Agricultural Sci. J. 37 : 5 (Suppl.) : 15-18 (2006) ว. วิทย. กษ. 37 : 5 (พิเศษ) : 15-18 (2549)

การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลและกิจกรรมของเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดส ของผลมะเขือ 16 สายพันธุ์หลังการเก็บเกี่ยว

Antioxidant of Phenolic Compound and Polyphenol Oxidase Activities of 16 Eggplant Fruit Cultivars After Harvesting.

อุษาวดี ชนสุต[1] และ นิธิยา รัตนาปนนท์[2]

Usawadee Chanasut[1] and Nithiya Rattanapanone[2]

Abstract

Sixteen cultivars of eggplants from local markets in Amphur Meung Chiang Mai Province were randomly collected. Their total phenolic contents, antioxidant activities and polyphenol oxidase activities from crude extracts were studied. Eggplant samples were divided into three groups, green, purple and white peel eggplants. *Solanum torvum* has the highest total phenolic content (TPC=10.49±0.47 mgGAE) and total antioxidant activity (TAA=3.05±0.23 mgGAE) by the DPPH (diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay. The TPC and TAA were highly related among the green cultivar (r^2 = 0.97). However, the highest activity of polyphenol oxidase was found in the purple eggplant (150 ΔOD/mg Protein/min). The results also indicated that the enzyme activities of the purple eggplants were highly related to their phenolic compounds (r^2 = 0.93).

บทคัดย่อ

เมื่อนำผลมะเขือพันจำนวน 16 สายพันธุ์ ที่มีวางจำหน่ายในตลาดสด เขตอำเภอเมือง จ.เชียงใหม่ มาสกัดหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด ศึกษากิจกรรมต้านการเกิดออกซิเดชั่นของสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้ และศึกษากิจกรรมของเอนไซม์พอลีนอลออกซิเดสจากผลมะเขือ โดยแบ่งมะเขือออกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีผลสีเขียว ผลสีขาวและผลสีม่วง พบว่ามะเขือพวงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุด (10.49±0.47 mg gallic equivalent (mgGAE)) และมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้ดีที่สุด (3.05±0.23 mgGAE) เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) ปริมาณสารประกอบฟีนอลและกิจกรรมต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของมะเขือในกลุ่มสีเขียวมีความสัมพันธ์กันสูงที่สุด (r^2 = 0.97) แต่กิจกรรมของเอนไซม์พอลีฟีนอลออซิเดส มีปริมาณสูงสุดในกลุ่มมะเขือสีม่วง (150 ΔOD/mg Protein/min) และกิจกรรมของเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดสที่ได้มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุดในมะเขือกลุ่มสีม่วง (r^2 = 0.91)เช่นกัน

คำนำ

มะเขือเป็นทั้งพืชสมุนไพรและผักที่นิยมนำมาประกอบอาหารของคนไทย เมื่อนำมะเขือมาหั่นและปล่อยทิ้งไว้จะสังเกตเห็นการเกิดสีน้ำตาลอย่างรวดเร็ว สีน้ำตาลที่เกิดขึ้นเป็นผลจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารประกอบฟีนอล ได้สารประกอบ o-quinone และเกิดปฏิกิริยาพอลีเมอไรซ์จนได้เป็นสารประกอบสีน้ำตาลในที่สุด (Martinez and Whitaker, 1995) ระยะเวลาในการเกิดสีน้ำตาลของผลมะเขือแต่ละพันธุ์นั้นแตกต่างกันไป ซึ่งอาจขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น ชนิดและปริมาณสารประกอบฟีนอลที่เป็นสารตั้งต้น หรือกิจกรรมของเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดส (Polyphenol oxidase – PPO) สารประกอบฟีนอลเป็นสารที่พบมากที่สุดในพืช (Robard *et al*., 1995) นอกจากจะเป็นสารตั้งต้นในการเกิดสารสีน้ำตาลแล้วยังมีคุณสมบัติต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (antioxidant) ซึ่งมีบทบาทอย่างมากในการต่อต้านการเกิดสารอนุมูลอิสระที่อาจเป็นสาเหตุของโรคหัวใจและมะเร็ง เมื่อสารประกอบฟีนอลในมะเขือถูกออกซิไดส์ไปเป็นสารประกอบสีน้ำตาล ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจะลดลง ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเน้นหาปริมาณสารประกอบฟีนอลในผลมะเขือพันธุ์

