



ปัญหาพิเศษ

การเปรียบเทียบปริมาณสารที่มีประโยชน์ภายในผลมัลเบอร์รี่สดและแห้ง

COMPARATIVE STUDY OF USEFUL SUBSTANCES IN FRESH AND
DRIED MULBERRY FRUIT.

โดย

นางสาว ชนกนันต์ จันดี

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2563



ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์ชีวภาพ

สาขา

เรื่อง การเปรียบเทียบปริมาณสารที่มีประโยชน์ภายในผลมัลเบอร์รี่สดและแห้ง
COMPARATIVE STUDY OF USEFUL SUBSTANCES IN FRESH AND DRIED
MULBERRY FRUIT.

วิทยาศาสตร์

ภาควิชา

นามผู้วิจัยนางสาวชนกนันต์ จันดี.....

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ.....

(อาจารย์พุทธพร ส่องศรี...D.Eng)

ภาควิชาวิทยาศาสตร์คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์แดงอ่อน พรหมณี...ปร.ด.)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. 2563

การเปรียบเทียบปริมาณสารที่มีประโยชน์ภายในผลมัลเบอร์รี่สดและแห้ง

ชนกนันต์ จันดี และ พุทธพร ส่องศรี(D.Eng.)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบปริมาณสารที่มีประโยชน์ภายในผลมัลเบอร์รี่สดและแห้งและสามารถนำมาสร้างเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อใช้ประโยชน์ต่อไป ปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แอนโธไซยานิน และสารต้านอนุมูลอิสระ ทำการทดสอบโดยใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ทั้งหมด โดยปริมาณฟีนอลิกในสารสกัดผลแห้ง($1.78 \pm 0.12 \text{ mg.GAE/g}$) มากกว่าผลสด ($1.12 \pm 0.12 \text{ mg.GAE/g}$) ปริมาณฟลาโวนอยด์ในผลแห้ง ($60 \pm 1.04 \text{ mgQuer/g}$) มีปริมาณมากกว่าผลสด ($1.9 \pm 0.01 \text{ mgQuer/g}$) ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในผลแห้งมีมากถึง $2.65\% \pm 0.43$ ซึ่งมากกว่าผลสดที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ $0.3\% \pm 0.01$ และปริมาณสารแอนโธไซยานินในผลแห้ง ($0.2 \pm 0.06 \text{ mg./L.}$) มากกว่าในผลสด ($0.18 \pm 0.06 \text{ mg./L.}$) ดังนั้นเมื่อต้องการนำมัลเบอร์รี่ไปใช้ประโยชน์ ควรที่จะเลือกผลแห้ง เนื่องจากมีความเข้มข้นและอุดมไปด้วยสารที่มีประโยชน์สูงมาก

คำสำคัญ: มัลเบอร์รี่, ฟีนอลิก, ฟลาโวนอยด์, แอนโธไซยานิน, สารต้านอนุมูลอิสระ

COMPARATIVE STUDY OF USEFUL SUBSTANCES IN FRESH AND DRIED MULBERRY FRUIT.

Chanoknan Jandee and Puttaporn Songsri (D.Eng.)

ABSTRACT

The objective of this research is to study and compare the useful substances in fresh fruits and dried fruits of mulberry, and can used as a product for further. The amount of phenolic compound, flavonoid, anthocyanin and antioxidant test were analyzed by spectrophotometry. The amount of total phenolic in dried fruits (1.78 ± 0.12 mg.GAE/g) was greater than fresh fruits (1.12 ± 0.12 mg.GAE/g), the amount of total flavonoid in dried fruits (60 ± 1.04 mgQuer/g.) greater than fresh fruits (1.9 ± 0.01 mgQuer/g.) the antioxidant in dried fruits with $2.65\% \pm 0.43$, which is higher than fresh fruits $0.3\% \pm 0.01$. The amount of total anthocyanin contents in dried fruits (0.2 ± 0.06 mg./L.) more than in fresh fruits (0.18 ± 0.06 mg./L.). Therefore, dried mulberry fruit should be selected for further utilization, due to its high concentration and rich in beneficial substances.

