ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

PHENOLIC CONTENTS AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF BANANA (NAM-WA) PEEL AND PULP EXTRACTS AT DIFFERENT DEGREES OF RIPENING

ชุลีกร สินธพรัตนะ
CHULEEKORN SINTHOPRATTANA

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2549

ISBN 974-15-2461-7

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

PHENOLIC CONTENTS AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF BANANA (NAM-WA) PEEL AND PULP EXTRACTS AT DIFFERENT DEGREES OF RIPENING

ชุลีกร สินธพรัตนะ
CHULEEKORN SINTHOPRATTANA

เลขหมู่.......................
เลขทะเบียน 63340
วัน เดือน ปี 25 ส.ค. 2549

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2549

ISBN 974-15-2461-7

PHENOLIC CONTENTS AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF BANANA (NAM-WA) PEEL AND PULP EXTRACTS AT DIFFERENT DEGREES OF RIPENING

CHULEEKORN SINTHOPRATTANA

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2006

ISBN 974-15-2451-7

COPYRIGHT 2006

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน
นักศึกษา	นางสาว ชุลีกร สินธพรัตนะ
รหัสประจำตัว	46066604
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหาร
พ.ศ.	2549
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ผศ. ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม

บทคัดย่อ

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า [Musa (ABB group) Kluai Nam wa] ที่ระดับความสุก 8 ระดับ พบว่า เมื่อระดับความสุกของกล้วยเพิ่มขึ้น ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้ามีแนวโน้มลดลง โดยที่เปลือกกล้วยจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าเนื้อกล้วยที่ทุกระดับความสุก ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าจะอยู่ในช่วง 47.97 ถึง 198.29 และ 175.19 ถึง 287.56 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ และเมื่อระดับความสุกของกล้วยน้ำว้าเพิ่มขึ้น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยวิธี ferric thiocyanate colorimetric method (FTC) ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีแนวโน้มลดลง โดยสอดคล้องกับปริมาณโพลีฟีนอลที่ลดลง

เมื่อวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบต่าง ๆ ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 1 และ 6 พบว่า สารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ °OH ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $O_2^{\bullet -}$ ความสามารถในการทำลาย H_2O_2 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) สูงกว่าสารสกัดจากเนื้อกล้วยน้ำว้า นอกจากนี้สารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 1 จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 6 และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ ในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุก 1 และ 6 พบว่า เนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าทั้งสองระดับความสุก มีปริมาณกรดแกลลิกมากที่สุด ในขณะที่กรดโปรโตแคทิชิวอิก กรดพาราคูมาริก และ กรดเฟอรูลิก มีปริมาณค่อนข้างใกล้เคียงกัน และเปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีปริมาณกรดฟีนอลิกทุกชนิดสูงกว่าเนื้อกล้วยน้ำว้าทั้งสองระดับความสุกที่ศึกษา

Thesis	Phenolic contents and antioxidant properties of banana (Nam-wa) peel and pulp extracts at different degrees of ripening
Student	Miss Chuleekorn Sinthoprattana
Student ID	46066604
Degree	Master of Science
Programme	Food Science
Year	2006
Thesis Advisor	Assist. Prof. Dr. Praphan Pinsirodom

ABSTRACT

Total polyphenol contents in banana [Musa (ABB group) Kluai Nam wa] pulp and peel at 8 levels of degree of ripening were analyzed. The total polyphenol contents decreased as the degrees of ripening increased and were greater in peel (175.19 to 287.56 mg gallic acid/100 g fresh wt.) than in pulp (47.97 to 198.29 mg gallic acid/100 g fresh wt.) at every degree of ripening. The decreased total polyphenol contents towards the degrees of banana ripening observed were correlated with decreases in DPPH radical scavenging capacity and inhibition of linoleic acid oxidation measured by ferric thiocyanate colorimetric method (FTC).

Antioxidant and antiradical properties of the extracts from banana pulp and peel at level 1 and 6 of ripening stage were evaluated using various methods; including DPPH radical scavenging, hydroxyl radical scavenging, superoxide radical scavenging, hydrogen peroxide scavenging, ferric thiocyanate colorimetric method (FTC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP). It was found that, the antioxidant capacities were higher in peel extracts than in pulp extracts for all samples evaluated. In addition, the extracts from both pulp and peel of banana at level 1 of ripening stage showed the higher antioxidant and antiradical properties compared to the extracts from level 6 of ripening stage. Phenolic acid with the highest contents found both in pulp and peel of banana at level 1 and 6 of ripening stage was gallic acid; whereas protocatechuic, p-coumaric and ferulic acid were found with lower contents. All phenolic acids studied were greater in peel than in pulp at both level 1 and 6 of ripening stage.

กิตติกรรมประกาศ

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

ขอขอบคุณพี่ เพื่อน และ น้องนักศึกษาปริญญาโท และ พี่ปริญญาเอก สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารที่มีน้ำใจ ให้ความช่วยเหลืออย่างดีมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และขอขอบคุณ พี่ และน้อง ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้มาโดยตลอด

ชุลีกร สินธพรัตนะ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....II

กิตติกรรมประกาศ.....III

สารบัญ.....IV

สารบัญตาราง.....VI

สารบัญรูป.....VII

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความสำคัญและที่มา.....1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....2

1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....3

บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....4

2.1 กล้วย.....4

2.2 อนุมูลอิสระ.....6

2.3 สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน.....7

2.4 สารประกอบฟีนอลิก.....7

2.5 กรดฟีนอลิก.....8

2.6 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของผลไม้.....10

2.7 สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในกล้วย.....12

บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการทดลอง.....14

3.1 วัสดุอุปกรณ์.....14

3.2 วิธีการดำเนินการทดลอง.....15

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....19

4.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางกายภาพบางประการของกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน.....19

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน.....23

4.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน.....26

4.4 การศึกษาความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบต่าง ๆ ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า.....33

4.5 การวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ ในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า.....38

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....41

บรรณานุกรม.....43

ภาคผนวก

ก. การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสีเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน.....47

ข. การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวส์ซึ่ง.....49

ค. การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด.....52

ง. การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี Ferric thiocyanate colorimetric method (FTC).....54

จ. การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบต่าง ๆ.....57

ฉ. การวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ.....72

ประวัติผู้เขียน.....77

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 พื้นที่การเพาะปลูกและผลผลิตกล้วยน้ำว้า ปีการเพาะปลูก 2535/36 ถึง 2543/44.........................6

4.1 องค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางกายภาพบางประการของกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุก ต่างกัน.........................21

4.2 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุก ต่าง ๆ.........................24

4.3 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระDPPH ของสารสกัดจากเนื้อกล้วยน้ำว้า ที่ระดับความสุกต่างกัน.........................26

4.4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระDPPH ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า ที่ระดับความสุกต่างกัน.........................27

4.5 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ของสารสกัดจากเนื้อ กล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน.........................30

4.6 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ของสารสกัดจากเปลือก กล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน.........................31

4.7 ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบ ต่าง ๆ ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า เปรียบเทียบกับวิตามินซี และ โทรอกซ์.....34

4.8 ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ ในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า.........................38

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 โครงสร้างทางเคมีของกรดแกลลิก.....9

2.2 วิถีทางของการสังเคราะห์สารกลุ่มฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) ในพืช.....10

4.1 การเปลี่ยนแปลงสีและลักษณะของผลกล้วยน้ำว้าทั้ง 8 ระดับความสุก.....20

4.2 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด.....23

4.3 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับ
ความสุกต่าง ๆ.....24

4.4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระDPPH ของสารสกัดจากเนื้อกล้วยน้ำว้า
ที่ระดับความสุกต่างกัน.....27

4.5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระDPPH ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า
ที่ระดับความสุกต่างกัน.....28

4.6 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ของสารสกัดจาก
เนื้อกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน.....30

4.7 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ของสารสกัดจาก
เปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน.....31

จ 1 กราฟมาตรฐานของสารละลาย DPPH.....59

จ 2 กราฟปริมาณ DPPH ที่เหลือ เมื่อใช้สารสกัดจากเนื้อกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 6
ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....60

จ 3 กราฟเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ° OH เมื่อใช้สารสกัด
จากเนื้อกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 1 ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....62

จ 4 กราฟเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot-}$ เมื่อใช้สารสกัด
จากเนื้อกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 6 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....64

จ 5 กราฟเปอร์เซนต์ความสามารถในการทำลาย H_2O_2 เมื่อใช้สารสกัดจากเปลือก
กล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 6 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....66

จ 6 กราฟเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTCเมื่อใช้
สารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 6 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....68

จ 7 กราฟมาตรฐานของวิตามินซีในการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก.....71

จ 8 กราฟมาตรฐานของโทรอกซ์ในการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก.....71

ฉ 1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแกลลิก.....75

ฉ 2 กราฟมาตรฐานของกรดพาราคูมาริกในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดพาราคูมาริก.....75

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

ฉ 3 กราฟมาตรฐานของกรดเฟอรูลิกในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเฟอรูลิก....................................76

ฉ 4 กราฟมาตรฐานของกรดโปรโตแคทิชิวอิกในการวิเคราะห์หาปริมาณกรด
โปรโตแคทิชิวอิก..76

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

เป็นที่ทราบกันดีว่า การบริโภคอาหารประเภทผักและผลไม้เป็นประจำมีส่วนช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคหัวใจ, โรคความดันโลหิตสูง, โรคเบาหวาน, โรคมะเร็ง เป็นต้น ซึ่งสาเหตุเบื้องต้นสำคัญของการเกิดโรคร้ายแรงต่าง ๆ นั้น เกี่ยวข้องกับสภาวะที่ร่างกายขาดความสมดุลระหว่างปริมาณอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นหรือได้รับเข้าสู่ร่างกาย และการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยที่ปริมาณอนุมูลอิสระที่ได้รับสูงกว่าความสามารถที่ร่างกายจะกำจัดได้ทัน ซึ่งเรียกสภาวะดังกล่าวว่า oxidative stress ซึ่งอนุมูลอิสระที่เพิ่มมากขึ้นจะเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ในร่างกายทำให้เกิดสภาวะทางพยาธิสภาพของโรคต่าง ๆ ดังกล่าว

ผักและผลไม้เป็นแหล่งของสารพฤกษเคมีที่มีสมบัติในการทำลายอนุมูลอิสระ หรือต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี สารประกอบที่รู้จักกันดีได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) โดยประกอบด้วยสารหลายชนิดและที่พบมากในพืชคือ กรดฟีนอลิก (phenolic acids) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ดังนั้นการบริโภคผักและผลไม้เป็นประจำจึงมีผลดีต่อสุขภาพ

กล้วยเป็นผลไม้ที่มีการบริโภคมากที่สุดชนิดหนึ่งของโลก ทำให้กล้วยเป็นแหล่งใหญ่ที่สุดของสารประกอบฟีนอลิกที่มนุษย์ได้รับ (Vinson et al., 2001) Kanazawa และ Sakakibara (2000) พบว่าสารสกัดจากกล้วยหอมมีองค์ประกอบของโดพามีน (dopamine) ซึ่งมีสมบัติในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีกว่า BHT และสารประกอบฟีนอลิกต่างๆหลายชนิด นอกจากนี้ Someya และคณะ (2002) ยังรายงานว่า สารสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยหอมมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ดี โดยที่ประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกกล้วยสูงกว่าการสกัดจากเนื้อกล้วยถึง 2.2 เท่า สารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญซึ่งพบในสารสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยหอมดังกล่าว ได้แก่ แกลโลคาเทชิน (gallocatechin) คาเทชิน (catechin) และ อิพิคาเทชิน (epicatechin)

กล้วยน้ำว้าเป็นกล้วยที่มีการปลูกมากเป็นอันดับหนึ่งในประเทศไทย เมื่อเปรียบเทียบกับกล้วยชนิดอื่น ปลูกง่ายโตเร็ว ให้ผลผลิตตลอดทั้งปี และเป็นที่นิยมบริโภคกันมาก นอกจากนั้นการผลิตกล้วยน้ำว้าในประเทศไทยมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปี (กรมส่งเสริมวิชาการเกษตร, 2544) เนื้อกล้วยน้ำว้ามีคุณค่าทางโภชนาการสูง ให้พลังงานสูง โดยในเนื้อกล้วยมีวิตามินและแร่ธาตุที่สำคัญหลายชนิดเช่น ธาตุฟอสฟอรัส 43 มิลลิกรัม เบต้าแคโรทีน 54 มิลลิกรัม วิตามินซี 11 มิลลิกรัม จาก

น้ำหนักเนื้อกล้วย 100 กรัม นอกจากนี้กล้วยน้ำว้าทั้งผลดิบและผลสุก ยังใช้เป็นวัตถุดิบในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ในระดับอุตสาหกรรมหลายชนิด ได้แก่ กล้วยตาก กล้วยฉาบ กล้วยกวน เป็นต้น

โดยทั่วไปการแบ่งระยะความสุกของกล้วยหอมจะแบ่งเป็น 8 ระยะ ตามลักษณะปรากฏของสีเปลือก ผลสุกของกล้วยหอมที่เหมาะกับการบริโภคสด จะมีระยะความสุกอยู่ในระยะที่ 6 – 7 ระยะความสุกของกล้วยที่ต่างกันจะมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ตรวจพบในผลกล้วยด้วย โดยทั่วไปเมื่อกล้วยมีระยะความสุกเพิ่มขึ้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจะมีแนวโน้มลดลง (Kanazawa and Sakakibara, 2000)

สารที่ถือว่ามีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันควรมีคุณสมบัติข้อใดข้อหนึ่งหรือหลาย ๆ ข้อ ได้แก่ สมบัติในการทำลายอนุมูลอิสระ (free radical scavenging activity) สมบัติในการต้านออกซิเดชันของไขมัน (antilipoperoxidant activity) สมบัติในการต้านปฏิกิริยาอันเนื่องมาจากออกซิเจนและอนุพันธ์ (antioxigen and antireactive oxygen species activity) และสมบัติในการจับกับไอออนของโลหะ (chelating property) โดยที่สารแต่ละชนิดจะมีศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันแตกต่างกันไป นอกจากนี้สารชนิดเดียวกันอาจมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระแต่ละชนิดแตกต่างกันด้วย ดังนั้นในการประเมินความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือในการทำลายอนุมูลอิสระของสารใด ๆ จึงจำเป็นต้องใช้วิธีทดสอบหลาย ๆ วิธีในรูปแบบต่าง ๆ เพื่อให้ทราบถึงกลไกเบื้องต้นในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารนั้น ๆ

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของสารสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่าง ๆ
2. ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระหรือปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบต่าง ๆ ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า
3. ศึกษาปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ ในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระยะความสุกต่าง ๆ และศึกษาปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ รวมถึงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบต่าง ๆ ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า ข้อมูลที่ได้จากการทดลองทำให้ทราบถึงประโยชน์ของกล้วยน้ำว้าต่อสุขภาพ ในแง่ของปริมาณสารชีวกิจกรรม (Bioactive compounds) รวมถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและ/หรือออกซิเดชันของกล้วยน้ำว้า นอกจากนี้ยังเป็นฐานข้อมูลสำหรับการศึกษาในระดับต่อไป

บทที่ 2
ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 กล้วย

กล้วยเป็นพืชที่ชอบอากาศร้อนชื้น ถิ่นแรกของกล้วยอยู่ในแถบเอเชียตอนใต้ ซึ่งประกอบด้วยทางเหนือของอินเดีย พม่า เขมร และจีนตอนใต้ และแถบหมู่เกาะอินโดนีเซีย เกาะบอเนียว ฟิลิปปินส์ และไต้หวัน ในประเทศเหล่านี้จะพบกล้วยพื้นเมืองที่ไม่มีเมล็ด และปลูกแบบปล่อยปละละเลยไม่ค่อยมีการดูแล เปรียบเสมือนพืชป่า มิได้มีการดูแลดังเช่นพืชที่ปลูกทั่วไป ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่ตั้งอยู่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้จึงเป็นถิ่นกำเนิดของกล้วยด้วย เป็นที่เข้าใจกันว่าทางภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งติดอยู่กับประเทศมาเลเซีย มีกล้วยป่าหลายชนิดที่กำเนิดในแถบนั้น นอกจากกล้วยป่าแล้วยังมีกล้วยที่สามารถรับประทานได้หลายชนิดที่มีกำเนิดทางภาคใต้ ดังเช่น กล้วยเล็บมือนาง กล้วยไข่ทองร่วง เป็นต้น กล้วยป่าที่พบทางภาคใต้คือ *M. acuminata* subsp. malaccensis เป็นส่วนใหญ่ ที่พบทางตะวันออกคือ *M. acuminata* subsp. siamea ส่วนที่พบทางภาคเหนือมักจะเป็น *M. acuminata* subsp. burmanica และ *M. acuminata* subsp. microcarpa (เบญจมาศ, 2538)

กล้วยน้ำว้า [Musa (ABB group) “Kluai Namwa”] ชื่ออื่นๆ กล้วยใต้ (เชียงใหม่,เชียงราย); กล้วยตานีอ่อง (อุบลราชธานี); กล้วยมะลิอ่อง (จันทบุรี); กล้วยอ่อง (ชัยภูมิ) ชื่อสามัญ Pisang Awak กล้วยน้ำว้ามีลำต้นสูงไม่เกิน 3.5 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 15 เซนติเมตร กาบลำต้นด้านนอกมีสีเขียวอ่อน ประดำเล็กน้อย ด้านในมีสีเขียวอ่อน ก้านใบมีร่องค่อนข้างแคบ เส้นกลางใบสีเขียว ก้านช่อดอกไม่มีขน ใบประดับรูปไข่ค่อนข้างป้อมม้วนขึ้น ปลายป้าน ด้านบนจะมีสีแดงอมม่วง มีนวล ส่วนด้านล่างจะมีสีแดงเข้ม เครือหนึ่งมี 7 – 10 หวี หวีหนึ่งมี 10 – 16 ผล ผลใหญ่กว้างกว่ากล้วยไข่ แต่ความยาวใกล้เคียงกับกล้วยไข่ โดยมีขนาดกว้าง 3 – 4 เซนติเมตร ยาว 11 – 13 เซนติเมตร มีเหลี่ยม ก้านผลยาว เปลือกหนากว่ากล้วยไข่ เมื่อสุกผลจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมน้ำตาล ส่วนเนื้อมีสีขาว รสหวาน ที่แกนกลางหรือเรียกว่า ไส้กลางมีสีเหลือง ชมพู หรือขาว ซึ่งทำให้แบ่งออกได้เป็น กล้วยน้ำว้าเหลือง กล้วยน้ำว้าแดง และกล้วยน้ำว้าขาว กล้วยน้ำว้าปลูกทั่วไปในประเทศไทย นิยมบริโภคในทุก ๆ ภาค ปลูกเป็นการค้าทั่วไปในภาคกลาง ภาคเหนือปลูกมากที่จังหวัดพิษณุโลก เนื้อกล้วยน้ำว้ามีคุณค่าทางอาหารสูง สามารถใช้เป็นอาหารเด็กอ่อน รับประทานสดและทำขนมได้หลายชนิด เช่น ขนมกล้วย กล้วยทอด กล้วยบวดชี กล้วยตาก กล้วยฉาบ และกล้วยกวน

เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีกล้วยน้ำว้าที่ลำต้นมีความสูงน้อยกว่า 2.5 เมตร เรียกว่า น้ำว้าค่อม (เบญจมาศ , 2538)

เมื่อกล้วยสุกคลอโรฟิลล์จะสลายตัวทั้งหมด ทำให้สีเหลืองแคโรทีนอยด์ปรากฏให้เห็น จากการที่กล้วยมีการเปลี่ยนแปลงสีของเปลือก พร้อมทั้งเกิดปฏิกิริยาชีวเคมีเปลี่ยนสตาร์ชเป็นน้ำตาล จึงได้แบ่งความสุกของกล้วย เป็น 8 ระดับ เรียกว่า ดัชนีสีเปลือกกล้วย (Peel Color Index) สำหรับในประเทศไทย เบญจมาศ (2538) ได้กล่าวถึงดัชนีสีเปลือกกล้วยหอมทอง โดยแบ่งระดับการสุกของกล้วยหลังจากตัดมาบ่มดังนี้

ระดับที่ 1 เปลือกสีเขียว ผลแข็ง ไม่มีการสุก

ระดับที่ 2 เริ่มเปลี่ยนสีจากเขียวออกเหลืองเล็กน้อย

ระดับที่ 3 เริ่มเปลี่ยนสีจากเขียวออกเหลืองมากขึ้น แต่ยังมีสีเขียวมากกว่าสีเหลือง

ระดับที่ 4 เริ่มเปลี่ยนสีจากเขียวออกเหลืองและมีสีเหลืองมากกว่าสีเขียว

ระดับที่ 5 เปลือกเป็นสีเหลือง แต่ปลายยังเป็นสีเขียว

ระดับที่ 6 ทั้งผลมีสีเหลือง (ผลสุก)

ระดับที่ 7 ผิวสีเหลืองและเริ่มมีจุดสีน้ำตาล (สุกเต็มที่ มีกลิ่นหอม)

