ผลของความร้อนต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกผลไม้บางชนิด และผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารสกัดจากเปลือกมะม่วง

EFFECT OF HEAT TREATMENTS ON THE PHENOLIC CONTENTS AND ANTIOXIDANT CAPACITIES OF SOME FRUIT PEELS AND STABILITY OF PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF MANGO PEEL EXTRACT AS AFFECTED BY TEMPERATURE AND pH

ดรฤดี จันทรปาโล
DONRUDEE JUNTARAPALO

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2551
KMITL-2008-AI-M-053-104

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของความร้อนต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกผลไม้บางชนิด และผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารสกัดจากเปลือกมะม่วง

EFFECT OF HEAT TREATMENTS ON THE PHENOLIC CONTENTS AND ANTIOXIDANT CAPACITIES OF SOME FRUIT PEELS AND STABILITY OF PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF MANGO PEEL EXTRACT AS AFFECTED BY TEMPERATURE AND pH

ดลฤดี จันทรปาโล

DONRUDEE JUNTARAPALO

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....81370
วัน,เดือน,ปี.....11 มิ.ย. 2551

.b.....
.i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2551

KMITL-2008-AI-M-053-194

EFFECT OF HEAT TREATMENTS ON THE PHENOLIC CONTENTS AND ANTIOXIDANT CAPACITIES OF SOME FRUIT PEELS AND STABILITY OF PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF MANGO PEEL EXTRACT AS AFFECTED BY TEMPERATURE AND pH

DONRUDEE JUNTARAPALO

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

2008

KMITL-2008-AI-M-053-194

COPYRIGHT 2008

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของความร้อนต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกผลไม้บางชนิด และผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารสกัดจากเปลือกมะม่วง
นักศึกษา	นางสาวดลฤดี จันทรปาโล
รหัสประจำตัว	48068501
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหาร
พ.ศ.	2551
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ. ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกผลไม้ 3 ชนิด ได้แก่ เปลือกมะม่วงแก้ว (*Mangifera indica* L. cv. Kaew) เปลือกส้มเขียวหวาน (*Citrus reticula* Blanco) และเปลือกกล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum* L. cv. Nam wa) โดยให้ความร้อนกับเปลือกผลไม้แห้งบดเป็นผงละเอียดที่อุณหภูมิ 50, 100, 150 และ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, 20, 40, 60, 90 และ 120 นาที พบว่าอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกผลไม้ทั้ง 3 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) การให้ความร้อนกับเปลือกมะม่วงแก้วที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกมะม่วงแก้วได้สูงสุด โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 108.56 เป็น 116.86 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง และจาก 58.86 เป็น 63.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่เปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้นสูงสุด โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 186.43 เป็น 263.50 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง การให้ความร้อนกับเปลือกส้มเขียวหวานที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที มีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกในเปลือกส้มเขียวหวานเพิ่มขึ้นสูงสุด โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 30.87 เป็น 44.29 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง จาก 44.89 เป็น 81.33 เปอร์เซ็นต์ และจาก 26.88 เป็น 45.33 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ

ขณะที่การให้ความร้อนกับเปลือกกล้วยน้ำว้าที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที สามารถเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกได้สูงสุด โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 6.58 เป็น 19.45 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง จาก 18.58 เป็น 72.16 เปอร์เซ็นต์ และจาก 7.95 เป็น 25.93 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ

การศึกษาผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว โดยให้ความร้อนกับตัวอย่างสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่อุณหภูมิ 70, 100, 120 และ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15, 30 และ 60 นาที ที่ pH 4, 7 และ 9 พบว่าอุณหภูมิ pH และระยะเวลาในการให้ความร้อนมีผลต่อความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยที่การให้ความร้อนมีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วมีแนวโน้มลดลงและจะลดลงมากขึ้นเมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิและเวลาที่สูงขึ้น ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกจะเสถียรต่อความร้อนที่ pH 4 และ 7 มากกว่าที่ pH 9 โดยคงเหลือปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 94.75, 91.13 และ 63.46 เปอร์เซ็นต์ จากเริ่มต้นตามลำดับ เมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที การให้ความร้อนที่ทุกอุณหภูมิที่ศึกษากับสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ pH 4 และ 7 มีผลทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาที่สูงขึ้น การให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่ pH 4 และ 7 มีผลทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 1.55-13.14 และ 3.84-92.19 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ขณะที่การให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่ pH 9 มีผลทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างสารสกัดลดลง และจะมีแนวโน้มลดลงมากขึ้นเมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิและเวลาที่สูงขึ้น โดยพบว่าการให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จะมีผลทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างสารสกัดลดลงเหลือเพียง 40.00 และ 48.73 เปอร์เซ็นต์ ของค่าเริ่มต้นตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกภายใต้สภาวะดังกล่าว

Thesis	Effect of heat treatments on the phenolic contents and antioxidant capacities of some fruit peels and stability of phenolic compounds and antioxidant properties of mango peel extract as affected by temperature and pH
Student	Miss Donrudee Juntarapalo
Student ID.	48068501
Degree	Master of Science
Program	Food Science
Year	2008
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Praphan Pinsirodom

ABSTRACT

Effect of heat treatments on the changes of phenolic contents and antioxidant capacities of mango (*Mangifera indica* L. cv. Kaew), tangerine (*Citrus reticula* Blanco) and banana (*Musa sapientum* L. cv. Nam wa) peels were investigated. Dried fruit peels powder were heated at 50,100, 150 and 200 °C for 10, 20, 40, 60, 90 and 120 min. It was found that temperature and heating time had significant effect on the changes of total phenolic contents and antioxidant properties of the samples ($p \leq 0.05$). Mango peel powder exposed to the heat at 150 °C for 120 min resulted in the highest content of total phenolic and DPPH radical scavenging capacity, which increased from 108.56 to 116.86 mg gallic acid/g dry sample and from 58.86 to 63.40 %, respectively. However, the highest ferric reducing antioxidant power (FRAP) was observed when heated at 200 °C for 20 min, increased from 186.43 to 263.50 mg Torox equivalent/g dry sample. For tangerine peel powder, the total phenolic content, DPPH radical scavenging capacity and FRAP increased to the maximum after heated at 200 °C for 20 min, which increased from 30.87 to 44.29 mg gallic acid/g dry sample, from 44.89 to 81.33 % and from 26.88 to 45.33 mg Torox equivalent/g dry sample, respectively. In the case of banana peel powder, heat treatment at 150 °C for 60 min also increased the total phenolic content, DPPH radical scavenging capacity and FRAP from 6.58 to 19.45 mg gallic acid/g dry sample, from 18.58 to 72.16 % and from 7.95 to 25.93 mg Torox equivalent/g dry sample, respectively.

Effect of temperature and pH on the stability of phenolic compounds and antioxidant properties of the mango peel extract were determined. The extract solutions were heated at 70, 100, 120 and 150 °C for 15, 30 and 60 min at pH 4, 7 and 9. The results showed that temperature, pH and heating time had significant effect on the stability of phenolic compounds and antioxidant properties of mango peel extract ($P \leq 0.05$). Total phenolic contents in the mango peel extract solutions decreased with the increase of heating temperature and time at all pH conditions studied. However, the phenolic compounds exhibited higher heat stability at pH 4 and 7 than at pH 9. Residual total phenolic contents in the samples were 94.75, 91.13 and 63.46 % after heating at 150 °C for 60 min at pH 4, 7 and 9, respectively. On the other hand, both DPPH radical scavenging capacity and FRAP of the mango peel extract solutions tended to increase with the increasing temperature during heat treatments at pH 4 and 7, which increased in the ranges of 1.55-13.14 and 3.84-92.14 %, respectively, compared to unheated sample. Heat treatments of the mango peel extract solution at pH 9 resulted in the decrease of DPPH radical scavenging capacity and FRAP with the increase of temperature and heating time. The residual activities were 40.00 % for DPPH radical scavenging capacity and 48.73 % for FRAP after heating at 150 °C for 60 min, which were in agreement with the changes of total phenolic contents under the same condition.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจาก รศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร.ยุพร พืชกมุทร และ รศ.เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ ผู้ซึ่งให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา และตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้เสร็จสมบูรณ์ ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.อดิศักดิ์ เอกโสวรรณ อาจารย์สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย ที่ให้เกียรติมาเป็นกรรมการในการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งให้ความรู้ คำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง และตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้เสร็จสมบูรณ์ ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่สนับสนุนทุนในการทำรูปเล่มวิทยานิพนธ์ ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณพี่ เพื่อนและน้องนักศึกษาปริญญาโท พี่ปริญญาเอก สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร และพี่เจ้าหน้าที่ทุกท่านในคณะอุตสาหกรรมเกษตรที่ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดีมาตลอด

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่และเพื่อน ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้มาตลอด

ท้ายสุดนี้ ผู้เขียนหวังว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้คงเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจ

คลฤดี จันทรปาโล

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III

กิตติกรรมประกาศ.....V

สารบัญ..... VI

สารบัญตาราง..... VIII

สารบัญภาพ.....X

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความสำคัญและที่มา.....1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....3

1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....4

บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....5

2.1 มะม่วง.....5

2.2 ส้ม..... 6

2.3 กล้วย..... 6

2.4 อนุมูลอิสระ (Free radicals).....7

2.5 สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Antioxidants).....10

2.6 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds).....11

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลของความร้อนต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของพืชบางชนิด.....16

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของ สารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันใน สารสกัดจากพืชบางชนิด.....17

บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการทดลอง..... 19

3.1 วัสดุและอุปกรณ์.....19

3.2 วิธีการดำเนินการทดลอง.....20

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและการวิจารณ์.....24
4.1 ผลของความร้อนต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า.....24
4.2 ผลของความร้อนต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า..... 32
4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างเปลือกผลไม้ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน.....46
4.4 ผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว..... 50
4.5 ผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว.....55

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....67

บรรณานุกรม.....70

ภาคผนวก

ก. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด..... 75
ข. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH..... 80
ค. การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก.....83
ง. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างเปลือกผลไม้ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ.....88

ประวัติผู้เขียน..... 94

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืช....12

4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง) ของเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....25

4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง) ของเปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....26

4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง) ของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....27

4.4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (เปอร์เซ็นต์) ของเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....33

4.5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (เปอร์เซ็นต์) ของเปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....34

4.6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (เปอร์เซ็นต์) ของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....35

4.7 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง) ของเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....39

4.8 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง) ของเปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....40

4.9 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง) ของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....41

4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างเปลือกผลไม้ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....47

4.11 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 4, 7 และ 9....51

4.12 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 4, 7 และ 9....56

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.13 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) ของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 4, 7 และ 9.....60

สารบัญภาพ

รูปที่ หน้า

2.1 โครงสร้างทางเคมีของกรดฟีนอลิก....13

2.2 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์.... 13

4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....28

4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....28

4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....29

4.4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....36

4.5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....36

4.6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน.... 37

4.7 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....42

4.8 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของเปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....42

4.9 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน....43

4.10 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 4....52

4.11 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 7....52

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.12 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 9.....53

4.13 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 4.....57

4.14 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 7.....57

4.15 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 9.....58

4.16 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 4.....61

4.17 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 7.....61

4.18 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 9.....62

ก1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด.....76

ค1 กราฟมาตรฐานโทรอกซ์ในการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก.....84

ง1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ.....88

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูปที่ หน้า

ง2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ.....89

ง3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ..... 90

ง4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของเปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ..... 91

ง5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ.....92

ง6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ.....93

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

พืชเป็นแหล่งของสารพฤษเคมี (phytochemicals) ที่สำคัญหลายชนิด โดยเฉพาะสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ซึ่งเป็นสารประกอบหลักในพืชที่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและทำลายอนุมูลอิสระที่ดี (Li *et al.*, 2006) ในปัจจุบันสารประกอบฟีนอลิกได้รับความสนใจในการนำไปใช้ประโยชน์เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติ (natural antioxidants) ในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อป้องกันการเสื่อมเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารอันมีสาเหตุเนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันขององค์ประกอบประเภทไขมันในอาหาร ซึ่งทำให้อาหารมีคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสและคุณค่าทางอาหารลดลง (Kang *et al.*, 2006) นอกจากนั้นสารประกอบฟีนอลิกยังมีบทบาทสำคัญในแง่การให้ประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค ในการป้องกันและลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่าง ๆ ที่มีสาเหตุเนื่องมาจากภาวะ oxidative stress เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคมะเร็ง โรคความจำเสื่อมและความชรา เป็นต้น ซึ่งภาวะ oxidative stress นั้นเป็นภาวะที่ร่างกายไม่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ทันกับอนุมูลอิสระที่ร่างกายได้รับ อนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้นจะเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ในร่างกาย ส่งผลให้สารชีวโมเลกุลต่าง ๆ เหล่านี้สูญเสียหน้าที่หรือถูกทำลาย อันเป็นสาเหตุเบื้องต้นที่จะนำไปสู่การเกิดโรคภัยไข้เจ็บต่าง ๆ ดังกล่าว (Sun *et al.*, 2002)

กระบวนการแปรรูปผลไม้ก่อให้เกิดวัสดุเหลือทิ้ง (by-product) เป็นจำนวนมาก โดยเปลือกถือเป็นวัสดุเหลือทิ้งหลักที่ได้จากกระบวนการแปรรูปผลไม้ชนิดต่าง ๆ ซึ่งจัดเป็นแหล่งของสารพฤษเคมีที่สำคัญและมีประโยชน์ ในกระบวนการแปรรูปมะม่วงจะมีวัสดุเหลือทิ้งจากเปลือกประมาณ 15-20 เปอร์เซ็นต์ของมะม่วงทั้งผล (Ajila *et al.*, 2007) และในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำส้มคั้นมีวัสดุเหลือทิ้งจากเปลือก เมล็ดและกากส้มคิดเป็นสัดส่วน 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักผล (Balasundram *et al.*, 2006) ขณะที่กระบวนการแปรรูปกล้วยจะมีเปลือก ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักกล้วยทั้งผล (Emaga *et al.*, 2007) ซึ่งวัสดุเหลือทิ้งเหล่านี้ถือเป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญ โดยเฉพาะเปลือกซึ่งพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าในส่วนที่กินได้ (Ajila *et al.*, 2007 ; Someya *et al.*, 2002) ดังนั้นการสกัดสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติจากวัสดุเหลือทิ้งในอุตสาหกรรมการแปรรูปอาหารมาใช้ประโยชน์ จึงถือเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าว

และได้สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติที่มีศักยภาพในการให้ประโยชน์ต่อสุขภาพและไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

Ajila และคณะ (2007) พบว่าเปลือกมะม่วงเป็นแหล่งของสารประกอบโพลีฟีนอลที่สำคัญ โดยเปลือกมะม่วง Raspuri และ Badami ทั้งดิบและสุกจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลอยู่ในช่วง 55-110 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมน้ำหนักแห้ง (สกัดด้วยอะซิโตน 80 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลสูงกว่าในกากแอปเปิล และพบว่าเปลือกมะม่วงดิบจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลสูงกว่าในเปลือกมะม่วงสุก ขณะที่ Gorinstein และคณะ (2001) พบว่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเปลือกผลไม้ตระกูลส้ม 3 ชนิด ได้แก่ มะนาว (lemons) ส้ม (oranges) และเกรพฟรุ้ต (grapefruits) สูงกว่าที่พบในเนื้อ โดยที่สารสกัดจากเปลือกผลไม้ตระกูลส้ม (citrus peel) มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันใกล้เคียงกับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์ BHA และ BHT (Rehman, 2006) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจากเนื้อและมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าในสารสกัดจากเนื้อกล้วยถึง 2.2 เท่า (Someya *et al.*, 2002) และพบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมดิบจะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงใกล้เคียงกับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์ BHA และ BHT (Mokbel and Hashinaga, 2005)

สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชตามธรรมชาติจะมีทั้งที่อยู่ในรูปอิสระ (free form) และในรูปที่รวมอยู่กับสารประกอบอื่น ๆ (bound form) แต่โดยส่วนใหญ่มักพบในรูปที่รวมอยู่กับสารประกอบอื่น ๆ ซึ่งจะมีทั้งกลุ่มที่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ได้ (conjugated forms/soluble phenolics) เช่น สารประกอบฟีนอลิกที่จับกับโมเลกุลของน้ำตาล และอีกกลุ่มหนึ่งคือ สารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับสารโพลีเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืชที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble polymers) ด้วยพันธะโควาเลนท์ (covalent bound) เช่น สารประกอบฟีนอลิกที่จับกับเซลลูโลส (cellulose) หรือลิกนิน (lignin) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มนี้มีสมบัติไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (insoluble bound forms/insoluble phenolics) (Dewanto, *et al.*, 2002 ; Karakaya, 2004 ; Podsedek, 2007 ; Shahidi and Naczk, 1995) ดังนั้นการที่จะได้รับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติจากพืช จึงจำเป็นต้องหากระบวนการหรือวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการปลดปล่อยสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติจากพืช ซึ่ง Jeong และคณะ (2004) ได้รายงานว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาทีแก่เปลือกส้มยูสุ (unshiu) ในเตาเผา (muffle furnace) ก่อนนำมาสกัดด้วยเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์และน้ำ จะได้สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าในสารสกัดจากเปลือกส้มที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน

อย่างไรก็ตามสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปสารสกัดที่ได้จากพืชต่าง ๆ อาจมีความเสถียรลดลงได้ด้วยปัจจัยหลายประการ โดยเฉพาะอุณหภูมิและ pH ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแปรรูปอาหาร ซึ่งอุณหภูมิและ pH ที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหารจะมีผลต่อความเสถียรของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติที่สกัดได้จากพืช (Yamazaki *et al.*, 2007) การใช้สารสกัดจากพืชในผลิตภัณฑ์อาหารจึงจำเป็นต้องทราบข้อมูลความเสถียรของสารสกัดต่ออุณหภูมิและ pH ดังกล่าว เพื่อพิจารณาถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อการนำสารสกัดจากพืชไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดจะมีความเสถียรต่ออุณหภูมิและ pH ที่แตกต่างกันไป จากการศึกษาของ Yamazaki และคณะในปี 2007 พบว่าภายใต้สภาวะที่เป็นกรด (pH 3.5 และ 5) สารละลายสารสกัดจากเมล็ดพริกไทยญี่ปุ่นจะเสถียรต่อความร้อนทั้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 30 นาที และที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส 20 นาที แต่เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่เป็นกลาง (pH 7) ตัวอย่างสารสกัดจะมีความเสถียรลดลงเล็กน้อย เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปผลไม้ ซึ่งได้แก่ เปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้ามาใช้ประโยชน์ โดยศึกษาถึงผลของการใช้ความร้อนในการปลดปล่อยสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติจากเปลือกผลไม้ดังกล่าว โดยตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกผลไม้ที่ผ่านการให้ความร้อนที่สภาวะต่าง ๆ และศึกษาถึงผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกผลไม้ 3 ชนิด คือ เปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า

2. ศึกษาผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารสกัดที่ได้จากเปลือกมะม่วงแก้ว

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกผลไม้ 3 ชนิด คือ เปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า และศึกษาผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว ซึ่งข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยทำให้ทราบถึงระดับการให้ความร้อนที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการปลดปล่อยสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติจากเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า เพื่อให้สามารถสกัดสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในเปลือกผลไม้เหล่านี้ได้มากขึ้น และทำให้ทราบผลของปัจจัยอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการประยุกต์ใช้เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในผลิตภัณฑ์อาหาร อีกทั้งยังเป็นแนวทางในการนำเปลือกผลไม้ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปผลไม้มาใช้ประโยชน์เป็นแหล่งของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติที่สำคัญ

บทที่ 2
ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 มะม่วง

มะม่วง (*Mangifera indica* L.) เป็นผลไม้เขตร้อน (tropical fruit) ที่อยู่ในวงศ์ Anacardiaceae มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และอินเดีย เป็นผลไม้ที่มีความสำคัญในทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก ประชากรในโลกมากกว่า 1 ใน 5 ใช้มะม่วงประกอบอาหาร และมีอย่างน้อย 87 ประเทศในโลกที่ปลูกมะม่วงเป็นการค้า (ส่วนอุตสาหกรรมเกษตร, 2544) แต่ละปีจะมีผลผลิตมะม่วงรวมจากทั่วโลกประมาณ 24 ล้านตัน (ข้อมูลระหว่างปี 2538-2542 ธวัชชัย และคณะ, 2546) โดยประเทศที่มีการผลิตมะม่วงเป็นจำนวนมาก ได้แก่ ประเทศอินเดีย เม็กซิโก บราซิลและปากีสถาน ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการผลิตมะม่วงมากติดอันดับ 1 ใน 10 ของโลก (ส่วนอุตสาหกรรมเกษตร, 2544) โดยมีการผลิตมะม่วงทั้งเพื่อการบริโภคในรูปผลสดและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ ซึ่งมะม่วงแก้วเป็นพันธุ์มะม่วงที่มีปริมาณผลผลิตออกสู่ตลาดมากและมีพื้นที่ปลูกเป็นอันดับ 2 รองลงมาจากพันธุ์เขียวเสวย (ธวัชชัย และคณะ, 2546)

มะม่วงแก้ว (*Mangifera indica* L. cv. Kaew) เป็นมะม่วงพันธุ์ที่เหมาะสำหรับใช้แปรรูปในเชิงอุตสาหกรรม เนื่องจากเจริญเติบโตเร็วและทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดี ให้ผลดก เปลือกค่อนข้างหนาและเหนียว ผิวเปลือกมีสีเขียวเข้ม มีต่อมน้ำมันขนาดใหญ่ มีเปอร์เซ็นต์แป้งในผลมาก ผลดิบมีเนื้อแน่นและกรอบเหมาะสำหรับใช้ทำมะม่วงดอง เมื่อผลสุกเนื้อจะมีรสหวานและเกาะตัวกันดีเหมาะที่จะใช้ทำผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ หลายชนิด (ส่วนอุตสาหกรรมเกษตร, 2544) มะม่วงแก้วมีพื้นที่ปลูกครอบคลุมในทุกภาคของประเทศ โดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ มีหลายพันธุ์แยกตามลักษณะภายนอกของผลและสีผิว ได้แก่ พันธุ์แก้วเขียว (เมื่อดิบสีผิวออกสีเขียวเข้ม) แก้วขาว (สีผิวผลออกสีเขียวซีด) แก้วดำ (สีผิวผลออกสีเขียวคล้ำ) และแก้วจุก นอกจากนี้ยังมีสายพันธุ์ที่ได้รับการปรับปรุงให้มีผลผลิตสูงและมีความต้านทานโรค ได้แก่ พันธุ์แก้วศรีสะเกษ แก้วชัยภูมิ และแก้วเชียงใหม่ เป็นต้น (ธวัชชัย และคณะ, 2546) ผลมะม่วงแก้วทั้งดิบและสุกนิยมนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น มะม่วงดอง มะม่วงในน้ำเชื่อมบรรจุกระป๋อง น้ำมะม่วงพร้อมดื่ม มะม่วง puree ซอสมะม่วง มะม่วงสุกในน้ำเชื่อมบรรจุกระป๋อง แยมมะม่วงและมะม่วงผง (ส่วนอุตสาหกรรมเกษตร, 2544) ซึ่งเปลือกมะม่วงที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูป (ประมาณ 15-20 เปอร์เซ็นต์ของผล) จัดเป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และใยอาหาร (Dietary fibre) ที่สำคัญ (Ajila *et al.*, 2007)

2.2 ส้ม

ส้มเป็นผลไม้ที่นิยมบริโภคกันทั่วไป ทั้งในรูปผลสดหรือแปรรูปเป็นน้ำส้ม อุดมไปด้วยวิตามิน เกลือแร่ รวมทั้งสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและสารอื่น ๆ ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย จึงให้ประโยชน์ต่อร่างกาย โดยช่วยในเรื่องการขับถ่าย ลดอาการท้องผูก ช่วยบำรุงเซลล์ในร่างกาย ช่วยบำรุงหัวใจและกระเพาะอาหาร (วินัศ, 2549)

ส้มเขียวหวาน (*Citrus reticula* Blanco) เป็นพืชตระกูลส้มในกลุ่ม Mandarin จำพวก Tangerine อยู่ในวงศ์ Rutaceae มีต้นกำเนิดในประเทศจีนและญี่ปุ่น เป็นส้มที่นิยมปลูกมากในประเทศไทย โดยเฉพาะในพื้นที่จังหวัดปทุมธานี สระบุรี นครนายก เชียงใหม่ เชียงราย น่าน แพร่ จันทบุรีและตราด มีหลายพันธุ์ เช่น ส้มบางมด ส้มโชกุน ส้มฟรีมองต์ ส้มสีทองและส้มสายน้ำผึ้ง (วินัศ, 2549) ส่วนใหญ่จะบริโภคทั้งในรูปผลสดและน้ำส้มคั้น ผลส้มจะมีรูปร่างกลมแบน ลักษณะผิวเปลือกจะเรียบและบาง เมื่อแก่จัดจะมีสีเขียวอมเหลืองและมีต่อมน้ำมันอยู่ภายใน (เปรมปรี, 2544) ซึ่งเปลือกส้มจัดเป็นแหล่งของโมแลส (molasses) เพกติน (pectin) และลิโมนิน (limonene) รวมถึงสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด โดยเฉพาะฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งมีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและอนุมูลอิสระที่ดี (Li *et al*., 2006)

2.3 กล้วย

กล้วยเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง นิยมนำมาบริโภคทั้งในรูปผลสุกและนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น กล้วยกวน กล้วยฉาบหรือกล้วยตาก เป็นต้น กล้วยมีคุณค่าทางโภชนาการสูงและอุดมไปด้วยวิตามินชนิดต่าง ๆ เช่น วิตามินซี วิตามินอีและบี (Someya *et al*., 2002) ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการผลิตกล้วยเป็นพืชเศรษฐกิจ โดยกล้วยที่ปลูกมาก ได้แก่ กล้วยหอม กล้วยไข่ กล้วยหักมุกและกล้วยน้ำว้า (มณฑาทิพย์ และคณะ, 2548)