[1] สถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

[1] Postharvest Technology Institute, Chiangmai University, Mung, Chiangmai 50200

[2] ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50100

[2] Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Chiang Mai University, Chiang Mai 50100

ต่างๆ ที่นิยมบริโภค และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้ และศึกษากิจกรรมของ PPO ในผลมะเขือเพื่อนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลและการเกิดสีน้ำตาลของผลมะเขือทั้ง 16 สายพันธ์หลังการเก็บเกี่ยว

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1 เก็บตัวอย่างผลมะเขือ 16 สายพันธุ์ที่มีการบริโภคและจำหน่ายในเขตอำเภอเมือง จ.เชียงใหม่ แบ่งผลมะเขือออกเป็น 3 กลุ่มคือกลุ่มที่มีผลสีเขียว ผลสีม่วง และผลสีขาว นำผลมะเขือแช่เยือกแข็งในไนโตรเจนเหลวและปั่นให้ละเอียด เติมเมทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70% เพื่อสกัดสารประกอบฟีนอล นำสารละลายที่สกัดได้ไปทดสอบหาปริมาณสารประกอบ

ฟีนอลทงหมด (Total phenolic compound content –TPC) โดยใช้สารละลาย Folin-Ciocaltau ปรับปริมาตรเพื่อให้เหมาะสมกับ microplate ขนาด 96 หลุม และใช้สารละลาย gallic acid เป็นสารละลายมาตรฐาน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 nm โดยใช้เครื่อง microplate reader (Dynex Technologies, Spectra MR)

การทดลองที่ 2 นำสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้มาหาประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันทั้งหมด (Total antioxidant activity –TAA) โดยการฟอกจางสีของสาร DPPH ซึ่งดัดแปลงวิธีการมาจาก Sanchez-Moreno *et al*. (1998) เพื่อให้เหมาะสมกับการวัดด้วยเครื่อง microplate reader เติมสารละลาย DPPH ลงไปในสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้ เขย่าในที่มืดนาน 3 ชั่วโมงและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm และใช้สารละลาย gallic acid เป็นสารละลายมาตรฐาน

การทดลองที่ 3 นำตัวอย่างผลมะเขือที่บดแล้วจากการทดลองที่ 1 มาสกัดเอนไซม์ PPO ด้วยวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก ConcellÓn *et al*. (2004) ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.5 และนำไปทดสอบหากิจกรรมของเอนไซม์โดยใช้ catechol เป็นสารตั้งต้นในการทำปฏิกิริยา นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 nm วัดการเปลี่ยนสีทุก ๆ 10 วินาทีเพื่อหากิจกรรมของเอนไซม์ PPO (Total PPO activity – TPA)

วิเคราะห์การทดลองละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ครั้ง นำผลการทดลองที่ได้มาหาความสัมพันธ์ระหว่าง TPC กับ TAA และ TPC กับTPA ของผลมะเขือแต่ละกลุ่ม

ผลและวิจารณ์

มะเขือเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีรายงานว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูง (Cao *et al*., 1996) สังเกตได้จากการหั่นมะเขือเป็นชิ้นๆ จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นสีน้ำตาล (oxidative browning) โดยผลมะเขือที่นำมาทดลองทั้ง 16 สายพันธุ์ พบว่ามะเขือพวง (AG5) เป็นมะเขือที่มีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลได้รวดเร็วที่สุดในระยะเวลาที่เท่ากัน จากการสังเกต ผลมะเขือที่บริโภคสด เช่น มะเขือเจ้าพระยา (AG6) มะเขือเปราะ (AG1-3) ในกลุ่มพันธุ์สีเขียว มีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเร็วกว่า มะเขือขาวไข่กา (AW1) ในกลุ่มสีขาวและกลุ่มสีม่วง (AP1-2) ในกลุ่มมะเขือที่ต้องรับประทานสุกหรือกลุ่มมะเขือยาว มะเขือยาวสีม่วงพันธุ์พื้นเมือง (BP1-2) จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเร็วกว่า มะเขือยาวสีเขียว (BG) และมะเขือยาวสีขาว (BW) มะเขือยาวพันธุ์ต่างประเทศ เช่น มะเขือม่วงลูกใหญ่ (BP3) หรือมะเขือม่วงญี่ปุ่นลูกผสม (BP5-6) จะเกิดสีน้ำตาลช้าที่สุด