ระดับที่ 8 ผิวสีเหลืองและเริ่มมีจุดสีน้ำตาลมากขึ้น (สุกมากเกินไป เนื้อเริ่มอ่อนตัวและมีกลิ่นแรง)

กล้วยน้ำว้าปลูกทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยทั่วไปพื้นที่ที่ปลูกมากได้แก่ ภาคกลางที่จังหวัดอ่างทอง และสิงห์บุรี ภาคเหนือที่จังหวัดกำแพงเพชร เชียงราย เชียงใหม่ นครสวรรค์ พิษณุโลก และเพชรบูรณ์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่จังหวัดชัยภูมิ นครราชสีมา และอุดรธานี ภาคตะวันออกที่จังหวัดชลบุรี ภาคตะวันตกที่จังหวัดเพชรบุรี ภาคใต้ที่จังหวัดชุมพร นครศรีธรรมราช และสงขลา ปริมาณการปลูกและผลผลิตกล้วยน้ำว้าในระยะ 10 ปี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2535 ถึง พ.ศ. 2544 มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น แสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 พื้นที่การเพาะปลูกและผลผลิตกล้วยน้ำว้า ปีการเพาะปลูก 2535/36 ถึง 2543/44

ปี	เนื้อที่การปลูก (ไร่)	ผลผลิตเฉลี่ย (กิโลกรัม/ไร่)	ผลผลิตรวม (ล้าน กิโลกรัม)	ราคาขายเฉลี่ย (บาท/กิโลกรัม)
2535/36	620,321	1,809	923,253.40	2.87
2536/37	679,521	1,832	1,015,809.48	3.09
2537/38	707,559	1,886	1,095,474.65	3.16
2538/39	731,006	1,974	1,180,465.03	3.31
2539/40	765,754	2,133	1,302,863.25	3.41
2540/41	805,991	2,180	1,435,092.35	3.50
2541/42	779,206	1,929	1,229,502.58	4.30
2542/43	765,658	2,224	1,367,452.24	4.50
2543/44	804,306	2,322	1,568,576.63	3.84

ที่มา กรมส่งเสริมวิชาการเกษตร (2544)

2.2 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือ กลุ่มของสารที่มีอิเล็กตรอนวงนอกที่ยังไม่ได้จับคู่ มากกว่าหรือเท่ากับหนึ่งอิเล็กตรอน ดังนั้นจึงมีความว่องไวสูงในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลในเซลล์ของร่างกาย อนุมูลอิสระส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นภายในเซลล์ระหว่างการถ่ายเทอิเล็กตรอนจากโมเลกุลของออกซิเจนไปยังโมเลกุลของน้ำ ที่สำคัญได้แก่ อนุพันธ์ของออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา (reactive oxygen species, ROS) ซึ่งสารกลุ่มนี้ได้แก่ อนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (hydroxyl radical, $OH^{\cdot}$) ซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion, $O_2^{\cdot}$) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) ไฮโปคลอรัส (hypochlorous, HOCl) นอกจากนั้นยังมีกลุ่มของอนุพันธ์ไนโตรเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา (reactive nitrogen species, RNS) ที่สำคัญได้แก่ ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, $NO^{\cdot}$) และ เปอร์ออกซีไนไตรท์ (peroxynitrite, $ONOO^{\cdot}$) เป็นต้น ทั้งกลุ่มของ ROS และ RNS จัดเป็นแหล่งของอนุมูลอิสระที่สำคัญของร่างกาย (วัลยา และพัชรี, 2542) อนุมูลอิสระเกิดได้ทั้งจากภายในร่างกายและภายนอกร่างกาย เช่น เกิดที่ไมโตคอนเดรีย ไมโครโซม เพอร์รอกไซโซม โดยเกิดจากระบบการขนส่งอิเล็กตรอน การเกิดเมตาบอลิซึม ฟาโกไซโตซิส หรือเกิดจากสารเคมี รังสี ยาบางชนิด และความร้อน (Punchard and Kelly, 1996)

สภาวะ oxidative stress คือสภาวะที่ร่างกายไม่สามารถควบคุมและป้องกันปริมาณของอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับปกติที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายได้ โดยอนุมูลอิสระที่มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น

สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ในร่างกาย เช่น การเกิดออกซิเดชันของไขมัน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และกรดนิวคลีอิก การสร้างพันธะโควาเลนต์กับโปรตีน เป็นผลทำให้เกิดการยับยั้งการทำงาน (inactivation) ของโปรตีน เป็นต้น และพบว่าอนุมูลอิสระก่อให้เกิดสภาวะทางพยาธิสภาพในโรคสำคัญบางโรค ได้แก่ มะเร็ง โรคหัวใจ ไขมันอุดตันในเส้นเลือด ไขข้ออักเสบ และต้อกระจก เป็นต้น (วัลยา และพัชรี, 2542)

2.3 สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidants)

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน คือสารที่ทำหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในที่นี้หมายถึง สารที่สามารถยับยั้งและควบคุมอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (วัลยา และพัชรี, 2542) สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่พบในธรรมชาติมี 4 ประเภท (Frankel and Meyer, 2000) ได้แก่

1. สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในกลุ่มของเอนไซม์ที่สร้างได้ในเซลล์ร่างกาย ได้แก่ คาตาเลส (catalase) ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) และ กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) เป็นต้น
2. สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในกลุ่มของวิตามิน ได้แก่ วิตามินอี ในถั่ว ธัญพืช รำ ข้าวกล้อง งา และวิตามินซีในผลไม้ ผักสด เป็นต้น
3. สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในกลุ่มของแร่ธาตุ เช่น ซิลิเนียม และสังกะสี ทำหน้าที่เป็นโคแฟคเตอร์ (co-factors) ของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน
4. สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในกลุ่มของสารพฤกษเคมี (phytochemicals) เป็นสารเคมีจากพืชที่ไม่ใช่วิตามินและสารอาหาร เช่น แคโรทีน ไลโคปีน แซนโธฟิล แทนนิน และฟลาโวนอยด์ เป็นต้น

2.4 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารในกลุ่ม secondary metabolite ที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโต และการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด โดยทั่วไปมีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) มากกว่าหรือเท่ากับ 1 หมู่เกาะกับวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) สารประกอบฟีนอลิกที่มีหมู่ไฮดรอกซิลมากกว่า 1 หมู่นิยมเรียกว่า สารประกอบโพลีฟีนอล (polyphenol) โดยส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่ละลายน้ำ มักพบรวมอยู่กับน้ำตาลในรูปไกลโคไซด์ โดยน้ำตาลดังกล่าวอาจจะเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharides) น้ำตาลโมเลกุล

คู่ (disaccharides) หรือโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharides) ก็ได้ แต่น้ำตาลที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลคือ กลูโคส (glucose) ส่วนน้ำตาลชนิดอื่นที่พบได้แก่ กาแลกโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) ไซโรส (xylose) อะราบิโนส (arabinose) และอนุพันธ์ของน้ำตาลเหล่านี้ เช่น กรดกลูโคโรนิก (glucoronic acid) กรดกาแลกตูโรนิก (galacturonic acid) และอื่น ๆ นอกจากนี้ยังพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบฟีนอลิกด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบอื่น ๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acids) กรดอินทรีย์ (organic acids) อะมีน (amines) และไขมัน (Bravo, 1998) การสร้างสารประกอบฟีนอลิกของพืชจะมีทั้งปัจจัยทางด้านพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการเพาะปลูก ระดับความสุก กระบวนการแปรรูป หรือแม้แต่วิธีการเก็บรักษาก็ล้วนมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งสิ้น

สารประกอบโพลีฟีนอลแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และ นอนฟลาโวนอยด์ (non-flavonoids) (Burns *et al.*, 2000)

1. ฟลาโวนอยด์ มี 12 กลุ่มย่อย ได้แก่ ฟลาโวน (flavone) ไอโซฟลาโวน (isoflavone) ฟลาโวนอล (flavonol) ฟลาวาโนน (flavanone) ฟลาวาโนนอล (flavanonol) ฟลาวานอล (flavanol) ลูโคแอนโธไซยานิน (lucoanthocyanin) แอนโธไซยานิน (anthocyanin) ชาลโคน (chalcone) ไดไฮโดรชาลโคน (dihydrochalcone) ออโรน (aurone) และ แซนโธน (xanthone)
2. นอนฟลาโวนอยด์ ที่สำคัญได้แก่ กรดฟีนอลิก (phenolic acid) ตัวอย่างของกรดฟีนอลิกที่พบมากในผลไม้ทั่วไปคือ กรดแกลลิก (gallic acid) กรดโปรโตเคทิชิวอิก (protocatechuic acid) กรดวานิลิก (vanillic acid) กรดพาราคูมาริก (p-coumaric acid) กรดเฟอรูลิก (ferulic acid) เป็นต้น นอกจากนี้ นอนฟลาโวนอยด์ ชนิดอื่น ๆ ได้แก่ ไฮดรอกซีซินนาเมต (hydroxycinnamate) สติลบิเนส (stibinase)

2.5 กรดฟีนอลิก (phenolic acids)

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารในกลุ่มกรดฟีนอลิก และเอสเทอร์ของกรดฟีนอลิก จะขึ้นอยู่กับจำนวนหมู่แทนที่ไฮดรอกซิลในโมเลกุล คุณสมบัติในการดึงหมู่อิเลคตรอนของหมู่คาร์บอกซิลิกในกรดเบนโซอิก จะส่งผลให้ความสามารถในการให้ไฮโดรเจนของไฮดรอกซีเบนโซเอทน้อยลง ดังนั้นจะพบว่า สารกลุ่มไฮดรอกซีซินนามิกจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่า (โอภา และคณะ, 2549)

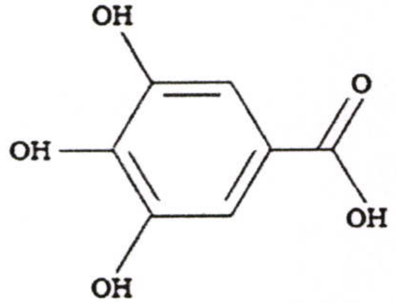
1. ความสัมพันธ์ของโครงสร้างและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารกลุ่มกรดไฮดรอกซีเบนโซอิก

1.1 การมีหมู่ไฮดรอกซิลเพียงหมู่เดียวที่ตำแหน่ง *o*– หรือ *p*- จะทำให้สารไม่มีหรือมีความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยการให้ไฮโดรเจนน้อยมาก แต่หากวางอยู่ในตำแหน่ง *m*- จะมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่ดีกว่า ทั้งนี้เนื่องมาจากอิทธิพลของหมู่คาร์บอกซิลิก (-COOH) ที่มีคุณสมบัติดึงอิเลคตรอน โดยเฉพาะที่ตำแหน่ง *o*– และ *p*- จะได้รับผลนี้มากกว่า

1.2 การมีหมู่ไฮดรอกซิล 2 หมู่ในตำแหน่ง *m*-, *m*- (3,5-OH) จะมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันดีกว่าที่ตำแหน่ง *m* -, *o* - และ *m* -, *p* – ตามลำดับ

1.3 การมีหมู่ไฮดรอกซิล 3 หมู่ จะมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันดีที่สุด เช่น กรดแกลลิก แต่ถ้าหมู่คาร์บอกซิลิก หรือไฮดรอกซิล ถูกบดบังจะทำให้มีความสามารถลดลง

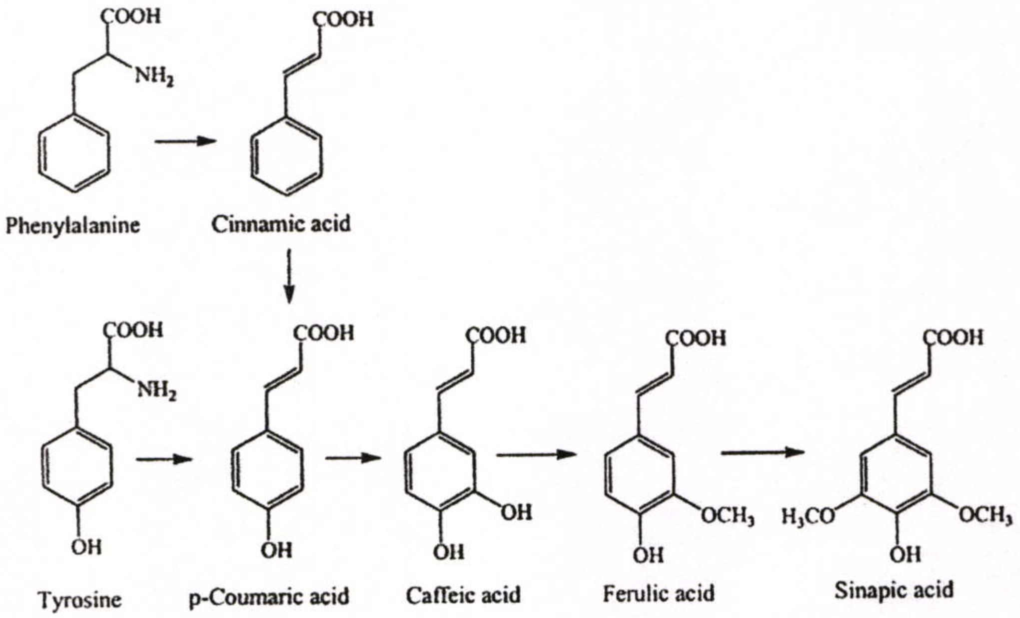
จากความสัมพันธ์ข้างต้น จะเห็นได้ว่า ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน หรือความสามารถในการให้ไฮโดรเจนเพื่อต้านอนุมูลอิสระ จะมีความสัมพันธ์กับจำนวน และตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิล อย่างไรก็ตาม คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระนี้จะแตกต่างจากสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ โดยพบว่า สารในกลุ่มนี้ไม่มีความสามารถในการยับยั้งขบวนการลิปิดเปอร์ออกซิเดชันที่เหนี่ยวนำให้เกิดโดยคาร์บอนเตตระคลอไรด์ (CCl_4) ซึ่งอาจเนื่องมาจากอนุมูลเปอร์ออกซิลมีความคงตัวต่ำ รวมทั้งมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดีของสารในกลุ่มนี้ ทำให้การผ่านเข้าสู่เซลล์ต่ำ (โอภา และคณะ, 2549)



รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของกรดแกลลิก

2. ความสัมพันธ์ของโครงสร้างและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารกลุ่มไฮดรอกซีซินนามิก

ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) ในพืชที่พบได้มากที่สุด ได้แก่ กรดไฮดรอกซีซินนามิก กรดคูมาริก กรดคาเฟอิก และกรดเฟอรูลิก ซึ่งสารกลุ่มนี้จะได้จากกระบวนการชีวสังเคราะห์ shikimate โดยมี L- tyrosine เป็นสารตั้งต้น ดังแสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 วิถีทางของการสังเคราะห์สารกลุ่มฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) ในพืช

การแทรกหมู่เอททิลีน (-CH=CH-) ระหว่างวงฟีนิลและ หมู่คาร์บอกซิลิก ทำให้คุณสมบัติในการให้อิเลคตรอนเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะที่ตำแหน่ง *p*- จะได้รับอิทธิพลนี้มากกว่าที่ตำแหน่ง *o*– และ *m*- ตามลำดับ การมีหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ ในสารกลุ่มกรดไฮดรอกซีซินนามิกจะมีความเหมาะสมต่อคุณสมบัติในการให้ไฮโดรเจนดีกว่ามีหมู่ไฮดรอกซิล 2 หมู่ (โอภา และคณะ, 2549)

2.6 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของผลไม้

การเกิดอนุมูลอิสระมีสาเหตุมาจากทั้งปัจจัยภายในและภายนอกร่างกายซึ่งร่างกายจะมีระบบการควบคุมและป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระเหล่านี้ทำลายองค์ประกอบภายในเซลล์ การเพิ่มการป้องกันอนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถทำได้โดยการได้รับสารบางชนิดที่ทำหน้าที่เป็นสารต้าน

ออกซิเดชัน ซึ่งจะช่วยป้องกันอนุมูลอิสระเหล่านี้ได้ สารที่เราสามารถรับประทานเสริมได้แก่ วิตามินอี วิตามินซี เบต้าคาโรทีน และสารประกอบฟีนอล เป็นต้น โดยสารเหล่านี้มักจะพบมากใน ผักและผลไม้ ซึ่งมีรายงานมากมายที่กล่าวถึงสารที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน ในผักและผลไม้

Wang และคณะ (1996) ได้ศึกษาปริมาณของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันทั้งหมด (total antioxidant) ในผลไม้ 12 ชนิดและน้ำผลไม้ 5 ชนิดโดยวัดค่า oxygen radical absorbance capacity (ORAC) พบว่า ในสตอเบอร์รี่มี ORAC activity สูงที่สุด ส่วนในกล้วยมีค่า ORAC activity ประมาณ 9.0 ไมโครโมลของโทลอกซ์ ต่อกรัม ในรูปของน้ำหนักแห้ง

ในปี 2002 Sun และคณะ ได้ศึกษา ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (total antioxidant activity) ในผลไม้ 11 ชนิด โดยวิธี total oxyradical scavenging capacity (TOSC) พบว่า แครนเบอร์รี่ (cranberry) มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด (ประมาณ 177 ไมโครโมลสมมูลวิตามินซี ต่อ กรัม) ส่วนในกล้วยมีค่าประมาณ 32.8 ไมโครโมลสมมูลวิตามินซี ต่อกรัม จัดอยู่ในอันดับที่ 8 ซึ่งมีค่าสูงกว่า ส้ม เกรฟฟรุ๊ต (grapefruit) และ สับปะรด

Vinson และคณะ (2001) ได้ศึกษาคุณภาพของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลไม้ 20 ชนิด โดยวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของไลโปโปรตีน และวิเคราะห์ในรูปของค่า IC_{50} (ความเข้มข้นของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่ใช้ในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ 50%) ซึ่งถ้ามีค่าต่ำจะแสดงว่า ผลไม้ชนิดนั้นมีคุณภาพของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูง พบว่าในกล้วยมีค่า IC_{50} ค่อนข้างต่ำคือประมาณ 0.39ไมโครโมลาร์ ในรูปของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenols) แสดงว่ากล้วยมีสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีคุณภาพค่อนข้างสูงกว่าผลไม้หลายชนิด เช่น แครนเบอร์รี่ แพร์ พลัม และ พีช (ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.75, 0.51, 0.50, 0.46 ตามลำดับ) และเมื่อเปรียบเทียบกับค่า IC_{50} ของวิตามินซี (IC_{50} เท่ากับ 1.45 ไมโครโมลาร์) ทั้งกล้วยและผลไม้ชนิดอื่นที่ทำการทดลอง มีค่า IC_{50} ต่ำกว่าวิตามินซี นั่นคือ สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในผลไม้มีคุณภาพดีกว่าในวิตามินซี และเมื่อวิเคราะห์ทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลไม้ โดยรายงานออกมาในรูปของค่า PAOXI (phenol antioxidant index) พบว่าในกล้วยมีสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในด้านปริมาณและคุณภาพค่อนข้างสูง คืออยู่ในลำดับที่ 9 เมื่อเปรียบเทียบกับผลไม้ 20 ชนิดที่ทำการทดลอง

นอกจากนั้นยังได้มีการศึกษาการบริโภคผลไม้ 20 ชนิดของชาวอเมริกัน พบว่า 1 หน่วยบริโภค (serving size) ของแครนเบอร์รี่ (55 กรัม) จะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 373 มิลลิกรัม ในขณะที่ 1 หน่วยบริโภคของกล้วย (118 กรัม) จะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 163 มิลลิกรัม แต่สำหรับผลไม้บางชนิด เช่น แคนตาลูป ส้ม สับปะรด และเกรฟฟรุ๊ต การบริโภคในแต่ละครั้งจะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่มากนัก ถึงแม้ว่า แครนเบอร์รี่ จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สูงที่สุด (678 มิลลิกรัม/100 กรัม) แต่ในหนึ่งวันชาวอเมริกันมีการ

บริโภคกล้วยในอัตราที่สูงกว่า คือ 24.4 กรัมต่อวัน ส่วนแคนเบอร์รี่จะบริโภคในอัตรา 0.4 กรัมต่อวัน ดังนั้นชาวอเมริกันจึงได้รับสารประกอบฟีนอลิก จากกล้วยสูงกว่าแคนเบอร์รี่ และผลไม้ชนิดอื่น โดยจะได้สารประกอบฟีนอลิก ถึง 81.8 มิลลิกรัม ต่อ วัน ในขณะที่จะได้สารประกอบฟีนอลิกจากแคนเบอร์รี่ เพียง 2.7 มิลลิกรัม ต่อ วัน ดังนั้นกล้วยจึงเป็นแหล่งใหญ่ที่สุดของสารประกอบฟีนอลิกที่ได้รับจากผลไม้

