Research Title Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss and antioxidation level in blanched green watercress
Researcher Asst.Prof. Metta Thaochalee
Research Consultants .....
Organization Department of Chemistry/ Faculty of Science and Technology Rajabhat Maha Sarakham University
Year 2019

ABSTRACT

The study on functional food properties of vegetable which name is “watercess”. Which the boiling cooking methods is well suited for green vegetable. The goal of this study was to investigate the impact of acid-base and temperature on chlorophyll degradation and colour loss and antioxidant level in blanched green watercress. The extracting solvents was acetone. The experiment was conducted with the variation of incubated times (5, 10, 15, 20 and 25 mine) acid-base (pH 5.5, 6.5 and 7.5) and temperature (70, 80, and 90°C). Result demonstrated that the highest of chlorophyll degradation (a = 39.22 mg/L) and (b = 19.52 mg/L) colour loss (L* = 62.56 a* = -12.21 and b* = 18.69 =) at T 70 °C pH 7.5 for 25 mine However, the highest of the antioxidant activities (DPPH free radical scavenging activity = 97.62 % and total phenolic content = 1.26 mMBHT/100 g fresh samples at T 90 °C pH 7.5 for 25 mine respectively.

Keywords : total phenolic content, radical scavenging activity, watercress

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

Research Title Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss and antioxidation level in blanched green watercress
Researcher Asst.Prof. Metta Thaochalee
Research Consultants .....
Organization Department of Chemistry/ Faculty of Science and Technology Rajabhat Maha Sarakham University
Year 2019

ABSTRACT

The study on functional food properties of vegetable which name is “watercess”. Which the boiling cooking methods is well suited for green vegetable. The goal of this study was to investigate the impact of acid-base and temperature on chlorophyll degradation and colour loss and antioxidant level in blanched green watercress. The extracting solvents was acetone. The experiment was conducted with the variation of incubated times (5, 10, 15, 20 and 25 mine) acid-base (pH 5.5, 6.5 and 7.5) and temperature (70, 80, and 90°C). Result demonstrated that the highest of chlorophyll degradation (a = 39.22 mg/L) and (b = 19.52 mg/L) colour loss (L* = 62.56 a* = -12.21 and b* = 18.69 =) at T 70 °C pH 7.5 for 25 mine However, the highest of the antioxidant activities (DPPH free radical scavenging activity = 97.62 % and total phenolic content = 1.26 mMBHT/100 g fresh samples at T 90 °C pH 7.5 for 25 mine respectively.

Keywords : total phenolic content, radical scavenging activity, watercress

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยฉบับนี้ ได้รับทุนอุดหนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการทุก ๆ ท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำการทดลอง

ขอขอบคุณทุกคนในครอบครัวที่คอยให้กำลังใจและค่อยช่วยเหลือผู้วิจัยตลอดมา คุณค่าและคุณประโยชน์อันใด จากการวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอมอบคุณความดีทุกประการแด่บูรพา-อาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน

เมตตา เถาว์ชาลี

2562

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

หัวข้อวิจัย ผลของ pH ที่มีต่อการย่อยสลายคลอโรฟิลล์และการหายไปของสีและระดับกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในวอเตอร์เครส
ผู้ดำเนินการวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์เมตตา เถาว์ชาลี
หน่วยงาน สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
ปี พ.ศ. 2562

บทคัดย่อ

การศึกษาคุณสมบัติของสารเชิงหน้าที่ของผัก ที่ชื่อว่า “วอเตอร์เครส” ซึ่งการต้มเป็นวิธีการปรุงอาหารที่นิยมสำหรับผักสีเขียว ส่งผลต่อคุณค่าของสาระสำคัญในผักชนิดนี้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาสภาวะของอุณหภูมิและความเป็นกรดเบส ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์และการหายไปของสีเขียว ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดวอเตอร์เครส เตรียมสารสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน เก็บในตู้เย็นก่อนนำไปวิเคราะห์ เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 5.5, 6.5, และ 7.5 อุณหภูมิ 70, 80, และ 90 °C นาน 5, 10, 15, 20, และ 25 นาที ตามลำดับ พบว่า การปรุงอาหารโดยมีวอเตอร์เครสเป็นองค์ประกอบ ถ้าต้องการสารสีเขียวยังคงอยู่ และมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (39.22 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ บี (19.52 มิลลิกรัมต่อลิตร) สูงสุด การหายไปของสีเขียวการวัดสี ด้วยระบบ CIELAB มีค่า L* 62.56 (สว่างน้อย) a* (-12.21) สีเขียว และ b* 18.69 (สีค่อนข้างเหลือง) ต้องให้ความร้อนไม่เกินอุณหภูมิ 70 °C pH 7.5 นาน 25 นาที หากคำนึงถึงความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (ร้อยละ 97.62) และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด (1.26 มิลลิโมลของ BHT ต่อ 100 กรัมน้ำหนักตัวอย่างสด) ต้องใช้อุณหภูมิ 90 °C pH 7.5 นาน 25 นาที

คำสำคัญ: ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด, สารต้านอนุมูลอิสระ, วอเตอร์เครส,

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย

คลอโรฟิลล์ เป็นเม็ดสีที่ตอบสนองลักษณะการเป็นเม็ดสีเขียวในผักและผลไม้ การย่อยสลายจะเกิดขึ้นจะเกิดได้อย่างรวดเร็ว เมื่อผ่านกระบวนการผลิต และส่งผลให้การเปลี่ยนแปลงสีในอาหาร (Schwartz and Elbe, 1983) คลอโรฟิลล์หลักในพืช ซึ่งรวมถึง คลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี ในอัตราส่วน 3:1 (Von, 1986) โดยคลอโรฟิลล์ เอ จะมีหมู่ เมทิล ที่คาร์บอน ตำแหน่ง 3 ขณะที่ คลอโรฟิลล์ บี จะมีหมู่ฟอร์มิล ที่คาร์บอนตำแหน่งเดียวกัน ด้วยโครงสร้างที่แตกต่างกันระหว่าง คลอโรฟิลล์ทั้งสองชนิดนี้ ส่งผลให้ความเสถียรคลอโรฟิลล์ทั้งสองชนิดทนต่อความร้อนแตกต่างกัน มีรายงานว่าคลอโรฟิลล์ เอ มีความเสถียรน้อยกว่า คลอโรฟิลล์ บี Kaewsuksaeng, S., (2011) นอกจากนี้ยังว่าการคงอยู่ของคลอโรฟิลล์ วัดจากคุณภาพของสีเขียวในผัก (Krause, G.H.,1991). อย่างไรก็ตามเป็นที่ทราบกันว่าการเพิ่มความร้อนจากการปรุงอาหาร (Hayakawa and Timbers, 1977) ความสมดุลของเอ็นไซม์คลอโรฟิลล์เลส และการตอบสนองการลดลงอย่างรวดเร็วของสีเขียว อย่างไรก็ตามการสลายตัวของคลอโรฟิลล์จะเริ่มต้นจากการทำลายเนื้อเยื่อระหว่างการปั่น และขั้นตอนอื่นๆ ของการผลิต คลอโรฟิลล์จะเสื่อมสภาพด้วยปฏิกิริยาเคมี หรือเอ็นไซม์ การถูกกระตุ้นด้วยเอ็นไซม์ กรดอ่อน ออกซิเจน แสง และความร้อน นำไปสู่การย่อยสลายของผลิตภัณฑ์ การย่อยสลายด้วยปฏิกิริยาเคมี ได้แก่ ปฏิกิริยาฟีโอไฟติไนเซชัน (pheophytinization) อิพิเมอร์ไรเซชัน (epimerization) และ ไพโรไลซิส (pyrolysis) ไฮดรอกซิเลชั่น ออกซิเดชั่น หรือ โฟโตออกซิเดชั่น โดยปฏิกิริยาเหล่านี้ มีแสงเป็นส่วนร่วม (Hatch M. D., 1971) มีข้อตกลงทั่ว ๆ ไป ถึงสาเหตุหลักของการลดลงของสีในผัก ซึ่งพิจารณาได้จากระดับการผกผันของคลอโรฟิลล์ เปลี่ยนเป็น ฟีโอไฟล์ตริน ด้วยอิทธิพลของความเป็นกรดเบส (pH) สีเขียวจากผักถูกเปลี่ยนไปเป็นสีเขียวมะกอก เมื่อถูกความร้อน หรือ การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด (Ehleringer J. R., 1997) โดยเกิดปฏิกิริยาการย้าย H^+ ใน คลอโรฟิลล์ (สีเขียว) ถูกเปลี่ยนไปเป็น ฟิโอไฟตริน (สีเขียวมะกอก) โดยเข้าไปแทนที่ Mg^{2+} ในวงพอร์ไฟตริน การเปลี่ยนคลอโรฟิลล์ไปเป็นฟีโอไฟตรินและฟีโอฟอร์บริด สังเกตได้จากการเปลี่ยนจากสีเขียวสว่างไปเป็นสีเขียวมะกอก หรือสีเหลืองมะกอก ในท้ายที่สุด ผู้บริโภคจะมองเห็นถึงความเสถียรของสีเขียวที่อยู่ในรูปของคลอโรฟิลล์หรือถูกเปลี่ยนไปเป็นฟีโอไฟตริน ซึ่งอยู่ในรูปของสีเขียวมะกอก หรือสีเหลืองมะกอก เมื่อถูกรบกวนด้วยสภาวะเป็นกรดหรือเบสและการเปลี่ยนแปลงระดับของอุณหภูมิ การเปลี่ยนสีของคลอโรฟิลล์ในสภาวะเป็นกรดเบส หรือ อุณหภูมิที่เปลี่ยน มีรายงานว่าความร้อนจากกระบวนการปรุงอาหาร ที่มีผลต่อการลดลงของสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Lambelet, 2003) ในปัจจุบันการประเมินค่า และการวัดคุณค่าด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชั่น หรือ ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร ซึ่งเกิดจากกระบวนการปรุงอาหารด้วยความร้อน (Shahidi, 2008) สารแอนติออกซิแดนซ์ จะลดลงตามค่าการเปลี่ยนปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในอาหาร

ดังนั้นการเก็บรักษาเพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงรสชาติอาหารและป้องกันการเกิดกลิ่นเหม็นหืนให้ช้าลง รวมถึงกระบวนการทำให้เกิดการเปลี่ยนสีให้ช้าลง (Jaswir, I., 2000) สารที่มีคุณสมบัติการเป็นสารออกซิเดชั่น มีหลายชนิด ได้แก่ กรดซิตริก BHA (2,3-tert- butyl-4-methoxyphenol), TBHQ (tertiary butyl hydroquinone), BHT(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene) and propyl

gallate-PG (3,4,5-trihydroxybenzoate propyl) รวมทั้งวิตามินซี ซึ่งสารเหล่านี้สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในอาหารได้อัตโนมัติ (Kim, 2009) นอกจากนี้ยังพบว่า กรดไฟตริก ซึ่งจะสามารถเกิดคีเลตกับ Fe^{3+} และยับยั้ง OH แรดิคอลได้ ซึ่งใช้เป็นสารแอนตี้ออกซิแดนซ์ได้ (Filgueiras, 2009) และมีรายงานว่าเทคนิคการวิเคราะห์ด้วยความร้อนสามารถประเมินผลของสารต้านอนุมูลอิสระในอาหารได้ (Vecchio, 2008)

ดังนั้นผู้วิจัย จึงสนใจนำวอเตอร์เครส สายพันธุ์ญี่ปุ่น ซึ่งเป็นผักที่มีคุณค่าทางอาหารสูงปลูกง่าย และปลูกได้ทั้งปี โดยนำผักที่ปลูกได้มาตรวจสอบและหาแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพความคงตัวของคลอโรฟิลล์ ในรูปของสารสีเขียว การลดลงของสารสีเขียว ด้วยวิธีสเปคโตรสโคปี นอกจากนี้ยังศึกษาสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีสเปคโตรสโคปี ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่กรดเบส และอุณหภูมิแตกต่างกัน เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่ไม่ก่อให้เกิดการสูญเสียคลอโรฟิลล์และสารสำคัญอื่น ๆ ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงความร้อนและความเป็นกรดเบสต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาสภาวะของอุณหภูมิและความเป็นกรดเบส ต่อการสลายตัวของคลอโรฟิลล์และการหายไปของสีเขียวของสารสกัดวอเตอร์เครส
2. เพื่อศึกษาสภาวะของอุณหภูมิและความเป็นกรดเบส ต่อความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดวอเตอร์เครส

ขอบเขตของการวิจัย

1. ดินที่ใช้ปลูกวอเตอร์เครส ได้จากการผสมใบไม้หมักผสมดินทราย อัตราส่วน 1:1 ผสมให้เข้ากันนำมาหมักต่อจนกระทั่งกลายเป็นดิน (ถูกย่อยเป็นเนื้อเดียวกัน) ที่เหมาะสำหรับการปลูก