กล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum* L. cv. Nam wa) เป็นพืชในวงศ์ Musaceae ที่มีการปลูกทั่วไปในทุกภาคของประเทศ โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันตกและภาคใต้ เป็นผลไม้ที่นิยมบริโภคกันมาก ผลสุกนอกจากใช้รับประทานในรูปของผลไม้สดแล้วยังสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น กล้วยตาก กล้วยทอด กล้วยกวน น้ำกล้วย กล้วย puree กล้วยผงและแยมกล้วย ส่วนผลดิบนิยมนำไปแปรรูปเป็นแป้งกล้วย กล้วยฉาบหรือกล้วยอบเนย กล้วยน้ำว้าสามารถแบ่งได้เป็น 5 สายพันธุ์ ได้แก่ กล้วยน้ำว้าแดง กล้วยน้ำว้าค่อม กล้วยน้ำว้าเหลือง กล้วยน้ำว้าขาวและกล้วยน้ำว้านวล ผลมีขนาดใกล้เคียงกับกล้วยไข่ เมื่อสุกผิวเปลือกจะเปลี่ยนจาก

สีเขียวเป็นสีเหลืองปนน้ำตาล เนื้อมีสีขาวและมีรสหวาน (เบญจมาศ, 2538) ซึ่งเปลือกกล้วยเป็นแหล่งของใยอาหารและสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญ (Emaga *et al.*, 2007 ; Someya *et al.*, 2002)

2.4 อนุมูลอิสระ (Free radicals)

อนุมูลอิสระ คือ โมเลกุลของสารใด ๆ ที่สามารถเกิดขึ้นได้โดยอิสระ โดยที่โมเลกุลจะประกอบด้วยอิเลคตรอนวงนอกที่ไม่ได้จับคู่ (unpair electron) เพียงหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งอิเลคตรอนขึ้นไป ซึ่งการมีอิเลคตรอนวงนอกที่ไม่ได้จับคู่ทำให้อนุมูลอิสระไวต่อการเกิดปฏิกิริยาในการที่จะดึงอิเลคตรอนจากโมเลกุลอื่นเพื่อกลับคืนเป็นโมเลกุลที่มีความคงตัว (Willcox *et al.*, 2004) และเกิดปฏิกิริยาการดึงอิเลคตรอนต่อเนื่องกันเป็นลูกโซ่ (เพ็ญนภา, 2548)

2.4.1 อนุมูลอิสระกับภาวะการเจ็บป่วยของร่างกาย

อนุมูลอิสระในระบบชีวะโมเลกุลโดยส่วนใหญ่จะเป็นอนุพันธุ์ของออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) ซึ่งได้แก่ อนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (hydroxyl radical, $HO^{\cdot}$) ซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion, $O_2^{\cdot}$) ไฮโปคลอรัส (hypochlorous, HOCl) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) และอนุพันธ์ของไนโตรเจน (reactive nitrogent species, RNS) ซึ่งได้แก่ ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, $NO^{\cdot}$) เปอร์ออกซีไนไตร (peroxy nitrite, $ONOO^{\cdot}$) ทั้งกลุ่ม ROS และ RNS จัดเป็นแหล่งของอนุมูลอิสระที่สำคัญของร่างกาย (วัลยา และ พัชรี, 2542 ; Halliwell *et al.*, 1992)

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายส่วนหนึ่งเป็นผลผลิตจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายหรือเกิดจากปัจจัยภายนอกที่มากระทบต่อร่างกาย เช่น รังสีอัลตราไวโอเลต (UV) โอโซน ควันจากท่อไอเสียต่าง ๆ และควันบุหรี่ (วัลยา และ พัชรี, 2542) รวมถึงการบริโภคอาหารที่มีสารเคมีปนเปื้อน เช่น สารกันบูด สารแต่งสี สารปรุงรส และอาหารปิ้งย่างหรือทอดที่ไหม้เกรียม ซึ่งอาหารเหล่านี้จะมีเขม่าและควันไฟจับอยู่ และเป็นอณูของคาร์บอนที่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศไม่หมดจึงกลายเป็นอนุมูลอิสระ (เพ็ญนภา, 2548)

ในสภาวะปกติร่างกายจะมีระบบควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับปกติที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย โดยใช้เอนไซม์ โคเอนไซม์ โปรตีนหรือสารอาหารบางชนิด เช่น วิตามินอี วิตามินซีและสารแคโรทีนอยด์ (วัลยา และ พัชรี, 2542) แต่เมื่อร่างกายได้รับอนุมูลอิสระจากภายนอกหรือมีการผลิตอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดสภาวะที่ร่างกายเกิดความไม่สมดุลระหว่างปริมาณอนุมูลอิสระที่ร่างกายได้รับกับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระออกนอกร่างกาย หรือที่เรียกว่าภาวะ oxidative stress (Willcox *et al.*, 2004) ซึ่งอนุมูลอิสระที่มีปริมาณ

เพิ่มขึ้นนี้จะเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลในร่างกาย เกิดการออกซิเดชันของโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรตและกรดนิวคลีอิก มีผลทำให้โมเลกุลเหล่านี้ถูกทำลายและสูญเสียหน้าที่การทำงาน เกิดการทำลายสมดุลของระบบต่าง ๆ ในร่างกาย เซลล์และเนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้รับความเสียหาย นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่มากเกินพอนี้จะเข้าทำลาย DNA ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเซลล์ ก่อให้เกิดความเสียหายและอันตรายต่อร่างกายอันนำไปสู่ภาวการณ์เกิดโรคบางชนิด เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดและโรคหัวใจ โรคเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันทำงานผิดปกติ โรคไขข้ออักเสบ โรคความจำเสื่อม โรคต้อกระจกและความชรา เป็นต้น (นวลศรี และ อัญชนา, 2546 ; เพ็ญนภา, 2548)

แม้ว่าร่างกายจะมีระบบในการควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระในร่างกายแล้วก็ตาม แต่ในบางครั้งร่างกายได้รับมลพิษจากสิ่งแวดล้อมภายนอกเข้ามามากเมื่อรวมกับอนุมูลอิสระที่ถูกสร้างขึ้นมาจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายเอง ทำให้ร่างกายเกิดการสะสมของอนุมูลอิสระในระดับที่มากเกินกว่าที่ร่างกายจะกำจัดได้ทัน จึงต้องอาศัยสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากภายนอกเข้ามาช่วยในการกำจัดอนุมูลอิสระเหล่านี้ ซึ่งแหล่งของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่สำคัญของร่างกายได้จากการบริโภคอาหาร โดยเฉพาะอาหารประเภทพืชผักและผลไม้

2.4.2 อนุมูลอิสระกับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในผลิตภัณฑ์อาหาร

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันหรือน้ำมันในอาหาร เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างออกซิเจนกับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่เป็นองค์ประกอบของไขมันหรือน้ำมันในอาหาร โดยมีอุณหภูมิและแสงสว่างเป็นตัวเร่ง ส่งผลให้เกิดการเสื่อมคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร ปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเมื่ออาหารสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ และอัตราเร็วของปฏิกิริยาจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ โดยมีกลไกการเกิดปฏิกิริยา 3 ขั้นตอน ดังนี้

1. Initiation เป็นขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระ

$$RH \longrightarrow R^{\cdot} + H^{\cdot}$$

$$RH + O_2 \longrightarrow R^{\cdot} + {}^{\cdot}OOH$$

2. Propagation เป็นปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ

$$R^{\cdot} + O_2 \longrightarrow ROO^{\cdot}$$

$$ROO^{\cdot} + RH \longrightarrow R^{\cdot} + ROOH$$

$$ROOH \longrightarrow RO^{\cdot} + HO^{\cdot}$$

3. Termination เป็นปฏิกิริยาสุดท้ายที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระ (non-radical products)

$$R^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow RR$$

$$ROO^{\cdot} + ROO^{\cdot} \longrightarrow ROOR + O_2$$

$$R^{\cdot} + RO^{\cdot} \longrightarrow ROR$$

$$R^{\cdot} + ROO^{\cdot} \longrightarrow ROOR$$

$$2RO^{\cdot} + 2ROO^{\cdot} \longrightarrow 2ROOR + O_2$$

ปฏิกิริยาเริ่มต้นของการเกิดอนุมูลอิสระ เกิดจากคาร์บอนอะตอมที่อยู่ใกล้ตำแหน่งพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูญเสียไฮโดรเจน โดยมีความร้อน แสงสว่างและโลหะเป็นตัวเร่ง ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระ หลังจากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระกับออกซิเจนได้เป็นอนุมูลเพอร์ออกซี (peroxy radical, $ROO^{\cdot}$) ซึ่งอนุมูลเพอร์ออกซีจะเข้าทำปฏิกิริยากับกรดไขมันโมเลกุลใหม่ เพื่อดึงเอาไฮโดรเจนอะตอม ทำให้ได้ไฮโดรเพอร์ออกไซด์ (ROOH) และเกิดอนุมูลอิสระไฮโดรคาร์บอน(hydrocarbon radical, $R^{\cdot}$) ขึ้นใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระ $R^{\cdot}$ ที่เกิดขึ้นใหม่นี้จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนและเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องวนเวียนซ้ำไปเรื่อย ๆ ส่วนไฮโดรเพอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นและเป็นผลิตภัณฑ์เริ่มต้นของปฏิกิริยาจะไม่คงตัว จึงเกิดปฏิกิริยาต่อไป โดยการสลายตัวหรือทำปฏิกิริยากับสารอื่น ทำให้เกิดสารประกอบชนิดใหม่ที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดต่าง ๆ กัน ทำให้เกิดสารให้กลิ่นรสที่ไม่ดี และเมื่ออนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมีปริมาณมากพอจะทำปฏิกิริยากันเองเกิดเป็นสารประกอบใหม่ที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระปฏิกิริยาก็จะหยุดลง ซึ่งเมื่อไม่มีอนุมูลอิสระเหลือสำหรับทำปฏิกิริยาต่อเนื่องกับออกซิเจนแล้ว หากยังมีออกซิเจนมากพออยู่ก็จะเริ่มต้นเกิดปฏิกิริยาขั้นที่ 1 (Initiation) เพื่อให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระใหม่ (นิธิยา, 2545 ; Deman, 1999 ; Hamilton, 1994)

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในอาหารที่เกิดขึ้น ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร โดยก่อให้เกิดกลิ่นหืน เกิดการเปลี่ยนแปลงสีและกลิ่นรสรวมถึงส่งผลให้อาหารมีคุณค่าทางโภชนาการลดลงและมีความเป็นพิษ ซึ่งการเติมสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสามารถช่วยป้องกันการเกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวได้ และยังช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารไว้ได้ (พิชญ์อร, 2547)

2.5 สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Antioxidants)

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน หมายถึง สารประกอบใด ๆ ที่ปรากฏในระดับความเข้มข้นที่ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับสารตั้งต้นที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งสามารถชะลอหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Willcox *et al.*, 2004)

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ ได้ดังนี้

1. สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants)

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์ ได้แก่ บิวทิเลเตดไฮดรอกซีอะนิโซล (butylated hydroxyanisole (BHA)) บิวทิเลเตดไฮดรอกซีโทลูอีน (butylated hydroxytoluene (BHT)) และโพรพิลแกลเลต (propyl gallate (PG)) ใช้เติมลงในอาหารเพื่อป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหารอันเนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันขององค์ประกอบไขมันและน้ำมันในอาหาร แต่มักมีข้อจำกัดในเรื่องความเป็นพิษต่อผู้บริโภค (Maisuthisakul *et al.*, 2007 ; Yamazaki *et al.*, 2007)

2. สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติ (Natural antioxidants)

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่พบในธรรมชาติมี 4 ประเภท (Frankel and Meyer, 2000) ได้แก่

1) สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในกลุ่มของเอนไซม์ที่สร้างได้ในเซลล์ร่างกาย ได้แก่ คาทาเลส (catalase) ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxide dismutase) และกลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) เป็นต้น

2) สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในกลุ่มของวิตามิน ได้แก่ วิตามินอี ซีและเอ

3) สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในกลุ่มของแร่ธาตุ เช่น ซิลิเนียมและสังกะสี ซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ที่ต้านออกซิเดชัน

4) สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในกลุ่มของสารพฤษเคมี (phytochemicals) เช่น แคโรทีนไลโคปีนและสารประกอบฟีนอลิก เป็นต้น

ในปัจจุบันสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในกลุ่มของสารพฤษเคมี โดยเฉพาะสารประกอบฟีนอลิกจากพืช ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทั้งในแง่ของการให้ประโยชน์ต่อร่างกายในการป้องกันการเกิดโรคภัยไข้เจ็บต่าง ๆ อันมีสาเหตุเนื่องมาจากภาวะ oxidative stress และใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารอันเนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและน้ำมันในอาหาร นอกจากนี้สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันยังสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ตามกลไกในการยับยั้ง (Maisuthisakul *et al.*, 2007) ซึ่งได้แก่

1. สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันปฐมภูมิ (Primary antioxidants)

ได้แก่ สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์ เช่น BHA BHT TBHQ หรือสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งสามารถขัดขวางการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยการให้ไฮโดรเจนอะตอมหรืออิเลคตรอนเพื่อเปลี่ยนอนุมูลอิสระไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่คงตัว

2. สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันทุติยภูมิ (Secondary antioxidants)

ได้แก่ สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในกลุ่มวิตามิน เช่น วิตามินซีหรือเอ ซึ่งจะทำหน้าที่โดยใช้กลไกหลายอย่าง ได้แก่ จับกับไอออนของโลหะ กำจัดออกซิเจนหรือยับยั้ง singlet oxygent เป็นต้น

2.6 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารพฤษเคมีที่พบได้ทั่วไปในพืชหลายชนิด ปัจจุบันได้รับความสนใจมากขึ้นเนื่องจากสมบัติในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการเจ็บป่วยและการเกิดโรคภัยไข้เจ็บต่าง ๆ อันมีสาเหตุมาจากภาวะ oxidative stress ภายในร่างกาย นอกจากนั้นยังสามารถนำมาใช้กับอาหาร เพื่อเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในการป้องกันการเสื่อมเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารอันมีสาเหตุเนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันขององค์ประกอบไขมันในอาหาร

2.6.1 ลักษณะทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารในกลุ่ม secondary metabolites ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิถี pentose phosphate shikimate และ phenylpropanoid ที่พบในพืช มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ของพืช รวมทั้งช่วยปกป้องพืชจากการติดเชื้อหรือถูกทำลายโดยแมลง สิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก (micro organism) หรือ pathogen และยังมีหน้าที่เกี่ยวกับการเกิดสีและกลิ่นรสในผักและผลไม้อีกด้วย โดยทั่วไปสารประกอบฟีนอลิกจะพบมากบริเวณผิวชั้นนอกของพืช เช่น เปลือก เพื่อทำหน้าที่ปกป้องสารต่าง ๆ ที่อยู่ภายใน (inner materials) โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (OH) ตั้งแต่ 1 หมู่ขึ้นไปมาเกาะอยู่ มีโครงสร้างตั้งแต่โมเลกุลอย่างง่ายไปจนถึงโครงสร้างที่เป็นโพลีเมอร์ ในธรรมชาติสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปอิสระ (free form) จะพบได้เพียงเล็กน้อย โดยส่วนใหญ่จะพบในรูปที่รวมอยู่กับสารประกอบอื่น ๆ (bound form) ซึ่งมีทั้งชนิดที่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ (conjugated forms/soluble phenolics) และที่อยู่ในรูปที่จับกับสารโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำ

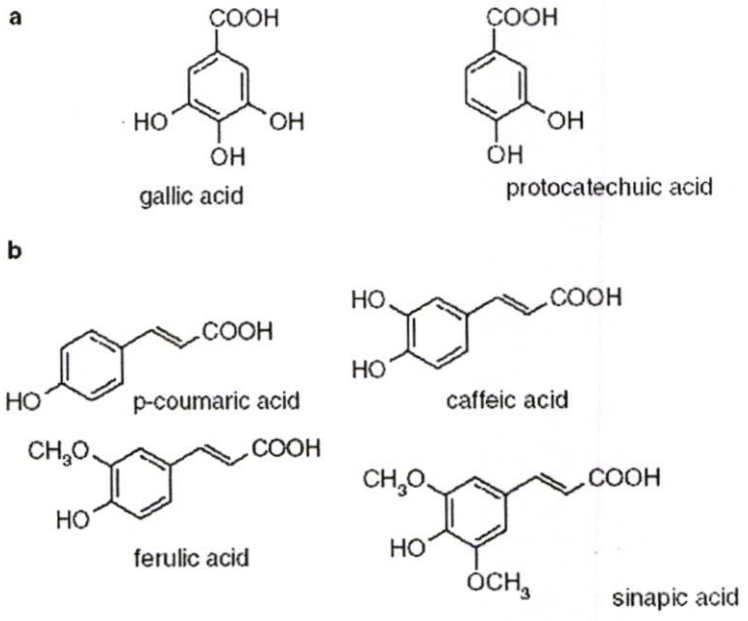
ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช (insoluble bound forms/insoluble phenolics) โดยมักพบสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่กับโมเลกุลของน้ำตาล เช่น น้ำตาลกลูโคส (glucose) กาแลกโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) ไซโลส (xylose) อะราบิโนส (arabinose) และอนุพันธ์ของน้ำตาล เช่น กรดกลูโคโรนิก (glucoronic acid) กรดกาแลกตูโรนิก (galacturonic acid) ในรูปไกลโคไซด์ (glycosides) นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกยังอาจรวมกับสารประกอบอื่นอีกหลายชนิด เช่น โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) กรดอินทรีย์ (organic acids) ไขมัน ฟีนอลิก (phenolics) และอะมีน (amines) (Balasundram *et al.*, 2006 ; Karakaya, 2004 ; Podsedek, 2007 ; วิวัฒน์, 2545)

สารประกอบฟีนอลิกสามารถแบ่งได้เป็นหลายกลุ่ม ตามจำนวนคาร์บอนอะตอมในโครงสร้าง (แสดงในตารางที่ 2.1) แต่ที่พบในพืชส่วนใหญ่ ได้แก่ กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ซึ่งมี 2 กลุ่มย่อย คือ กรดไฮโดรเบนโซอิก (hydroxybenzoic acids) และกรดไฮโดรซินามิก (hydro cinnamic acids) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) (แสดงดังรูปที่ 2.1 และ 2.2) (Balasundram *et al.*, 2006)

ตารางที่ 2.1 กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืช

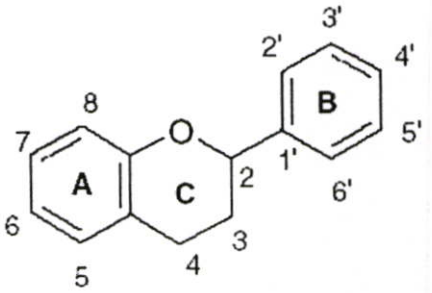
กลุ่มสารประกอบฟีนอลิก	โครงสร้าง
Simple phenolics, benzoquinones	C_6
Hydroxybenzoic acids	C_6-C_1
Acethophenones, phenylacetic acids	C_6-C_2
Hydroxycinnamic acids, phenylpropanoids	C_6-C_3
Napthoquinones	C_6-C_4
Xanthones	C_6-C_1-C_6
Stilbenes, anthraquinones	C_6-C_2-C_6
Flavonoids, isoflavonoids	C_6-C_3-C_6
Lignans, neolignans	$(C_6$-$C_3)_2$
Biflavonoids	$(C_6$-C_3-$C_6)_2$
Lignins	$(C_6$-$C_3)_n$
Condensed tannins (proanthocyanidins or flavolans)	$(C_6$-C_3-$C_6)_n$

ที่มา : Balasundram และคณะ (2006)



รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของกรดฟีนอลิก (phenolic acids) (a) กรดไฮโดรเบนโซอิก (hdrooxybenzoic acids) และ (b) กรดไฮโดรซินามิก (hydrocinnamic acids)

ที่มา : Balasundram และคณะ (2006)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

ที่มา : Balasundram และคณะ (2006)

2.6.2 สมบัติการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติ ทั้งในอาหารและระบบของสิ่งมีชีวิต โดยการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขององค์ประกอบไขมันในอาหารหรือกำจัดอนุมูลอิสระที่มากเกินพออันเป็นสาเหตุของการเกิดภาวะการเจ็บป่วยต่าง ๆ ซึ่งการที่สารประกอบฟีนอลิกมีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันนั้น เกี่ยวเนื่องกับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระมีความคงตัวและมีพลังงานน้อยลงไม่สามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นเพื่อเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระต่อไปได้อีก นอกจากนั้นอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังคงสามารถเข้าจับกับอนุมูลอิสระอื่นได้อีก ทำให้สามารถลดจำนวนอนุมูลอิสระลงได้ (แสดงดังปฏิกิริยา) (พิชญ์อร, 2547 ; วิวัฒน์, 2545 ; Balasundram *et al*., 2006)

$$R^{\cdot} + AH \longrightarrow RH + A^{\cdot}$$

$$RO^{\cdot} + AH \longrightarrow ROH + A^{\cdot}$$

$$ROO^{\cdot} + AH \longrightarrow ROOH + A^{\cdot}$$

$$R^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow RA$$

$$RO^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow ROA$$

$$ROO^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow ROOA$$

2.6.3 ความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน คือปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อุณหภูมิ แสงและเอนไซม์ รวมถึงการรวมตัวกับโมเลกุลอื่น (วิวัฒน์, 2545)

1. ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

เนื่องจากหมู่ไฮดรอกซิลในแต่ละตำแหน่งของสารประกอบฟีนอลิกมีบทบาทต่อสมบัติของการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างจะมีผลให้หมู่ไฮดรอกซิลเกิดการเปลี่ยนแปลง จึงน่าจะมีผลต่อสมบัติการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกด้วยเช่นกัน

2. อุณหภูมิ

อุณหภูมิสูงในระหว่างการแปรรูป มีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกแตกตัวเป็นโมเลกุลเล็ก ๆ และระเหยกลายเป็นไอ เช่น ฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างเป็นแบบ C_6-C_3-C_6 ซึ่งมีลักษณะเป็นวงแหวน 3 วงต่อกัน จะเกิดการแตกของวงแหวน C และสลายตัวต่อไป โดยวงแหวน B จะเปลี่ยนเป็นกรดคาร์บอกซิลิกและวงแหวน A จะเปลี่ยนไปเป็นคาร์บอกซีอัลดีไฮด์และจะระเหยไปพร้อมกับน้ำ

3. แสง

แสงแดดเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่เร่งการสลายตัวหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก เช่น หมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 ในโมเลกุลของแอนโทไซยานินจะสามารถเรืองแสงและไวต่อการสลายตัวเมื่อโดนแสงแดด นอกจากนี้แสงแดดยังเป็นปัจจัยเร่งให้เกิดการสลายตัวเนื่องจากความร้อนอีกด้วย

4. เอนไซม์

ในสภาวะที่มีเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) อยู่ด้วย จะเร่งการเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดให้เกิดเร็วขึ้นได้ แต่อัตราการเร่งปฏิกิริยาจะแตกต่างกันออกไป เช่น เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอิพิคาทิชิน ((-)-epicatechin) ได้ดีกว่าคาทิชิน ((+)-catechin)

5. การรวมตัวกับโมเลกุลอื่น

สารประกอบฟีนอลิกสามารถเกิดการรวมตัวกับโมเลกุลอื่น ๆ เช่น โปรตีน โพลีแซคคาไรด์ อัลคาลอยด์และแอนโทไซยานินได้ง่าย ปฏิกิริยาที่เกิดอาจเป็นแบบผันกลับได้หรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ในขณะที่เกิดปฏิกิริยา เช่น ออกซิเจน ไอออนโลหะ เอนไซม์และกรดเป็นต้น ซึ่งจะเป็นตัวการที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมดุลของปฏิกิริยา เช่น ทำให้สารประกอบในภาวะสมดุลรวมตัวกันและตกตะกอนแยกออกมา หรือเกิดพันธะโควาเลนท์รวมกันเป็นสารใหม่ทำให้ปฏิกิริยาไม่สามารถผันกลับได้ ปรากฏการณ์เหล่านี้มีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง ทำให้สารประกอบฟีนอลิกสูญเสียสมบัติในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลของความร้อนต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของพืชบางชนิด

Jeong และคณะ (2004) ได้ศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกส้มยูสุ (unshiu) โดยให้ความร้อนกับเปลือกส้มที่อุณหภูมิ 50, 100 และ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที ก่อนทำการสกัด ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากตัวอย่างเปลือกส้มดังกล่าวทั้งที่สกัดด้วยเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์และน้ำ จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้นเมื่อให้ความร้อนแก่เปลือกส้มที่อุณหภูมิและเวลาที่สูงขึ้น โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที แก่เปลือกส้ม มีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดที่สกัดด้วยเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งตรวจวัดจากความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์ (reducing power) เพิ่มขึ้น โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 130.36 เปอร์เซ็นต์ ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นคิดเป็น 113.85 เปอร์เซ็นต์ และความสามารถในการรีดิวซ์เพิ่มขึ้นคิดเป็น 82.22 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการให้ความร้อน

Kim และคณะ (2006) ได้ศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเมล็ดองุ่นทั้งที่อยู่ในรูปทั้งเมล็ดและบดเป็นผงที่อุณหภูมิ 4 ระดับ คือ 50, 100, 150 และ 200 องศาเซลเซียส ผลจากการศึกษาพบว่าการให้ความร้อนกับเมล็ดองุ่นจะช่วยเพิ่มความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเมล็ดองุ่นได้ โดยสารสกัดจากเมล็ดองุ่นทั้งเมล็ด (สกัดด้วยเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์) จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ (ตรวจวัดด้วยวิธี DPPH) สูงสุด เมื่อให้ความร้อนแก่เมล็ดองุ่นที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที ขณะที่สารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่อยู่ในรูปผงจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระสูงสุด เมื่อให้ความร้อนแก่เมล็ดองุ่นที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แต่การให้ความร้อนแก่เมล็ดองุ่นทั้งในรูปทั้งเมล็ดและผงที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส มีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Lee และคณะ (2006) ศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกถั่วลิสง (peanut hulls) โดยให้ความร้อนแก่เปลือกถั่วที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5, 10, 15, 20, 40 และ 60 นาที ก่อนทำการสกัดด้วยน้ำ ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากเปลือก

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ถั่วจะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้น เมื่อเวลาในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น โดยเปลือกถั่วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จะให้สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารสกัดจากพืชบางชนิด

Murakami และคณะ (2004) ได้ศึกษาผลของการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 และ 180 องศาเซลเซียส ต่อความเสถียรของสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งได้แก่ รูทิน (rutin) ลูทิโอลิน-7-กลูโคไซด์ (luteolin-7-glucoside) ลูทิโอลิน (luteolin) และกรดคลอโรจินิก (chlorogenic acid) ที่พบได้ทั่วไปในผักและผลไม้ ผลจากการศึกษาพบว่ารูทิน ลูทิโอลิน-7-กลูโคไซด์ ลูทิโอลินและกรดคลอโรจินิก จะมีความเสถียรในระหว่างการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยเกิดการสลายตัวน้อยมากในระหว่างการให้ความร้อนที่อุณหภูมิดังกล่าว แต่จะเกิดการสลายตัวอย่างรวดเร็วเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส ซึ่งอนุพันธ์หรือสารประกอบที่เกิดจากการสลายตัวของสารประกอบโพลีฟีนอลบางชนิดจะยังคงสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระไว้ได้ แสดงให้เห็นว่าสมบัติการต้านอนุมูลอิสระจะมีความเสถียรมากกว่าปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลในอาหารระหว่างการให้ความร้อนและแปรรูป

Kang และคณะ (2006) ได้ศึกษาผลของการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แก่ตัวอย่างสารละลายสารสกัดจากเปลือกส้ม ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการให้ความร้อนในสภาวะดังกล่าวไม่ได้เป็นสาเหตุที่ทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างสารสกัดลดลง สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจะยังคงเดิม การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดจากการเกิดสารประกอบชนิดใหม่ในระหว่างการให้ความร้อน ซึ่งมีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidations) หรือส่งเสริมปฏิกิริยาออกซิเดชัน (prooxidations)

Arabshahi-D และคณะ (2007) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสารสกัดจากใบมินต์ (*Mentha spicata*) ใบมะรุม (*Moringa oleifera*) และหัวแครอท (*Daucus carata*) โดยการให้ความร้อนกับสารสกัดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พบว่าสารสกัดจากหัวแครอทมีความเสถียรต่อความร้อนได้ดีกว่าสารสกัดจากใบมินต์และใบมะรุม และพบว่าสารสกัดจากใบมินต์และหัวแครอทจะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งตรวจวัดโดยวิธี TBA (thiobarbituric acid assay) ที่ pH 9 สูงกว่าที่ pH 4 ขณะที่สารสกัดจากใบมะรุมจะให้ผลไม่แตกต่างกันภายใต้สภาวะ pH ทั้ง 2 ดังกล่าว

81370

Yamazaki และคณะ (2007) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสารสกัดจากเมล็ดพริกไทยญี่ปุ่น โดยการให้ความร้อนกับตัวอย่างสารละลายสารสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หรือ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะความเป็นกรดด่าง (pH) 3.5, 5 และ 7 ผลจากการศึกษาพบว่าตัวอย่างสารสกัดจะมีความเสถียรต่อความร้อนภายใต้ pH ที่แตกต่างกัน โดยภายใต้สภาวะที่เป็นกรด (pH 3.5 และ 5) ตัวอย่างสารสกัดจะมีความเสถียรที่ทุกอุณหภูมิของการให้ความร้อน ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งตรวจวัดโดยวิธี FTC อยู่ในช่วง 85-89 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ภายใต้สภาวะที่เป็นกลางตัวอย่างสารสกัดจะมีความเสถียรลดลงเล็กน้อยที่อุณหภูมิสูง 120 องศาเซลเซียส 20 นาที คงเหลือความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการทดลอง

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

- เปลือกมะม่วงแก้ว (*Mangifera indica* L. cv. Kaew) ได้จากเปลือกเขียวผลดิบของมะม่วงแก้ว ซึ่งซื้อจากตลาดในอำเภอผักไห่ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา
- เปลือกส้มเขียวหวาน (*Citrus reticula* Blanco) ได้รับความอนุเคราะห์จากร้านขายน้ำส้มคั้น ตลาดแฮปปี้แลนด์ เขตบางกะปิ กรุงเทพ ฯ
- เปลือกกล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum* L. cv. Nam wa) ที่ระดับความสุก 3-4 พิจารณาตามดัชนีสีเปลือกตามวิธีที่นำเสนอโดยเบญจมาศ (2538) ได้รับความอนุเคราะห์จากร้านขายกล้วยปิ้ง ตลาดแฮปปี้แลนด์ เขตบางกะปิ กรุงเทพ ฯ

3.1.2 เครื่องมือ

- เครื่อง pin mill	Retsch ZM 1000, Germany
- ตู้อบลมร้อน	Memmert UM 400, Germany
- เครื่องวิเคราะห์ความชื้น (Halogen Moisture Analyser)	Mettler Toledo HR 73, Switzerland
- เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง	OHAUS AR 2140, U.S.A
- เครื่องเขย่า (shaker)	GFL 3017, Germany
- ปั๊มสุญญากาศ	BUCHI B-169, Switzerland
- UV-VIS สเปกโตรโฟโตมิเตอร์	SHIMADZU UV-1601, Japan
- เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator)	BUCHI R-144, Switzerland
- เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง	Mettler Toledo MP 220, Germany

3.1.3 สารเคมี

- เอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ (Ethanol)	องค์การสุราไทย
- กรดแกลลิก (Gallic acid)	Sigma เยอรมัน

- Folin-Ciocalten	BDH	อังกฤษ
- โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	Merck	เยอรมัน
- 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH)	Sigma	เยอรมัน
- 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid	Aldrich	เยอรมัน
- 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ)	Sigma	สวิตเซอร์แลนด์
- Iron (III) chloride hexahydrate ($FeCl_3.6H_2O$)	Sigma	สวีเดน
- โซเดียมอะซิเตต (Sodium acetate, CH_3COONa)	Merck	เยอรมัน
- ทรีส (ไฮดรอกซี เมธิล) อะมิโนมีเธน (Tris (hydroxyl methyl aminomethane))	Merck	เยอรมัน

3.2 วิธีการดำเนินการทดลอง

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า

นำเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า มาล้างน้ำให้สะอาด แล้วนำไปผึ่งแดดจนแห้ง (ความชื้นสุดท้ายน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์) เก็บตัวอย่างบรรจุในถุงพลาสติก และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้ในการทดลอง

3.2.2 ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ

3.2.2.1 วิธีการให้ความร้อนตัวอย่างเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการทำแห้งแล้ว

นำเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.1 มาบดละเอียดด้วยเครื่อง pin mill ผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการบดละเอียดแล้วมาให้ความร้อนในตู้อบลมร้อน โดยชั่งตัวอย่างบดละเอียด 5 กรัม ใส่ในเพลตที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร กระจายตัวอย่างให้ทั่วเพลตและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 100, 150 และ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, 20, 40, 60, 90 และ 120 นาที วางตัวอย่างทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องก่อนนำไปสกัดตามวิธีในข้อ 3.2.2.2

3.2.2.2 การเตรียมสารสกัดจากตัวอย่างเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้าเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ (ดัดแปลงจาก Jeong และคณะ, 2004)

นำตัวอย่างเปลือกผลไม้บดละเอียดที่ผ่านการให้ความร้อนและไม่ให้ความร้อน (ตัวอย่างควบคุม) มาทำการสกัด โดยชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม (น้ำหนักแห้งไม่รวมความชื้น) ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดด้วยจุกยางและนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (shaker) ที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นกรองสารสกัดที่ได้ผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 เก็บสารสกัดในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามวิธีในข้อ 3.2.2.3 และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันตามวิธีในข้อ 3.2.2.4 ต่อไป

3.2.2.3 วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents) ในตัวอย่างสารสกัด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จะใช้วิธีที่รายงานโดยประพันธ์และวันทนีย์ (2545) โดยมีหลักการคือ สารประกอบฟีนอลิกจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินซึ่งสามารถติดตามโดยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 730 นาโนเมตร โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐาน รายละเอียดวิธีวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ก

3.2.2.4 วิธีวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างสารสกัด

1) ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl)

วิเคราะห์ตามวิธีที่รายงานโดย Murakami และคณะ (2004) ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการตรวจวัดความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากพืช โดยมีหลักการคือ เมื่ออนุมูลอิสระสังเคราะห์ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารที่มีสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน จะมีผลทำให้อนุมูลอิสระ DPPH เปลี่ยนเป็นโมเลกุล DPPH เนื่องจากได้รับไฮโดรเจนอะตอมจากสารที่มีสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (แสดงดังสมการ) และจะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากสีม่วงแดงเป็นไม่มีสีหรือมีสีจางลง ซึ่งตรวจวัดได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรที่ลดลง (Maisuthisakul *et al.*, 2007) รายละเอียดวิธีวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ข

$$\underset{\text{(สีม่วง)}}{DPPH^{\cdot}} + AH \longrightarrow \underset{\text{(ไม่มีสี)}}{DPPH\text{-}H} + A$$

2) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric Reducing Antioxidant Power, FRAP)

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก จะใช้วิธีที่รายงานโดย Benzie และ Strain (1996) ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถใช้ทดสอบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้โดยตรง โดยมีหลักการคือภายใต้สภาวะที่เป็นกรด สารที่มีสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจะรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (Fe^{III}-TPTZ) ให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูปของเกลือเฟอร์รัส (Fe^{II}-TPTZ) เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ให้สารสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถติดตามโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร รายละเอียดวิธีวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ค

$$(Fe^{III}\text{-TPTZ}) \longrightarrow (Fe^{II}\text{-TPTZ})$$
(สีส้ม) (สีน้ำเงิน)

3.2.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

3.2.3.1 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

นำเปลือกมะม่วงแก้วที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.1 มาบดละเอียดด้วยเครื่อง pin mill ผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร จากนั้นชั่งตัวอย่าง 1 กรัม (น้ำหนักแห้งไม่รวมความชื้น) ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดด้วยจุกยางและนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (shaker) ที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง กรองสารสกัดที่ได้ผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 และนำไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างสารสกัดที่ได้ในขวดสีชาและนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.3.2 การให้ความร้อนแก่สารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว ภายใต้สภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่าง ๆ กัน

นำตัวอย่างสารสกัดที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.3.1 มาเตรียมสารละลายที่ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (0.5 เปอร์เซ็นต์) โดยละลายตัวอย่างสารสกัด 0.125 กรัมในเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารละลายที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (0.05 เปอร์เซ็นต์) โดยเจือจางสารละลายเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายอะซิเตต บัฟเฟอร์ (acetate buffer, pH 4) หรือทรีส บัฟเฟอร์ (Tris buffer, pH 7 และ 9) ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ให้มีปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร นำตัวอย่างสารละลายที่เตรียมได้

ใส่ในหลอดทดลองแบบฝาเกลียวขนาด 18 x 180 มิลลิเมตร หลอดละ 10 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดให้สนิทและนำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส หรือในอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิ (oil bath) ที่อุณหภูมิ 100, 120 และ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15, 30 และ 60 นาที ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เหลือเหมือนกับวิธีที่กล่าวไว้ในข้อ 3.2.2.3 และ 3.2.2.4

3.2.4 การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ และตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนภายใต้สภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ระดับต่าง ๆ โดยทำการทดลองแบบแฟกทอเรียล (Factorial experiment) ในแผนการทดสอบแบบสุ่มตลอด (Complete Randomized Design, CRD) และใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิจารณ์

4.1 ผลของความร้อนต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 100, 150 และ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, 20, 40, 60, 90 และ 120 นาที โดยคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างเปลือกผลไม้ทั้ง 3 ชนิด ในหน่วยของมิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.1-4.3 และรูปที่ 4.1-4.3

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง) ของเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการให้ความร้อน (นาที)						
	0	10	20	40	60	90	120
50	108.56 ± 0.33^{ghi}	108.67 ± 1.11^{ghi}	109.74 ± 1.66^{efgh}	107.92 ± 0.76^{hi}	106.70 ± 0.27^{i}	108.30 ± 1.79^{hi}	107.38 ± 1.50^{hi}
100	108.56 ± 0.33^{ghi}	108.70 ± 0.12^{ghi}	111.35 ± 2.12^{cdef}	111.16 ± 0.85^{defg}	111.60 ± 0.99^{cde}	112.47 ± 0.15^{cd}	113.00 ± 0.26^{cd}
150	108.56 ± 0.33^{ghi}	108.99 ± 0.15^{fghi}	111.36 ± 0.14^{cdef}	113.40 ± 0.15^{cd}	113.88 ± 0.30^{bc}	115.97 ± 0.86^{ab}	116.86 ± 0.14^{a}
200	108.56 ± 0.33^{ghi}	111.91 ± 0.22^{cde}	107.66 ± 0.27^{hi}	82.70 ± 1.03^{j}	57.46 ± 3.64^{k}	33.87 ± 1.23^{l}	23.56 ± 0.20^{m}

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

$^{a-m}$ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง) ของเปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการให้ความร้อน (นาที)						
	0	10	20	40	60	90	120
50	30.87 ± 0.04^{klm}	30.96 ± 0.20^{jkl}	31.36 ± 0.05^{hij}	31.42 ± 0.11^{hi}	30.52 ± 0.03^{lm}	30.99 ± 0.11^{ijk}	30.94 ± 0.03^{jkl}
100	30.87 ± 0.04^{klm}	31.11 ± 0.21^{ijk}	31.61 ± 0.25^{h}	32.40 ± 0.23^{g}	32.52 ± 0.07^{g}	33.25 ± 0.18^{f}	33.44 ± 0.13^{f}
150	30.87 ± 0.04^{klm}	33.46 ± 0.15^{f}	37.25 ± 0.47^{d}	41.94 ± 0.14^{c}	42.15 ± 0.09^{c}	42.94 ± 0.27^{b}	43.12 ± 0.20^{b}
200	30.87 ± 0.04^{klm}	43.23 ± 0.15^{b}	44.29 ± 0.48^{a}	35.62 ± 0.24^{e}	30.44 ± 0.27^{m}	29.34 ± 0.18^{n}	29.26 ± 0.05^{n}

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

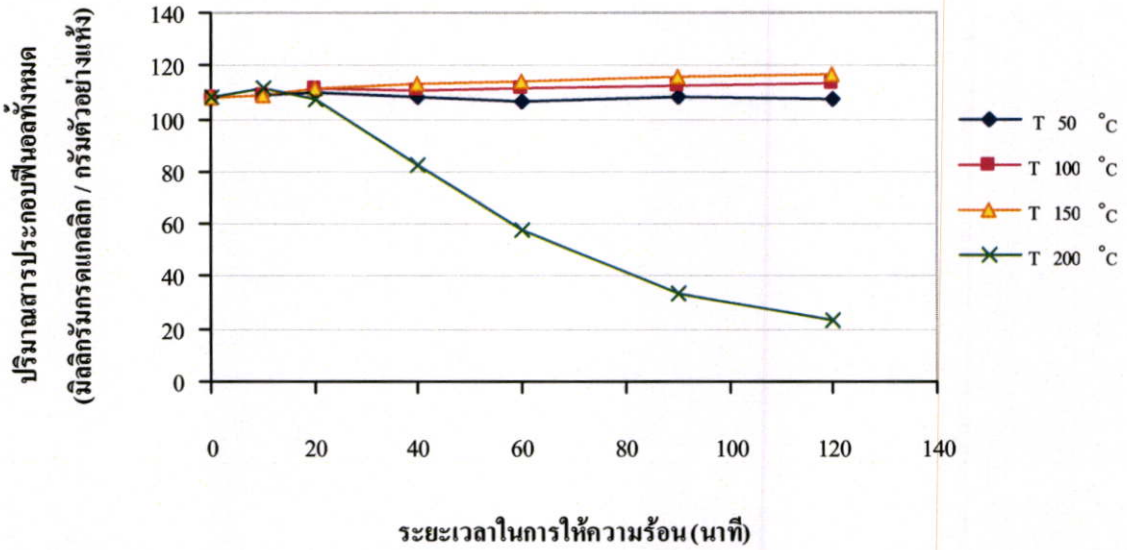
$^{a-n}$ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง) ของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน

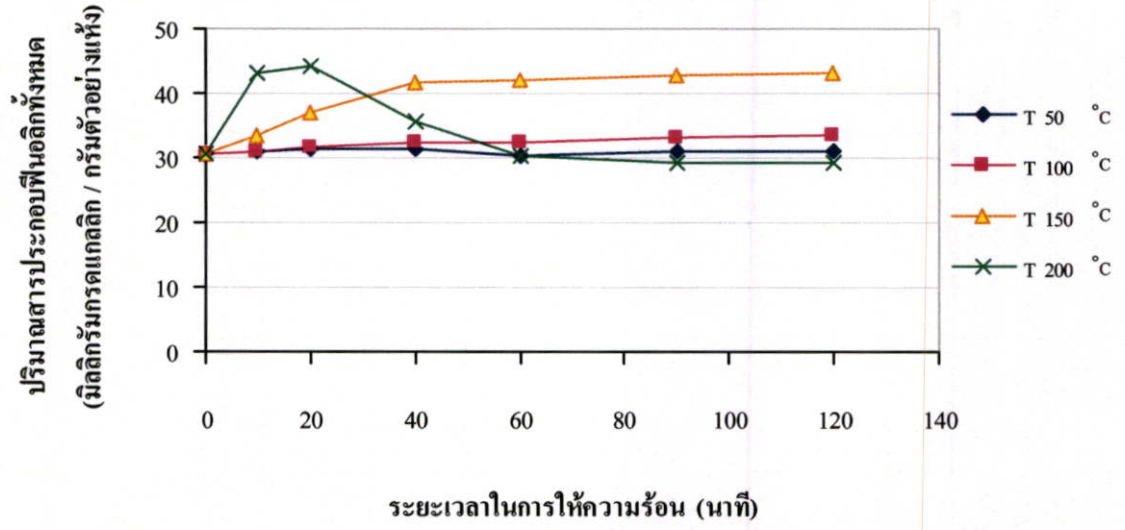
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการให้ความร้อน (นาที)						
	0	10	20	40	60	90	120
50	6.58 ± 0.02^{n}	6.96 ± 0.25^{mn}	6.85 ± 0.22^{n}	6.94 ± 0.11^{mn}	7.26 ± 0.04^{m}	7.67 ± 0.15^{l}	7.92 ± 0.12^{l}
100	6.58 ± 0.02^{n}	7.94 ± 0.30^{l}	9.78 ± 0.49^{jk}	10.90 ± 0.15^{h}	12.24 ± 0.13^{g}	13.88 ± 0.01^{f}	15.02 ± 0.13^{d}
150	6.58 ± 0.02^{n}	14.62 ± 0.17^{e}	17.79 ± 0.15^{c}	19.11 ± 0.06^{ab}	19.45 ± 0.06^{a}	19.22 ± 0.04^{ab}	19.00 ± 0.11^{b}
200	6.58 ± 0.02^{n}	19.09 ± 0.10^{ab}	14.23 ± 0.42^{f}	10.05 ± 0.04^{ij}	9.66 ± 0.12^{k}	10.04 ± 0.02^{ij}	10.38 ± 0.17^{i}

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

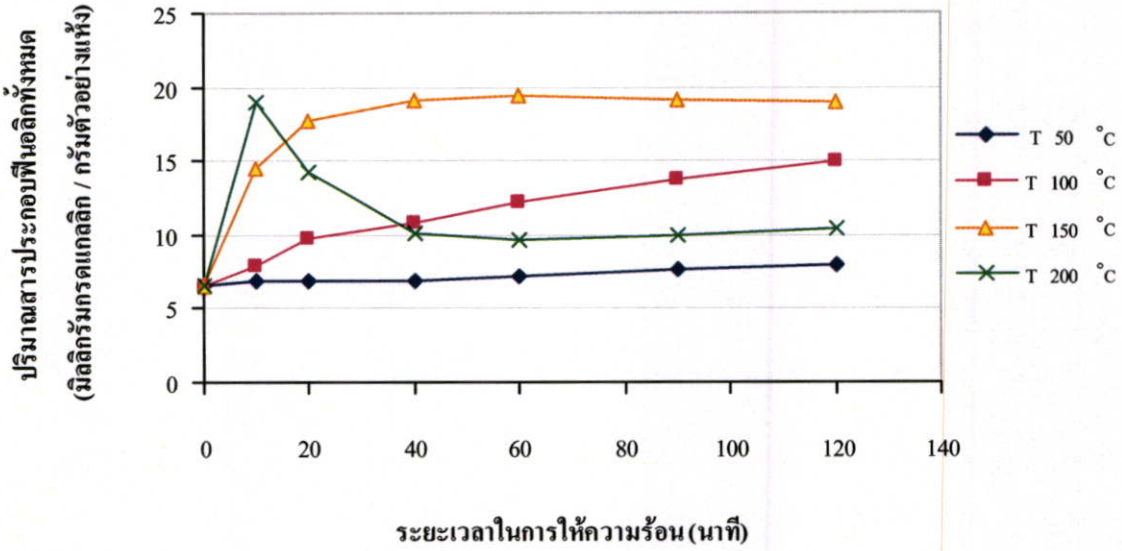
$^{a-n}$ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



รูปที่ 4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน



รูปที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน



รูปที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน

จากข้อมูลในตารางที่ 4.1-4.3 และรูปที่ 4.1-4.3 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างเปลือกผลไม้ทั้ง 3 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) จากตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าตัวอย่างเปลือกมะม่วงแก้วควบคุมที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 108.56 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อให้ความร้อนกับเปลือกมะม่วงแก้วที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที เปลือกมะม่วงแก้วจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 113.00 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง และเมื่อให้ความร้อนเปลือกมะม่วงแก้วที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที เปลือกมะม่วงแก้วจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 116.86 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง (มีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 7.65 เปอร์เซ็นต์) การให้ความร้อนกับเปลือกมะม่วงแก้วที่อุณหภูมิสูง 200 องศาเซลเซียสมีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกมะม่วงแก้วมีแนวโน้มลดลง โดยเปลือกมะม่วงแก้วมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเหลือ 23.56 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อให้ความร้อนเปลือกมะม่วงแก้วที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที ในทำนองเดียวกัน กรณีเปลือกส้มเขียวหวาน (ตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2) พบว่าเปลือกส้มเขียวหวานจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 30.87 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัม

ตัวอย่างแห้งในตัวอย่างควบคุมที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เป็น 33.44 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที และจะมีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 44.29 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง (มีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 43.47 เปอร์เซ็นต์) เมื่อให้ความร้อนเปลือกส้มเขียวหวานที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนกับเปลือกส้มเขียวหวานต่อไป ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกส้มเขียวหวานมีแนวโน้มลดลง โดยมีค่าลดลงเหลือ 29.26 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อให้ความร้อนเปลือกส้มเขียวหวานต่อไปจนถึง 120 นาที อย่างไรก็ตามการให้ความร้อนเปลือกมะม่วงแก้วและเปลือกส้มเขียวหวานที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกกล้วยน้ำว้า ซึ่งให้ผลไปในทิศทางเดียวกับเปลือกมะม่วงแก้วและเปลือกส้มเขียวหวาน (ตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3) พบว่าเปลือกกล้วยน้ำว้าที่เป็นตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่ผ่านการให้ความร้อนจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 6.58 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อให้ความร้อนกับเปลือกกล้วยน้ำว้าที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที เปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 15.02 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง และเมื่อให้ความร้อนกับเปลือกกล้วยน้ำว้าที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที เปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 19.45 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง (มีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 195.59 เปอร์เซ็นต์) เมื่อให้ความร้อนเปลือกกล้วยน้ำว้าที่อุณหภูมิและเวลาสูงขึ้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือกกล้วยน้ำว้ามีแนวโน้มลดลง โดยเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเหลือ 10.38 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกผลไม้ทั้ง 3 ชนิด เป็นผลเนื่องมาจากการให้ความร้อนกับเปลือกผลไม้ที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน โดยพบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมสามารถช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือกผลไม้ทั้ง 3 ชนิดได้ ทั้งนี้เนื่องจากในธรรมชาติสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชโดยส่วนใหญ่จะพบในรูปที่รวมอยู่กับสารประกอบอื่นๆ ที่เป็นองค์ประกอบของพืช (bound form) ซึ่งมีทั้งชนิดที่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ (conjugated forms/soluble phenolics) และที่อยู่ในรูปที่จับกับสารโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble polymers) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืชด้วยพันธะโควาเลนท์ เช่น พันธะเอสเธอร์ โดยไม่สามารถถูกแยกสกัดด้วยตัวทำละลายโดยทั่วไปได้ง่าย (insoluble bound form /insoluble phenolics) ความร้อนจะทำให้ผนังเซลล์พืชถูกทำลายและมีผลในการทำลายพันธะโควาเลนท์ จึงสามารถปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกจากส่วนที่ไม่ละลายในพืชให้อยู่ในรูปอิสระ (free form) หรืออยู่ในรูปที่ละลายได้ (soluble

phenolics) ขณะเดียวกันความร้อนก็สามารถปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปที่จับกับสารอื่นซึ่งสามารถละลายได้ให้อยู่ในรูปอิสระได้เช่นกัน (Balasundram *et al.*, 2006 ; Choi *et al.*, 2006 ; Dewanto *et al.*, 2002 ; Shahidi and Naczk, 1995 ; Podsedek, 2007) ทำให้สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืชได้มากขึ้น จึงเสมือนทำให้ตัวอย่างพืชมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นนั่นเอง ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Dewanto และคณะ (2002) ที่พบว่าข้าวโพดหวานที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง 100-121 องศาเซลเซียส จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่อยู่ในรูปอิสระและที่อยู่ในรูปที่ละลายได้เพิ่มขึ้น ขณะที่สารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปที่จับกับสารโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ลดลง ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระและสารประกอบฟีนอลิกที่ละลายได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนกับข้าวโพดหวาน เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Xu และคณะ (2007) ที่พบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที สามารถทำลายพันธะเอสเธอร์ (ester) และไกลโคไซด์ (glycoside) ที่เชื่อมต่อระหว่างกรดฟีนอลิก (phenolic acids) กับสารประกอบอื่น ๆ ในเปลือกส้มโฮยุ (huyou) ได้ จึงมีผลทำให้กรดฟีนอลิกในเปลือกส้มเปลี่ยนมาอยู่ในรูปอิสระมากขึ้น ขณะที่กรดฟีนอลิกที่อยู่ในรูปไกลโคไซด์ เอสเธอร์ และที่อยู่ในรูปที่จับกับสารโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าการให้ความร้อนจะช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) ที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการสูญเสียสารประกอบฟีนอลิกในพืชได้ (Barros *et al.*, 2007 ; Lim and Murtijaya, 2007)