Murcia และคณะ (2001) ได้วิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของผลไม้แถบเมดิเตอร์เรเนียน (Mediterranean fruits) 15 ชนิด และผลไม้เมืองร้อน (tropical fruits) 11 ชนิด พบว่า กล้วยเป็นผลไม้เมืองร้อนที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเปอร์ออกซิล (peroxyl radicals) ได้ดีที่สุด ส่วนองุ่นแดงและพลัมเป็นผลไม้แถบเมดิเตอร์เรเนียนที่มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระเปอร์ออกซิลได้ดีกว่าบีเอชเอ (butylated hydroxyl anisol, BHA) บีเอชที (butylated hydroxyl toluene, BHT) และ โพรพิล แกลเลท (propyl gallate) นอกจากนี้ ทั้งผลไม้แถบเมดิเตอร์เรเนียนและผลไม้เมืองร้อน ยังมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (hydroxyl radical) และ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ได้ดี ยกเว้นอโวคาโด และพีช

ในปี 1999 Gorinstein และคณะ ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและปริมาณกรดแกลลิกในผลไม้เขตร้อน (tropical fruit) คือ สับปะรด แอปเปิ้ล เงาะ ลำไย ฝรั่ง และ มะม่วง พบว่า มะม่วงสุกมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและปริมาณกรดแกลลิกสูงที่สุด ส่วนสับปะรดจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและปริมาณกรดแกลลิกต่ำที่สุด

2.7 สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในกล้วย

Kanazawa และ Sakakibara (2000) ได้ศึกษาสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในกล้วยหอม (*Musa cavendish*) พบว่าสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันหลักในกล้วยที่มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน สูงที่สุดคือ โดพามีน (dopamine) และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของโดพามีนกับสารชนิดอื่นพบว่า อัตราเร็วในการทำลายอนุมูลอิสระของโดพามีน จะเร็วและมีประสิทธิภาพดีกว่า กลูตาไธโอน (glutathione) บีเอชที ฟลา-โวน ลูทีโอลิน (flavone luteolin) ฟลาโวนอล เควอซิติน (flavonol quercetin) และคาเทชิน (catechin) แต่จะใกล้เคียงกับ แกลโลคาเทชิน แกลเลท (gallocatechin gallate) และเมื่อศึกษาปริมาณโดพามีนในกล้วยที่ระยะความสุกทั้ง 8 ระยะพบว่ากล้วยมีสารโดพามีน อยู่ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง ทั้งในเปลือกและในเนื้อ แต่ในเปลือกจะมีปริมาณสูงกว่า และเมื่อระยะความสุกเพิ่มขึ้นสารโดพามีน จะลดลงเล็กน้อย

โดพามีน เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญและมีปริมาณสูงทั้งในเปลือกกล้วย (700 ไมโครกรัม ต่อ กรัมน้ำหนักสด) และในเนื้อกล้วย (8 ไมโครกรัม ต่อ กรัมน้ำหนักสด) (Salunkhe and Kadam, 1995) ในระยะเก็บเกี่ยวพบว่าปริมาณโดพามีนในเนื้อกล้วยสูงถึง 80 % ของแทนนินในเนื้อกล้วยทั้งหมด หลังจากนั้นจะค่อย ๆ ลดลง โดยฟอร์มตัวเป็นสารเมตาบอไลท์ เช่น ซาลซินอล (salsinol) ส่วนในเปลือกกล้วยจะประกอบด้วยแทนนินมากกว่าเนื้อ 3-5 เท่า และจะมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดมากกว่าถึง 2 เท่า (John and Marchal, 1995)

ในปี 2002 Someya และคณะ ได้ศึกษาสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในกล้วยหอม (*Musa cavendish*) โดยวิเคราะห์ถึงประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant activity) ของสารสกัดจากเปลือกกล้วย และเนื้อกล้วยต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid autoxidation) พบว่าในเปลือกกล้วยจะมีประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน สูงกว่าในเนื้อกล้วยถึง 2.2 เท่า เมื่อทำการแยกสารสกัดจากเปลือกกล้วยและเนื้อกล้วยด้วยวิธี HPLC เพื่อวิเคราะห์ถึงองค์ประกอบของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน พบว่ามีสารที่สำคัญ 3 ชนิดคือ แกลโลคาเทชิน (gallocatechin) คาเทชิน (catechin) และ อิพิคาเทชิน (epicatechin) โดยแกลโลคาเทชิน เป็นสารที่สำคัญที่สุด ซึ่งในเปลือกกล้วยจะมีสารแกลโลคาเทชิน สูงกว่าในเนื้อกล้วยด้วยเช่นกัน

ในปี 2005 Mokbel และ Hashinaga ได้ศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมดิบและเปลือกกล้วยหอมสุก โดยวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี Ferric thiocyanate colorimetric method (FTC) และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี ß-carotene bleaching พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมดิบมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระDPPH และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันทั้ง 2 วิธี สูงกว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมสุก

จากการทดลองเบื้องต้นของ สุภาภรณ์ (2546) โดยศึกษาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยวิธี ABTS ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกันโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายในการสกัด พบว่าที่ระดับความสุกของกล้วยน้ำว้าเพิ่มขึ้น ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดจะมีแนวโน้มลดลง ทั้งในเปลือกและเนื้อกล้วยน้ำว้า และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากเนื้อกล้วยก็มีแนวโน้มลดลงเช่นกัน นอกจากนั้นสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้ามีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดจากเนื้อกล้วยน้ำว้า

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการทดลอง

3.1 วัสดุอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

กล้วยน้ำว้า [Musa (ABB group) Kluai Nam wa] ที่มีระดับความสุกของกล้วย ตั้งแต่ระดับที่ 1 ถึงระดับที่ 8 โดยใช้เกณฑ์ในการพิจารณาเช่นเดียวกับกรณีของกล้วยหอม (เบญจมาศ, 2538)

3.1.2 เครื่องมือ

- ยูวี-สเปคโตรโฟโตมิเตอร์	Spectro 22 Labo Neb
- เครื่องชั่งน้ำหนักอย่างละเอียด	(4 ตำแหน่ง) Sartorius BP 3100S
- เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง	Mettler Toledo MP220
- สเปคโตรฟลูออโรมิเตอร์	Modle FP-6200, JASCO, USA
- เครื่องระเหยสูญญากาศ	Rotavapor BUCHI R-144, Switzerland
- ปั๊มสูญญากาศ	Vacuum system BUCHI B-169, Switzerland
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ	

3.1.3 สารเคมี

- เอธานอล 95 % (Ethanol)	องค์การสุรา	ไทย
- 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH)	Sigma	เยอรมัน
- โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	Merck	เยอรมัน
- Folin-Ciocalteu	BDH	อังกฤษ
- กรดแกลลิก (gallic acid)	Sigma	เยอรมัน
- กรดลิโนเลอิก (Linoleic acid)	Aldrich	เยอรมัน
- เฟอร์รัสคลอไรด์ (Iron (III) chloride)	Merck	เยอรมัน
- แอมโมเนียมไธโอไซยาเนท (Ammonium thiocyanate)	Sigma	อเมริกา
- วิตามินซี (ascorbic acid)	Merck	เยอรมัน
- กรดโปรโตเคทิชิวอิก (protocatechuic acid)	Sigma	จีน
- กรดพาราคูมาริก (p-coumaric acid)	Sigma	อเมริกา

3.2 วิธีการดำเนินการทดลอง

3.2.1 การศึกษาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่าง ๆ

3.2.1.1 การเตรียมตัวอย่างกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่าง ๆ

การแบ่งระดับความสุกของกล้วยน้ำว้าจะแบ่งเป็น 8 ระดับโดยใช้เกณฑ์พิจารณาเช่นเดียวกันกับวิธีที่ใช้ในกล้วยหอมซึ่งรายงานโดย เบญจมาศ (2538) นอกจากนี้จะวิเคราะห์ความเป็นกรด- ด่าง (pH) ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ โดยวิธี DNS ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (° Brix) และสีของเปลือกกล้วยน้ำว้า

3.2.1.2 การเตรียมสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า

นำกล้วยน้ำว้าทั้งผลที่ระดับความสุกต่าง ๆ 8 ระดับ โดยสุ่มตัวอย่างกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกละ 10 ผล มานึ่งเป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แยกส่วนเนื้อและเปลือกออกโดยตัดส่วนขั้วและปลายทิ้งไป จากนั้นบดตัวอย่างเนื้อกล้วยและเปลือกกล้วยน้ำว้าให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่นผสมอาหาร ที่ความเร็วสูงสุด ชั่งตัวอย่างเนื้อและเปลือกกล้วยบดละเอียด 10 กรัม ปั่นผสมกับเอธานอล 95 % 100 มิลลิลิตร สกัดโดยวิธีรีฟลักซ์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส กรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง Whatman NO. 4 นำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างสารสกัดที่ได้ในขวดสีชาแล้วนำไปใส่ในโถดูดความชื้น (desiccator) ทิ้งไว้ข้ามคืน จากนั้นจึงเก็บตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol contents)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดจะใช้วิธีที่รายงานโดย ประพันธ์ และวันทนีย์ (2545) โดยที่สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถติดตามโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 730 นาโนเมตร ใช้กรดแกลลิกเป็นสารประกอบฟีนอลมาตรฐาน รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ค

3.2.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่าง ๆ

3.2.2.1 ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จะใช้วิธีที่รายงานโดย Murakami และคณะ (2004) รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ง

3.2.2.2 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี Ferric thiocyanate colorimetric method (FTC)

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC จะใช้วิธีที่รายงานโดย Larrauri และคณะ (1996) รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ง

3.2.3 การศึกษาความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบต่าง ๆ ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า

3.2.3.1 การเตรียมสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า

นำกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่1 และ 6 แยกส่วนของเนื้อและเปลือกมาสกัดด้วยเอธานอลตามวิธีในข้อ 3.2.1.2 เก็บตัวอย่างสารสกัดที่ได้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.3.2 ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบต่าง ๆ ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า

วิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ อนุพันธ์ของออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยาชนิดต่าง ๆ และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยเปรียบเทียบกับวิตามินซี และโทรลอกซ์ ดังนี้

1) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ตามวิธีที่รายงานโดย Murakami และคณะ (2004) รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก จ
2) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (° OH) ตามวิธีที่รายงานโดย Aruoma (1994) รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก จ
3) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\cdot -}$) ตามวิธีที่รายงานโดย Yen และ Chen (1995) รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก จ

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

4) ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ตามวิธีที่รายงานโดย Yen และ Chen (1995) รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก จ
5) ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี Ferric thiocyanate colorimetric method (FTC) ซึ่งรายงานโดย Larrauri และคณะ (1996) รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก จ
6) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric reducing antioxidative potential, FRAP) ซึ่งรายงานโดย Benzie และStrain (1999)รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่นิยมใช้ทั่วไปในการประเมินประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเบื้องต้นของสารสกัดจากพืช สำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ °OH, $O_2^{\cdot -}$ และความสามารถในการทำลาย H_2O_2 เป็นตัวแทนในการประเมินความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันอันเนื่องมาจากอนุพันธ์ของออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา (ROS) การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC เป็นตัวแทนในการประเมินความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในอาหาร (antilipoperoxidant) สำหรับการวิเคราะห์โดยวิธี FRAP เป็นการประเมินประสิทธิภาพของความสามารถในการรีดิวซ์ (reducing power) ของสารสกัด

3.2.4 การศึกษาปริมาณกรดฟีนอลิกในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า

3.2.4.1 การเตรียมสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า

นำกล้วยน้ำว้าทั้งผลที่ระดับความสุกที่ 1 และ 6 โดยสุ่มตัวอย่างกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกละ 10 ผล มานึ่งเป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แยกส่วนเนื้อและเปลือกออกโดยตัดส่วนขั้วและปลายทิ้งไป จากนั้นบดตัวอย่างเนื้อกล้วยและเปลือกกล้วยน้ำว้าให้ละเอียด ชั่งตัวอย่างเนื้อและเปลือกกล้วยบดละเอียด 10 กรัม ปั่นผสมกับเมธานอล 30 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปคนด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman NO. 4 นำสารละลายที่ได้เก็บใส่บีกเกอร์ไว้ ส่วนกากของตัวอย่างเนื้อหรือเปลือกกล้วย นำไปผสมกับเมธานอล 30 มิลลิลิตร แล้วนำไปคนด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 2 ชั่วโมง อีกครั้งหนึ่ง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 รวมสารละลายที่ได้จากการสกัดด้วยเมธานอลทั้งสองครั้ง นำไปสกัดด้วย light petroleum (จุดเดือด 60-80 องศาเซลเซียส) 50 มิลลิลิตร 3 ครั้ง แยกส่วนของสารละลายเมธานอลไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเหลือสารละลายสารสกัดประมาณ 10 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปผสมกับน้ำกลั่นอีก 40 มิลลิลิตร

63340

จากนั้นสกัดด้วยเอธิลอะซิเทต (ethyl acetate) 30 มิลลิลิตร 8 ครั้ง แยกส่วนของสารละลายเอธิล-อะซิเทตไประเหยตัวทำละลายออก ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป (Gorinstein *et al.*, 1994)

3.2.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ ในสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า

วิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ คือ กรดแกลลิก (gallic acid) กรดพาราคูมาริก (p-coumaric acid) กรดเฟอรูลิก (ferulic acid) และ กรดโปรโตแคทิชิวอิก (protocatechuic acid) โดยวิธีสเปคโทรฟลูออโรเมทรี (spectro fluorometry) ซึ่งรายงานโดย Garcia-Sanchez และคณะ (1988) และ Gorinstein และคณะ (1994 และ 2001b) โดยมีหลักการคือ กรดฟี-นอลิกแต่ละชนิดที่ pH ใด ๆ ที่กำหนด จะมีค่าความยาวคลื่นกระตุ้น (exitation wavelength) และความยาวคลื่นแสงที่เรืองแสง (emission wavelength) เฉพาะ ตัวอย่างเช่น กรดแกลลิก มีค่าความยาวคลื่นกระตุ้นเท่ากับ 260 นาโนเมตร และมีค่าความยาวคลื่นแสงที่เรืองแสงเท่ากับ 357 นาโนเมตรที่ pH 4.63 ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ จะต้องสร้างกราฟมาตรฐานของกรดฟีนอลิกแต่ละชนิด รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ฉ

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางกายภาพบางประการของกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางกายภาพบางประการของกล้วยน้ำว้าที่นำมาใช้ในการทดลอง โดยวิเคราะห์ความเป็นกรด- ด่าง (pH) ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์โดยวิธี DNS ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (° Brix) และสีของเปลือกกล้วยน้ำว้า (L*, a*, b*) โดยเครื่องวัดสี เพื่อทราบถึงความเปลี่ยนแปลงของกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่าง ๆ โดยใช้เกณฑ์พิจารณาสีของเปลือกกล้วยในลักษณะเดียวกันกับวิธีที่ใช้ในกล้วยหอมซึ่งรายงานโดย เบญจมาศ (2538) โดยแบ่งระดับความสุกของกล้วยน้ำว้าออกเป็น 8 ระดับ คือ

ระดับที่ 1 เปลือกสีเขียว ผลแข็ง ไม่มีการสุก

ระดับที่ 2 เริ่มเปลี่ยนสีจากเขียวออกเหลืองเล็กน้อย

ระดับที่ 3 เริ่มเปลี่ยนสีจากเขียวออกเหลืองมากขึ้น แต่ยังมีสีเขียวมากกว่าสีเหลือง

ระดับที่ 4 เริ่มเปลี่ยนสีจากเขียวออกเหลืองและมีสีเหลืองมากกว่าสีเขียว

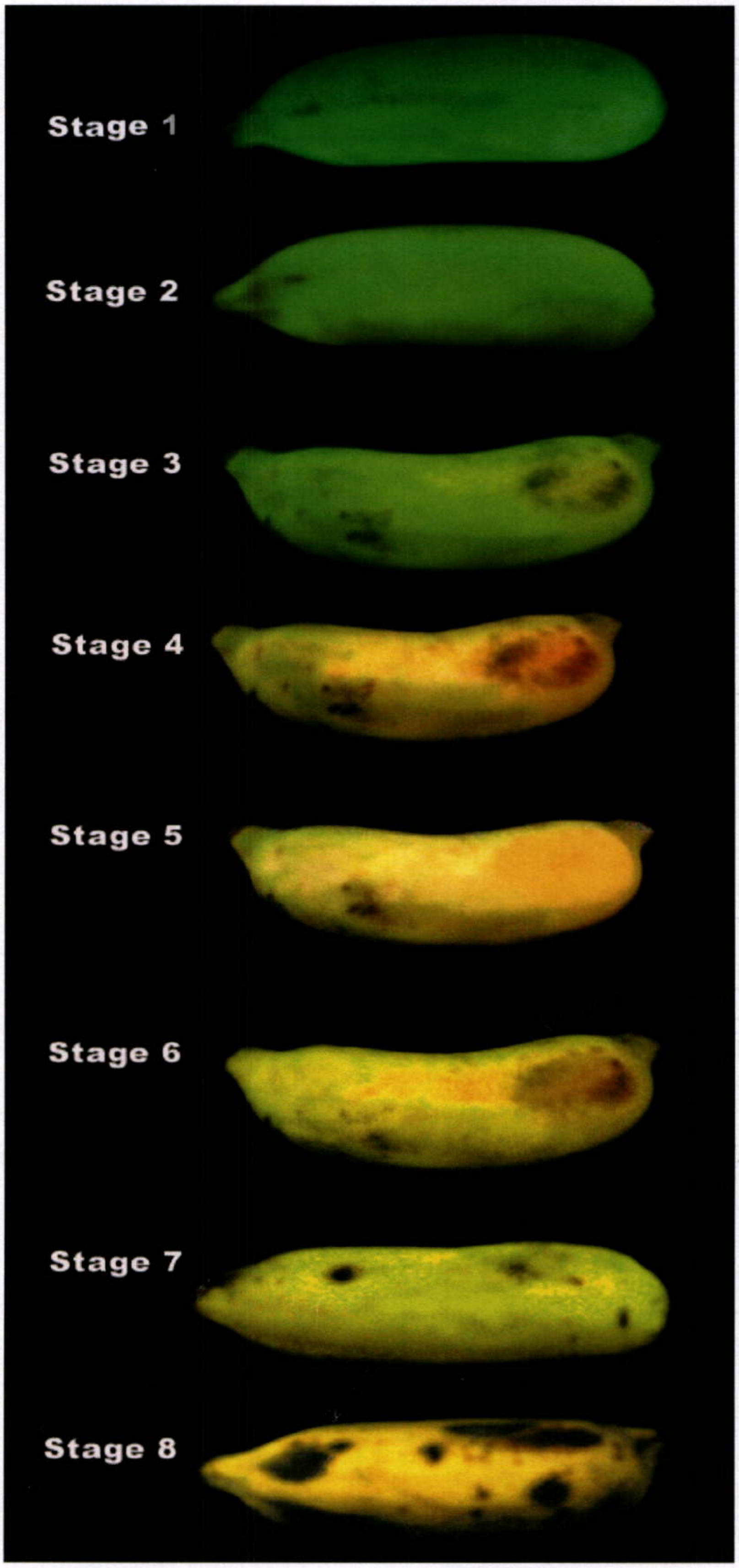
ระดับที่ 5 เปลือกเป็นสีเหลือง แต่ปลายยังเป็นสีเขียว

ระดับที่ 6 ทั้งผลมีสีเหลือง (ผลสุก)

ระดับที่ 7 ผิวสีเหลืองและเริ่มมีจุดสีน้ำตาล (สุกเต็มที่ มีกลิ่นหอม)

ระดับที่ 8 ผิวสีเหลืองและเริ่มมีจุดสีน้ำตาลมากขึ้น (สุกมากเกินไป เนื้อเริ่มอ่อนตัวและมีกลิ่นแรง)

ซึ่งการเปลี่ยนแปลงสีและลักษณะของผลกล้วยน้ำว้าทั้ง 8 ระดับความสุกแสดงดังรูปที่ 4.1 และผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางกายภาพบางประการ แสดงดังตารางที่ 4.1



รูปที่ 4.1 สีและลักษณะปรากฏของผลกล้วยน้ำว้าทั้ง 8 ระดับความสุก

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางกายภาพบางประการของกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

ระดับความสุก	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมสมมูลกลูโคส/น้ำหนักกล้วย 100 กรัม)	pH	สีของเปลือกกล้วยน้ำว้า			การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของสีเปลือกกล้วยน้ำว้า (ΔE)*
				L	a	b	
1	4.83 ± 0.10	0.15 ± 0.01	6.18 ± 0.01	57.45 ± 5.03	-18.27 ±0.02	+33.14 ±1.21	-
2	7.67 ± 0.15	0.28 ± 0.01	6.17 ± 0.01	65.53 ± 0.51	-16.49 ± 0.24	+31.86 ± 0.34	7.71
3	8.93 ± 0.12	0.46 ± 0.01	5.83 ± 0.02	66.71 ± 1.83	-15.55 ± 1.25	+32.41 ± 0.35	8.80
4	20.57 ± 0.40	3.02 ± 0.01	4.60 ± 0.01	67.51 ± 0.64	-11.38 ± 0.45	+39.05 ± 2.12	13.01
5	25.03 ± 0.25	3.08 ± 0.01	4.57 ± 0.02	68.81 ± 1.71	-6.63 ± 3.43	+43.90 ± 0.72	19.11
6	23.33 ± 0.42	3.18 ± 0.01	4.50 ± 0.01	75.68 ± 0.54	-1.09 ± 0.10	+48.15 ± 0.99	29.00
7	26.13 ± 0.61	3.48 ± 0.01	4.56 ± 0.01	73.45 ± 1.69	+0.40 ± 0.03	+47.26 ± 0.37	28.11
8	28.00 ± 0.35	3.51 ± 0.01	4.49 ± 0.01	72.72 ± 1.24	+1.11 ± 0.61	+48.33 ± 1.87	27.58