2. ปลูกในกระถาง ขนาด 4x5 ตารางนิ้ว โดยปักชำในร่ม 15 วันวางกลางแดด นาน 30 วัน จำนวน 3 กระถาง ๆ ละ 4 ซ้ำให้น้ำประปาเช้า-เย็น การเก็บผลผลิตส่วนใบ คัดเลือกแบบเจาะจง เก็บใบที่ 3, 5, 7, และ 9 ใช้วิธีการตัดโคนใบ คัดเลือกเฉพาะส่วนใบสมบูรณ์สด สีเขียวเข้มมาทำการทดลอง

3. ศึกษาสภาวะของอุณหภูมิ (ที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 °C นาน 0, 5, 10, 15, 20, 25 นาที และค่า pH (สารละลายบัฟเฟอร์ pH 5.5, 6.5 และ 7.5 ตามลำดับ) ต่อการสลายตัวและการหายไปของคลอโรฟิลล์จากวอเตอร์เครส ด้วยวิธีสเปคโตรสโคปี ตามวิธีของ Arnon's (1949)

4. ศึกษาสภาวะของอุณหภูมิ (ที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 °C นาน 0, 5, 10, 15, 20, 25 นาที และค่า pH (สารละลายบัฟเฟอร์ pH = 5.5, 6.5 และ 7.5 ตามลำดับ) ต่อความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 1,1 diphenenyl-2-picryhydrazyl radical scavenging activity (DPPH) และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method ตามลำดับ

ตัวแปร

ตัวแปรต้น- ผักวอเตอร์เครส
- ระยะเวลาและอุณหภูมิในการสกัด
- pH ของตัวทำละลาย

ตัวแปรควบคุม
- ระยะเวลาการปลูก น้ำหนักสดของส่วนใบวอเตอร์เครส

มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

- ชนิดและปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้สกัดสาร

ตัวแปรตาม

- ปริมาณคลอโรฟิลล์
- การหายไปของสีเขียว
- ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ
- ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

สมมุติฐานของการวิจัย

1. อุณหภูมิต่างกัน ส่งผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ และ การหายไปของสีเขียว ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด แตกต่างกัน

2. ความเป็นกรดเบสต่างกัน ส่งผลต่อการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ และ การหายไปของสีเขียว ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดแตกต่างกัน

นิยามศัพท์เฉพาะ

สารคลอโรฟิลล์ หมายถึง สารสีเขียวที่ได้จากการปั่นระหว่างใบวอเตอร์เครสสดปั่นผสมกับอะซิโตน กรองได้สารละลายคลอโรฟิลล์สด

ตัวทำละลาย หมายถึง สารที่มีความสามารถในการทำให้สารต่าง ๆ ละลายได้โดยไม่ทำปฏิกิริยาเคมีกับสารนั้น

สีเขียว หมายถึง คลอโรฟิลล์สด ที่ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ pH (5.5, 6.5, 7.5) ต่าง ๆ

อนุมูลอิสระ หมายถึง อะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูงที่มีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิตอันจะก่อให้เกิดความเสียหายต่อไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ ที่จะก่อให้เกิดโรค

สารต้านอนุมูลอิสระ หมายถึง สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายบัฟเฟอร์ ที่ pH (5.5, 6.5, 7.5) ต่างกัน และนำไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่างกัน แสดงสมบัติคุณสมบัติยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระ

สารฟีนอลิกทั้งหมด หมายถึง สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในพืช ผลไม้ และสมุนไพร โดยจะทำหน้าที่ในการกำจัดอนุมูลอิสระป้องกันการเกิดโรค

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วอเตอร์เครส (watercress)

วอเตอร์เครส หรือ สลัดน้ำ ส่วนคนลาวจะเรียกผักชนิดนี้ว่าผักน้ำ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Nasturtium officinale* W.T. Aiton โดยผักวอเตอร์เครสจัดเป็นราชินีผักสำหรับคนรักสุขภาพ ปัจจุบันเป็นที่ได้รับความนิยมอย่างมากในหมู่คนรักสุขภาพในประเทศแถบยุโรป นิวซีแลนด์ และอเมริกา โดยมีต้นกำเนิดในประเทศเนปาล นิวซีแลนด์ และอเมริกาเหนือ สำหรับลักษณะของผักวอเตอร์เครสนี้ ลำต้นและใบจะคล้ายผักเป็ดไทย แต่จะต่างกันตรงที่ขนาดความยาวของใบ โดยผักวอเตอร์เครสจะมีความยาวมากกว่า สำหรับสายพันธุ์ของผักวอเตอร์เครส มีอยู่ 2 สายพันธุ์หลัก ๆ ที่นิยมปลูกรับประทาน ได้แก่ พันธุ์สีเขียวและพันธุ์สีแดง (หรือน้ำตาล) นอกจากนี้ผักวอเตอร์เครส มีคุณค่าทางอาหารสูง เพราะอุดมไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุหลายชนิดในปริมาณที่สูงกว่าผักหลาย ๆ ชนิด โดยมีปริมาณแคลเซียมสูงกว่าในนมสด มีธาตุเหล็กมากกว่าผักขม มีวิตามิเอในปริมาณที่สูงมาก มีวิตามินซีสูงกว่าส้ม วิตามินอีที่สูงกว่าผักกาดธรรมดาถึง 2 เท่าตัว และมีงานวิจัยของมหาวิทยาลัยอิลลินอยส์ (University of Illinois) คณะเกษตรศาสตร์พบว่าผักวอเตอร์เครส สามารถช่วยต่อต้านโรคมะเร็งได้ และยังมีคุณสมบัติช่วยล้างสารพิษตกค้างในร่างกายอีกด้วย โดยผักวอเตอร์เครส ประมาณ 10 ยอด จะให้วิตามินเอถึง 1 ใน 4 ของที่ร่างกายต้องการในแต่ละวัน (นิรนาม, 2561)

สรรพคุณของผักวอเตอร์เครส

1) ช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระ ช่วยชะลอความแก่ชรา

2) ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย บำรุงสุขภาพ

3) ช่วยบำรุงและรักษาสายตาเพราะเป็นผักที่อุดมไปด้วยวิตามินเอ

4) สารลูทีนและเบต้าแคโรทีนในผักชนิดนี้ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคเกี่ยวกับนัยน์ตา อย่างเช่นต้อในตาและจอประสาทตาเสื่อม

5) ช่วยป้องกันและรักษาโรคเลือดออกตามไรฟัน

6) เป็นผักที่ไม่มีคอเลสเตอรอลและยังช่วยลดระดับไขมันในเลือดได้อีกด้วย

7) ผู้เชี่ยวชาญด้านสมุนไพรเชื่อว่าผักวอเตอร์เครส สามารถช่วยล้างเลือดในร่างกายได้

8) ช่วยบำรุงและรักษากระดูกและฟันให้แข็งแรง

9) เหมาะสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคทางเดินหายใจ

10) ช่วยป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจตีบตัน

11) เหมาะสำหรับผู้ป่วยที่ติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ

12) ผักวอเตอร์เครสมีคุณสมบัติช่วยล้างสารพิษตกค้างในร่างกายได้

13) ช่วยลดระดับไตรกลีเซอไรด์ในกระแสเลือด

14) ช่วยลดการถูกทำลายของเซลล์เม็ดเลือดขาวได้มากถึง ร้อยละ 23

15) ช่วยยับยั้งป้องกันการเกิดโรคมะเร็งและช่วยยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งไปยังบริเวณส่วนอื่น ๆ

16) ช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็งปอด

17) ช่วยลดการเติบโตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

18) ช่วยลดการทำลายของ DNA ของเซลล์บริเวณลำไส้

19) ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเต้านม

20) ช่วยลดอันตรายของการเกิดโรคมะเร็งที่มีสาเหตุมาจากควันบุหรี่และสารพิษอื่น ๆ ที่ได้รับจากอาหารต่าง ๆ

21) ช่วยในการย่อยอาหาร

22) มีคุณสมบัติช่วยในการห้ามเลือด เมื่อนำมาผสมกับน้ำส้มสายชู

1. ประโยชน์ของผักวอเตอร์เครส ด้านอื่น ๆ

การนำมารับประทานสดหรือใช้ประกอบอาหารได้หลากหลายเมนู เช่น สลัด แกงจืด ต้มซุป ผัดไฟแดง ชุบแป้งทอด รับประทานสดพร้อมกับส้มตำ น้ำพริก สอดไส้แซนด์วิช รวมไปถึงใช้ตกแต่งอาหารให้น่ารับประทานยิ่งขึ้น

2.1 คุณค่าทางโภชนาการของผักวอเตอร์เครสต่อ 100 กรัม ประกอบด้วย

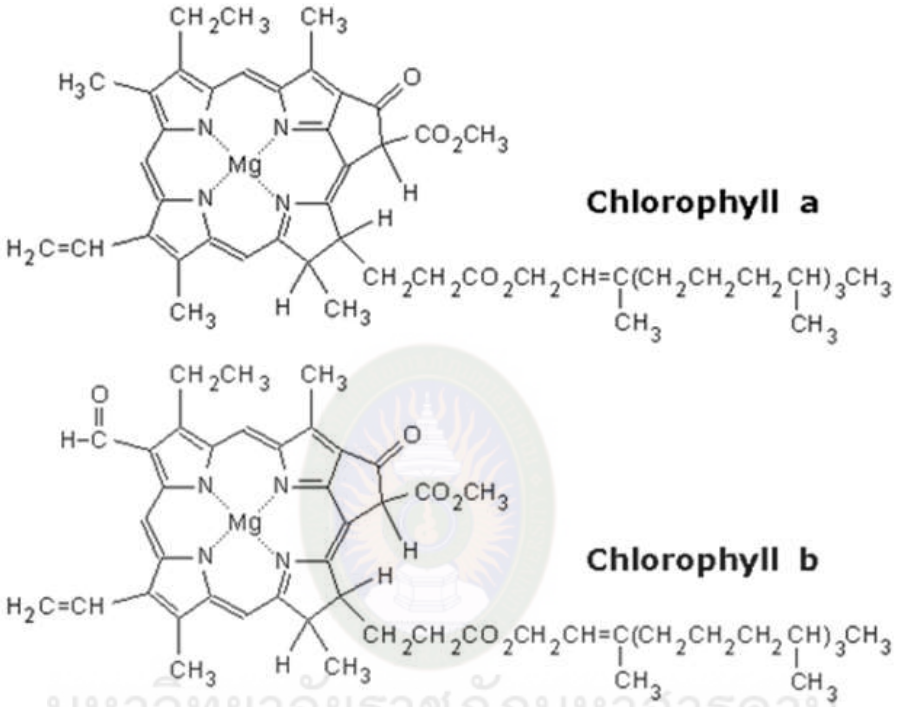
- พลังงาน 11 กิโลแคลอรี
- คาร์โบไฮเดรต 1.29 กรัม
- น้ำตาล 0.2 กรัม
- เส้นใย 0.5 กรัม
- ไขมัน 0.1 กรัม
- โปรตีน 2.3 กรัม
- วิตามินเอ 160 ไมโครกรัม ร้อยละ 20
- เบต้าแคโรทีน 160 ไมโครกรัม ร้อยละ 18
- ลูทีนและซีแซนทีน 5,867 ไมโครกรัม
- วิตามินบี 1 0.09 มิลลิกรัม ร้อยละ 8
- วิตามินบี 2 0.12 มิลลิกรัม ร้อยละ 10
- วิตามินบี 5 0.31 มิลลิกรัม ร้อยละ 6
- วิตามินบี 6 0.129 มิลลิกรัม ร้อยละ 10
- วิตามินบี 9 9 ไมโครกรัม ร้อยละ 2
- วิตามินซี 43 มิลลิกรัม ร้อยละ 52
- วิตามินอี 1 มิลลิกรัม ร้อยละ 1
- วิตามินเค 250 ไมโครกรัม ร้อยละ 23
- ธาตุแคลเซียม 120 มิลลิกรัม ร้อยละ 12
- ธาตุเหล็ก 0.2 มิลลิกรัม ร้อยละ 2
- ธาตุแมกนีเซียม 0.244 มิลลิกรัม ร้อยละ 6
- ธาตุฟอสฟอรัส 60 มิลลิกรัม ร้อยละ 9
- ธาตุโพแทสเซียม 330 มิลลิกรัม ร้อยละ 7
- ธาตุโซเดียม 41 มิลลิกรัม ร้อยละ 3

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ร้อยละของปริมาณแนะนำที่ร่างกายต้องการในแต่ละวันสำหรับผู้ใหญ่ (ข้อมูลจาก : USDA Nutrient database)

คลอโรฟิลล์ (chlorophyll)