ในทางกลับกันการให้ความร้อนกับเปลือกผลไม้ในระดับอุณหภูมิหรือเวลาที่สูงมากเกินไป มีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกผลไม้ทั้ง 3 ชนิดลดลง เนื่องจากความร้อนที่สูงเกินไปจะทำลายโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก และก่อให้เกิดการออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลง (Barros *et al.*, 2007 ; Piva *et al.*, 2008) สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kim และคณะ (2006) ที่พบว่าการให้ความร้อนกับเมล็ดองุ่นทั้งที่อยู่ในรูปทั้งเมล็ดและบดเป็นผงที่อุณหภูมิสูง 200 องศาเซลเซียส มีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นทั้ง 2 รูปแบบ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เป็นที่น่าสังเกตว่าเปลือกมะม่วงแก้วมีองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด รองลงมาคือ เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาภายใต้สภาวะเดียวกัน มีผลต่อการเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกมะม่วงแก้วน้อยกว่าเปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้าอย่างเห็นได้ชัด ตัวอย่างเช่น การให้ความร้อนกับตัวอย่างเปลือกผลไม้ทั้ง 3 ชนิดที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที มีผลทำให้เปลือกมะม่วงแก้วมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นจากเริ่มต้นคิดเป็น 3.09

เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น 40.04 และ 190.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เวลา 120 นาที จะได้เห็นว่าเปลือกมะม่วงแก้วและเปลือกส้มเขียวหวานมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงจากเริ่มต้น คิดเป็น 78.30 และ 5.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่เปลือกกล้วยน้ำว้ายังคงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น 57.75 เปอร์เซ็นต์ จากข้อมูลที่ได้จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าพืชแต่ละชนิดอาจมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบในรูปแบบ (form) และ/หรือโครงสร้าง(structure) ที่แตกต่างกัน จึงส่งผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณและความเสถียรที่แตกต่างกันเมื่อได้รับความร้อน ซึ่งจะได้กล่าวถึงรายละเอียดในลำดับต่อไป

4.2 ผลของความร้อนต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ จะตรวจวัดด้วยวิธีต่างกัน 2 วิธี ได้แก่ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) ได้ผลการทดลองดังนี้

4.2.1 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 100, 150 และ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, 20, 40, 60, 90 และ 120 นาที โดยคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในหน่วยเปอร์เซ็นต์ ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.4-4.6 และรูปที่ 4.4-4.6

ตารางที่ 4.4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (เปอร์เซ็นต์) ของเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการให้ความร้อน (นาที)						
	0	10	20	40	60	90	120
50	58.86 ± 0.11^{e}	59.28 ± 0.26^{de}	59.31 ± 0.05^{de}	59.44 ± 0.15^{de}	58.41 ± 0.25^{e}	59.41 ± 0.27^{de}	58.81 ± 0.54^{e}
100	58.86 ± 0.11^{e}	59.40 ± 1.73^{de}	59.80 ± 0.26^{de}	59.57 ± 0.06^{de}	59.37 ± 0.02^{de}	59.34 ± 0.17^{de}	60.52 ± 0.22^{cd}
150	58.86 ± 0.11^{e}	59.86 ± 1.05^{de}	60.79 ± 0.31^{cd}	61.81 ± 0.89^{bc}	62.19 ± 0.14^{ab}	62.80 ± 0.24^{ab}	63.40 ± 0.72^{a}
200	58.86 ± 0.11^{e}	61.68 ± 0.16^{bc}	58.82 ± 0.25^{e}	43.03 ± 0.65^{f}	30.04 ± 1.98^{g}	17.42 ± 0.44^{h}	11.63 ± 0.27^{i}

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

$^{a-i}$ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (เปอร์เซ็นต์) ของเปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการให้ความร้อน (นาที)						
	0	10	20	40	60	90	120
50	44.89 ± 0.36^{l}	44.92 ± 0.38^{l}	44.81 ± 0.26^{l}	45.03 ± 0.29^{l}	44.44 ± 1.03^{l}	44.54 ± 0.29^{l}	44.48 ± 0.06^{l}
100	44.89 ± 0.36^{l}	45.17 ± 0.14^{l}	45.85 ± 1.56^{l}	48.15 ± 0.17^{k}	48.32 ± 0.57^{k}	50.13 ± 0.56^{j}	51.06 ± 0.40^{ij}
150	44.89 ± 0.36^{l}	51.90 ± 0.26^{hi}	65.31 ± 1.25^{e}	73.05 ± 0.05^{c}	73.41 ± 0.35^{c}	75.49 ± 0.08^{b}	75.77 ± 0.04^{b}
200	44.89 ± 0.36^{l}	76.32 ± 0.03^{b}	81.33 ± 1.41^{a}	68.30 ± 0.77^{d}	59.18 ± 0.02^{f}	54.89 ± 2.31^{g}	53.03 ± 0.01^{h}

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

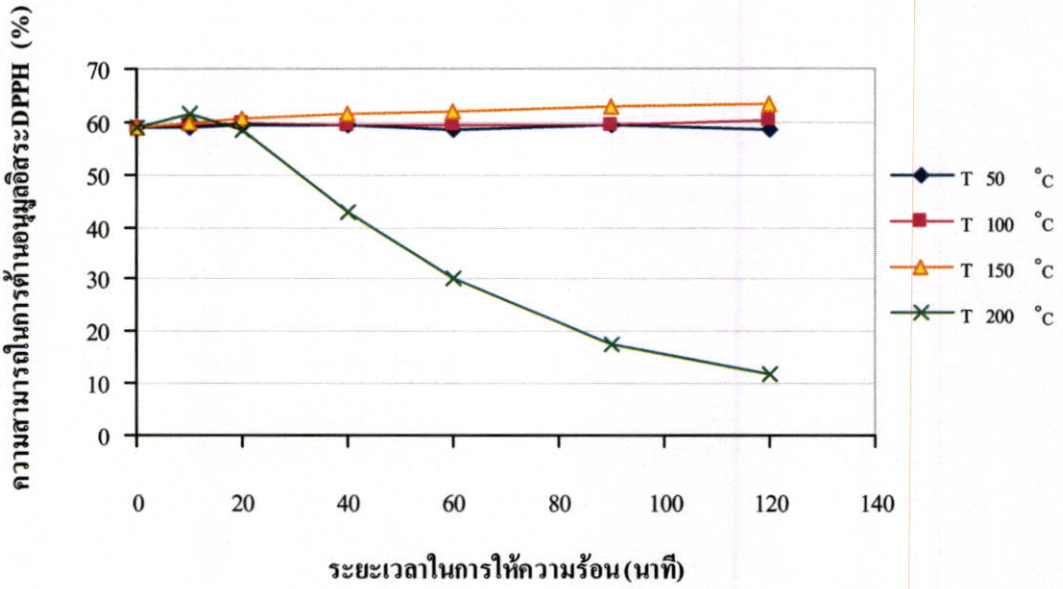
$^{a-l}$ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (เปอร์เซ็นต์) ของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน

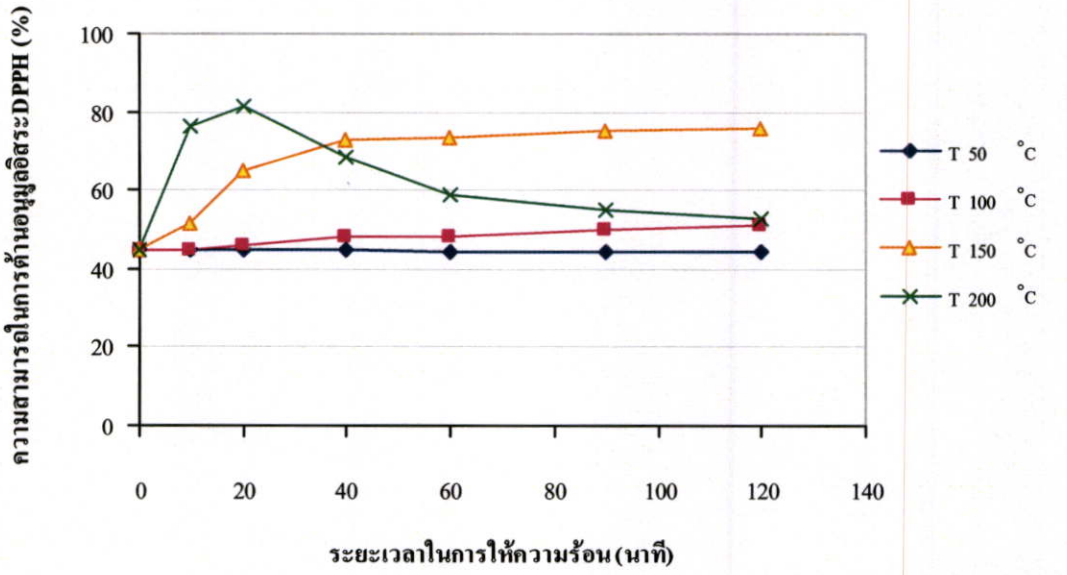
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการให้ความร้อน (นาที)						
	0	10	20	40	60	90	120
50	18.58 ± 0.21^{n}	19.30 ± 0.13^{n}	19.01 ± 0.23^{n}	19.23 ± 0.55^{n}	19.96 ± 0.18^{mn}	20.68 ± 0.47^{m}	20.71 ± 0.36^{m}
100	18.58 ± 0.21^{n}	25.07 ± 0.22^{k}	31.62 ± 1.45^{i}	38.24 ± 0.27^{h}	44.92 ± 0.16^{f}	50.16 ± 0.19^{e}	54.75 ± 0.30^{d}
150	$18.58 + 0.21^{n}$	59.54 ± 1.31^{c}	71.46 ± 0.37^{ab}	71.53 ± 1.34^{ab}	72.16 ± 0.06^{a}	71.39 ± 0.28^{ab}	70.25 ± 0.09^{b}
200	18.58 ± 0.21^{n}	60.53 ± 0.44^{c}	41.96 ± 1.67^{g}	26.50 ± 0.12^{j}	22.80 ± 0.18^{l}	22.86 ± 0.03^{l}	23.40 ± 0.21^{l}

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

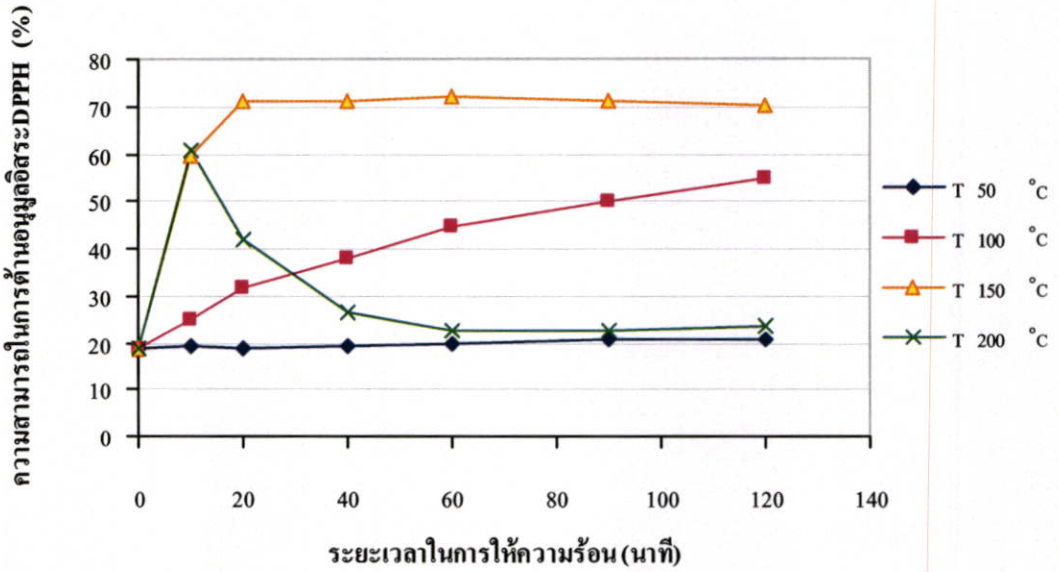
$^{a-n}$ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



รูปที่ 4.4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน



รูปที่ 4.5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน



รูปที่ 4.6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.4-4.6 และรูปที่ 4.4-4.6 จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อน มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และเป็นไปในทิศทางเดียวกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยเปลือกมะม่วงแก้วจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นจาก 58.86 เปอร์เซ็นต์ในตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการให้ความร้อน เป็น 60.52 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้ความร้อนเปลือกมะม่วงแก้วที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที (ตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.4) และเมื่อให้ความร้อนกับเปลือกมะม่วงแก้วที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที เปลือกมะม่วงแก้วจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 63.40 เปอร์เซ็นต์ (มีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 7.71 เปอร์เซ็นต์) เมื่อให้ความร้อนกับเปลือกมะม่วงแก้วจนถึงอุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกมะม่วงแก้วมีแนวโน้มลดลง โดยมีค่าลดลงเหลือ 11.63 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้ความร้อนเปลือกมะม่วงแก้วที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที เช่นเดียวกับเปลือกส้มเขียวหวานที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นจาก 44.89 เปอร์เซ็นต์ในตัวอย่างควบคุมที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เป็น 51.06 เปอร์เซ็นต์ หลังจากให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที (ตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.5) และเปลือกส้มเขียวหวานจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 81.33 เปอร์เซ็นต์ (มีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 81.18 เปอร์เซ็นต์) เมื่อให้ความร้อนเปลือกส้มเขียวหวานที่อุณหภูมิ

200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนกับเปลือกส้มเขียวหวานต่อไปความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีแนวโน้มลดลง โดยมีค่าลดลงเหลือ 53.03 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้เวลาในการให้ความร้อนถึง 120 นาที นอกจากนี้การให้ความร้อนเปลือกมะม่วงแก้วและส้มเขียวหวานที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกกล้วยน้ำว้า (ตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.6) พบว่าเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นจาก 18.58 เป็น 54.75 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน และเมื่อให้ความร้อนเปลือกกล้วยน้ำว้าที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที เปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 72.16 เปอร์เซ็นต์ (มีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 288.37 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนเปลือกกล้วยน้ำว้าต่อไป ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีแนวโน้มลดลง โดยมีค่าลดลงเหลือ 23.40 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้ความร้อนเปลือกกล้วยน้ำว้าที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที

4.2.2 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP)

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) ของเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 100, 150 และ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, 20, 40, 60, 90 และ 120 นาที โดยคำนวณความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกในหน่วยของมิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.7-4.9 และรูปที่ 4.7-4.9

ตารางที่ 4.7 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง) ของเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการให้ความร้อน (นาที)						
	0	10	20	40	60	90	120
50	186.43 ± 0.37^{kl}	189.07 ± 0.32^{jkl}	190.21 ± 0.37^{jk}	186.41 ± 1.47^{kl}	185.85 ± 1.25^{l}	194.87 ± 0.35^{ghi}	192.68 ± 1.89^{ij}
100	186.43 ± 0.37^{kl}	197.99 ± 0.75^{fgh}	198.61 ± 3.07^{fg}	194.53 ± 1.33^{hi}	198.96 ± 2.31^{f}	198.82 ± 1.57^{fg}	203.61 ± 0.77^{e}
150	186.43 ± 0.37^{kl}	198.10 ± 0.17^{fgh}	200.18 ± 2.33^{ef}	216.09 ± 1.18^{d}	217.47 ± 1.02^{d}	222.19 ± 0.05^{c}	238.14 ± 0.46^{b}
200	186.43 ± 0.37^{kl}	224.64 ± 0.71^{c}	263.50 ± 0.11^{a}	197.79 ± 0.92^{fgh}	135.91 ± 6.30^{m}	81.15 ± 2.71^{n}	59.27 ± 0.25^{o}

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

$^{a-o}$ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.8 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง) ของเปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการให้ความร้อน (นาที)						
	0	10	20	40	60	90	120
50	26.88 ± 0.41^{m}	27.12 ± 0.09^{lm}	27.46 ± 0.10^{lm}	27.70 ± 0.63^{klm}	26.80 ± 0.08^{m}	27.71 ± 0.31^{klm}	27.54 ± 0.12^{lm}
100	26.88 ± 0.41^{m}	27.15 ± 0.08^{lm}	27.65 ± 0.01^{klm}	27.93 ± 0.25^{kl}	28.52 ± 0.49^{k}	29.70 ± 0.12^{j}	30.42 ± 0.13^{ij}
150	26.88 ± 0.41^{m}	30.59 ± 0.84^{i}	37.75 ± 0.64^{e}	41.11 ± 0.15^{d}	42.27 ± 0.50^{c}	42.28 ± 0.14^{c}	42.67 ± 0.53^{c}
200	26.88 ± 0.41^{m}	43.97 ± 0.32^{b}	45.33 ± 0.28^{a}	36.07 ± 0.46^{f}	31.98 ± 0.14^{g}	31.65 ± 0.57^{gh}	30.95 ± 0.46^{hi}

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

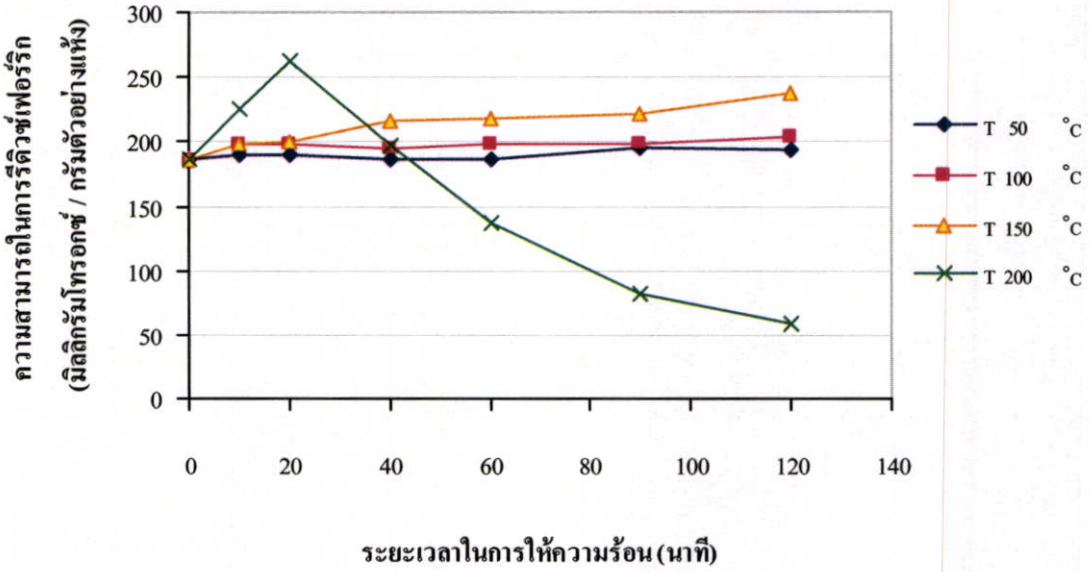
$^{a-m}$ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.9 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง) ของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน

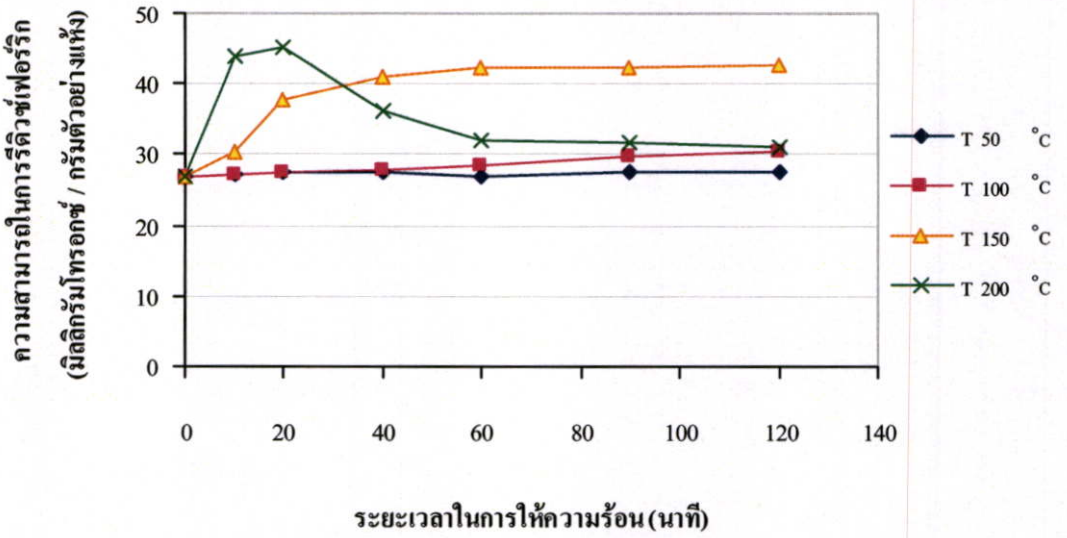
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการให้ความร้อน (นาที)						
	0	10	20	40	60	90	120
50	7.95 ± 0.04^{p}	8.77 ± 0.06^{o}	8.60 ± 0.07^{o}	8.74 ± 0.07^{o}	9.00 ± 0.26^{no}	9.18 ± 0.12^{mno}	9.55 ± 0.28^{mn}
100	7.95 ± 0.04^{p}	9.63 ± 0.20^{m}	11.06 ± 0.79^{lm}	13.79 ± 0.68^{h}	15.58 ± 0.25^{g}	17.91 ± 0.13^{e}	19.73 ± 0.17^{d}
150	7.95 ± 0.04^{p}	19.23 ± 0.25^{d}	24.12 ± 0.59^{c}	25.15 ± 0.19^{b}	25.93 ± 0.15^{a}	25.22 ± 0.24^{b}	24.99 ± 0.01^{b}
200	7.95 ± 0.04^{p}	23.55 ± 0.27^{c}	17.10 ± 0.32^{f}	12.94 ± 0.29^{i}	11.55 ± 0.11^{kl}	12.10 ± 0.06^{jk}	12.20 ± 0.07^{j}

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

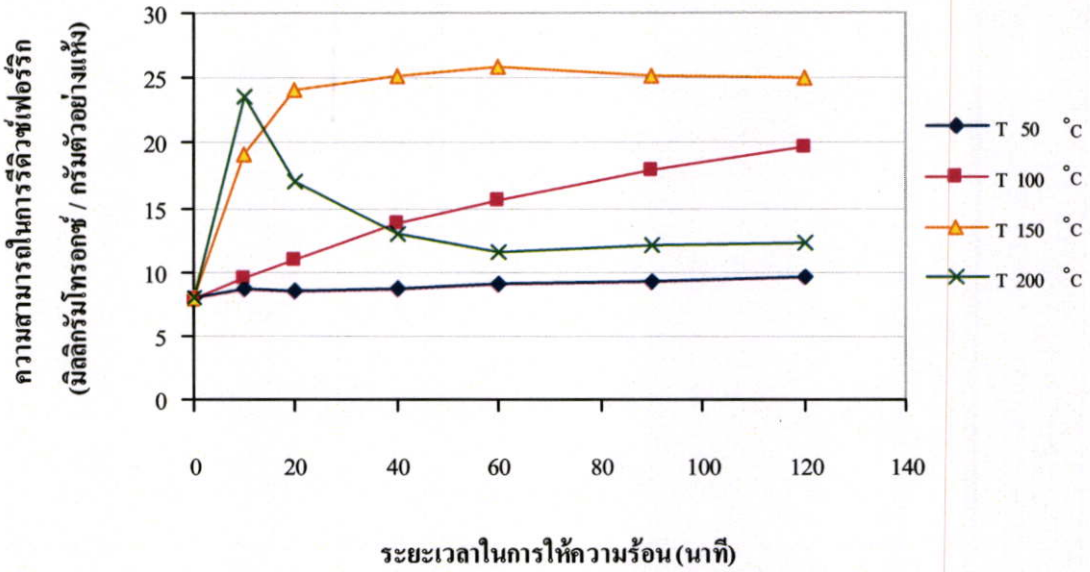
$^{a-p}$ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



รูปที่ 4.7 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน



รูปที่ 4.8 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของเปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน



รูปที่ 4.9 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.7-4.9 และรูปที่ 4.7-4.9 จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อน มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโดยรวมของความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และเป็นไปในทิศทางที่สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยเปลือกมะม่วงแก้วจะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้นจาก 186.43 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้งในตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการให้ความร้อน เป็น 203.61 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อให้ความร้อนกับเปลือกมะม่วงแก้วที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที (ตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.7) และจะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 263.50 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง (มีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 41.34 เปอร์เซ็นต์) เมื่อให้ความร้อนเปลือกมะม่วงแก้วที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนกับเปลือกมะม่วงแก้วต่อไป ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกมีแนวโน้มลดลง โดยมีค่าลดลงเหลือ 59.27 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อให้ความร้อนกับเปลือกมะม่วงแก้วเป็นเวลา 120 นาที

เมื่อพิจารณาความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของเปลือกส้มเขียวหวาน (ตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.8) จะเห็นได้ว่าเปลือกส้มเขียวหวานตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่ผ่านการให้ความร้อน จะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก 26.88 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อให้ความร้อนกับเปลือกส้มเขียวหวานที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที เปลือกส้มเขียวหวานจะมี

ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้นเป็น 30.42 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง และเมื่อให้ความร้อนเปลือกส้มเขียวหวานที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เปลือกส้มเขียวหวานจะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 45.33 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง (มีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 68.64 เปอร์เซ็นต์) จากนั้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนกับเปลือกส้มเขียวหวานต่อไป ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของเปลือกส้มเขียวหวานมีแนวโน้มลดลง โดยเปลือกส้มเขียวหวานที่ให้ความร้อนนาน 120 นาที จะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกลดลงเหลือ 30.95 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง นอกจากนั้นยังพบว่าการให้ความร้อนเปลือกส้มเขียวหวานที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เช่นเดียวกันกับเปลือกกล้วยน้ำว้า (ตารางที่ 4.9 และรูปที่ 4.9) ที่พบว่าเปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้นจาก 7.95 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้งในตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการให้ความร้อนเป็น 19.73 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อให้ความร้อนเปลือกกล้วยน้ำว้าที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที และจะมีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 25.93 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง (มีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 226.16 เปอร์เซ็นต์) เมื่อให้ความร้อนเปลือกกล้วยน้ำว้าที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนกับเปลือกกล้วยน้ำว้าต่อไป ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกมีแนวโน้มลดลง โดยเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที จะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกลดลงเหลือ 12.20 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง

เป็นที่น่าสังเกตว่าเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสูงที่สุด โดยไม่สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน จากการทดลองยังไม่ทราบเหตุผลที่แน่ชัด อาจเป็นไปได้ว่าความร้อนสูงที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกในลักษณะที่ทำให้มีสมบัติในการรีดิวซ์เฟอร์ริกได้ดีขึ้น อย่างไรก็ตามมีรายงานที่สนับสนุนว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของพืชมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด แต่ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ตรวจวัดโดยวิธีอื่น ๆ กล่าวคือ Siddhuraju (2007) พบว่าเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามที่ผ่านการให้ความร้อนแห้งและไม่ให้ความร้อน และสกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยตัวอย่างที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงก็จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงด้วย ขณะที่ความสามารถในการต้านปฏิกิริยา

ออกซิเดชันที่ตรวจวัดโดยวิธี ABTS และ FRAP ให้ผลไม่สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างดังกล่าว

นอกจากนี้จะสังเกตเห็นได้ว่าในเปลือกผลไม้ทั้ง 3 ชนิด เปลือกมะม่วงแก้วจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับเปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันน้อยกว่าตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากความแตกต่างของชนิดและสายพันธุ์ ซึ่งพืชแต่ละชนิดจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากน้อยแตกต่างกัน (Balasundram *et al.*, 2006) ขณะเดียวกันการให้ความร้อนมีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในเปลือกมะม่วงแก้วเพิ่มขึ้นน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารประกอบฟีนอลิกในพืชแต่ละชนิดตามธรรมชาติพบอยู่ในรูปแบบที่แตกต่างกัน ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกมะม่วงแก้วอาจอยู่ในรูปอิสระหรืออยู่ในรูปที่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์มากกว่าที่อยู่ในรูปที่จับกับสารโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ จึงสามารถถูกสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ได้ง่าย ดังนั้นเมื่อให้ความร้อน เปลือกมะม่วงแก้วจึงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้นไม่มาก ซึ่งเหตุผลดังกล่าวสนับสนุนได้โดยงานวิจัยของ Kumar และคณะ (2006) ที่พบว่าผลมะขามป้อม (*Emblica officinalis*) และขมิ้น (*Curcuma longa*) มีปริมาณกรดฟีนอลิกในรูปอิสระหรือรูปที่ละลายได้มากกว่าที่อยู่ในรูปที่จับกับสารโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ ขณะที่ Germano และคณะ (2006) ได้รายงานว่ากรดฟีนอลิกในรากของพืช *Trichilia emetica* จะปรากฏในรูปที่จับกับสารโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์มากกว่าในรูปอิสระหรือรูปที่ละลายได้

นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกในรูปอิสระหรือในรูปที่ละลายได้น่าจะมีความเสถียรต่อความร้อนน้อยกว่าสารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับสารโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ จึงทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในตัวอย่างเปลือกมะม่วงแก้วลดลงจากเริ่มต้นมากกว่าตัวอย่างอื่น เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลานาน (200 องศาเซลเซียส มากกว่า 20 นาที) ประกอบกับการที่พืชแต่ละชนิดมีสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างที่แตกต่างกันเป็นองค์ประกอบ จึงอาจมีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในพืชแต่ละชนิดมีความเสถียรต่อความร้อนแตกต่างกัน ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกที่มีในเปลือกมะม่วงแก้วอาจเป็นชนิดที่มีโครงสร้างที่เสถียรต่อความร้อนน้อยกว่าสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในเปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า จึงมีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกมะม่วงแก้วลดลงมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า ซึ่งเหตุผลดังกล่าวสอดคล้อง

กับผลการศึกษาของ Murakami และคณะ (2004) ที่พบว่าลูทิโอลิน (luteolin) มีความเสถียรต่อความร้อนมากกว่ารูทิน (rutin) ลูทิโอลิน-7-กลูโคไซด์ (luteolin-7-glucoside) และกรดคลอโรจินิก (chlorogenic acid) โดยลูทิโอลินจะยังคงปริมาณอยู่ที่ 8.3 เปอร์เซ็นต์ หลังให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 180 นาที ขณะที่รูทิน ลูทิโอลิน-7-กลูโคไซด์และกรดคลอโรจินิกไม่ปรากฏภายหลังการให้ความร้อนที่สภาวะดังกล่าว

4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างเปลือกผลไม้ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน

จากการนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองทั้งหมดมาศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันทั้ง 2 วิธีที่ศึกษา โดยสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในแกน x และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH หรือความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) ในแกน y (รายละเอียดของกราฟดูได้จากภาคผนวก ง) จากนั้นคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างเปลือกผลไม้ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน

ชนิดของเปลือกผลไม้	อุณหภูมิที่ให้ความร้อน (องศาเซลเซียส)	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน	
		DPPH	FRAP
เปลือกมะม่วงแก้ว	50	0.6718	0.1995
	100	0.6846	0.7338
	150	0.9865	0.9631
	200	0.9994	0.9443
เปลือกส้มเขียวหวาน	50	0.6478	0.7297
	100	0.9927	0.9591
	150	0.9921	0.9880
	200	0.9210	0.9538
เปลือกกล้วยน้ำว้า	50	0.9857	0.9441
	100	0.9977	0.9943
	150	0.9861	0.9989
	200	0.9785	0.9972

จากข้อมูลในตารางที่ 4.10 เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่แต่ละอุณหภูมิที่ศึกษาเป็นเวลาต่าง ๆ กัน โดยภาพรวมพบว่าความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกผลไม้ทั้ง 3 ชนิด มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในลักษณะแปรผันตาม กล่าวคือเมื่อเปลือกผลไม้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกผลไม้จะมีค่าเพิ่มขึ้น และเมื่อเปลือกผลไม้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลง ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกผลไม้ก็มีแนวโน้มลดลงด้วยเช่นกัน ซึ่งความสัมพันธ์ของความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างพืชที่ผ่านการให้ความร้อนดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Choi และคณะ (2006) ซึ่งพบว่าการให้ความร้อนกับเห็ดหอมชิทาเกะ

(shiitake) ที่อุณหภูมิ 100 และ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 และ 30 นาที สามารถเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปอิสระและที่อยู่ในรูปที่ละลายได้ในสารสกัดจากเห็ดได้มากขึ้น ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในรูปอิสระและในรูปที่ละลายได้ที่เพิ่มขึ้นนี้จะสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ตรวจวัดโดยวิธี ABTS (R^2 = 0.95) ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อให้ความร้อนกับเห็ดหอมที่อุณหภูมิและเวลาสูงขึ้น เช่นเดียวกับ Xu และคณะ (2007) ที่พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกส้มโฮยุที่เพิ่มขึ้นภายหลังการให้ความร้อนกับเปลือกส้มดังกล่าว สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งตรวจวัดโดยวิธี ABTS และ FRAP ที่จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อให้ความร้อนกับเปลือกส้มที่อุณหภูมิและเวลาที่สูงขึ้น Soong และ Barlow (2004) พบว่าเมล็ดในของมะม่วงที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 105-160 องศาเซลเซียส จะให้สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลเพิ่มขึ้นในลักษณะที่สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยพบว่าความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้นนี้เป็นผลมาจากปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลที่เพิ่มขึ้น

นอกจากนี้จะสังเกตได้ว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการให้ความร้อนสูงขึ้นค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะเปลือกมะม่วงแก้วซึ่งจะเห็นได้ว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีค่าค่อนข้างต่ำ คือมีค่าเพียง 0.1995 แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการให้ความร้อนที่ระดับสูงขึ้น ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ดังกล่าวจะมีค่าสูงขึ้นมาก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะที่สภาวะการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อาจไม่เพียงพอที่จะปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกมะม่วงแก้วให้อยู่ในรูปอิสระ (free form) หรืออยู่ในรูปที่ละลายได้ (soluble phenolics) ดังนั้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกมะม่วงแก้วที่ทุกระยะเวลาในการให้ความร้อนจึงค่อนข้างคงที่ ซึ่งจากผลการทดลองข้างต้นสามารถสรุปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้น เป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ถูกปลดปล่อยหรือถูกทำลายด้วยความร้อน

โดยทั่วไปเป็นที่เข้าใจว่าความร้อนมีผลในการทำลายสารประกอบฟีนอลิกในพืช แต่จากข้อมูลผลการทดลองที่ได้สามารถยืนยันได้ว่าการให้ความร้อนกับตัวอย่างพืชในระดับที่เหมาะสมจะมีผลช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในรูปที่สามารถถูกสกัดแยกด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ได้ง่ายขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างพืชสูงขึ้นด้วย นอกจากนี้ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่า ความร้อนที่ให้กับตัวอย่างพืชทำให้เกิดผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในพืช 2 ทิศทาง คือ ความร้อนมีผลต่อการทำลายสารประกอบ

ฟีนอลิก ในขณะเดียวกันความร้อนก็มีผลต่อการเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกในรูปที่จับอยู่กับสารโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ให้อยู่ในรูปอิสระหรืออยู่ในรูปที่ละลายได้มากขึ้น สารประกอบฟีนอลิกจึงถูกสกัดออกมาได้มากขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงทั้ง 2 ทิศทางดังกล่าวน่าจะเกิดขึ้นที่ทุกสภาวะ แต่ด้วยสัดส่วนที่ต่างกันขึ้นอยู่กับสภาวะการให้ความร้อน ที่ระดับความร้อนที่เหมาะสม การทำลายสารประกอบฟีนอลิกอันเนื่องมาจากความร้อนอาจเกิดขึ้นในสัดส่วนที่น้อยกว่าการที่ความร้อนไปช่วยปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกในรูปอิสระหรือในรูปที่ละลายได้ให้เพิ่มมากขึ้น ในภาพรวมจึงสังเกตเห็นการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่าง อย่างไรก็ตามที่ระดับความร้อนที่สูงมากเกินไปการทำลายสารประกอบฟีนอลิกจะเกิดขึ้นในสัดส่วนที่มากกว่าการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกในรูปอิสระหรือในรูปที่ละลายได้ ภาพรวมจึงสังเกตเห็นว่าตัวอย่างมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลง

อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าเปลือกมะม่วงแก้วจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที และจะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสูงสุด เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แต่เมื่อพิจารณาในภาพรวมจะเห็นได้ว่าอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการให้ความร้อนกับเปลือกมะม่วงแก้ว คือ 150 องศาเซลเซียส 90 นาที เนื่องจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาดังกล่าวเปลือกมะม่วงแก้วจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ไม่แตกต่างจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และเปลือกมะม่วงแก้วยังคงมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสูงอยู่ นอกจากนี้การให้ความร้อนกับเปลือกมะม่วงแก้วที่สภาวะดังกล่าวยังช่วยลดระยะเวลาในการให้ความร้อน ทำให้ประหยัดพลังงานที่ใช้ในการให้ความร้อนกับเปลือกมะม่วงแก้วได้ ดังนั้นอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการให้ความร้อนตัวอย่างเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า ซึ่งทำให้ได้ตัวอย่างที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูง คือ 150 องศาเซลเซียส 90 นาที 200 องศาเซลเซียส 20 นาที และ 150 องศาเซลเซียส 60 นาที ตามลำดับ

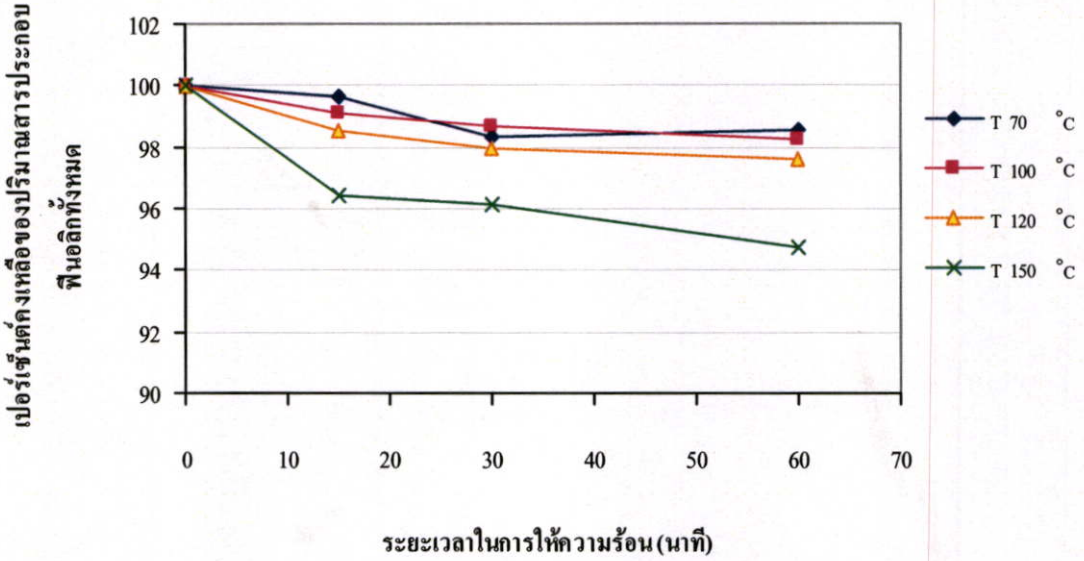
4.4 ผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่มีความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาณ ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 100, 120 และ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15, 30 และ 60 นาที ภายใต้สภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) 4, 7 และ 9 โดยคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วยเปอร์เซ็นต์คงเหลือ (เปรียบเทียบกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารละลายสารสกัดที่ pH ต่าง ๆ ซึ่งไม่ผ่านการให้ความร้อน โดยคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์) ได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 4.11 และรูปที่ 4.10-4.12 จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลที่ได้จากผลการทดลองดังกล่าว พบว่าอุณหภูมิ pH และระยะเวลาในการให้ความร้อน รวมทั้งปัจจัยร่วมของทั้งสองและสามปัจจัยดังกล่าว มีผลต่อความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

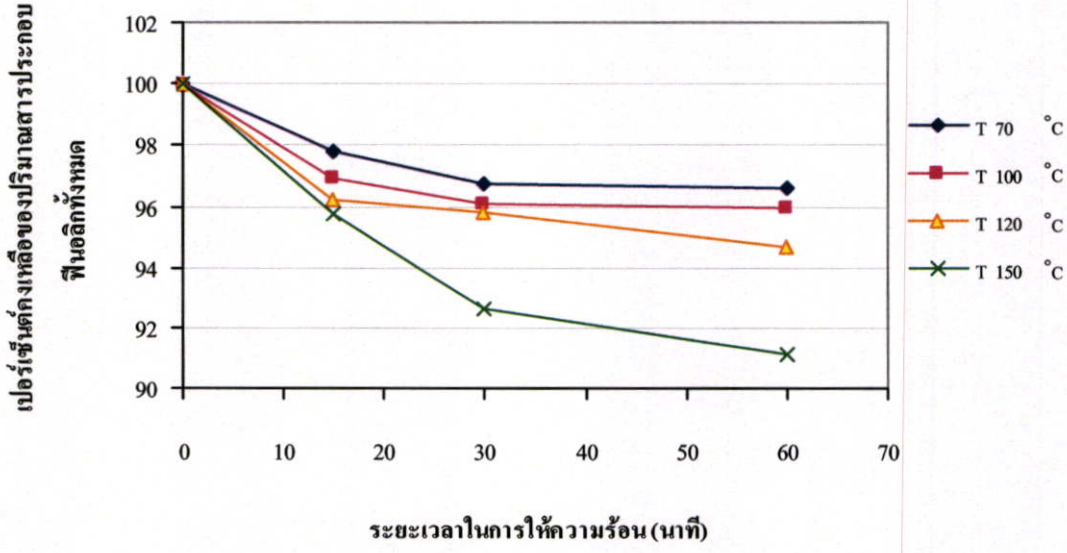
ตารางที่ 4.11 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 4, 7 และ 9

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการให้ความร้อน (นาที)	เปอร์เซ็นต์คงเหลือของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด		
		pH 4	pH 7	pH 9
70	15	99.65 ± 0.19	97.80 ± 0.31	90.37 ± 0.75
	30	98.32 ± 0.29	96.73 ± 0.20	86.26 ± 0.36
	60	98.57 ± 0.34	96.61 ± 0.14	85.49 ± 0.29
100	15	99.11 ± 0.03	96.98 ± 0.44	82.54 ± 0.68
	30	98.69 ± 0.35	96.11 ± 0.40	79.42 ± 0.86
	60	98.29 ± 0.19	95.97 ± 0.88	76.45 ± 0.52
120	15	98.54 ± 0.60	96.22 ± 0.11	78.14 ± 1.40
	30	97.95 ± 0.23	95.79 ± 0.96	75.09 ± 1.37
	60	97.59 ± 0.14	94.71 ± 0.39	67.38 ± 0.77
150	15	96.44 ± 0.49	95.73 ± 0.59	75.17 ± 1.33
	30	96.18 ± 0.49	92.61 ± 2.97	71.91 ± 1.05
	60	94.75 ± 0.31	91.13 ± 0.83	63.46 ± 1.66

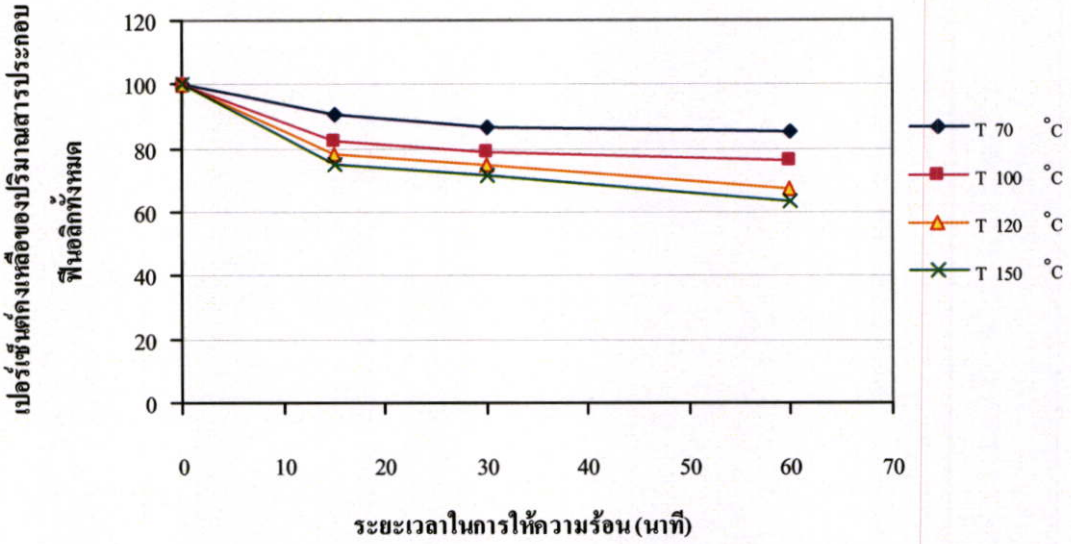
หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง



รูปที่ 4.10 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 4



รูปที่ 4.11 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 7



รูปที่ 4.12 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 9

จากผลการศึกษาในตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.10-4.12 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 4, 7 และ 9 จะเห็นได้ว่าที่ทุก pH ที่ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างมีแนวโน้มลดลง เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาสูงขึ้น โดยสารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วจะเสถียรที่ทุกอุณหภูมิและเวลาของการให้ความร้อน ภายใต้สภาวะ pH 4 และ 7 ซึ่งคงเหลือปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ที่ pH 4 (ตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.10) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงน้อยมากเมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 70-120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-60 นาที โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเหลือ 99.65-97.59 เปอร์เซ็นต์ จากเริ่มต้น และมีแนวโน้มลดลงมากขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการให้ความร้อนสูงถึง 150 องศาเซลเซียส โดยเมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเหลือ 94.75 เปอร์เซ็นต์ และสารประกอบฟีนอลิกจะมีความเสถียรลดลงเล็กน้อยเมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดภายใต้ pH ที่เป็นกลาง (pH 7) (ตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.11) โดยจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเหลือ 97.80-94.71 เปอร์เซ็นต์ จากเริ่มต้น เมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่อุณหภูมิ 70-120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-60 นาที และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการให้ความร้อนสูงขึ้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดมีแนวโน้มลดลงเพิ่มมากขึ้น โดยจะลดลงเหลือ 91.13 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้ความ

ร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ที่ pH 9 (ตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.12) สารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว จะมีความเสถียรต่อความร้อนต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับที่ pH 4 และ 7 โดยเมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเหลือ 90.37 เปอร์เซ็นต์ จากเริ่มต้น และจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเหลือเพียง 63.46 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วค่อนข้างเสถียรต่อความร้อนภายใต้สภาวะที่เป็นกรดและกลาง (pH 4 และ 7) และจะมีความเสถียรลดลงภายใต้สภาวะที่เป็นด่าง (pH 9) โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงเมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิและเวลาที่สูงขึ้น ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Ungar และคณะ (2003) ที่พบว่าสารละลายเจนิสตีน (genistein) ซึ่งเป็นไอโซฟลาโวน (isoflavones) ที่พบในถั่วเหลืองจะเสถียรต่อการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ภายใต้สภาวะที่เป็นกลาง (pH 7) มากกว่าสภาวะที่เป็นด่าง (pH 9) โดยมีปริมาณลดลง 22 และ 60 เปอร์เซ็นต์ จากเริ่มต้นตามลำดับ และพบว่าเจนิสตีนจะสลายตัวเพิ่มขึ้นเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้น Murakami และคณะ (2004) พบว่าสารประกอบโพลีฟีนอลจะมีความเสถียรในระหว่างการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยจะเกิดการสลายตัวเพียงเล็กน้อยในระหว่างการให้ความร้อนที่อุณหภูมิดังกล่าว และจะเกิดการสลายตัวอย่างรวดเร็วเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้ยังมีรายงานที่พบว่าความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิกต่อ pH ต่าง ๆ นั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของสารประกอบฟีนอลิกและการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกภายใต้สภาวะ pH ต่าง ๆ โดย Friedman และ Jurgens (2000) ได้ศึกษาผลของ pH ต่อความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิก พบว่ากรดคาเฟอิก (caffeic acid) กรดคลอโรจินิก (chlorogenic acid) และกรดแกลลิก (gallic acid) จะไม่เสถียรที่ pH สูง ขณะที่คาทิชิน ((-) catechin) อิพิแกลโลคาทิชิน ((-) epigallocatechin) กรดเฟอรูลิก (ferulic acid) และรูทิน (rutin) เสถียรที่ pH สูง โดยสามารถทนต่อการสลายตัวอันเป็นผลเนื่องมาจาก pH ได้ อย่างไรก็ตามโดยทั่วไปฟลาโวนอยด์ (flavonoids) จะเสถียรภายใต้สภาวะที่เป็นกรด และเกิดการแตกสลายของหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) รวมถึงตำแหน่ง O-1 และ C-2 ที่เชื่อมต่อกันในวงแหวน C (C-ring) ภายใต้สภาวะที่เป็นด่าง จึงมีผลทำให้ฟลาโวนอยด์ไม่เสถียรภายใต้สภาวะที่เป็นด่าง (yamazaki *et al.*, 2007) ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นได้ว่าสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วมีความเสถียรในสภาวะ pH ที่เป็นกรดและกลางมากกว่า pH ที่เป็นด่าง ดังนั้นเมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วภายใต้สภาวะที่เป็นกรดและกลางจึงมีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างสารสกัดถูกทำลายน้อยกว่าที่สภาวะเป็นด่าง

4.5 ผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่มีความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาณ ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ภายใต้สภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่างกัน โดยตรวจวัดด้วยวิธีต่างกัน 2 วิธี ได้แก่ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

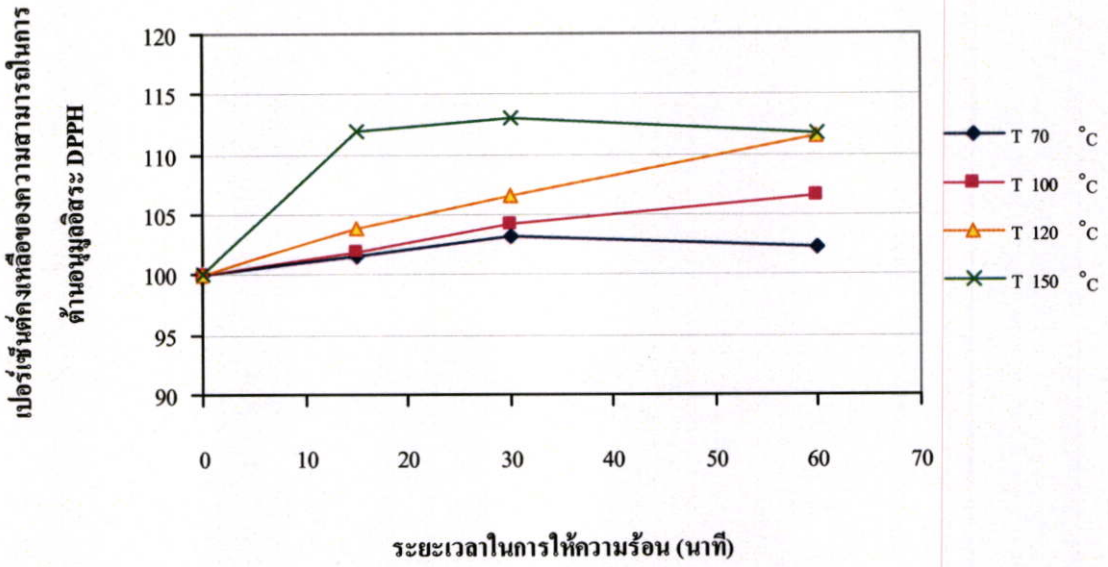
4.5.1 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 100, 120 และ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15, 30 และ 60 นาที ภายใต้สภาวะความเป็นกรด-ด่าง 4, 7 และ 9 โดยคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในหน่วยเปอร์เซ็นต์คงเหลือ (เปรียบเทียบกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างสารละลายสารสกัดที่ pH ต่าง ๆ ซึ่งไม่ผ่านการให้ความร้อน โดยคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์) ได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 4.12 และรูปที่ 4.13-4.15 จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลดังกล่าว พบว่าอุณหภูมิ pH และระยะเวลาในการให้ความร้อน รวมทั้งปัจจัยร่วมของทั้งสองและสามปัจจัยดังกล่าว มีผลต่อความเสถียรของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