การทดลองที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด

เมื่อนำมะเขือมาสกัดด้วยเมทานอล 70% และนำไปวัด TPC พบว่า มะเขือกลุ่มสีเขียวมี TPC เฉลี่ยสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการสังเกตการเกิดสีน้ำตาลของมะเขือ โดยมะเขือพวง (AG5) ซึ่งเกิดสีน้ำตาลเร็วที่สุด มีสารประกอบฟีนอลทั้งหมด 10.49±0.47 mgGAE มะเขือชนิดอื่นที่อยู่ในกลุ่มสีเขียวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลเฉลี่ยสูงกว่ามะเขือกลุ่มสีม่วงและสีขาว ตามลำดับ (Figure 1) ปริมาณสารประกอบฟีนอลนั้นจะแปรผันไปตามชนิดและสายพันธุ์ มะเขือพวง *(S. torvum*) เป็นมะเขือที่มีลักษณะต่างไปจากมะเขือสีเขียวพันธุ์อื่นซึ่งเป็นมะเขือในกลุ่ม *S. melogena* และมะเขือญี่ปุ่นลูกผสมสีม่วง (*S. wemdlandii*) Stommel and Whitaker (2004) รายงานว่าในมะเขือ *S. melongana* มีสารประกอบฟีนอลอยู่หลายชนิด โดยสารในกลุ่ม chlorogenic acid isomers มีปริมาณสูงที่สุด รองลงมาคือ hydroxycinnamic acid amides conjugated และมะเขือ *S. melongana* แต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกันของปริมาณสารประกอบฟีนอลแต่ละชนิดอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีรายงานถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลในมะเขือพวง

การทดลองที่ 2 ประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น

สารประกอบฟีนอลเป็นสารกลุ่มใหญ่ที่สุดในพืช สารประกอบทำหน้าที่หลายอย่างในพืช นอกจากจะทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแล้ว ยังทำหน้าที่เป็นสารต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน chlorogenic acid เป็นสารประกอบฟีนอลที่พบมากที่สุดในมะเขือ และสารชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Robard *et al*., 1998) สารประกอบฟีนอลที่สกัดได้จากมะเขือพวง (AG5) มีประสิทธิภาพสูงสุดในออกซิไดซ์ DPPH :ซึ่งเป็น free radical (Figure 1) แสดงว่าสารประกอบฟีนอลจากมะเขือพวงมีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Miller and Rice-Evans, 1993) ในกลุ่มมะเขือสีม่วง ประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน มีค่าโดยเฉลี่ยสูงกว่ามะเขือในกลุ่มสีเขียวและสีขาว