Keywords: Mulberry, Phenolic, Flavonoid, Anthocyanin, Antioxidant

Student's signature

Advisor's signature

บทนำ

เนื่องจากในปัจจุบันผู้คนหันมาสนใจอาหารเพื่อสุขภาพกันอย่างกว้างขวางมากยิ่งขึ้น ทำให้ผักและผลไม้ที่มีสีส้มต่างๆ ถูกจับตามองเป็นพิเศษ และถูกนำมาบริโภคเพื่อทำให้ร่างกายได้รับประโยชน์ หนึ่งในผลไม้กลุ่มสีม่วงแดงที่ได้รับความนิยมและราคามีความเหมาะสมต่อผู้บริโภค นั่นก็คือ ลูกหม่อน หรือมัลเบอร์รี่ (Mulberry)

หม่อน หรือ มัลเบอร์รี่ เป็นอาหารตามธรรมชาติเพียงชนิดเดียวของหนอนไหม และเป็นหัวใจสำคัญของการประกอบอาชีพการปลูกหม่อนเลี้ยงไหม ซึ่งลูกหม่อนอุดมไปด้วยสารที่มีประโยชน์ ไม่ว่าจะเป็นวิตามินและแร่ธาตุ อาทิ กรดโฟลิก เป็นสารที่มีความสำคัญต่อทารก ซึ่งถ้ามารดาขาดกรดโฟลิก จะมีความเสี่ยงที่จะพิการทางสมองและประสาท ไซสเทอีน นอกจากนี้ ยังพบสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น แอนโทไซยานิน เคอเวอซิติน ที่มีส่วนไปลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็ง

จากข้อมูลในงานวิจัย สามารถแบ่งประเภทของหม่อนตามวัตถุประสงค์การนำไปใช้ได้เป็น 2 ประเภท คือ หม่อนที่ปลูกเพื่อรับประทานผลสด หรือ black mulberry (*Morus nigra* Linn.) ซึ่งมีผลโตเป็นช่อ เมื่อผลสุกจะมีสีดำมีรสอมเปรี้ยวอมหวาน นิยมใช้รับประทานผลสดหรือนำไปแปรรูปทำเป็นอาหารและเครื่องดื่มได้ หม่อนที่ปลูกเพื่อเลี้ยงไหม หรือ white mulberry (*Morus alba* Linn.) หม่อนชนิดนี้มีผลลักษณะเป็นช่อขนาดเล็ก เมื่อสุกแล้วผลจะมีสีแดง มีรสเปรี้ยว ไม่ค่อยนิยมเป็นที่รับประทาน แต่มีใบขนาดใหญ่และมีปริมาณใบมาก ซึ่งสามารถใช้เป็นอาหารของหนอนไหมได้เป็นอย่างดี(ผศ.ดร.วิชุดา จันทร์ขำแรม,2560) นอกจากนี้หม่อนยังมีฤทธิ์ทางการแพทย์แผนไทยโดยการนำหม่อนมาใช้เป็นยาขับเหงื่อ แก้เจ็บคอ ต้มดื่มแก้ไข้ ตัวร้อน แก้ร้อนในกระหายน้ำ แก้ไอ ระงับประสาท ส่วนผลนำมาต้มดื่มเป็นยาเย็น ยาระบายอ่อนๆ แก้ธาตุไม่ปกติ ตัวร้อน ทำให้ชุ่มคอ บำรุงตับและไต รากและเปลือกใช้เป็นยาขับพยาธิ (Wuttidhamaved, 2007) นอกจากนี้ในทางการแพทย์แผนจีนยังมีรายงานการใช้หม่อนเพื่อรักษาโรค อาทิ นำยอดหม่อนมาต้มดื่มเพื่อบำรุงสายตา เปลือกรากแก้ไอ แก้หอบหืด ขับเสมหะ ขับปัสสาวะ และเป็นยาระบาย ส่วนกิ่งหม่อนช่วยทำให้เลือดลมไหลเวียนสะดวก ทำให้ลำไส้ทำงานได้ดีและรักษาอาการเหน็บชา (Singh et al., 2013)

จากสรรพคุณมากมายที่อยู่ภายในส่วนต่างๆของหม่อน งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์ในการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารที่มีประโยชน์ภายในผลสดและผลแห้งของหม่อน เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมวัตถุดิบ

1.1 การเตรียมตัวอย่าง

แบ่งผลสดออกเป็น 2 ส่วน หลังจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก ซึ่งได้เป็นน้ำหนักสด (น้ำหนักของผลสดก่อนหั่นคือ 165.57 กรัม น้ำหนักผลสดก่อนอบคือ 222.21 กรัม) หลังจากนั้นนำส่วนของผลสดส่วนที่ 1 มาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ และนำมาชั่งน้ำหนักหลังหั่นได้เป็น 161.06 กรัม จากนั้น นำผลสดส่วนที่ 2 ข้าตู้อบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 53 °c เมื่อผลสดแห้งสนิท จึงนำมาบด และนำมาชั่งน้ำหนักหลังบดได้เป็น 26.95 กรัม