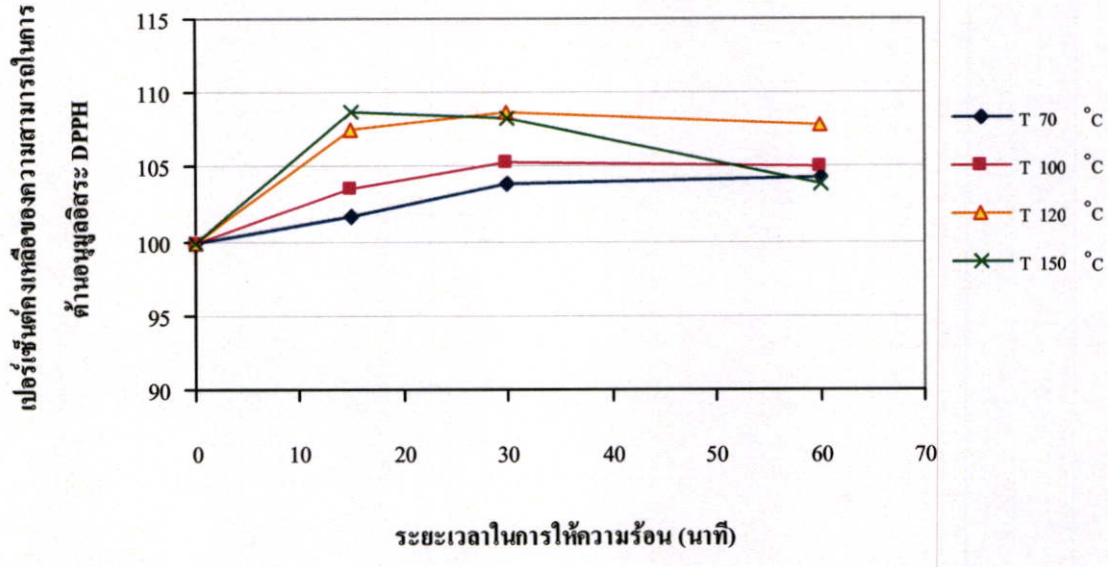
ตารางที่ 4.12 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 4, 7 และ 9

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการให้ความร้อน (นาที)	เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH		
		pH 4	pH 7	pH 9
70	15	101.55 ± 0.52	101.71 ± 0.61	85.78 ± 1.37
	30	103.10 ± 0.32	103.86 ± 0.50	81.84 ± 0.91
	60	102.25 ± 0.16	104.38 ± 0.73	80.64 ± 0.67
100	15	101.96 ± 0.54	103.54 ± 0.50	75.27 ± 1.13
	30	104.19 ± 0.10	105.40 ± 0.46	72.45 ± 0.61
	60	106.65 ± 0.68	105.02 ± 0.41	68.32 ± 1.19
120	15	103.90 ± 0.41	107.61 ± 0.80	70.29 ± 1.07
	30	106.70 ± 0.87	108.69 ± 0.63	63.02 ± 1.14
	60	111.64 ± 0.75	107.82 ± 0.34	56.68 ± 0.17
150	15	111.93 ± 0.72	108.78 ± 0.14	55.83 ± 1.39
	30	113.14 ± 0.83	108.34 ± 0.81	48.50 ± 0.31
	60	111.70 ± 0.15	103.93 ± 0.15	40.00 ± 0.30

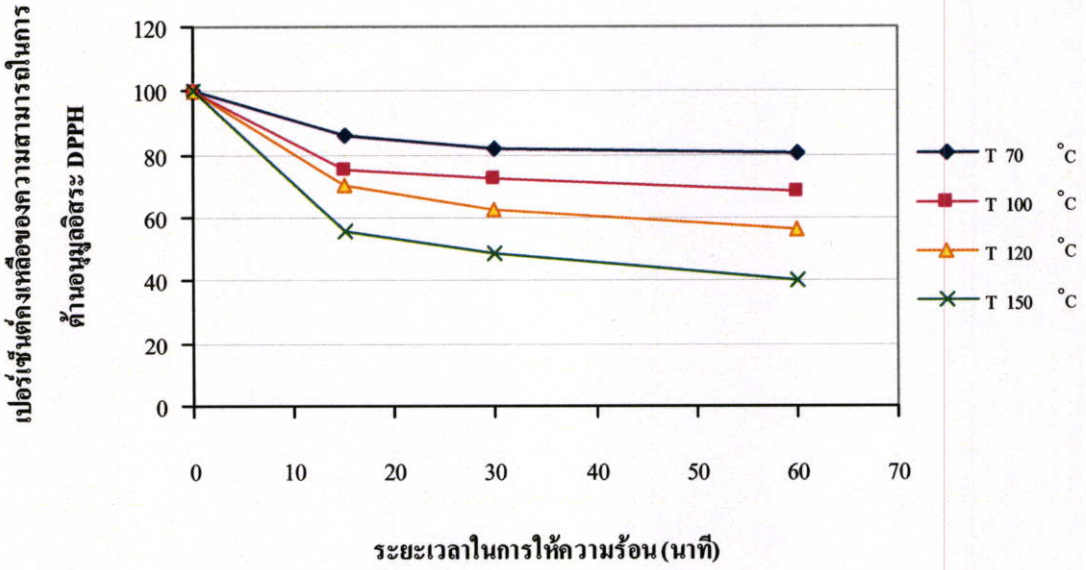
หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง



รูปที่ 4.13 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 4



รูปที่ 4.14 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 7



รูปที่ 4.15 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 9

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.12 และรูปที่ 4.13-4.15 จะเห็นได้ว่าภายใต้สภาวะที่เป็นกรดและเป็นกลาง (pH 4 และ 7) ตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วจะมีแนวโน้มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้นเล็กน้อย เมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิและเวลาที่สูงขึ้น และจะมีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มอุณหภูมิหรือระยะเวลาในการให้ความร้อนจนถึงระดับหนึ่ง ขณะที่การให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วภายใต้สภาวะที่เป็นด่าง (pH 9) มีผลทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงอย่างเห็นได้ชัด โดยที่ pH 4 (ตารางที่ 4.12 และรูปที่ 4.13) เมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 15 นาที ตัวอย่างสารสกัดจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้น 1.55 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างสารสกัดที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน และจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้น 13.14 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนต่อไปจนถึง 60 นาที ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีแนวโน้มลดลง เมื่อพิจารณาที่ pH 7 (ตารางที่ 4.12 และรูปที่ 4.14) ตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้น 1.71-8.78 เปอร์เซ็นต์ จากเริ่มต้น เมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 70-150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-60 นาที โดยความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนมากขึ้น ซึ่งจะสังเกตได้ว่าเมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 100, 120 และ 150 องศาเซลเซียส

นาน 60 นาที ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างมีแนวโน้มลดลง สำหรับที่ pH 9 นั้น (ตารางที่ 4.12 และรูปที่ 4.15) จะเห็นได้ว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่สภาวะดังกล่าว โดยเมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH จะลดลงเหลือ 85.78 เปอร์เซ็นต์ จากเริ่มต้น และจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงเหลือเพียง 40.00 เปอร์เซ็นต์จากเริ่มต้น เมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที สำหรับสาเหตุที่ส่งผลให้เกิดแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงในลักษณะดังกล่าว จะได้กล่าวถึงในลำดับต่อไป

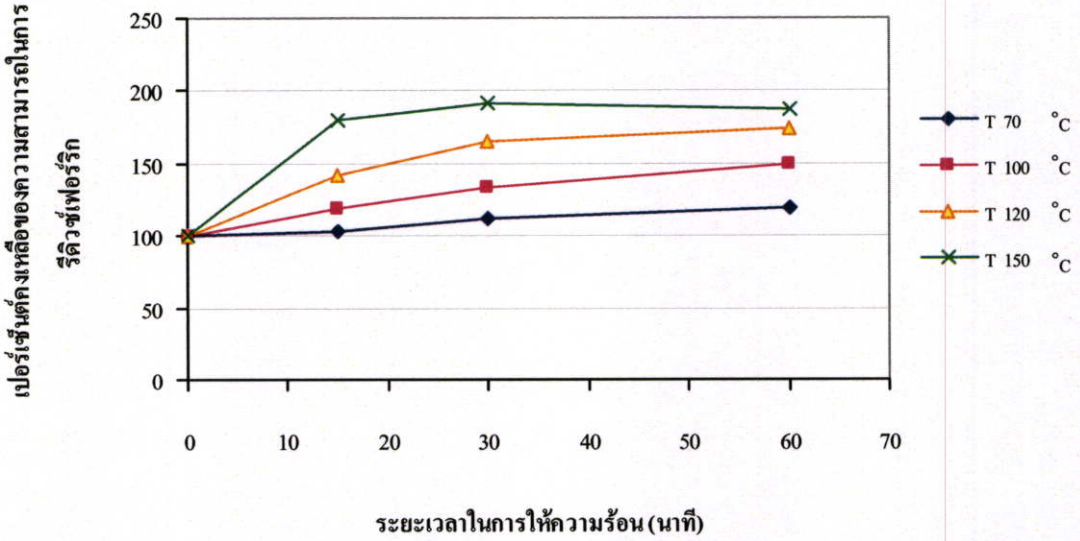
4.5.2 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP)

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 100, 120 และ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15, 30 และ 60 นาที ภายใต้สภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) 4, 7 และ 9 โดยคำนวณความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกในหน่วยเปอร์เซ็นต์คงเหลือ (เปรียบเทียบกับความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างสารละลายสารสกัดที่ pH ต่าง ๆ ซึ่งไม่ผ่านการให้ความร้อน โดยคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์) ได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 4.13 และรูปที่ 4.16-4.18 จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลที่ได้ พบว่าอุณหภูมิ pH และระยะเวลาในการให้ความร้อน รวมทั้งปัจจัยร่วมของทั้งสองและสามปัจจัยดังกล่าว มีผลต่อความเสถียรของความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

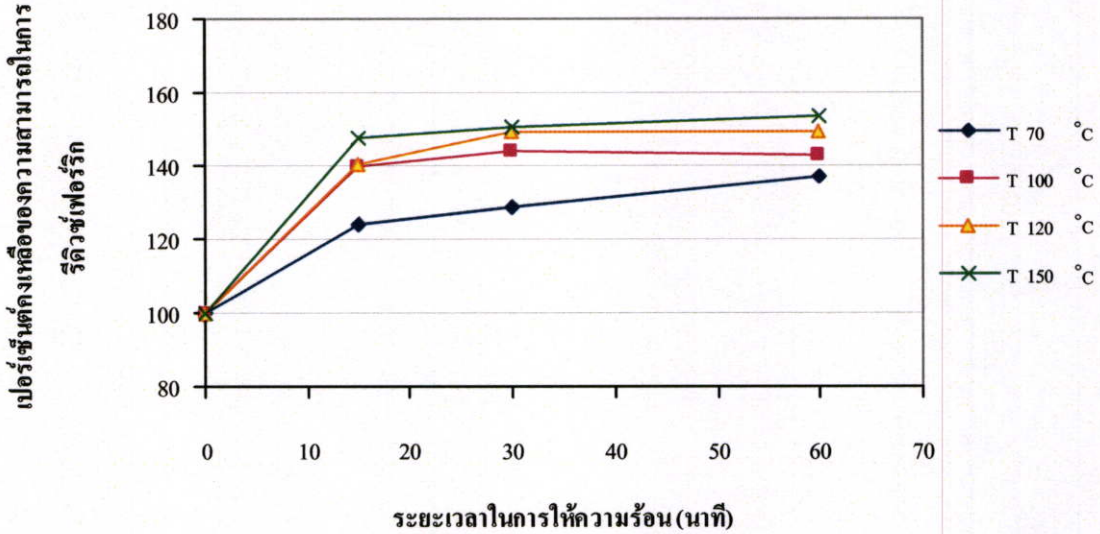
ตารางที่ 4.13 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) ของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 4, 7 และ 9

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการให้ความร้อน (นาที)	เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP)		
		pH 4	pH 7	pH 9
70	15	103.84 ± 1.81	123.86 ± 0.32	90.58 ± 1.86
	30	112.22 ± 1.77	128.76 ± 2.77	84.28 ± 0.82
	60	118.89 ± 0.32	136.77 ± 0.56	82.24 ± 0.25
100	15	119.36 ± 1.34	140.24 ± 0.32	78.02 ± 0.42
	30	133.70 ± 1.17	143.94 ± 0.13	75.14 ± 0.74
	60	150.28 ± 1.81	142.66 ± 0.55	69.71 ± 1.15
120	15	143.08 ± 1.52	140.50 ± 1.14	70.35 ± 0.53
	30	165.90 ± 1.44	149.22 ± 3.33	65.37 ± 0.68
	60	174.80 ± 1.97	149.36 ± 2.54	57.49 ± 1.81
150	15	179.57 ± 2.60	147.46 ± 1.75	59.00 ± 0.31
	30	192.19 ± 1.10	150.73 ± 2.78	52.41 ± 1.72
	60	188.07 ± 3.94	153.33 ± 3.41	48.73 ± 0.73

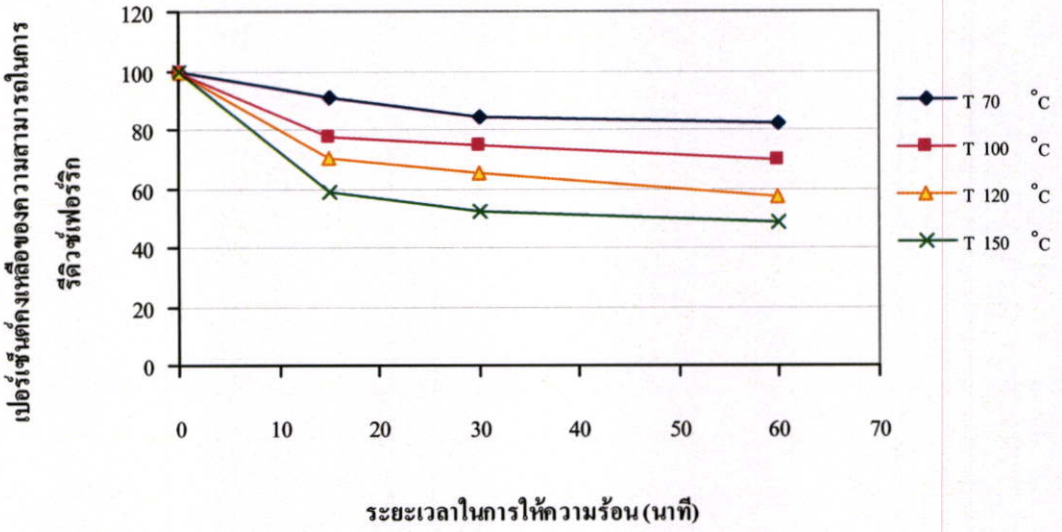
หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง



รูปที่ 4.16 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 4



รูปที่ 4.17 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 7



รูปที่ 4.18 เปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 9

จากข้อมูลที่ได้จากการทดลองในตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.16-4.18 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ ที่ pH 4, 7 และ 9 จะเห็นได้ว่ามีการเปลี่ยนแปลงเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดภายใต้สภาวะที่เป็นกรดและกลาง (pH 4 และ 7) และจะมีแนวโน้มคงที่หรือลดลงเมื่อเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนต่อไปจนถึงระดับหนึ่ง ขณะที่การให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดภายใต้สภาวะที่เป็นด่าง (pH 9) มีผลทำให้ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกลดลงที่ทุกอุณหภูมิของการให้ความร้อน โดยมีแนวโน้มลดลงมากขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนสูงขึ้น เมื่อพิจารณาที่ pH 4 (ตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.16) จะเห็นได้ว่าตัวอย่างสารสกัดจะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้น 3.84 เปอร์เซ็นต์ จากเริ่มต้น เมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และจะมีค่าเพิ่มขึ้น 92.19 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วต่อไปความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกมีแนวโน้มลดลง เช่นเดียวกับการให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ pH 7 (ตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.17) ที่พบว่าเมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 70 องศา-

เซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตัวอย่างสารสกัดจะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้น 23.86 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างสารสกัดที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 120 และ 150 องศาเซลเซียส ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกมีแนวโน้มคงที่ สำหรับที่ pH 9 (ตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.18) จะเห็นได้ว่าเมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตัวอย่างสารสกัดจะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกลดลงเหลือ 90.58 เปอร์เซ็นต์ จากเริ่มต้น และจะมีค่าลดลงเหลือเพียง 48.73 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วค่อนข้างมีความเสถียรต่อความร้อนที่ทุกอุณหภูมิที่ศึกษา ภายใต้สภาวะที่เป็นกรดและกลาง (pH 4 และ 7) ในขณะที่การให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดภายใต้สภาวะที่เป็นด่าง (pH 9) มีผลทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกลดลงที่ทุกอุณหภูมิของการให้ความร้อน ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่มีความเสถียรต่อความร้อนภายใต้สภาวะที่เป็นกรดและกลางมากกว่าภายใต้สภาวะที่เป็นด่าง ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ungar และคณะ (2003) ซึ่งรายงานว่าการสูญเสียความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเจนิสตีน (genistein) ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบในถั่วเหลือง จากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ที่ pH 7 เกิดขึ้นน้อยกว่าที่ pH 9 ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวสอดคล้องกับความเสถียรของจีนิสตีนที่เสถียรต่อความร้อนที่ pH 7 มากกว่า pH 9 Yamazaki และคณะ (2007) พบว่าสารสกัดจากเมล็ดพริกไทยญี่ปุ่นมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเสถียรต่อความร้อนภายใต้สภาวะที่เป็นกรด (pH 3.5 และ 5) และจะมีความเสถียรลดลงเล็กน้อยภายใต้สภาวะที่เป็นกลาง (pH 7) โดยคงเหลือความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้ความร้อนกับสารละลายสารสกัดที่อุณหภูมิสูง 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

เป็นที่น่าสังเกตว่าที่ pH 4 และ 7 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยเมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิและเวลาสูงขึ้น (ตารางที่ 4.11) ในขณะที่ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยเฉพาะความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (ตารางที่ 4.13) ของตัวอย่างสารสกัดที่ให้ความร้อนในสภาวะดังกล่าวกลับมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน การที่ตัวอย่างสารสกัดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้นจากการให้ความร้อนภายใต้สภาวะที่เป็นกรดและกลางนั้น อาจเป็นไปได้ว่าการให้ความร้อนกับสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วภายใต้สภาวะที่เป็นกรดและกลาง จะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ที่มีผลทำให้ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างสารสกัดเพิ่มขึ้น โดยความร้อนอาจ

ก่อให้เกิดสารประกอบที่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกอันเนื่องมาจากความร้อน หรือผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากความร้อน รวมถึงความร้อนอาจช่วยปรับปรุงความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติที่มีอยู่ในตัวอย่างสารสกัดให้ดีขึ้น (Arabshahi-D *et al.*, 2007 ; Cruz *et al.*, 2007) ได้มีรายงานที่กล่าวถึงผลการทดลองในลักษณะที่คล้ายคลึงกับที่พบในการทดลองนี้ คือ Arabshahi-D และคณะ (2007) ได้รายงานว่าการให้ความร้อนกับสารสกัดจากใบมินต์ (*Mentha spicata*) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที มีผลทำให้ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดเพิ่มขึ้น 15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เช่นเดียวกับ Kusznierewicz และคณะ (2008) ซึ่งศึกษาผลของความร้อนต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำคั้นจากกะหล่ำปลีขาว พบว่าการเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ให้กับน้ำกะหล่ำปลี มีผลทำให้น้ำกะหล่ำปลีมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ตรวจวัดโดยวิธี DPPH และ ABTS) เพิ่มขึ้น โดยน้ำกะหล่ำปลีจะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อให้ความร้อนกับน้ำกะหล่ำปลีนาน 15 ชั่วโมง

Cruz และคณะ (2007) ศึกษาพบว่าส่วนที่ละลายได้ในเอธิลอะซิเตด (ethyl acetate soluble-fraction) จากกากองุ่นแดงที่ผ่านขั้นตอนการหมัก กลั่นและไฮโดรไลซ์ (hydrolyse) จะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ตรวจวัดโดยวิธี DPPH) เพิ่มขึ้น เมื่อให้ความร้อนกับส่วนที่ละลายได้ในเอธิลอะซิเตดที่อุณหภูมิสูงขึ้น โดยพบว่าส่วนที่ละลายได้ในเอธิลอะซิเตดที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส จะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 150 และ 100 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ขณะที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกกลับมีแนวโน้มลดลงเมื่อให้ความร้อนกับส่วนที่ละลายได้ในเอธิลอะซิเตดที่อุณหภูมิสูงขึ้น

สำหรับสาเหตุที่ความร้อนมีผลทำให้ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ ดังกล่าว มีค่าเพิ่มสูงขึ้นนั้นยังไม่มีการอธิบายให้ทราบชัดเจน อย่างไรก็ตามอาจเป็นไปได้ว่าความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากพืชต่าง ๆ ที่เพิ่มขึ้นนี้อาจเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างการให้ความร้อนกับสารสกัดที่จะก่อให้เกิดสารชนิดใหม่ ๆ ที่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction products) (Manzocco *et al.*, 2000) หรือผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในสารสกัด ที่จะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าเดิม ซึ่งข้อคิดเห็นดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองของ Guillot และคณะ(1996) ที่พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการสลายตัวของกรดคลอโรจินิก (chlorogenic acid) และกรดคาเฟอิก (caffeic acid) เนื่องจากการให้ความร้อน จะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าในสารตั้งต้นเดิมที่ไม่มีการให้ความร้อน และจากการทดลองของ Murakami และคณะ (2004) ที่

ศึกษาผลของความร้อนต่อความเสถียรของสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งได้แก่ รูทิน (rutin) ลูทิโอลิน -7-กลูโคไซด์ (luteolin-7-glucoside) ลูทิโอลิน (luteolin) และกรดคลอโรจินิก (chlorogenic acid) พบว่าสารประกอบโพลีฟีนอลส่วนใหญ่จะเสถียรต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และถึงแม้ว่าความร้อนจะมีผลในการทำลายหรือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบโพลีฟีนอล แต่ผลจากการศึกษาพบว่าผลิตภัณฑ์ใหม่ที่เกิดขึ้นบางชนิดก็ยังคงเป็นสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิก การติดตามปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจึงให้ผลเสมือนมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณทั้งหมดน้อยมาก และการที่ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการสลายตัวของสารประกอบโพลีฟีนอลจะยังคงความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระไว้ได้ ในภาพรวมจึงเห็นได้ว่าสมบัติการต้านอนุมูลอิสระจะเสถียรต่อความร้อนมากกว่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล

การลดลงของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกจากการให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดภายใต้ pH ที่เป็นด่าง (pH 9) นั้น เป็นผลมาจากการสูญเสียสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติที่มีอยู่ในสารสกัดอันเนื่องมาจากความร้อน ซึ่งจากการทดลองจะเห็นได้ว่าการให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดภายใต้สภาวะที่เป็นด่าง มีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงไปในทิศทางเดียวกันกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก ที่มีแนวโน้มลดลงเพิ่มมากขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดมากขึ้น และการให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดภายใต้สภาวะดังกล่าวอาจก่อให้เกิดสารประกอบชนิดใหม่ที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (prooxidant activity) ได้ (Arabshahi-D and Urooj, 2007)

อย่างไรก็ตามยังมีรายงานที่พบว่าสารสกัดจากพืชหลายชนิดให้ผลตรงกันข้ามกับผลที่ได้จากการทดลอง โดยจากการศึกษาของ Arabshahi-D และคณะ (2007) พบว่าสารสกัดจากใบมินต์ (*Mentha spicata*) และหัวแครอท (*Daucus carota*) จะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเสถียรที่ pH 9 มากกว่าที่ pH 4 ขณะที่ Juntachote และ Berghofer (2005) พบว่าสารสกัดจากใบกะเพรา (*Ocimum sanctum* L.) และข่า (*Alpinia galangal*) จะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเสถียรที่ pH ที่เป็นกลาง (pH 7) และจะมีความเสถียรลดลงที่ pH ที่เป็นกรด (pH 3 และ 5) Arabshahi-D และ Urooj (2007) พบว่าความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากใบหม่อน (*Morus indica* L.) จะเสถียรใน pH ที่เป็นกลาง (pH 7) และจะมีความเสถียรลดลงที่ pH ที่เป็นกรด (pH 3 และ 5) และด่าง (pH 9 และ 11) โดยพบว่าภายใต้ pH 3 และ 5 สารสกัดจากใบหม่อนจะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันไม่แตกต่างจากที่ pH 9 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และจะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันลดลงต่ำสุดที่ pH 11 ซึ่งการที่สารสกัดจากพืชมีความเสถียรภายใต้ pH ที่แตกต่างกันนั้น อาจเป็นเพราะความแตกต่างของชนิดพืชที่นำมาศึกษาและความแตกต่างของสารประกอบที่มีอยู่ในสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดนั่นเอง

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการนำสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วไปใช้เติมในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อวัตถุประสงค์ของการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติหรือเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีคุณค่าเชิงสุขภาพ ซึ่งจากข้อมูลที่ได้แสดงให้เห็นว่าการนำสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ ที่ต้องผ่านกระบวนการแปรรูปโดยใช้ความร้อนภายใต้สภาวะที่มี pH ในช่วง 4-7 สารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงจะยังคงมีความเสถียรสูงเมื่อเทียบกับที่ pH เป็นด่าง

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า โดยให้ความร้อนกับเปลือกผลไม้แห้งบดเป็นผงละเอียดที่อุณหภูมิ 50, 100, 150 และ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, 20, 40, 60, 90 และ 120 นาที พบว่าอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อน มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างเปลือกผลไม้ทั้ง 3 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) การให้ความร้อนกับเปลือกมะม่วงแก้วที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที สามารถเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในเปลือกมะม่วงแก้วได้สูงสุด โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 108.56 เป็น 116.86 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง และจาก 58.86 เป็น 63.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับเปลือกมะม่วงแก้วที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ขณะที่เปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้นสูงสุด โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 186.43 เป็น 263.50 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อเปรียบเทียบกับเปลือกมะม่วงแก้วที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน การให้ความร้อนกับเปลือกส้มเขียวหวานที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที มีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกในเปลือกส้มเขียวหวานเพิ่มขึ้นสูงสุด โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 30.87 เป็น 44.29 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง จาก 44.89 เป็น 81.33 เปอร์เซ็นต์ และจาก 26.88 เป็น 45.33 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับเปลือกส้มเขียวหวานที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ขณะที่การให้ความร้อนกับเปลือกกล้วยน้ำว้าที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที สามารถเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกได้สูงสุด โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 6.57 เป็น 19.45 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง จาก 18.58 เป็น 72.16 เปอร์เซ็นต์ และจาก 7.95 เป็น 25.93 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน และเพิ่มอุณหภูมิหรือระยะเวลาในการให้ความร้อนกับเปลือกผลไม้ต่อไป ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกผลไม้จะมีแนวโน้มลดลง

เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกผลไม้ทั้ง 3 ชนิดที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน พบว่าเปลือกผลไม้ทั้ง 3 ชนิดที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100-200 องศาเซลเซียส มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในลักษณะแปรผันตาม กล่าวคือ ตัวอย่างที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงก็จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสูงด้วย โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.6846-0.9994

สำหรับสภาวะที่เหมาะสมในการให้ความร้อนกับตัวอย่างเปลือกผลไม้ ซึ่งทำให้ได้ตัวอย่างที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงสุด ในกรณีของเปลือกมะม่วงแก้ว คือ อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส 120 นาที แต่เนื่องจากให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ไม่แตกต่างจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส 90 นาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ดังนั้น สภาวะที่เหมาะสมในการให้ความร้อนกับเปลือกมะม่วงแก้ว คือ อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส 90 นาที ขณะที่สภาวะที่เหมาะสมในการให้ความร้อนกับเปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกกล้วยน้ำว้า คือ อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส 90 นาที และ 150 องศาเซลเซียส 60 นาที ตามลำดับ

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิและ pH ต่อความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว โดยให้ความร้อนกับตัวอย่างสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่อุณหภูมิ 70, 100, 120 และ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15, 30 และ 60 นาที ที่ pH 4, 7 และ 9 พบว่าอุณหภูมิ pH และระยะเวลาในการให้ความร้อน รวมทั้งปัจจัยร่วมของทั้งสองและสามปัจจัยดังกล่าว มีผลต่อความเสถียรของสารประกอบฟีนอลิก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยที่สารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วจะเสถียรต่อความร้อนภายใต้สภาวะที่เป็นกรดและกลาง (pH 4 และ 7) ที่ทุกอุณหภูมิของการให้ความร้อน โดยคงเหลือปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (เปรียบเทียบกับตัวอย่างสารสกัดที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน) เมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และจะมีความเสถียรลดลงในสภาวะที่เป็นด่าง (pH 9) โดยคงเหลือปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพียง 63.46 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิและเวลาดังกล่าว สำหรับการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว พบว่าการให้ความร้อนกับตัวอย่างสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ pH 4 และ 7 มีผลทำให้ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งได้แก่ความสามารถในการต้านอนุมูล

อิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) เพิ่มขึ้น โดยจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิและเวลาที่สูงขึ้น การให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ pH 4 มีผลทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 1.55-13.14 และ 3.84-92.19 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ขณะที่การให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่ pH 7 มีผลทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 1.71-8.78 และ 23.86-53.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่ pH 9 มีผลทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกลดลงที่ทุกอุณหภูมิของการให้ความร้อน โดยมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกลดลงเหลือเพียง 40.00 และ 48.73 เปอร์เซ็นต์ จากเริ่มต้นตามลำดับ เมื่อให้ความร้อนกับตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ที่มีความเสถียรต่อความร้อนที่ pH 4 และ 7 มากกว่าที่ pH 9

บรรณานุกรม

ธวัชชัย รัตน์ชเลศ, พฤกษ์ ยิบมันตะสิริ และรุ่งทิพย์ อุทุมพันธ์. 2546. *มะม่วงแก้ว : ไม้ผลเพื่อความหวังและฟื้นฟูทรัพยากรธรรมชาติ*. กรุงเทพ ฯ : มติชน.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2545. *เคมีอาหาร*. กรุงเทพ ฯ : โอเดียนสโตร์.