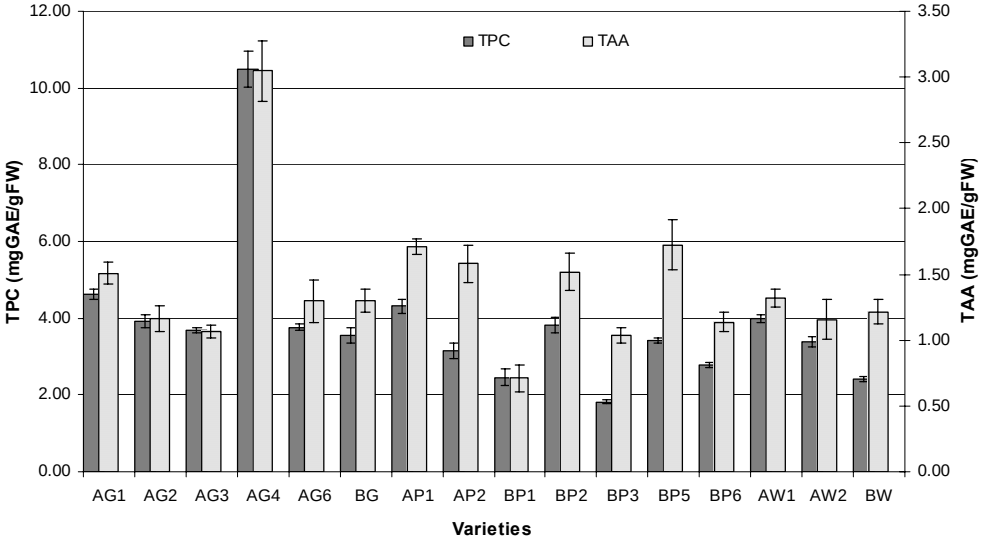

Figure 1. Comparison of TPC and TAA of the phenolic compound extracts from 16 varieties of Thai eggplants.

เมื่อนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลและประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Figure 2a) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สกัดจากมะเขือกลุ่มสีเขียวมีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมากที่สุด ลำดับถัดมาคือมะเขือในกลุ่มสีม่วง ส่วนมะเขือในกลุ่มสีขาวมีความสัมพันธ์กันน้อยมาก

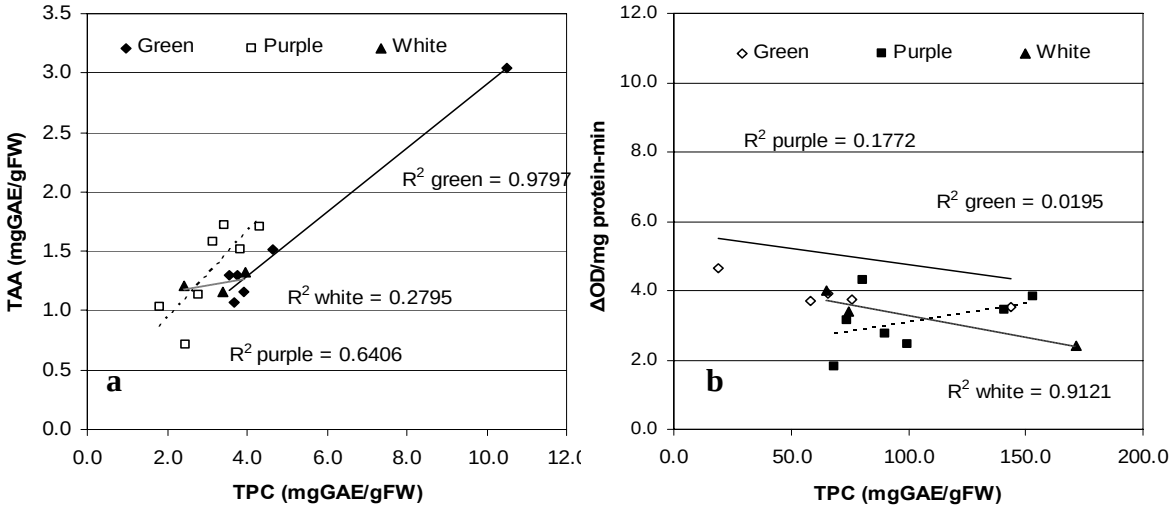

Figure 2 The relationship between TPC vs. TAA (a) and TPC vs. TPA of the crude enzyme (PPO) extract (b) from 16 varieties of Thai eggplants fruits.

การทดลองที่ 3 กิจกรรมของเอนไซม์ PPO

เมื่อทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ PPO (ค่า TPA) โดยใช้ catechol เป็นสับสเทรต พบว่า ในมะเขือที่มีสารประกอบฟีนอลสูง เช่น มะเขือพวง และมะเขือชนิดอื่นในกลุ่มสีเขียว กิจกรรมของ PPO ไม่ได้เป็นไปในทิศทางเดียวกันปริมาณ TPC

(Figure 3) แต่มะเขือที่ต้องรับประทานสุกหรือในกลุ่มมะเขือยาวทั้ง 3 สี มีกิจกรรมของ PPO สูงมาก โดยกิจกรรมของมะเขือยาวสีขาว (BW) นั้นสูงที่สุด รองลงมาคือมะเขือสีม่วงพันธุ์พื้นเมือง (BP1)