1.2 การเตรียมสารสกัด

หลังจากที่ได้ผลสดที่หั่นแล้วนั้น จึงนำมาเติมด้วย 95% ethanol 600 ml. และนำเข้าตู้เย็นที่ 4 °c เป็นเวลา 7 วัน และผลแห้งที่ทำการบดเรียบร้อยแล้ว นำมาเติม 95% ethanol 60 ml. จากนั้นนำไปใส่ตู้เย็น หมักไว้เป็นเวลา 7 วันเช่นเดียวกัน เมื่อครบ 7 วัน นำขวด Duran ที่ใส่ผลสดและแห้ง มากรองด้วย Buchner ใช้ suction flask ขนาด 250 ml. และ 100 ml. ตามลำดับ เมื่อกรองเสร็จ จะได้เป็นสารละลายของผลสดและผลแห้ง จากนั้นนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น ที่ 4 °c จนกว่าจะมีการนำออกมาทำการทดลอง

2. การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

2.1 การเตรียมสารละลายแกลลิก (galic acid)

วิธีการทดสอบผลรวมฟีนอลิกของสารสกัดหยาบมีลเบอร์รี่ผลสดและผลแห้ง (สารมาตรฐาน น้ำกลั่น; แกลลิก) ใช้ความเข้มข้นแกลลิกอยู่ในช่วง 0-36 mgGAE / 100 ml (López-Ortiz, 2019) โดยการดัดแปลงความเข้มข้นอยู่ที่ 0 5 10 15 20mg.

2.2 การทำปฏิกิริยา Folin-Ciocalteu reagent

ทำใน volumn flask 25 ml. โดยการเติมสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น 0.25 ml. เติมน้ำกลั่น 12.5 ml. จากนั้นเติม 20% sodium carbonate 5 ml. และเติม Folin-Ciocalteu reagent 1.25 ml. สุดท้ายจึงเติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตร ทั้งไว้ในที่มืด 30 นาที หลังจากนั้นนำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750 nm. ดัดแปลงจากวิธีของ López-Ortiz, 2019

2.3 การนำสารสกัดมาทดสอบหาผลรวมฟีนอลิก

เติมสารสกัดผลสดและผลแห้ง อย่างละ 0.25 ml. จากนั้นเติมน้ำกลั่น 12.5 ml. เติม 20% Sodium carbonate 5 ml. จากนั้นจึงเติม Folin-Ciocalteu reagent 1.25 ml. สุดท้ายจึงเติมน้ำกลั่น

เพื่อปรับปริมาตรใน volum flask 25 ml. เช่นเดียวกัน นำไปทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที ก่อนนำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm. ดัดแปลงจากวิธีของ López-Ortiz,2019

3.การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid content)

3.1เตรียมสารมาตรฐาน

การหาผลรวมฟลาโวนอยด์ใช้วิธี aluminium chlorideโดยใช้ quercetin-3-o-rutinoside ที่ความเข้มข้น 0 40 80 120 160 200 µg/mlเป็นสารมาตรฐานโดยใช้ 95%ethanolเป็น blank จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm.

3.2 การนำสารละลายมาทดสอบ

เตรียมสารละลายทั้งผลสดและผลแห้งอย่างละ 500 µl. จากนั้นเติม95% ethanol 1.5 ml. เติม 1M potassium acetate 100 µl. และเติม 95% ethanol 1.5 ml.หลังจากนั้นเติม 10% aluminium chloride 100 µl. สุกท้าย เติมน้ำกลั่น 2.8 ml.เขย่า และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา30 นาที และนำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น415nm. ปริมาณสารฟลาโวนอยด์โดยคำนวณเทียบกับปริมาณ quercetinไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของตัวอย่าง

4.การหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (Total anthocyanin content)

ค่าแอนโทไซยานินคำนวณได้จาก pH differentialmethodโดยการใช้Potassium chloride pH 1 และSodium acetate pH 4.6(Mine Gültekin-Özgüven,2016)

4.1เตรียมบัฟเฟอร์

4.1.1 การเตรียม potassium chloride pH 1

โดยชั่ง0.2 Mhydrochloric acid 1.72 ml. และ potassium chloride 1.5 g. ซึ่งแต่ละตัวต้องเตรียมใน volume flask 100 ml. และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวปรับปริมาตร จากนั้นนำทั้งสองตัวมาผสมกัน เมื่อผสมเรียบร้อยแล้ว ใช้กระดาษลิตมัสในการตรวจสอบค่า pH

4.1.2 การเตรียม sodium acetate pH 4.6

โดยชั่ง 0.1M acetic acid 0.57 ml. และ sodium acetate 0.82 g. ซึ่งแต่ละตัวต้องเตรียมใน volume flask 100 ml. และใช้น้ำกลั่นในการปรับปริมาตร จากนั้นนำทั้งสองตัวมาผสมกัน เมื่อผสมเรียบร้อยแล้ว ใช้กระดาษลิตมัสในการตรวจสอบค่า pH

