอนุมูลอิสระ สารแอนติออกซิแดนท์มีทั้งสารที่ได้จากธรรมชาติและสารสังเคราะห์ เช่น สารประกอบฟีนอลิก (phenolic) แคโรทีนอยด์ (carotenoid) วิตามิน เอนไซม์ และโคเอนไซม์ (co-enzyme) บางชนิดเป็นต้น (นวลศรีและอัญชนา , 2545)

สารแอนติออกซิแดนท์ มีสมบัติในการต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดจากอนุมูลอิสระ ทำหน้าที่ดูดซับอิเล็กตรอนเดี่ยวจากสารอนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระหมดคุณสมบัติที่จะออกซิไดซ์ต่อไปทำให้หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ในการทำลายชีวโมเลกุลได้แก่โปรตีน ไขมันและDNA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเซลล์ของร่างกายหรือในอาหารและผลิตภัณฑ์ ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ได้ให้ความสนใจสารแอนติแดนท์กลุ่มหนึ่งที่เรียกว่า สารพฤกษเคมี (phytochemical) ซึ่งส่วนใหญ่ได้จากพืชผักผลไม้ เมล็ดและธัญพืช จัดเป็นสารเคมีจากธรรมชาติ เช่น เบตาแคโรทีน แคโรทีนอยด์ วิตามินอี วิตามินซี โพลีฟีนอล ไบโอเฟลโวนอยด์ มีแร่ธาตุบางชนิด เช่น เซเลเนียม และสังกะสี เป็นสารที่ช่วยปฏิกิริยาของเอนไซม์ซึ่งทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระด้วยนอกจากนี้ยังมีการใช้สารสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์เช่น บีเอชเอ (BHA; butylated hydroxy anisole) บีเอชที (BHT; butylated hydroxy toluene) ที่ใช้เป็นสารกันหืนในผลิตภัณฑ์น้ำมันปรุงอาหาร (Akaike *et al.*, 1995; Murakami *et al.*, 2004; Quezada *el al.*, 2004; Simo *et al.*, 2002)

ในอาหารและสิ่งแวดล้อม มีสารอนุมูลอิสระหรือสิ่งก่ออนุมูลอิสระค่อนข้างมาก เช่น อาหารทอด ปิ้ง ย่าง อาหารที่ปนเปื้อนด้วยสารเคมี สารฆ่าหญ้า ยาต้านมะเร็ง สารฟอกสี สารโลหะบางชนิดและรังสีอัลตราไวโอเลต เป็นต้น อนุมูลอิสระหรือปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้มนุษย์และสัตว์มีการแก่ เนื่องจากการเสื่อมสภาพทางชีวภาพ ภาวะเจ็บป่วย และโรคเรื้อรังทั้งหลายที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งสารแอนติออกซิแดนท์มีความสามารถในการต้านทานอนุมูลอิสระแอนติออกซิแดนท์จึงมีประโยชน์ในการป้องกันหรือชะลอความชรา การต้านทานภาวะผิดปกติจากสารพิษในสิ่งแวดล้อมและการหยุดยั้งการเกิดโรคเนื่องจากสารเคมีที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระได้ (Madhavi *et al.*, 1996; Huang *et al.*, 2005)

สารที่มีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยทั่วไปจะมีสมบัติข้อใดข้อหนึ่งหรือหลายข้อต่อไปนี้

1) สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (antiradical properties) คือ ความสามารถในการต้านหรือทำลายอนุมูลอิสระชนิดต่าง ๆ รวมทั้ง ROS และ RNS

2) สมบัติการต้านปฏิกิริยาไลโปเปอร์ออกซิแดนท์ (antilipoperoxidant properties) คือ ความสามารถในการยับยั้งหรือหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลของกรดไขมันไม่อิ่มตัว

3) สมบัติการกำจัดออกซิเจน (antioxigen properties) คือ ความสามารถในการกำจัดโมเลกุลของออกซิเจนซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชันหลายชนิด

4) สมบัติการจับไอออนของโลหะ (chelating properties) คือ ความสามารถในการจับไอออนของโลหะเช่น Fe^{3+}, Cu^{2+} ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในปฏิกิริยาออกซิเดชันและปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ

ในกรณีของปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบสูงนั้นสามารถป้องกันหรือควบคุมได้โดยใช้สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยอาจใช้สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์หรือสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากธรรมชาติ เช่น วิตามินอี วิตามินซีและสารสกัดจากพืชที่มีองค์ประกอบของสารโพลีฟีนอล เป็นต้น (Madhavi *et al.*, 1996)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 สารประกอบฟีนอลิค (phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิค (phenolic compounds) เป็นสารในกลุ่ม secondary metabolite ที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด ดังนั้นรูปแบบของสารประกอบฟีนอลิคในพืชแต่ละชนิดจึงมีความแตกต่างกันออกไป ในปัจจุบันพบว่ามีสารประกอบฟีนอลิคที่ทราบโครงสร้างแน่นอนแล้วมากกว่า 8,000 ชนิด ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นโพลิเมอร์ เช่น แทนนิน (tannins) ดังตัวอย่างในตารางที่ 2.1 โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิคโดยธรรมชาติจะอยู่ในรูปของไกลโคไซด์(glycoside) กล่าวคือ โมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิคจะมีโมเลกุลน้ำตาลตั้งแต่ 1 โมเลกุลขึ้นไปจับอยู่กับหมู่ไฮดรอกซิล (OH-group) โดยน้ำตาลดังกล่าวอาจจะเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharides) น้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharides) หรือโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharides) ก็ได้แต่น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิคคือกลูโคส (glucose) ส่วนน้ำตาลชนิดอื่นที่พบ ได้แก่ กาแลกโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) ไซโรส (xylose) อะราบิโนส (arabinose) และอนุพันธุ์ของน้ำตาลเหล่านี้ เช่น กรดกลูโคโรนิก (glucoronic acid) กรดกาแลกตูโรนิก (galacturonic acid) และอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลิคกับสารประกอบฟีนอลิคด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลิคกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acids) กรดอินทรีย์ (organic acids) อะมีน (amines) และไขมันอีกด้วย (วิวัฒน์, 2545)

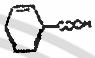
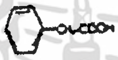
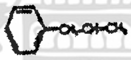
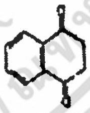
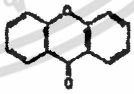
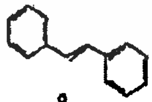
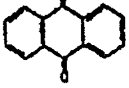
ความสนใจของนักวิทยาศาสตร์ต่อการศึกษาเกี่ยวกับสารประกอบฟีนอลิคจากพืชมีมานานดังจะเห็นได้จากการนำสารประกอบฟีนอลิคประเภทต่าง ๆ มาใช้ประโยชน์ในลักษณะของสารฟอกสี (tanning agents) ในกระบวนการผลิตกระดาษ สี และเครื่องสำอาง ตลอดจนการใช้ในลักษณะของสีธรรมชาติ (natural colorants) หรือสารป้องกันการเสื่อมเสีย (preservatives) ในอุตสาหกรรมอาหาร แต่ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ส่วนใหญ่กำลังหันมาให้ความสนใจกับคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิคมากเป็นพิเศษ

สารประกอบฟีนอลิคที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำซึ่งสามารถพบได้โดยทั่วไป และมีความสำคัญ ประกอบด้วยฟีนอล (phenols, C_6) กรดฟีนอลิก(phenolic acids, C_6-C_1) ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids, C_6-C_3) และเฟลโวนอยด์ (flavonoids) ตัวอย่างของฟีนอล ได้แก่ ฟีนอล(phenol), ครีซอล(cresol), ไธมอล(thymol), เรโซซินอล(resocinol), ออซินอล(orcinol) และอื่น ๆ ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปในพืชที่ถูกนำมาใช้เป็นเครื่องเทศ รวมทั้งไฮโดรควิโนน (hydroquinone) และอนุพันธุ์ เช่นเออร์บูทีน (arbutine) และเซซามอล (sesamol) และ ฟลอโรกลูซินอล (phloroglucinol) ด้วย สำหรับตัวอย่างของกรดฟีนอลิก ได้แก่ กรดแกลลิค (gallic acid), กรดวานิลลิค (vanillic acid), กรดไซริงจิก (syringic acid), กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก(hydroxy

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

benzoic acid) และอัลดีไฮด์ของกรดฟีนอลิก เช่นวานิลิน(vanillin), ไฮดรอกซีเบนซัลดีไฮด์ ไซริงกัลดีไฮด์ (hydroxybenzaldehyde syringaldehyde) ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปในพืชชั้นสูงและเฟิร์น

ตารางที่ 2.1 โครงสร้างหลักของสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มต่าง ๆ

Class	Basic Structure
Simple phenols	
Benzoquinones	
Phenolic acids	
Acetophenones	
Phenylacenc acids	
Hydroxycinnamic acids	
Phenylpropenes	
Coumarins, isocoumanns	
Chromones	
Naftoquinones	
Xanthones	
Stibenes	
Anthraquinones	
Flavonoids	
Lignans, neolignans	
Lignins	

ที่มา : Bravo (1998) อ้างโดยวิวัฒน์ (2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 สารประกอบฟีนอลิคในอาหาร

สารประกอบฟีนอลิคสามารถพบได้ในอาหารและเครื่องดื่มที่ได้มาจากพืช เช่น ผัก ผลไม้ ธัญชาติต่าง ๆ น้ำผลไม้ ไวน์ เบียร์ ชา และกาแฟ เป็นต้น แต่จะพบในปริมาณที่ต่างกันออกไปในพืชต่างชนิดกัน หรือแม้แต่ในพืชชนิดเดียวกันแต่มาจากสถานที่ผลิตที่แตกต่างกัน เนื่องจากการสร้างสารประกอบฟีนอลิคของพืช จะมีทั้งปัจจัยทางด้านพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องนอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการปลูก ระดับความสุก กระบวนการแปรรูป หรือแม้แต่วิธีการเก็บรักษาก็ล้วนมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งสิ้น (วิวัฒน์, 2545)

สารประกอบฟีนอลิคมีบทบาทต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส และคุณค่าทางโภชนาการของอาหารจากพืช เนื่องจากเป็นสารประกอบที่มีรสฝาดและขม และมีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในระหว่างกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษา โดยจะทำให้อาหารเกิดสีน้ำตาล เกิดการพัฒนากลิ่นรสและมีการสูญเสียสารอาหารบางชนิดได้ ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้อาจเป็นสิ่งที่ต้องการในบางกรณี เช่นการผลิตชาดำหรือโกโก้ แต่อาจเป็นลักษณะที่ไม่ต้องการในบางกรณี เช่น การแปรรูปผักผลไม้ เป็นต้น (วิวัฒน์, 2545)

การรายงานปริมาณของสารประกอบฟีนอลิคในอาหาร และเครื่องดื่มมีมากมาย แต่ไม่สามารถที่จะนำข้อมูลดังกล่าวมาเปรียบเทียบกันได้ เนื่องจากวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์และความแตกต่างของสารประกอบฟีนอลิคในอาหาร ซึ่งมีความหลากหลายและแตกต่างกันออกไปตามปัจจัยต่าง ๆ ดังที่ได้กล่าวมาแล้วอีกทั้งยังมีสารประกอบฟีนอลิคอีกมากที่ยังไม่ถูกบ่งชี้อย่างชัดเจน ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าข้อมูลเกี่ยวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิคในอาหาร ยังไม่มีความสมบูรณ์เพียงพอและในบางครั้งพบว่ามีความขัดแย้งกันเองเกิดขึ้นได้อีกด้วย อย่างไรก็ตามในที่นี้จะแสดงตัวอย่างของผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคในอาหารและเครื่องดื่มชนิดต่าง ๆ ที่ได้มาจากพืชไว้ใน ตารางที่ 2.2 (วิวัฒน์, 2545)

2.5.2 เมตาบอลิซึมของสารประกอบฟีนอลิค

มีผลงานวิจัยยืนยันอย่างแน่ชัดว่า สารประกอบฟีนอลิคที่ละลายได้จะสามารถถูกเมตาบอไลซ์ได้ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ โดยสารประกอบฟีนอลิคอย่างง่ายที่อยู่ในรูปอิสระเช่น กรดซินนามิก(cinnamic acid) กรดคูมาริก(coumaric acid), กรดเฟอรูลิก(ferulic acid), กรดคาเฟอิก(caffeic acid) สามารถถูกดูดซึมได้โดยตรงที่บริเวณผนังลำไส้เล็ก ขณะที่ไกลโคไซด์จะต้องถูกย่อยสลายเป็นอะไกลโคนและน้ำตาลก่อน จึงจะสามารถถูกดูดซึมได้ แต่ในระระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ไม่มีเอนไซม์เบตา-ไกลโคซิเดส (β -ycosidases) ที่เหมาะสมไกลโคไซด์จึงมักไม่มีการดูดซึมที่บริเวณลำไส้เล็ก ไกลโคไซด์จึงต้องผ่านมาที่บริเวณลำไส้ใหญ่ซึ่งมีจุลินทรีย์ต่าง ๆ ช่วยย่อยสลายให้อยู่ในรูปของอะไกลโคนก่อนจึงจะดูดซึมที่บริเวณส่วนปลายของลำไส้ใหญ่ (colon)ได้ แต่มีรายงานว่าจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ไม่สามารถที่จะย่อยสารประกอบฟีนอลิคได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทุกชนิด ตัวอย่างของสารประกอบฟีนอลิคที่จุลินทรีย์ไม่สามารถย่อยได้คือ insoluble condensed tannins ซึ่งสารประกอบเหล่านี้จะถูกขับออกมาพร้อมกับอุจจาระทั้งหมด (วิวัฒน์, 2545)

ตารางที่ 2.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคในอาหารและเครื่องดื่มชนิดต่าง ๆ ที่ได้จากพืช

Food/ Beverage	Total Polyphenols	Food/ Beverage	Total Polyphenols
Cereals (mg/100 g dm)		Fruits (mg 100g fm)	
Barley	1200-1500	Blackcurrant	140-1200
Corn	30.9	Blueberry	135-280
Millet	590-1060	Cherry	60-90
Oats	8.7	Cowberry	128
Rice	8.6	Cranberry	77-247
Sorghum	170-10}260	Gooseberry	22-75
Wheat	22-40	Grape	50-490
Legumes (mg/100 g dm)		Fruits (mg 100g fm)	
Black gram	540-1200	Grapefruit	50
Chickpeas	78-230	Orange	50-100
Cowpeas	175-590	Peach	10-150
Common beans	34-280	Pear	2-25
Green gram	440-800	Plum	4-225
Pigeon peas	380-1710	Raspberry	37-429
		Red currant	17-20
Nut (% dm)		Strawberry	38-218
Betel nuts	26-33	Tomato	85-130
Cashew nuts	33.7		
Peanuts	0.04	Fruit juices (mg/L)	
Pecan nuts	8-14	Apple juice	2-16
		Orange juice	370-7100
Vegetables (mg 100g fm)			660-1000
Brussels sprouts	6-15	Beverages	
Cabbage	25	Tea leaves (% dm)	
Leek	20-40	Green	20-35
Onion	100-2025	Black	22-33
Parsley	55-180	Tea cup (mg/200 mL)	150-210
Celery	94	Coffee beans (% dm)	0.2-10
		Coffee cup (mg/150 mL)	200-550
Fruits (mg 100g fm)		Cacao beans (% dm)	12-18
Apple	27-298	Wine (mg/L)	
Apricot	30-43	White	200-300
		Red	1000-4000 (6500)
		Beer (mg/L)	60-100

ที่มา : Bravo (1998) อ้างโดยวิวัฒน์ (2545)

เอกสารนี้เป็น...เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.3 อิทธิพลของสารประกอบฟีนอลิคต่อการใช้ประโยชน์สารอาหารของร่างกาย

สารประกอบฟีนอลิมีความสามารถในการรวมตัวและตกตะกอนโปรตีน ซึ่งความสามารถในการรวมตัวกับโปรตีนนั้น เป็นสมบัติของสารประกอบฟีนอลิคทั่วไปและไม่ก่อให้เกิดปัญหาใด ๆ ต่อการย่อยโปรตีนของร่างกายมนุษย์ แต่สารประกอบฟีนอลิคที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ คือ ประกอบด้วยเฟลโวนอลอย่างน้อย 3 หน่วยขึ้นไป สามารถตกตะกอนโปรตีนได้ ทำให้โปรตีนที่ร่างกายได้รับจากอาหารอยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ การย่อยสลายโปรตีนไม่สามารถเกิดขึ้นได้ และสารประกอบฟีนอลิคโมเลกุลใหญ่เหล่านี้ยังสามารถรวมตัวกับเอ็นไซม์ต่างๆ ทำให้เอนไซม์สามารถทำงานได้น้อยลง ซึ่งมีผลกระทบต่อการย่อยสลายโปรตีน คาร์โบไฮเดรตและไขมัน นอกจากนี้พบว่าสารประกอบ ฟีนอลิคโมเลกุลใหญ่นี้ยังสามารถรวมตัวกับโพลีแซคคาไรด์เป็นสารประกอบเชิงซ้อน ซึ่งจะมีผลทำให้ร่างกายนำคาร์โบไฮเดรตไปใช้ประโยชน์ได้น้อยลง ส่วนผลกระทบของสารประกอบฟีนอลิค ต่อเมตาบอลิซึมของไขมันนั้นเป็นประโยชน์ต่อร่างกายมากที่สุด เนื่องจากพบว่าสารประกอบฟีนอลิคมีผลทำให้มีการขับไขมันออกมาพร้อมกับอุจจาระในปริมาณมากขึ้น มีการศึกษาถึงบทบาทในการลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือดของสัตว์ทดลองที่ถูกเลี้ยงด้วยอาหารที่มีแทนนิน กรดแทนนิคและแคทีชินซึ่งการทดลองพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณ HDL (high-density lipoprotein cholesterol) ซึ่งเป็นโคเลสเตอรอลชนิดดีและลดปริมาณ LDL (low-density lipoprotein cholesterol) ซึ่งเป็นโคเลสเตอรอลชนิดเลวลงได้ สาเหตุที่เป็นเช่นนี้น่าจะมีผลมาจากการลดการดูดซึมโคเลสเตอรอลและเพิ่มการขับกรดน้ำดีออกจากร่างกาย ทำให้ร่างกายจำเป็นต้องใช้โคเลสเตอรอลที่มีอยู่ในการสร้างกรดน้ำดีมากขึ้น(วิวัฒน์, 2545)

ในกรณีของเกลือแร่ มีรายงานว่าสารประกอบฟีนอลิคสามารถรวมตัวกับโลหะประจุบวกเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของธาตุเหล็กซึ่งเป็นผลมาจากหมู่แคลโลอิล (galloyl group)และหมู่แคทีคอล (catechol groups)ในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิค จึงพบว่าสารประกอบฟีนอลิคในชาเขียว ชาสมุนไพร ชาดำ กาแฟ โกโก้และไวน์ ล้วนมีผลในการลดการดูดซึมธาตุเหล็กของร่างกายทั้งสิ้น แต่อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าสารประกอบฟีนอลิคจากถั่วเหลือง ถั่วเขียวและถั่วแดงไม่มีผลต่อการดูดซึมธาตุเหล็กของร่างกาย ส่วนเกลือแร่ชนิดอื่นที่มีรายงานว่าสารประกอบฟีนอลิคมีบทบาทต่อการลดการดูดซึมได้แก่ ทองแดง สังกะสี โซเดียมและอะลูมิเนียม ขณะที่มีรายงานว่าสารประกอบฟีนอลิคไม่มีผลต่อการดูดซึมแมกนีเซียม แคลเซียม และแมงกานีส (วิวัฒน์, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.5.4 คุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิค

คุณสมบัติที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบันของสารประกอบฟีนอลิค คือ การเป็นสารต้านออกซิเดชันและสารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagents) และการใช้สารประกอบฟีนอลิคในการป้องกันโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือดและมะเร็งโดยสารประกอบนอลิคจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$ROO^{\circ} + PPH \longrightarrow ROOH + PP^{\circ}$$

$$RO^{\circ} + PPH \longrightarrow ROH + PP^{\circ}$$

เมื่อสารประกอบฟีนอลิค ให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระไปแล้ว อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิคจะค่อนข้างมีเสถียรภาพ ดังนั้นจึงไม่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไป ยิ่งไปกว่านั้นอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิคบางชนิดยังคงสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้อีกด้วย จึงทำให้สามารถลดจำนวนอนุมูลอิสระลงได้ถึง 2 เท่า ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$ROO^{\circ} + PP^{\circ} \longrightarrow ROOPP$$

$$RO^{\circ} + PP^{\circ} \longrightarrow ROPP$$

แต่ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิคยังขึ้นอยู่กับระบบด้วยดังนั้นการศึกษาหรือเปรียบเทียบคุณสมบัติดังกล่าวจึงจำเป็นต้องระบุรายละเอียดของระบบให้ชัดเจนโดยเฉพาะอย่างยิ่งสับสเตรทที่เป็นเป้าหมายของระบบ นอกจากนี้ยังพบว่าในภาวะที่มีสารประกอบฟีนอลิคความเข้มข้นสูง พีเอชสูงและมีเหล็กอยู่ด้วย สารประกอบฟีนอลิคอาจจะเป็นตัวเริ่มต้นของกระบวนการออกซิเดชันเสียเองได้ (Bravo, 1998 อ้างโดยวิวัฒน์, 2545)

สารประกอบฟีนอลิคที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันนั้นสามารถพบได้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น เมล็ด (ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง เมล็ดฝ้าย มัสตาร์ด ข้าว และงา) ผล (ได้แก่ องุ่น ส้ม พริกไทยดำและโอลีฟ) ใบ (ได้แก่ ชา และเครื่องเทศต่าง ๆ) และส่วนอื่นๆ(ได้แก่ มันเทศ และหัวหอม) ส่วนสารประกอบฟีนอลิคอื่น ๆ ที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมาก คือเฟลโวนอยด์ (flavonoids) ตัวอย่างเช่น เฟลโวน(flavones), เฟลโวนอล(flavonols), ไอโซเฟลโวน (isoflavones), แคทิชิน (catechins), เฟลโวโนน (flavonones) และ คาลโคน (chalcones) เป็นต้น และอนุพันธุ์ของกรดซินนามิก (cinnamic acid derivatives) ได้แก่กรดคาเฟอิก(caffeic acid), กรดเฟอรูลิก(ferulic acid), กรดคาโรจินิก(chalorgenic acid) เป็นต้น โดยจะสามารถพบสารประกอบฟีนอลิคดังกล่าวได้ในเกือบทุกส่วนของพืช แต่จะมีความแตกต่างกันออกไปในด้านของชนิดและปริมาณ ซึ่งอาจสรุปเป็นแนวโน้มได้ดังตารางที่ 2.3 (Pratt, 1992 อ้างโดยวิวัฒน์, 2545)