เมื่อนำมาหาความสัมพันธ์ของ TPC และ TPA (Figure 2b) นั้นพบว่าในมะเขือกลุ่มสีเขียวและมะเขือกลุ่มสีม่วงมีความสัมพันธ์กันน้อยมาก แต่ในกลุ่มสีขาวนั้นมีความสัมพันธ์กันในเชิงลบคือ ปริมาณ TPC เพิ่มขึ้นแต่ TPA ลดลง ทั้งนี้การที่กิจกรรมของ PPO และ TPC ไม่ได้เป็นไปในทิศทางเดียวกันนั้นอาจเนื่องมาจากหลายสาเหตุ เช่น PPO ของมะเขือแต่ละกลุ่มอาจใช้สับสเทรตหลักในการทำงานไม่เหมือนกัน หรือกรณีของมะเขือพวงนั้นมี TPC สูง ดังนั้นกิจกรรมของ TPA เพียงเล็กน้อยสามารถเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งความสัมพันธ์ของ TPC และ TPA นั้นอยู่ระหว่างการศึกษาเพิ่มเติมการทำงานของเอนไซม์

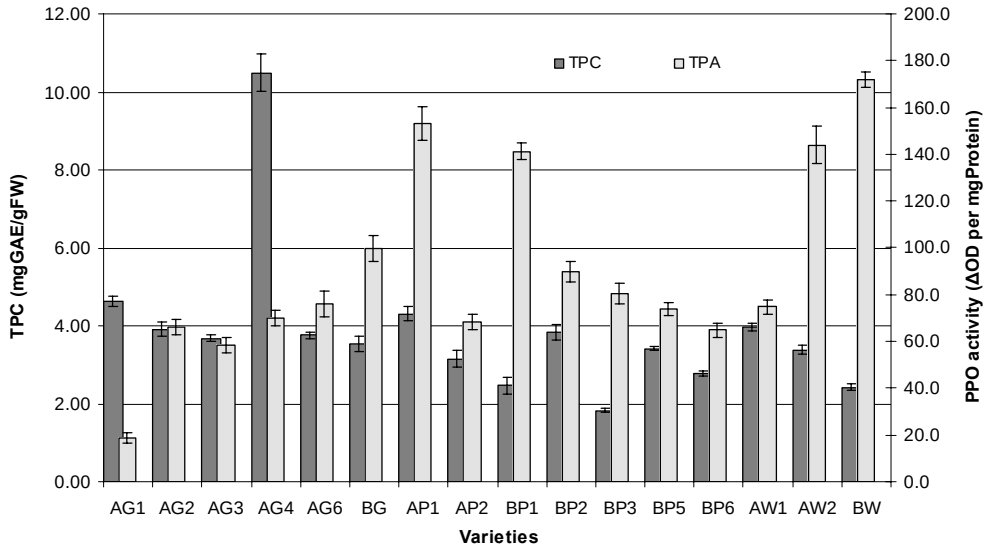

Figure 3. Comparison of TPC and TPA from 16 varieties of Thai eggplants.

สรุป

ผลมะเขือกลุ่มสีเขียวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสัมพันธ์กัน แต่ ไม่มีความสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ส่วนในกลุ่มมะเขือสีม่วงและสีขาวไม่มีความสัมพันธ์กัน

คำขอบคุณ

ขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่สนับสนุนทุนอุดหนุนในการวิจัยครั้งนี้ สถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Cao G., Sofic E. and Prior R.L. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. J. Agric. Food Chem. 44: 3426-3431

Concellon A., Anon M.C., and Chaves A.R. 2004. Characterization and changes in polyphenol oxidase from eggplant fruit (*Solanum melongena* L.) during storage at low temperature. Food Chem. 88: 17-24.

Martinez M.V. and Whitaker R.J. 1995. The biochemistry and control of enzymatic browning. Trends in Food Science & Technology. 6: 195-200.

Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P. and Glover W. 1999. Phenolic compoounds and their role in oxidative processes in fruits. Food Chemistry 66: 401-436.

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

Stommel J.R. and Whitaker B.D. 2003. Phenolic acid content and composition of eggplant fruit in a germplasm core subset. Journal of American Society of Horticultural Science 128: 704-710.