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

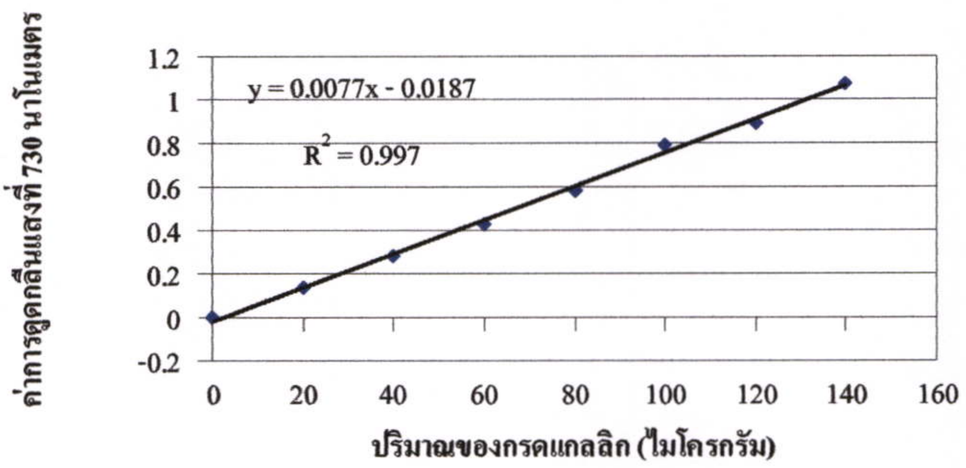
* $\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$

จากตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าเมื่อกล้วยน้ำว้ามีระดับความสุกเพิ่มขึ้น ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในรูปของกลูโคส มีค่าเพิ่มขึ้นโดยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ จะเพิ่มขึ้นจาก 4.9 เป็น 28.2 องศาบริกซ์ และ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ จะเพิ่มขึ้นจาก 0.15 เป็น 3.51 กรัม/น้ำหนักกล้วย 100 กรัม ในขณะเดียวกัน ค่าพีเอชของกล้วยน้ำว้ามีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับความสุกเพิ่มขึ้นโดยจะลดลงจาก 6.18 เป็น 4.49 เนื่องจากในกระบวนการสุกของผลไม้ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ขององค์ประกอบทางเคมี เช่น เมื่อกล้วยสุกเพิ่มขึ้นจะมีการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลมากขึ้น โดยปริมาณแป้งจะลดลงจาก 20-23 เปอร์เซนต์ไปจนถึง 1-2 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลจะเพิ่มขึ้นจาก 1 เปอร์เซ็นต์ ไปจนถึง 20 เปอร์เซนต์ (Stover and Simmonds, 1987) นอกจากนี้ปริมาณกรดในผลไม้จะเพิ่มขึ้น เป็นผลให้มีปริมาณน้ำบางส่วนเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาชีวเคมี เช่น การหายใจ และเอนไซม์บางชนิดย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ในกล้วยให้มีขนาดเล็กลง มีการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบเพกติน ซึ่งได้แก่ โพรโตเพกติน (protopectin) ซึ่งไม่ละลายน้ำ เปลี่ยนเป็นเพกตินที่ละลายน้ำได้ เป็นผลให้ลักษณะโครงสร้างเปลี่ยนแปลงไปในลักษณะอ่อนนุ่มขึ้น และมีปริมาณน้ำเพิ่มมากขึ้น

สำหรับการเปลี่ยนแปลงสีของเปลือกกล้วย ซึ่งเป็นเครื่องบ่งชี้ถึงระดับความสุกของกล้วยเมื่อกล้วยสุกคลอโรฟิลล์จะสลายตัวทั้งหมด ทำให้สีเหลืองของแคโรทีนอยด์ปรากฏให้เห็นเด่นชัดขึ้น และเมื่อพิจารณาผลการทดลองในตารางที่ 4.1 โดยรายงานผลการเปลี่ยนแปลงสีของเปลือกกล้วยน้ำว้าด้วยค่า L*, a*, b* จะเห็นได้ว่าเมื่อกล้วยสุกเพิ่มขึ้น ค่าความสว่าง (ค่า L) จะมีค่าเพิ่มขึ้น สีเขียว (ค่า a) ของเปลือกกล้วยจะลดลง ในขณะที่สีเหลือง (ค่า b) ของเปลือกกล้วยจะเพิ่มมากขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงสีของเปลือกกล้วยน้ำว้า (ΔE) โดยให้ค่าสีที่ระดับความสุกที่ 1 เป็นสีอ้างอิงในการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง พบว่า เมื่อกล้วยสุกเพิ่มขึ้นสีของเปลือกกล้วยมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน ซึ่งลักษณะของการเปลี่ยนแปลงสีของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่วัดได้ด้วยเครื่องวัดสีดังกล่าว สอดคล้องกับลักษณะปรากฏที่สังเกตได้ด้วยตา (รูปที่ 4.1)

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

จากการเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ซึ่งใช้เป็นสารประกอบโพลีฟีนอลมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดที่ได้จากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่าง ๆ ได้กราฟเป็นเส้นตรง โดยมีสมการเส้นตรงคือ $y = 0.0077x - 0.0187$ และค่า $R^2 = 0.997$ ดังแสดงในรูปที่ 4.2



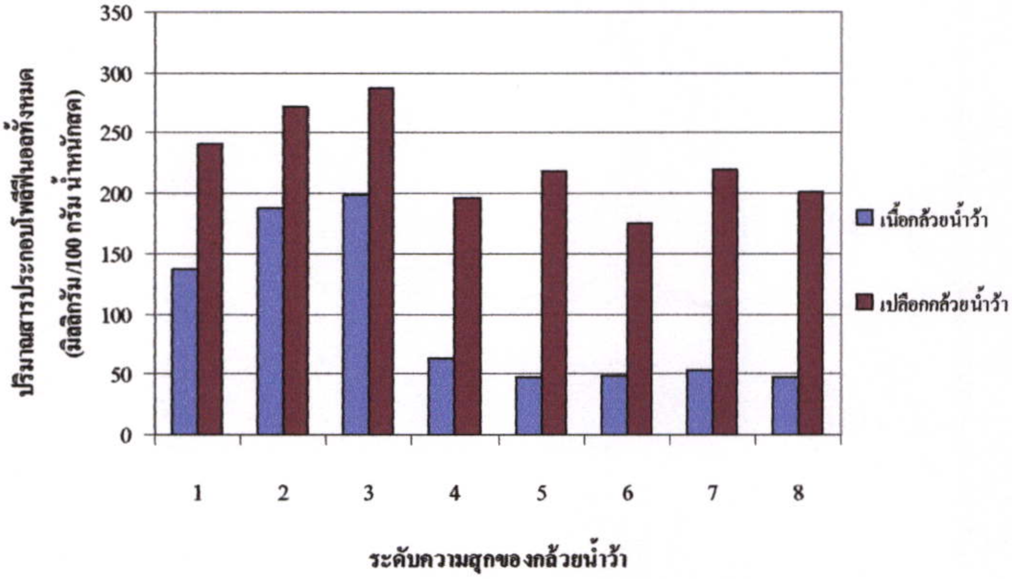
รูปที่ 4.2 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกทั้ง 8 ระดับ โดยสารประกอบโพลีฟีนอลจะทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin-Ciocalteu และติดตามสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 730 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่าง โดยใช้กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกข้างต้น ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.3

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่าง ๆ

ระดับความสุก	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อกล้วย (มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักสด)	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเปลือกกล้วย (มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักสด)
1	136.72 ± 3.59	240.96 ± 2.90
2	188.11 ± 1.47	271.87± 3.31
3	198.29 ± 0.65	287.56 ± 1.83
4	63.34 ± 0.31	196.65 ± 0.44
5	48.10 ± 0.05	218.82 ± 0.37
6	49.53 ± 0.02	175.19 ± 0.40
7	53.64 ± 0.02	220.41± 1.02
8	47.97 ± 0.05	202.30 ± 0.91

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง



รูปที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่าง ๆ

จากตารางที่ 4.2 และ รูปที่ 4.3 จะเห็นได้ว่า เนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกันจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดแตกต่างกัน โดยพบว่า เมื่อระดับความสุกของกล้วยเพิ่มขึ้นปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีแนวโน้มลดลง โดยปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อกล้วยจะอยู่ในช่วง 47.97 ± 0.05 ถึง 198.29 ± 0.65 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด และในเปลือกกล้วยน้ำว้าจะอยู่ในช่วง 175.19 ± 0.40 ถึง 287.56 ± 1.83 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด นอกจากนั้นยังพบว่า เปลือกกล้วยจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าเนื้อกล้วยที่ทุกระดับความสุก ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการทดลองของ Kanazawa และ Sakakibara (2000) และผลการทดลองของ Someya และคณะ (2002) ซึ่งรายงานว่า ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยหอม (*Musa cavendish*) จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับความสุกเพิ่มขึ้น และปริมาณสารประกอบโพลีฟี-นอลทั้งหมดในเปลือกกล้วยหอมจะมีปริมาณสูงกว่าในเนื้อกล้วยหอม

นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 6 ซึ่งเป็นระดับความสุกที่นิยมบริโภค กับปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในกล้วยหอมพบว่า 1 หน่วยบริโภคของกล้วยหอม (118 กรัม) จะได้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด 163 มิลลิกรัม (Vinson *et al.* 2001) ในขณะที่ 1 หน่วยบริโภคของกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 6 (118 กรัม) จะได้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด 74.74 มิลลิกรัม ซึ่งแสดงให้เห็นว่า เมื่อบริโภคกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 6 และกล้วยหอมในปริมาณที่เท่ากัน การบริโภคกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 6 จะได้รับปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดต่ำกว่าการบริโภคกล้วยหอม แต่เมื่อเปรียบเทียบกับผลไม้บางชนิด เช่น แคนตาลูป เกรฟฟรู๊ต สับปะรด และส้ม โดยที่ใน 1 หน่วยบริโภคจะได้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดจาก แคนตาลูป เกรฟฟรู๊ต สับปะรด และส้ม เท่ากับ 21 28 52 และ54 มิลลิกรัม ตามลำดับ (Vinson *et al.* 2001) จะเห็นได้ว่า กล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 6 มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าผลไม้เหล่านี้ ดังนั้นถึงแม้ว่าการบริโภคกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 6 จะได้รับสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดต่ำกว่าการบริโภคกล้วยหอม แต่เมื่อเปรียบเทียบกับผลไม้ซึ่งเป็นที่นิยมบริโภค เช่น แคนตาลูป เกรฟฟรู๊ต สับปะรด และส้ม การบริโภคกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 6 จะได้รับสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่า

4.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

4.3.1 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

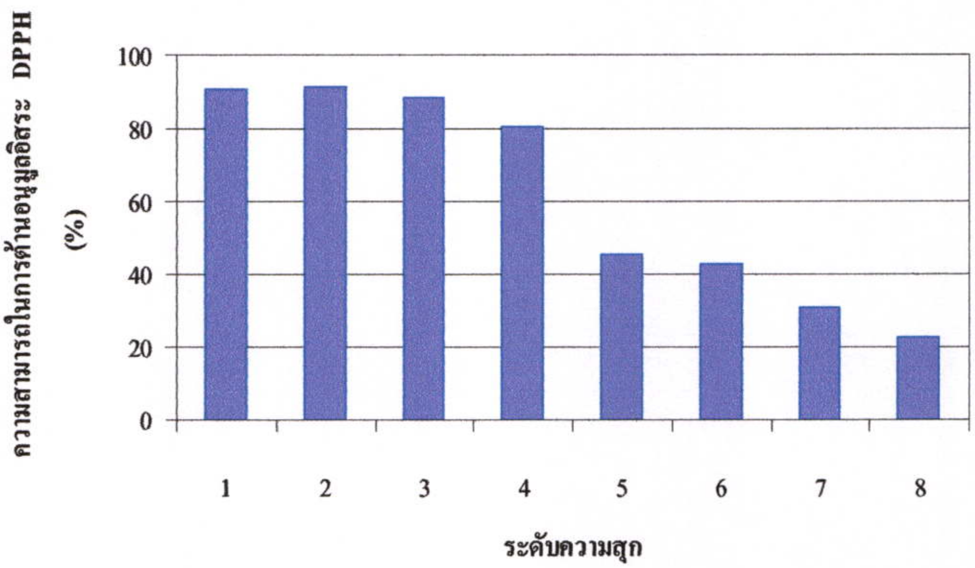
จากการศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน โดยวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งมีหลักการคือ สารละลายของอนุมูลอิสระ DPPH จะมีสีม่วงแดง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ที่ 517 นาโนเมตร ในกรณีตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดี จะทำให้สีม่วงแดงของสารละลาย DPPH จางลงได้มากกว่าตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้น้อย และเมื่อคำนวณในรูปของเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.3 และ 4.4 และรูปที่ 4.4 และ 4.5

ตารางที่ 4.3 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระDPPH ของสารสกัดจากเนื้อกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

ระดับความสุก	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระDPPH ของสารสกัดจากเนื้อกล้วย (%)
1	90.59 ± 0.81
2	91.20 ± 0.63
3	88.83± 1.51
4	80.35 ± 6.82
5	45.18 ± 1.20
6	42.69 ± 1.18
7	31.05 ± 0.76
8	22.69 ± 0.73

หมายเหตุ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระDPPH วิเคราะห์จากการใช้สารสกัดที่ได้จากปริมาณตัวอย่างเนื้อกล้วยน้ำว้าสดที่เท่ากัน

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง



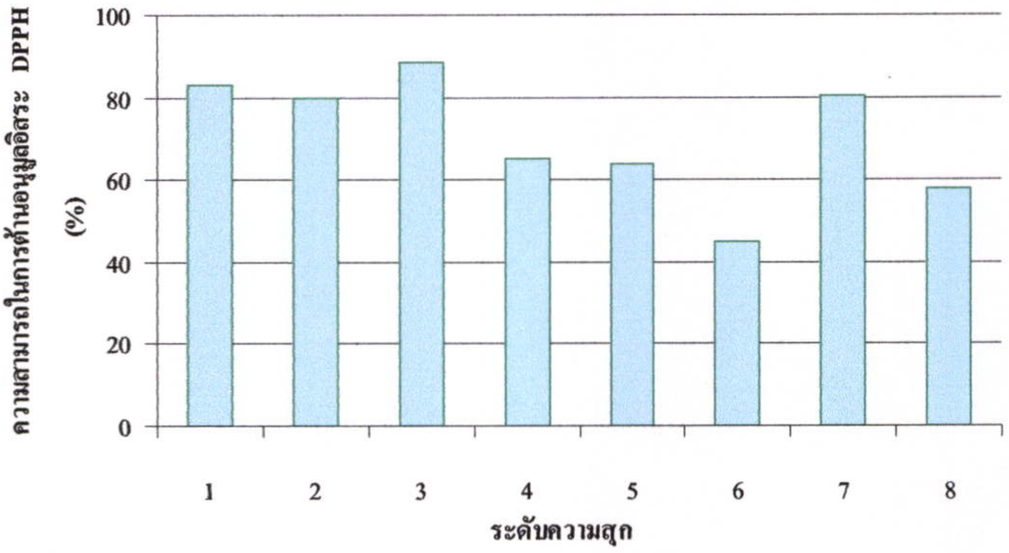
รูปที่ 4.4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระDPPH ของสารสกัดจากเนื้อกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

ตารางที่ 4.4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระDPPH ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

ระดับความสุก	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจาก เปลือกกล้วย (%)
1	83.12 ± 2.38
2	79.90 ± 0.55
3	88.50 ± 1.17
4	65.03 ± 2.42
5	63.82 ± 1.90
6	45.14 ± 0.46
7	80.10 ± 0.93
8	57.83 ± 1.71

หมายเหตุ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระDPPH วิเคราะห์จากการใช้สารสกัดที่ได้จากปริมาณตัวอย่างเปลือกกล้วยน้ำว้าสดที่เท่ากัน

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง



รูปที่ 4.5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระDPPH ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.3 และ 4.4 และรูปที่ 4.4 และ 4.5 จะเห็นได้ว่า เมื่อระดับความสุกของกล้วยน้ำว้าเพิ่มขึ้น เปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีแนวโน้มลดลง โดยเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างเนื้อกล้วยระดับความสุกที่ 1 จะลดลงจาก 90.59 ± 0.81 เปอร์เซ็นต์ ไปเป็น 22.69 ± 0.73 เปอร์เซ็นต์ในระดับความสุกที่ 8 สำหรับเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างเปลือกกล้วยระดับความสุกที่ 1 จะลดลงจาก 83.12 ± 2.38 เปอร์เซ็นต์ ไปเป็น 57.83 ± 1.71 เปอร์เซ็นต์ในระดับความสุกที่ 8

โดยทั่วไปตัวอย่างสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูง จะมีแนวโน้มของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของ สารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า จะเห็นได้ว่า เมื่อระดับความสุกของกล้วยน้ำว้าเพิ่มขึ้น เปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีแนวโน้มลดลง ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดที่มีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับความสุกเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน

นอกจากนี้ Sun และคณะ (2002) ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี total oxyradical scavenging capacity (TOSC)

ในผลไม้ 11 ชนิดพบว่า แคนเบอร์รี่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (507 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก ต่อ 100 กรัม) และมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด (177 ไมโครโมลสมมูลวิตามินซี ต่อ กรัม) เช่นกัน

ในการทดลองนี้ไม่สามารถนำเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างสารสกัดจากเนื้อกล้วยน้ำว้ามาเปรียบเทียบกับตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า เนื่องจากปริมาณสารสกัดที่ใช้ในการวิเคราะห์ได้จากปริมาณตัวอย่างเนื้อและเปลือกกล้วยเริ่มต้นไม่เท่ากัน สำหรับการเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ระหว่างเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าจะรายงานในหัวข้อถัดไป

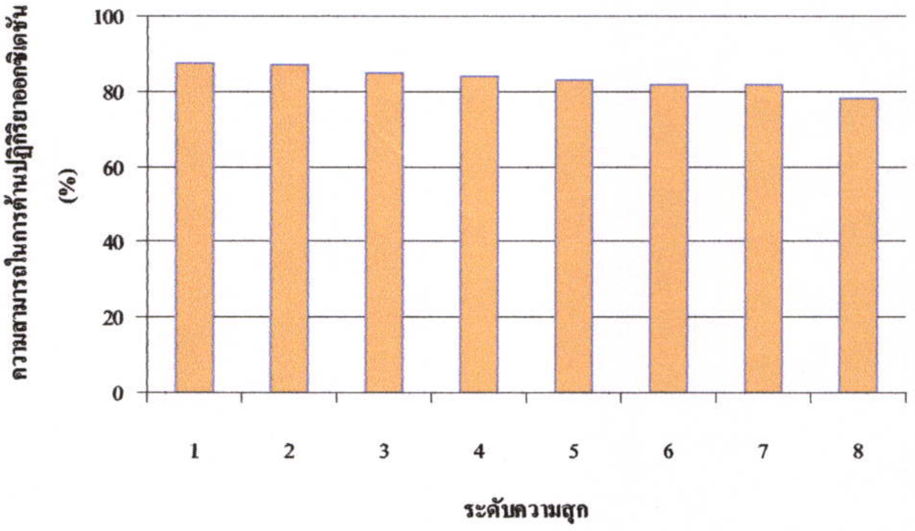
4.3.2 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี Ferric thiocyanate colorimetric method (FTC)

จากการศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน โดยวิธี FTC ซึ่งมีหลักการคือ วัดปริมาณเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นในขั้นเริ่มต้น (initial stages) ของปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) โดยเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะไปออกซิไดซ์ Fe^{2+} ไปเป็น Fe^{3+} ในสภาวะที่มีแอมโมเนียมไธโอไซยาเนต Fe^{3+} จะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีแดง และสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ 500 นาโนเมตร ดังนั้นถ้ามีปริมาณเปอร์ออกไซด์เกิดขึ้นในปฏิกิริยามาก สีแดงที่เกิดขึ้นก็จะเข้มมาก ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5 และ 4.6 และรูปที่ 4.6 และ 4.7

ตารางที่ 4.5 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ของสารสกัดจากเนื้อกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

ระดับความสุก	ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเนื้อกล้วย (%)
1	87.28 ± 0.24
2	87.06 ± 0.33
3	84.76 ± 0.02
4	83.86 ± 0.12
5	82.90 ± 0.54
6	81.62 ± 0.44
7	81.82 ± 0.26
8	77.97 ± 0.62