คลอโรฟิลล์ คือ รงควัตถุที่มีขนาดเล็กมากและเป็นสารประกอบที่มีสีเขียว สามารถพบได้ในส่วนที่มีสีเขียวของพืช ในสาหร่ายทุกชนิด และในแบคทีเรียบางชนิด โครงสร้างหลักประกอบด้วย 2 ส่วนคือ วงพอร์ไฟริน (porphyrin ring) ซึ่งเป็นวงเตตระไพรอล (tetrapyrrole ring) ที่ส่วนกลางของวงพอร์ไฟรินประกอบด้วย Mg^{2+} และส่วนที่เป็นสายของไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon chain) ดังภาพที่ 1



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาพที่ 1 โครงสร้างของคลอโรฟิลล์ แสดงส่วนของวงเพอร์ไฟรินและสายไฮโดรคาร์บอน
ที่มา : http://www.thaibiotech.info/what-is-chlorophyll.php

อย่างไรก็ตามพบว่าในพืชชั้นสูง ประกอบด้วยคลอโรฟิลล์ 2 ชนิด คือ คลอโรฟิลล์ เอ (chlorophyll a) และ คลอโรฟิลล์ บี (chlorophyll b) ซึ่งมีความแตกต่างกันที่องค์ประกอบที่บริเวณวงพอร์ไฟริน หากเป็นคลอโรฟิลล์ เอ มีหมู่เมทิล (methyl group) เป็นองค์ประกอบ ในขณะที่คลอโรฟิลล์ บี มีหมู่ฟอร์มิล (formyl group) เป็นองค์ประกอบดังภาพที่ 1คลอโรฟิลล์ ที่อยู่ในธรรมชาติมีอยู่หลายชนิดด้วยกันซึ่งจะมีโครงสร้างของโมเลกุลหลักที่เหมือนกัน คือ มีวงแหวนไพรอล 4 วง แต่คลอโรฟิลล์แต่ละชนิดจะมีลักษณะโมเลกุลของโซ่ข้าง (side chain) ที่แตกต่างกันไป เช่น ความแตกต่างระหว่างคลอโรฟิลล์ เอ (chlorophyll a) และคลอโรฟิลล์ บี (chlorophyll b) คือ ที่วงแหวนไพรอล วงที่สองของคลอโรฟิลล์ เอ (chlorophyll a) มีโซ่ข้างเป็นหมู่เมทิล ($-CH_3$) ส่วนของคลอโรฟิลล์ บี (chlorophyll b) เป็นหมู่อัลดีไฮด์ (-CHO)

การที่โครงสร้างโมเลกุลคลอโรฟิลล์ เอ (chlorophyll a) และคลอโรฟิลล์ บี (chlorophyll b) แตกต่างกัน ทำให้คุณสมบัติในการดูดกลืนแสงก็ต่างกันด้วย จึงทำให้คลอโรฟิลล์ เอ (chlorophyll a) และคลอโรฟิลล์ บี (chlorophyll b) มีสีต่างกันเล็กน้อย โดยที่คลอโรฟิลล์ เอ (chlorophyll a)

จะมีสีเขียวเข้ม ส่วนคลอโรฟิลล์ บี (chlorophyll b) มีสีเขียวอ่อน นอกจากนี้ คลอโรฟิลล์ ยังเป็นโมเลกุลที่รับพลังงานจากแสงมาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เพื่อที่จะสร้างสารอินทรีย์ เช่น น้ำตาล จะได้นำไปใช้ในการดำรงชีวิต และยังพบว่าคลอโรฟิลล์ จะปรากฏอยู่ภายในโครงสร้าง ที่เรียกว่า เยื่อหุ้มไทลาคอยล์ (thylakoid membrane) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีเยื่อหุ้มที่อยู่ภายในอวัยวะ ที่ชื่อว่า คลอโรพลาสต์

อย่างไรก็ตาม ยังพบว่าคลอโรฟิลล์ สามารถดูดกลืนแสงได้ดีที่ในช่วงคลื่นแสงสีฟ้าและแสงสีแดง แต่สามารถดูดกลืนช่วงคลื่นแสงสีเหลืองและแสงสีเขียวได้น้อย ดังนั้นเมื่อได้รับแสงจะดูดกลืนแสงสีฟ้าและสีแดงเอาไว้ ส่วนแสงสีเขียวที่ไม่ได้ถูกดูดกลืนจึงได้สะท้อนออกมาเป็นแสงสีเขียว ทำให้เราเห็นคลอโรฟิลล์เป็นสีเขียว

2.1 การวัดคลอโรฟิลล์ในใบพืช ปกติจะสามารถกระทำได้สองวิธี คือการวัดแบบทำลายใบและการวัดแบบไม่ทำลายใบ ซึ่งมีรายละเอียด ดังนี้

1) การวัดคลอโรฟิลล์แบบทำลายใบ เป็นการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืช โดยอาศัยหลักการวิเคราะห์การดูดซับแสงจากเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ โดยจะนำส่วนใบพืชที่ต้องตรวจวัดมาตัดส่วนของใบพืชมาวิเคราะห์การดูดซับแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ในห้องปฏิบัติการ ด้วยการตัดใบพืชเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 1x2 เซนติเมตร ใส่หลอดทดลองที่มีการเติมสาร dimethyl sulfoxide ประมาณ 7 มิลลิลิตร โดยทำการควบคุมอุณหภูมิ 65 °C จากนั้นปล่อยจนกระทั่ง เนื้อเยื่อเปลี่ยนสี จากสีเขียวเป็นสีขาว นำมากรองและนำสารละลายที่ได้ไปเข้าเครื่องวิเคราะห์การดูดซับแสง สุดท้ายนำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์

2) การวัดคลอโรฟิลล์แบบไม่ทำลายใบ เป็นวิธีที่นิยมในปัจจุบัน เนื่องจากสะดวก และง่ายต่อการปฏิบัติงาน โดยใช้เครื่องคลอโรฟิลล์มิเตอร์เป็นเครื่องมือในการวัด การนำคลอโรฟิลล์มิเตอร์มาใช้วัดค่าคลอโรฟิลล์ในใบพืชนั้น กระทำได้โดยนำส่วนที่เป็นปากคีบของเครื่องคลอโรฟิลล์มิเตอร์คีบหนีบพื้นที่ใบพืชที่ต้องการวัด โดยให้ตำแหน่งหัววัดอยู่ในบริเวณพื้นที่ส่วนกลางใบให้มากที่สุด โดยหลีกเลี่ยงเส้นใบและกลางใบ วัดอยู่ในรูปของค่าดัชนีความเขียว หรือค่า SPAD (SPAD value) เป็นค่าผันแปรตรงกับปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ (Hawkins, 2009)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

การหายไปของสีเขียว

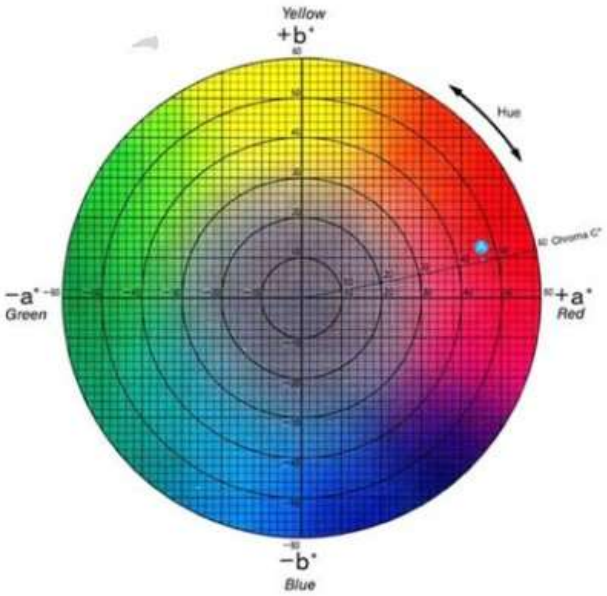
การวัดสีด้วยระบบ CIE

การมองเห็น ของมนุษย์ต่อวัตถุที่มีสีนั้น เป็นการมองเห็นที่แตกต่างกันไป จึงมีการพัฒนาอุปกรณ์ใช้วัดสีเพื่อลดความไม่เป็นกลาง เนื่องจากปัจจัยของแหล่งกำเนิดและผู้สังเกตการณ์ องค์กรที่มีบทบาทสำคัญในการกำหนด มาตรฐานด้านสีคือ Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) โดยระบบที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน คือ L* -a* -b* เป็นระบบการบรรยาย สีแบบสามมิติมีความหมาย ดังนี้

แกน L* บรรยายความสว่าง (lightness) มี ค่าตั้งแต่ 0-100 โดย 0 คือ สีดำ และ 100 คือ สี ขาว

แกน a* บรรยายแกนสี จากสีเขียว (-a*) จนถึง สีแดง (+a*)

แกน b* บรรยายแกนสีจากสีน้ำเงิน (-b*) จนถึงสีเหลือง (+b*)



ภาพที่ 2 การบรรยายสีในระบบ CIELAB

ที่มา : Hawkins, T. S., E. S, Gardiner, and G. S. Comer (2009).

อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ เป็นตัวทำลายภูมิคุ้มกันและเซลล์ต่างๆ ทำให้เกิดการเสื่อมถอยของร่างกาย ซึ่งจะแสดงออกมาในรูปแบบของ ริ้วรอย แก่ก่อนวัย และโรคความเสื่อมของอวัยวะต่างๆ ที่หนักสุด คือ การก่อตัวเป็นเนื้อร้าย หรือ เซลล์มะเร็ง ดังนั้นร่างกายมนุษย์ จึงมีสารอนุมูลอิสระมาตั้งแต่เกิด แต่ในช่วงวัยเด็กและวัยรุ่นร่างกายคนเรายังสามารถกำจัดตัวอนุมูลอิสระได้ดี แต่ที่เราต้องใส่ใจมากขึ้น เมื่อเริ่มจากวัยทำงาน ถ้าอายุมากขึ้นหรือร่างกายอ่อนแอ มีความเครียด ภูมิคุ้มกันจะไม่สามารถต่อสู้กับอนุมูลอิสระได้ อนุมูลอิสระจะโจมตีเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เซลล์ทำงานผิดปกติได้

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1. สาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ

ในกระบวนการเผาผลาญสารอาหาร ร่างกายจำเป็นต้องอาศัยออกซิเจนช่วย ในกระบวนการนี้ทำให้ได้ออกซิเจนที่มีประจุลบ ซึ่งก็คือ อนุมูลอิสระ สารตัวนี้นอกจากจะรวมตัวกับไขมันไม่ดีแล้ว ยังสามารถรวมตัวกับสารบางชนิดในร่างกายเรา แล้วก่อให้เกิดเป็นสารพิษที่ทำลายเนื้อเยื่อ หรืออาจไปเปลี่ยนแปลงข้อมูลทางพันธุกรรมภายในเซลล์ ทำให้เซลล์ปกติแปรสภาพเป็นเซลล์มะเร็งในที่สุด

2. สาเหตุ ที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นในร่างกาย

1) ร่างกายขาดวิตามิน และเกลือแร่บางชนิด
2) รังสียูวี จะเป็นตัวทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระ ทำให้เกิดริ้วรอยก่อนวัยอันควร
3) มลพิษต่างๆ ไม่ว่าจะเป็น ควันรถ ควันบุหรี่ สารเคมีปนเปื้อน หรือ ยาฆ่าแมลง
4) การรับประทานอาหารที่ผ่านการทอดด้วยอุณหภูมิสูง อาหารปิ้ง ย่าง และสารปรุงแต่งอาหาร
5) การใช้ผลิตภัณฑ์ที่ผสมสารเคมีต่าง ๆ
6) ความเครียด พักผ่อนไม่เพียงพอ ไม่ออกกำลังกาย