เอกสารนี้จัดทำขึ้นไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
61709

ตารางที่ 2.3 ชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิคในส่วนต่าง ๆ ของพืช

ส่วนของพืช	ชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิค
ผล	Cinnamic acids > catechins ≈ leucoanthocyanins (flavan3,4-diols) > flavonols
ใบ	Flavonols ≈ cinnamic acids > catechins ≈ leucoanthocyanins
เนื้อไม้	Catechins ≈ leucoanthocyanins > flavonols > cinnamic acids
เปลือกไม้	เหมือนในเนื้อไม้แต่จะปริมาณสูงกว่า

ที่มา : Pratt (1992) อ้างโดย วิวัฒน์ (2545)

จากการเปรียบเทียบคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลบริสุทธิ์ พบว่า แคทิชิน > ไมริเซทิน = อิพิแคทิชิน = รูทิน > กรดแกลลิค > เควอร์ซิติน quercetin > ไซยานิดิง (Frankle, 1999 อ้างโดย วิวัฒน์, 2545)

2.5.5 ความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิคในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน

ความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิคในการเป็นสารต้านออกซิเดชันจะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลสารประกอบฟีนอลิค ซึ่งได้แก่ ความเป็นกรดด่าง (pH) อุณหภูมิ แสง เอนไซม์ การรวมตัวกับโมเลกุลอื่นๆ

เนื่องจากหมู่ไฮดรอกซิล ในแต่ละตำแหน่งของสารประกอบฟีนอลิค มีบทบาทต่อคุณสมบัติของการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างซึ่งจะมีผลให้หมู่ไฮดรอกซิล เกิดการเปลี่ยนแปลงจึงน่าจะมีผลต่อสมบัติของการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิคด้วยเช่นกัน (Jackman and Smith, 1996 อ้างโดยวิวัฒน์, 2545)

อุณหภูมิสูงในระหว่างการแปรรูปมีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิคโมเลกุลเล็ก ๆ ระเหยกลายเป็นไอไปได้ ในขณะเฟลโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิคที่มีโครงสร้างแบบ C6-C3-C6 โดยมีลักษณะเป็นวงแหวน 3 วงต่อกันจะเกิดการแตกของวงแหวน C และสลายตัวต่อไปโดยวงแหวน B จะเปลี่ยนเป็นกรดคาร์บอกซิลิกและวงแหวน A จะเปลี่ยนเป็นคาร์บอกซีอัลดีไฮด์ตามลำดับ (Jackman and Smith, 1996 อ้างโดยวิวัฒน์, 2545) และระเหยไปพร้อมกับไอน้ำ (Kim and Smith, 1992 อ้างโดยวิวัฒน์, 2545)

แสงแดด เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่เร่งการสลายตัว หรือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิค เช่น หมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 ในโมเลกุลของแอนโทไซยานินจะสามารถเรืองแสงและไวต่อการสลายตัวเมื่อโดนแสงแดดนอกจากนี้แสงแดดยังเป็นปัจจัยเร่งให้เกิดการสลายตัวเนื่องจากความร้อนให้เกิดเร็วขึ้นด้วย (Jackman and Smith, 1996 อ้างโดย วิวัฒน์, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในสภาพที่มีเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenoloxidase) อยู่ด้วยจะเป็นการเร่งการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลิคบางชนิดให้เกิดได้เร็วขึ้นแต่อัตราเร่งปฏิกิริยาจะแตกต่างกันออกไป Fu และคณะ (1992) (อ้างโดยวิวัฒน์, 2545) พบว่าโพลีฟีนอลออกซิเดสสามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ (-)อิพิแคทิชิน ((-)-epicatechin)ได้ดีกว่า (+) แคทิชิน ((+)-catechin) (วิวัฒน์, 2545)

สารประกอบฟีนอลิคสามารถเกิดการรวมตัวกับโมเลกุลอื่นๆ เช่น โปรตีน โพลีแซคคาไรด์ อัลคาลอยด์และแอนโทไซยานินได้ง่ายและปฏิกิริยาอาจจะเป็นแบบสามารถผันกลับได้หรือไม่ได้นั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ในขณะที่เกิดปฏิกิริยา เช่น ออกซิเจน ไอออนโลหะ เอ็นไซม์และกรด เป็นต้น ซึ่งจะเป็นตัวการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมดุลของปฏิกิริยา เช่น ทำให้สารประกอบในภาวะสมดุลรวมตัวกันและตกตะกอนแยกออกมา หรือเกิดพันธะโควาเลนท์รวมกันเป็นสารใหม่ทำให้ปฏิกิริยาไม่สามารถผันกลับได้ (Haslam *et al.*, 1992 อ้างโดย วิวัฒน์, 2545) หากปรากฏการณ์เหล่านี้มีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิคมีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างไปจะทำให้สารประกอบฟีนอลิคสูญเสียสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันไปได้

2.5.6 บทบาทของสารประกอบฟีนอลิคกับการป้องกันโรคมะเร็ง

โรคมะเร็งสามารถเกิดขึ้นได้จากการที่ร่างกายได้รับสารเคมี รังสี หรือไวรัสจากสิ่งแวดล้อม สิ่งแปลกปลอมเหล่านี้จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับของDNA ส่งผลให้เกิดความผิดปกติของเซลล์และเนื้อเยื่อขึ้นตามลำดับ และมีรายงานว่า สารประกอบฟีนอลิคบางชนิดมีบทบาททั้งในด้านส่งเสริมและป้องกันมะเร็งได้ดังตัวอย่างในตารางที่ 2.4 โดยกลุ่มที่มีบทบาททั้ง 2 ด้านดังกล่าวนี้ คือสารในกลุ่มของฟีนอลและแคทิคอล เนื่องจากในสภาพปกติสารดังกล่าวจะเข้าทำปฏิกิริยากับไนไตรท์ทำให้ไนไตรท์หมดสภาพในการเป็นสารก่อมะเร็ง และส่วนที่เหลือจะถูกเปลี่ยนเป็นควิโนน(quinones) ซึ่งสามารถถูกกำจัดออกจากร่างกายได้ด้วยเอ็นไซม์กลูตาไธโอนทรานส์เฟอเรส (glutathione transferase) ในกระบวนการทางกำจัดสารเคมีแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย (xenobiotic metabolism) แต่หากร่างกายได้รับฟีนอลิคและแคทิคอล ในปริมาณสูงมากจนระบบดังกล่าวไม่สามารถกำจัดได้หมด ควินิน (quinines) จะเข้าทำปฏิกิริยากับโปรตีนและก่อให้เกิดอนุมูลอิสระต่าง ๆ ซึ่งเท่ากับมีผลในการส่งเสริมให้เกิดโรคมะเร็งขึ้นได้ในขณะที่สารในกลุ่มโพลีฟีนอลิค จะมีแต่บทบาทในด้านที่เป็นประโยชน์เท่านั้น คือ จะทำหน้าที่ในการกำจัดอนุมูลอิสระ ไนไตรท์ และโลหะ นอกจากนี้ยังมีบทบาทในการต่อต้านไวรัส และช่วยส่งเสริมระบบเอ็นไซม์ต่าง ๆ ในกระบวนการทางกำจัดสารเคมีแปลกปลอมด้วย (วิวัฒน์, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 บทบาทของสารประกอบฟีนอลิคต่อการเกิดโรคมะเร็ง

บทบาท	ตัวอย่างของสารประกอบฟีนอลิค
Carcinogenic	Catechol, sesamol, caffeic acid, hydroquinone, BHA
Co-carcinogenic	Catechol, caffeic acid, hydroquinone, BHA
Promoting	Phenols, BHA, BHT
Anticarcinogenic	Catechol, quercetin, ellagic acid, chlorogenic acid, BHT, BHA, caffeic acid, tannins, flavanols, other polyphenol

ที่มา : Weisburger (1992) อ้างโดย วิวัฒน์ (2545)

สำหรับกลไกในการป้องกันการเกิดโรคมะเร็งของสารประกอบฟีนอลิคมีลักษณะเช่นเดียวกันกับสารพฤกษเคมี (phytochemical) อื่น ๆ ซึ่งสามารถแบ่งสารประกอบฟีนอลิกออกเป็น 3 ลักษณะ คือ

1. ป้องกันการเกิดสารก่อมะเร็งและการป้องกันการดูดซับสารก่อมะเร็ง
2. ป้องกันไม่ให้สารก่อมะเร็งทำปฏิกิริยากับโมเลกุลเป้าหมาย (blocking agents)
3. ยับยั้งหรือกดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่ได้รับสารก่อมะเร็งไม่ให้เปลี่ยนเป็นเซลล์มะเร็ง (suppressing agents)

สารประกอบฟีนอลิค ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันเป็นสารประกอบที่สามารถพบได้ตามธรรมชาติในพืช การนำพืชที่มีสารประกอบฟีนอลิคมาใช้เป็นอาหารจึงเท่ากับเป็นการเพิ่มสารต้านออกซิเดชันให้กับร่างกายด้วยวิธีหนึ่งแต่เนื่องจากข้อมูลในด้านต่าง ๆเกี่ยวกับสารประกอบฟีนอลิคในผักผลไม้ของไทยยังมีอยู่น้อย จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อส่งเสริมให้มีการใช้ประโยชน์จากผักผลไม้ของไทยในรูปแบบต่าง ๆ ให้กว้างขวางมากยิ่งขึ้น (วิวัฒน์, 2545)

2.5.7 การสกัดสารประกอบฟีนอลิค

การสกัดสารประกอบฟีนอลิคต้องคำนึงถึงส่วนประกอบทั้งหมด เพราะพืชยังประกอบด้วยเซลลูโลสและลิกนิน ซึ่งเป็นสารที่ไม่ละลายน้ำและถ้าเป็นพืชสดจะมีน้ำอยู่ร้อยละ 70-80 นอกจากนี้ยังมีคลอโรฟิลล์(chlorophyll), ไข(waxes), ไขมัน(fats), เทอร์ปีน(terpenes), เอสเทอร์(esters), เกลือที่ละลายน้ำได้(water-soluble salt), เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose), น้ำตาล (sugar) และกรดอะมิโน (amino acid) ร่วมด้วยดังนั้นต้องสกัดสารที่ไม่ใช่ฟีนอลิค (non-phenolic), สารที่ไม่มีขั้ว (non - polar substance) ออกจากพืชด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้ว (non - polar organic solvent) เช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether), เฮกเซน(hexane), เบนซิน(benzene), คลอโรฟอร์ม(chloroform) หรืออีเทอร์ (ether) หลังจากนั้นจึงสกัดฟีนอลิคด้วยอะซีโตน(acetone), เอธานอล (ethanol) , เมธานอล (methanol) หรือน้ำ การเลือกตัวทำละลาย (solvent) ใด ขึ้นอยู่กับจำนวนหมู่ไฮดรอกซอล(hydroxyl group) และน้ำตาลในโมเลกุลของสารนั้นๆ (พรรณิภาและอ้อมบุญ , 2530)

เอกสารนี้ถูกจัดทำขึ้นที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.8 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (Peter and Simon , 1994)

การตรวจวัดปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด มีหลักการ คือ วัดปริมาณความเข้มข้นของสารประกอบทั้งหมดที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ในโมเลกุล และไม่คำนึงถึงน้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบโพลีฟีนอลนั้น ๆ ดังนั้น การวิเคราะห์ในรูปแบบนี้ จึงไม่มีการระบุชนิดของสารประกอบโพลีฟีนอลที่มีอยู่ในตัวอย่าง ซึ่งวิธีการวิเคราะห์แบบนี้ยังใช้กันอยู่ในปัจจุบันและยังเป็นต้นแบบของวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณของโพลีฟีนอลทั้งหมดในรูปของกรดอะมิโนไทโรซีน

การหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดโดยทั่วไปมี 3 วิธี ซึ่งแต่ละวิธีจะมีข้อดีและให้ผลลัพธ์ที่แตกต่างกันไปและเป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวาง การที่จะเลือกใช้วิธีการใดนั้น ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมกับสภาพแวดล้อมในห้องปฏิบัติการ

2.5.8.1 วิธีที่ 1 Folin - Denis method

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยารีดักชัน-ออกซิเดชัน (reduction - oxidation) โดยที่สารประกอบฟีนอลิคถูกออกซิไดซ์ในสภาวะที่เป็นด่าง จากนั้นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะไปรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนทังสติก – ฟอสโฟโมลิบดิก (phosphotungstic – phosphomolybdic complex) ได้ผลิตภัณฑ์เชิงซ้อนที่มีสีน้ำเงินและสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

2.5.5.8 วิธีที่ 2 Folin - Ciocalteu method

เป็นวิธีที่ปรับปรุงและพัฒนาจาก Folin - Denis method ซึ่งมีหลักการของการเกิดปฏิกิริยาเช่นเดียวกับ Folin - Denis method แต่จะเพิ่มอัตราส่วนของโมลิบดินัมและทังสเตนให้มีปริมาณมากขึ้นแล้วใช้สารละลายเกลือ (liquid bromine) ไปออกซิไดซ์ตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อนทังสติก – ฟอสโฟโมลิบดิกจึงทำให้ผลิตภัณฑ์เชิงซ้อนมีสีน้ำเงินที่สว่างขึ้น

2.5.8.3 วิธีที่ 3 Price - Butler method

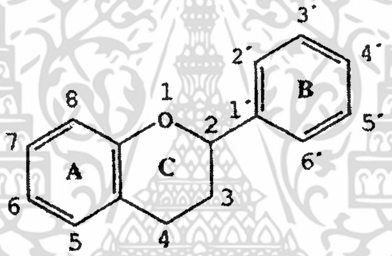
ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยารีดักชัน-ออกซิเดชัน (reduction-oxidation) โดยที่สารประกอบฟีนอลิคถูกออกซิไดซ์ในสภาวะที่เป็นด่าง จากนั้นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะไปรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนทังสติก – ฟอสโฟโมลิบดิก ได้ผลิตภัณฑ์เชิงซ้อนที่มีสีน้ำเงินและสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรซึ่งวิธีการนี้มีวิธีการที่ง่าย สะดวกและรวดเร็วกว่าวิธีการที่ 1 และ 2 เนื่องจากไม่ต้องเตรียมสารเคมีใช้สารเคมีที่สำเร็จรูปแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 สารประกอบเฟลโวนอยด์ (flavonoid compounds)

เฟลโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิคที่กำลังได้รับความสนใจมากที่สุดในขณะนี้นั้น จัดเป็นกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิค ที่มีการค้นพบมากที่สุดในบรรดาสารประกอบฟีนอลิคจากพืชทั้งหมด เนื่องจากมีการค้นพบเฟลโวนอยด์แล้วมากกว่า 5,000 ชนิด และมีการจำแนกออกเป็นกลุ่มตามลักษณะโครงสร้างได้ถึง 13 กลุ่ม ดังตารางที่ 2.5 (วิวัฒน์, 2545)

เฟลโวนอยด์มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นแบบไดฟีนิลโพรเพน(diphenylpropanes : C_6-C_3-C_6) ประกอบด้วยวงแหวน 2 วงที่เชื่อมกันด้วยคาร์บอนสามอะตอมซึ่งมักจะอยู่ในลักษณะของออกซิจิเนท เฮทเทอโรไซเคิล(oxygenated heterocycle) และมีระบบที่ระบุตำแหน่งของคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลของเฟลโวนอยด์ ดังภาพที่ 2.1 โดยทั่วไปเฟลโวนอยด์มักถูกพบในลักษณะของอนุพันธุ์ของไกลโคไซด์โดยอยู่ในส่วนของอะไกลโคน(aglycone) ในโมเลกุลไกลโคไซด์

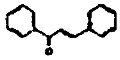
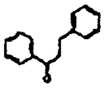
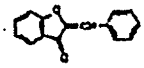
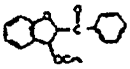
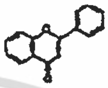
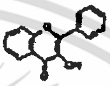
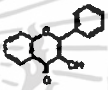
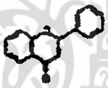
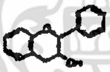
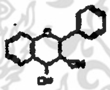
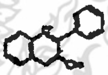
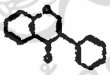
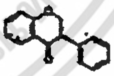
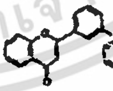
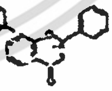
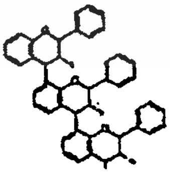


ภาพที่ 2.1 โครงสร้างพื้นฐานและการระบุตำแหน่งคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลเฟลโวนอยด์
ที่มา : วิวัฒน์ (2545)

เฟลโวนอยด์ มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ดีมาก ในอาหารที่เป็นไขมันและไขมันผสมกับน้ำ และปัจจัยที่ส่งเสริมคุณสมบัติดังกล่าวคือตำแหน่งและจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิลและโครงสร้างอื่นๆ ของโมเลกุล ตัวอย่างเช่น หมู่ไฮดรอกซิลของวงแหวน B ซึ่งถือเป็นปัจจัยหลักที่ใช้ในการพิจารณาความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ในกรณีของเฟลโวนอยด์นั้นพบว่าหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง para (C4') จะมีผลให้มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันมากกว่าหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งออร์โธ(ortho) (C2' และ C6') ในขณะที่หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งเมทา (meta) จะไม่มีผลต่อสมบัติดังกล่าว นอกจากนี้หมู่ไฮดรอกซิลที่ C3 (วงแหวน A) และ 4-keto group (C=O ที่คาร์บอนตัวที่4 ของวงแหวน C) และ/หรือหมู่ไฮดรอกซิลที่C5 (วงแหวน A) และ 4-keto group ในโมเลกุลของเฟลโวนอยด์เป็นกลุ่มที่ไวต่อการทำปฏิกิริยากับโลหะซึ่งเป็นการช่วยลดการเกิดออกซิเดชันได้อีกทางหนึ่ง ส่วนหมู่ไฮดรอกซิลของวงแหวน A ที่ตำแหน่งเมทา (C5 และ C7) และหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C3 และพันธะคู่ระหว่าง C2 และ C3 ในวงแหวน C อาจมีผลเล็กน้อยต่อคุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันของเฟลโวนอยด์ (วิวัฒน์, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบเฟลโวนอยด์ 13 กลุ่ม

Flavonoid	Basic Struture
Chalcones	
Dihydrochalcons	
Aurones	 
Flavones	
Flavonols	
Dihydroflavonol	
Flavanones	
Flavanol	
Flavandiol or	
Leucoanthocyanidin	
Anthocyanidin	 
Isoflavonoids	 
Biflavonoids	
Proanthocyanidins or Condensed tannins	

ที่มา : Brovo (1998) อ้างโดย วิวัฒน์ (2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบในกลุ่มเฟลโวนอยด์ที่พบมากที่สุดในปัจจุบัน คือ เฟลโวน (flavones) เช่น อะพิจินิน (apigenin), ลูทีโอลิน (luteolin), ไดออสมีทิน (diosmetin)และเฟลโวนอล(flavonols) เช่น เควอร์ซิติน (quercetin), ไมริซีติน (myricetin), แคมเฟอรอล(kaemferol) รวมทั้งไกลโคไซด์ของทั้งสองชนิด เนื่องจากสามารถพบได้ในพืชเกือบทุกชนิด ยกเว้นในสาหร่ายและ ฟังไจ โดยมีการค้นพบเฟลโวนอล ไกลโคไซด์ (flavonol glycosides) แล้วประมาณ 380 ชนิด และพบเควอร์ซิติน ไกลโคไซด์ และ แคมเฟอรอล ไกลโคไซด์ แล้วประมาณ 200 ชนิด (วิวัฒน์, 2545)

สำหรับเฟลโวนอยด์ในกลุ่มอื่น ๆ ที่น่าสนใจได้แก่เฟลโวโนน (flavonones)เช่น นาริงจินิน (naringenin), เฮสเพอริดิน(hesperidin) ซึ่งพบมากเฉพาะในพืชตระกูลส้มและพรุน ไอโซเฟลโวน (isoflavones) เช่น เจนิสทีน(genistein), ไดเซอีน(daidzein) ซึ่งพบมากในพืชตระกูลถั่วที่มีลักษณะเป็นฝัก (legumes) เฟลวานอล (flavanals) เช่น แคทิชิน (catechin), อิพิแคทิชิน (epicatechin), แกลโลแคทิชิน (gallocatechin) สามารถพบได้ทั้งในรูปอิสระและเป็นโมโนเมอร์ของคอนเดนซ์แทนนิน (condensed tannin) ในชาและแอนโธไซยานิน (anthocyanins) รงควัตถุที่สามารถละลายน้ำได้ในพืชที่มีความสำคัญมากเพราะเป็นสารที่แสดงสีของดอกไม้และผลไม้ของพืชชั้นสูงทั่วไปและมีความสำคัญในการพัฒนาสีของไวน์แดงเนื่องจากสามารถรวมตัวกับเฟลโวนอยด์อื่นๆ เกิดเป็นโพลีเมอริก พิกเมนท์ (polymeric pigments) ได้ (วิวัฒน์, 2545; Yen *et al.*, 2001)

2.6.1 เฟลโวน (flavones)

เฟลโวน หรือ 2- ฟีนิเบนโซไพโรน (2 - phenylbenzopyrone)ในโมเลกุลมีพันธะคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ3 เฟลโวนเป็นสารประกอบที่ไม่มีสี ตัวอย่างเช่น อะจิพีนิน (agipenin) ลูเตโอลิน (luteolin) และไตรเซติน (tricetin) (นิธิยา, 2545)

2.6.2 เฟลโวนอล (flavonols)

เฟลโวนอล เกิดจากการที่สารประกอบเฟลโวน มีการแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซิลเพิ่มขึ้นที่ตำแหน่งที่ 3 ตัวอย่างของเฟลโวนอลได้แก่ เคอร์ซีติน (quercetin หรือ 3,5,7,3,4'- penta hydroxylflavone) แคมพ์ฟีรอล (kaempferol) และไมริซีติน (myricetin) อะไกลโคนที่เป็นอนุพันธุ์ของเฟลโวนและเฟลโวนอลที่ทราบโครงสร้างมีอีกประมาณ 60 ชนิด ซึ่งจะแตกต่างกันที่หมู่ ไฮดรอกซีและเมทอกซี (นิธิยา, 2545; Manthey and Guthrie, 2002)

2.6.3 เฟลวาโนน (flavanones)