หมายเหตุ ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันวิเคราะห์จากการใช้สารสกัดที่ได้จากปริมาณตัวอย่างเนื้อกล้วยน้ำว้าสดที่เท่ากัน
ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง



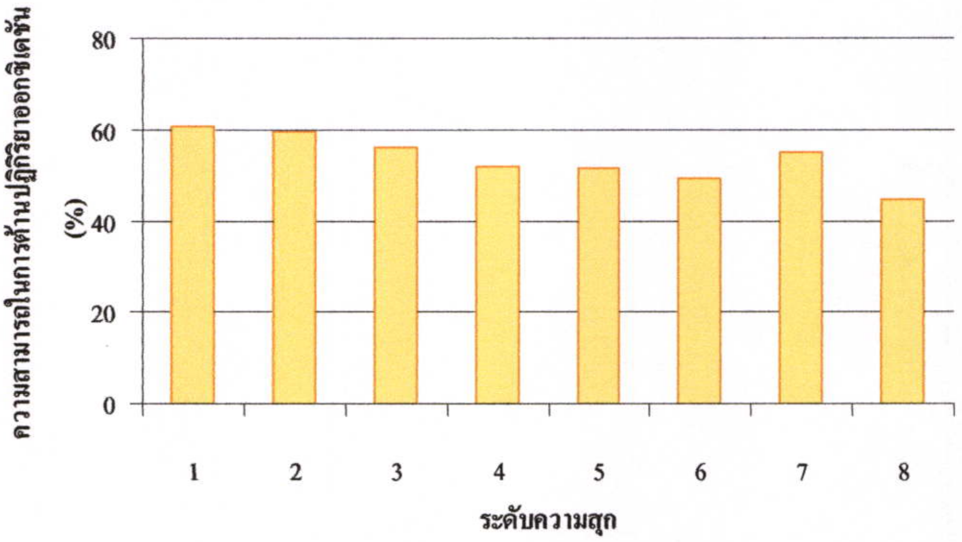
รูปที่ 4.6 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ของสารสกัดจากเนื้อกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

ตารางที่ 4.6 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

ระดับความสุก	ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกกล้วย (%)
1	60.53 ± 0.71
2	59.51 ± 0.20
3	56.13 ± 0.26
4	52.03 ± 0.64
5	51.54 ± 0.34
6	49.20 ± 0.76
7	54.80 ± 0.25
8	44.63 ± 0.40

หมายเหตุ ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันวิเคราะห์จากการใช้สารสกัดที่ได้จากปริมาณตัวอย่างเปลือกกล้วยน้ำว้าสดที่เท่ากัน

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง



รูปที่ 4.7 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

เมื่อพิจารณาเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า จากผลการทดลองในตารางที่ 4.5 และ 4.6 และรูปที่ 4.6 และ 4.7 จะเห็นได้ว่า เมื่อระดับความสุกเพิ่มขึ้น ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า จะมีแนวโน้มลดลง โดยเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างเนื้อกล้วยระดับความสุกที่ 1 จะลดลงจาก 87.28 ± 0.24 เปอร์เซ็นต์ ไปเป็น 77.97 ± 0.62 เปอร์เซ็นต์ในระดับความสุกที่ 8 ส่วนเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างเปลือกกล้วยระดับความสุกที่ 1 จะลดลงจาก 60.53 ± 0.71 เปอร์เซ็นต์ ไปเป็น 44.63 ± 0.40 เปอร์เซ็นต์ในระดับความสุกที่ 8

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า จะเห็นได้ว่า เมื่อระดับความสุกของกล้วยน้ำว้าเพิ่มขึ้น เปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีแนวโน้มลดลง ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่มีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับความสุกเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน

ในการทดลองนี้ไม่สามารถนำเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ของตัวอย่างสารสกัดจากเนื้อกล้วยน้ำว้ามาเปรียบเทียบกับตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า เนื่องจากปริมาณสารสกัดที่ใช้ในการวิเคราะห์ได้จากปริมาณตัวอย่างเนื้อและเปลือกกล้วยเริ่มต้นไม่เท่ากัน การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าจะรายงานในหัวข้อถัดไป

เป็นที่น่าสังเกตว่า การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ของสารสกัดจากเนื้อกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกทั้ง 8 ระดับ (ตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.6) จะเห็นความแตกต่างไม่ชัดเจนนัก ทั้งนี้เนื่องจาก ข้อจำกัดของความไว (sensitivity) ของวิธีทดสอบ ซึ่งส่งผลกระทบต่อการรายงานผลในรูปเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยถ้าปริมาณสารสกัดที่ใช้ในการวิเคราะห์มากเกินไป จะทำให้ไม่สามารถแยกแยะความแตกต่างของความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดได้อย่างชัดเจน ดังนั้นจึงควรใช้ปริมาณสารสกัดในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ให้เหมาะสม ซึ่งจะทำให้สามารถมองเห็นความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดได้ชัดเจนขึ้น

จากผลการทดลองศึกษาความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกทั้ง 8 ระดับ จะเห็นได้ว่า มีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับความสุกเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Mokbel และ Hashinaga (2005) โดยได้ศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยา

ออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมดิบและเปลือกกล้วยหอมสุก พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมดิบมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC สูงกว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมสุกเช่นเดียวกัน

4.4 การศึกษาความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบต่าง ๆ ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบต่าง ๆ ได้แก่ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ° OH ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot -}$ ความสามารถในการทำลาย H_2O_2 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกที่ 1 และ 6 เปรียบเทียบกับวิตามินซีและโทรอกซ์ โดยรายงานความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันดังกล่าวด้วยค่า EC_{50} ซึ่งหมายถึง ความเข้มข้นของสารสกัดจากเนื้อหรือเปลือกกล้วยน้ำว้า (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก/ปริมาตรของสารละลายปฏิกิริยา) ที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือทำลายอนุมูลอิสระลงได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นสารตัวอย่างใดที่มีค่า EC_{50} ต่ำจะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูง ยกเว้นกรณีของความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) จะรายงานในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซีหรือโทรอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบต่าง ๆ ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า เปรียบเทียบกับวิตามินซี และโทรอกซ์

สารตัวอย่าง	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อและเปลือกกล้วย (มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักสด)	EC_{50} (x 10^{-3} % โดยน้ำหนัก/ปริมาตรสารละลายปฏิกิริยา)					FRAP	
		DPPH	°OH	$O_2^{\cdot -}$	H_2O_2	FTC	มิลลิกรัมสมมูลวิตามินซี/ กรัมสารสกัด	มิลลิกรัมสมมูลโทรอกซ์ / กรัมสารสกัด
สารสกัดจากเนื้อกล้วยที่ระดับความสุก 1	136.72 ± 3.59	3.10	1.82	257	6.95	15.4	80.9 ± 2.2	129 ± 4
สารสกัดจากเปลือกกล้วยที่ระดับความสุก 1	240.96 ± 2.90	1.96	0.80	26.5	2.22	1.68	594 ± 37	946 ± 58
สารสกัดจากเนื้อกล้วยที่ระดับความสุก 6	49.53 ± 0.02	96.8	103	1975	135	106	1.94 ± 0.15	3.12 ± 0.24
สารสกัดจากเปลือกกล้วยที่ระดับความสุก 6	175.19 ± 0.40	5.36	1.37	104	2.72	15.7	41.5 ± 1.2	66.1 ± 1.9
วิตามินซี	-	0.272	0.007	-	0.408	117	-	-
โทรอกซ์	-	0.417	0.726	7.72	0.747	1.29	-	-

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

จากผลการวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในรูปแบบต่าง ๆ ดังตารางที่ 4.7 จะเห็นได้ว่าค่า EC_{50} ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของวิตามินซี มีค่าต่ำที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 0.272 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์ แสดงว่า วิตามินซีมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด รองลงมาคือ โทรอกซ์ (0.417 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) สารสกัดจากเปลือกกล้วยระดับความสุกที่ 1 (1.96 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) เนื้อกล้วยระดับความสุกที่ 1 (3.10 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) เปลือกกล้วยระดับความสุกที่ 6 (5.36 x 10^{-3}เปอร์เซ็นต์) และ เนื้อกล้วยระดับความสุกที่ 6 (96.8 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ

ค่า EC_{50} ในการต้านอนุมูลอิสระ °OH ของวิตามินซีมีค่าต่ำที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 0.007 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ โทรอกซ์ (0.726 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) สารสกัดจากเปลือกกล้วยระดับความสุกที่ 1 (0.799 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) เปลือกกล้วยระดับความสุกที่ 6 (1.37 x 10^{-3}เปอร์เซ็นต์) เนื้อกล้วยระดับความสุกที่ 1 (1.82 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) และ เนื้อกล้วยระดับความสุกที่ 6 (103 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ นอกจากนั้นจะเห็นได้ว่า ค่า EC_{50} ในการต้านอนุมูลอิสระ °OH มีค่าค่อนข้างต่ำกว่าการทำลายอนุมูลอิสระชนิดอื่น แสดงว่าสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ °OH ได้ค่อนข้างดีกว่าการทำลายอนุมูลอิสระชนิดอื่น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Murcia และคณะ (2001) ที่ได้รายงานไว้ว่า กล้วยมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล ได้ดี

เมื่อพิจารณาค่า EC_{50} ของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot-}$ พบว่าโทรอกซ์มีค่า EC_{50} ต่ำที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 7.72 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สารสกัดจากเปลือกกล้วยระดับความสุกที่ 1 (26.5 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) เปลือกกล้วยระดับความสุกที่ 6 (104 x 10^{-3}เปอร์เซ็นต์) เนื้อกล้วยระดับความสุกที่ 1 (257 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) และ เนื้อกล้วยระดับความสุกที่ 6 (1975 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ

วิตามินซีมีความสามารถในการทำลาย H_2O_2 สูงที่สุด คือมีค่า EC_{50} ต่ำที่สุด เท่ากับ 0.408 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ โทรอกซ์ (0.747 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) สารสกัดจากเปลือกกล้วยระดับความสุกที่ 1 (2.22 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) เปลือกกล้วยระดับความสุกที่ 6 (2.72 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) เนื้อกล้วยระดับความสุกที่ 1 (6.95 x 10^{-3}เปอร์เซ็นต์) และ เนื้อกล้วยระดับความสุกที่ 6 (135 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ

สำหรับความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC กลับพบว่าวิตามินซีมีค่า EC_{50} สูงที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 117 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าวิตามินซีมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ต่ำที่สุด ส่วนโทรอกซ์ มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด คือมีค่า EC_{50} เท่ากับ 1.29 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สารสกัดจากเปลือกกล้วยระดับความสุกที่ 1 (1.68 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) สารสกัดจากเนื้อกล้วยระดับความสุกที่ 1

(15.36 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) เปลือกกล้วยระดับความสุกที่ 6 (15.7 x 10^{-3}เปอร์เซ็นต์) และเนื้อกล้วยระดับความสุกที่ 6 (106 x 10^{-3} เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ

ในกรณีของ FRAP พบว่า สารสกัดจากเปลือกกล้วยที่ระดับความสุกที่ 1 มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสูงที่สุดคือมีค่า 594 ± 37 มิลลิกรัมสมมูลวิตามินซี/ กรัมสารสกัด, 946 ± 58 มิลลิกรัมสมมูลโทรอกซ์ / กรัมสารสกัด รองลงมาคือ สารสกัดจากเนื้อกล้วยที่ระดับความสุกที่ 1 (80.9 ± 2.2 มิลลิกรัมสมมูลวิตามินซี/ กรัมสารสกัด, 129 ± 4 มิลลิกรัมสมมูลโทรอกซ์ / กรัมสารสกัด) สารสกัดจากเปลือกกล้วยที่ระดับความสุก 6 (41.5 ± 1.2 มิลลิกรัมสมมูลวิตามินซี/ กรัมสารสกัด, 66.1 ± 1.9 มิลลิกรัมสมมูลโทรอกซ์ / กรัมสารสกัด) และสารสกัดจากเนื้อกล้วยที่ระดับความสุก 6 (1.94 ± 0.15 มิลลิกรัมสมมูลวิตามินซี/ กรัมสารสกัด, 3.12 ± 0.24 มิลลิกรัมสมมูลโทรอกซ์ / กรัมสารสกัด) ตามลำดับ

จากผลการทดลองที่กล่าวมาข้างต้น และ ผลการทดลองของ Kanazawa และ Sakakibara (2000) รวมทั้งผลการทดลองของ Someya และคณะ (2002) พบว่า มีความสอดคล้องกัน กล่าวคือ ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเปลือกกล้วยจะมีปริมาณสูงกว่าในเนื้อกล้วย ดังนั้นสารสกัดจากเปลือกกล้วยจึงน่าจะมีแนวโน้มของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากเนื้อกล้วย ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลการทดลองวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบต่าง ๆ ดังที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.7 โดยจะเห็นได้ชัดเจนว่า ในแต่ละระดับความสุกของกล้วยน้ำว้า สารสกัดจากเปลือกกล้วยจะมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดจากเนื้อกล้วยเสมอ นอกจากนี้ Someya และคณะ (2002) ได้รายงานผลการศึกษาการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยวิธี FTC โดยพบว่า สารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมซึ่งมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจากเนื้อกล้วยหอม จะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดจากเนื้อกล้วยหอมถึง 2.2 เท่า

ในปี 2002 Kondo และคณะได้ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ $O_2^{\cdot-}$ ในแอปเปิ้ล พบว่า สารสกัดจากเปลือกแอปเปิ้ลมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ $O_2^{\cdot-}$ ได้ดีกว่าสารสกัดจากเนื้อแอปเปิ้ล และเมื่อระดับความสุกของแอปเปิ้ลเพิ่มขึ้น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดังกล่าวก็จะมีแนวโน้มลดลง และในปี 2005 Kondo และคณะได้ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ $O_2^{\cdot-}$ ในผลไม้เขตร้อน (Tropical fruits) พบว่า สารสกัดจากเปลือกมะม่วง ชมพู่ และฝรั่ง มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ $O_2^{\cdot-}$ สูง นอกจากนั้น Jimenez-Escrig และคณะ (2001) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) และปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในฝรั่ง โดยพบว่า สารสกัดจากเปลือกฝรั่งมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก และปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจาก

เนื้อฝรั่ง จากผลการทดลองของงานวิจัยที่กล่าวมาทั้งหมดนี้รวมทั้งผลการทดลองในตารางที่ 4.7 แสดงให้เห็นว่าโดยทั่วไปเปลือกของผลไม้จะมีองค์ประกอบของโพลีฟีนอลในปริมาณสูงกว่าในส่วนของเนื้อผลไม้ จึงส่งผลให้สารสกัดจากเปลือกผลไม้มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระสูง

เมื่อพิจารณาผลการทดลองในตารางที่ 4.7 จะเห็นได้ว่าวิตามินซี มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH อนุมูลอิสระ ° OH และความสามารถในการทำลาย H_2O_2 ได้สูงที่สุด โทรอกซ์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot -}$ และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ได้สูงที่สุด เป็นที่น่าสังเกตว่าการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC นี้ วิตามินซีมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำที่สุด ทั้งนี้เนื่องจาก การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธีนี้สารละลายปฏิกิริยาจะอยู่ในรูปของอีมัลชัน ซึ่งถ้าสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมีสมบัติละลายได้ดีในไขมัน (lipophilic) สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจะจับอยู่กับน้ำมันที่บริเวณผิวสัมผัส (interface) ระหว่างน้ำมันและน้ำ ซึ่งจะช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี แต่สำหรับวิตามินซีซึ่งเป็นสารที่ละลายได้ดีในน้ำ (hydrophilic) จึงแยกไปอยู่ในส่วนที่เป็นน้ำมากกว่าที่จะจับอยู่บริเวณผิวสัมผัสระหว่างน้ำมันและน้ำ ดังนั้นประสิทธิภาพการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันจึงต่ำ (Frankel and Meyer, 2000) ส่วนเนื้อกล้วยระดับความสุกที่ 6 จะมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำที่สุดในทุกวิธีที่ศึกษา ทั้งนี้เป็นผลมาจากปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในเนื้อกล้วยที่ระดับความสุกที่ 6 มีค่าต่ำนั่นเอง นอกจากนี้ ตัวอย่างสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า วิตามินซี และโทรอกซ์จะมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันแตกต่างกันในแต่ละวิธี เช่น โทรอกซ์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีกว่าการต้านอนุมูลอิสระ °OH ความสามารถในการทำลาย H_2O_2 การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot -}$ ถึง 1.74 เท่า 1.79 เท่า 3.09 เท่า และ18.51 เท่า ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สารแต่ละชนิดจะมีศักยภาพในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันแตกต่างกันไป และสารชนิดเดียวกันอาจมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันแต่ละชนิดแตกต่างกันด้วย

นอกจากนี้จะสังเกตเห็นได้ว่าความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบต่าง ๆ ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ศึกษา ไม่น่าจะมีผลมาจากวิตามินซีที่เป็นองค์ประกอบในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า เนื่องจากโดยทั่วไปในเนื้อกล้วยน้ำว้าจะมีวิตามินซี (11 มิลลิกรัมต่อเนื้อกล้วย 100 กรัม) สูงกว่าในเปลือกกล้วย (เอกสารกองโภชนาการ, 2535) แต่ผลการทดลองในตารางที่ 4.7 พบว่าสารสกัดจากเนื้อกล้วยระดับความสุกที่ 6 กลับมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบต่าง ๆ ต่ำกว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยระดับความสุกที่ 6 ดังนั้นความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ และการ

ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่วิเคราะห์ได้ จึงน่าจะมีผลมาจากสารประกอบโพลีฟีนอลที่มีอยู่ในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ถูกสกัดออกมาโดยสภาวะที่ใช้ในการสกัด ซึ่งมีงานวิจัยที่สนับสนุนกับข้อสังเกตดังกล่าว โดยในปี 2002 Leong และ Shui ได้ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS และปริมาณวิตามินซีในผลไม้ 27 ชนิด พบว่า Ciku มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ได้ดีที่สุด ส่วนฝรั่งจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ได้ดีเป็นอันดับที่ 5 แต่เมื่อพิจารณาปริมาณวิตามินซีพบว่า ฝรั่งมีปริมาณวิตามินซีสูงที่สุด ส่วน Ciku กลับมีปริมาณวิตามินซีเป็นอันดับที่ 24 แสดงให้เห็นว่าในผลไม้แต่ละชนิดมีสารประกอบชนิดอื่น ๆ ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระหรือปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าวิตามินซี

4.5 การวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ ในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ คือ กรดแกลลิก (gallic acid) กรดโปรโต-แคทิชิวอิก (protocatechuic acid) กรดพาราคูมาริก (p-coumaric acid) และกรดเฟอรูลิก (ferulic acid) โดยวิธีสเปคโตรฟลูออโรเมทรี (spectro fluorometry) ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ ในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า

ตัวอย่าง	กรดฟีนอลิก (มิลลิกรัม/ 100 กรัมน้ำหนักสด)			
	กรดแกลลิก	กรดโปรโตแคทิชิวอิก	กรดพาราคูมาริก	กรดเฟอรูลิก
เนื้อกล้วยที่ระดับความสุก 1	1.17 ± 0.37	0.25 ± 0.01	0.12 ± 0.13	0.06 ± 0.04
เปลือกกล้วยที่ระดับความสุก 1	2.55 ± 0.86	0.36 ± 0.23	0.30 ± 0.06	0.18 ± 0.04
เนื้อกล้วยที่ระดับความสุก 6	1.62 ± 0.57	0.28 ± 0.01	0.11 ± 0.06	0.07 ± 0.06
เปลือกกล้วยที่ระดับความสุก 6	6.26 ± 0.39	0.60 ± 0.16	0.59 ± 0.02	0.57 ± 0.23