3. สารต้านอนุมูลอิสระกับกลไกการทำงานในร่างกาย

ในทางเคมีสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือ สารประกอบที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดกระบวนการออกซิเดชั่น กระบวนการออกซิเดชั่นมีได้หลายรูปแบบ เช่น กระบวนการออกซิเดชั่นที่ทำให้เหล็กกลายเป็นสนิม ทำให้แอปเปิลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือทำให้น้ำมันพืชเหม็นหืน หรือกระบวนการออกซิเดชั่นที่เกิดในร่างกาย เช่น การย่อยสลายโปรตีนและไขมันจากอาหารที่กินเข้าไป มลพิษทางอากาศ การหายใจ ควันบุหรี่ รังสียูวี ล้วนทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายของเรา ซึ่งสร้างความเสียหายต่อร่างกายได้ ในความเป็นจริงไม่มีสารประกอบสารใดสารหนึ่งสามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นได้ทั้งหมด แต่ละกลไกอาจต้องใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันในการหยุดกระบวนการออกซิเดชั่น ในอีกทางหนึ่ง กระบวนการออกซิเดชั่นเป็นกระบวนการที่สำคัญต่อร่างกาย เช่น เราใช้ออกซิเจนจากอากาศที่หายใจเข้าไปไปเผาผลาญอาหารที่ร่างกายได้รับให้เป็นพลังงานสำหรับการทำงานของเซลล์ต่างๆ แต่ก็ทำให้เกิดอนุมูลอิสระเป็นผลพลอยได้ อนุมูลอิสระต่างๆ ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่สำคัญในร่างกาย เช่น ไขมัน โปรตีน ดีเอ็นเอ ทำให้เกิดความเสียหายต่อโมเลกุลดังกล่าว ตัวอย่างเช่น เมื่ออนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับแอลดีแอล (LDL : low-density lipoprotein) ซึ่งเป็นโคเลสเตอรอลตัวเลวทำให้เกิดออกซิไดซ์แอลดีแอล (oxidized LDL) ซึ่งมีหลักฐานยืนยันว่า ออกซิไดซ์แอลดีแอลเป็นสาเหตุของการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งทำให้เกิดการอุดตันของหลอดเลือดและเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคหัวใจ

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายเนื่องจากมีมูลเหตุจากออกซิเจน จึงมีชื่อเรียกเป็นภาษาอังกฤษว่า reactive oxygen species (ROS) อนุมูลอิสระที่สำคัญ ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน (superoxide anion) ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) และ ไฮดรอกซิลแรดดิเคิล (hydroxyl radical); lOH

ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH assay

ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ นั้นมีหลายวิธี แต่วิธีที่นิยม คือวิธี DPPH assay ซึ่งเป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ซึ่งใช้ reagent คือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์ ให้ความถูกต้องและแม่นยำสูง (พรรณี เด่นรุ่งเรือง, 2550)

1. หลักการ

$DPPH^{\bullet}$ เป็น stable radical ในตัวทำละลายเมทานอล สารละลายนี้มีสีม่วง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 515-517 นาโนเมตร

โดย $DPPH^{\bullet}$ จะเกิดปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือกับ radical species ($R^{\bullet}$)

$DPPH^{\bullet} + AH$ ----------$DPPH\text{-}H + A^{\bullet}$

$DPPH^{\bullet} + R^{\bullet}$ ---------- DPPH-R

2. วิธีการ

เมื่อ $DPPH^{\bullet}$ ทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สีของสารละลายสีม่วงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง โดยเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูอิสระที่ใช้เป็นมาตรฐานคือ BHT ถ้าตัวอย่างมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูง ความเข้มของสารละลายสีม่วงจะลดลง ซึ่งจะรายงานผลการทดลองเป็นค่า

3. เตรียมสารละลายมาตรฐาน BHT

เป็นสารมาตรฐานที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ใช้ความเข้มข้น 100, 75, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.562 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใน absolute ethanol การวัดค่าการดูดกลืนแสงยูวี ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer เพื่อหาความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

4. การแสดงผล

การศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ในสารตัวอย่างนิยมรายงานเป็นค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ $DPPH^{\bullet}$ ลดลง 50% โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับค่าการดูดกลืนแสง แล้วหาค่า EC_{50} จากกราฟแสดงค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง ร้อยละ 50 แล้วใช้ค่า EC_{50} ในการเปรียบเทียบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระระหว่างตัวอย่างที่ทดสอบกับสารมาตรฐาน BHT คำนวณ % Radical Scavenging (เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ)

$$\%\text{Radical Scavenging} = [(AB - AA) / AB] \times 100$$

เมื่อ AA = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารตัวอย่างผสมกับ DPPH
AB = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH

ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

สภาวะการเกิดออกซิเดชันในร่างกายเกิดจากการออกซิเดชัน ของสารโมเลกุลใหญ่ ได้แก่ ไขมัน โปรตีน และกรดนิวคลีอิก ซึ่งเป็นสาเหตุสำ คัญต่อการเกิดโรคต่างๆ ดังนั้นร่างกายจึง ต้องมีการกำ จัดอนุมูลอิสระที่มีมากเกินไปภายในร่างกาย โดยปรับสมดุลปฏิกิริยารีดอกซ์ กลไกการกำ จัดอนุมูล อิสระประกอบด้วย การกำ จัดและหรือลดการสร้างอนุมูล ออกซิเจนอิสระ (reactive oxygen species, ROS) โดยการทำงานของเอนไซม์และวิตามินภายในร่างกาย และ นอกจากนี้ยังได้จากสารกลุ่มฟีโนลิกที่มีอยู่ในอาหารที่บริโภค ซึ่งสารกลุ่มนี้มีฤทธิ์สูงในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน สารประกอบฟีโนลิกเป็นกลุ่มสารทุติยภูมิที่พบได้ ทั่วไปในผัก ผลไม้ไวน์ชา น้ำ มันมะกอก และช็อคโกแลต เป็นต้น สารประกอบฟีโนลิกส่วนใหญ่จะพบในรูป อนุพันธ์และหรือไอโซเมอร์ของฟลาโวนส์ไอโซฟลาโวนส์ ฟลาโวนอลส์คาร์ทิชิน และกรดฟีโนลิก สารเหล่านี้มีฤทธิ์หลายอย่างเช่น ต้านการเกิดสภาวะออกซิเดชัน ป้องกันการ เกิดโรคมะเร็งต่างๆ เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งหลอดอาหาร มะเร็งผิวหนัง มะเร็งลำ ไส้มะเร็งต่อมลูกหมาก และมะเร็ง ตับ1 เป็นต้น สามารถนำ มาใช้ประโยชน์ทางยา โดยเป็น สารประกอบที่มีฤทธิ์ต้านสารก่อมะเร็ง ต้านภาวะการอักเสบต่างๆ และช่วยปรับระบบภูมิคุ้มกัน สามารถกำ จัด อนุมูลอิสระและโครงสร้างมีความเสถียรสามารถป้องกัน การเกิดออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิก (linoleicacid)และ low-density lipoprotein(LDL) ป้องกันเนื้อเยื่อและดีเอน เอจากการถูกทำ ลายด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน การจำแนกชนิดของสารประกอบฟีโนลิก สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารกลุ่มหนึ่งที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสามารถพบได้ในพืชหลายชนิด (Habila et al., 2010) ซึ่งสาร

มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ที่ ให้สมบัติต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ในปัจจุบันจึงมีการศึกษา เกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระในพืช (ลือชัย บุตคุป, 2012)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ดวงชนก ทองคำและผกาวดี เอี่ยมกำแพง. (2557) ได้ศึกษาและพัฒนาผลิตภัณฑ์ครองแครงกรอบจากแป้งข้าวไรซ์เบอรี่ โดยศึกษาสูตรพื้นฐาน และใช้ผงแป้งข้าวไรซ์เบอรี่ทดแทนแป้งสาลี ร้อยละ 5, 10, 15, ของน้ำหนักแป้ง ได้ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคและคุณสมบัติทางกายภาพ พบว่าการทดแทนแป้งสาลีร้อยละ 5 เป็นที่ยอมรับและมีค่าสี L* a* และ b* เท่ากับ 3.96 1.53 และ 2.13 ตามลำดับ

วริพัสย์ อารีกุล และคณะ. (2558) ได้ศึกษาปริมาณฟีนอลิก คลอโรฟิลล์ และความสามารถในการต้านออกซิเดชันของต้นอ่อนข้าวดำ 2 สายพันธุ์ คือ หอมนิล และข้าวก่ำสีนิล เพาะ 2 สัปดาห์ ทำเป็นตัวอย่างสด และแห้งด้วยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และใช้เอทานอลและน้ำเป็นตัวสกัด และนำสารสกัดวิเคราะห์ พบว่าสารสกัดต้นข้าวอ่อนที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีปริมาณฟีนอลิก คลอโรฟิลล์ และความสามารถในการต้านออกซิเดชันมีค่าสูงกว่าตัวอย่างสด และการสกัดด้วยเอทานอลดีกว่าน้ำ และข้าวทั้งสองสายพันธุ์มีปริมาณฟีนอลิก คลอโรฟิลล์ และความสามารถในการต้านออกซิเดชันใกล้เคียงกัน

น้ำฝน เบ้าทองคำ และ ถนอมนวล พรหมบุญ. 2556. ได้ทดสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) และหาปริมาณฟีนอลิกรวมทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method จากสารสกัดหยาบจากเห็ดป่ากินได้ 5 ชนิดในจังหวัดเพชรบูรณ์ (เห็ดน้ำผึ้ง เห็ดระโงกขาว เห็ดถ่านใหญ่ เห็ดน้ำหมาก เห็ดตะไคล) สกัดในตัวทำละลาย 3 ชนิด (เอทิลอะซิเตท เมทานอล น้ำ)พบว่าสารสกัดหยาบจากเห็ดในชั้นตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงสุดยกเว้นเห็ดตะไคลจะเป็นชั้นน้ำ มีค่า IC 50 เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน tolox=0.0213 0.0073 0.0224, 0.02391 และ 0.0339 ตามลำดับ แต่ทุกตัวมีค่า IC 50 สูงกว่า tolox=2.2430 และค่า IC 50 มีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกรวมทั้ง หมดยกเว้นสารสกัดจากเห็ดตะไคลในชั้นตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท จากผลการวิจัยนี้เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาประโยชน์จากเห็ดในระดับต่อไป และเป็นประโยชน์ต่อการเลือกบริโภคเห็ดป่าของชาวบ้าน

สัณห์ ละอองศรี. ได้ศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี ในใบชาสด 4 ชนิด ที่สกัดด้วยอะซิโตน เข้มข้น 99.5 เปอร์เซ็นต์พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำ คัญทางสถิติ โดยพบปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ(a) และบี (b) ในใบชาญี่ปุ่นสูงที่สุด เท่ากับ 27.93 และ 24.75 มิลลิกรัมต่อลิตร และพบปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (a) และบี (b) ในใบชาน้ำมันพันธุ์ดอกแดงต่ำที่สุด เท่ากับ 22.32 และ 9.67 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งอาจเป็นสาเหตุสำคัญ ที่ทำให้ชาน้ำมันพันธุ์ดอกแดง อ่อนแอ ไม่สามารถปรับตัว เข้ากับสภาพแวดล้อมของประเทศไทยได้

อรนุช นาคชาติ วรรณา เอกทอง และ อรนุช คงลัก ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผงผักแขยง สกัดผักแขยงสดและผักแขยงแห้งด้วยน้ำร้อน ทำให้เป็นผงด้วยเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย หาปริมาณสารฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ผงผักแขยงสดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าผงผักแขยงแห้งโดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก = 2.62±0.53 และ 1.11±0.32 กรัมกรดแกลลิกเปรียบเทียบต่อ 100 กรัมผงแห้ง ผงผักแขยงสดมีฤทธิ์ต้าน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

อนุมูลอิสระมากกว่าผงผักแขยงแห้ง มีค่า IC_{50} = 0.25±0.00, 1.04±0.00 และ 0.02±0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ธีรนาถ สุวรรณเรือง. (2560). ได้หาปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ในผักสด 9 ชนิด ดังนี้ ขึ้นฉ่าย (Apium grsveolens Linn.) ใบกระเพราแดง (Ociemum Sanctum L.) ผักบุ้งจีน (Ipomcea aquatica Forsk) แครอท (Daucus carota L.) กระถิน (Leucaena leucocephala) ต้นหอม(Alliumcepa var) ผักชีฝรั่ง (Eryngium foetidum L.) ผักชีลาว (Anethum graveolens Linn) และ กระหล่ำปลี (Brassica oleracea var. capitata L.) ด้วยวิธีการสกัดด้วยอะซิโตน และน่ามาวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตรมิเตอร์ พบว่ามี ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดมีปริมาณ 655.50 - 1744.90 mg/L ตามล่าดับ ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด สูงที่สุดคือ กระถิน(Leucaena leucocephala) มีปริมาณแคโรทีนอยด์ ทั้งหมด 1744.90±0.00 mg/L และปริมาณต่ำที่สุดคือขึ้นฉ่าย (Apium grsveolens Linn.) มีปริมาณ แคโรทีนอยด์ทั้งหมด 655.50 ± 23.56 mg/L ผลการวิจัยครั้งนี้น่าจะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคได้ทราบถึง ปริมาณแคโรทีนอยด์ เพื่อเป็นแนวทางในในการเลือกรับประทานผักที่หลากหลายชนิด

Richardson, A.D., Duigan, S.P. and Berlyn, G.P. (2002). ได้ศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์จากส่วนใบของพืชสมุนไพร 9 ชนิด ด้วยวิธีสเปคโตรสโคปี และคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และ บี ใช้ตามวิธีของ *Arnon* พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ ทั้งใหมด พบใน *Mimosa pudica* สูงกว่าสมุนไพรอื่น ๆ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