นวลศรี รักอริยะธรรม และ อัญชนา เจนวิถีสุข. 2546. *แอนติออกซิแดนท์ : สารต้านมะเร็งในผักสมุนไพรไทย*. พิมพ์ครั้งที่ 2. เชียงใหม่ : นพบุรีการพิมพ์.

เบญจมาศ ศิลาย้อย. 2538. *กล้วย*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพ ฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม และ วันทนีย์ ช้างน้อย. 2545. การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและศักยภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดพืชตระกูลส้มสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ปลูกในประเทศไทย. *อาหาร*. 32(4) : 300-307.

เปรมปรี ณ สงขลา. 2544. *คู่มือการทำสวนส้มอย่างมืออาชีพ*. กรุงเทพ ฯ : ฐานการพิมพ์.

พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล. 2547. ศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระและการตรวจประเมินกิจกรรมการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารจากพืช. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยหอการค้าไทย*. 24(2) : 18-35.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. 2548. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระบ่อเกิดของโรคและการต้านโรค. *วารสารจาร์พา*. 12(87) : 40-41.

มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด, รัศมี ศุภศรี และ เนื้อทอง วนานุวัธ. 2548. กล้วยอบเนย. *อาหาร*. 35(2) : 104-105.

วัลยา เนาวรัตน์วัฒนา และ พัชรี บุญศิริ. 2542. โปรออกซิแดนท์ : อีกโฉมหน้าของแอนติออกซิแดนท์. *วารสารวิทยาศาสตร์*. 53(3) : 196-198.

วินัส ภูมินาถ. 2549. ส้มเขียวหวานผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มเกล็ดหิมะ. *อาหาร*. 36(2) : 111-115.

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

ส่วนอุตสาหกรรมเกษตร. 2544. *รายงานเกณฑ์คุณภาพและวิธีการตรวจคุณภาพวัตถุดิบมะม่วง*. กรุงเทพ ฯ : สำนักพัฒนาอุตสาหกรรมรายสาขา กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม.

Ajila, C.M., Bhat, S.G. and Prasada Rao, U.J.S. 2007. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. *Food Chem*. 102(4) : 1006-1011.

Arabshahi-D, S., Devi, D.V. and Urooj, A. 2007. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. *Food Chem*. 100(3) : 1100-1105.

Arabshahi-D, S. and Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chem*. 102(4) : 1233-1240.

Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products : Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 99(1) : 191-203.

Barros, L., Baptista, P., Correia, D.M., Morais, J.S. and Ferreira, I.C.F.R. 2007. Effect of conservation treatment and cooking on the chemical composition and antioxidant activity of Portuguese wild edible mushrooms. *J. Agric. Food Chem.* 55(12) : 4781-4788.

Benzie, F.F. and Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power" : The Frap Assay. *Anal. Biochem.* 239(1) : 70-76.

Choi, Y., Lee, S.M., Chun, J., Lee, H.B. and Lee, J. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem.* 99(2) : 381-387.

Cruz, J.M., Conde, E., Dominguez, H. and Parajo, J.C. 2007. Thermal stability of antioxidants obtained from wood and industrial wastes. *Food Chem.* 100(3) : 1059-1064.

Deman, J.M. 1999. *Principles of Food Chemistry*. 3nd ed. Maryland : Aspen.

Dewanto, V., Wu, X. and Liu, R.H. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 50(17) : 4959-4964.

Emaga, T.H., Andrianaivo, R.H., Wathelet, B., Tchango, J.T. and Paquot, M. 2007. Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. *Food Chem.* 103(2) : 590-600.

Frankel, E.N. and Meyer, A.S. 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J. Sci. Food Agric.* 80(13) : 1925-1941.

Friedman, M. and Jurgens, H.S. 2000. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 48(6) : 2101-2110.

Germano, M.P., Angelo, V.D., Biasini, T., Sanogo, R., Pasquale, R.D. and Catania, S. 2006. Evaluation of the antioxidant properties and bioavailability of free and bound phenolic acids from *Trichilia emetica* Vahl. *J. Ethnopharmacology*. 105(3) : 368-373.

Gorinstein, S., Belloso, O.M., Park, Y.S., Haruenkit, R., Lojek, A., Ciz, M., Caspi, A., Libman, I. and Trakhtenberg, S. 2001. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chem.* 74(3) : 309-315.

Guillot, F.L., Malnoee, A. and Stadler, R.H. 1996. Antioxidant properties of novel tetratraoxygenated phenylindan isomers formed during thermal decomposition of caffeic acid. *J. Agric. Food Chem.* 44(9) : 2503-2510.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., and Cross, C.E. 1992. Free radicals, antioxidants and human disease : Where are we now?. *J. Lab. Clin. Med.* 119(6) : 598-620.

Hamilton, R.J. 1994. The chemistry of rancidity in foods. 7-10. in Allen, J.C. and Hamilton, R.J. *Rancidity in Foods*. 3nd ed. Glasgow : Chapman and Hall.

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.

Juntachot, T. and Berghofer, E. 2005. Antioxidative properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal. *Food Chem.* 92(2) : 193-202.

Kang, H.J., Chawla, S.P., Jo, C., Kwon, J.H. and Byun, M.W. 2006. Studies on the development of functional powder from citrus peel. *Bioresource Technology*. 97(4) : 614-620.

Karakaya, S. 2004. Bioavailability of phenolic compounds. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44(6) : 453-464.

Kim, S.Y., Jeong, S.M., Park, W.P., Nam, K.C., Ahn, D.U. and Lee, S.C. 2006. Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. *Food Chem.* 97(3) : 472-479.

Kumar, G.S., Nayaka, H., Dharmesh, S.M. and Salimath, P.V. 2006. Free and bound phenolic antioxidants in amla (*Emblica officinalis*) and turmeric (*Curcuma longa*). *J. Food Comp. Anal.* 19(5) : 446-452.

Kusznierewicz, B., Smiechowska, A., Bartoszek, A. and Namiesnik, J. 2008. The effect of heating and fermenting on antioxidant properties of white cabbage. *Food Chem.* 108(3) : 853-861.

Lee, S.C., Jeong, S.M., Kim, S.Y., Park, H.R., Nam, K.C. and Ahn, D.U. 2006. Effect of far-infrared radiation and heat treatment on the antioxidant activity of water extracts from peanut hulls. *Food Chem.* 94(4) : 489-493.

Li, B.B., Smith, B. and Hossain, Md.M. 2006. Extraction of phenolics from citrus peels I. Solvent extraction method. *Separation and Purification Techn.* 48(2) :182-188.

Lim, Y.Y. and Murtijaya, J. 2007. Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying method. *LWT-Food Sci. Technol.* 40(9) : 1664-1669.

Maisuthisakul, P., Suttajit, M. and Pongsawatmanit, R. 2007. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chem.* 100(4) : 1409-1418.

Manzocco, L., Calligaris, S., Mastrocola, D., Nicoli, M.C. and Lerici, C.R. 2000. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends Food Sci. Technol.* 11(9-10) : 340-346.

Mokbel, M.S. and Hashinaga, F. 2005. Antibacterial and antioxidant activities of banana (*Musa*, AAA cv. Cavendish) Fruits Peel. *Am. J. Biochem.Biotech.* 1(3): 126-132.

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.

Piva, A., Mattia, C.D., Neri, L., Dimitri, G., Chiarini, M. and Sacchetti, G. 2008. Heat-induced chemical, physical and functional changes during grape must cooking. *Food Chem.* 106(3) : 1057-1065.

Podsedek, A. 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables : A review. *LWT-Food Sci. Technol.* 40(1) : 1-11.

Rehman, Z.U. 2006. Citrus peel extract-A natural source of antioxidant. *Food Chem.* 99(3) : 450-454.

Shahidi, F. and Naczk, M. 1995. *Food Phenolics* : sources, chemistry, effects, application. Lancaster : Technomic.

Siddhuraju, P. 2007. Antioxidant activity of polyphenolic compounds extracted from defatted raw and dry heated *Tamarindus indica* seed coat. *LWT-Food Sci. Technol.* 40(6) : 982-990.

Someya, S., Yoshiki, Y. and Okubo, K. 2002. Antioxidant compounds from bananas (*Musa Cavendish*). *Food Chem.* 79(3) : 351-354.

Soong, Y.Y. and Barlow, P.J. 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chem.* 88(3) : 411-417.

Sun, J., Chu, Y.F., Wu, X. and Liu, R.H. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *J. Agric. Food Chem.* 50(25) : 7449-7454.

Ungar, Y., Osundahunsi, O.F. and Shimoni, E. 2003. Thermal stability of genistein and daidzein and its effect on their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 51(15) : 4394-4399.

Willcox, J.K., Ash, S.L. and Catignani, G.L. 2004. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44(4) : 275-295.

Xu, G.. Ye, X., Chen, J. and Liu, D. 2007. Effect of heat treatment on the phenolic compounds and antioxidant capacity of citrus peel extract. *J. Agric. Food Chem.* 55(2) : 330-335.

Yamazaki, E., Inagaki, M., Kurita, O. and Inous, T. 2007. Antioxidant activity of Japanese pepper (*Zanthoxylum piperitum* DC.) fruit. *Food Chem.* 100(1) : 171-177.

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จะใช้วิธีที่รายงานโดยประพันธ์และวันทนีย์ (2545) โดยมีหลักการคือ สารประกอบฟีนอลิกจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถติดตามโดยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร และใช้กรดแกลลิกเป็นสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐาน

1. สารเคมี

1.1 Folin-Ciocalteu

1.2 โซเดียมคาร์บอเนต ($NaCO_3$) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

1.3 สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2. การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

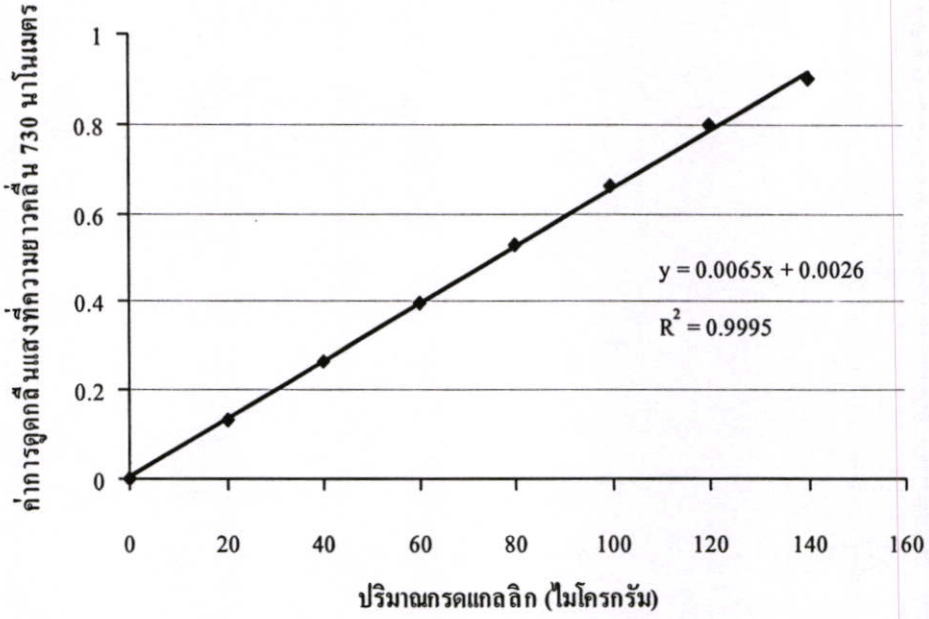
2.2 ปีเปตสารละลายมาตรฐานดังกล่าวใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30 และ 0.35 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร

2.3 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vertex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที

2.4 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vertex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

2.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank

2.6 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม



รูปที่ ก1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัด

3.1 ปิเปตตัวอย่างสารสกัดใส่ในหลอดทดลอง และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร

3.2 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vertex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที

3.3 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vertex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร

3.5 สำหรับ blank ให้ใช้ตัวทำละลายแทนตัวอย่างสารสกัดในข้อ 3.1 ในปริมาณที่เท่ากัน

3.6 คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัด

4. ตัวอย่างการคำนวณ

4.1 การคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างเปลือกมะม่วงแก้ว สำหรับผลการทดลองในข้อ 4.1

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว 1.5 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ได้เท่ากับ 0.4260 ซึ่งสารสกัดดังกล่าวเตรียมได้จากการเจือจางสารสกัดเข้มข้น 1 มิลลิลิตรด้วยเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ให้มีปริมาตรสุดท้ายเป็น 25 มิลลิลิตร และสารสกัดเข้มข้นดังกล่าวเตรียมได้จากเปลือกมะม่วงแก้วแห้งบดละเอียด 0.5 กรัมน้ำหนักแห้งต่อเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างเปลือกมะม่วงแก้ว โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้แทนค่าลงในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

จากสมการ $y = 0.0065x + 0.0026$

$0.4260 = 0.0065x + 0.0026$

$x = 65.14$ ไมโครกรัม

สารสกัด 1.5 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดแกลลิก 65.14 ไมโครกรัม

ถ้า สารสกัด 25 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดแกลลิก 1085.67 ไมโครกรัม

ตัวอย่างสารสกัด 25 มิลลิลิตร เตรียมได้จากการเจือจางสารสกัดเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ด้วยเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ โดยปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้เป็น 25 มิลลิลิตร

นั่นคือ สารสกัดเข้มข้น 1 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดแกลลิก 1085.67 ไมโครกรัม

สารสกัดเข้มข้น 50 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดแกลลิก 54283.50 ไมโครกรัม

ซึ่งตัวอย่างสารสกัดเข้มข้น 50 มิลลิลิตร เตรียมได้จากเปลือกมะม่วงแก้วแห้งบดละเอียด 0.5 กรัมน้ำหนักแห้ง

นั่นคือ เปลือกมะม่วงแก้ว 0.5 กรัม นน.แห้ง มีปริมาณกรดแกลลิก 54283.50 ไมโครกรัม

เปลือกมะม่วงแก้ว 1 กรัม นน.แห้ง มีปริมาณกรดแกลลิก 108567 ไมโครกรัม

หรือเท่ากับ 108.57 มิลลิกรัม

ดังนั้น เปลือกมะม่วงแก้วจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 108.57 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมตัวอย่างแห้ง

4.2 การคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว สำหรับผลการทดลองในข้อ 4.4

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดใช้สารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ระดับความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาณ ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ที่ pH 9 0.3 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ได้เท่ากับ 0.3794 ซึ่งสารละลายสารสกัด 0.3 มิลลิลิตรที่นำมาวิเคราะห์นั้นได้มาจากสารละลายสารสกัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองที่ผ่านการให้ความร้อนภายใต้สภาวะดังกล่าว

คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้แทนค่าลงในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

จากสมการ $y = 0.0065x + 0.0026$

$0.3794 = 0.0065x + 0.0026$

$x = 57.97$ ไมโครกรัม

สารละลายสารสกัด 0.3 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดแกลลิก 57.97 ไมโครกรัม

ดังนั้น สารละลายสารสกัด 10 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดแกลลิก 1932.33 ไมโครกรัม

หรือเท่ากับ 1.93 มิลลิกรัม

นั่นคือ สารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ระดับความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาณ ในหลอดทดลองที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ที่ pH 9 จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1.93 มิลลิกรัมกรดแกลลิก

การคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ที่ pH 9 ในหน่วยเปอร์เซ็นต์คงเหลือจะคำนวณโดยเปรียบเทียบกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ pH 9 โดยให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารละลายสารสกัดที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนเป็น 100 เปอร์เซ็นต์

ซึ่งจากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่าสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วในหลอดทดลองที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ที่ pH 9 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 2.26 มิลลิกรัมกรดแกลลิก และพบว่าสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วใน

หลอดทดลองที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ที่ pH 9 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1.93 มิลลิกรัมกรดแกลลิก

นั่นคือ สารละลายสารสกัดในหลอดทดลองที่ไม่ให้ความร้อนจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 2.26 มิลลิกรัมกรดแกลลิก ซึ่งคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์

สารละลายสารสกัดในหลอดทดลองที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1.93 มิลลิกรัมกรดแกลลิก คิดเป็น 85.40 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้น สารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ระดับความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาณ ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ที่ pH 9 จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดคงเหลือเพียง 85.40 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ที่ pH ดังกล่าว

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จะใช้วิธีที่รายงานโดย Murakami และคณะ (2004) โดยมีหลักการคือเมื่อสารละลายของอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งมีสีม่วงแดงทำปฏิกิริยากับสารสกัดที่มีสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากสีม่วงแดงเป็นไม่มีสีหรือมีสีจางลง ซึ่งในกรณีที่สารสกัดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดี จะทำให้สีม่วงแดงของสารละลาย DPPH จางลงได้มากกว่าสารสกัดที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้น้อย สามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงโดยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

1. สารเคมี

1.1 สารละลาย DPPH ความข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ เตรียมโดยชั่ง DPPH 0.0158 กรัม ละลายในเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร

1.2 เอธานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์

2. วิธีวิเคราะห์

2.1 ปิเปตตัวอย่างสารสกัดและเอธานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ลงในหลอดทดลอง โดยให้ปริมาตรรวมของตัวอย่างสารสกัดและเอธานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ในหลอดเป็น 5.4 มิลลิลิตร

2.2 ปิเปตสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ 0.6 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง ซึ่งปริมาตรของสารละลายที่ทำปฏิกิริยารวมทั้งหมดในหลอดทดลองเป็น 6 มิลลิลิตร

2.3 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที

2.4 ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอธานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็น blank และในหลอดควบคุมจะใช้ตัวทำละลายแทนตัวอย่างสารสกัดในข้อ 2.1 ในปริมาณที่เท่ากัน

2.5 คำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

3. ตัวอย่างการคำนวณ

3.1 การคำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างเปลือกมะม่วงแก้ว สำหรับผลการทดลองในข้อ 4.2.1

ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างเปลือกมะม่วงแก้ว ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสารสกัดที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ได้ 0.3718 และตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุมได้ 0.9037 คำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยแทนค่าลงในสมการ

(1-(ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง/ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม)) x 100

= (1-(0.3718/0.9037)) x 100

= 58.86

ดังนั้น เปลือกมะม่วงแก้วมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH 58.86 เปอร์เซ็นต์

3.2 การคำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว สำหรับผลการทดลองในข้อ 4.5.1

การคำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วจะคำนวณเหมือนกับของตัวอย่างเปลือกมะม่วงแก้วทุกประการ เพียงแต่หลังจากคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH แล้ว จะต้องคำนวณต่อให้อยู่ในหน่วยเปอร์เซ็นต์คงเหลือ โดยเปอร์เซ็นต์คงเหลือของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ที่ pH 9 จะคำนวณโดยเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ pH 9 โดยให้เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารละลายสารสกัดที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนเป็น 100 เปอร์เซ็นต์

ซึ่งจากการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ระดับความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาณ ในหลอดทดลองที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ที่ pH 9 จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH 42.62 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วในหลอดทดลองที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ที่ pH 9 จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH 34.37 เปอร์เซ็นต์

นั่นคือ สารละลายสารสกัดในหลอดทดลองที่ไม่ให้ความร้อนมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH 42.62 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์

สารละลายสารสกัดในหลอดทดลองที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH 34.37 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งคิดเป็น 80.64 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้น สารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ระดับความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาณ ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ที่ pH 9 จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH คงเหลือเพียง 80.64 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ที่ pH ดังกล่าว

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric Reducing Antioxidant Power, FRAP)

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก จะใช้วิธีที่รายงานโดย Benzie และ Strain (1996) โดยมีหลักการ คือ ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด สารที่มีสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจะรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (Fe^{III}-TPTZ) ให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูปของเกลือเฟอร์รัส (Fe^{II}-TPTZ) และเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ให้สารสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถติดตามโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

1. สารเคมี

1.1 อะซิเตต บัฟเฟอร์ (Acetate buffer) pH 3.6 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

1.2 สารละลาย TPTZ (2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ใน HCl ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์

เตรียมโดยชั่ง TPTZ 0.1562 กรัม ละลายใน HCl ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร

1.3 สารละลาย Iron (III) chloride hexahydrate ($FeCl_3.6H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

เตรียมโดยชั่ง $FeCl_3.6H_2O$ 0.2703 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร

1.4 FRAP reagent

เตรียมโดยผสมสารละลายที่เตรียมไว้ทั้งหมดดังที่กล่าวมาข้างต้น โดยให้มีอัตราส่วนของอะซิเตต บัฟเฟอร์ : สารละลาย TPTZ : สารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ เป็น 10 : 1 : 1 โดยปริมาตร ตามลำดับ ซึ่งต้องเตรียมใหม่ทุกวัน

2. การเตรียมกราฟมาตรฐานโทรอกซ์

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานโทรอกซ์ความเข้มข้นเริ่มต้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

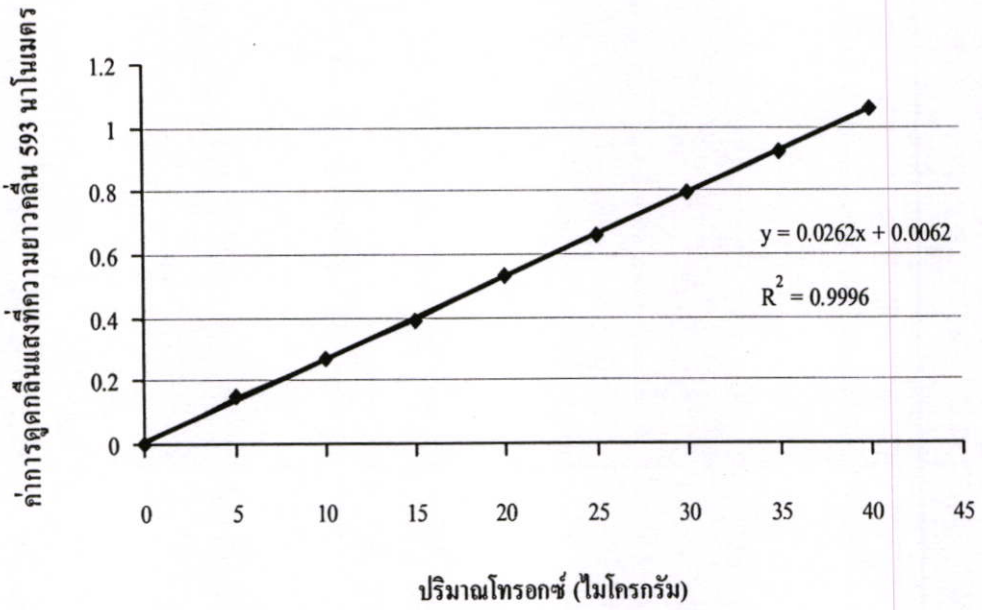
2.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานดังกล่าวใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14 และ 0.16 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 0.2 มิลลิตร

2.3 เติมสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 6 มิลลิลิตร

2.4 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 นาที

2.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยใช้เอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์เป็น blank

2.6 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณโทรอกซ์ในหน่วยไมโครกรัม



รูปที่ ค1 กราฟมาตรฐานโทรอกซ์ในการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก

3. การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกในตัวอย่างสารสกัด

3.1 ปิเปตตัวอย่างสารสกัดลงในหลอดทดลอง และปรับปริมาตรด้วยเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 0.2 มิลลิตร

3.2 เติมสารละลาย FRAP reagent 6 มิลลิลิตร

3.3 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 นาที

3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

3.5 สำหรับ blank ให้ใช้ตัวทำละลายแทนตัวอย่างสารสกัดในข้อ 3.1 ในปริมาณที่เท่ากัน

3.6 คำนวณความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกในตัวอย่างสารสกัด

4. ตัวอย่างการคำนวณ

4.1 การคำนวณความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างเปลือกมะม่วงแก้ว สำหรับผลการทดลองในข้อ 4.2.2

ในการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว 0.2 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ได้เท่ากับ 0.3967 ซึ่งสารสกัดดังกล่าวเตรียมได้จากการเจือจางสารสกัดเข้มข้น 1 มิลลิลิตรด้วยเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ให้มีปริมาตรสุดท้ายเป็น 25 มิลลิลิตร และสารสกัดเข้มข้นดังกล่าวเตรียมได้จากเปลือกมะม่วงแก้วแห้งบดละเอียด 0.5 กรัมน้ำหนักแห้งต่อเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

คำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างเปลือกมะม่วงแก้ว โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ตรวจวัดได้แทนค่าลงในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานโทรอกซ์

จากสมการ $y = 0.0262x + 0.0062$

$0.3967 = 0.0262x + 0.0062$

$x = 14.90$ ไมโครกรัม

สารสกัด 0.2 มิลลิลิตร มีปริมาณโทรอกซ์อยู่ 14.90 ไมโครกรัม

ถ้า สารสกัด 25 มิลลิลิตร มีปริมาณโทรอกซ์อยู่ 1862.5 ไมโครกรัม

ตัวอย่างสารสกัด 25 มิลลิลิตร เตรียมได้จากการเจือจางสารสกัดเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ด้วยเอธานอล 70 ปอร์เซ็นต์ โดยปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้เป็น 25 มิลลิลิตร

นั่นคือ สารสกัดเข้มข้น 1 มิลลิลิตร มีปริมาณโทรอกซ์อยู่ 1862.5 ไมโครกรัม

สารสกัดเข้มข้น 50 มิลลิลิตร มีปริมาณโทรอกซ์อยู่ 93125 ไมโครกรัม

ซึ่งตัวอย่างสารสกัดเข้มข้น 50 มิลลิลิตร เตรียมได้จากเปลือกมะม่วงแก้วแห้งบดละเอียด 0.5 กรัมน้ำหนักแห้ง

นั่นคือ เปลือกมะม่วงแก้ว 0.5 กรัม นน.แห้ง มีปริมาณโทรอกซ์อยู่ 93125 ไมโครกรัม

เปลือกมะม่วงแก้ว 1 กรัม นน.แห้ง มีปริมาณโทรอกซ์อยู่ 186250 ไมโครกรัม

หรือเท่ากับ 186.25 มิลลิกรัม

ดังนั้น เปลือกมะม่วงแก้วจะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก 186.25 มิลลิกรัมโทรอกซ์/กรัมตัวอย่างแห้ง

4.2 การคำนวณความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว สำหรับผลการทดลองในข้อ 4.5.2

ในการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกจะใช้สารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ระดับความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาณ ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ที่ pH 9 0.05 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ได้เท่ากับ 0.4847 ซึ่งสารละลายสารสกัด 0.05 มิลลิลิตรที่นำมาวิเคราะห์นั้นได้มาจากสารละลายสารสกัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองที่ผ่านการให้ความร้อนภายใต้สภาวะดังกล่าว

คำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้แทนค่าลงในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานโทรอกซ์

จากสมการ $y = 0.0262x + 0.0062$

$0.4847 = 0.0262x + 0.0062$

$x = 18.26$ ไมโครกรัม

สารละลายสารสกัด 0.05 มิลลิลิตร มีปริมาณโทรอกซ์อยู่ 18.26 ไมโครกรัม

ดังนั้น สารละลายสารสกัด 10 มิลลิลิตร มีปริมาณโทรอกซ์อยู่ 3652 ไมโครกรัม

หรือเท่ากับ 3.65 มิลลิกรัม

นั่นคือ สารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ระดับความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาณในหลอดทดลองที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ที่ pH 9 จะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเท่ากับ 3.65 มิลลิกรัมโทรอกซ์

การคำนวณความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ที่ pH 9 ในหน่วยเปอร์เซ็นต์ คงเหลือจะคำนวณโดยเปรียบเทียบกับความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ pH 9 โดยให้ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารละลายสารสกัดที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนเป็น 100 เปอร์เซ็นต์

ซึ่งจากการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกพบว่าสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วในหลอดทดลองที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ที่ pH 9 จะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก 4.45 มิลลิกรัมโทรอกซ์ และพบว่าสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วใน

หลอดทดลองที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ที่ pH 9 จะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก 3.65 มิลลิกรัมโทรอกซ์

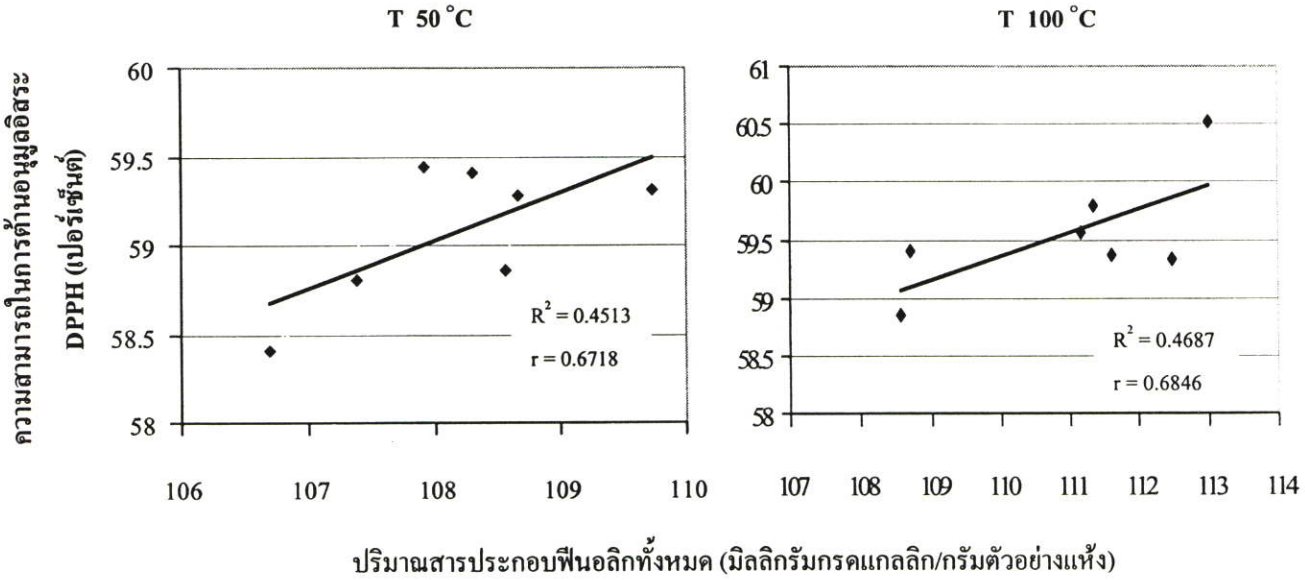
นั่นคือ สารละลายสารสกัดในหลอดทดลองที่ไม่ให้ความร้อนมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก 4.45 มิลลิกรัมโทรอกซ์ ซึ่งคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์

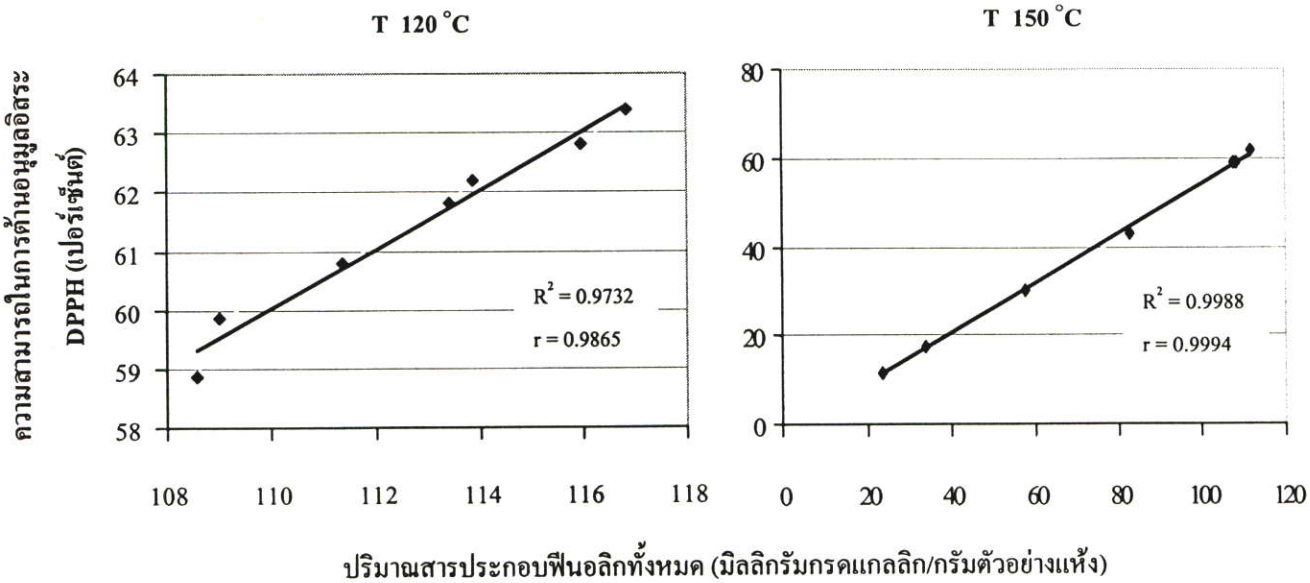
สารละลายสารสกัดในหลอดทดลองที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก 3.65 มิลลิกรัมโทรอกซ์ ซึ่งคิดเป็น 82.02 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้น สารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ระดับความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาณ ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ที่ pH 9 จะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกคงเหลือเพียง 82.02 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ที่ pH ดังกล่าว

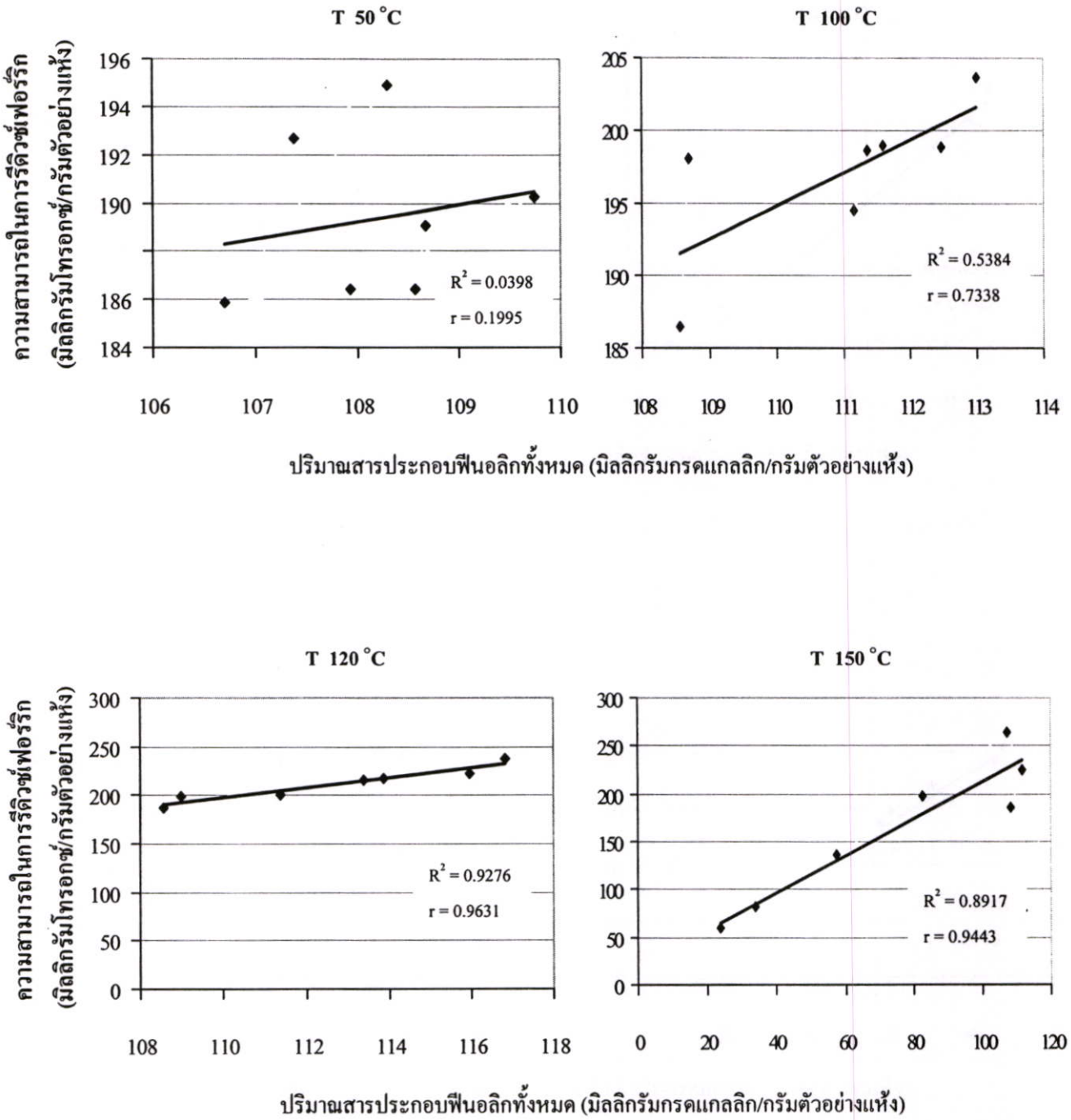
ภาคผนวก ง

ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างเปลือกผลไม้ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ

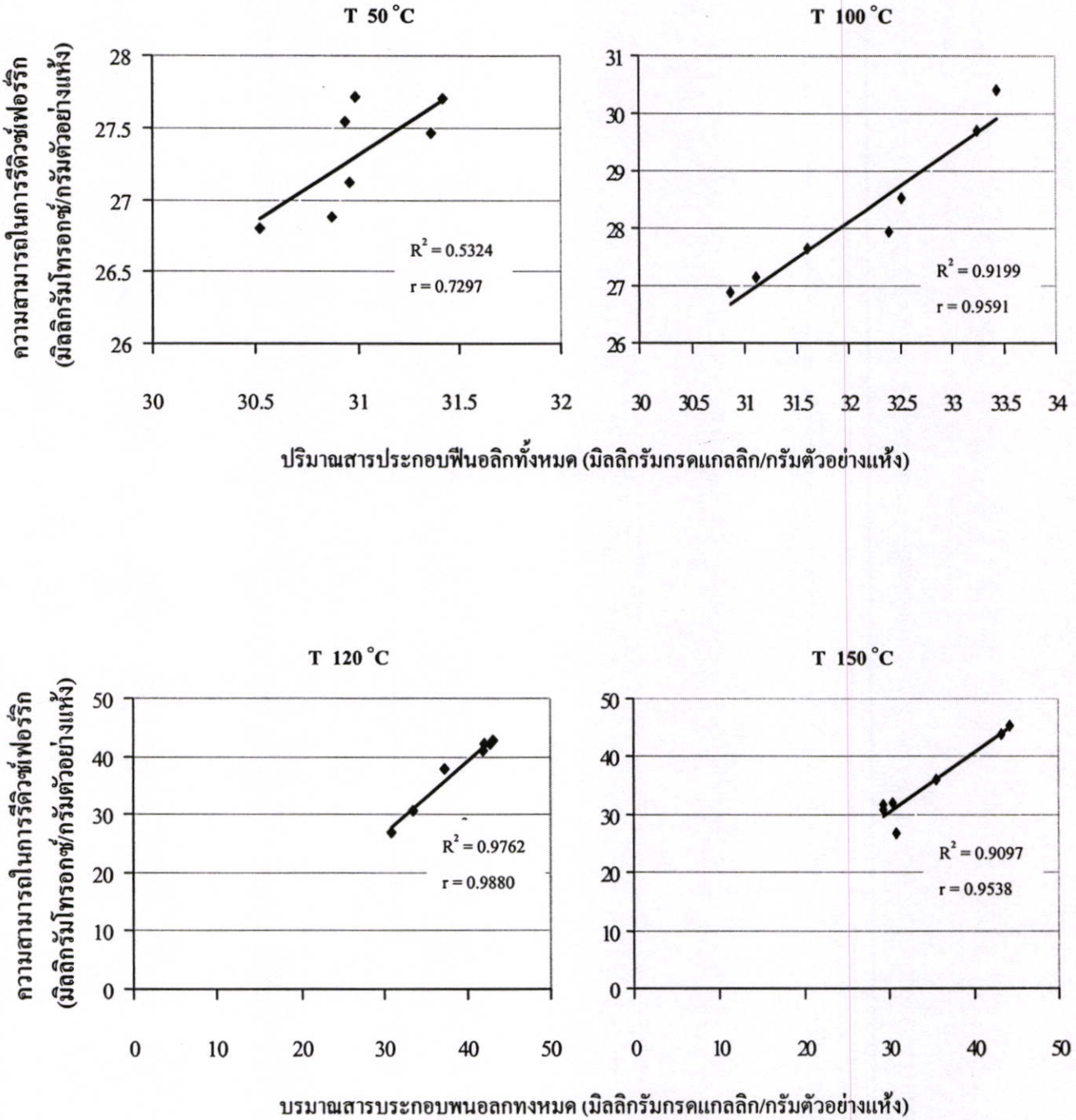




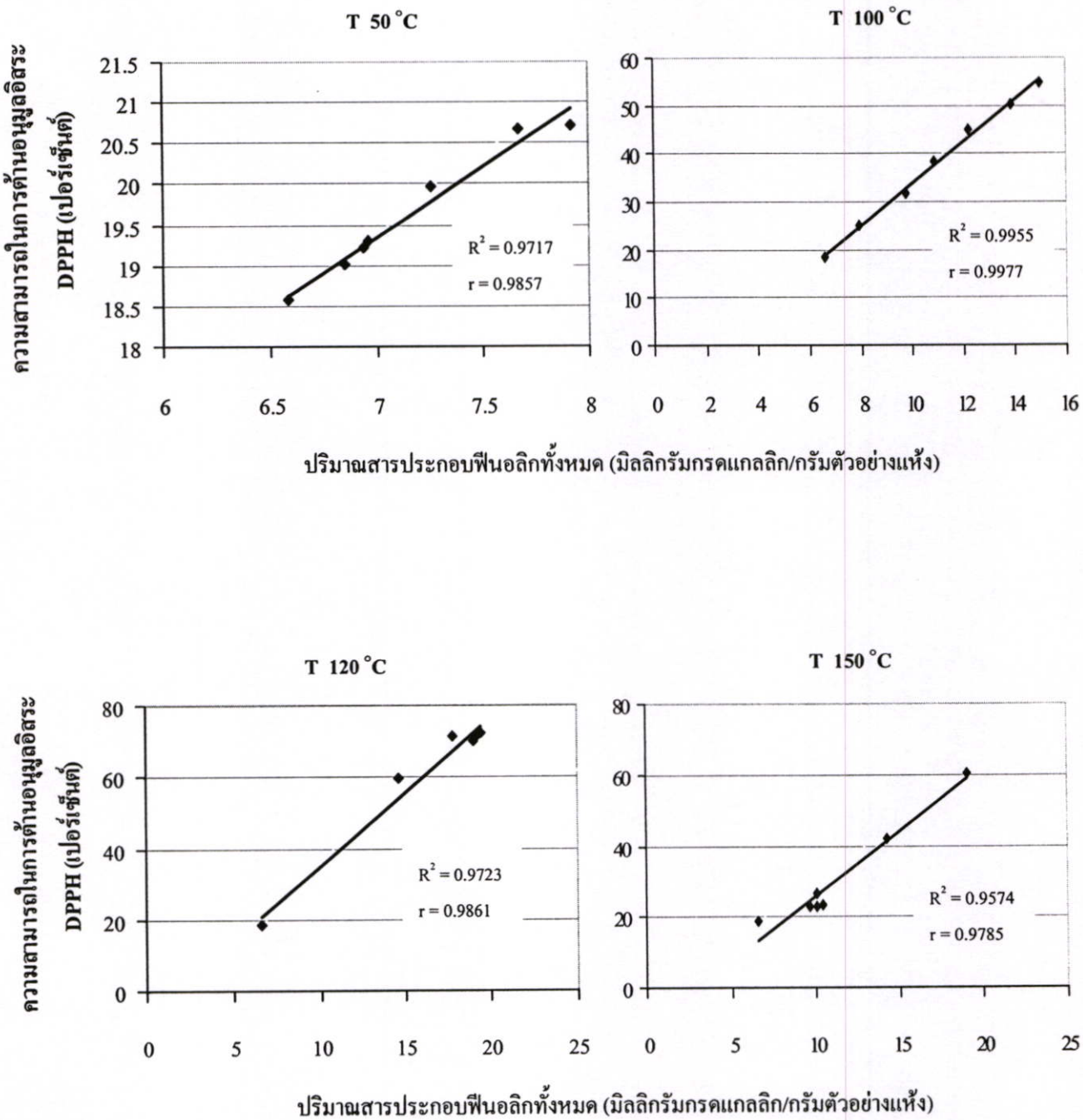
รูปที่ ง1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ



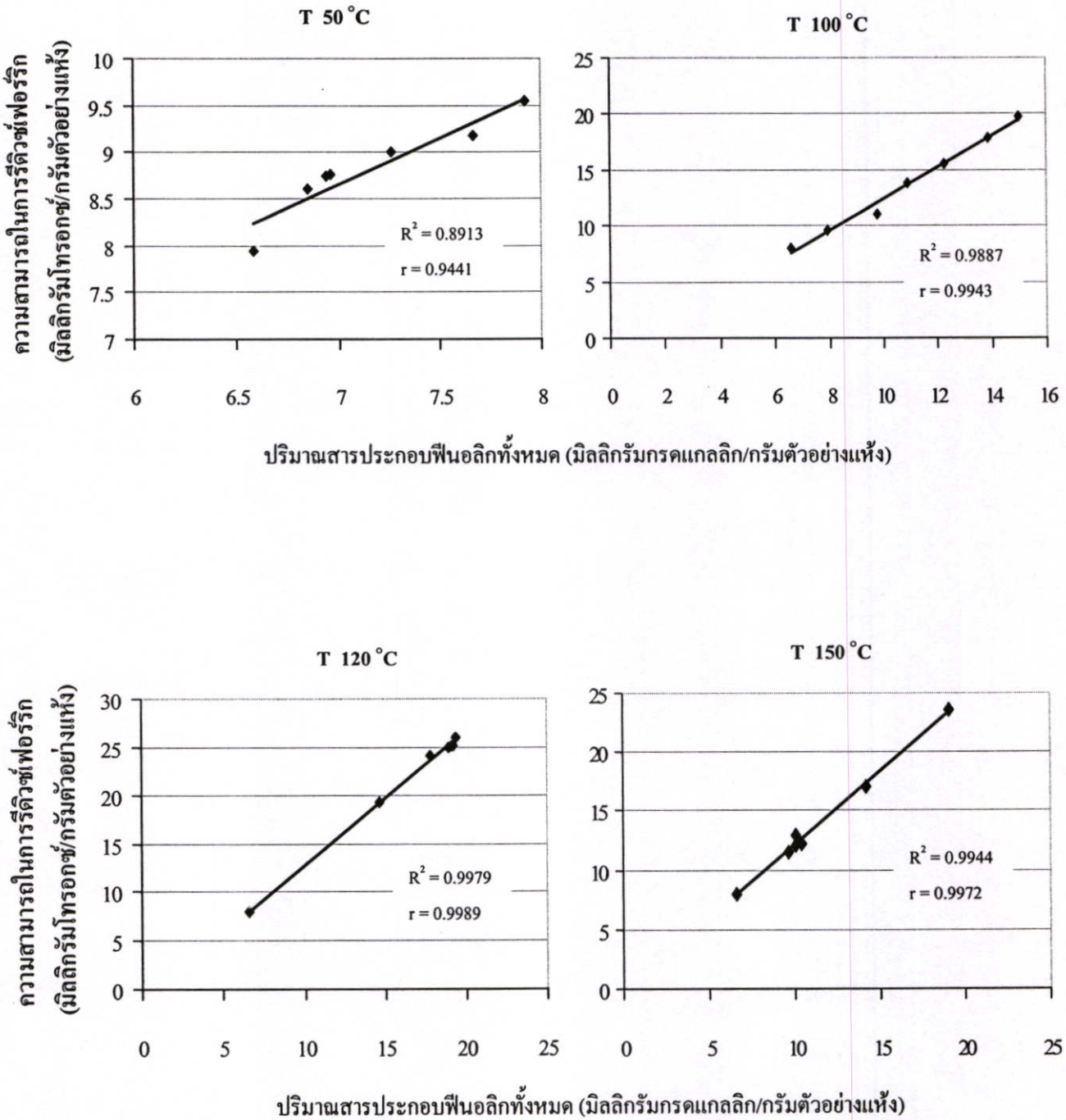
รูปที่ ง2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของเปลือกมะม่วงแก้วที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ



รูปที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของเปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ



รูปที่ ง5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ



รูปที่ 16 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ

ประวัติผู้เขียน

นางสาวดลฤดี จันทรปาโล เกิดวันที่ 8 มีนาคม พ.ศ. 2523 ที่จังหวัดสงขลา สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร จากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี เมื่อปี พ.ศ. 2544 และศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร และสำเร็จในปี พ.ศ. 2550