4.2การนำสารสกัดมาทดสอบผลรวมแอนโทไซยานิน

ใช้ volume flask10 ml. ทั้งหมด 12 อัน เนื่องจากผลสด และผลแห้ง อย่างละ 3 ซ้ำ ในแต่ละ pH ใส่สารสกัดมัลเบอร์รี่ในเอทานอลผลสดและผลแห้ง 1 ml. และใส่บัฟเฟอร์ pH 1 25 mM

และ pH 4.6 0.4 M ใช้เอทานอลในการปรับปริมาตร หลังจากนั้นทิ้งไว้ 15 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จึงนำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm. และ 700 nm. โดยใช้ น้ำกลั่นเป็น blank

5. การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH assay)

การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาดบอร์รี่ผลแห้งและผลสดนั้น ใช้ Ascobic acid เป็น positive control ซึ่งใช้เป็น standard ของการทดสอบนี้ โดยใช้ความเข้มข้นที่ 0 20 40 80 160 320 µg./ml.

5.1 เตรียม standard และสารละลาย DPPH

คำนวณการเตรียมสารจากความเข้มข้น 100 µg./ml. ทำให้เป็นความเข้มข้น 320 µg./ml. โดยคำนวณจากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$ ซึ่งเตรียมใน volume flask 25 ml. จากนั้นเตรียมแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 25 ml. โดยคำนวณจากสูตรดังกล่าวเช่นเดียวกัน (Yuting Li, 2018)

การเตรียมสารละลาย 0.1 mM DPPH โดยการใส่ volume flask 10 ml. ซึ่งคำนวณโดยใช้สูตร $\frac{g}{M.W} = \frac{cv}{1000}$ ใช้ 95% ethanol ในการปรับปริมาตร

5.2 วัดค่าการต้านอนุมูลอิสระ

ตั้ง standard แต่ละความเข้มข้น 40 µg./ml. จากนั้นเติม สารละลาย DPPH 1.4 ml. จากนั้นเตรียม standard blank โดยการตั้ง standard ความเข้มข้นสูงสุดคือ 320 µg./ml. 40 µg. จากนั้นเติมน้ำกลั่น 1.4 ml. ต่อมาคือเตรียม control blank โดยการใส่เป็น 95% ethanol จากนั้นเตรียม control โดยการใส่สารละลาย DPPH 1.4 ml. และเติมน้ำกลั่น 40 µl. จากนั้นเป็นการเตรียม sample blank ใช้เป็น standard ความเข้มข้น 0

การเตรียมในส่วนของ sample คือการเตรียมสารสกัดหยาดบอร์รี่ผลแห้งและการใช้สารสกัด 40 µl. และเติมน้ำกลั่น 1.4 ml. จากนั้นนำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm.

6. การทำโลชั่น

การทำโลชั่นที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาดบอร์รี่ โดยการใช้ชุดทำโลชั่นและมีวิธีทำขึ้นพื้นฐานที่ใช้ทางการค้า ซึ่งใช้ของเคมีภัณฑ์ และดัดแปลงสูตรโดยการใส่สารสกัดหยาดบอร์รี่ลงไปตามสัดส่วนที่คำนวณได้ตามต้องการ

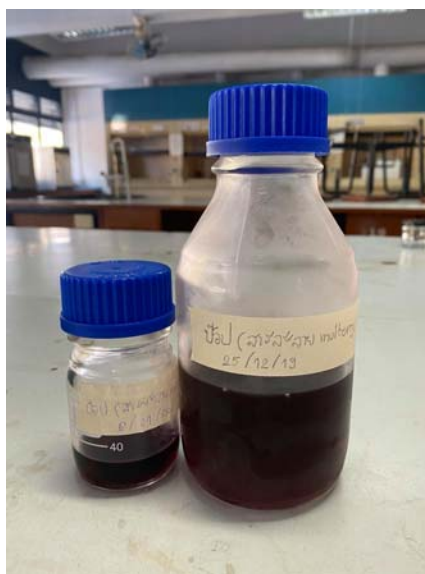
7. การทดสอบทางสถิติ

ใช้โปรแกรม Excel 2016 ในการคำนวณค่าเฉลี่ยค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และคำนวณค่าทางสถิติโดยใช้ t-Test paired two samples for mean ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

ผลการศึกษา

1. การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic content)