วิธีดำเนินการวิจัย ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามหัวข้อต่อไปนี้

1. ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง และวัสดุอุปกรณ์เครื่องมือในการวิจัย
2. วิธีการดำเนินการวิจัย
3. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลในงานวิจัย

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง และวัสดุอุปกรณ์เครื่องมือในการวิจัย

1. ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากร วอเตอร์เครส สายพันธุ์ญี่ปุ่น ดินปลูกด้วยอัตราส่วน ปุ๋ยอินทรีย์ : แกลบดำ : ดินทรายมน เท่ากับ 2 : 1 : 1 ปลูกด้วยวิธีปักชำลำต้น ในกระถางปากกว้าง เส้นผ่านศูนย์กลาง 60 เซนติเมตร วางกลางแจ้ง 15 วัน รดน้ำหมัก เข้มข้น ร้อยละ 3 วันเว้นวัน ตลอดระยะเวลาการปลูก

กลุ่มตัวอย่าง วอเตอร์เครส สายพันธุ์ญี่ปุ่น สุ่มตัวอย่างอย่างง่าย ในกระถางปลูก 4 ใบ เก็บใบที่ 3, 5, 7, และ 9 คัดเลือกตัวอย่างแบบเจาะจง น้ำหนัก 5.00 กรัม ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

2. วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือในการวิจัย

1) เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer (Lampda 12, Perkin Elmer)
2) เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (รุ่น OHAUS PA4102, OSAUS CORPORATION, USA,)
3) เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (รุ่น OHAUS MODELPA214 , PRECISA Co.,Ltd)
4) ตู้ควัน (รุ่น GT-240TA–2.4 m,Thailand)
5) ถังพลาสติก PET ขนาด 6 ลิตร
5) ถุงพลาสติก ทนร้อน ขนาด 10 x 15 นิ้ว
6) ถุงซิปล็อค ขนาด 3 x 5 นิ้ว

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
MAHASARAKHAM UNIVERSITY

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 การปลูกวอเตอร์เครสและการเก็บตัวอย่าง

การเตรียมดินปลูกด้วยอัตราส่วน ปุ๋ยอินทรีย์ : แกลบดำ : ดินทรายมน เท่ากับ 2 : 1 : 1 ตามลำดับ หมักต่ออีก 1 เดือน นำดินปลูกที่ได้ใส่กระถางปากกว้าง เส้นผ่านศูนย์กลาง 60 เซนติเมตร จำนวน 4 ซ้ำ ปลูกด้วยวิธีปักชำด้วยลำต้น ขนาดความยาว 5 เซนติเมตร ปักห่างกัน 10 เซนติเมตร ในระยะแรก ไว้ในแดดร่ำไร เป็นเวลา 15 วัน หลังจากนั้นวางกลางแดด ต่ออีก 15 วันก่อนเก็บเกี่ยว รดน้ำหมัก เข้มข้น ร้อยละ 3 วันเว้นวัน ตลอดระยะเวลาการปลูกสุ่มตัวอย่างอย่างง่าย ในกระถางปลูก 4 ใบ เก็บใบที่ 3, 5, 7, และ 9 คัดเลือกแบบเจาะจง มาล้างทำความสะอาด ชั่งน้ำหนัก 5.00 กรัม เก็บใส่ถุงซิปล็อค วางไว้ในตู้เย็น 8 องศาเซลเซียส ก่อนทำการวิเคราะห์

1.2 การเตรียมสารสกัดวอเตอร์เครส ตามวิธีของ Canjura et al. (1991)

1) นำตัวอย่างวอเตอร์เครสออกจากตู้เย็น ชั่งกิ่งและใบวอเตอร์เครส สด หนัก 5.00 กรัม เติมอะซิโตน 18.8 mL ปั่นด้วยเครื่องปั่นสด (Otto, High Performance Commercial Blender, Japan) นาน 2 นาที กรองสารละลายที่ได้ด้วย vacuum ผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 42 ระเหยอะซิโตนในตู้ควัน เก็บใส่ถุงซิปล็อค แช่ตู้เย็น 4 °C ก่อนนำไปวิเคราะห์

2) ชั่งสารสกัดหยาบอะซิโตน 2x0.1250 กรัม ละลายด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 5.5 ปรับปริมาตรเป็น 50 ml แบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 5 mL จำนวน 6 หลอดนำสารตัวอย่างที่เตรียมได้ มาแช่ในอ่างน้ำร้อน อุณหภูมิ 70 °C นาน 0, 5, 10, 15, 20, 25 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำทดลอง ทำการทดลองซ้ำโดยเพิ่ม อุณหภูมิ เป็น 80 และ 90 °C และสารละลายบัฟเฟอร์ มี pH 6.5 และ 7.5 ตามลำดับ

2. การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

การเตรียมสารละลาย 0.1 M K_2HPO_4 โดยชั่ง K_2HPO_4 17.4180 กรัม ละลายและปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร และปรับสารละลายด้วยกรด 1 M HCl ได้สารละลายบัฟเฟอร์ มี pH 5.5, 6.5 และ 7.5 ตามลำดับ ด้วยเครื่อง pH-meter (รุ่น Consort P 407, Schott Gerate, Belgium)

3. การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ เมื่อ pH 5.5 6.5 และ 7.5

ศึกษาสภาวะของอุณหภูมิ (ที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 °C นาน 0, 5, 10, 15, 20, 25 นาที และค่า pH (สารละลาย บัฟเฟอร์ pH 5.5, 6.5 และ 7.5 ตามลำดับ) ต่อการสลายตัวของคลอโรฟิลล์จากวอเตอร์เครส ด้วยวิธีสเปคโตรสโคปี ตามวิธีของ Arnon's (1949)

4. การวิเคราะห์การหายไปของสีเขียว ด้วยระบบ CIE

ศึกษาสภาวะของอุณหภูมิ (ที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 °C นาน 0, 5, 10, 15, 20, 25 นาที และค่า pH (สารละลายบัฟเฟอร์ มี pH 5.5, 6.5 และ 7.5 ตามลำดับ) ต่อการหายไปของคลอโรฟิลล์จากวอเตอร์เครส ด้วยวิธีสเปคโตรสโคปี ตามวิธีของ Arnon's (1949)

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
MAHASARAKHAM UNIVERSITY

5. การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ

1) การเตรียมสารมาตรฐาน BHT

ชั่งสารมาตรฐาน BHT 0.1250 กรัม ละลายด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ มี pH 5.5 ปรับปริมาตรเป็น 25 mL จะได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 25 $mg.mL^{-1}$ จากนั้นเจือจางสารละลาย ให้มีความเข้มข้น1.0, 0.5, 0.25, 0.125 และ 0.0625 $mg.mL^{-1}$ โดยใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$ เติมสารละลายมาตรฐาน แต่ละความเข้มข้น 3 mL และสารละลาย 0.3 mM DPPH 1.0 mL ลงในหลอดทดลองเก็บในที่มืด นาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้สารละลาย 0.3 mM DPPH กับสารละลายบัฟเฟอร์ มี pH 5.5 เป็นสารควบคุม นำผลที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน ทำเช่นเดิมแต่ละลายด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ มี pH 6.5 และ 7.5 ตามลำดับ

2) วิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity ดัดแปลงตามวิธีของ Zigonenu, et al. (2007)

ชั่งสารสกัดหยาบอะซิโตน 2x0.1250 กรัม ละลายด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ มี pH 5.5 ปรับปริมาตรเป็น 50 mL แบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 5 mL จำนวน 6 หลอดนำสารตัวอย่างที่เตรียมได้ มาแช่ในอ่างน้ำ

ร้อน อุณหภูมิ 70 °C นาน 0, 5, 10, 15, 20, 25 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำทดลอง ทำการทดลองซ้ำ โดยเปลี่ยนสารละลายบัฟเฟอร์ pH 6.5 และ 7.5 ตามลำดับ ต่อมาได้แบ่งสารละลายข้างต้น ปริมาตร 3 mL (t=0, 5, 10, 15, 20 และ 25 นาที) และเติมสารละลาย 0.3 mM DPPH˚ 1.0 mL ลงในหลอดทดลอง และเก็บในที่มืด นาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ใช้สารละลาย 0.3 mM DPPH กับสารละลายบัฟเฟอร์ มี pH 5.5 เป็นสารควบคุม และคำนวณหาค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ($DPPH^{\bullet}$) จากสูตร โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT ทำซ้ำ แต่ใช้สารละลายบัฟเฟอร์ มี pH 6.5 และ 7.5 แทน

ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ (%)= $(Abs_{t=0} - Abs_{t=5,\ldots,25}/Abs_{t=0})$ 100

โดย $Abs_{t=0}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง ที่เวลา 0 นาที

$Abs_{t=5,10,15,20,25}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง ที่เวลา 5, 10, 15, 20 และ 25 นาที

6. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

1) เตรียมสารมาตรฐานกรดแกลลิก เข้มข้น 100 mg/L ชั่งกรดแกลลิกมา 0.0025 กรัม ละลายในน้ำ DI ปรับปริมาตร เป็น 25 mL

2) เตรียมสารละลาย Folin-Ciocalteu 0.2 N ปิเปต Folin-Ciocalteu 2 N ปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตร เป็น 100 mL

3) เตรียมสารละลาย 10% w/v Na_2CO_3 ชั่ง 10 กรัม ละลายด้วยน้ำ DI ปรับปริมาตรเป็น 100 mL

4) วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิก (Total phenolic content) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent

1) ปิเปตต์สารสกัดตัวอย่างมา 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

2) เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu 500 ไมโครลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 1-2 นาที

3) เติมสารละลาย 10% w/v โซเดียมคาร์บอเนต 400 ไมโครลิตร

4) ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์

<u>*หมายเหตุ</u> กรดแกลลิกมีความเข้มข้น 0, 1, 2.5, 5, 7.5 และ10 mg/L

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลในงานวิจัย

การวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้หลักสถิติวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบรูณ์ (Completely Randomized Design : CRD)วิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One way Analysis of Variance)โดยการใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 16 และเปรียบเทียบความแตกต่างข้อมูลโดยวิธี Duncan' s Multiple Range Test (DMRT) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

สถิติเชิงพรรณนา

สรุปข้อมูลจากการศึกษา เพื่อแสดงลักษณะทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง ได้แก่

$\overline{X}$ หมายถึง ค่าเฉลี่ย (Mean)

% หมายถึง ร้อยละ

SD หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติของสารสำคัญที่มีในผักที่เรียกว่า วอเตอร์เครส สายพันธุ์ญี่ปุ่น ซึ่งเป็นพืชที่ปลูกง่ายและมีคุณค่าทางโภชนาการและมีสารสำคัญที่มีประโยชน์ต่อผู้บริโภค โดยศึกษาผลของอุณหภูมิและความเป็นกรดเบส ที่มีสภาพใกล้เคียงกับการปรุงแต่งอาหารที่เกิดขึ้นได้จริง โดยได้การทดสอบทำการศึกษาที่สภาพวะอุณหภูมิ ที่ 70-90 องศาเซลเซียส และความเป็นกรดเบสที่ pH 5.5-7.5 ที่มีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (a) และ บี (b) ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร การหายไปของสีเขียว รายงานด้วยระบบ CIE ด้วยเครื่องสเปคโตรสโคปี และศึกษาฤทธิ์ทางยา ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH และ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ได้ผลการทดสอบดังนี้

ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบวอเตอร์เครส

1.1 แบบทำลายเซลล์

นำตัวอย่างวอเตอร์เครสใบที่ 3, 5, 7, และ 9 ของวอเตอร์เครสสายพันธุ์ญี่ปุ่น มาสกัดคลอโรฟิลล์ด้วยสารอะซิโตน ปริมาตร 3 มิลลิลิตร วางไว้ในที่ตู้ควัน ที่อุณหภูมิห้อง นาน 3 ชั่วโมง ได้สารสกัดหยาบอะซิโตน และนำสารสกัดหยาบที่ได้ไปละลายในเอทานอล นำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ A645 และ A663 ด้วยเครื่อง สเปกโตรสโคปี และคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และบี ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตรจากสูตร

คลอโรฟิลล์ เอ (a) = 12.7 (OD663) - 2.69 (OD645) x V/1,000 x m

คลอโรฟิลล์ บี (b) = 22.9 (OD645) – 4.68(OD663) x V/1,000 x m

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

V = ปริมาตรของสารละลายที่ตรวจวัดคลอโรฟิลล์ (ลิตร)
m = น้ำหนักตัวอย่าง (มิลลิกรัม)
OD = ค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (นาโนเมตร)