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ ในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าดังตารางที่ 4.8 จะเห็นได้ว่าเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ทุกระดับความสุก มีปริมาณกรดแกลลิกมากที่สุด (1.17-6.26 มิลลิกรัม/ 100 กรัมน้ำหนักสด) ส่วนกรดโปรโตแคทิชิวอิก กรดพาราคูมาริก และ กรดเฟอรูลิก มีปริมาณค่อนข้างใกล้เคียงกัน โดยเปลือกกล้วยระดับความสุกที่ 6 มีปริมาณกรดฟีนอลิกมากที่สุด ส่วนเนื้อกล้วยระดับความสุกที่ 1 มีปริมาณกรดฟีนอลิกน้อยที่สุด และในแต่ละระดับความสุก เปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีปริมาณกรดฟีนอลิกสูงกว่าเนื้อกล้วยน้ำว้าเสมอ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Gorinstein และคณะ (2001b) ที่ศึกษาปริมาณกรดฟีนอลิกในแอปเปิ้ลและเพอร์ซิมมอน (persimmon) โดยพบว่า ในเปลือกของแอปเปิ้ลและเพอร์ซิมมอน จะมีปริมาณกรดเฟอรูลิก กรดแกลลิก กรดโปรโตแคทิชิวอิก กรดวานิลิก และกรดพาราคูมาริก มากกว่าในส่วนของเนื้อ นอกจากนี้ในปี 2001 (a) Gorinstein และคณะ ได้ศึกษาปริมาณกรดฟีนอลิกในผลไม้ตระกูลส้ม (citrus fruit) 3 ชนิด คือ เลมอน (lemon) ส้ม และเกรฟฟรุ้ต (grapefruit) พบว่า ในเปลือกของเลมอน ส้ม และเกรฟฟรุ้ต จะมีปริมาณกรดเฟอรูลิก กรดซินนาปิก กรดพาราคูมาริก และกรดแคฟแฟอิก มากกว่าส่วนของผลที่ถูกปอกเปลือกออกแล้ว และ ในปี 2003 Leontowicz และคณะ ได้ศึกษาปริมาณกรดฟีนอลิก ในแอปเปิ้ล และแพร์ พบว่า เปลือกของแอปเปิ้ล และแพร์ จะมีปริมาณกรดเฟอรูลิก กรดพาราคูมาริก และกรดคาเฟอิก มากกว่าในส่วนของเนื้อ จากผลการทดลองทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่า ในเปลือกของผลไม้จะมีปริมาณกรดฟีนอลิกสูงกว่าในส่วนของเนื้อผลไม้ ซึ่งเป็นผลมาจากการที่โดยทั่วไปเปลือกของผลไม้จะมีองค์ประกอบของโพลีฟีนอลในปริมาณที่สูงกว่าส่วนของเนื้อผลไม้ ดังนั้นกรดฟีนอลิก ซึ่งจัดเป็นสารประกอบโพลีฟีนอล จึงมีปริมาณสอดคล้องกับสารประกอบโพลีฟีนอล

เป็นที่น่าสังเกตว่า เมื่อระดับความสุกของกล้วยเพิ่มขึ้นปริมาณกรดฟีนอลิกในสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งผลการทดลองนี้ไม่สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดที่มีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับความสุกเพิ่มขึ้น ดังผลการทดลองในข้อ 4.2 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้ามีปริมาณกรดฟีนอลิกเป็นสัดส่วนน้อยมาก เมื่อเทียบกับปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (วิเคราะห์เทียบเป็นปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ประมาณ 3.25%) ดังนั้นเมื่อระดับความสุกของกล้วยน้ำว้าเพิ่มขึ้นถึงแม้ว่าปริมาณกรดฟีนอลิกจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นก็ไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบหลัก

อย่างไรก็ตามผลการทดลองดังกล่าวก็มีความสอดคล้องกับผลการทดลองของ Gorinstein และคณะ (1999) ซึ่งได้ศึกษาปริมาณกรดแกลลิก ในผลไม้เขตร้อน 8 ชนิดโดยใช้หลักการเรืองแสงของแสงฟลูออเรสเซนส์ (fluorescence) ด้วยเครื่องสเปคโตรฟลูออโรมิเตอร์ (Spectrofluorometer) พบว่ามะม่วงแก้วสุกมีปริมาณกรดแกลลิก (397.4 ไมโครกรัม/ 100 กรัมน้ำหนักสด) สูงกว่ามะม่วงแก้วดิบ (231.6 ไมโครกรัม/ 100 กรัมน้ำหนักสด) นอกจากนี้ในปี 2004 Marterska และ Perucka ได้

ศึกษาผลของการสุก (maturity) ต่อการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลิก ในพริก (hot pepper) พบว่า เมื่อระยะสุกเพิ่มขึ้น กรดเฟอรูลิกจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นด้วย (เพิ่มจาก 10.31 เป็น 53.42 มิลลิกรัม / กิโลกรัมน้ำหนักสด)

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกทั้ง 8 ระดับ พบว่าเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน จะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดแตกต่างกัน โดยเมื่อระดับความสุกของกล้วยเพิ่มขึ้น ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีแนวโน้มลดลง นอกจากนั้นเปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าเนื้อกล้วยน้ำว้าที่ทุกระดับความสุก โดยปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อกล้วยน้ำว้าจะอยู่ในช่วง 47.97 ± 0.05 ถึง 198.29 ± 0.65 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด ส่วนในเปลือกกล้วยน้ำว้าจะอยู่ในช่วง 175.19 ± 0.40 ถึง 287.56 ± 1.83 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด เมื่อวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl) และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี Ferric thiocyanate colorimetric method (FTC) ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน พบว่า ที่ระดับความสุกของกล้วยน้ำว้าเพิ่มขึ้น เปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้ามีแนวโน้มลดลง ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดที่มีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับความสุกเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน

เมื่อวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบต่าง ๆ คือ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ °OH ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot-}$ ความสามารถในการทำลาย H_2O_2 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) ของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าในระดับความสุกที่ 1 และ 6 เปรียบเทียบกับวิตามินซี และโทรลอกซ์ พบว่า วิตามินซี มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH อนุมูลอิสระ ° OH และความสามารถในการทำลาย H_2O_2 ได้สูงที่สุด โทรลอกซ์ มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot-}$ และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ได้สูงที่สุด ส่วนเนื้อกล้วยระยะที่ 6 จะมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระต่ำที่สุดในทุกวิธีที่ศึกษา ยกเว้นการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ในกรณีของ FRAP พบว่า สารสกัดจากเปลือกกล้วยที่ระดับความสุกที่ 1 มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสูงที่สุด ส่วนสารสกัดจากเนื้อกล้วยที่ระดับความสุก 6 มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกต่ำที่สุด และสารสกัดจากเปลือกกล้วยจะมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดจากเนื้อกล้วยในแต่ละระดับ

ความสุก นอกจากนี้ ตัวอย่างสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้า วิตามินซีและโทรอกซ์ จะมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันแตกต่างกันในแต่ละวิธี ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สารแต่ละชนิดจะมีศักยภาพในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันแตกต่างกันไป และสารชนิดเดียวกันอาจมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันแต่ละชนิดแตกต่างกันด้วย

การวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ ในเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุก 1 และ 6 พบว่าเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าทั้งสองระดับความสุก มีปริมาณกรดแกลลิกมากที่สุด ส่วนกรดโปรโตแคทิชิวอิก กรดพาราคูมาริก และ กรดเฟอรูลิก มีปริมาณค่อนข้างใกล้เคียงกัน และสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีปริมาณกรดฟีนอลิกสูงกว่าสารสกัดจากเนื้อกล้วยน้ำว้าเสมอ นอกจากนี้เมื่อระดับความสุกของกล้วยเพิ่มขึ้น ปริมาณกรดฟีนอลิกในสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

บรรณานุกรม

กรมส่งเสริมวิชาการเกษตร. 2544. *สถิติการเกษตรของประเทศไทยปีการเพาะปลูก 2535-2544.* กรุงเทพ: ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เบญจมาศ ศิลาย้อย. 2538. *กล้วย*. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ: ประชาชน.

ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม และวันทนีย์ ช้างน้อย. 2545. การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและศักยภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดพืชตระกูลส้มสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ปลูกในประเทศไทย. *อาหาร*. 32: 300-307.

วัลยา เนาวรัตน์วัฒนา และพัชรี บุญศิริ. 2542. โปรออกซิแดนท์: อีกโฉมหน้าของแอนติออกซิแดนท์. *วารสารวิทยาศาสตร์*. 53:196-198.

สุภาภรณ์ เพื่อพัฒนพงศ์. 2546. *สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน*. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพ.

เอกสารกองโภชนาการ.2535. *คุณค่าทางโภชนาการของกล้วยพันธุ์ต่าง ๆ*. กรุงเทพ: กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข.

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุณยะรัตน์, มาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. 2549. *สารต้านอนุมูลอิสระ*. กรุงเทพ: พี.เอส.พริ้นท์.

Aruoma, O.I. 1994. Deoxyribose assay for detecting hydroxyl radicals. *In* Methods in enzymology, vol. 233 (Packer, L., ed.). New York: Academic Press, Inc. 57-66.

Benzie, I.F.F., Strain, J.J. 1999. Ferric reducing/antioxidative power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version of simultaneous measurement of antioxidant power and ascorbic acid concentration. *In* Methods in enzymology, vol. 299 (Packer, L., ed.). New York: Academic Press, Inc. 15-27.

Bravo, L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutr. Rev.* 56: 317-333.

Burns, J., Gardner, P.T., O'Neil, J., Crawford, S., Morecroft, I., McPhail, D.B. 2000. Relationship among antioxidant activity, vasodilation capacity and phenolic content of red wines. *J. Agric. Food Chem.* 48: 220-230.

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

Garcia-Sanchez, F., Carnero, C., Heredia, A. 1988. Fluorometric determination of *p*-coumaric acid in beer. *J. Agric. Food Chem.* 36: 80-82.

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

Gorinstein, S., Zachwieja, Z., Folta, M., Barton, H., Piotrowicz, J., Zemser, M., Weisz, M., Trakhtenberg, S., Belloso, O.M. 2001b. Comparative contents of dietary fiber, total phenolics and minerals in persimmons and apples. *J. Agric. Food Chem.* 49: 952-957.

Gorinstein, S., Zemser, M., Haruenkit, R., Chuthakorn, R., Grauer, F., Belloso, O.M., Trakhtenberg, S. 1999. Comparative content of total polyphenols and dietary fiber in tropical fruits and persimmon. *J. Nutr. Biochem.* 10: 367-371.

Gorinstein, S., Zemser, M., Weisz, M., Halevy, S., Deutsch, J., Tilis, K., Feintuch, D., Guerra, N., Fishman, M., Bartnikowska, E. 1994. Fluorometric analysis of phenolics in persimmons. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58: 1087-1092.

Jimenez-Escrig, A., Rincon, M., Pulido, R., Saura-Calixto, F. 2001. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. *J. Agric. Food Chem.* 49: 5489-5493.

John, P., Marchal, J. 1995. Ripening and Biochemistry of fruit. *In* Bananas and Plantains. (Gowen, S., ed). UK: Chapman & Hall.

Kanazawa, K., Sakakibara, H. 2000. High content of dopamine, a strong antioxidant, in cavendish banana. *J. Agric. Food Chem.* 48: 844-848.

Kondo, S., Tsuda, K., Muto, N., Ueda, J. 2002. Antioxidative activity of apple skin or flesh extracts associated with fruit development on selected apple cultivars. *Scientia Hort.* 96: 177-185.

Kondo, S., Kittikorn, M., Kanlayanarat, S. 2005. Preharvest antioxidant activities of tropical fruit and the effect of low temperature storage on antioxidants and jasmonates. *Post. Bio. Tech.* 36: 309-315.

Larrauri, J.A., Goni, I., Martin-Carron, N., Ruperez, P., Saura-Calixto, F. 1996. Measurement of health-promoting properties in fruit dietary fibers:antioxidant capacity, fermentability and glucose retardation index. *J. Sci. Food Agric.* 71: 515-519.

Leong, L.P., Shui, G. 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem.* 76: 69-75.

Leontowicz, M., Gorinstein, S., Leontowicz, H., Krzeminski, R., Lojek, A., Katrich, E., Ciz, M., Belloso, O.M., Fortuny, R.S., Haruenkit, R., Trakhtenberg, S. 2003. Apple and pear peel and pulp and their influence on plasma lipids and antioxidant potentials in rats fed cholesterol-containing diets. *J. Agric. Food Chem.* 51: 5780-5785.

Materska, M., Perucka, I. 2004. Changes in ferulic and sinapic acid esters and quercetin rhamnoside contents in the selected hot pepper cultivars as influenced by maturity. *Acta Scientiarum Polonarum-Technologia Alimentaria.* 3: 77-82.

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

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

Murcia, M.A., Jimenez, A.M., Martinez-Tome, M. 2001. Evaluation of the antioxidant properties of Mediterranean tropical fruits compared with common food additives. *J. Food Prot.* 64: 2037-2046.

Punchard, N.A., Kelly, F.J. 1996. *Free radicals: a practical approach.* Washington, D.C. Oxford university press, Inc. 310 p.

Salunkhe, D.K., Kadam, S.S. 1995. *Handbook of fruit science and technology.* New York. Marcel Dekker, Inc. 611 p.

Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., Saura-Calixto, F. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.* 76: 270-276.

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

Stover, R.H., Simmonds, N.W. 1987. *Bananas.* New York. John Wiley and Sons, Inc. 468 p.

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

Vinson, J.A., Su, X., Zubik, L., Bose, P. 2001. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. *J. Agric. Food Chem.* 49: 5315-5321.

Wang, H., Cao, G., Prior, R.L. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.* 44: 701-705.

Yen, G.C., Chen, A.Y. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.* 43: 27-37

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสีเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสีเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน

1) อุปกรณ์

1.1 เครื่องวัดสี (Minolta color meter)

2) วิธีการทดลอง

2.1 นำกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างๆ มาวัดสีด้วยเครื่องวัดสีที่จุดต่างๆ ทั้งผล 10 จุด และบันทึกผล

2.2 คำนวณการเปลี่ยนแปลงของสี เมื่อระดับความสุกเปลี่ยนแปลงไปโดยให้ค่าสีที่ระดับความสุกที่ 1 เป็นสีที่อ้างอิงในการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น แล้วคำนวณตามสมการ

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์

การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์

1) อุปกรณ์

1.1 เครื่อง spectrophotometer

1.2 water bath

1.3 หลอดทดลอง

2) สารเคมี

2.1 กรด 3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิก (3,5-dinitrosalicylic acid)

2.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH)

2.3 โพแทสเซียม โซเดียมทาร์เทรท (Potassium sodium tartrate)

3) การเตรียม DNS reagent

3.1 ตวงน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรลงในบีกเกอร์

3.2 เติม โซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม และใช้แท่งแก้วคนให้ละลาย

3.3 เติมโพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรท 75 กรัม คนให้ละลาย

3.4 เติม 3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิกแอซิด 0.25 กรัม คนให้ละลาย

3.5 เทสารละลายลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

4) วิธีวิเคราะห์

4.1 ชั่งตัวอย่าง 50 กรัม นำไปปั่นกับน้ำกลั่นปริมาณ 100 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องปั่นนาน 1 นาที

4.2 นำสารละลายที่ได้ไปกรองและวัดปริมาตร

4.3 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 0.4 มิลลิลิตร และสารละลาย DNS 4 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

4.4 นำตะแกรงที่ใส่หลอดทดลองวางในอ่างน้ำเดือดนาน 5 นาที

4.5 หลังจากครบกำหนดเวลา ให้นำตะแกรงหลอดทดลองแช่ลงในอ่างน้ำเย็นและทำให้เย็นลงทันที

4.6 เติมน้ำกลั่นลงในหลอดทดลองอีกหลอดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

4.7 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร

4.8 บันทึกผลการทดลอง

5) การเตรียมกราฟมาตรฐาน

5.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคส 0.1-1.0 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น1 กรัม / 1 ลิตร) ลงในหลอดทดลองปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น1 มิลลิลิตร

5.2 ปิเปตสารละลาย DNS 4 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

5.3 นำตะแกรงที่ใส่หลอดทดลองวางในอ่างน้ำเดือดนาน 5 นาที

5.4 หลังจากครบกำหนดเวลา ให้นำตะแกรงหลอดทดลองแช่ลงในอ่างน้ำเย็นและทำให้เย็นลงทันที

5.5 เติมน้ำกลั่นลงในหลอดทดลองอีกหลอดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

5.6 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร

5.7 บันทึกผลการทดลองและนำค่าที่ได้มาเขียนกราฟมาตรฐาน

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol contents)

การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด

1. สารเคมี

1.1 Folin-Ciocalteu

1.2 โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

1.3 สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2. การเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานดังกล่าวใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0, 0.05, 0.15, 0.20, 0.30 และ 0.35 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร

2.3 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที

2.4 เติมสารละลาย โซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

2.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร

2.6 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิกในหน่วย ไมโครกรัม

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในตัวอย่างสารสกัด

3.1 ปิเปตตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมเป็น 10 มิลลิลิตร

3.2 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที

3.3 เติมสารละลาย โซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี Ferric thiocyanate colorimetric method (FTC)

1. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จะใช้วิธีที่รายงานโดย Murakami และคณะ (2004) โดยมีหลักการคือ สารละลายของอนุมูลอิสระ DPPH จะมีสีม่วงแดง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ที่ 517 นาโนเมตร ในกรณีตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดี จะทำให้สีม่วงแดงของสารละลาย DPPH จางลงได้มากกว่าตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้น้อย

1.1 สารเคมี

1.1.1 สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 0.0158 กรัม ละลายในเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรมให้เป็น 50 มิลลิลิตร

1.1.2 เอธานอล ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์

1.2 วิธีวิเคราะห์

1.2.1 ปิเปตสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ 0.12 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง

1.2.2 ปิเปตตัวอย่างสารสกัด และเอธานอล ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ โดยให้ปริมาตรของสารละลายที่ทำปฏิกิริยารวมทั้งหมดเป็น 1.2 มิลลิลิตร นั่นคือปริมาตรรวมของตัวอย่างสารสกัด และเอธานอล ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ จะต้องเท่ากับ 1.08 มิลลิลิตร

1.2.3 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

1.2.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอธานอล ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์เป็น blank

1.2.5 คำนวณเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยแทนค่าในสมการดังนี้

{1 - (ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง / ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม)} x 100

2. ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี Ferric thiocyanate colorimetric method (FTC) (Larrauri *et al.*, 1996)

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC จะใช้วิธีที่รายงานโดย Larrauri และคณะ (1996) มีหลักการคือ วัดปริมาณเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นในขั้นเริ่มต้น (initial stages) ของปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) โดยให้ทำปฏิกิริยากับ $FeCl_2$ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีแดง และสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ 500 นาโนเมตร ดังนั้นถ้ามีปริมาณเปอร์ออกไซด์เกิดขึ้นในปฏิกิริยามากสีแดงที่เกิดขึ้นก็จะเข้มมาก

2.1 สารเคมี

2.1.1 สารละลายกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) 2.51 เปอร์เซ็นต์

ชั่งกรดลิโนเลอิก 2.51 กรัม ละลายใน เอธานอล 99.99 เปอร์เซ็นต์ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

2.1.2 สารละลายแอมโมเนียม ไธโอไซยาเนต (ammonium thiocyanate) 30 เปอร์เซ็นต์

2.1.3 สารละลายเฟอร์รัส คลอไรด์ (ferrous chloride) 0.02 โมลาร์

ชั่ง $FeCl_2 . 4H_2O$ 0.199 กรัม ละลายใน HCl ความเข้มข้น 3.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วปรับปริมาตรให้ เป็น 50 มิลลิลิตร

2.1.4 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7 ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์

2.1.5 เอธานอล 75 เปอร์เซ็นต์

2.2 วิธีวิเคราะห์

2.2.1 ปิเปตสารละลายกรดลิโนเลอิก ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

2.2.2 เติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7 ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ปริมาตร1 มิลลิลิตร

2.2.3 เติมตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

2.2.4 เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

2.2.5 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) นำไปบ่มไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่ 40 องศาเซลเซียส ในที่ไม่มีแสงรบกวน

2.2.6 ปิเปตสารละลายปฏิกิริยาปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ที่เวลาของปฏิกิริยาทุก ๆ 24 ชั่วโมง คือ 0, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมงตามลำดับ

2.2.7 เติมเอธานอล 75 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9.7 มิลลิลิตร

2.2.8 เติมสารละลายแอมโมเนียม ไธโอไซยาเนต 30 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร

2.2.9 เติมสารละลายเฟอร์รัส คลอไรด์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 นาที

2.2.10 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร โดยที่หลอดควบคุมจะใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง สำหรับ blank ใช้ เอธานอล 75 เปอร์เซ็นต์ แทนตัวอย่าง

2.2.11 คำนวณหาค่าเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC โดยแทนค่าในสมการดังนี้

$$100 - \left\{ \frac{[\text{ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างชั่วโมงที่ 96 / ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างชั่วโมงที่ 0}]}{[\text{ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุมชั่วโมงที่ 96 / ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุมชั่วโมงที่ 0}]} \times 100 \right\}$$

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบต่าง ๆ

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบต่าง ๆ

1. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จะใช้วิธีที่รายงานโดย Murakami และคณะ (2004) โดยมีหลักการคือ สารละลายของอนุมูลอิสระ DPPH จะมีสีม่วงแดง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ที่ 517 นาโนเมตร ในกรณีตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดี จะทำให้สีม่วงแดงของสารละลาย DPPH จางลงได้มากกว่าตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้น้อย

1.1 สารเคมี

1.1.1 สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 0.0158 กรัม ละลายในเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร

1.1.2 เอธานอล ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์

1.2 วิธีวิเคราะห์

1.2.1 ปิเปตสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ 0.12 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง

1.2.2 ปิเปตตัวอย่างสารสกัด และเอธานอล ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ โดยให้ปริมาตรของสารละลายที่ทำปฏิกิริยารวมทั้งหมดเป็น 1.2 มิลลิลิตร นั่นคือปริมาตรรวมของตัวอย่างสารสกัด และเอธานอล ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ จะต้องเท่ากับ 1.08 มิลลิลิตร