เฟลวาโนน มีสูตรโครงสร้างคล้ายเฟลโวนแต่พันธะระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 เป็นพันธะเดี่ยว เฟลวาโนนเป็นเฟลโวนอยด์ที่พบในพืชตระกูลส้ม ตัวอย่างของไกลโคไซด์ เช่น เฮสเพอริดิน (hesperidin) และนาริงจิน (naringin) ที่ pH เป็นด่าง (pH 12) วงแหวนที่อยู่ภายในโมเลกุลของเฮสเพอริดินจะเปิดออกได้เป็นชาลโคน(chalcone)เหมือนการสลายตัวของแอนโธไซยานิน ชาลโคนจะให้สีเหลืองถึงสีน้ำตาล (นิธิยา, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.4 เฟลวาโนนอล (flavanonals)

เฟลวาโนนอล มีสูตรโครงสร้างคล้ายเฟลโวน แต่มีหมู่ไฮดรอกซิลเพิ่มขึ้นที่ตำแหน่งที่ 3 (นิธิยา, 2545)

2.6.5 ไอโซเฟลโวน (isoflavones)

ไอโซเฟลโวน มีสูตรโครงสร้างเช่นเดียวกับเฟลโวน แต่วงแหวนฟีนิลอยู่ที่ตำแหน่งที่ 3 เป็น 3 - ฟีนิลเบโซไพโรน (3-phenylbenzopyrone) (นิธิยา, 2545)

สารประกอบเฟลโวนอยด์ที่มีอะไกลโคนเป็นองค์ประกอบจะเกิดปฏิกิริยาไฮดรอก-ซิเลชั่นและเอสเทอริฟิเคชั่นกับน้ำตาลและบางครั้งก็มีหมู่เอซิลอยู่ในโมเลกุลด้วยเช่นเดียวกับแอนโธไซยานิน เฟลโวนอยด์หลายชนิดมีน้ำตาลที่เป็นโมโนแซคคาไรด์หรือไดแซคคาไรด์อยู่ในโมเลกุลด้วยซึ่งน้ำตาลที่พบคือ กลูโคสและแรมโนส (นิธิยา, 2545)

สารประกอบเฟลโวนอยด์เป็นกลุ่มของรงควัตถุที่มีความคงตัวต่อความร้อนและปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าแอนโธไซยานิน แต่สามารถเปลี่ยนสีได้ง่ายเมื่อรวมตัวกับโลหะ เช่น เมื่อรวมตัวกับเหล็กจะให้สีน้ำเงินหรือสีเขียว นอกจากนี้สารประกอบเฟลโวนอยด์ยังเป็นสารประกอบเริ่มต้นสำหรับปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์ได้ จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนสีที่ไม่พึงประสงค์ในอาหาร ตัวอย่างเช่น หน่อไม้ฝรั่งบรรจุกระป๋องอาจมีเฟลโวนอยด์ ชื่อ รูติน (rutin หรือ quercetin -3 -rhamnoglucoside) สามารถรวมตัวกับเหล็กที่ออกมาจากกระป๋องได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีดำ ทำให้หน่อไม้ฝรั่งมีสีคล้ำได้ แต่ถ้ารวมตัวกับดีบุกจะให้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีเหลือง (นิธิยา, 2545)

นารินจินเป็นเฟลโวนอยด์ที่มีน้ำตาลนีโอเฮสเพอริโดส (neohesperidose) อยู่ในตำแหน่งที่ 7 และทำให้มีรสขม แต่ไอโซเมอร์ของมัน คือ ไอโซเฟลโวนซึ่งมีน้ำตาลรูติโนสอยู่ในตำแหน่งที่ 7 ไม่มีรสชาติเลย (นิธิยา, 2545)

นีโอเฮสเพอริโดส คือ ไดแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยน้ำตาลแรมโนสและกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ที่ตำแหน่ง $\alpha(1\rightarrow 2)$ ขณะที่รูติโนสเชื่อมต่อกันที่ตำแหน่ง $\alpha(1\rightarrow 6)$ น้ำตาลนีโอเฮสเพอริโดส ที่วงแหวนในโมเลกุลเปิดออกเป็นชาลโคน อนุพันธุ์ที่ได้คือนีโอเฮสเพอริดินไดไฮโดรชาลโคน (neo - hesperidin dihydrochalcone) สังเคราะห์ได้จากนารินจินจะมีความหวานมากกว่าน้ำตาลซูโครสเกือบ 2,000 เท่า (นิธิยา, 2545)

พืชส่วนใหญ่มีรงควัตถุเฟลโวนอยด์ โดยเฉพาะเฟลโวนอล เช่น เคอร์ซีตินและแคมเฟอรอลไกลโคไซด์ซึ่งพบว่ามีอยู่ในพืชมากกว่าร้อยละ 50 และมีไมริซีตินมากกว่าร้อยละ 10 ของพืชที่ได้มีการศึกษา แต่ปริมาณของเฟลโวนอยด์ในอาหารยังมีรายงานน้อยมาก อาจเนื่องจากยังขาดวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณที่เหมาะสม (นิธิยา, 2545)

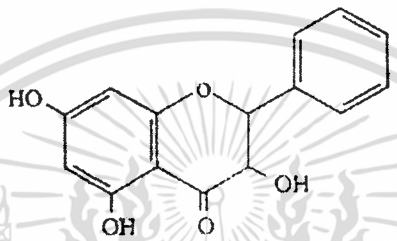
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.6 เฟลโวนอยด์ในพืชตระกูลส้ม

เฟลโวนอยด์ที่พบในพืชตระกูลส้มแบ่งได้ 4 ชนิด คือ

2.6.6.1 เฟลวาโนน

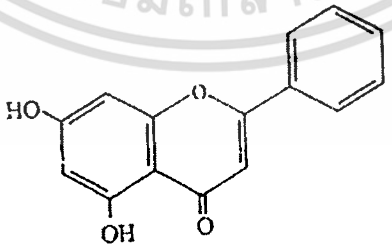
เฟลวาโนนที่พบในพืชตระกูลส้ม เช่น นารินจิน เฮสเปอริดิน นารินจีนิน โครงสร้างของเฟลวาโนนจะไม่มีพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2-3ในวงแหวน C (C-ring structure) ทำให้มีสมบัติต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ไม่ดีเท่าที่ควร ซึ่งจากการศึกษาของ Das และ Pereira (1993) แสดงให้เห็นว่านารินจีนินไม่มีพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2-3 ในวงแหวน C



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของเฟลวาโนน
ที่มา : Rice-Evans และคณะ (1997)

2.6.6.2 เฟลโวน

เฟลโวน ที่พบในพืชตระกูลส้มมีความเข้มข้นอยู่ในระดับต่ำ พบอยู่ในส่วนของเนื้อเยื่อส้ม (citrus tissue) เช่น อิพิจินิน (epigenin) ลูทีโอลิน (luteolin) ไดออสมิทิน (diosmetin) และแทนเจอริทิน (tangeretin) โครงสร้างของเฟลโวนจะขาดหมู่ไฮดรอกซิล (OH) ในตำแหน่งที่ 3 บนวงแหวน C แม้จะพบเฟลโวนในปริมาณน้อยในพืชตระกูลส้ม แต่เฟลโวนก็แสดงสมบัติต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและทำลายอนุมูลอิสระได้ดี

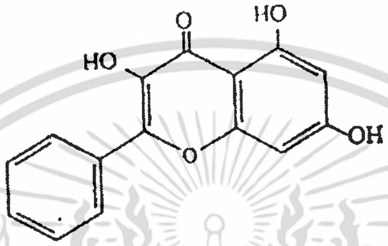


ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของเฟลโวน
ที่มา : Rice-Evans และคณะ (1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.6.3 เฟลโวนอล

เฟลโวนอล ที่พบในพืชตระกูลส้มมีความเข้มข้นอยู่ในระดับต่ำ พบอยู่ในเนื้อเยื่อส้มเช่น เควอร์ซีทิน (quercetin) และแคมเฟอรอล (kaempferol) เฟลโวนอลจะมีหมู่ 3-ไฮดรอกซี (3-hydroxy) อยู่บนวงแหวนC และ หมู่5-ไฮดรอกซี (5- hydroxy) อยู่บนวงแหวน A (A-ring structure) จึงแสดงสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและทำลายอนุมูลอิสระได้ดีแม้จะพบในปริมาณน้อย



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของเฟลโวนอล
ที่มา : Rice-Evans และคณะ (1997)

2.6.6.4 แอนโธไซยานิน

แอนโธไซยานิน สารในกลุ่มนี้เป็นรงควัตถุพบเฉพาะในส่วนของน้ำส้มสีทับทิม (blood orange) ซึ่งมีสีส้มแดง เช่น ไซยานิดิน (cyanidin) พิโอนิดิน (peonidin) เดลฟีนิดิน (delphinidin) และพิทูนิดิน(petunidin) สารในกลุ่มนี้พบในปริมาณน้อยและมีสมบัติต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันไม่เด่นชัดเท่าเฟลโวนอยด์ชนิดอื่น

เฟลโวนอยด์เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันกลุ่มที่สำคัญมากกลุ่มหนึ่งที่พบได้ในพืชตระกูลส้มแต่จะมีลักษณะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับโครงสร้างทางเคมีและการเชื่อมต่อกันด้วยหมู่แทนที่ต่าง ๆ ดังนั้น ดังแสดงในตารางที่ 2.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.6 โครงสร้างทางเคมีที่สำคัญและลักษณะการแทนที่ด้วยหมู่ต่าง ๆ บนโมเลกุลของเฟลโวนอยด์ที่พบในพืชตระกูลส้ม

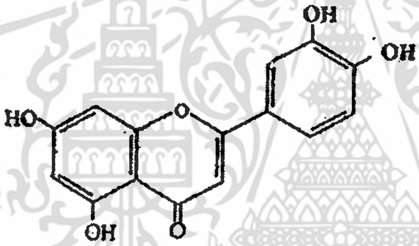
Flavonoid	*Citrus sp.*	C-ring structure[a]	Substitution pattern
Naringin	C. paradisi	FLA	5 , 4′-OH
	C. aurantium		7-*O*-Neo[b]
Neoeriocitrin	*C. aurantium*	FLA	5,3′,4′-OH
			7-*O*-Neo
Hesperidin	*C. sinensis*	FLA	5,3′-OH , 4′-OMe
			7-*O*-Rut[b]
Diosmin	*C. sinensis*	FLO	5,3′-OH
	C. limonia		4′-Ome
			7-*O*-Rut[b]
Rutin	*C. limonia*	FOL	5,7,3′,4′-OH
			3-*O*-Rut
naringenin	*C. paradisi*	FLA	5,7,4′-OH
Eriodictuol	*C. aurantium*	FLA	5,7,3′,4′-OH
Hesperetin	*C. sinensis*	FLA	5,7,3′-OH
			4′-Ome
Apigenin	*C. paradisi*	FLO	5,7,4′-OH
Luteolin	*C. limonia*	FLO	5,7,3′,4′-OH
	C. aurantium		
Diosmetin	C. sinensis	FLO	5,7,3′-OH
			4′-Ome
Kaempferol	*C. paradisi*	FOL	5,7,3,4′-OH
Quercetin	*C. limonia*	FOL	5,7,3,3′,4′-OH
Tangeretin	*C. aurantium*	FLO	5,6,7,8,4′-Ome
	C. paradisi		
	C. limonia		

[a]FLA , flavanone ; FLO , flavone ; FOL , flavonol. [b]Neo , neohesperidoside ; Rut , rutinoside

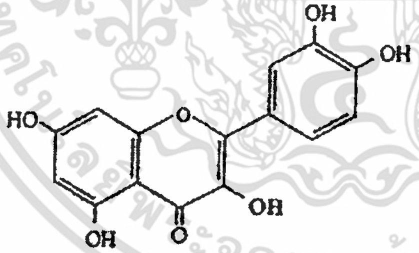
ที่มา : Benavente – Garcia และ คณะ (1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

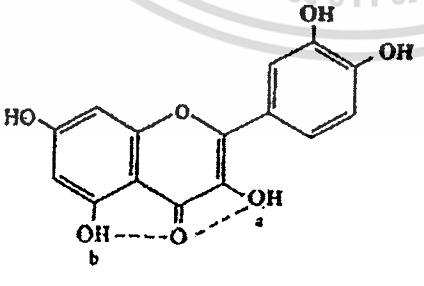
สารประกอบในกลุ่มเฟลโวนอยด์ที่พบตามธรรมชาติในพืช ส่วนใหญ่มีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี ซึ่งสมบัตินี้มีความสัมพันธ์กับโครงสร้างทางเคมีของเฟลโวนอยด์ โดยเฟลโวนอยด์เป็นสารที่ให้อะตอมของไฮโดรเจนกับอนุมูลอิสระเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ของอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรมากขึ้นและ/หรือทำให้เกิดผลิตผลที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระในขั้นตอนสุดท้ายของปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้หยุดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Heo *et al.*, 2004; Kawaii *et al.*, 1999; Kawaii *et al.*, 2001; Miller *et al.*, 2004; Wanasundara and Shahidi,1994) นอกจากนี้เฟลโวนอยด์ยังทำหน้าที่เป็นสารจับกับโลหะอิออนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ เนื่องจากเฟลโวนอยด์มีหมู่ออร์โทไดไฮดรอกซิล (ortho - dihydroxyl, 3′, 4′-dihydroxy) บนวงแหวน B (B ring structure) และมีหมู่ 4-oxo (C=O) บนวงแหวน C ซึ่งมีส่วนสำคัญ ในการเพิ่มสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเฟลโวนอยด์ ดังนั้น การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบเฟลโวนอยด์ จะมีประสิทธิภาพดีมากน้อยเพียงใด ขึ้นกับอยู่โครงสร้างของเฟลโวนอยด์นั้นด้วยดังแสดงในภาพที่ 2.5 และตารางที่ 2.7



ภาพที่ 2.5 A



ภาพที่ 2.5 B



ภาพที่ 2.5 C

ภาพที่ 2.5 หมู่ฟังก์ชันในโครงสร้างของเฟลโวนอยด์ในลักษณะต่าง ๆ ที่มีผลต่อสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ที่มา : Benavente–Garcialและคณะ (1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.7 หมู่ฟังก์ชันของเฟลโวนอยด์ชนิดต่าง ๆ ที่พบในพืชตระกูลส้มซึ่งมีผลต่อสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

Flavonoid	Type of antioxidant structure				
	A	B	C(a)	C(b)	other
naringin	-	-	-	X	4′-OH
neoeriocitrin	X	-	-	X	
hesperidin	-	-	-	X	3′-OH , 4′-OMe
diosmin	-	X	-	X	3′-OH , 4′-OMe
Rutin	X	X	X[a]	X	
naringenin	-	-	-	X	4′-OH
Eriodictyol	X	-	-	X	
hesperetin	-	-	-	X	3′-OH , 4′-OMe
Apigenin	-	X	-	X	4′-OH
Luteolin	X	X	-	X	
diosmetin	-	X	-	X	3′-OH , 4′-OMe
kaempferol	-	X	X	X	4′-OH
quercetin	X	)	X	X	
Tangeretin	-	X	-	-	5,6,7,8, 4′-OMe

[a]Glycosylated in 3-OH

ที่มา : Benavente–Garciaและคณะ (1997)

- การแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซิล (OH) บนวงแหวนB (ภาพที่2.5 A) การแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งออร์โธ (ortho, 3′) และตำแหน่งพารา (para, 4′) บนวงแหวน B จะมีผลทำให้เฟลโวนอยด์แสดงสมบัติต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี

- พันธะคู่ที่ตำแหน่ง2-3และหมู่ 4-oxo ของวงแหวน C (ภาพที่2.5 B) ซึ่งโครงสร้างที่ตำแหน่งดังกล่าว จะมีผลทำให้สารประกอบในกลุ่มของเฟลโวนอยด์มีสมบัติต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันแตกต่างกันออกไป เช่น ทาซิโฟลิน(taxifolin) และนารินจินิน (naringenin) ขาดพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2-3 ไป ทำให้มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันอยู่ในระดับต่ำ(Das and Pereira, 1993) นอกจากนี้จากการทดลองของ Ramaswamy และคณะ(1972) ยังพบว่าพันธะคู่ตำแหน่ง 2-3 ในโครงสร้างของเฟลโวนอยด์มีส่วนสำคัญที่ทำให้เฟลโวนอยด์แสดงสมบัติเป็นสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 3 บนวงแหวน C และ หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 5 บนวงแหวน A (ภาพที่2.5 C) การที่เฟลโวนอยด์มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งดังกล่าวจะมีผลทำให้มีสมบัติในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดี เนื่องจากตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิลสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่ 4-oxo ของวงแหวน C ซึ่งมีประสิทธิภาพในการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่ลิปิดเปอร์ออกซิลแรดดิคัล (lipidperoxyl radical) (Benavente-Garcia *et al.*, 1997) นอกจากนี้โครงสร้างดังกล่าวยังมีความสำคัญในการจับกับอนุมูลไอออนของโลหะอีกด้วย

2.7 สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่พบในพืชตระกูลส้ม

เปลือกและเมล็ดพืชตระกูลส้มเป็นแหล่งของสารพฤกษเคมีที่สำคัญมากมาย เช่นวิตามินซี เฟลโวนอยด์ และแอนโธไซยานิน เมื่อบริโภคส้มในรูปของผลสดก็จะได้รับสารเหล่านี้เข้าไปด้วย ซึ่งสารเหล่านี้มีผลดีต่อสุขภาพ คือ ช่วยต้านอนุมูลอิสระ ต้านอาการอักเสบ อาการแพ้ต่าง ๆ ต้านไวรัส ต้านการกลายพันธุ์และต้านสารก่อมะเร็ง นอกจากรับประทานในรูปของผลสดแล้ว ปัจจุบันได้มีการศึกษาและสกัดสารพฤกษเคมีจากพืชตระกูลส้ม มาใช้ในทางการแพทย์และทางเภสัชกรรมพบว่า สารในกลุ่มของเฟลโวนอยด์ที่สกัดจากพืชตระกูลส้มให้ผลดีทั้งด้านการแพทย์และเภสัชกรรม จากรายงานของ Nogata และคณะ (1996) พบว่าสารสกัดที่สกัดได้จากส่วนของอัลเบโด (albedo) ของเลม อน ยับยั้งกิจกรรมข องเอนไซม์ไซโคลออกซีเจนเนส (cyclooxygenase) และไลพอกซีเจนเนส (lipoxygenase) ซึ่งเป็นผลให้สามารถป้องกันการจับตัวเป็นลิ่มของโลหิต (thromobosis) โรคหลอดเลือดแข็งตัว (atherosclerosis) และป้องกันการก่อมะเร็ง เฟลโวนอยด์ 2 ชนิด ที่นำมาใช้ในทางการแพทย์และเภสัชกรรม คือ เฮสเปอริดิน (hesperidin) และไดโอสมิน (diosmin) ซึ่งเฟลโวนอยด์ทั้ง 2 ชนิดจะเป็นส่วนผสมอยู่ในยาที่ใช้รักษาอาการเจ็บป่วยของคนไข้ โดยจะช่วยลดอาการอักเสบ อาการปวดบวม กำจัดอนุมูลอิสระและเพิ่มภูมิคุ้มกันให้ร่างกาย สำหรับคุณสมบัติที่สำคัญอีกประการหนึ่งของเฟลโวนอยด์ คือ มีผลต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และไวรัส เช่น เควอร์เซติน (quercetin)และเฮสเปอริดิน มีผลในการยับยั้งการติดเชื้อของไวรัสเริม ไวรัสที่ทำให้เกิดโรคโปลิโอ ไวรัสไข้หวัดใหญ่ (parpinfluenza virus) และไวรัสทางเดินหายใจ (ปาริชาติ, 2543 ; Benavente-Garcia *et al.*, 1997) และจากการศึกษาของ Ramaswamy และคณะ (1972) แสดงให้เห็นว่าไบโอเฟลโวนอยด์ (bioflavonoid) จากพืชตระกูลส้มมีผลต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ โดยพบว่าโครงสร้างของเฟลโวนอยด์ที่เป็นอะไกลโคนมีสมบัติต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าเฟลโวนอยด์ไกลโคไซด์ และยังพบอีกว่าพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2-3 ในโครงสร้างของวงแหวน C มีส่วนสำคัญในการต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วย ซึ่งจากการทดลองนี้ เฟลโวนอลมีผลต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด ส่วนแนวโน้มของการใช้สารสกัดจากพืชตระกูลส้มในอุตสาหกรรมอาหารนั้น ส่วนใหญ่จะใช้เพื่อเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและน้ำมันในผลิตภัณฑ์อาหาร เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิก และสารประเภทเฟลโวนอยด์ในพืชตระกูลส้มมีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เป็นอย่างดี จากการศึกษาของนักวิจัยจำนวนมากพบว่า สารประกอบฟีนอลิกจากธรรมชาติและสารประกอบเฟลโวนอยด์ มีส่วนช่วยถนอมอาหารและยืดอายุการเก็บรักษาให้ยาวนานขึ้นได้และพบว่าสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบเฟลโวนอยด์มีส่วนช่วยทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตด้วย (Milic *et al.*,1998)

2.7.1 วิตามินซี

วิตามินซีเป็นวิตามินที่ละลายน้ำได้ พบมากในพืชตระกูลส้ม แต่สลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกความร้อน การชะล้างและการหั่น ดังนั้นจึงต้องใช้วิธีการรับประทานส้มสด ๆ จึงจะได้รับวิตามินซีสูงสุด นอกจากนี้การเก็บส้มมาจากต้นนานเกินไปก็จะทำให้สูญเสียวิตามินซีมากขึ้น การทำหน้าที่เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของวิตามินซีส่วนใหญ่ จะทำหน้าที่ร่วมกับวิตามินอีจึงให้ผลต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี วิตามินซีแสดงสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยทำหน้าที่ยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น บริเวณพันธะคู่ของกรดไขมันโดยทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นด้วยการเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้น จากปฏิกิริยออกซิเดชันไปเป็นสารที่มีความเสถียรมากขึ้น (Mitsumoto *et al.*,1991) และจับกับโลหะอิออนที่เป็นสารเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Frankel, 1996) ในเนื้อเยื่อของพืชวิตามินซีจะทำหน้าที่ปกป้องเซลล์ของพืชโดยการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการออกซิเดชัน สำหรับในอาหารวิตามินจะทำหน้าที่กำจัดออกซิเจนที่เป็นสาเหตุ ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและยังทำหน้าทีเป็นสารคีเลต (chelating agent) อีกด้วย ถึงแม้ว่าวิตามินซีจะมีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี แต่การใช้วิตามินซีก็มีข้อจำกัดด้วย คือ ถ้าใช้ในระดับความเข้มข้นสูงๆและอยู่ในสภาวะที่มีโลหะไอออนอยู่ วิตามินซีจะแสดงสมบัติเป็นสารที่ส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Mitsumoto *et al.*, 1991) พบว่าควรใช้วิตามินซีอยู่ระหว่าง 200 – 1,000 ส่วนในล้านส่วน (ppm) จึงจะมีผลต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี

2.7.2 เฟลโวนอยด์

เฟลโวนอยด์ที่พบในพืชตระกูลส้มเป็นสารพฤกษเคมีกลุ่มใหญ่ที่สุดและมีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เด่นชัดกว่าสารประกอบกลุ่มอื่นๆ ดังนั้นจึงมีผู้วิจัยถึงสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเฟลโวนอยด์เมื่อนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารมากมายและได้ศึกษาถึงโครงสร้างของเฟลโวนอยด์ที่มีส่วนสำคัญที่ทำให้เฟลโวนอยด์แสดงสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ramanathan และ Das (1992) ศึกษาผลของสารโพลีฟีนอลิกธรรมชาติต่อการควบคุมปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในเนื้อปลาสุกเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและ –20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าเควอร์ซีทิน (200 ส่วนในล้านส่วน) ไมริเซทิน (200 ส่วนในล้านส่วน) กรดแทนนิน (30 และ 200 ส่วนในล้านส่วน) และกรดแอลลาจิก (30 และ 200 ส่วนในล้านส่วน) มีผลต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในเนื้อปลาต้มสุกภายใต้สภาวะการเก็บรักษาดังกล่าวได้ดี

Das และ Pereira (1990) ศึกษาผลของเฟลโวนอยด์ และความสัมพันธ์ของโครงสร้างต่อการเกิดออโตออกซิเดชันในน้ำมันปาล์ม พบว่ามอริน(morin) ไมริซีทิน เคมเฟอรอล และเควอร์ซีทิน ซึ่งเป็นสารในกลุ่มเฟลโวนอล มีสมบัติต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีเมื่อใช้ในน้ำมันปาล์ม และพบว่าโครงสร้างที่มีส่วนสนับสนุนสมบัติการต้านการเกิดออกซิเดชัน คือ จำนวนและตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิลที่เข้าแทนที่บนวงแหวน B พันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2-3 และการแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซิลอิสระที่ตำแหน่ง 3 และ 5 บนวงแหวน C และ A และหมู่ 4-oxo

Wanasudara และ Shahidi (1994) ศึกษาเสถียรภาพของน้ำมันคาโนล่าต่อการเกิดออกซิเดชันของไขมันเมื่อใช้สารเฟลโวนอยด์ (ไมริซีทิน อิพิเคทิชิน นารินจิน รูทีน มอริน และเควอร์ซีทิน) เติมลงในน้ำมันคาโนล่าเปรียบเทียบกับ BHA และ BHT โดยศึกษาการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันเป็นเวลา 13 วัน ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ผลการทดสอบพบว่าไมริซีทินมีผลชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้สูงถึง 15 วัน และยับยั้งการเกิดสารประกอบจากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ถึง 69% ในช่วงแรก (induction peroid) ของกระบวนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมัน เนื่องจากไมริซีทินมีจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิลในโครงสร้างของวงแหวน B มากเมื่อเปรียบเทียบกับเฟลโวนอยด์ชนิดอื่นที่ใช้ในการทดลองทำให้ไมริซีทินแสดงสมบัติต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้สูงที่สุด

2.7.3 แคโรทีนอยด์ (carotenoids)

แคโรทีนอยด์เป็นกลุ่มของรงควัตถุที่พบได้ในเปลือกและส่วนที่เป็นน้ำของส้ม มีสีเหลืองจนถึงสีส้ม แบ่งได้ 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มของแคโรทีน เช่น เบต้าแคโรทีน (β-carotene) และไลโคปีน (lycopene) ส่วนอีกกลุ่มหนึ่ง คือ แซนโธฟิล (xanthophyll) เช่น เอสธาแซนธิน (asthaxanthin) และเคทธาแซนธิน (canthaxanthin) แคโรทีนอยด์ที่พบในส้มจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ของส้ม ความแก่อ่อน ฤดูกาลและการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว แคโรทีนอยด์ที่พบในเปลือกส้ม เช่น แอลฟาและเบต้าแคโรทีน ลูทีน (lutein) และไวโอเลแซนธิน (violaxanthin) เป็นต้น จากการศึกษาของ Curl และ Bailey (1956) พบว่าเปลือกและเยื่อใยของส้มพันธุ์วาเลนเซียประกอบด้วยแคโรทีนอยด์สูงถึง 60 % และสารประกอบในกลุ่มของแคโรทีนอยด์ที่พบมากที่สุด คือ ไวโอเลแซนธิน เช่นเดียวกับ Yen และ Chen(1995) ซึ่งทดลองแยกแซนโธฟิลจากเปลือกส้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในประเทศไต้หวัน พบว่า ไวโอเลแซนธินเป็นสารที่มีมากที่สุดในเปลือกส้มและเมื่อนำไวโอเล - แซนธินที่แยกได้จาก HPLC และสารที่สกัดได้จากเปลือกส้ม มาทดสอบความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชันในน้ำมันถั่วเหลืองที่ระดับ 10-50 ส่วนในล้านส่วน เปรียบเทียบกับแอลฟาแคโรทีน เบต้าแคโรทีนและลูทีน พบว่าประสิทธิภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเรียงลำดับจากมากไปหาน้อยมีดังนี้ เบต้าแคโรทีน > สารสกัดจากเปลือกส้ม > ไวโอเลแซนธิน > ลูทีน > แอลฟาแคโรทีน ตามลำดับ และจากการทดสอบยังพบอีกว่าประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารที่ใช้ ถ้าใช้ความเข้มข้นที่ระดับ 50 ส่วนในล้านส่วนจะมีประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีที่สุด แคโรทีนอยด์ที่พบในพืชตระกูลส้ม มีสมบัติต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีโดยจะทำหน้าที่จับกับโลหะหรือช่วยทำลาย singlet oxygen ที่เป็นสาเหตุของปฏิกิริยาออกซิเดชัน แคโรทีนอยด์มีสมบัติต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีเฉพาะในกรณีที่มีความดันออกซิเจนต่ำๆ (15-50 torr) เท่านั้น แต่เมื่ออยู่ในสภาพที่มีความดันออกซิเจนสูงๆ แคโรทีนอยด์ก็จะส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้

$$\text{carotene} + ROO^{\bullet} \longrightarrow \text{carotene}^{\bullet}$$

$$\text{carotene}^{\bullet} + ROO^{\bullet} \longrightarrow \text{termination product}$$

$$\text{carotene}^{\bullet} + O_2 \longrightarrow \text{carotene-}OO^{\bullet}$$

จากสมการข้างต้น แคโรทีน จะทำปฏิกิริยากับลิปิดเปอร์ออกซิลแรดดิคัล (lipid peroxy radical) และเปลี่ยนเป็นแคโรทีนแรดดิคัล (carotene radical) ในกรณีที่มีระดับความเข้มข้นออกซิเจนต่ำๆ แคโรทีนแรดดิคัล จะอยู่ในสภาพเสถียร ซึ่งจะแสดงสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี แต่ในกรณีที่มีความดันของออกซิเจนสูงๆ แคโรทีนแรดดิคัลที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนอย่างรวดเร็วเกิดเป็นเปอร์ออกซิลแรดดิคัลแคโรทีน (carotene peroxyl radical , carotene-OO$^{\bullet}$) ซึ่งสารที่เกิดขึ้นไม่เสถียรสามารถทำปฏิกิริยากับซับสเตรทชนิดอื่น ๆ ได้อีก เช่น แคโรทีนด้วยกันเองหรือเซลล์เมมเบรนของไขมันซึ่งนำไปสู่การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อไป อย่างไรก็ตาม สารในกลุ่มของแคโรทีนอยด์ที่มีการค้นคว้าวิจัยแล้วว่ามีสมบัติต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เด่นชัดที่สุด คือ ลูทีน ไลโคปีน และเบต้าแคโรทีน โดยมีรายงานว่าสารเหล่านี้มีสมบัติยับยั้งการเกิดโฟโตออกซิเดชัน (photooxidation) ในน้ำมันที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ได้ดี

2.7.4 กรดฟีนอลิก

กรดฟีนอลิก เป็นสารอีกกลุ่มหนึ่ง ที่พบได้ในพืชตระกูลส้ม เช่น คูมาริน (coumarin) พีคูมาริน (*p*-coumarin) เฟอรูริก (ferulic) คาเฟอิก (caffeic) ซินนามิก(cinnamic) เป็นต้น กรดฟีนอลิกที่พบในพืชตระกูลส้มส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปที่จับกับสารประกอบชนิดอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบมากในส่วนของเปลือก แต่จะมีปริมาณแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ สภาพภูมิอากาศและความแก่สุกของส้ม (Gorinstein *et al.*,2001) กรดฟีนอลิกมีสมบัติต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันคล้ายกัน นอกจากนี้ กรดฟีนอลิกยังมีสมบัติทางด้านเภสัชศาสตร์ด้วย เช่น ช่วยป้องกันการเกิดโรคหัวใจ และยับยั้งการดูดซึม Cu^{2+} ที่มีส่วนไปเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไลโพโปรตีน ที่มีความหนาแน่นต่ำ (LDL) ในร่างกายมนุษย์

2.8 สมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากพืชตระกูลส้ม

พืชตระกูลส้มเป็นพืชที่ประกอบด้วยสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมากมายโดยเฉพาะสารประกอบในกลุ่มของเฟลโวนอยด์ ดังนั้นจึงมีผู้สนใจศึกษาสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารที่สกัดได้จากส่วนต่างๆของพืชตระกูลส้มและความเป็นไปได้ที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารดังนี้

ประพันธ์ ปิ่นศิโรดมและวันทนีย์ ช้างน้อย (2545) ศึกษาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดพืชตระกูลส้มชนิดต่าง ๆ ที่ปลูกในประเทศไทยโดยใช้เอธานอลเป็นตัวสกัด พบว่า เมล็ดส้มเขียวหวานมีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกสูงที่สุด รองลงมาคือเมล็ดส้มฟรีมองต์ ส้มโชกุน ส้มสายน้ำผึ้ง ส้มโอขาวน้ำผึ้ง ส้มโอทองดี และมะนาว ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีรายงานอีกว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มสายน้ำผึ้งมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือเมล็ดส้มเขียวหวาน ส้มฟรีมองต์ ส้มโอทองดี มะนาว ส้มโชกุนและส้มโอขาวน้ำผึ้ง ตามลำดับ

Benavente- Garcia (1995) รายงานว่าสารประกอบเฟลโวนอยด์จากพืชตระกูลส้มมีความสามารถในการยับยั้งและ/ หรือทำลายโมเลกุลต่าง ๆ ที่เป็นสาเหตุสำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชันได้แก่ ซิงเกล็ทออกซิเจน อนุมูลเปอร์ออกไซด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และอนุมูลไฮดรอกซีเป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (autoxidation) ที่เกิดขึ้นในกรดไขมันไม่อิ่มตัว และกรดไขมันอิ่มตัวสายยาว

Bocco และคณะ (1998) ศึกษาสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดของพืชตระกูลส้มชนิดต่าง ๆ โดยใช้ตัวละลายอินทรีย์ 2 ชนิดในการสกัดได้แก่ เมธานอลและเอธิลอะซีเตต พบว่าสารสกัดจากเมล็ดโดยทั่วไปจะมีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันดีกว่าสารสกัดจากเปลือก นอกจากนี้สายพันธุ์ของพืชตระกูลส้มที่ต่างกันจะให้สารสกัดจากเมล็ดและเปลือกที่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่างกันด้วย สำหรับชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้มีผลต่อกลุ่มของสารประกอบที่ถูกสกัดออกมาแตกต่างกันโดยสารสกัดที่ได้จากการใช้เมธานอลจะมีองค์ประกอบของเฟลโวนและไกลโคซิเล็ทเทท ฟลาวาโนนเป็นส่วนใหญ่ในขณะที่สารสกัดที่ได้จากการใช้เอธิลอะซีเตตสกัดจะมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดฟีนอลิคและฟลาโวนอล อย่างไรก็ตาม ข้อมูลที่ได้ไม่สามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันกับชนิดหรือองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดดังกล่าว

Gorinstein และคณะ (2001) ศึกษาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบอื่น ๆ ที่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารสกัดจากเปลือกและผลของพืชตระกูลส้มชนิดต่าง ๆ พบว่าในส่วนของเปลือกจะมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าผล และสารสกัดจากเปลือกยังแสดงสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าสารสกัดจากผลของพืชตระกูลส้มทุกชนิดที่ใช้ในการทดลอง

Jamilah และคณะ (1998) ศึกษาการใช้สารสกัดจากเปลือกมะกรูด (*Citrus hystrix*) ในน้ำมันปาล์มโอลีอีนที่ใช้ทอดอาหาร พบว่าการใช้สารสกัดที่ระดับ 2,000 ส่วนในล้านส่วน และสาร BHT 200 ส่วนในล้านส่วน เติมลงในน้ำมันปาล์มโอเลอีนที่ใช้ทอดข้าวเกรียบปลาที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส ช่วงเวลา 5 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลาติดต่อกัน 4 วัน พบว่าสารสกัดจากเปลือกมะกรูดแสดงสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Larrauri และคณะ (1996) ศึกษาสมบัติการต้านปฏิกริยาออกซิเดชันของผงเยื่อใยที่ได้จากส้มพันธุ์วาเลนเซีย (*Citrus sinensis*) และเปลือกมะนาวพันธุ์เพอร์ซา (*Citrus aurantifolia*) โดยติดตามประสิทธิภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิกที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับวิตามินอี และ BHT พบว่าประสิทธิภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของ BHT ดีที่สุด รองลงมา คือ เปลือกมะนาวพันธุ์เพอร์ซา วิตามินอีและเปลือกส้มพันธุ์วาเลนเซีย ตามลำดับ และเมื่อนำผงเยื่อใยทั้ง 2 ชนิดมาแยกโดยใช้ HPLC สารประกอบโพลีฟีนอลที่เป็นองค์ประกอบในผงเยื่อใยทั้ง 2 ชนิด คือ กรดคาเฟอิก กรดเฟอรูลิก นารินจิน เฮอร์เปอริดิน และไมริซีทินส่วนในเปลือกมาะนาวพันธุ์เพอร์ซาจะมีสารประกอบที่แตกต่างจากเปลือกส้มพันธุ์วาเลนเซีย คือ กรดแอลลาจิก เควอร์ซีทินและเคมเฟอรอล ซึ่งสารประกอบดังกล่าว เป็นสารที่แสดงสมบัติต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี จึงทำให้เปลือกมะนาวพันธุ์เพอร์ซาแสดงสมบัติยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิกได้ดีกว่าเปลือกส้มพันธุ์วาเลนเซีย

Tanizawa และคณะ (1992) ศึกษาสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากส่วนต่าง ๆ ของส้มทั้งหมด 20 สายพันธุ์ โดยใช้วิธีทดสอบการเกิดเปอร์ออกไซด์ของไขมันในไมโครโซม (rat liver microsomal) ที่ก่อให้เกิดไดไฮโดรนิโคทินาไมอะดีนินไดนิวคลีโอไทฟอสเฟต (dihydronicotinamide adenine dinucleotide phosphate , NADPH) และอะดีโนซีนไดฟอสเฟต (adenosine diphosphate, ADP) พบว่าส่วนเอกโซคาร์ป (exocarp) ของส้มมีสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าซาโคคาร์ป (sacocarp) ของส้ม ที่เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงสิงหาคม และพบว่าส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulata* Blanco) ที่เก็บเกี่ยวในเดือนกรกฎาคมมีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันดีที่สุด

เอกสารนี้เผยแพร่เพื่อวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

William และ Harris (1985) ศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของส้มพันธุ์ *Citrus Sinesis*(L.) *Osbeck* โดยนำกากส่วนที่เหลือจากการคั้นน้ำส้ม (ส่วนของเยื่อใยและเปลือก) มาบดและทำให้แห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศ จากนั้นนำกากส้มที่มีลักษณะเป็นแป้ง (flour) มาเติมลงในมีทโลฟปริมาณ 3 และ 7%โดยน้ำหนัก พบว่า สามารถลดการเกิดกลิ่นหืนในมีทโลฟที่ผ่านการทำให้สุกที่เก็บรักษาแบบแช่แข็งและแบบแช่เย็น แต่ไม่มีผลในมีทโลฟดิบและเมื่อทดสอบสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธีแคโรทีน บลิชชิ่ง (carotene bleaching) พบว่ากากส้มทำแห้งที่สกัดได้โดยใช้เมธานอลมีผลต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีแต่สารประกอบที่มีผลต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันไม่ได้ระบุอย่างชัดเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 เปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน

- เปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานได้รับความอนุเคราะห์จากร้านขายน้ำส้มคั้นที่ ต.คลองหก อ.คลองหลวง จ. ปทุมธานี โดยเก็บตัวอย่างในเดือนพฤษภาคม 2546

3.1.2 สารเคมี

- ปิโตรเลียมอีเธอร์	BHD	อังกฤษ
- เอธานอล 95%	องค์การสุรากรมสรรพสามิต	ไทย
- เมธานอล	Merck	เยอรมันนี
- คลอโรฟอร์ม	Lab scan analytical science	ไทย
- เอธิลอะซีเตต	Merck	เยอรมันนี
- อะซีโตรไนไตรท์	Merck	เยอรมันนี
- โซเดียมคาร์บอเนต	Merck	เยอรมันนี
- โฟลินรีเอเจนต์	Merck	เยอรมันนี
- กรดแกลลิค	Fluka	สวิตเซอร์แลนด์
- ABTS (2,2 – azino-di (3– ethylbenzthiazoline sulfonate))	Sigma	สหรัฐอเมริกา
- DPPH (1,1-Diphenyl-2-pycrylhydrazyl)	Sigma	สหรัฐอเมริกา
- Na_2HPO_4	Merck	เยอรมันนี
- NaH_2PO_4	Merck	เยอรมันนี
- โซเดียมคลอไรด์	Merck	เยอรมันนี
- ไมโอโกลบิน	Sigma	สหรัฐอเมริกา
- โพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์	Fluka	สวิตเซอร์แลนด์
- กรดแอสคอร์บิก	Fluka	สวิตเซอร์แลนด์
- โทรอกซ์	Merck	เยอรมันนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.2.1 อุปกรณ์ในการเตรียมวัตถุดิบ

- ตู้อบลมร้อน (hot air oven)	Memmert 854 Schwabach	เยอรมันนี
- ถาดอะลูมิเนียม		

3.2.2 อุปกรณ์ในการเตรียมการสกัด

- เครื่องบดละเอียด	Blender and grinder SharpEM-11	ไทย
- เครื่องสกัดไขมัน	Soxhlet apparatus BUCHI 810	สวิตเซอร์แลนด์
- เตาหลุมให้ความร้อน	Electro thermal EME6 0500/CE	อังกฤษ
- เครื่องทำความเย็น	Cooling รุ่น CBD1	ไทย
- เครื่องระเหยสุญญากาศ	Rotavapor BUCHI R-114	สวิตเซอร์แลนด์
- ปั๊มสุญญากาศ	Vacuum system BUCHI B-169	สวิตเซอร์แลนด์
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ	Water bath BUCHI B-480	สวิตเซอร์แลนด์
- เครื่องชั่งชนิดละเอียด	Metter AE 3000	สวิตเซอร์แลนด์
- เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง	UNTOP 200 SL VIRTIS	สหรัฐอเมริกา

3.2.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ผลทางเคมี

- เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	Spectrophotometer 22	สหรัฐอเมริกา
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven)	Memmert 854 Schwabach	เยอรมันนี
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ	Water bath BUCHI B-480	สวิตเซอร์แลนด์

3.3 สถานที่ดำเนินงาน

- โครงการคณะอุตสาหกรรมการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง
- สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตพระนครใต้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 วิธีดำเนินงาน

3.4.1 การเตรียมเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานอบแห้ง

นำเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน มาล้างน้ำสะอาด ผึ่งให้สะเด็ดน้ำ นำไปตากแดด 6 ชั่วโมง (ช่วงเวลา 10.00 - 16.00 น.) จากนั้นนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียสจนมีความชื้นสุดท้ายต่ำกว่าร้อยละ 5 แล้วเก็บตัวอย่างแห้งใส่ถุงพลาสติกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ - 15 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างที่เตรียมได้มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเพื่อเลือกอุณหภูมิเหมาะสมในการอบแห้งวัตถุดิบตามวิธีข้อ 3.4.2 โดยใช้เอธานอลและน้ำกลั่นเป็นตัวสกัด

3.4.2 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

นำเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดละเอียด แล้วนำไปสกัดไขมันออกโดยใช้เครื่อง Soxhlet และใช้ ปิโตรเลียมอีเธอร์ (petroleum ether) เป็นตัวสกัด ใช้เวลาในการสกัด 2 ชั่วโมง จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกจากตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน โดยตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันเป็นเวลา 30 นาที

ชั่งเปลือกและเมล็ดส้มบดละเอียดที่ผ่านการสกัดไขมันออกแล้ว 10 กรัม ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดชนิดต่างกัน 7 ชนิด คือ น้ำกลั่น, เอธานอล, เมธานอล, อะซีโตน, อะซีโตรไนไตรท์, คลอโรฟอร์ม และเอธิลอะซีเตต ปริมาตร 100 มิลลิลิตร สกัดโดยการรีฟลักซ์นาน 1 ชั่วโมง กรองสารสกัดที่ได้ด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 โดยใช้กรวยบุชเนอร์ นำไประเหยเอาตัวทำละลายออกภายใต้ระบบสุญญากาศโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ส่วนตัวทำละลายที่เป็นน้ำจะใช้วิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ชั่งน้ำหนักของสารสกัดที่ได้และเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -15 องศาเซลเซียสก่อนนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดที่ได้จากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 7 ชนิดจะใช้วิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Alonso และคณะ (2002) ซึ่งมีหลักการดังนี้ คือสารประกอบโพลีฟีนอลจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu ให้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีน้ำเงิน ดังนั้น การหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ สามารถทำได้โดยการวัดปริมาณของสารประกอบสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นโดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร และใช้กรดแกลลิค (gallic acid) เป็นสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับเพื่อใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค

ชั่งกรดแกลลิคมา 0.02 กรัมละลายในเอธานอล 95% แล้วปรับปริมาตรด้วยเอธานอล 95% ให้ครบ 50 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายกรดแกลลิคที่เตรียมไว้ใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 0, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, และ0.50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 10 มิลลิลิตรซึ่งในแต่ละหลอดทดลองจะมีปริมาณกรดแกลลิคอยู่เท่ากับ 0, 40, 80, 120 , 160 และ 200 ไมโครกรัม ตามลำดับ

นำหลอดทดลองทั้งหมดมาเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้น เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 10 % ลงไป 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงดังกล่าวกับปริมาณกรดแกลลิคเป็นไมโครกรัม

3.4.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน

ชั่งสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 7 ชนิด มาตัวอย่างละ 0.1 กรัม จากนั้นละลายในเอธานอล 95% ปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตรด้วยเอธานอล 95% สำหรับสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มที่สกัดด้วยน้ำกลั่นจะละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ไว้ในขวดสีชา

ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้มาตัวอย่างละ 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองแล้วเติมน้ำกลั่น 9.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 10% ลงไป 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ส่วน Blank เตรียมได้โดยใช้เอธานอล 95% 0.5 มิลลิลิตร หรือน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตรแทนตัวอย่างสารสกัดแล้วแต่กรณี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4 การศึกษาสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน

3.4.4.1 การเตรียมสารละลายตัวอย่างของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน

ชั่งสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 7 ชนิด มาตัวอย่างละ 0.1 กรัม จากนั้นละลายในเอธานอล 95% แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตรด้วยเอธานอล 95% สำหรับสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มที่สกัดด้วยน้ำกลั่นจะละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ไว้ในขวดสีชา จะได้สารละลายของสารสกัด สำหรับใช้ตรวจวัดสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

3.4.4.2 การเตรียมสารละลายของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมาตรฐาน

ชั่งโทรอกซ์ วิตามินซี และโพรพิลแกลเลต (propyl gallate) ซึ่งใช้เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมาตรฐานอย่างละ 0.1 กรัม แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร โดยใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย สำหรับวิตามินซีจะใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย จากนั้นเก็บสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ไว้ในขวดสีชา จะได้สารละลายของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมาตรฐานสำหรับใช้ตรวจวัดสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

3.4.4.3 การตรวจวัดสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยใช้อนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน จะอาศัยการติดตามความสามารถของตัวอย่างสารสกัดในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระของ 2,2 – azino-di (3– ethylbenzthiazoline sulfonate) หรือ $ABTS^{\bullet+}$ ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระ ที่ทำให้สารละลายมีสีน้ำเงินแกมเขียวและสามารถดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร ดังนั้น ถ้าสารตัวอย่างมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระดังกล่าวได้ดี จะทำให้อัตราการเกิดสีน้ำเงินแกมเขียวของสารละลายปฏิกิริยาช้า ซึ่งแสดงว่าสารนั้นมีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี (Landrault *et al.* 2001) โดยจะเปรียบเทียบกับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมาตรฐาน 3 ชนิด คือ โพรพิลแกลเลต , วิตามินซี และโทรอกซ์

เตรียมสารละลายปฏิกิริยาที่มีปริมาตรรวมสุดท้ายเท่ากับ 9.58 มิลลิลิตร โดยปิเปตสารละลายต่าง ๆ ต่อไปนี้ ใส่หลอดทดลอง คือสารละลาย ABTS (2,2- azino-di (3-ethylbenzthi- azoline sulfonate)) ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์ 0.8 มิลลิลิตร, สารละลายไมโอโกลบิน (myoglobin) ความเข้มข้น 0.188 % 1.44 มิลลิลิตร, สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ 6.2 มิลลิลิตร, สารละลายของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานความเข้มข้น 10 % (ข้อ 3.4.4.1) 0.2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายไฮโดรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ 0.96 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer พร้อมกับจับเวลาทันที ถ่ายสารละลายปฏิกิริยาใส่คิวเวต (cuvette) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร อ่านผลทุกๆ 30 วินาทีเป็นเวลา 20 นาที นำข้อมูลผลการทดลองที่ได้ไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตรกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา

สำหรับปฏิกิริยาควบคุม (control) จะใช้เอธานอล 95% หรือน้ำกลั่น 0.2 มิลลิลิตรแล้วแต่กรณีแทนสารละลายตัวอย่างสารสกัด และหลอดที่เป็น Blank จะเตรียมเหมือนปฏิกิริยาควบคุมแต่เติมสารละลายสารละลาย PBS ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ 0.96 มิลลิลิตร ลงไปแทนสารละลาย ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

3.4.4.4 การตรวจวัดสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยใช้อนุมูลอิสระ DPPH

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยวิธีนี้จะอาศัยการติดตามความสามารถของตัวอย่างสารสกัดในการทำลายอนุมูลอิสระของ DPPH ซึ่ง เป็นอนุมูลอิสระที่ทำให้สารละลายมีสีม่วงและสามารถดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร (Parejo *et al.*, 2002) โดยจะเปรียบเทียบกับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมาตรฐาน 3 ชนิด คือโพรพิลแกลเลต , วิตามินซี และโทรลอกซ์

เตรียมสารละลายปฏิกิริยาที่มีปริมาตรรวมสุดท้ายเท่ากับ 6 มิลลิลิตร โดยปิเปตสารละลายต่าง ๆ ต่อไปนี้ใส่หลอดทดลอง คือ สารละลาย DPPH (1,1-Diphenyl-2-pycrylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.188% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรใน 95 % เอธานอล 0.72 มิลลิลิตร, สารละลายของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานความเข้มข้น 10 % (ข้อ 3.4.4.1) 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 40 % เอธานอล 5.18 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer พร้อมกับจับเวลาทันที เมื่อครบ 30 นาทีแล้วถ่ายสารละลายปฏิกิริยาใส่คิวเวต นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร

สำหรับปฏิกิริยาควบคุม (control) จะใช้เอธานอล 95% และน้ำกลั่น 0.1 มิลลิลิตรแทนสารละลายตัวอย่างสารสกัด และหลอดที่เป็นBlankจะเตรียมเหมือนปฏิกิริยาควบคุมแต่เติม 95 %เอธานอล 0.72 มิลลิลิตร ลงไปแทนสารละลาย DPPH

3.4.5 การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานเมื่อกำหนดให้ปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลเท่า ๆ กัน

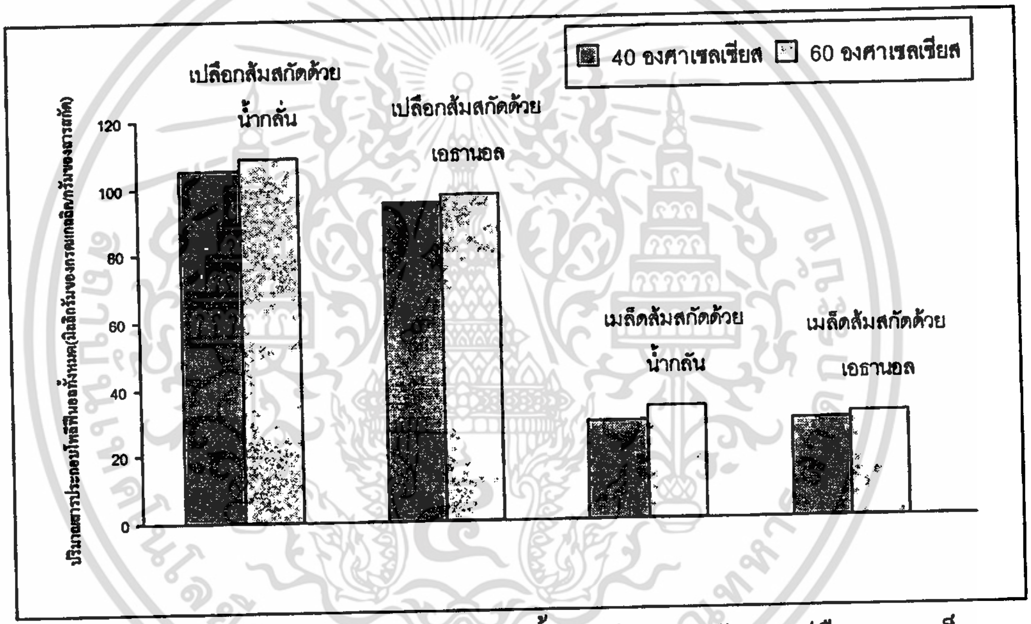
โดยนำสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน มาศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดในรูปของปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเท่า ๆ กันคืออยู่ในช่วง 30 – 40 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมของสารสกัด โดยใช้วิธีทดสอบอนุมูลอิสระ DPPH ตามการทดลองในข้อ 3.4.4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การเตรียมเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานอบแห้ง

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิในการอบแห้งตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ผ่านการตากแดด 6 ชั่วโมง แล้วนำไปอบแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียส ต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดที่ได้เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่นและเอธานอล 95 % ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่อบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียส

สำหรับตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ตากแดดเป็นเวลา 6 ชั่วโมงจะมีความชื้นประมาณ 15 -20 % และเมื่อนำตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานดังกล่าวมาอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียส พบว่า การอบตัวอย่างจนมีความชื้นสุดท้ายประมาณ 5 % จะต้องใช้เวลาในการอบแห้งประมาณ 48 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ

เมื่อพิจารณาผลการทดลองในภาพที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานทุกตัวอย่างมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดใกล้เคียงกัน ไม่ว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดจะเป็นน้ำกลั่นหรือเอธานอล 95 % ก็ตาม โดยที่สารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ผ่านการอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสมีปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ผ่านการอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเล็กน้อย ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้งตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานในระดับที่ศึกษาไม่มีผลต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดที่ได้ ดังนั้น สภาวะที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานอบแห้งสำหรับการใช้ในการทดลองต่อไปคืออบแห้งตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ผ่านการตากแดดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง (ความชื้นประมาณ 15-20 %) ด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจนมีความชื้นสุดท้ายประมาณ 5 % เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิ -15 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

จากผลการทดลองในภาพที่ 4.1 เป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดที่ได้จากเปลือกส้มเขียวหวานจะมีปริมาณสูงกว่าในสารสกัดที่ได้จากเมล็ดส้มเขียวหวานซึ่งจะได้กล่าวถึงรายละเอียดในหัวข้อต่อไป

4.2 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ

จากการทดลองเตรียมสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานอบแห้งที่ผ่านการสกัดไขมันออกแล้ว ซึ่งการสกัดใช้วิธีการรีฟลักซ์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างกัน 7 ชนิดคือน้ำกลั่น, เอธานอล, เมธานอล , อะซีโตน, อะซีโตรไนไตรท์, คลอโรฟอร์มและเอธิลอะซีเตต (โดยใช้อัตราส่วนน้ำหนักเปลือกหรือเมล็ดส้มเขียวหวานอบแห้งที่ผ่านการสกัดไขมันออกแล้วต่อตัวทำละลายอินทรีย์เท่ากับ 1: 10) ชั่งน้ำหนักสารที่สกัดได้หลังจากระเหยตัวทำละลายออก ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ได้เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

ตัวทำละลายอินทรีย์	ปริมาณสารสกัดที่ได้(กรัม / ตัวอย่าง 15 กรัม)		ผลผลิตของสารสกัดที่ได้ (ร้อยละ)	
	เปลือกส้มเขียวหวาน	เมล็ดส้มเขียวหวาน	เปลือกส้มเขียวหวาน	เมล็ดส้มเขียวหวาน
น้ำกลั่น	3.02	3.20	20.11	21.33
เมธานอล	3.02	2.62	20.11	17.44
เอธานอล	2.63	2.82	17.54	18.81
อะซีโตรไนไตรท์	0.89	0.90	5.92	6.01
อะซีโตน	0.49	0.50	3.28	3.32
เอธิล อะซีเตต	0.56	0.58	3.70	3.86
คลอโรฟอร์ม	0.39	0.40	2.61	2.63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

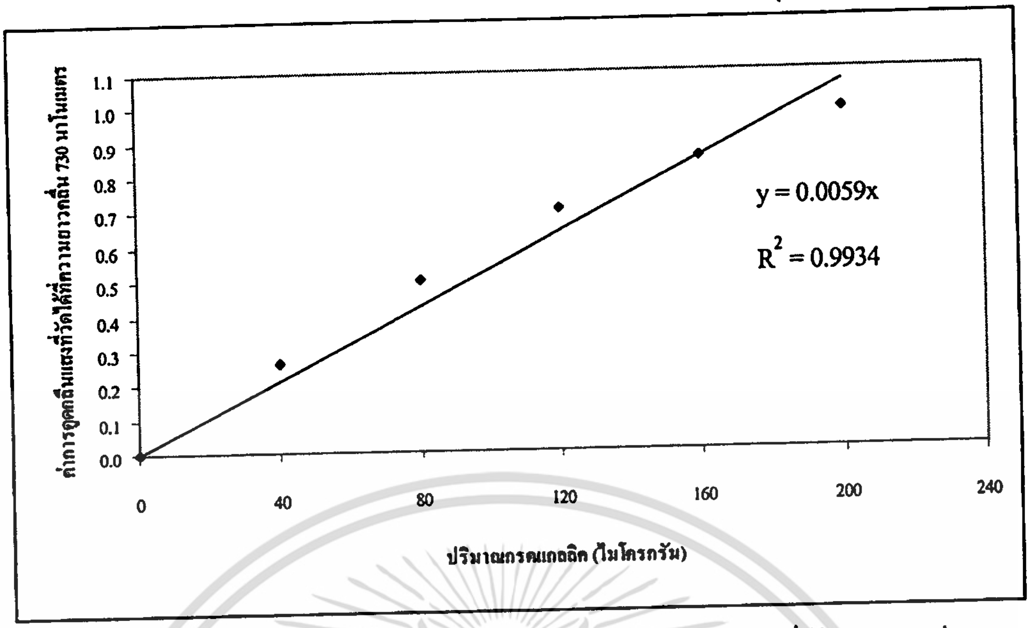
จากตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่า เมื่อใช้ตัวอย่างในปริมาณที่เท่ากัน แต่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดต่างกัน จะได้ปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน ซึ่งในการทดลองนี้ น้ำกลั่นสามารถสกัดสารจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานได้มากที่สุด ในขณะที่คลอโรฟอร์มสามารถสกัดสารจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานได้น้อยที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิดมีสมบัติเป็นตัวทำละลายที่มีขั้ว (polarity) ต่างกัน และผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายที่มีขั้วสูงกว่าจะมีแนวโน้มในการสกัดสารจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานได้ในปริมาณสูงกว่าตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย

ในการสกัดสารจากพืชส่วนใหญ่จะนิยมใช้เอธานอลหรือส่วนผสมของเอธานอลและน้ำความเข้มข้นร้อยละ 80ในการสกัด เนื่องจากสามารถละลายได้ทั้งสารมีขั้วและไม่มีขั้ว แม้ว่าจะไม่ใช่ตัวทำละลายที่ดีที่สุด แต่ก็สกัดสารได้มากกลุ่ม และปริมาณมากพอที่ใช้ในการตรวจสอบเบื้องต้น นอกจากนี้ ยังมีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆในการสกัดโดยเรียงจากตัวทำละลายที่มีขั้วมากไปหาน้อยได้แก่ น้ำ เมธานอล เอธานอล อะซีโตน เอธิลอะซีเตต คลอโรฟอร์ม เบนซีน ปิโตรเลียมอีเธอร์ (รัตนา, 2545) นอกจากนี้การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่แตกต่างกันองค์ประกอบของสารที่สกัดได้ก็จะแตกต่างกันไปด้วย โดยทั่วไปสารประกอบที่มีสมบัติเป็นสารที่มีขั้วน้อยก็จะถูกสกัดออกมาได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย อย่างไรก็ตามปริมาณของสารที่สกัดได้อาจไม่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน กล่าวคือ สารที่สกัดได้ในปริมาณน้อยอาจแสดงสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงก็ได้ ในการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะเตรียมสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่แตกต่างกันเพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารที่สกัดได้และเปรียบเทียบสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดดังกล่าวซึ่งจะได้กล่าวในหัวข้อถัดไป

4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน

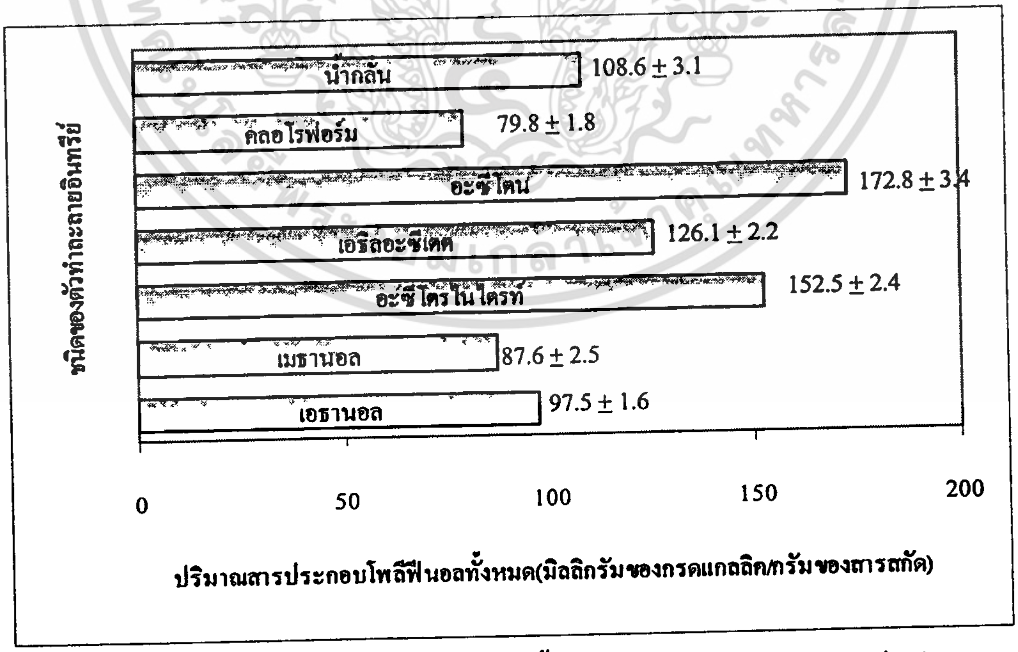
จากการเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กราฟมาตรฐานที่ได้เป็นเส้นตรงและมีสมการเส้นตรงคือ $y = 0.0059X$ โดยมีค่า $R^2 = 0.9934$ ดังแสดงในภาพที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



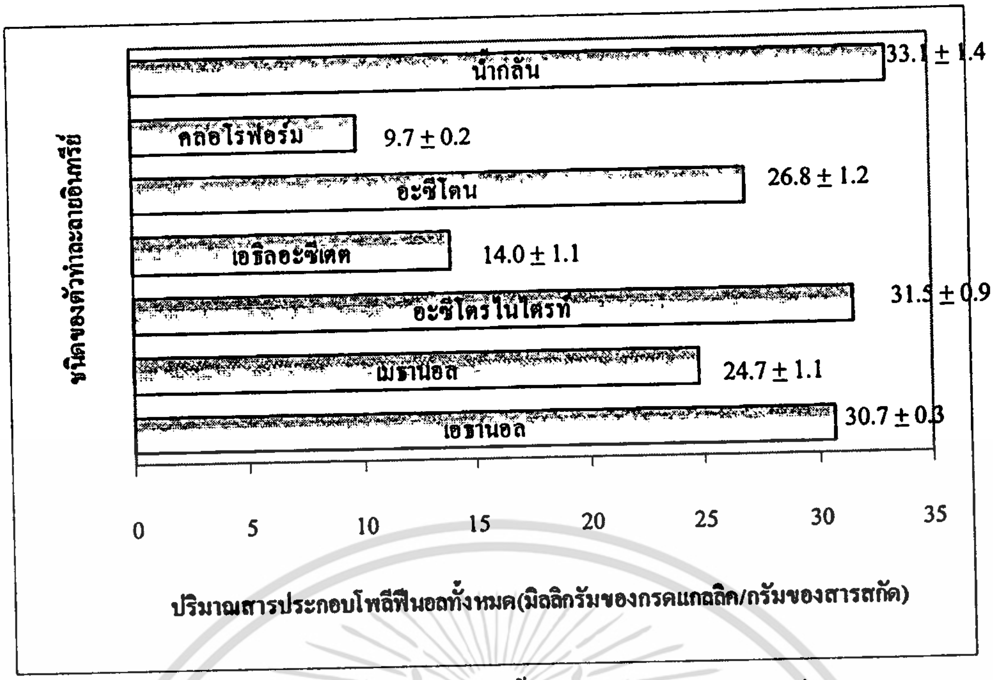
ภาพที่ 4.2 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 4.3 และภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

จากภาพที่ 4.3 และ 4.4 จะเห็นได้ว่าเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดต่างกัน โดยสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตนมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุดคือ 172.8± 3.4 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซิโตรไนไตรท์ เอธิลอะซีเตต น้ำกลั่น เอธานอล เมธานอล และคลอโรฟอร์มโดยมีปริมาณเท่ากับ 152.4 ± 2.4 126.1 ± 2.2 108.5 ± 3.1 97.4 ± 1.7 87.5 ± 2.5 และ 79.8 ± 1.8 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ และสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่น มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุด คือ 33.1 ± 1.4 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม รองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซิโตรไนไตรท์ เอธานอล อะซีโตน เมธานอล เอธิลอะซีเตต และคลอโรฟอร์มโดยมีปริมาณ เท่ากับ 31.5 ± 0.9 30.6 ± 0.3 26.8 ± 1.3 24.7 ± 1.1 13.9 ± 1.1 และ 9.7 ± 0.2 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ และจากการจัดเรียงลำดับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยเรียงจากตัวทำละลายที่มีขั้วมากไปหาน้อยได้ดังนี้คือ น้ำ เมธานอล เอธานอล อะซีโตน อะซิโตรไนไตรท์เอธิลอะซีเตตและ คลอโรฟอร์ม ซึ่งจากผลการทดลองมีแนวโน้มว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมากจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อย ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับการทดลองของ Jeong และคณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