ตาราง 4.1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในสารสกัดหยาบเอทานอลของวอเตอร์

times (min)	ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (a) (mg/L)								
	90 °C			80°C			70°C		
	pH5.5	pH6.5	pH7.5	pH5.5	pH6.5	pH7.5	pH5.5	pH6.5	pH7.5
5	36.56±0.45	39.21±0.02	55.35±0.04	36.54±0.11	38.21±0.01	54.45±0.31	49.85±0.03	53.78±0.02	56.67±0.01
10	32.89±0.01	37.13±0.03	54.65±0.01	33.46±0.16	37.45±0.01	53.560.03	46.34±0.05	52.89±0.01	55.43±0.02
15	29.41±0.14	34.55±0.10	53.14±0.31	30.45±0.17	34.89±0.02	52.21±0.01	43.55±0.06	50.57±0.05	53.11±0.03
20	26.38±0.12	30.54±0.12	47.43±0.23	26.13±0.13	30.67±0.02	45.78±0.03	35.45±0.01	40.23±0.01	46.61±0.01
25	19.35±0.02	23.65±0.24	38.56±0.11	20.12±0.05	23.98±0.01	36.77±0.05	30.34±0.02	34.58±0.03	39.22±0.02

ตาราง 4.2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในสารสกัดหยาบเอทานอล ของวอเตอร์

times	ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (b) (mg/L)								
	90 °C			80°C			70°C		
(min)	pH5.5	pH6.5	pH7.5	pH5.5	pH6.5	pH7.5	pH5.5	pH6.5	pH7.5
5	26.16±0.02	29.21±0.01	35.45±0.03	26.74±0.05	28.21±0.01	34.21±0.01	29.55±0.00	33.48±0.01	36.51±0.03
10	22.77±0.01	17.13±0.01	34.19±0.03	23.36±0.05	17.45±0.02	33.67±0.05	26.44±0.00	32.82±0.02	35.13±0.01
15	19.21±0.01	13.55±0.03	33.64±0.03	19.15±0.04	14.89±0.02	32.33±0.01	23.65±0.02	30.17±0.01	33.45±0.01
20	13.29±0.05	9.54±0.04	27.23±0.01	16.19±0.01	10.67±0.01	25.18±0.01	15.15±0.01	20.53±0.02	26.67±0.05
25	8.45±0.01	8.65±0.05	18.51±0.01	9.68±0.01	9.88±0.03	16.62±0.11	10.64±0.00	14.21±0.03	19.52±0.01

จากตาราง 4.1 และ 4.2 การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และบี พบว่า ความเป็นกรดเบส (pH 5.5-7.5) ที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุดมี ความเป็นกรดเบส (pH) เท่ากับ 7.5 และมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 5.5 และอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส เวลาในการให้ความร้อน 25 นาที pH 7.5 เท่ากับ 39.22 มิลลิกรัมต่อลิตร และต่ำสุดที่ 90 องศาเซลเซียส pH 5.5 เท่ากับ 19.35 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (b) สูงสุดที่ 70 องศาเซลเซียส เวลาในการให้ความร้อน 25 นาที pH 7.5 เท่ากับ 19.52 มิลลิกรัมต่อลิตร และต่ำสุดที่ 90 องศาเซลเซียส pH 5.5 เท่ากับ 8.45 มิลลิกรัมต่อลิตร นั้นคือจากการทดสอบเราสามารถพิจารณาเลือกอุณหภูมิในการให้ความร้อนว่าทำอย่างไรจะสามารถรักษาปริมาณคลอโรฟิลล์ให้เหลือมากที่สุด เมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อนเป็นเวลานานถึง 25 นาที โดยจะต้องปรับความเป็นกรดเบสของสารละลายอยู่ ที่ 7.5 ให้ความร้อนแก่สารละลาย ช่วง 70 – 90 องศาเซลเซียส จากการทดลอง แสดงถึงความสำคัญของคลอโรฟลล์เปนรงควัตถุที่มีบทบาท และหนาที่สำคัญ ในการดูดซับพลังงานแสงเพื่อนำไปใชในกระบวนการ สังเคราะหแสงของพืช (Gross , 1991) ดังนั้นปริมาณของคลอโรฟลลที่มีอยูในเนื้อเยื่อสวนใบของพืชจึงสามารถใชเปนดัชนีบง บอกถึง ความสามารถในการสรางอาหาร เพื่อการเจริญเติบโตของพืช ตลอดจนการตอบสนองตอปจจัยตางๆ ดาน สภาพแวดลอม (วิรัตน, 2539)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

การหายไปของสีเขียว โดยการวัดค่าสีด้วยระบบ CIE

การวัดค่าสีที่หายไป ในตัวอย่าง ด้วยเครื่อง Colorimeter, Spectrophotometer ประกอบด้วย ค่าสี 3 ตัว คือ

1. ค่าสี L* หมายถึง ค่าความสว่างของสี ซึ่ง มีค่าจาก 0 คือ สีดำ ถึง 100 คือ สีขาว
2. ค่าสี a* หมายถึง ค่าความเป็นสีเขียวและสีแดง เมื่อ a* มีค่าเป็นบวก จะแสดงถึง ความเป็นสีแดง และเมื่อ a* มีค่าลบ จะแสดงถึงความเป็นสีเขียว
3. ค่าสี b* หมายถึงค่าความเป็นสีน้ำเงินและสีเหลือง เมื่อ b* มีค่าบวก จะแสดงถึงความเป็นสีเหลือง และเมื่อ b* มีค่าเป็นลบ จะแสดงถึงความเป็นสีน้ำเงิน

L* ช่วง 68.88 - 62.56 มีความสว่าง ค่อนข้างใส – ค่อนข้างทึบ
a* ช่วง -12.21 – (-2.93) มีสีเขียว – ค่อนข้างเขียว
b* ช่วง 18.69 - 43.56 สีค่อนข้างเหลือง – สีเหลือง

แสดงว่า อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส พบว่าคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) เป็นเม็ดสีสีเขียว เริ่มสลายตัวกลายเป็นฟีโอไฟติน (pheophytin) จะมองเห็นสีเหลือง (b*) เพิ่มขึ้น เมื่อนำไปวัดด้วยเครื่อง Colorimeter

จะมีค่า b* เพิ่มขึ้นและเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น (t = 80-90 **°C**) จะพบว่าการสลายตัวของคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น นั่นคือสีเขียวจะลดลง และสีเหลืองเพิ่มขึ้น แต่ถ้าอุณหภูมิคงที่ การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดเบส pH 7.5 จะมีสีเขียวสูงกว่า pH 5.5

ตาราง 4.3 การหายไปของสีเขียว โดยการวัดค่าสีด้วยระบบ CIELAB

times (min)	การวัดสีด้วยระบบ CIELAB								
	pH 5.5			pH 6.5			pH 7.5		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
	70°C								
5	63.68±0.06	-8.04±0.01	38.83±0.01	62.48±0.01	-11.81±0.00	43.57±0.01	62.12±0.01	-12.21±0.01	43.56±0.01
10	65.57±0.01	-4.72±0.05	25.85±0.00	64.41±0.00	-10.11±0.01	40.27±0.05	63.89±0.05	-11.02±0.02	42.35±0.04
15	66.21±0.02	-4.41±0.04	23.45±0.01	65.61±0.03	-9.85±0.01	38.78±0.03	64.01±0.01	-10.18±0.01	37.90±0.01
20	66.45±0.03	-3.78±0.01	22.34±0.01	65.81±0.05	-8.75±0.05	34.78±0.01	64.39±0.02	-9.71±0.01	32.16±0.01
25	67.91±0.01	-2.93±0.03	18.69±0.02	66.15±0.03	-8.65±0.03	31.29±0.05	65.47±0.03	-9.44±0.01	31.32±0.02
	80 °C								
5	65.14±0.01	9.57±0.01	23.49±0.01	63.34±0.01	6.68±0.02	42.6±0.01	62.56±0.05	1.49±0.01	33.14±0.01
10	65.78±0.02	9.67±0.04	26.15±0.05	63.36±0.01	7.84±0.01	38.29±0.02	62.65±0.01	2.09±0.02	38.63±0.02
15	66.61±0.03	10.12±0.01	21.99±0.04	63.45±0.04	8.65±0.02	39.57±0.05	63.04±0.02	3.13±0.05	40.71±0.02
20	66.91±0.04	10.32±0.02	20.99±0.00	64.36±0.05	9.06±0.04	35.39±0.01	63.80±0.01	5.73±0.02	38.71±0.02
25	67.17±0.05	10.46±0.01	18.76±0.01	64.45±0.06	10.1±0.05	32.49±0.02	66.30±0.05	6.3±0.01	32.31±0.02
	90 °C								
5	66.13±0.06	8.16±0.03	30.19±0.01	65.94±0.01	6.68±0.03	43.6±0.01	66.03±0.01	1.55±0.02	40.47±0.01
10	64.38±0.01	9.07±0.04	32.17±0.02	62.01±0.02	6.79±0.01	43.22±0.01	65.22±0.00	2.17±0.03	32.17±0.02
15	67.36±0.00	9.12±0.05	19.42±0.00	63.36±0.03	7.73±0.02	35.91±0.02	64.38±0.04	3.51±0.01	35.54±0.01
20	66.70±0.04	9.73±0.01	18.89±0.01	64.37±0.05	9.44±0.04	35.72±0.02	64.68±0.01	5.71±0.05	32.42±0.02
25	68.88±0.01	11.53±0.05	15.82±0.02	62.79±0.04	11.56±0.05	35.54±0.05	66.19±0.01	6.62±0.01	28.02±0.05

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

การเปลี่ยนสีของผักสีเขียว ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ซึ่งมีรายงานว่าความร้อนจากกระบวนการปรุงอาหาร ที่มีผลต่อการลดลงของสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[1]ในปัจจุบันการประเมินค่าและการวัดคุณค่าด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชั่น หรือ ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร ซึ่งเกิดจากกระบวนการปรุงอาหารด้วยความร้อน[2]พบว่าสารแอนติออกซิแดน จะลดลงตามค่าการเปลี่ยนปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในอาหาร[3] ดังนั้นการเก็บรักษาเพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงรสชาติอาหารและป้องกันการเกิดกลิ่นเหม็นหืนให้ช้าลง รวมถึงกระบวนการทำให้เกิดการเปลี่ยนสีให้ช้าลง[4] จะช่วยป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชั่น อย่างไรก็ตามยังพบสารที่มีคุณสมบัติการเป็นสารออกซิเดชั่น มีหลายชนิด ได้แก่ BHA (2,3-tert- butyl-4-methoxyphenol), TBHQ (tertiary butyl hydroquinone), BHT (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene) and propyl gallate-PG (3,4,5-trihydroxybenzoate propyl) รวมทั้งวิตามินซี ซึ่งสารเหล่านี้สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในอาหารได้อัตโนมัติ[5] นอกจากนี้ยังพบว่า กรดไฟตริก สามารถเกิดคีเลตกับ Fe^{3+} และยับยั้ง OH แรดิคอลได้ ซึ่งมีสมบัติเป็นสารแอนตี้ออกซิแดนซ์[6] และมีรายงานว่าเทคนิคการวิเคราะห์ด้วยความร้อนสามารถประเมินผลของสารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร[7] ดังนั้นผู้วิจัย จึงสนใจนำเสนอวอเตอร์เครส ซึ่งเป็นผักที่มีคุณค่าทางอาหารสูง ปลูกได้ง่าย และปลูกได้ทั้งปี โดยนำผักสดที่ปลูกได้ อายุ

ประมาณ 2 เดือน มาสกัดด้วยสารละลายบัฟเฟอร์และนำมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของอุณหภูมิและระยะเวลาการต้มต่อความสามารถต้านออกซิเดชั่น โดยใช้วิธี DPPH assay และใช้ BHT เป็นสารมาตรฐาน และวิเคราะห์ด้วยเครื่องสเปกโตรสโคปี ดังผลตามตาราง 4.4 และ 4.5

ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH

ตาราง 4.4 ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (%)

times (min)	ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (%)								
	90 °C			80°C			70°C		
	pH 5.5	pH 6.5	pH 7.5	pH 5.5	pH 6.5	pH 7.5	pH 5.5	pH 6.5	pH 7.5
5	52.46±0.01	51.39±0.01	52.36±0.01	32.86±0.01	32.22±0.01	48.91±0.01	22.31±0.01	31.22±0.01	33.61±0.01
10	27.31±0.01	24.11±0.01	27.16±0.01	17.71±0.01	16.91±0.01	26.26±0.01	16.93±0.01	16.15±0.01	18.75±0.01
15	41.39±0.01	37.12±0.01	41.27±0.01	22.16±0.01	21.42±0.01	41.42±0.01	23.95±0.01	20.94±0.01	44.72±0.01
20	94.51±0.01	91.95±0.01	94.50±0.01	33.79±0.01	32.08±0.01	94.35±0.01	30.21±0.01	30.72±0.01	94.76±0.01
25	96.05±0.01	94.34±0.01	96.04±0.01	45.07±0.01	44.54±0.01	96.31±0.01	39.45±0.01	39.23±0.01	97.62±0.01