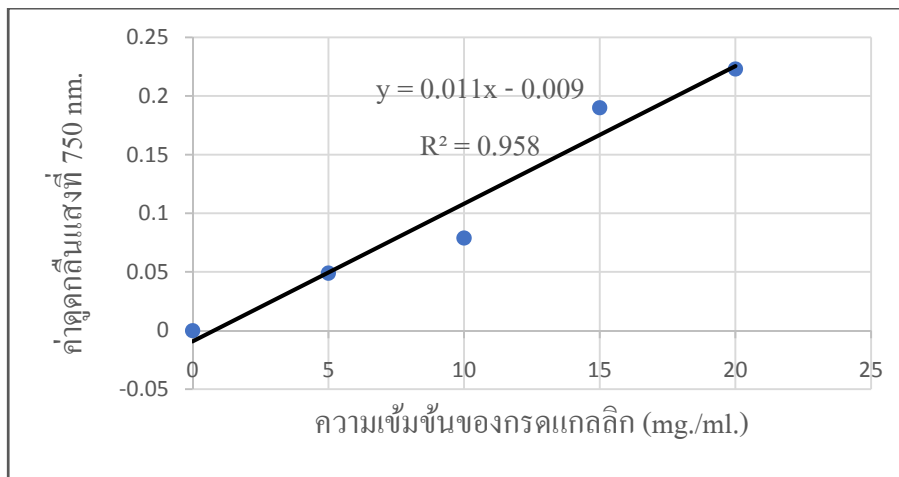
การทดสอบหาสารประกอบฟีนอลิก ทำโดยการนำสารที่สกัดได้นั้น มาทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent และ 20% sodium carbonate ได้ผลเป็นสารละลายที่มีสีน้ำเงิน แสดงว่า สารสกัดจากผลไม้เบอร์รี่มีสารประกอบฟีนอลิกแล้วนำมาเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกที่ใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย



ภาพที่ 1 สารสกัดหยาบผลไม้เบอร์รี่ผลสดและผลแห้ง

ความเข้มข้นแกลลิก(mg./ml.)	ค่าการดูดกลืนแสง 750 nm.
0	0
5	0.049
10	0.079
15	0.19
20	0.223

ตารางที่ 1 แสดงค่าดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก



ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 0 5 10 15 20 mg./ml.

จากการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ในสารสกัดหยาบผลมันเบอร์รี่สดและแห้งนั้น ภายในสารสกัดหยาบผลมันเบอร์รี่แห้งจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าในผลสด นั่นคือ 180.49 ± 46.39 mg GAE/g. ซึ่งถ้าวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดต่อ 1 g. ของผลมันเบอร์รี่สดและแห้งนั้นได้ผลคือ ในผลแห้งมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 1.78 ± 0.12 mgGAE/g. โดยที่มีปริมาณมากกว่าในผลสด คือ 1.12 ± 0.29 mgGAE/g. ซึ่งมีการคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานด้วยโปรแกรม Excel 2016 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (t-Test paired two samples for mean) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

2.การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoid content)

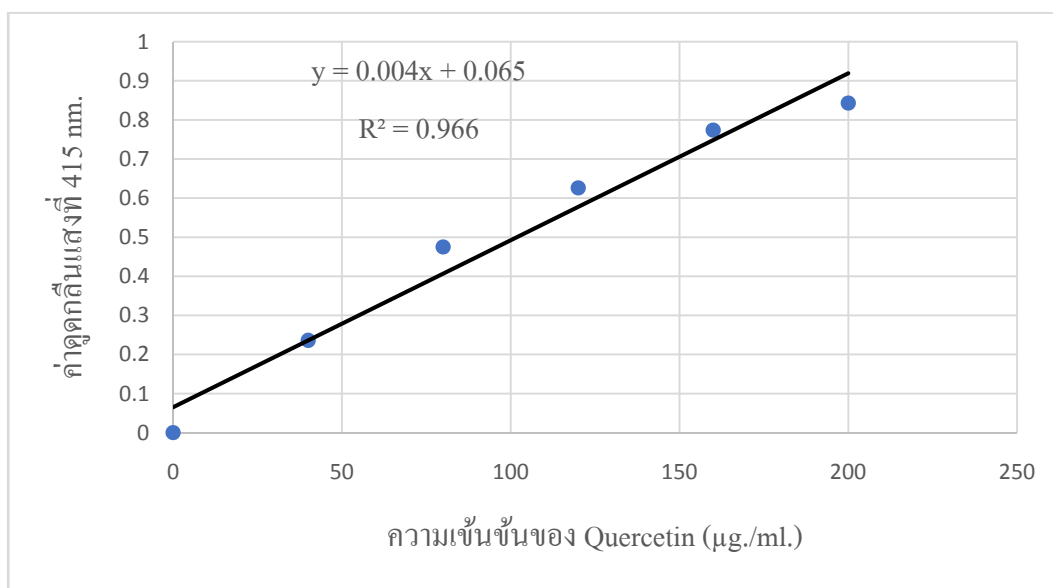
การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบผลมันเบอร์รี่สดและแห้งนั้น ทำโดยการใช้ quercetin-3-O-rutinoside เป็นสารมาตรฐาน ซึ่งถ้าสารสกัดที่ทำการผสมและทำปฏิกิริยาเรียบร้อยแล้วสีตั้งรูป นั้นหมายถึง สารสกัดมีฟลาโวนอยด์ ซึ่งจากการที่คำนวณค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานด้วยโปรแกรม Excel 2016 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (t-Test paired two samples for mean) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) ผลคือสารสกัดผลมันเบอร์รี่แห้งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากกว่าคือ 1617.25 ± 28.00 ซึ่งถ้าคำนวณปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดต่อน้ำหนัก 1 g. ผลมันเบอร์รี่สดและแห้ง ได้ผลคือ ผลแห้งมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 60 ± 1.04 mgQuer/g. มากกว่าผลสดที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 1.9 ± 0.01 mgQuer/g.



ภาพที่ 3 ภาพที่แสดงสีของสารสกัดผลไม้เบอร์รี่สดและแห้งหลังทำปฏิกิริยาเพื่อหาค่าฟลาโวนอยด์

ความเข้มข้นควอเซทิน ($\mu\text{g./ml.}$)	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร
0	0
40	0.236
80	0.475
120	0.626
160	0.774
200	0.843

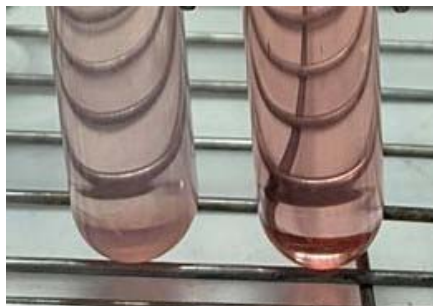
ตารางที่ 2 แสดงค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานควอเซทิน



ภาพที่ 4 กราฟมาตรฐานควอเซทิน ที่ความเข้มข้น 0 40 80 120 160 200 $\mu\text{g./ml.}$

3.การหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (Total anthocyanin content)

จากการหาปริมาณแอนโทไซยานินโดยวิธี pH differential method ซึ่งจะใช้ค่า pH 1.0 และ pH 4.6 ซึ่งผลที่แสดงว่าสารสกัดมีปริมาณแอนโทไซยานินคือจะมีชมพูใส

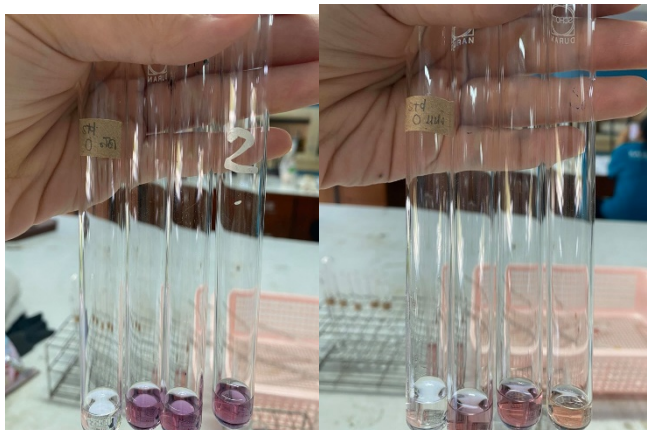


ภาพที่ 5 ภาพที่แสดงสีของสารสกัดผลมัลเบอร์รี่สดและแห้งหลังทำปฏิกิริยาเพื่อค่าแอนโทไซยานิน

จากการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินของสารสกัดผลมัลเบอร์รี่สดมีปริมาณมากกว่า นั่นก็คือ 15.66 ± 0.11 ซึ่งถ้าวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดต่อ 1 g. ของน้ำหนักผลสดและผลแห้ง นั่นคือ ในผลมัลเบอร์รี่แห้งมีปริมาณแอนโทไซยานิน 0.2 ± 0.06 mg/L. มีปริมาณมากกว่าในผลสดคือ 0.18 ± 0.06 mg/L. โดยคำนวณด้วยโปรแกรม Excel 2016 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (t-Test paired two samples for mean) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

4.การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH assay)

จากการทดสอบหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระภายในสารสกัดหยาบมัลเบอร์รี่ผลแห้งและผลสด โดยใช้ ascorbic acid เป็นสารมาตรฐานโดยทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH และใช้ standard ที่ความเข้มข้น 0 20 40 80 160 320 $\mu\text{g./ml}$. ซึ่งถ้าสารละลายเมื่อทำปฏิกิริยาเรียบร้อยแล้วจะมีสีม่วงอ่อน แสดงว่าในสารละลายมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ



ภาพที่ 6 สารสกัดผลสดที่ทำปฏิกิริยากับภาพที่ 7 สารสกัดผลแห้งที่ทำปฏิกิริยา
สารละลายDPPHกับสารละลายDPPH

จากการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระภายในสารสกัดหยาบเมล็ดเบอร์รี่แห้งมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าในสารสกัดเมล็ดเบอร์รี่ผลสด นั่นคือ $71.48\% \pm 11.55$ ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลต่อ 1 g. ของน้ำหนักผลเมล็ดเบอร์รี่สดและแห้งแล้วนั้น ได้ผลคือ ในเมล็ดเบอร์รี่ผลแห้งมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ $2.65\% \pm 0.43$ มากกว่าในผลสดที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ $0.3\% \pm 0.01$ โดยคำนวณค่าด้วยโปรแกรม Excel 2016 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (t-Test paired two samples for mean) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

	ผลสด	ผลแห้ง
ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (mgGAE/g) Mean±SD	1.12 ± 0.29	1.78 ± 0.12
ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (mgQuer/g) Mean±SD	1.9 ± 0.01	60 ± 1.04
ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (mg/L) Mean±SD	0.18 ± 0.06	0.2 ± 0.06
สารต้านอนุมูลอิสระ (%)	0.3 ± 0.01	2.65 ± 0.43

ตารางที่ 3 แสดงค่าปริมาณสารต่างๆที่ทำกรวิเคราะห์เปรียบเทียบต่อ 1 g. ของน้ำหนักเมล็ดเบอร์รี่ผลแห้งและผลสด

วิจารณ์ผลการศึกษา

การทดสอบในขั้นตอนต่างๆมีผลที่ตรงตามที่คาดหมายไว้ ซึ่งสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ ยกเว้นในขั้นตอนของการทดสอบหาปริมาณแอนโทไซยานิน มีผลที่คาดเคลื่อนไปเมื่อทำปฏิกิริยาเรียบร้อยแล้วในสารสกัดผลแห้งนั้นเกิดการตกตะกอน เนื่องจากในขั้นตอนแรกของการเตรียมวัตถุดิบและสารสกัดนั้นเกิดความผิดพลาดในการวางแผนการทดลอง มีการแบ่งน้ำหนักของผลสดและผลแห้งในปริมาณที่ไม่เท่ากัน ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนและไม่แม่นยำในผลการศึกษา จึงมีการปรับการวิเคราะห์โดยการทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารต่างๆ โดยวิเคราะห์เป็นต่อ 1 g.ของน้ำหนักผลแห้งเบอร์รี่ทั้งผลสดและแห้ง มีผลปรากฏว่า ปริมาณสารต่างๆ สอดคล้องกันทั้งหมด โดยที่ในสารสกัดหยาบผลแห้งเบอร์รี่แห้งที่มีปริมาณสารที่ต้องการศึกษาในปริมาณที่มากกว่าในสารสกัดหยาบผลสดเบอร์รี่สดทั้งสิ้นจากการที่ได้ศึกษามาทั้งหมดนั้น ทำให้ได้เห็นว่า ภายในผลเบอร์รี่เพียงผลเล็กๆ ก็มีปริมาณสารที่มีประโยชน์อยู่มากมายและสามารถนำมาใช้ประโยชน์ต่อได้นั่นเอง

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาเปรียบเทียบสารที่มีประโยชน์ในผลแห้งเบอร์รี่สดและแห้งนั้น ไม่ว่าจะเป็นการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานินและ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ สารสกัดหยาบผลแห้งเบอร์รี่ผลแห้งนั้นมีปริมาณที่มากกว่าผลสดทุกๆการทดสอบ เมื่อทำการวิเคราะห์เป็น ต่อ 1 g. ของน้ำหนักผลสดและแห้ง จึงสรุปได้ว่า เมื่อนำผลแห้งเบอร์รี่สดมาทำให้แห้งนั้นทำให้ปริมาณสารภายในเพิ่มขึ้น และถ้าต้องการเลือกผลเบอร์รี่ไปใช้ประโยชน์ก็สามารถเลือกผลแห้งเบอร์รี่ไปใช้ได้ดีกว่านั่นเอง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์ และ ฝ่ายกิจการนิสิต คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้ความสนับสนุนทุนการทำวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณท่านอาจารย์พุทธพร พ่อแม่พี่น้องและเพื่อนๆที่คอยช่วยเหลือให้คำปรึกษาและคอยให้กำลังใจ ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้การศึกษาในครั้งนี้ผ่านลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- A,L.O, L.L.Memdes-Lagunas, D.Cornelio,L.Adriana,L.adriana and E.Jorge. 2020. Understanding the drying kinetics of phenolic compound in strawberries : An experimental and density functional theory study. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. 2020(60):102283.
- Chen,H., G.Haiyan, F.Xianyun, and Z.Yongjun. 2015. Effect of allyl isothiocyanate treatment on postharvest quality and the activities of antioxidant enzyme of mulberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**. 2015(2018) : 61-67.
- Choosung,P., U.Weerawate, B.Panida, W.Thananya and W.Chalermchai. 2019. Ethanol vapor releasing sachet reduces decay and improves aroma attributes in mulberry fruit. **Food Packaging and Shelf Life**. 2019(22) : 100398.
- Dincer,C., T.Ismail and T.Ayhan. 2016. A comparative study of black mulberry juice concentrates by thermal evaporation and osmotic distillation as influenced by storage. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. 2016(38) : 57-64.
- Li,Y., T.Bao and W.Chen. 2018. Comparison of the protective effect of black and white mulberry against ethyl carbamate-induced cytotoxicity and oxidative damage. **Food chemistry**. 2018(243) : 65-73.
- Ozguven,G.M., K.Ayşe, D.Seyma, O.Burak and O.Beraat. 2016. Fortification of dark chocolate with spray dried black mulberry (*Morus nigra*) waste extract encapsulated in chitosan-coated liposome and bioaccessibility studies. **Food Chemistry**. 2016(201) : 205-212.
- Peng,W,T.G.Hu,R.J.Linhardt,S.T.Liao,H.Wu and Y.X.Zou.2018.Mulberry: A review or bioactive compound and advanced processing technology.**Trend in food science & technology**.2019(83):138-158.
- รื้อรวดี วรรณเวศน์ และ ปฐมพงษ์ เทียวเพชร. 2560. การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของถั่วงอก. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.

- วิจิตรา เหลี้ยวตระกูล. 2559. การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของ **ดอกแคและใช้ประโยชน์เชิงอาหารสุขภาพ**. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล สุวรรณภูมิ.
- วิชุดา จันทร์ข้างแรม และสุนทรต์ ชูลักษณะ. 2560. **ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอลจากหม่อน (Morus alba Linn.) และกาบไหม (Bombux mori.) เพื่อตั้งสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวขาว**. มหาวิทยาลัยบูรพา.
- วิจิตรา แสงโคตร, อรัญญา พรหมกุล, วรรณทิศา เสวตบวร และ เกรียงไกร พัทธยากร. 2561. **การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระในใบหม่อน 2 สายพันธุ์**. 2561(46) : 361-362.
- วิมลโรจน์ แก้วเรือง. 2555. **หม่อนผลไม้เภสัชโภชนาภัณฑ์**. 2555(97):30-35.
- มุทธิณี ลีลาเหมรัตน์ และ ศศิธร ตรงจิตรภักดี. **องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของกากลูกหม่อน**. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศศิมาภรณ์ สิทธิไกร และ อรุณรัตน์ สัจฉิตติกวินสกุล. 2558. **การวิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานินจากสีย้อมอวดเชือก**. สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม.
- สุภาพร พักเงิน และ ศิริประภา มีรอด. 2560. **สารสกัดแยกหาปริมาณแอนโธไซยานินจากลูกมะม่วงหาวมะนาวโห่**. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.

ภาคผนวก

1. การเตรียมวัตถุดิบ

ทำการซื้อผลหม่อนสดจากร้านกล้วยไม้สาย 4 ซึ่งเป็นร้านที่ขายปลีก-ส่งทั้งผลหม่อนสดและแบบแช่แข็ง เป็นจำนวน 2 กิโลกรัม ร้านตั้งอยู่ที่ ถ.พุทธมณฑลสาย 4 ต.กระทุ่มล้ม อ.สามพราน จ.นครปฐม เมื่อได้วัตถุดิบมาเป็นที่เรียบร้อยแล้ว จากนั้นนำผลหม่อนสด ไปแช่แข็งในตู้แช่ ก่อนนำออกมาทำการทดลอง

2. การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

จากสูตรคำนวณปริมาณผลรวมฟีนอลิก $C=cV/M$ (ผศ.ดร.วิชุดา จันทร์ข้างแรม, 2561)

เมื่อ C คือ ปริมาณโพลีฟีนอลที่เทียบจากกราฟมาตรฐานแกลลิก (Mg/g_GAE)
 c คือ ความเข้มข้นของแกลลิก (mg./ml.)
 V คือ ปริมาณสารสกัด (ml.)
 M คือ น้ำหนักสารสกัด (g.)

4. การหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (Total anthocyanin content)

จากสูตร

Monomeric anthocyanin pigment (mg^{-1}) = $(A \times MW \times DF \times 100) / (\epsilon \times l)$

โดยที่ A คือ Absorbance
 MW คือ Molecular weight
 DF คือ the dilution factor
 ϵ คือ molar absorptivity

5. การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH assay)

DPPH – scavenging ability (%)

$$= \frac{1 - \text{absorbance}_{control} - \text{absorbance}_{sample}}{\text{absorbance}_{control}} \times 100$$