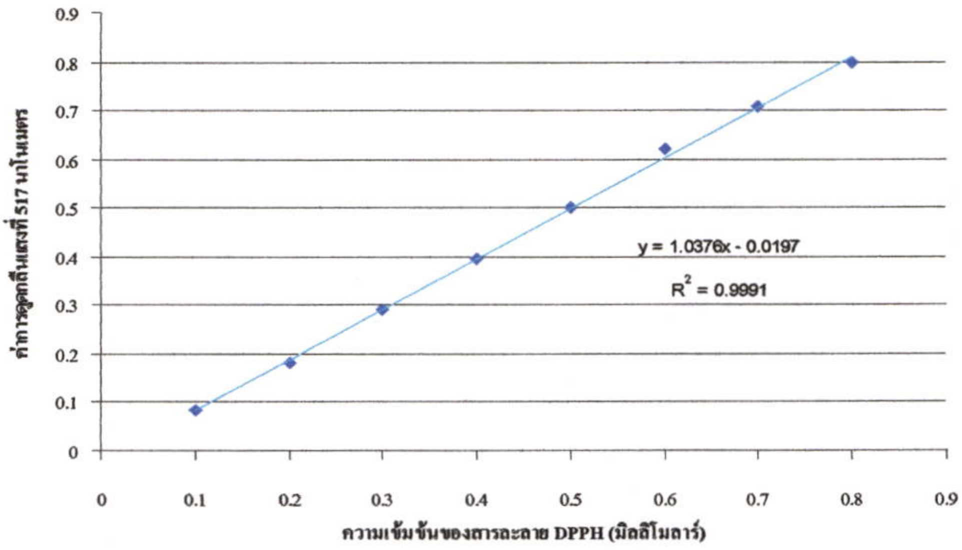
1.2.3 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

1.2.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอธานอล ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์เป็น blank

1.2.5 คำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

1.3 ตัวอย่างการคำนวณ (Sanchez-Moreno *et al.*, 1998)

1.3.1 สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลาย DPPH โดยมีสมการเส้นตรงคือ $y = 1.0376x - 0.0197$ และค่า $R^2 = 0.9991$ ดังแสดงในรูปที่ จ 1



รูปที่ จ 1 กราฟมาตรฐานของสารละลาย DPPH

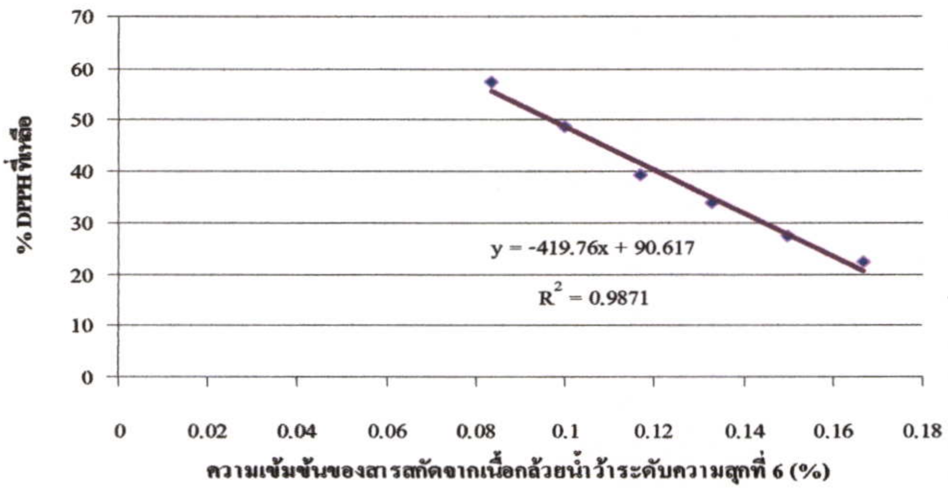
1.3.2 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง แทนค่าในสมการ y = 1.0376x - 0.0197 เพื่อหาค่าความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ($[DPPH]_T$)

1.3.3 นำค่าความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ($[DPPH]_T$ ที่ได้จากการคำนวณในข้อ 1.3.2 แทนค่าในสมการ

$$\% \text{ DPPH ที่เหลือ} = [DPPH]_T / [DPPH]_{T=0} \times 100$$

โดยที่ $[DPPH]_{T=0}$ คือ ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ของหลอดควบคุม (control)

1.3.4 นำค่า % DPPH ที่เหลือ ที่ได้จากการคำนวณในข้อ 1.3.3 มาสร้างกราฟ ดังรูปที่ จ 2



รูปที่ จ 2 กราฟปริมาณ DPPH ที่เหลือ เมื่อใช้สารสกัดจากเนื้อกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 6 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

1.3.5 คำนวณหาค่า EC_{50} จากสมการเส้นตรงที่ได้จากการสร้างกราฟในข้อ 1.3.4 นั่นคือ $y = -419.76x + 90.617$ โดยให้ค่า $y = 50$ %

1.3.6 สำหรับการคำนวณหาค่า EC_{50} ของวิตามินซีและ โทรลอกซ์ ใช้วิธีการคำนวณเช่นเดียวกับตัวอย่างสารสกัดดังกล่าวข้างต้น

2. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (° OH)

การวิเคราะห์ความสาม เรถในการต้านอนุมูลอิสระ °OH จะใช้วิธีที่รายงานโดย Aruoma (1994) โดยมีหลักการคือ Fe^{2+} จะทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ °OH เนื่องจากปฏิกิริยา Fenton จากนั้นอนุมูลอิสระ °OH จะทำปฏิกิริยากับ deoxyribose ทำให้เกิดการสลายตัวของ deoxyribose และทำให้เกิดสีชมพูซึ่งดูดกลืนแสงได้ที่ 532 นาโนเมตร ดังนั้นถ้ามีอนุมูลอิสระ °OH มาก deoxyribose ก็จะสลายตัวมาก สีชมพูที่เกิดขึ้นจึงเข้ม แต่ถ้าตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดี จะทำให้สีชมพูจางลงได้มากกว่าตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้น้อย

2.1 สารเคมี

2.1.1 สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก/ไตรบาบิทิวริก (TCA / TBA)

2.1.1.1 ชั่ง กรดไตรคลอโรอะซิติก (TCA) 15 กรัม และ ไตรบาบิทิวริก (TBA) 0.375 กรัม ละลายใน HCl ความเข้มข้น 0.25 นอร์มอล แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

2.1.1.2 ผสมสารละลายในข้อ 2.1.1.1 กับ BHT ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ (โดยชั่ง BHT 0.2 กรัม ละลายในเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร โดยผสมก่อนที่จะใช้เท่านั้น

2.1.2 สารละลาย Deoxyribose-Ascorbic acid

ชั่ง deoxyribose 90 มิลลิกรัม และ ascorbic acid 8.45 มิลลิกรัม ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร

2.1.3 สารละลาย EDTA-$FeCl_3$

ชั่ง EDTA 37.2 มิลลิกรัม และ $FeCl_3 . 6H_2O$ 27 มิลลิกรัม ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

2.1.4 H_2O_2 ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์

2.2 วิธีวิเคราะห์

2.2.1 ปิเปตสารละลาย EDTA-$FeCl_3$ ปริมาตร 60 ไมโครลิตร

2.2.2 เติมสารละลาย Deoxyribose-Ascorbic acid ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

2.2.3 เติม H_2O_2 ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 120 ไมโครลิตร

2.2.4 เติมตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 25 ไมโครลิตร

2.2.5 เติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 945 ไมโครลิตร

2.2.6 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) นำไปบ่มไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2.2.7 เมื่อครบ 1 ชั่วโมง ปิเปตสารละลายปฏิกิริยาข้างต้น 0.6 มิลลิลิตร ผสมกับ

สารละลาย TCA / TBA ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร

2.2.8 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) และนำไปบ่มในอ่างน้ำเดือด เป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

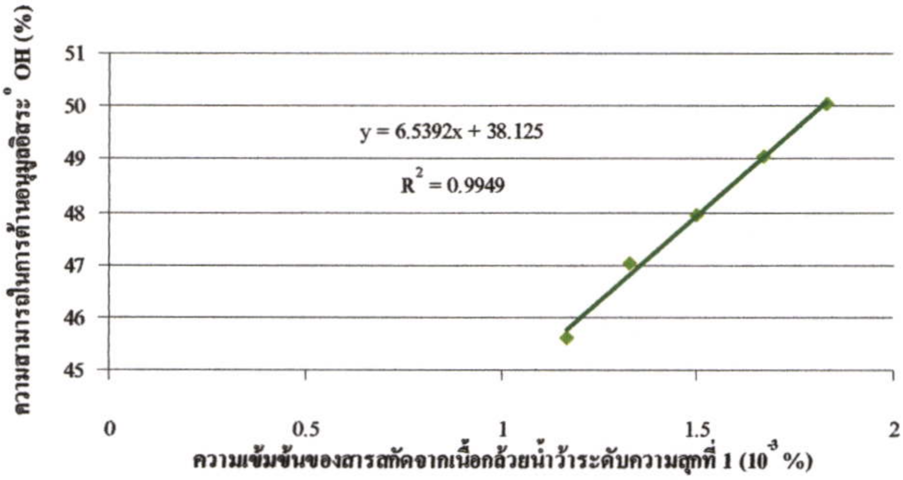
2.2.9 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร โดยที่หลอดควบคุม (control) จะใช้ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์แทนตัวอย่าง สำหรับ blank ให้ใช้ HCl ความเข้มข้น 0.25 นอร์มอล แทนสารละลาย TCA / TBA

2.3 ตัวอย่างการคำนวณ

2.3.1 คำนวณหาค่าเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ° OH ของตัวอย่างสารสกัดโดยแทนค่าในสมการดังนี้

{1 - (ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง / ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม)} x 100

2.3.2 นำค่าเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ° OH ที่ได้จากการคำนวณในข้อ 2.3.1 มาสร้างกราฟดังรูปที่ จ 3



รูปที่ จ 3 กราฟเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ° OH เมื่อใช้สารสกัดจากเนื้อกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 1 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

2.3.3 คำนวณหาค่า EC_{50} จากสมการเส้นตรงที่ได้จากการสร้างกราฟในข้อ 2.3.2 นั่นคือ $y = 6.5392x + 38.125$ โดยให้ค่า $y = 50$ %

2.3.4 สำหรับการคำนวณหาค่า EC_{50} ของวิตามินซีและโทรอกซ์ ใช้วิธีการคำนวณเช่นเดียวกับตัวอย่างสารสกัดดังกล่าวข้างต้น

3. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\cdot-}$)

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot-}$ จะใช้วิธีที่รายงานโดย Yen และ Chen (1995) โดยอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot-}$ เป็นแหล่งของอนุมูลอิสระหลายชนิด เช่น peroxyl, alkoxyl, hydroxyl เป็นต้น ซึ่งอนุมูลเหล่านี้จะเกิดจาก $O_2^{\cdot-}$ ผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน หรือ ปฏิกิริยา Fenton ดังนั้นถ้าตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot-}$ ได้ดี ก็จะสามารถลดการเกิดอนุมูลอิสระชนิดอื่น ๆ ได้อีก

3.1 สารเคมี

3.1.1 สารละลาย NADH

ชั่ง NADH 0.034 กรัม ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

3.1.2 สารละลาย ไนโตรเตตระโซเลียม บลูคลอไรด์ (nitrotetrazolium blue chloride, NBT)

ชั่ง NBT 0.012 กรัม ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

3.1.3 สารละลาย ฟีนาซีน เมทโธซัลเฟต (phenazine methosulfate, PMS)

ชั่ง PMS 0.0018 กรัม ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

3.2 วิธีทดลอง

3.2.1 ปิเปตตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

3.2.2 เติมสารละลาย PMS ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

3.2.3 เติมสารละลาย NADH ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

3.2.4 เติมสารละลาย NBT ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

3.2.5 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที

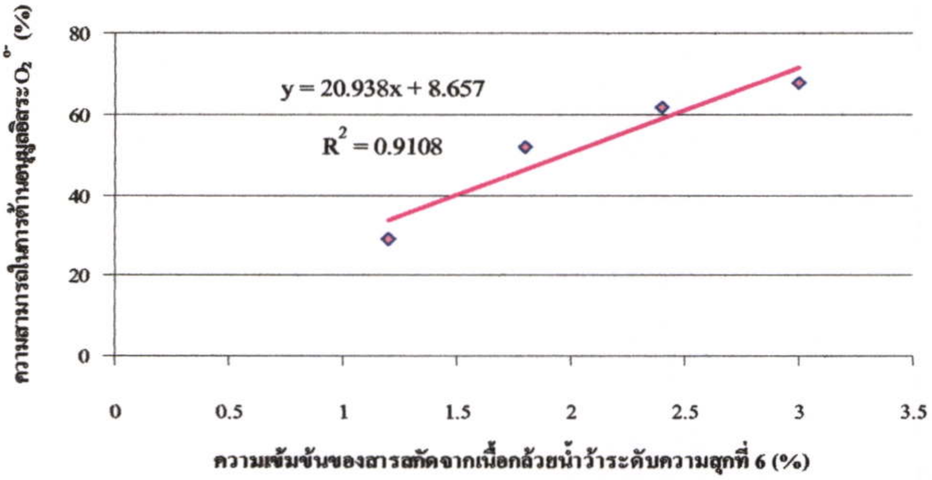
3.2.6 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร

3.3 ตัวอย่างการคำนวณ

3.3.1 คำนวณหาค่าเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot-}$ ของตัวอย่างสารสกัดโดยแทนค่าในสมการดังนี้

{1 - (ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง / ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม)} x 100

3.3.2 นำค่าเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot-}$ ที่ได้จากการคำนวณในข้อ 3.3.1 มาสร้างกราฟดังรูปที่ จ 4



รูปที่ จ 4 กราฟเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot-}$ เมื่อใช้สารสกัดจากเนื้อกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 6 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

3.3.3 คำนวณหาค่า EC_{50} จากสมการเส้นตรงที่ได้จากการสร้างกราฟในข้อ 3.3.2 นั่นคือ $y = 20.938x + 8.657$ โดยให้ค่า y = 50 %

3.3.4 สำหรับการคำนวณหาค่า EC_{50} ของวิตามินซีและโทรอกซ์ ใช้วิธีการคำนวณเช่นเดียวกับตัวอย่างสารสกัดดังกล่าวข้างต้น

4. ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลาย H_2O_2 จะใช้วิธีที่รายงานโดย Yen และ Chen (1995) โดยวัดปริมาณ H_2O_2 ที่เหลืออยู่ ซึ่งดูดกลืนแสงได้ที่ 230 นาโนเมตร ในกรณีตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลาย H_2O_2 ได้ดี จะทำให้เกิดการสลายตัวของ H_2O_2 มาก

4.1 สารเคมี

4.1.1 H_2O_2 ความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์

ปิเปต H_2O_2 ความเข้มข้น 30 % มา 0.0408 มิลลิลิตร ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

4.1.2 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ความเข้มข้น 0.1โมลาร์

4.2 วิธีทดลอง

4.2.1 ปิเปตตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 4 มิลลิลิตร

4.2.2 เติม H_2O_2 ความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร

4.2.3 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที

4.2.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร

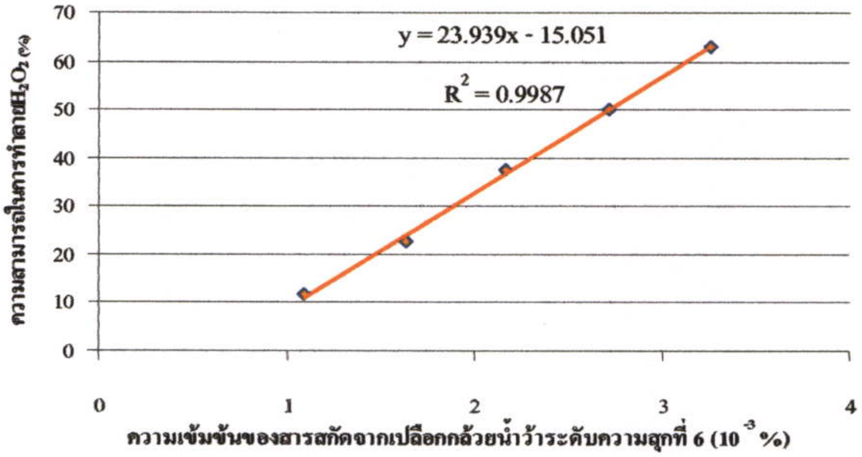
4.2.5 สำหรับ blank ให้ใช้ ตัวอย่างที่วิเคราะห์ผสมกับ phosphate buffer โดยไม่ต้องมี H_2O_2

4.3 ตัวอย่างการคำนวณ

4.3.1 คำนวณหาค่าเปอร์เซนต์ความสามารถในการทำลาย H_2O_2 ของตัวอย่างสารสกัดโดยแทนค่าในสมการดังนี้

{1 - (ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง / ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม)} x 100

4.3.2 นำค่าเปอร์เซนต์ความสามารถในการทำลาย H_2O_2 ที่ได้จากการคำนวณในข้อ 4.3.1 มาสร้างกราฟดังรูปที่ จ 5



รูปที่ จ 5 กราฟเปอร์เซนต์ความสามารถในการทำลาย H_2O_2 เมื่อใช้สารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 6 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

4.3.3 คำนวณหาค่า EC_{50} จากสมการเส้นตรงที่ได้จากการสร้างกราฟในข้อ 4.3.2 นั่นคือ $y = 23.939x + 15.051$ โดยให้ค่า $y = 50$ %

4.3.4 สำหรับการคำนวณหาค่า EC_{50} ของวิตามินซีและโทรอกซ์ ใช้วิธีการคำนวณเช่นเดียวกับตัวอย่างสารสกัดดังกล่าวข้างต้น

5. ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี Ferric thiocyanate colorimetric method (FTC)

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC จะใช้วิธีที่รายงานโดย Larrauri และคณะ (1996) มีหลักการคือ วัดปริมาณเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นในขั้นเริ่มต้น (initial stages) ของปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) โดยให้ทำปฏิกิริยากับ $FeCl_2$ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีแดง และสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ 500 นาโนเมตร ดังนั้นถ้ามีปริมาณเปอร์ออกไซด์เกิดขึ้นในปฏิกิริยามากสีแดงที่เกิดขึ้นก็จะเข้มมาก

5.1 สารเคมี

5.1.1 สารละลายกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) 2.51 เปอร์เซ็นต์

ชั่งกรดลิโนเลอิก 2.51 กรัม ละลายใน เอธานอล 99.99 เปอร์เซ็นต์ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

5.1.2 สารละลายแอมโมเนียม ไธโอไซยาเนต (ammonium thiocyanate) 30 เปอร์เซ็นต์

5.1.3 สารละลายเฟอร์รัส คลอไรด์ (ferrous chloride) 0.02 โมลาร์

ชั่ง $FeCl_2 . 4H_2O$ 0.199 กรัม ละลายใน HCl ความเข้มข้น 3.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วปรับปริมาตรให้ เป็น 50 มิลลิลิตร

5.1.4 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7 ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์

5.1.5 เอธานอล 75 เปอร์เซ็นต์

5.2 วิธีวิเคราะห์

5.2.1 ปีเปตสารละลายกรดลิโนเลอิก ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

5.2.2 เติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7 ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ปริมาตร1 มิลลิลิตร

5.2.3 เติมตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

5.2.4 เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

5.2.5 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) นำไปบ่มไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่ 40 องศาเซลเซียส ในที่ไม่มีแสงรบกวน

5.2.6 ปีเปตสารละลายปฏิกิริยาปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ที่เวลาของปฏิกิริยาทุก ๆ 24 ชั่วโมง คือ 0, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมงตามลำดับ

5.2.7 เติมเอธานอล 75 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9.7 มิลลิลิตร

5.2.8 เติมสารละลายแอมโมเนียม ไธโอไซยาเนต 30 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร

5.2.9 เติมสารละลายเฟอร์รัส คลอไรด์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 นาที

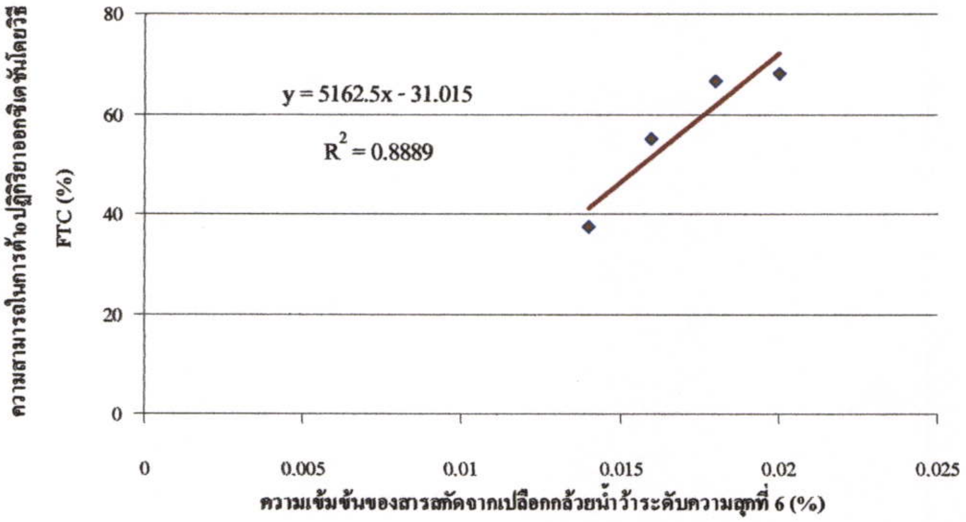
5.2.10 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร โดยที่หลอดควบคุมจะใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง สำหรับ blank ใช้ เอธานอล 75 เปอร์เซ็นต์ แทนตัวอย่าง