จากผลการทดลองตามตาราง 4.4 พบว่า เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบวอเตอร์เครส สายพันธุ์ญี่ปุ่น ที่นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90, 80 และ 70 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที และ pH 7.5 เท่ากับ 96.04, 96.31 และ 97.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิในช่วง 90-70 องศาเซลเซียส ไม่มีต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการยับยั้งของสารสกัดหยาบที่เตรียมได้ และความเป็นกรดเบส เกิดการเปลี่ยนแปลง สูงสุดในช่วง pH 5.5-6.5 มีเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบวอเตอร์เครส สายพันธุ์ญี่ปุ่น ค่อนข้างต่ำ ที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที เท่ากับ 39.45 และ 39.23 เปอร์เซ็นต์ และ ที่ 80 องศาเซลเซียส เท่ากับ 45.07 และ 44.54 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

อุณหภูมิและความเป็นกรดเบสที่มีเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบวอเตอร์เครส สายพันธุ์ญี่ปุ่น พบว่าที่ 70 °C pH 7.5 นาน 25 นาที มีค่าสูงสุด (97.62 เปอร์เซ็นต์) ดังนั้น หากจะกินพืชชนิดนี้ โดยวิธีผ่านความร้อนพบว่าจะต้องควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 70 °C pH 7.5 ซึ่งจะยังคงคุณค่าของสารสำคัญในกลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด

ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

Folin Ciocalteau's phenol (FCP) assay ซึ่งวิธี FCP assay เป็นวิธีการตรวจวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในกลไกการทำหน้าที่รับส่งอิเล็กตรอน (electron transfer based assay) หรือคุณสมบัติในการรีดิวซ์ (reducing capacity) ของสารต้านอนุมูลอิสระ แอนโธไซยานินส์และสารในกลุ่มโพลิฟีนอลิก ที่สามารถรีดิวส์สารละลาย Folin Ciocalteau's phenol reagent ที่มีสีเหลืองให้เปลี่ยนไปเป็นสารละลายที่มีสีฟ้าอมน้ำเงิน ความเข้มของสีแปรผันตามปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในตัวอย่าง แสดงอยู่ในรูป µmol TE/กรัม milligrams of BHT equivalents per 100 gram ดังตาราง 4.5

ตาราง 4.5 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

times (min)	ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครโมล/มิลลิกรัมของ BHT กรัมสมมูล)								
	90°C			80°C			70°C		
	pH 5.5	pH 6.5	pH 7.5	pH 5.5	pH 6.5	pH 7.5	pH 5.5	pH 6.5	pH 7.5
5	1.22±0.01	0.73±0.01	0.74±0.05	1.31±0.05	0.80±0.01	0.76±0.01	1.22±0.04	0.89±0.01	0.86±0.02
10	1.26±0.02	0.77±0.02	0.76±0.01	1.21±0.01	0.80±0.02	0.73±0.02	1.38±0.05	0.78±0.05	0.73±0.01
15	1.28±0.03	0.80±0.03	0.79±0.02	1.11±0.02	0.78±0.03	0.74±0.03	1.31±0.01	0.74±0.02	0.72±0.05
20	1.27±0.05	1.02±0.01	0.81±0.03	1.33±0.03	0.76±0.04	0.72±0.01	1.29±0.06	0.70±0.01	0.69±0.06
25	1.26±0.01	0.75±0.02	0.79±0.04	1.20±0.05	0.75±0.05	0.56±0.03	1.07±0.01	0.65±0.05	0.61±0.01

จากการทดสอบกับสารสกัดหยาบวอเตอร์เครส สายพันธุ์ญี่ปุ่น ตามตาราง 4.5 พบว่า การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90, 80 และ 70 องศาเซลเซียส ที่ pH 5.5 ตามลำดับ เท่ากับ 1.26, 1.22 และ 1.07 มิลลิกรัม/กรัมสมมูลของ BHT) จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัม/กรัมสมมูลของ BHT) ในสารสกัดหยาบที่เตรียมได้สูงกว่า อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และความเป็นกรดเบส (pH 5.5-7.5) ต่ำ หรือในสภาวะที่เป็นกรดสูง จะมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครโมล/มิลลิกรัมของ BHT) ในสารสกัดหยาบที่เตรียมได้สูงกว่า ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามความสามารถใช้ตรวจหาปริมาณรวมสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสารตัวอย่าง ต้องใช้หลาย ๆ วิธี อย่างน้อย 3 วิธี เช่นวิธี ORAC assay FCP assay และ Vanillin assay แล้วนำมาเปรียบเทียบทางสถิติหาค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์พบว่ามีความสอดคล้องกันดีเยี่ยม ($r>0.90$) ซึ่ง และเป็นวิธีมาตรฐานสากลที่เป็นที่ยอมรับทั่วไป

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษา ผลของอุณหภูมิและความเป็นกรดเบส ที่มีต่อการย่อยสลายคลอโรฟิลล์และการหายไปของสีและระดับกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในวอเตอร์เครส สายพันธุ์ญี่ปุ่น พบว่า เวลาในการให้ความร้อน 25 นาที ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดเบสที่ pH 7.5 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (39.22 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ บี สูงสุด (19.52 มิลลิกรัมต่อลิตร) และต่ำสุดที่ 90 องศาเซลเซียส pH 5.5 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่ำสุด (19.35 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ บี ต่ำสุด (8.45 มิลลิกรัมต่อลิตร) การวัดสี ด้วยระบบ CIE มีค่า L* ต่ำสุด L* 62.56 (สว่างน้อย) a* (-12.21) สีเขียว และ b* 18.69 (สีค่อนข้างเหลือง) เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบวอเตอร์เครส สายพันธุ์ญี่ปุ่น พบว่าที่ 90 องศาเซลเซียส pH 7.5 นาน 25 นาที มีค่าสูงสุด (97.62 เปอร์เซ็นต์) และ ที่ 70 องศาเซลเซียส pH 5.5 นาน 25 นาที มีค่าต่ำสุด (39.45 เปอร์เซ็นต์) และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ของสารสกัดหยาบวอเตอร์เครส สายพันธุ์ญี่ปุ่น พบว่าอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส pH 5.5 นาน 25 นาที มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด (1.26 มิลลิกรัม/กรัมสมมูลของ BHT) อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส pH 7.5 นาน 25 นาที มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ต่ำสุดสุด (0.61 มิลลิกรัม/กรัมสมมูลของ BHT) ตามลำดับ

การลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ สัมพันธ์โดยตรงกับ การลดลงของสีเขียวซึ่งแสดงถึงการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ จะเริ่มสลายตัวเป็นฟีโอไฟติน จะมองเห็นสีเหลือง จะพบว่าการสลายตัวของคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น นั่นคือสีเขียวจะลดลง และสีเหลืองเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิเพิ่ม แต่ถ้าอุณหภูมิคงที่ และความเป็นกรดเบสเล็กน้อย (pH 7.5) จะมีสีเขียวสูงกว่าความเป็นกรดเล็กน้อย (pH 5.5) แต่หากพิจารณาถึงปริมาณสารสำคัญ จะต้องใช้อุณหภูมิสูง (90 °C) เนื่องจากมีสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูล ถูกย่อยออกมา เมื่อมีอุณหภูมิสูงขึ้น และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด บอกถึงปริมาณสารอะโรมาติกกลุ่มฟีนอลิก สารกลุ่มนี้ละลายได้ที่อุณหภูมิสูง (90 °C) ในสภาพสารละลาย ที่มีความเป็นกรดเบสต่ำ (pH 5.5)

จากการทดสอบสรุปได้ว่า สามารถพิจารณาเลือกอุณหภูมิในการให้ความร้อนในการปรุงอาหารที่มีส่วนประกอบของผักวอเตอร์เครส สายพันธุ์ ญี่ปุ่น ว่าทำอย่างไรจะสามารถรักษาปริมาณคลอโรฟิลล์ให้เหลือมากที่สุด เมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อนเป็นเวลานานถึง 25 นาที โดยจะต้องปรับความเป็นกรดเบสของสารละลายอยู่ ที่ 7.5 ให้ความร้อนแก่สารละลาย ช่วง 70 องศาเซลเซียส ไม่เกิน 90 องศาเซลเซียส แต่หากถ้าใช้อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ในการปรุงอาหารสูง จะให้สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง แต่มีสารกลุ่มฟีนอลิกต่ำ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาคุณสมบัติฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยรีเอเจนต์ชนิดอื่น ๆ เช่น FRAP รีเอเจนต์ OH เรดิคอล เพิ่มเติม
2. ควรศึกษาคุณสมบัติทางโภชนาการด้านอื่น ๆ เช่น ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโน
3. ควรศึกษาคุณสมบัติของสารสำคัญชนิดอื่น ๆ เช่น ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

บรรณานุกรม

ดวงชนก ทองคำและผกาวดี เอี่ยมกำแพง. (2557). **การพัฒนาผลิตภัณฑ์ครองแครงกรอบจากแป้งข้าวไรซ์เบอรี่.** รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและระดับนานาชาติ ครั้งที่ 2/2557 (Proceeding : The 2nd CASNIC 2014). เมื่อวันที่ 10 ตุลาคม 2557. ณ วิทยาลัยบัณฑิตเอเชีย. หน้า 2838-2845.

ลือชัย บุตคุป. (2012). **สารประกอบฟีโนลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพ.** Journal Science Technology MSU, 31 : 443-455.

วริพัสย์ อารีกุล ธัญรัตน์ แซ่กู้ ปิยะนุช เชื้อวงศ์งาม และธนากร เหล่าโรจน์ภิญโญ. (2558). **ปริมาณฟีนอลิกคลอโรฟิลล์ และความสามารถในการต้านออกซิเดชันของต้นอ่อนข้าวดำ.** การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53 ระหว่างวันที่ 3-6 กุมภาพันธ์ 2558. ณ อาคารวชิรานุสรณ์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (บางเขน). หน้า 1145-1151.

วิรัตน์ ภูวิวัฒน์. (2539). **การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดคลอโรฟิลล์จากใบพืช.** วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 14(3) หน้า3-7.

ภาคภูมิ พระประเสริฐ. (2550). **สรีรวิทยาของพืช.** พิมพ์ลักษณ์, กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์, 174 หน้า.

ธีรนาถ สุวรรณเรือง. (2560).ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในผักสด. การเกษตรราชภัฏ,16(2) : 40-45.

นิรนาม, (2561). **วอเตอร์เครส**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มาจาก https://medthai.com (25 มกราคม 2561)

นิรนาม, (2561). **คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) คือ อะไร.** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มาจาก http://www.thaibiotech.info/what-is-chlorophyll.php (25 มกราคม 2561)

น้ำฝน เบ้าทองและถนอมนวล พรหมบุญ. (2558). **สารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของเห็ดป่า จากป่าชุมชนบ้านน้ำจาง จังหวัดเพชรบูรณ์.** Rajabhat Journal of Science, humanties humanties & social science, 15(2) : 96-103.

พรรณี เด่นรุ่งเรือง. (2550). **ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเปลือกต้นวงศ์อบเชย.** สำนักวิจัย การจัดการป่าไม้และผลิตผลป่าไม้. กรุงเทพฯ.

สัณห์ ละอองศรี. (2551). **การศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบชาสด.** วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร, 39(3) (พิเศษ) : 178-181.

อรนุช นาคชาติ , วรรณา เอกทอง และอรนุช คงลัก. (2557). **สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผงผักแขยง.** วารสารวิทยาศาสตร์คชสาส์น 36(2) : 55-64.

อภิรดี อุทัยรัตนกิจ, ปิระมิด จิตรมาตร, สุกัญญา เอี่ยมลออ และผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์. (2555). **ผลของน้ำร้อนและเอทีฟอนต่อคุณภาพของมะระจีนตัดแต่ง.** วารสารวิทยาศาสตร์, 43 : 408-411.

Arnon DI. (1949). **copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoxidase in beta vulgaris.** *plant physiology*, 24:1-15.

Bitar, A. (2008). **Sensory Thresholds of Selected Phenolic Constituents from Thyme and**

ให้ข้อคิดเห็น **[T1]:**

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

their Antioxidant Potential in Sunflower Oil . *Journal of the American Oil Chemists Society,* 85:641-646.

Canjura F.L., Schwartz S.J. and Nunes R.V. (1991). **Degradation kinetics of chlorophylls and Chlorophyllides.** *Journal of Food Science,* 56:1639-1643.

Gross, J. (1991). **Pigments in Vegetables : Chlorophylls and Carotenoid.** Van Nostrand Reinhold. Newyork.