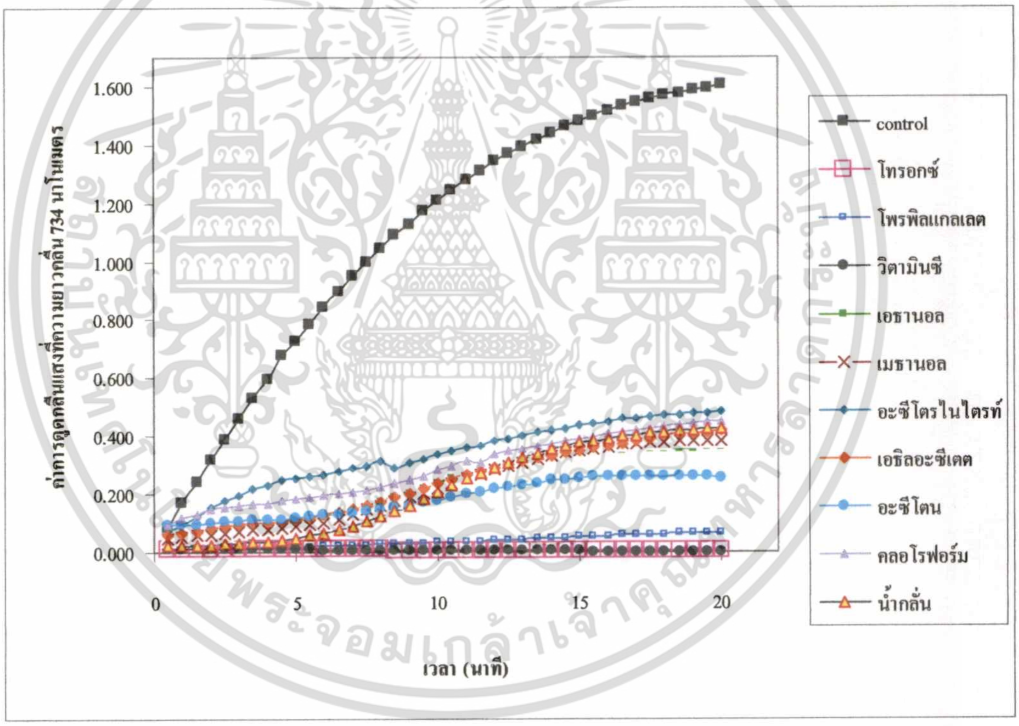
(2004) ที่ใช้เอธานอลความเข้มข้น 70 % และน้ำกลั่นสกัดเปลือกส้ม (*Citrus unshiu*) ซึ่งพบว่า สารสกัดจากเปลือกส้มที่สกัดด้วยน้ำกลั่นในการสกัด มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด สูงกว่าสารสกัดจากเปลือกส้มที่สกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้น 70 % และในการทดลองนี้ได้มี การใช้น้ำกลั่นและเอธานอลในการสกัดเปลือกส้มเขียวหวานซึ่งก็ให้ผลเช่นเดียวกัน และจากการ ทดลองพบว่าในสารสกัด 1 กรัม สารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานมีปริมาณสารประกอบโพลีฟี นอลทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานซึ่งมีความสอดคล้องกับการทดลองของ Gorinstein และคณะ (2001) ที่พบว่าในเปลือกของพืชตระกูลส้มซึ่งได้แก่ มะนาว ส้มเขียวหวาน และเกรฟฟรุต มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและปริมาณเส้นใยสูงกว่าผลที่ปอก เปลือกแล้วและในมะนาวมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงสุด รองลงมาคือ ส้มเขียวหวานและเกรฟฟรุตตามลำดับ และจากการทดลองของ Nitao และคณะ (2001) ซึ่งได้ทำ การทดลองหาปริมาณโปรแอนโธไซยานิดินในพืชและตัวอย่างอาหารซึ่งในขั้นตอนของการสกัด ได้ใช้เมธานอลความเข้มข้น 50 % และอะซีโตนความเข้มข้น 70% ผลการทดลองพบว่า การสกัด ใบเมเปิลด้วยเมธานอล 50 %ให้ปริมาณของโปรแอนโธไซยานิดินสูงกว่าการใช้อะซีโตน 70% นอกจากนี้ Jayaprakasha และคณะ (2001) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในเมล็ดองุ่น ซึ่งในขั้นตอนของการสกัด ได้ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น อะซีโตน เอธิลอะซีเตต เมธานอลและตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีส่วนผสมของเอธิลอะซีเตตและน้ำกลั่น จากการทดลองพบว่า ผลผลิตของสารที่สกัดได้จากเมธานอลมีปริมาณสูงสุด รองลงมาคือ อะซีโตน เอธิลอะซีเตต และตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีส่วนผสมของเอธิลอะซีเตตและน้ำกลั่น ตามลำดับโดยคำนวณในรูปของร้อยละของน้ำหนักแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน

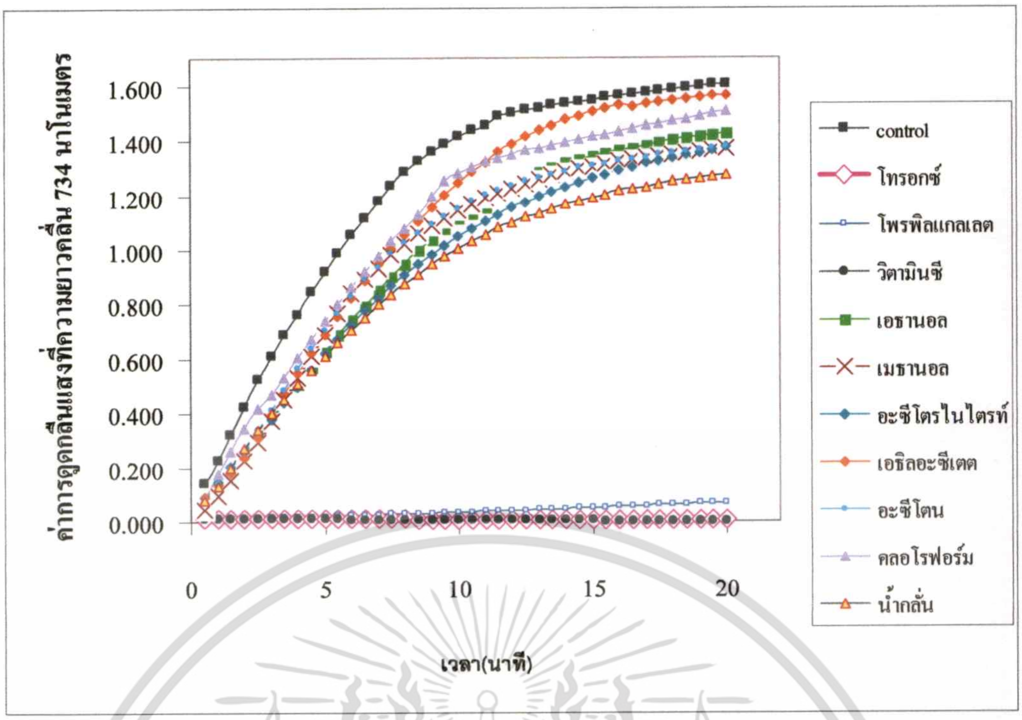
4.4.1 การตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยใช้อนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$

จากการทดลองการตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ โดยใช้อนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารละลายปฏิกิริยาค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร อ่านผลทุกๆ 30 วินาที เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำข้อมูลผลการทดลองที่ได้ไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตรกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยา ได้ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 4.5 และภาพที่ 4.6



ภาพที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร กับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาของสารละลายปฏิกิริยาในการตรวจวัดสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้อนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วย ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



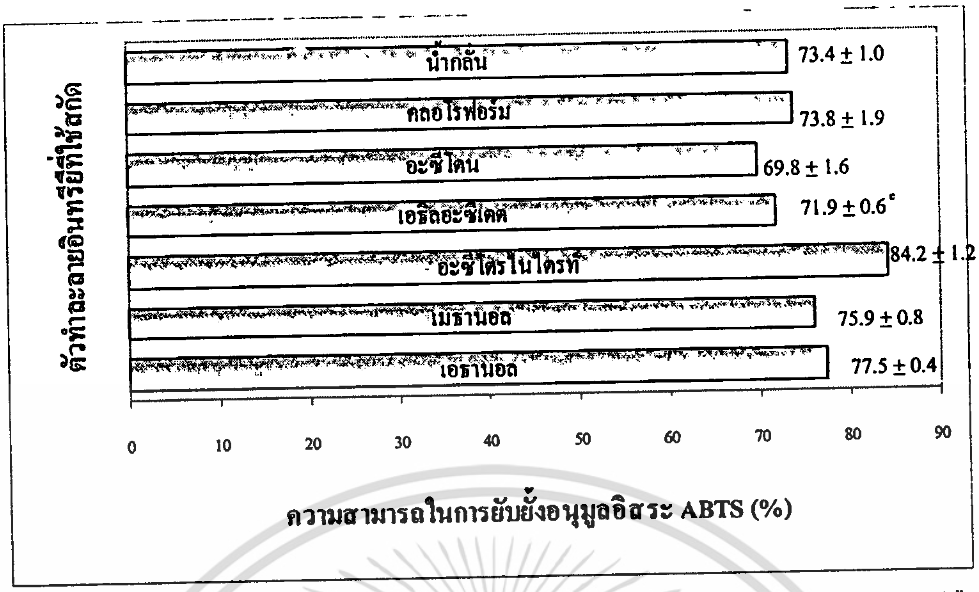
ภาพที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร กับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาของสารละลายปฏิกิริยาในการตรวจวัดสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้อนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet+}$ ของสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

เมื่อนำผลการทดลองที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระABTS$^{\bullet+}$ ที่เวลา 20 นาที เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้สูตรคำนวณ ดังนี้คือ

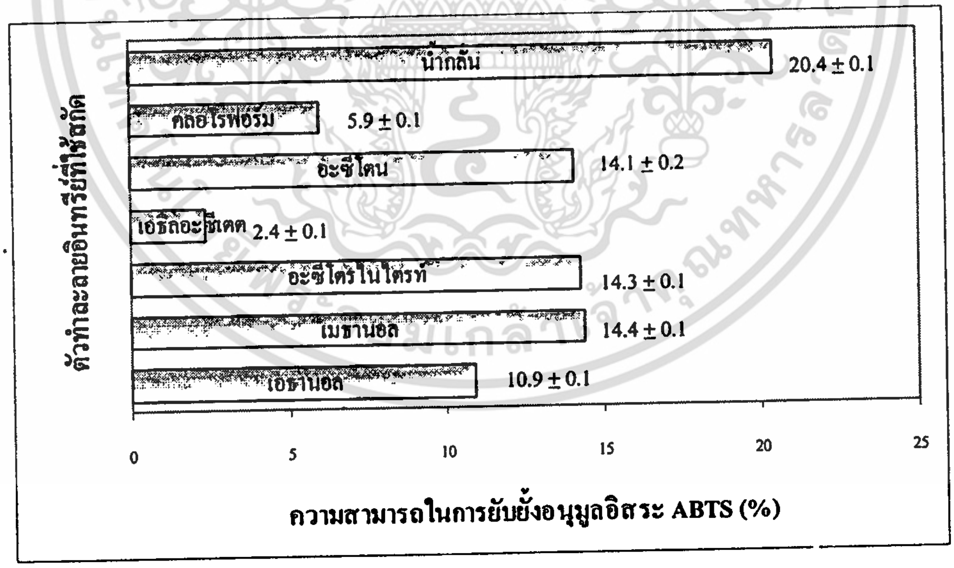
$$\% \text{ การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS}^{\bullet+} = 100 \times \left[1 - \frac{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง})}{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงของ ปฏิกิริยาควบคุม})} \right]$$

ผลการทดลองที่ได้ดังแสดงในภาพที่ 4.7 และ ภาพที่ 4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.7 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี ABTS $^{\bullet +}$ ของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวาน ที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ



ภาพที่ 4.8 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี ABTS $^{\bullet +}$ ของสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวาน ที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากภาพที่ 4.7 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ต่างกันจะมีศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อตรวจวิเคราะห์โดยวิธี ABTS$^{•+}$ ต่างกัน ยกเว้นสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและคลอโรฟอร์ม โดยที่สารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตรไนไตรท์ มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอล เมธานอล คลอโรฟอร์ม น้ำกลั่น เอธิลอะซีเตต และ อะซีโตน โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS$^{•+}$ เท่ากับ 84.2 ± 1.2 77.5 ± 0.5 75.9 ± 0.8 73.8 ± 1.9 73.4 ± 1.0 71.9 ± 0.6 และ 69.8 ± 1.6 ตามลำดับ และจากภาพที่ 4.8 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน จะมีศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อตรวจวิเคราะห์โดยวิธี ABTS$^{•+}$ ต่างกัน ยกเว้นสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเมธานอล อะซีโตรไนไตรท์ และอะซีโตน และสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่นมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเมธานอล อะซีโตรไนไตรท์ อะซีโตน เอธานอล คลอโรฟอร์มและเอธิลอะซีเตต โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS$^{•+}$ เท่ากับ 20.4 ± 0.1 14.4 ± 0.1 14.3 ± 0.1 14.1 ± 0.2 10.9 ± 0.1 5.9 ± 0.1 และ 2.4 ± 0.1 ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองมีแนวโน้มว่า สารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมาก จะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่า สารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อย ส่วนสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานนั้นแสดงแนวโน้มที่ไม่ชัดเจน และจากการทดลองอาจแบ่งกลุ่มสารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อตรวจวิเคราะห์โดยวิธี ABTS$^{•+}$ เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ ด้วยกัน คือ กลุ่มที่ 1 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตรไนไตรท์ กลุ่มที่ 2 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอลและเมธานอล กลุ่มที่ 3 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มและน้ำกลั่น และกลุ่มที่ 4 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธิลอะซีเตตและอะซีโตน ส่วนสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานก็สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ ด้วยกัน คือ กลุ่มที่ 1 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่น กลุ่มที่ 2 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเมธานอล อะซีโตรไนไตรท์และอะซีโตน กลุ่มที่ 3 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอล และ กลุ่มที่ 4 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มและเอธิลอะซีเตต

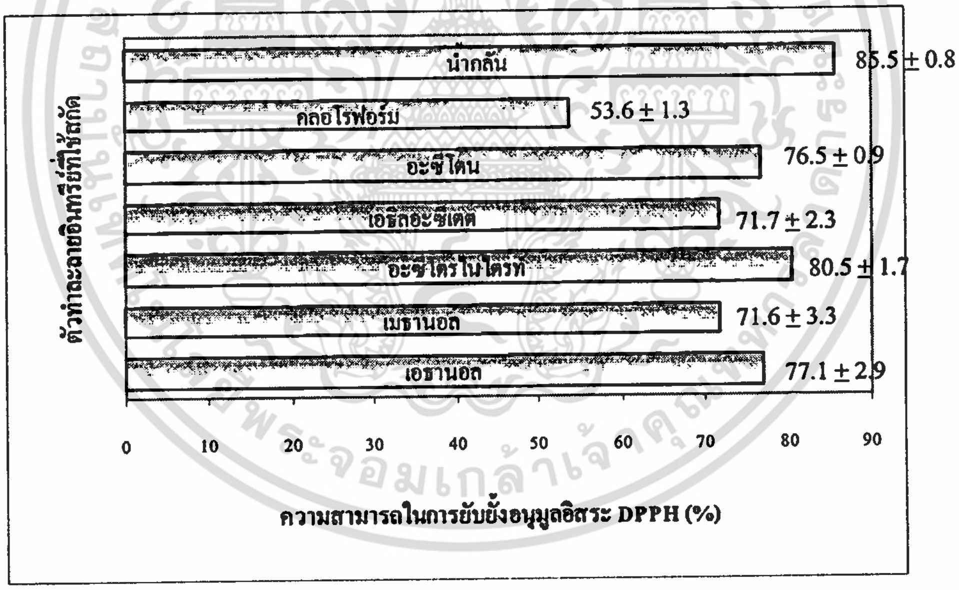
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 การตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยใช้อนุมูลอิสระ DPPH

จากการทดลองตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ โดยใช้อนุมูลอิสระ DPPH คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH โดยใช้สูตร ดังนี้

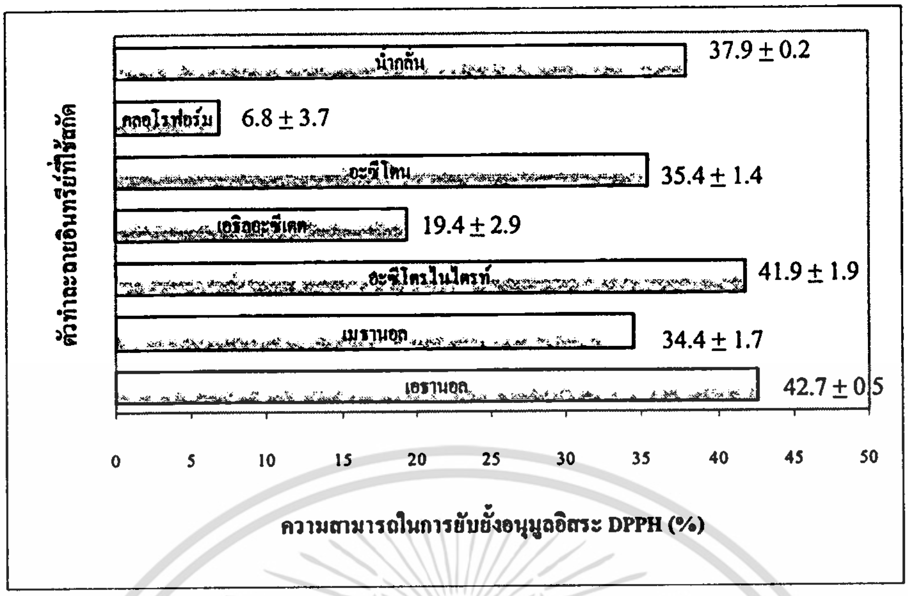
$$\%\text{ การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH} = 100 \times \left[1 - \frac{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง})}{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงของ ปฏิกิริยาควบคุม})}\right]$$

ผลการทดลองที่ได้ดังแสดงในภาพที่ 4.9 และ ภาพที่ 4.10



ภาพที่ 4.9 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวาน ที่สกัดด้วย ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.10 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

จากภาพที่ 4.9 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ต่างกันจะมีศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อตรวจวิเคราะห์โดยวิธี DPPH ต่างกัน ยกเว้นสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธิลอะซีเตตและเมธานอล โดยที่สารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่น มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตรไนไตรท์เอธานอล อะซีโตน เอธิลอะซีเตต เมธานอลและคลอโรฟอร์มโดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 85.5 ± 0.8 80.5 ± 1.7 77.1 ± 2.9 76.5 ± 0.9 71.1 ± 2.3 71.6 ± 3.3 และ 53.6 ± 1.3 ตามลำดับ จากภาพที่ 4.10 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันจะมีศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันตรวจวัดโดยวิธี DPPH ต่างกัน ยกเว้นสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอลและอะซีโตรไนไตรท์ และสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและอะซีโตน โดยที่สารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอลมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตรไนไตรท์ น้ำกลั่น อะซีโตน เมธานอล เอธิลอะซีเตตและคลอโรฟอร์ม โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 42.7 ± 0.5 41.9 ± 1.9 37.9 ± 0.2 35.4 ± 1.4 34.4 ± 1.7 19.4 ± 2.9 และ 6.8 ± 3.7 ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองมีแนวโน้มว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมากจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อย ส่วนสารสกัดจากเปลือก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส้มเขียวหวานนั้นแสดงแนวโน้มที่ไม่ชัดเจน และจากการทดลองอาจแบ่งกลุ่มสารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อตรวจวิเคราะห์โดยวิธี DPPH เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ ด้วยกัน คือ กลุ่มที่ 1 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและอะซีโตรไนไตรท์ กลุ่มที่ 2 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอลและอะซีโตน กลุ่มที่ 3 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเมธานอลและเอธิลอะซีเตต และกลุ่มที่ 4 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม ส่วนสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานก็สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ ด้วยกัน คือ กลุ่มที่ 1 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอลและอะซีโตรไนไตรท์ กลุ่มที่ 2 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่น กลุ่มที่ 3 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตนและเมธานอล และ กลุ่มที่ 4 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม นอกจากนี้ผลการทดลองดังกล่าวมีความสอดคล้องกับผลการทดลองที่ทำการตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ด ส้มเขียวหวานโดยใช้อนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet +}$ ดังกล่าวมาแล้วข้างต้น

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กับสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันพบว่า ไม่สามารถสร้างความสัมพันธ์กันอย่างชัดเจน แต่มีแนวโน้มว่าสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆที่มีปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงจะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่า การที่ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดกับสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ไม่เด่นชัดอาจเป็นเพราะว่ามีความแตกต่างทางด้านปริมาณ องค์ประกอบและชนิดของสารประกอบโพลีฟีนอล จึงส่งผลให้มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันแตกต่างกันออกไป มีรายงานว่าสารประกอบเฟลโวนอยด์จากพืชตระกูลส้มมีความสามารถในการยับยั้งและทำลายโมเลกุลต่าง ๆ ที่เป็นสาเหตุสำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Benavente and Garcia , 1995) และชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดนั้น จะมีผลต่อกลุ่มของสารประกอบที่ถูกสกัดออกมาแตกต่างกัน โดยสารสกัดที่ได้จากการใช้เมธานอล จะมีองค์ประกอบของเฟลโวนและ ไกลโคไซด์ เฟลวาโนนเป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่สารสกัดที่ได้จากการใช้เอธิลอะซีเตตจะมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นกรดฟีนอลิกและเฟลโวนอล (Bocco *et al.*, 1998) และเปลือกของพืชตระกูลส้มชนิดต่าง ๆ มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบอื่น ๆ ที่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าในผล และสารสกัดที่ได้จากเปลือกมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าสารสกัดจากผลของพืชตระกูลส้มทุกชนิดที่ใช้ในการทดลอง (Gorinstein *et al.* ,2001) สารประกอบโพลีฟีนอล เช่น นาริรูติน นาริงจิน เฮสเปอริดินและนีโอเฮสเปอริดินซึ่งมีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันพบได้ทั้งในเปลือกและเมล็ดของพืชตระกูลส้ม (*Citrus unshiu*) สารสกัดจากเปลือกส้มที่สกัดด้วยเอธานอลเข้มข้น 70 % แบบไม่ใช้ความร้อนจะพบ 2-ออกซีเบนโซอิค แอซิด (2- oxybenzoia acid)

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ ... ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 2,4-บิสไฮดรอกซีเบนซาลดีไฮด์ (2,4- bishydroxybenzaldehyde) หากมีการให้ความร้อนในระหว่างการสกัดที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 30 นาที จะพบ 2,3 –ไดอะซีติล - 1- ฟีนิลแนปธาลีน (2,3 – diacetyl - 1- phenylnapthalene) กรดเฟอรูลิค (ferulic acid) และ *p*- ไฮดรอกซีเบนซาลโดไซม์ (*p* - hydroxybenzaldoxime) ส่วนสารสกัดจากเปลือกส้มที่สกัดด้วยน้ำกลั่นแบบไม่ใช้ความร้อนจะพบ *p* - ซินนามิก แอซิด (*p*- cinnamic acid) และกรดไอโซเฟอ-รูลิค (isoferulic acid) หากมีการให้ความร้อนในระหว่างการสกัดที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียสนาน 30 นาที จะพบ 5- ไฮดรอกซีวาเลอริค แอซิด (5-hydroxyvaleric acid) 2,3-ไดอะซีติล 1- ฟีนิลแนปธาลีน (2,3 – diacetyl - 1- phenylnapthalene) กรดวานิลลิค (vanillic acid) และกรดเฟอรูลิค ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลิคซึ่งเป็นสารพฤกษเคมีมีอยู่หลากหลายชนิดและอยู่ในรูปของสารประกอบและการใช้ความร้อนในกระบวนการสกัดเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกส้มได้ (Jeong *et al.*, 2004)

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน และการตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานโดยใช้อนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet+}$ และ DPPH สามารถทำการเปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมาตรฐาน ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมาตรฐาน

ตัวอย่าง	ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/กรัมของสารสกัด)	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละ)	
		ABTS•+	DPPH
โทรอกซ์	-	99.1 ± 0.0	95.8 ± 0.0
วิตามินซี	-	99.2 ± 0.0	95.8 ± 0.0
โพรพิลแกลเลต	-	97.5 ± 0.1	86.3 ± 0.0
เปลือกส้มเขียวหวานสกัดด้วยเอธานอล	97.5 ± 1.6	77.5 ± 0.4	77.1 ± 2.9
เปลือกส้มเขียวหวานสกัดด้วยเมธานอล	87.6 ± 2.5	75.9 ± 0.8	71.6 ± 3.3
เปลือกส้มเขียวหวานสกัดด้วยอะซีโตรไนไตรท์	152.5 ± 2.4	84.2 ± 1.2	80.5 ± 1.7
เปลือกส้มเขียวหวานสกัดด้วยเอธิลอะซีเตต	126.1 ± 2.2	71.9 ± 0.6	71.7 ± 2.3
เปลือกส้มเขียวหวานสกัดด้วยอะซีโตน	172.8 ± 3.4	69.8 ± 1.6	76.5 ± 0.9
เปลือกส้มเขียวหวานสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม	79.8 ± 1.8	73.8 ± 1.9	53.6 ± 1.3
เปลือกส้มเขียวหวานสกัดด้วยน้ำกลั่น	108.6 ± 3.1	73.4 ± 1.0	85.5 ± 0.3

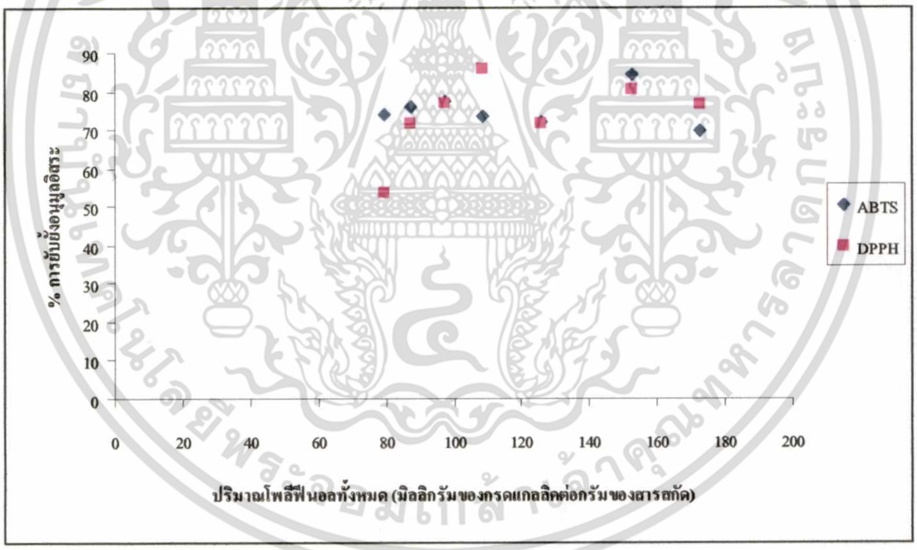
ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมาตรฐาน

ตัวอย่าง	ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/กรัมของสารสกัด)	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละ)	
		ABTS•+	DPPH
โทรอกซ์	-	99.1 ± 0.0	95.8 ± 0.0
วิตามินซี	-	99.2 ± 0.0	95.8 ± 0.0
โพรพิลแกลเลต	-	97.5 ± 0.1	86.3 ± 0.0
เมล็ดส้มเขียวหวานสกัดด้วยเอธานอล	30.7 ± 0.3	10.9 ± 0.1	42.7 ± 0.5
เมล็ดส้มเขียวหวานสกัดด้วยเมธานอล	24.7 ± 1.1	14.4 ± 0.1	34.4 ± 1.7
เมล็ดส้มเขียวหวานสกัดด้วยอะซีโตรไนไตรท์	31.5 ± 0.9	14.3 ± 0.1	41.9 ± 1.9
เมล็ดส้มเขียวหวานสกัดด้วยเอธิลอะซีเตต	14.0 ± 1.1	2.4 ± 0.1	19.4 ± 2.9
เมล็ดส้มเขียวหวานสกัดด้วยอะซีโตน	26.8 ± 1.2	14.1 ± 0.2	35.4 ± 1.4
เมล็ดส้มเขียวหวานสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม	9.7 ± 0.2	5.9 ± 0.1	6.9 ± 3.8
เมล็ดส้มเขียวหวานสกัดด้วยน้ำกลั่น	31.1 ± 1.4	20.4 ± 0.1	37.9 ± 0.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

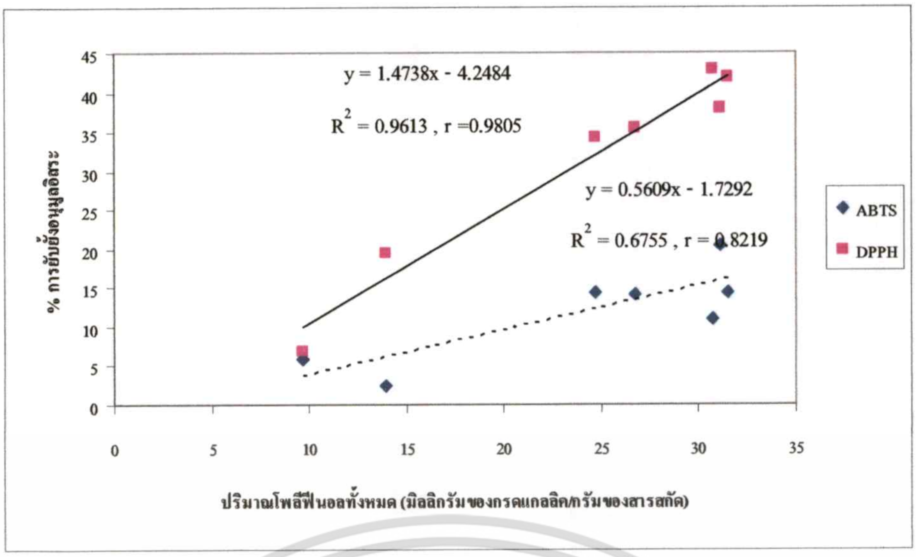
จากตารางที่ 4.1 และ 4.2 เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กับสารสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมาตรฐานซึ่งได้แก่ วิตามินซี โพรพิลแกลเลตและโทรอกซ์ในปริมาณที่เท่ากันคือชั่งอย่างละ 0.1 กรัม แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร โดยใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย สำหรับวิตามินซีจะใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย จะเห็นว่า สารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ทุกชนิดมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำกว่าสารมาตรฐาน ทั้งนี้เป็นเพราะว่าสารมาตรฐานอยู่ในรูปของสารบริสุทธิ์ ส่วนสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานนั้นอยู่ในรูปของสารผสม(crude extract) ซึ่งประกอบด้วยสารประกอบหลายชนิดทั้งที่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและไม่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดต่างกันก็ให้สารสกัดที่มีองค์ประกอบของสารแตกต่างกันด้วย

เมื่อเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กับสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันผลแสดงดังภาพที่ 4.11 และ 4.12



ภาพที่ 4.11 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet+}$ และ DPPH ในสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



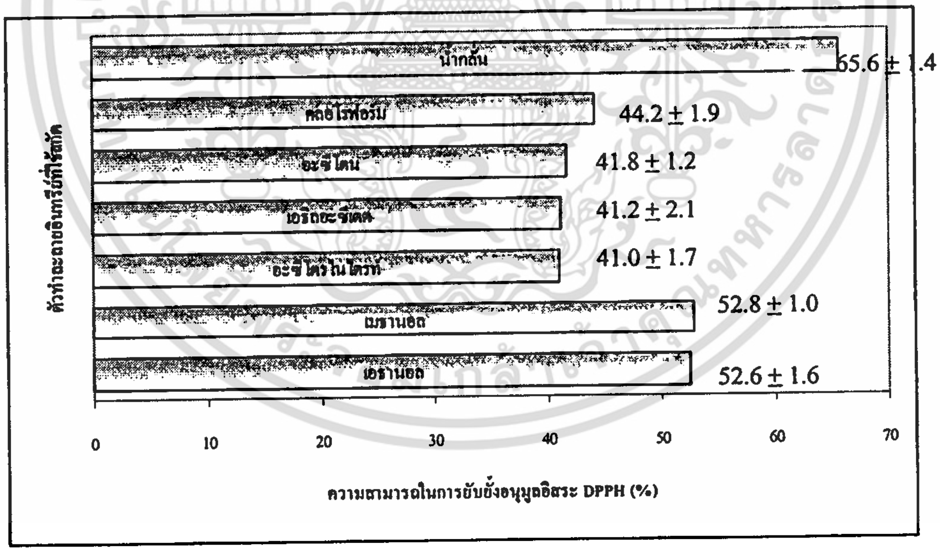
ภาพที่ 4.12 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ DPPH ในสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

จากภาพที่ 4.11 เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ DPPH ของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ พบว่า มีความสัมพันธ์ไม่เด่นชัด และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ DPPH ของสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ดังภาพที่ 4.12 จะเห็นได้ว่ามีความสัมพันธ์ชัดเจน กล่าวคือ ตัวอย่างสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลสูงจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และ DPPH สูงด้วยโดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.82 และ 0.98 ตามลำดับ จากค่า r จะเห็นได้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ มีความสัมพันธ์น้อยกว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดังนั้นการตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้อนุมูลอิสระ DPPH น่าจะเป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ จึงเลือกใช้การตรวจวัดสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้อนุมูลอิสระ DPPH เพื่อนำไปตรวจสอบในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

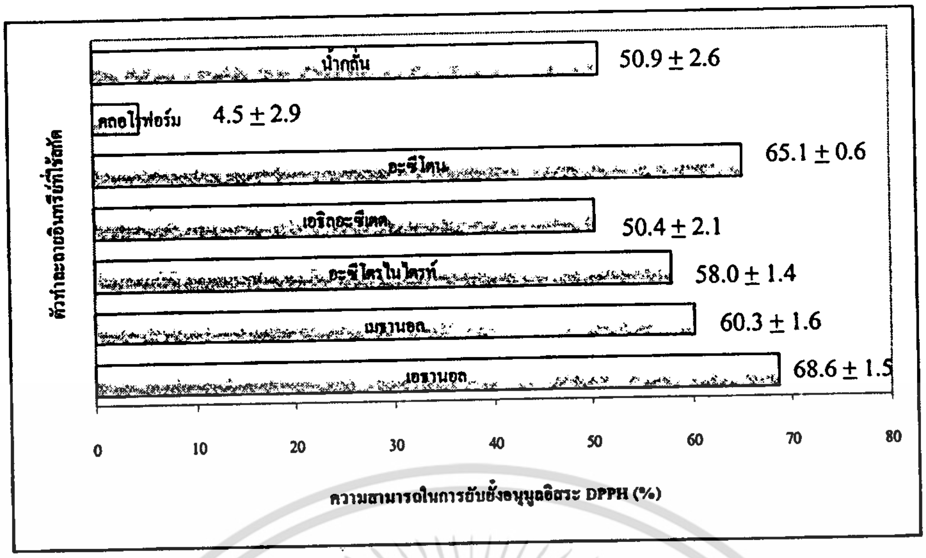
4.5 การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานเมื่อกำหนดให้ปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลเท่า ๆ กัน

จากการนำสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานมาศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ระดับความเข้มข้นของปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดเท่า ๆ กัน คือในช่วง 30 – 40 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมของสารสกัด เหตุที่ใช้สารสกัดเท่า ๆ กัน ทั้งนี้เนื่องจากว่าการเตรียมสารสกัดให้มีระดับความเข้มข้นที่เท่ากันที่ระดับ 30 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมของสารสกัดนั้นเป็นไปได้ยากยิ่ง ดังนั้นจึงกำหนดค่าเป็นช่วงขึ้น และในการทดลองสามารถได้ในช่วง 31 - 38 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมของสารสกัด และทดสอบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้วิธี DPPH เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ประหยัด และยังให้ความสัมพันธ์ระหว่างโพลีฟีนอลทั้งหมดและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระสูง นำผลการทดลองที่ได้มาคำนวณความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ผลการทดลองที่ได้ดังภาพที่ 4.13 และ ภาพที่ 4.14



ภาพที่ 4.13 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดเท่า ๆ กัน โดยคำนวณในรูปของสารประกอบโพลีฟีนอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.14 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดเท่า ๆ กัน โดยคำนวณในรูปของสารประกอบโพลีฟีนอล

จากภาพที่ 4.13 และ 4.14 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน มีศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่างกัน สารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่นมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเมธานอล เอธานอล อะซีโตน เอธิลอะซีเตต อะซีโตรไนไตรท์ และคลอโรฟอร์ม ตามลำดับ และสา รสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอล มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตน เมธานอล อะซีโตรไนไตรท์ น้ำกลั่น เอธิลอะซีเตต และคลอโรฟอร์ม ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองมีแนวโน้มว่า สารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานจะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวาน เมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดในปริมาณที่เท่า ๆ กัน โดยคำนวณในรูปของสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับการทดลองของ Bocco และคณะ (1998) ที่ทำการเปรียบเทียบการใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดในปริมาณที่เท่า ๆ กันโดยคำนวณในรูปของสารประกอบโพลีฟีนอล พบว่า สารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ต่างชนิดกัน จะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่างกันซึ่งแสดงให้เห็นว่า การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ต่างชนิดกันจะให้สารประกอบโพลีฟีนอลที่ต่างชนิดกันซึ่งชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดนั้น จะมีผลต่อกลุ่มของสารประกอบที่ถูกสกัดออกมาแตกต่างกัน โดยสารสกัดที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้จากการใช้เมธานอล จะมีองค์ประกอบของฟลาโวนและไกลโคไซด์ เฟลวาโนนเป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่สารสกัดที่ได้จากการใช้เอธิลอะซีเตต จะมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอล (Bocco และคณะ ,1998) สารประกอบโพลีฟีนอลเป็นสารพฤกษเคมี มีอยู่หลากหลายชนิดและอยู่ในรูปของสารประกอบเป็นส่วนใหญ่

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มนั้นมีศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่างกันอย่างชัดเจน ดังนั้นจึงอาจบอกได้ว่าสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มนั้นมีกลุ่มของสารประกอบที่ถูกสกัดออกมาแตกต่างกัน และจากการทดลองอาจแบ่งกลุ่มสารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อตรวจวิเคราะห์โดยวิธี DPPH เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ ด้วยกัน คือ กลุ่มที่ 1 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่น กลุ่มที่ 2 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเมธานอลและเอธานอล กลุ่มที่ 3 สารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม อะซีโตน เอธิลอะซีเตตและอะซีโตรไนไตรท์ ส่วนสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานก็สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ ด้วยกัน คือ กลุ่มที่ 1 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอลและอะซีโตน กลุ่มที่ 2 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเมธานอลและอะซีโตรไนไตรท์ กลุ่มที่ 3 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและเอธิลอะซีเตต และ กลุ่มที่ 4 สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มและเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กันและการแบ่งกลุ่มของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ได้แบ่งไว้ในหัวข้อ 4.4 ว่าไม่สามารถสร้างความสัมพันธ์กันอย่างชัดเจน ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า สารสกัดที่จากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานเป็นสารประกอบต่างกลุ่มกันจึงมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่างกัน หรืออาจเป็นกลุ่มเดียวกันแต่มีโครงสร้างหรือหมู่ที่มาเกาะในตำแหน่งต่าง ๆ ต่างกันและมีความมีขั้วต่างกันจึงทำให้มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่างกัน

เมื่อพิจารณาผลการทดลองทั้งหมด อาจกล่าวเป็นแนวทางได้ว่า สารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอลและน้ำกลั่นให้สารสกัดที่มีองค์ประกอบที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงและให้ผลผลิตของสารสกัดในปริมาณสูง ในขณะเดียวกันการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอื่นๆ เช่น คลอโรฟอร์ม เอธิลอะซีเตตให้สารสกัดที่มีองค์ประกอบที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำและให้ผลผลิตของสารสกัดในปริมาณต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สภาวะที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานอบแห้ง คือ อบแห้งตัวอย่างเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่ผ่านการตากแดดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง (ความชื้นประมาณ 15-20 %) ด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจนมีความชื้นสุดท้ายประมาณ 5 % เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิ -15 องศาเซลเซียส

เมื่อใช้ตัวอย่างในปริมาณที่เท่ากัน แต่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดต่างกัน จะได้ปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน ในการทดลองนี้ น้ำกลั่นสามารถสกัดสารจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานได้มากที่สุด ในขณะที่คลอโรฟอร์มสามารถสกัดสารจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานได้น้อยที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิดมีสมบัติเป็นตัวทำละลายที่มีขั้ว (polarity) ต่างกัน และผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายที่มีขั้วสูงกว่าจะมีแนวโน้มในการสกัดสารจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานได้ในปริมาณสูงกว่าตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดที่ได้จากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ ทั้ง 7 ชนิดได้แก่ น้ำกลั่น เอธานอล เมธานอล อะซีโตน อะซีโตรไนไตรท์ คลอโรฟอร์ม และเอธิลอะซีเตต พบว่า เปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดต่างกัน และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตนมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุดคือ 172.8 $\pm$ 3.4 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซิโตรไนไตรท์ เอธิลอะซีเตต น้ำกลั่น เอธานอล เมธานอลและคลอโรฟอร์มโดยมีปริมาณเท่ากับ 152.4 $\pm$ 2.4 126.1 $\pm$ 2.2 108.5 $\pm$ 3.1 97.4 $\pm$ 1.7 87.5 $\pm$ 2.5 และ 79.8 $\pm$ 1.8 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ และสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่น มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุด คือ 33.1 $\pm$ 1.4 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม รองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซิโตรไนไตรท์ เอธานอล อะซีโตน เมธานอล เอธิลอะซีเตต และคลอโรฟอร์มโดยมีปริมาณ เท่ากับ 31.5 $\pm$ 0.9 30.6 $\pm$ 0.3 26.8 $\pm$ 1.3 24.7 $\pm$ 1.1 13.9 $\pm$ 1.1 และ 9.7 $\pm$ 0.2 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยการวัดความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของ 2,2-azino-bis (3-ethylbenzthia zolinesulfonate) หรือ ABTS$^{\bullet +}$ พบว่าสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตรไนไตรท์ มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอล เมธานอล คลอโรฟอร์ม น้ำกลั่น เอธิลอะซีเตต และ อะซีโตน โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet +}$ เท่ากับ 84.2 ± 1.2 77.5 ± 0.5 75.9 ± 0.8 73.8 ± 1.9 73.4 ± 1.0 71.9 ± 0.6 และ 69.8 ± 1.6 ตามลำดับ และสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่นมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเมธานอล อะซีโตรไนไตรท์ อะซีโตน เอธานอล คลอโรฟอร์มและเอธิลอะซีเตต โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet +}$ เท่ากับ 20.4 ± 0.1 14.4 ± 0.1 14.3 ± 0.1 14.1 ± 0.2 10.9 ± 0.1 5.9 ± 0.1 และ 2.4 ± 0.1 ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยการวัดความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของ DPPH สารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยน้ำกลั่น มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตรไนไตรท์เอธานอล อะซีโตน เอธิลอะซีเตต เมธานอลและคลอโรฟอร์มโดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 85.5 ± 0.8 80.5 ± 1.7 77.1 ± 2.9 76.5 ± 0.9 71.1 ± 2.3 71.6 ± 3.3 และ 53.6 ± 1.3 ตามลำดับ และสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอลมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยอะซีโตรไนไตรท์ น้ำกลั่น อะซีโตน เมธานอล เอธิลอะซีเตตและคลอโรฟอร์ม โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 42.7 ± 0.5 41.9 ± 1.9 37.9 ± 0.2 35.4 ± 1.4 34.4 ± 1.7 19.4 ± 2.9 และ 6.8 ± 3.7 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet +}$ และ DPPH ในสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ พบว่ามีความสัมพันธ์ไม่เด่นชัด ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระABTS$^{\bullet +}$ และ DPPH ในสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ พบว่ามีความสัมพันธ์ที่เด่นชัด โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.82 และ 0.98

จากการศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดเท่า ๆ กันคือในช่วง 30 – 40 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมของสารสกัดมีแนวโน้มว่าสารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานจะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานเมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดในปริมาณที่เท่า ๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาผลการทดลองทั้งหมด อาจกล่าวเป็นแนวทางได้ว่า สารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยเอธานอลและน้ำกลั่นให้สารสกัดที่มีองค์ประกอบที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงและให้ผลผลิตของสารสกัดในปริมาณสูง ในขณะเดียวกันการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอื่นๆ เช่น คลอโรฟอร์ม เอธิลอะซีเตตให้สารสกัดที่มีองค์ประกอบที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำและให้ผลผลิตของสารสกัดในปริมาณต่ำ

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาโดยวิเคราะห์ความสามารถในในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เมื่อใช้สารสกัดที่มีความเข้มข้นในระดับต่าง ๆ ซึ่งจะทำให้เราทราบว่าสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ จะใช้ความเข้มข้นในระดับใดจึงจะเหมาะสมในการแสดงสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งในการทดลองนี้ใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดในระดับเดียวกันทุกสารสกัดคือ 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยอาจความเป็นไปได้ว่าความเข้มข้นที่ระดับนี้ ไม่เหมาะสมกับสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด นอกจากนี้ควรมีการศึกษาแนวทางในการนำสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

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

เคหการเกษตร. 2538. **รวมกลยุทธส้ม.** กรุงเทพฯ: เจริญรัฐการพิมพ์.

นวลศรี รักอริยะธรรม และอัญชนา เจนวิถีสุข. 2545. **แอนติออกซิแดนท์ สารต้านมะเร็งในผัก – สมุนไพรไทย.** เชียงใหม่: นพบุรีการพิมพ์.

นิด ชากังราว. 2544. **ส้มปลอดโรคในศตวรรษที่ 21.** กรุงเทพฯ: มติชน.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2545. **เคมีอาหาร.** กรุงเทพฯ: โอ. เอส . พริ้นติ้ง เฮาส์.

ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม และ วันทนีย์ ช้างน้อย .2545. การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและศักยภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดพืชตระกูลส้มชนิดต่างๆที่ปลูกในประเทศไทย . **อาหาร** .32(4) : 301 -307.

ปาริชาติ สักกะทำนุ. 2543. **ส้มเม็ด เฟลโวนอยด์และวิตามินซีเสริมสุขภาพ.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: รวมทรรศน์.

เปรมปรีดิ์ ณ สงขลา. 2544. **คู่มือการทำสวนอย่างมืออาชีพ.** กรุงเทพฯ: ฐานการพิมพ์.

พรรนิภา ชุมศรี และอ้อมบุญ ล้วนรัตน์. 2530. **เภสัชวินิจฉัยเล่ม 2.** กรุงเทพฯ: ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย มหาวิทยาลัยมหิดล.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2545. **การตรวจสอบและการยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพร.** กรุงเทพฯ: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.

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

Alonso, M.A., Guillen, D.A., Barroso, C.G., Puertas, B. and Garcia, A. 2002. Determination of antioxidant activity of wine byproducts and its correlation with polyphenolic contents. **J. Agric. Food Chem**. 50(21): 5832-5836.

Akaike, T., Ijiri, S., Sato, K., Katsukit, T. and Maeda, H. 1995. Determination of peroxyl radical - scavenging activity in food using bactericidac action of alkyl peroxyl radical. **J. Agric. Food Chem** .43(7): 1864-1870.

Arnao, M.B. 2000. Some methodologacal problem in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals : a practical case. **Trends Food Sci. Tech.** 11(1) : 419-421.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Aturki, Z., Brandi, V. and Sinibaldi, M. 2004. Separation of flavanone - 7- *O* - glycoside diastereomers and analysis in citrus juices by multidimensional liquid chromatography coupled with mass spectrometry. **J. Agric. Food Chem**. 52(17): 5303-5308.

Awika, J.M., Rooney, L.W., Wu, X., Prior, R.L. and Zevallos, L.C. 2003. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. **J. Agric. Food Chem**. 51(23): 6657-6662.

Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Narin, F.R., Ortuno, A. and Del Rio, J.A. 1997. Uses and properties of citrus flavonoids. **J. Agric. Food Chem.** 45(12): 4505-4515.

Bocco, A., Cuvelier, M.E., Richard, H. and Berset, C. 1998. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. **J. Agric. Food Chem.** 46(6): 2123-2129.

Braddock, R.J. 1995 . By-products of citrus fruit. **Food Technol**. 49(9): 74-77.

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

Burda, S. and Oleszek, W. 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. **J.Agric. Food Chem.**49(6): 2774-2779.

Cao, G., Verdon, C.P., Wu, A.H.B., Wang, H. and Prior, R.L. 1995. Automated assay of oxygen radical absorbance capacity with the COBAS FARA II . **Clin. Chem.** 41(12): 1738-1744.

Chen, J., Montanati, A.M. and Widmer, W.W. 1997. Two new polymethoxylated flavones, a class of compounds with potential anticancer activity, isolated from cold pressed Dancy tangerine peel oil solids. **J. Agric. Food Chem**. 45(2): 364-368.

Curl, A.L. and Bailey, G.F. 1956. Comparison of carotenoids of Valencia orange peel and pulp. **J. Agric. 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 relationships. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 67(4): 255-258.

Frankel, E.N. 1996. Antioxidants in lipid food and their impact on food quality. **Food Chem.** 57(1): 51-55.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gil – Izquierdo, A., Riquelme,M.T., Porras, I. and Ferreres, F. 2004. Effect of the rootstock and interstock grafted in lemon tree (*Citrus limon* (L.) Burm.) on the flavonoid content of lemon juice. **J. Agric. Food Chem**. 52(2): 324-331.

Gorinstein, S., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Krzeminski, R., Garlak, M., Martin-Belloso, O., Delgado-Licon, E., Haruenkit, R., Katrich, E., Park, Y.S., Jung, S.T. andTrakhtenberg, S. 2004. Fresh Israeli Jaffa Blond (Shamouti) orange and Israeli Jaffa Red Star Ruby (Sunrise) grape fruit juices affect plasma lipid metabolism and antioxidant capacity in rats fed added chloresterol . **J. Agric. Food Chem** . 52(15): 4853-4859.

Gorinstein, S., Martin- Belloso, O., Park, Y.S., Haruenkit, R., Lojek, A., Ciz, M., Caspi, A., Libmon, I. and Haruenkit, R. 2001. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. **Food Chem.** 74(1): 309-315.

Heo, H.J., Kim, D.O., Shin, S.C. Kim, M.J., Kim, B.G. and Shin, D.H. 2004. Effect of antioxidant flavone, naringenin, from *Citrus junos* on neuroprotection. **J. Agric. Food Chem** .52(6): 1520-1525.

Huang, D., Ou ,B. and Prior, R.L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J. Agric. Food Chem** . 53(6): 1841-1856.

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

Jayaprakasha, G.K. Singh, R.P. and Sakariah, K.K. 2001. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro . **Food Chem**. 73(1): 285-290.

Jeong, S.M., Kim, S.Y., Kim, D.R., Jo, S.C., Nam, K.C., Ahn, D.U. and Lee, S.C. 2004. Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. **J. Agric.Food Chem** . 52(11): 3389-3393 .

Kawaii, S., Tomono, Y., Katase, E., Ogawa, K., Nonomura-Nakano, M., Nesumi, H., Yoshoda T., Sugigura M. and Yano, M. 2001. Quantitative study of fruit flavonoids in *Citrus* hybrids of King (*C. nobilis*) and Mukaku Kishu (*C. kinokuni*). **J. Agric. Food Chem** .49(8): 3982-3986.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kawaii, S., Tomono, Y., Katase, E., Ogawa, K. and Yano, M. 1999. Hl-60 Differenctating activity and flavonoid content of the readily extractable fraction prepared from *Citrus* Juices. **J. Agric. Food Chem** .47(1): 128-135.

Kawaii, S., Tomono, Y., Katase, E., Ogawa, K. and Yano, M. 1999. Quantitation of flavonoid constituents in citrus fruits. **J. Agric.Food Chem** .47(9): 3565-3571.

Kalt, W., Mcdonald, J.E. and Donner, H. 2000. Anthocyanidins, phenolics, and antioxidant capacity of processed lowbush blueberry products. **J. Food Sci.** 65(3): 390-393.

Katsube, T., Tabara, H., Ohta, Y., Yamasaki, Y., Anuurad, E., Shiwaku, K. and Yamane ,Y. 2004. Screening for antioxidant activity in edible plant products : comparison of low density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay , and Folin - Ciocalteu assay. **J. Agric. Food Chem** . 52(8): 2391-2396.

Landrault, N., Poucheret, P., Ravel, P., Gasc, F., Cros, G. and Teissedre, P. L. 2001. antioxidant capacities and phenolic levels of French wines from different varieties and vintages. **J. Agric. Food Chem** .49(6): 3341-3348.

Larrauri, J.A., Ruperez, P., Bravo, L. and Calixto, F.S. 1996. High dietary fibre powders from orange and lime peel: associated polyphenols and antioxidant capacity. **Food Res Int**. 29(8): 757-762.

Lee, B.J. and Hendricks, D.G. 1997. Antioxidant effect of L-carnosine on liposomes and beef homogenates. **J. Food Sci.** 62(5): 931-1000.

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

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

Manthey, J.A. and Guthrie N..2002. Antiproliferative of citrus flavonoids against six human cancer cell lines. **J. Agric. Food Chem** . 50(21): 5837-5843.

Matsufuji, H. and Shibamoto, T. 2004. The role of EDTA in malonaldehyde formation from DNA oxidized by Fenton reagent systems. **J.Agric. Food Chem** .52(10): 3136-3140.

Milic, B.L., Djilas, S.M. and Canadanovic-Burnet, J.M. 1998. Antioxidative activity of phenolic compound on the metal-ion breakdown of lipid peroxidation system. **Food Chem.** 61(4): 443-447.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Miller, E.G., Porter, J.L., Binnie, W.H., Guo, I.Y. and Hasegawa, S. 2004. Futher studies on the anticancer activity of citrus limonoids. **J. Agric. Food Chem** . 52(15): 4908-4912.

Mitsumoto, M., Faustman, c., Cassens, R.G., Arnold, R.N., Schaefer, D.M. and Scheller, K.K. 1991. Vitamins E and C improve pigment and lipid stability in ground beef. **J. Food Sci** .56(1): 194-197.

Montanari, A., Widmer, W. and Nagy, S. 1997. **Health promoting phytochemicals in citrus fruit and juice products.** *In Functionality of food phytochemicals.* New York : Plenum Press.

Murakami, M., Yamaguchi, T., Takamura, H., and Matoba, T. 2004. Effects of thermal treatment on radical – scavenging activity of single and mixed polyphenolic compounds. **J. Food Sci** . 69(1): FCT7-FCT10.

Nagata, Y., Yoza, K.I., Kusumoto, K.I., Kohyama, N., Sekiya, K. and Ohta, H. 1996. Screening for inhibitory activity of citrus fruit extracts against platelet cyclooxygenase and lipoxygenase. **J. Agric. Food Chem** . 44(3): 725-729.

Nenadis, N., Wang, L.F., Tsimidou, M. and Zhang, H.Y. 2004. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the $ABTS^{\bullet +}$ assay. **J. Agric. Food Chem** . 52(15): 4669-4674.

Nitao, J.M., Bruce, B.A., Nair, M.G., Herms, D.A. and Mattson, W.J. 2001. Rapid quantification of proanthocyanidins (condensed tannins) with a continuous flow analyzer. **J. Agric. Food Chem** . 49(5): 2207-2214.

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 . **J. Agric. Food Chem** .50(23): 6882-6890 .

Peter, G.W. and Simon, M. 1994. **Analysis of phenolic plant metabolizes.** London : Black Well Scientific.

Quezada, N., Asencio, M., Del Vallie, J.M., Aguilera, J.M. and Gomez, B. 2004. Antioxidant activity of crude extract, alkaloid fraction, and flavonoid fraction from Boldo (*Peumus boldus* Molina) leaves. **J. Food Sci.** 69(5): C 371-C376.

Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends Plant Sci.** 2(4): 152-159.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Romaswamy, A.S., Jayaraman, S., Sirsi, M. and Roa, K.H. 1972. Antibacterial action of some naturally occurring citrus bioflavonoids. **Indain J. Exp. Biol.** 10(1): 72-73.

Romanathan, L. and Das, N.P. 1992. Studies on the control of lipid oxidation in ground fish by some polyphenolic natural products. **J. Agric. Food Chem** .40(1): 17-21.

Tanisawa, H., Ohkawa, Y., Miyase, T., Ueno, A., Kageyama, T. and Hara, S. 1992. Studies on natural antioxidant in citrus species I. Determination of antioxidative activities of citrus fruits. **Chem. Pham. Bull.** 40(7): 1940-1942

Timmer, L.W. and Duncan, L.W. 1999. **Citrus Health Management** : *Citrus Cultivation* . Minnesota : The American Phytopathological Society.

Simo, C., Ibanez, E., Senorans, F.J., Barbas, C., Reglero, G. and Cifuentes, A. 2002 . Analysis of antioxidants from orange juice obtained by countercurrent supercritical fluid extraction, using micellar electrokinetic chromatography and reverse-phase liquid chromatography. **J. Agric. Food Chem** . 50(23): 6648-6652.

Valentao, P., Fernandes, E., Carvalho, F., Andrade, P.B., Seabra, R.M. and Bastos, M.L. 2002. Antioxidative properties of Cardoon (*Cynara cardunculus* L.) infusion against superoxide radical , hydroxy radical , and hypochlorous acid. **J. Agric. Food Chem** . 50(17): 4989-4993 .

Wanasundara, U.N. and Shahidi, F. 1994. Stabilization of canola oil with flavonoids. **Food Chem.** 50(4): 393-396.

Waterman, P.G. and Mole, M. 1994 . **Analysis of Phenolic Plant Metabolites.** Great Britain : Alden Press.

William, N. and Harris, N.D. 1985. Antioxidant activity in dried orange. **J. Food Sci.** 48(2): 644-645.

Yen, G.W., Chang, Y.C., Sheu, F. and Chiang, H.C. 2001. Isolation and characterization of antioxidant compounds from *Aspergillus candidus* broth filtrate. **J. Agric. Food Chem** . 49(3): 1426-1431.

Yen, W.J. and Chen, B.H. 1995. Isolation of Xanthophylls from Taiwanese orange peels and their effects on the oxidation stability of soybeen oil. **Food Chem.** 53(4): 417-425.

Zaporozhets, O.A., Krushynska, O.A., Lipkovska, N.A. and Barvinchenko, V.N. 2004. A new test method for the evaluation of total antioxidant activity of herbal products. **J. Agric. Food Chem** . 52(1): 21-25 .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

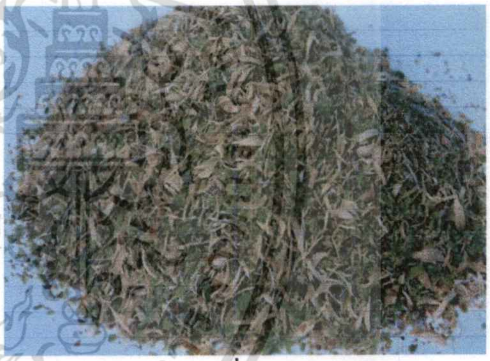
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

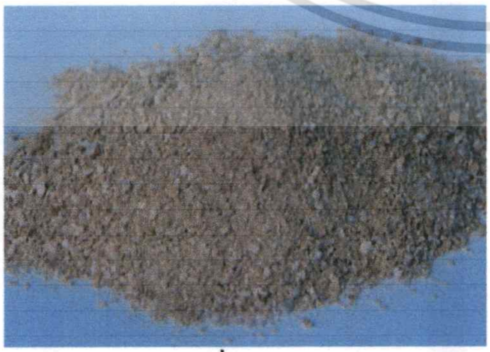
เปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการอบแห้ง

เมล็ดส้มเขียวหวานที่ผ่านการอบแห้ง

เปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการบดละเอียด



เมล็ดส้มเขียวหวานที่ผ่านการบดละเอียด

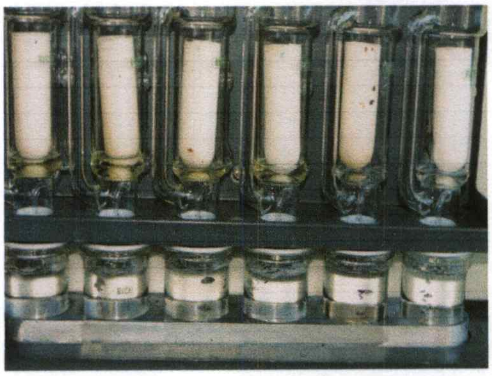


เปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการสกัดไขมันออกแล้ว

เมล็ดส้มเขียวหวานที่ผ่านการสกัดไขมันออกแล้ว

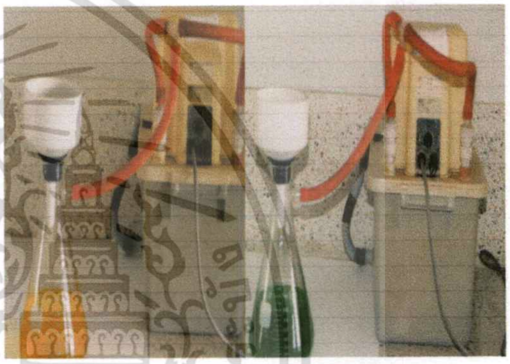
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องมือที่ใช้ในการสกัดไขมัน



การสกัดไขมันออกจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน

การรีฟลักซ์เปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ

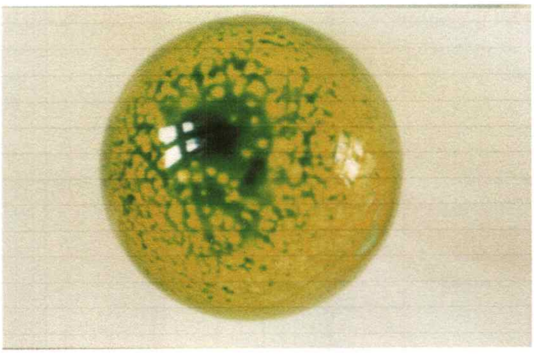


การกรองสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดจากทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆด้วยกรวยบุชเนอร์

สารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ

การระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยระบบสุญญากาศโดยเครื่องrotary evaporator

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



สารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน
ที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ
หลังจากระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยระบบ
สุญญากาศโดยเครื่อง rotary evaporator

เครื่องเขย่าสารและสเปกโทรโฟโตมิเตอร์
สำหรับ ใช้ในการวัดค่าการดูดกลืนแสง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมีในการทดลองหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน

1. การหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (Total Phenolics)

1.1 เอทิลแอลกอฮอล์ 95 %

- นำมาใช้ได้เลย

1.2 กรดแกลลิค

- ชั่งกรดแกลลิคมา 0.02 กรัมละลายในแอลกอฮอล์และปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร

1.3 Folin-Ciocalteu

- นำมาใช้ได้เลยและเก็บในตู้เย็น

1.4 Na_2CO_3 10 %

- ชั่ง Na_2CO_3 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 200 มิลลิลิตร

2. การหาสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้วิธีอนุมูลอิสระ ABTS

2.1 Phosphate buffer salime (PBS)

2.1.1 เตรียม stock solution 100 mM PBS

- ชั่ง $Na_2HPO_4 . 7H_2O$ 26.81 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร
- ชั่ง $NaH_2PO_4 . H_2O$ 13.80 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

นำสารละลายทั้งสองมาผสมกันโดยค่อย ๆผสมจนได้สารละลายผสมที่มี pH 7.4 เติม NaCl 87.66 กรัม คนให้ละลาย ปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นโดยใช้ขวดวัดปริมาตร เทใส่ขวดสีชา เก็บไว้ในตู้เย็น

2.1.2 เตรียม 10 mM PBS (Working solution)

- นำสารละลาย stock solution ในข้อ 2.1.1 มาเจือจาง 10 เท่า ด้วยน้ำกลั่น

2.2 สารละลาย 2.5 mM ABTS (2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazolinesulfonate)

- ชั่ง ABTS มา 0.0137 กรัม ละลายในสารละลาย 10 mM PBS 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย ABTS ใน PBS เข้มข้น 2.5 mM เก็บไว้ในตู้เย็น โดยเตรียมทุกครั้งที่ทำการทดลองในแต่ละวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 Metmyoglobin (MetMG)

- ชั่ง myoglobin มา 18.8 มิลลิกรัม ละลายในสารละลาย 10mM PBS 10 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดวัดปริมาตร

- ชั่ง potassium ferricyanide $[K_3Fe(CN)_6]$ มา 12.2 มิลลิกรัม ละลายในสารละลาย 10mM PBS 200 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดวัดปริมาตร

- นำสารละลายทั้งสอง มาผสมกันในอัตราส่วน1:1โดยปริมาตร เก็บไว้ในตู้เย็น โดยเตรียมทุกครั้งที่ทำการทดลองในแต่ละวัน

2.4 สารละลาย 10 mM hydrogenperoxide (H_2O_2)

ต้องการเตรียมสารละลาย H_2O_2ที่มีความเข้มข้น 10 mM ดังนั้น ต้องชั่ง H_2O_2 มา 0.34 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดวัดปริมาตร

แต่ในการทดลองนี้ เนื่องจากสารละลาย H_2O_2 เริ่มต้นมีความเข้มข้น 30 %

ดังนั้น H_2O_2 100 % จะมี H_2O_2 เท่ากับ 34 กรัม

ถ้า H_2O_2 10 mM จะมี H_2O_2 เท่ากับ 0.34 กรัม

ดังนั้น H_2O_2 30 % จะมี H_2O_2 เท่ากับ $\frac{0.34 \times 30}{100}$

$= 0.102$ กรัม / ลิตร

จากสูตร $D = \frac{M}{V}$ เมื่อ D คือ ความหนาแน่นของสารละลาย

M คือ น้ำหนักสาร

V คือ ปริมาตรของสารละลาย

ดังนั้น $V = \frac{M}{D}$

แทนค่า $V = \frac{0.102}{1.120}$

$= 0.091$ มิลลิลิตร / ลิตร

ดังนั้นเมื่อต้องการเตรียมสารละลาย H_2O_2ที่มีความเข้มข้น 10 mM จากสารละลาย 30% H_2O_2 ต้องปิเปตสารละลาย 30% H_2O_2 มา 0.091 มิลลิลิตร แล้วละลายในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดวัดปริมาตร จากนั้นเก็บไว้ในตู้เย็นโดยเตรียมทุกครั้งที่ทำการทดลองในแต่ละวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การหาสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้วิธีอนุมูลอิสระ DPPH

3.1 แอลกอฮอล์เข้มข้น 95 %

- นำมาใช้ได้เลย

3.2 สารละลายแอลกอฮอล์เข้มข้น 40 %

- ตวงแอลกอฮอล์เข้มข้น 95 % มา 421.05 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตรโดยใช้ขวดปรับปริมาตร

3.3 สารละลาย DPPH (1,1 – Diphenyl – 2 – picrylhydrazyl)

- ชั่ง DPPH 0.0088 กรัม ละลายในแอลกอฮอล์เข้มข้น 95 % แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตรโดยใช้ขวดปรับปริมาตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวรุ่งทิวา วงค์ไพศาลฤทธิ์ เกิดวันที่ 7 ตุลาคม 2516 ที่จังหวัดลำปาง สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร จากสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตลำปางเมื่อปีพ.ศ. 2539 และทำงานที่บริษัทลำปางฟู้ดโปรดักส์ จำกัดในตำแหน่งเจ้าหน้าที่ฝ่ายผลิตในปีเดียวกัน จากนั้นในปี 2541 เข้ารับราชการในสังกัดจากสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตพระนครใต้จนถึงปัจจุบัน และศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วท.ม.) ในสาขาวิทยาศาสตร์การอาหารและสำเร็จการศึกษาในปี 2549

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้