5.3 ตัวอย่างการคำนวณ

5.3.1 คำนวณหาค่าเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ของตัวอย่างสารสกัดโดยแทนค่าในสมการดังนี้

$$100 - \left\{ \frac{[\text{ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างชั่วโมงที่ 96} / \text{ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างชั่วโมงที่ 0}]}{[\text{ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุมชั่วโมงที่ 96} / \text{ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุมชั่วโมงที่ 0}]} \times 100 \right\}$$

5.3.2 นำค่าเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC ที่ได้จากการคำนวณในข้อ 5.3.1 มาสร้างกราฟดังรูปที่ จ 6



รูปที่ จ 6 กราฟเปอร์เซนต์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี FTC เมื่อใช้สารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าระดับความสุกที่ 6 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

5.3.3 คำนวณหาค่า EC_{50} จากสมการเส้นตรงที่ได้จากการสร้างกราฟในข้อ 5.3.2 นั่นคือ $y = 5162.5x - 31.015$ โดยให้ค่า $y = 50$ %

5.3.4 สำหรับการคำนวณหาค่า EC_{50} ของวิตามินซีและโทรลอกซ์ ใช้วิธีการคำนวณเช่นเดียวกับตัวอย่างสารสกัดดังกล่าวข้างต้น

6. ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric reducing antioxidative potential, FRAP)

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก จะใช้วิธีที่รายงานโดย Benzie และ Strain 1999 มีหลักการคือ ดูความสามารถของตัวอย่างสารสกัดในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Fe^{3+}) ให้เป็นเฟอร์รัส (Fe^{2+}) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับสารละลาย TPTZ ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด เกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีน้ำเงิน และสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ 593 นาโนเมตร

6.1 สารเคมี

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

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

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

ชั่ง TPTZ 0.156 กรัม ละลายใน HCl ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร

6.1.3 สารละลาย $FeCl_3 . 6H_2O$ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

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

6.1.4 FRAP reagent

ผสมสารละลายที่เตรียมไว้ทั้งหมดดังที่กล่าวมาข้างต้น โดยให้มีอัตราส่วนของ อะซิเตต บัฟเฟอร์: สารละลาย TPTZ : สารละลาย $FeCl_3 . 6H_2O$ เป็น 10 : 1 : 1 โดยปริมาตร ตามลำดับ ซึ่งจะต้องเตรียมใหม่ทุกวัน

6.2 การเตรียมกราฟมาตรฐานวิตามินซี

6.2.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานวิตามินซีใส่หลอดทดลอง โดยให้แต่ละหลอดมีความเข้มข้น 3, 6, 9, 12, 15, 18 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 0.1 มิลลิลิตร

6.2.2 เติมสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร

6.2.3 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 นาที

6.2.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

6.2.5 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณวิตามินซีในหน่วยไมโครกรัม

6.3 การเตรียมกราฟมาตรฐานโทรลอกซ์

6.3.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ใส่หลอดทดลอง โดยให้แต่ละหลอดมีความเข้มข้น 6, 12, 18, 24, 30, 36 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มี

ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 0.1 มิลลิลิตร

6.3.2 เติมสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร

6.3.3 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 นาที

6.3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

6.3.5 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณโทรอกซ์ในหน่วยไมโครกรัม

6.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก ในตัวอย่างสารสกัด

6.4.1 ปิเปตตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร

6.4.2 เติมสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร

6.4.3 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 นาที

6.4.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

6.5 ตัวอย่างการคำนวณ

คำนวณความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างสารสกัด สมมูลกับวิตามินซี หรือโทรอกซ์ โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวิเคราะห์ ในข้อ 6.4 มาแทนค่าในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานวิตามินซี และกราฟมาตรฐานโทรอกซ์ ดังรูปที่ จ 7 และ จ 8 โดยมีตัวอย่างการคำนวณดังนี้

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างสารสกัดเปลือกกล้วยระดับความสุกที่ 1 ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.493 เมื่อนำไปแทนในสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานของวิตามินซี คือ $y = 0.0445x+0.0014$ ดังนั้น ค่า $x = 11.047$ ไมโครกรัม

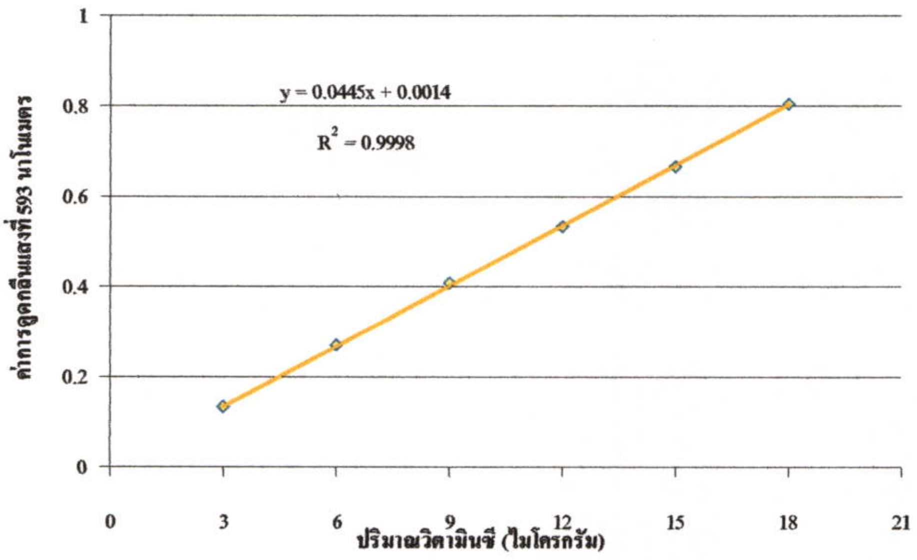
ปิเปตตัวอย่างสารสกัดมา 0.2 มิลลิลิตร มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสมมูลกับวิตามินซี 11.047ไมโครกรัม

ถ้าปิเปตตัวอย่างสารสกัดมา 5 มิลลิลิตร มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสมมูลกับวิตามินซี $(11.047/0.2) \times 5 = 276.175$ไมโครกรัม

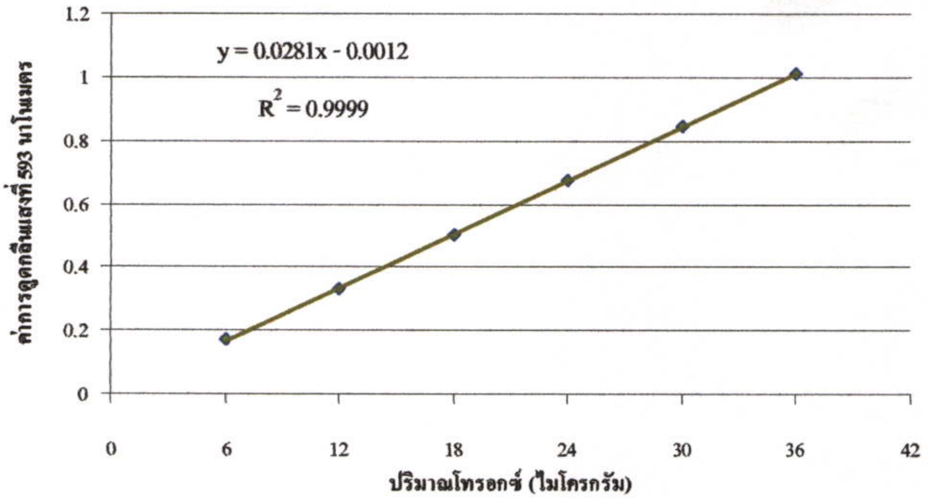
โดยที่ตัวอย่างสารสกัด 5 มิลลิลิตรนั้นมีเนื้อของสารสกัดอยู่ 5×10^{-4} กรัม

ดังนั้นสารสกัด 5×10^{-4} กรัม จึงมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสมมูลกับวิตามินซี 276.175 ไมโครกรัม

ถ้าสารสกัด 1 กรัม จะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสมมูลกับวิตามินซี $276.175/5\times10^{-4}$ = 552.350 มิลลิกรัมสมมูลวิตามินซี/กรัมสารสกัด



รูปที่ จ 7 กราฟมาตรฐานของวิตามินซีในการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก



รูปที่ จ 8 กราฟมาตรฐานของโทรอกซ์ในการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก

ภาคผนวก ฉ
การวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ

การวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ

วิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ คือ กรดแกลลิก (gallic acid) กรดพาราคูมาริก (p-coumaric acid) กรดเฟอรูลิก (ferulic acid) และ กรดโปรโตแคทิชิวอิก (protocatechuic acid) โดยวิธีสเปคโทรฟลูออโรเมทรี (spectro fluorometry) ซึ่งรายงานโดย Garcia-Sanchez และคณะ (1988) และ Gorinstein และคณะ (1994 และ 2001b) โดยมีหลักการคือ กรดฟี-นอลิกแต่ละชนิดที่ pH ใด ๆ ที่กำหนด จะมีค่าความยาวคลื่นกระตุ้น (exitation wavelength) และความยาวคลื่นแสงที่เรืองแสง (emission wavelength) เฉพาะ ตัวอย่างเช่น กรดแกลลิก มีค่าความยาวคลื่นกระตุ้นเท่ากับ 260 นา-โนเมตร และมีค่าความยาวคลื่นแสงที่เรืองแสงเท่ากับ 357 นาโนเมตรที่ pH 4.63 ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ จะต้องสร้างกราฟมาตรฐานของกรดฟีนอลิกแต่ละชนิด

1. การเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดฟีนอลิก

1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดฟีนอลิกแต่ละชนิดโดยให้ความเข้มข้นเริ่มต้นเป็น 0.1 มิลลิโมลาร์

1.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานของกรดฟีนอลิกแต่ละชนิดใส่หลอดทดลอง โดยให้แต่ละหลอดมีความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร ด้วยบัฟเฟอร์ ที่ pH ที่เหมาะสมสำหรับ กรดฟีนอลิกแต่ละชนิด ดังนี้

- กรดแกลลิก	pH 4.63
- กรดโปรโตแคทิชิวอิก	pH 10.7
- กรดพาราคูมาริก	pH 10.7
- กรดเฟอรูลิก	pH 11.2

1.3 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer)

1.4 นำไปวัดค่าความเข้มแสง (Intensity) ด้วยเครื่องสเปคโตรฟลูออโรมิเตอร์ (Spectrofluorometer) โดยกรดฟีนอลิกแต่ละชนิด จะมีค่าความยาวคลื่นกระตุ้น (exitation wavelength) และความยาวคลื่นแสงที่เรืองแสง (emission wavelength) เฉพาะ ดังนี้

- กรดแกลลิก ค่าความยาวคลื่นกระตุ้น 260 นาโนเมตร ความยาวคลื่นแสงที่เรืองแสง 357 นาโนเมตร
- กรดโปรโตแคทิชิวอิก ค่าความยาวคลื่นกระตุ้น 290 นาโนเมตร ความยาวคลื่นแสงที่เรืองแสง 363 นาโนเมตร
- กรดพาราคูมาริก ค่าความยาวคลื่นกระตุ้น 330 นาโนเมตร ความยาวคลื่นแสงที่เรืองแสง 443 นาโนเมตร
- กรดเฟอรูลิก ค่าความยาวคลื่นกระตุ้น 340 นาโนเมตร ความยาวคลื่นแสงที่เรืองแสง 460 นาโนเมตร

1.5 บันทึกผลการทดลอง และนำค่าที่ได้มาเขียนกราฟมาตรฐาน

2. การวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ

2.1 ปิเปตสารตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตรจากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร ด้วยบัฟเฟอร์ที่ pH ที่เหมาะสมสำหรับ กรดฟีนอลิกแต่ละชนิด ดังกล่าวข้างต้น

2.2 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer)

2.3 นำไปวัดค่าความเข้มแสง ด้วยเครื่องสเปคโตรฟลูออโรมิเตอร์ (Spectrofluorometer) ที่ค่าความยาวคลื่นกระตุ้น (exitation wavelength) และความยาวคลื่นแสงที่เรืองแสง (emission wavelength) เฉพาะ สำหรับกรดฟีนอลิกแต่ละชนิดดังกล่าวข้างต้น

2.4 บันทึกผลการทดลอง และนำค่าที่ได้คำนวณหาปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ โดยใช้กราฟมาตรฐาน ในหน่วยมิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักกล้วยสด

3. ตัวอย่างการคำนวณ

คำนวณปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ ของตัวอย่างสารสกัด โดยนำค่าความเข้มแสงที่ได้จากการวิเคราะห์ ในข้อ 2 มาแทนค่าในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานของกรดฟีนอลิกแต่ละชนิด ดังรูปที่ ฉ 1, ฉ 2, ฉ 3 และ ฉ 4 โดยมีตัวอย่างการคำนวณดังนี้

จากการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแกลลิกในตัวอย่างสารสกัดเนื้อกล้วยระดับความสุกที่ 6 ได้ค่าความเข้มแสงเท่ากับ 18.82 เมื่อนำไปแทนในสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก คือ $y = 11.411x+0.804$ ดังนั้น ค่า $x = 1.579$ ไมโครกรัม

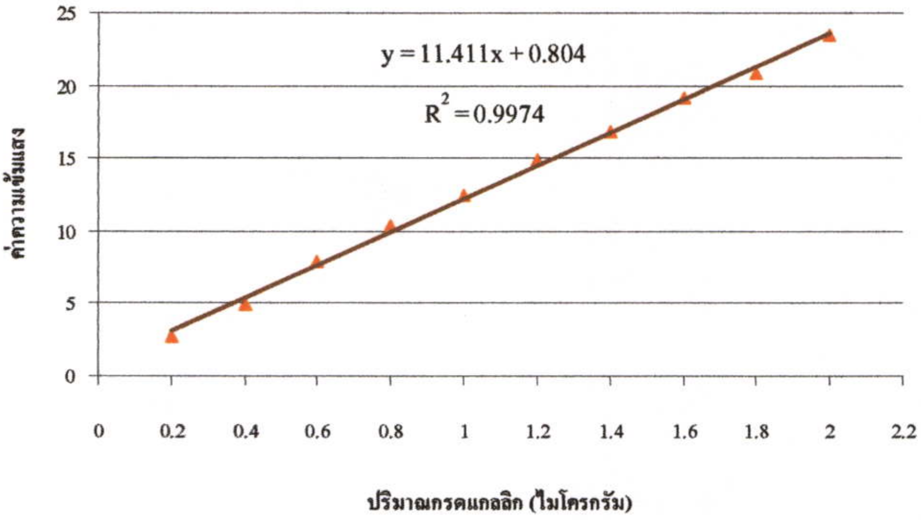
ปิเปตตัวอย่างสารสกัดมา 0.05 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดแกลลิก 1.579 ไมโครกรัม

ถ้าปิเปตตัวอย่างสารสกัดมา 10 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดแกลลิก $(1.579/0.05) \times 10 = 315.80$ ไมโครกรัม

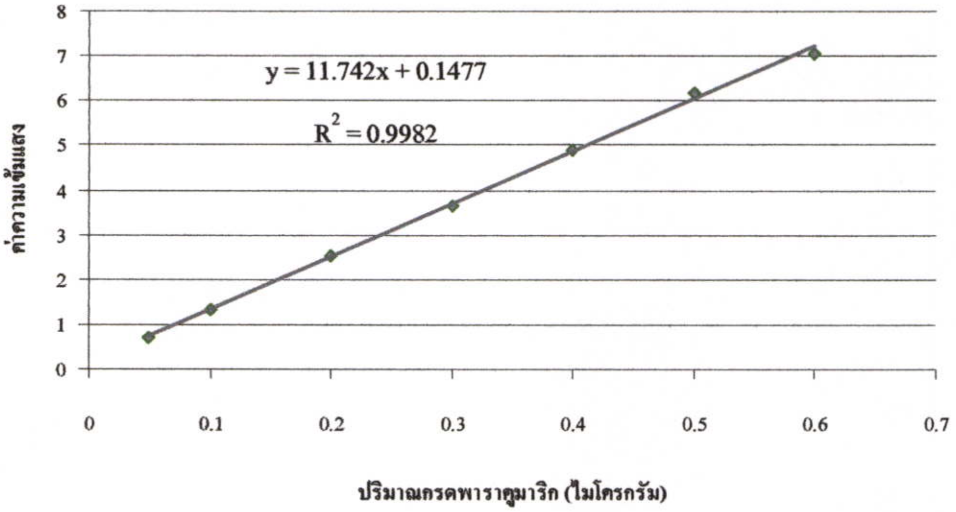
โดยที่ตัวอย่างสารสกัด 10 มิลลิลิตรนั้นมาจากน้ำหนักสดเริ่มต้น 20 กรัม

ดังนั้นเนื้อกล้วยสด 20 กรัม จึงมีปริมาณกรดแกลลิก 315.80 ไมโครกรัม

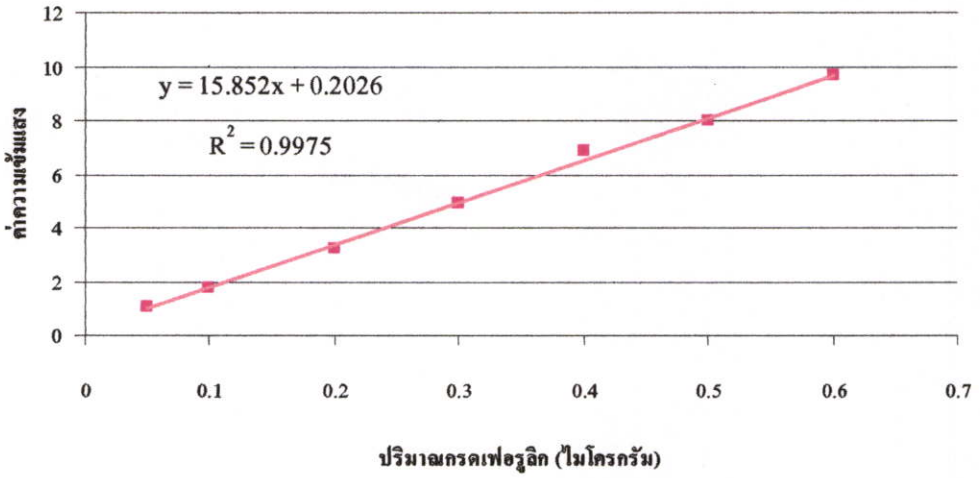
ถ้าเนื้อกล้วยสด 100 กรัม จะมีปริมาณกรดแกลลิก $(315.80/20) \times 100 = 1.58$ มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด



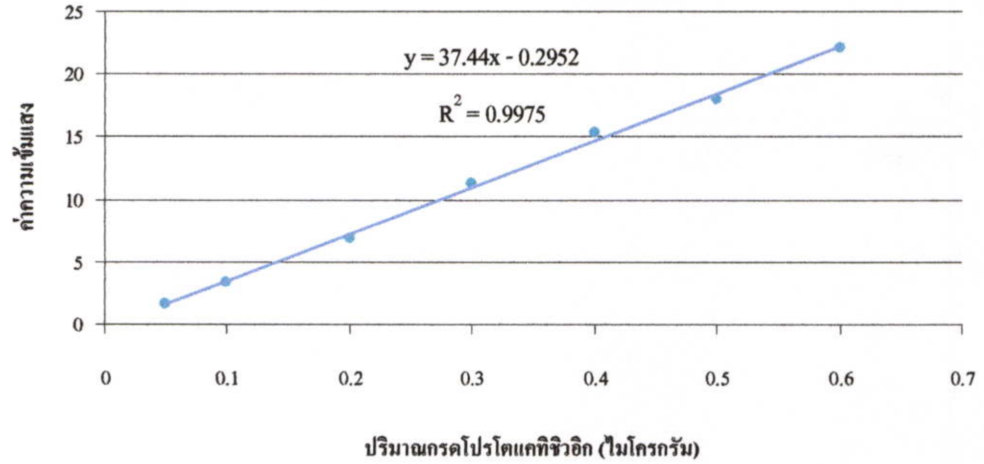
รูปที่ ฉ 1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแกลลิก



รูปที่ ฉ 2 กราฟมาตรฐานของกรดพาราคูมาริกในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดพาราคูมาริก



รูปที่ ฉ 3 กราฟมาตรฐานของกรดเฟอรูลิกในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเฟอรูลิก



รูปที่ ฉ 4 กราฟมาตรฐานของกรดโปรโตแคทิชิวอิกในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดโปรโต-แคทิชิวอิก

ประวัติผู้เขียน

นางสาวชุลีกร สินธพรัตนะ เกิดวันที่ 26 กรกฎาคม พ.ศ. 2522 ที่จังหวัดสระบุรี สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วทบ.) สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ เมื่อปี พ.ศ. 2544 และศึกษาต่อระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วทม.) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2548