Ehleringer J. R., T. E. Cerling and B. R Helliker. (1997). **C4 photosynthesis, atmospheric CO_2 , and climate.** *Oecologie* 112:285-299.

Filgueiras, C. T. (2009). **Avaliação da atividadeantioxidant do acidicfitico de germedemilho.** *Química Nova,* 32:1787-1791.

Hayakawa, K. I., and Timbers, G. E. (1977). **Influence of heat treatment on the quality of vegetables: changes in visual green colour .***Journal of Food Science,* 42:778–781.

Hatch M. D. (1971). **The C4-Pathway of Photosynthesis.** *Biochemistry Journal.* 125: 425-423.

Hawkins, T. S., E. S, Gardiner, and G. S. Comer (2009). Modeling the relationship between extractable chlorophyll and SPAD-502 readings for endangered plant species research. Journal for Nature Conservation. 17(2): 123-27.

Habila, J. D., Bello, I. A., Dzikwi, A .A., Musa, H. and Abubakar, N. 2010. Total phenolics and antioxidant activity of Tridax procumbens Linn. Afr. J Pharm. Pharacol. 4: 123-126

Jaswir, I., Che Man, Y.B., and Kitts, D.D. (2000). **Use of natural antioxidants in refined palm olein during repeated deep-fat frying.** *Food Research International,* 33:501-508.

Kaewsuksaeng, S., (2011). **Chlorophyll degradation in horticultural crops.** Walailak Journal Science and Technology, 8:9-19 (Review).

Kim, J. I. (2009). **Kinetic Study of the Quenching Reaction of Singlet Oxygen by Common Synthetic Antioxidants (tert-Butylhydroxyanisol, tert-di-Butylhydroxytoluene, and tert-Butylhydroquinone) as Compared with γ-Tocopherol .** *Journal of Food Science,* 74:363-369.

Krause, G.H. and E. Weis. (1991). **Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics.** *Annals Review Plant Physiology Plant Molecular Biology,* 42:313-349.

Lambelet, P. (2003). **Formation of Modified Fatty Acids and Oxyphytosterols during Refining of Low Erucid Acid Rapeseed Oil.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 52:4284-4290.

Nuray, K.,F. Karadeniz, and H.S. Burdurlu. (2007). **Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss inblanched green peans.** *Food Chemistry,* 100:609-615.

Richardson, A.D., Duigan, S.P. and Berlyn, G.P. (2002). An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. New Phytologist 153: 185-194.

Schwartz S.J. and Elbe, V.J.H. (1983). **Kinetics of chlorophyll degradation to**

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM RAJABHAT UNIVERSITY

pyrophephytin in vegetables. *Journal of food science,* 48: 1303-1306.

Shahidi, F. (2008). **Antioxidants: Extraction, Identification, Application and Efficacy Measurement. Electronic** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 7:13-14.

Vecchio, S. (2008). **Kinetic Study of Thermal Breakdown of Triglycerides Contained in Extra-Virgin Olive Oil.** *Journal of thermal analysis and calorimetry,* 91:3325-3330.

Von Elbe, J.H., Huang, A.S., Attoe, E.L. and Nank, K.W., (1986). **Pigment composition and color of conventional and very-green canned beans.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 34:54-58.

Zigoneanu, I.G., L.Williams, Z. Xu. and C.M. Sablior. (2007). **Determination of antioxidant components in rice bran oil extraction by microwave-assisted method.** *Bioresource Technology,* 99:4910-4918.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ประวัติผู้วิจัย

1.1 ชื่อ – นามสกุล (ภาษาไทย) : เมตตา เถาว์ชาลี

(ภาษาอังกฤษ) : Metta Thaochalee

1.2 หมายเลขบัตรประชาชน : 3xxxx xxxxx 194

1.3 ตำแหน่งปัจจุบัน : ผู้ช่วยศาสตราจารย์

1.4 สังกัด/หน่วยงาน : สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ที่อยู่หน่วยงาน เลขที่ 80 ถนน นครสวรรค์ ตำบลตลาด อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม 44000

หมายเลขโทรศัพท์ : 043-742-620, 099-0316-943

โทรสาร : 043-742-620 *e-mail :* metta.th@hotmail.com

1.5 ประสบการณ์ทำงาน

1. งานด้านบริหาร

- อาจารย์ประจำหลักสูตร สาขาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ปี 2560-ปัจจุบัน

2. ด้านส่งเสริมวิชาการ

- เป็นกรรมการตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหาร-สมุนไพร จังหวัดมหาสารคาม ปี 2559-ปัจจุบัน
- เป็นวิทยากรในการอบรมนักเรียนในโครงการวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ ระดับมัธยมต้น-ปลาย ปี 2555-ปัจจุบัน
- เป็นวิทยากรสีย้อมธรรมชาติให้กับผู้สนใจ ที่บ้านกำพี้ ตำบลกำพี้ อำเภอ บรบือ จังหวัดมหาสารคาม
- เป็นวิทยากร การทำปุ๋ยหมักน้ำสมุนไพรและโปรตีนจากไข่ และการหมักน้ำหมักจากเศษอาหาร ให้กับนักศึกษา มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ พื้นที่อำเภอนามน จังหวัดกาฬสินธุ์

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1.6 ผลงานทางวิชาการ

1. หนังสือ ตำรา

5.1.1 เอกสารประกอบการสอนปฏิบัติการเคมีอินทรีย์ 2

5.1.2 เอกสารคำสอนเคมีอินทรีย์ 2

5.1.3 สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (natural product)

2. งานวิจัย

- เมตตา เถาว์ชาลี. สีย้อมผ้าไหมด้วยวัตถุดิบธรรมชาติเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มผลิตภัณฑ์ชุมชน ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย สถาบันวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ปี 2554
- เมตตา เถาว์ชาลี. คุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และสารต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องงอก ขาวดอกมะลิ 105 เพื่อการผลิตเครื่องดื่มธัญพืชเสริมจมูกข้าว ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย สถาบันวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ปี 2558
- เมตตา เถาว์ชาลี. การผลิตพรีไบโอติคโอลิโกแซคคาไรด์จากข้าวเหนียวงอกพันธุ์พื้นเมืองไทย เพื่อการผลิตไซรัปข้าวกล้องงอกได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย สถาบันวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ปี 2559

3. บทความวิจัย/บทความทางวิชาการ

oral presentation

- เมตตา เถาว์ชาลี และปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์. ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชั่นของข้าวกล้องและข้าวกล้ององอกพันธุ์พื้นเมือง การประชุมวิชาการ “วิทยาศาสตร์วิจัย ครั้งที่ 4 ” 12-13 มีนาคม 2555, 111.

poster presentation

- เมตตา เถาว์ชาลี. การเปรียบเทียบวิธีการสกัดโอลิโกแซคคาไรด์จากข้าวเหนียวงอกพันธุ์พื้นเมืองไทย. The 7th Academic Meeting National and International Conference. March 25-26, 2016, 568.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ก

ภาพประกอบงานวิจัย

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1. การเจริญเติบโตของวอเตอร์เครส สายพันธุ์ญี่ปุ่น

ภาพที่ 1 ต้นเต็มวัยวอเตอร์เครส ปลูก 2 เดือน (ตัวอย่าง 1)

ภาพที่ 2 ต้นเต็มวัยวอเตอร์เครส ปลูก 2 เดือน (ตัวอย่าง 2)

2. เครื่องมือในการวิจัย

ภาพที่ 3 เครื่อง UV-Vis spectroscopy Perkin Elmer รุ่น Lambda 365

ภาพที่ 4 เครื่อง Hunter Lab รุ่น Color Flex EZ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ข
การคำนวณ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

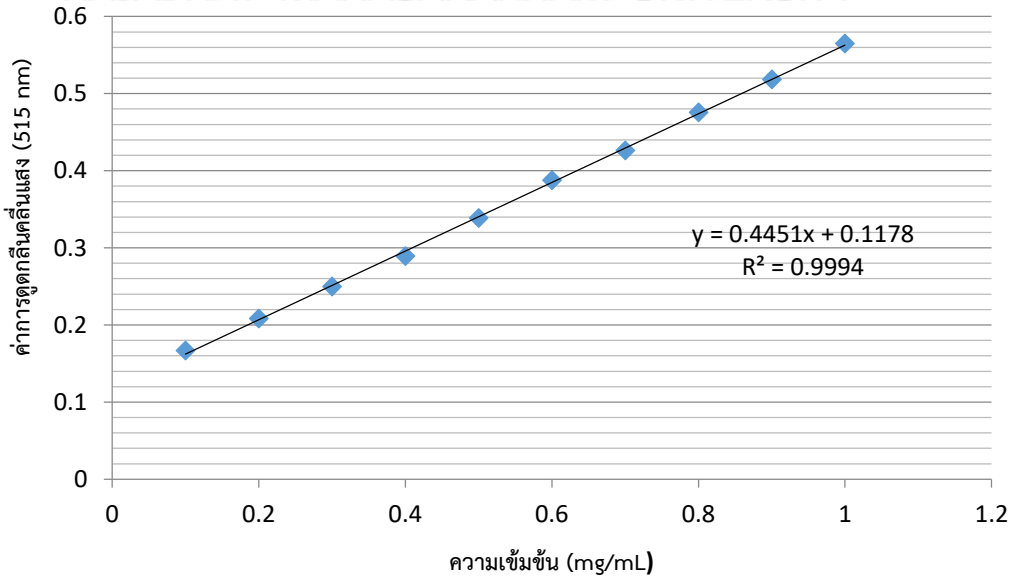
การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity ดัดแปลงตามวิธีของ Zigonenu, et al. (2007)

การสร้างกราฟสารมาตรฐาน BHT

ตารางที่ 1 ระดับความเข้มข้มของสารละลายมาตรฐาน BHT

หลอดที่	สารละลายมาตรฐาน BHT (µg)	เอทานอล (µl)	ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน BHT (mg/ml)
0	0	1000	0
1	100	900	0.1
2	200	800	0.2
3	300	700	0.3
4	400	600	0.4
5	500	500	0.5
6	600	400	0.6
7	700	300	0.7
8	800	200	0.8
9	900	100	0.9
10	1000	0	1.0

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY



จากสมการเส้นตรง $y = 0.4451x + 0.1178$ ($R^2 = 0.9994$)

แทนค่า y ด้วยค่าการดูดกลืนแสง ที่ได้จากการวัดด้วยเครื่องสเปคโทรสโกปี จะได้ค่า x ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นสารตัวอย่าง

ตัวอย่างการคำนวณ

จากการทดสอบเมื่อนำสารสกัดวอเตอร์เครส ที่ค่า pH อุณหภูมิ และเวลาต่างกันนำมาสกัดด้วยเอทานอล มาวัดค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.2421

แทนค่าในสมการจะได้ $0.2421 = 0.4451x + 0.1178$

$X = 0.24$ mg/mL

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ ..... ก
บทคัดย่อภาษาไทย..... ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญภาพ..... ฌ

บทที่ 1 บทนำ 1
ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย 1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3
ขอบเขตของการวิจัย 3
สมมุติฐานของการวิจัย 3

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
วอเตอร์เครส (watercress) 4
คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) 6
การหายไปของสีเขียว 7
อนุมูลอิสระ 8
ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ 9
ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) 10
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 10
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 12
ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง และวัสดุ อุปกรณ์เครื่องมือในการวิจัย 12
ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง 12
วิธีดำเนินการทดลอง 12
1. การเตรียมตัวอย่าง 12
2. การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ 13
3. การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ 13
4. การวิเคราะห์การหายไปของสีเขียว ด้วยระบบ CIE 13
5. การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ 13
6. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 14
สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลในงานวิจัย 14
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง 15
ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบวอเตอร์เครส 15
การหายไปของสีเขียว โดยการวัดค่าสีด้วยระบบ CIE 16

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH 18
ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu 19

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 20
สรุปผลการทดลอง 20
ข้อเสนอแนะ 20

บรรณานุกรม 21
ภาคผนวก 23
ภาคผนวก ก ภาพประกอบงานวิจัย 24
ภาคผนวก ข การคำนวณ 26
ประวัติผู้วิจัย 30

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง

2.1 สมบัติที่สำคัญของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน 9

4.1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในสารสกัดหยาบเอทานอล ของวอเตอร์ 15

4.2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในสารสกัดหยาบเอทานอล ของวอเตอร์ 16

4.3 การหายไปของสีเขียว โดยการวัดค่าสีด้วยระบบ CIE 17

4.4 ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (%) 18

4.5 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu 19

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

1 โครงสร้างของคลอโรฟิลล์ แสดงส่วนของวงเพอร์ไฟรินและสายไฮโดรคาร์บอน 6
2 การบรรยายสีในระบบ CIE Lab 8

.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY