Agricultural Sci. J. 41 : 1 (Suppl.) : 106-109 (2010) ว. วิทย. กษ. 41 : 1 (พิเศษ) : 106-109 (2553)

ผลของสายพันธุ์และระยะการเจริญเติบโตต่อแอนโธไซยานินส์ของผลหม่อน

Effects of cultivar and maturation on anthocyanins of mulberry fruit

มนต์วดี หุ่นเจริญ[1] และศศิธร ตรงจิตภักดี[1,2]
Monwadee Hunjaroen[1] and Sasitorn Tongchitpakdee[1,2]

Abstract

Effects of cultivar and maturation on anthocyanins of mulberry fruit (cv. Kamphaeng Saen-MB-42-1, Chiangmai and Burirum 60) were investigated. Each mulberry cultivar was classified into 4 stages: immature (stage 1), semi-mature (stage 2), mature (stage 3) and fully mature (stage 4). Total monomeric anthocyanin content was evaluated using pH-differential method and major anthocyanins were identified using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The results showed that total monomeric anthocyanin content of mulberry fruits varied greatly among cultivar and maturation stages. Total monomeric anthocyanin content varied from 3 to 1,844 mg cyanidin-3-glucoside/ 100 g dry weight basis and its content increased as maturity increased. At the fully mature stage, Kamphaeng Saen-MB-42-1 had higher total monomeric content than Burirum 60 and Chiangmai, respectively ($p \leq 0.05$). HPLC analysis showed that the predominant anthocyanins in mulberry fruits were cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3-rutinoside. As maturity increased, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3-rutinoside contents increased. At the fully mature stage, Kamphaeng Saen-MB-42-1 had the highest cyanidin-3-glucoside content ($p \leq 0.05$), while Kamphaeng Saen-MB-42-1 and Burirum 60 had the highest cyanidin-3-rutinoside content ($p \leq 0.05$).

Key Word: cultivar, maturation, anthocyanins

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของสายพันธุ์และระยะการเจริญเติบโตต่อแอนโธไซยานินส์ของผลหม่อน 3 สายพันธุ์ (สายพันธุ์กำแพงแสน-เอ็มบี-42-1 เชียงใหม่ และบุรีรัมย์ 60) ซึ่งแต่ละสายพันธุ์แบ่งออกเป็น 4 ระยะการเจริญเติบโต คือ ผลอ่อน (ระยะการเจริญเติบโตที่ 1) ผลกึ่งสุก (ระยะการเจริญเติบโตที่ 2) ผลสุก (ระยะการเจริญเติบโตที่ 3) และผลสุกเต็มที่ (ระยะการเจริญเติบโตที่ 4) โดยศึกษาปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดด้วยวิธี pH-differential และตรวจสอบแอนโธไซยานินส์ชนิดหลักโดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) จากผลการทดลองพบว่าปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดของผลหม่อนขึ้นกับสายพันธุ์และระยะการเจริญเติบโต โดยมีปริมาณตั้งแต่ 3 ถึง 1,844 มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ในตัวอย่าง 100 กรัมน้ำหนักแห้ง โดยเมื่อผลหม่อนเจริญเติบโตมากขึ้นจะมีปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดเพิ่มมากขึ้น ผลสุกเต็มที่ของสายพันธุ์กำแพงแสน-เอ็มบี-42-1 มีปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดมากกว่าบุรีรัมย์ 60 และเชียงใหม่ ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) เมื่อตรวจสอบโดย HPLC พบว่าแอนโธไซยานินส์ชนิดหลักในผลหม่อนทั้ง 3 สายพันธุ์ คือไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ และไซยานิดิน-3-รูทิโนไซด์ โดยมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเมื่อผลหม่อนมีการเจริญเติบโตมากขึ้น ผลหม่อนสายพันธุ์กำแพงแสน-เอ็มบี-42-1 ในระยะสุกเต็มที่มีปริมาณไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์มากที่สุด ($p \leq 0.05$) ในขณะที่สายพันธุ์กำแพงแสน-เอ็มบี-42-1 และบุรีรัมย์ 60 มีปริมาณไซยานิดิน-3-รูทิโนไซด์มากที่สุด ($p \leq 0.05$)

คำสำคัญ สายพันธุ์, ระยะการเจริญเติบโต, แอนโธไซยานินส์

คำนำ

"หม่อน" เป็นพืชที่พบได้ทั่วไปในป่าดิบในประเทศไทย มีคุณค่าทางโภชนาการค่อนข้างสูง เป็นแหล่งของน้ำตาล กรด และสารสำคัญต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) ที่มีคุณสมบัติในการเป็น สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ที่อาจป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ ได้ เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน และ โรคหัวใจ เป็นต้น

[1] ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
[1] Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University
[2] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
[2] Postharvest Technology Innovation Center, Kasetsart University

ในปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับชนิด ปริมาณ และความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก รวมทั้งปัจจัยที่มีผลต่อชนิด และปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก โดยเฉพาะอย่างยิ่งแอนโธไซยานินส์ในผลหม่อนยังมีการศึกษาน้อยมาก โดยปัจจัยต่างๆ ได้แก่ สายพันธุ์ ระยะการเจริญเติบโต และสภาพภูมิอากาศ เป็นต้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาถึงผลของสายพันธุ์และระยะการเจริญเติบโตต่อแอนโธไซยานินส์ของผลหม่อน เนื่องจากจะทำให้ได้องค์ความรู้พื้นฐานของหม่อนสายพันธุ์ต่างๆ ที่มีการปลูกในประเทศไทย และทราบถึงสายพันธุ์และระยะการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมที่ให้สารสำคัญมากที่สุด เพื่อนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ ออกสู่ตลาดโดยเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสารสำคัญ มีคุณค่าทางโภชนาการสูงซึ่งเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค อีกทั้งช่วยส่งเสริมการส่งออกของประเทศทำให้ประเทศไทยมีรายได้เพิ่มมากขึ้น และเป็นการเพิ่มมูลค่าสินค้าทางการเกษตร และส่งเสริมให้มีการปลูกหม่อนรับประทานผลมากขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างผลหม่อนสายพันธุ์กำแพงแสน-เอ็มบี-42-1 เชียงใหม่ และบุรีรัมย์ 60 ปลูกที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นำมาแบ่งตามระยะการเจริญเติบโต โดยใช้สีผิวเป็นดัชนีในการวัดระยะการเจริญเติบโต ซึ่งสามารถแบ่งได้ 4 ระยะการเจริญเติบโต ดังนี้ ผลอ่อน (ระยะการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ immature stage) ผลหม่อนสีเขียวถึงสีชมพู ผลกึ่งสุก (ระยะการเจริญเติบโตที่ 2 หรือ semi-mature stage) ผลหม่อนสีชมพูถึงสีแดง ผลสุก (ระยะการเจริญเติบโตที่ 3 หรือmature stage) ผลหม่อนสีแดงถึงสีม่วง และผลสุกเต็มที่ (ระยะการเจริญเติบโตที่ 4 หรือ fully mature stage) ผลหม่อนสีม่วงเข้ม และนำตัวอย่างผลหม่อนมาเด็ดขั้ว ล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง และแช่ไนโตรเจนเหลวทันที จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องปั่นละเอียด นำตัวอย่างผลหม่อนที่ปั่นละเอียดสกัดด้วยสารละลายเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่มีส่วนผสมของกรดไฮโรคลอริกร้อยละ 0.01 ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Kim et al. (2002) และ Rodriguez-Saona and Wrolstad (2005) นำสารสกัดที่ได้มาตรวจสอบปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด และตรวจสอบชนิดและปริมาณของแอนโธไซยานินส์โดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

2. การตรวจสอบปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด (Total monomeric anthocyanin content)

ตรวจสอบปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดโดยวิธี pH-differential (Giusti and Wrolstad, 2005) รายงานผลในรูปของมิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ในตัวอย่าง 100 กรัมน้ำหนักแห้ง (mg cyanidin-3-glucoside/100 g dry weight basis)

3. การตรวจสอบชนิดและปริมาณของแอนโธไซยานินส์โดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

ดัดแปลงจากวิธีของ Chantanawarangoon (2005) โดยใช้คอลัมน์ชนิด C18 (Symmetry ®, 4.6 mm. x 250 mm.) (Waters, Mailford, MA, USA) โดยมีวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นน้ำปราศจากไอออน และ acetonitrile ที่มีส่วนผสมของกรดฟอสฟอริก (H_3PO_4) ร้อยละ 0.1 ทั้ง 2 วัฏภาคเคลื่อนที่ และใช้ UV diode-array detector ตรวจวัดแอนโธไซยานินส์ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

4. การประเมินผลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติเพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผล

1. ปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด

จากการศึกษาปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดของผลหม่อนทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ระยะการเจริญเติบโตแตกต่างกันโดยวิธี pH-differntial พบว่าผลหม่อนทั้ง 3 สายพันธุ์เมื่อมีการพัฒนาของผลมากขึ้น แอนโธไซยานินส์ทั้งหมดมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ซึ่งผลหม่อนที่สุกเต็มที่มีปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดมากที่สุด ($p \leq 0.05$) รองลงมาคือ ผลสุก ผลกึ่งสุก และผลอ่อนตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดของผลหม่อน 3 สายพันธุ์ในระยะสุกเต็มที่ พบว่าสายพันธุ์กำแพงแสน-เอ็มบี-42-1 มีปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดมากที่สุด ($p \leq 0.05$) รองลงมาคือ สายพันธุ์บุรีรัมย์ 60 และเชียงใหม่ตามลำดับ (Figure 1)

2. ชนิดและปริมาณของแอนโธไซยานินส์

เมื่อทำการตรวจสอบชนิดของแอนโธไซยานินส์โดยเทคนิค HPLC พบว่าผลหม่อนทั้ง 3 สายพันธุ์มีแอนโธไซยานินส์ชนิดหลัก 2 ชนิด คือ ไซยานิน-3-กลูโคไซด์ (cyanidin-3-glucoside) และไซยานิดิน-3-รูทิโนไซด์ (cyanidin-3-rutinoside) เมื่อวิเคราะห์ปริมาณของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ และไซยานิดิน-3-รูทิโนไซด์ พบว่าระยะผลสุกเต็มที่ของทุกสายพันธุ์มีปริมาณไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ และไซยานิดิน-3-รูทิโนไซด์ มากที่สุด ($p \leq 0.05$) รองลงมาคือ ผลสุก ผลกึ่งสุก และผลอ่อน ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ พบว่าผลสุกเต็มที่ของสายพันธุ์กำแพงแสน-เอ็มบี-42-1 มีปริมาณไซยานิน-3-กลูโคไซด์มากที่สุด ($p \leq 0.05$) ในส่วนของสายพันธุ์เชียงใหม่ และบุรีรัมย์ 60 มีปริมาณไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) และปริมาณไซยานิดิน-3-รูทิโนไซด์ พบว่าผลสุกเต็มที่ของสายพันธุ์กำแพงแสน-เอ็มบี-42-1 และบุรีรัมย์ 60 มีปริมาณไซยานิดิน-3-รูทิโนไซด์มากกว่าสายพันธุ์เชียงใหม่ ($p \leq 0.05$) (Figure 1)

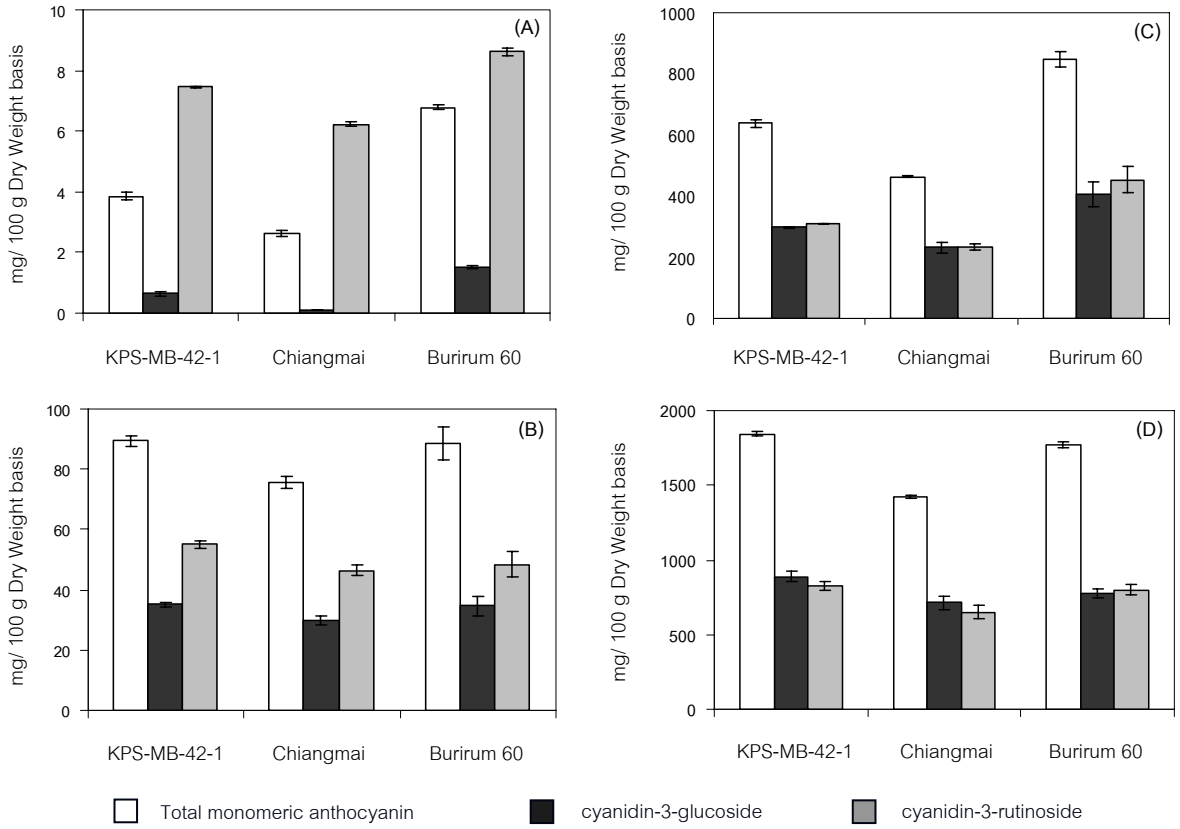

Figure 1 Total monomeric anthocyanin contents, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3-rutinoside of mulberry fruits in immature stage (A),semi-mature stage (B), mature stage (C) and fully mature stage (D).

วิจารณ์ผล

จากการทดลองพบว่า เมื่อผลหม่อนทั้ง 3 สายพันธุ์มีการเจริญเติบโตมากขึ้น แอนโธไซยานินส์ทั้งหมด ไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ และไซยานิดิน-3-รูทิโนไซด์ มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น การเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอนโธไซยานินส์สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงสีที่สังเกตได้ โดยเมื่อผลหม่อนยังอ่อนอยู่จะมีสีเขียวซึ่งพบแอนโธไซยานินส์ทั้งหมดในปริมาณที่น้อยมาก และเมื่อเจริญเติบโตมากขึ้นจะมีสีชมพู สีแดง และสีม่วงเข้ม ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากผลไม้ที่มีสีแดงส่วนใหญ่แล้วจะมีการสะสมแอนโธไซยานินส์และมีการเสื่อมสลายของคลอโรฟิลล์ เมื่อระยะการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น (ธนะบูลย์, 2548; Mozetic et al., 2004) และการที่สายพันธุ์ต่างกันทำให้มีปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด ไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ และไซยานิดิน-3-รูทิโนไซด์ต่างกัน อาจเนื่องมาจากความแตกต่างทางพันธุกรรม (Lima et al., 2005) ความแตกต่างทางพันธุกรรมนี้อาจทำให้มีการผลิตสารตั้งต้นหรือเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกได้ต่างกัน อีกทั้งการทำงานของเอนไซม์ก็อาจต่างกัน ซึ่งเป็นสาเหตุให้มีปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด ไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ และไซยานิดิน-3-รูทิโนไซด์ต่างกัน Hakkinen (2000) รายงานว่าปริมาณเอนไซม์ การทำงานหรือกิจกรรมของเอนไซม์ การทำงานร่วมกันของเอนไซม์ และปริมาณสารตั้งต้น

คือสิ่งสำคัญที่ควบคุมกลไกการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก อีกทั้งความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเนื่องมาจากสาเหตุอื่นได้อีก เช่น แสงอาทิตย์ ปริมาณน้ำฝน ภูมิประเทศ ดิน ความอุดมสมบูรณ์ของดิน และฤดูกาล เป็นต้น (Lima et al., 2005; Pawlowska et al., 2008)

สรุป

สายพันธุ์และระยะการเจริญเติบโตมีผลต่อแอนโธไซยานินส์ของผลหม่อน แอนโธไซยานินส์ชนิดหลักของผลหม่อนทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ ไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์และไซยานิดิน-3-รูทิโนไซด์ โดยระยะสุกเต็มที่ของสายพันธุ์กำแพงแสน-เอ็มบี-42-1 มีปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด และไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์สูงที่สุด ในขณะที่สายพันธุ์กำแพงแสน-เอ็มบี-42-1 และบุรีรัมย์ 60 มีปริมาณไซยานิดิน-3-รูทิโนไซด์มากกว่าสายพันธุ์เชียงใหม่ เมื่อผลหม่อนมีการเจริญเติบโตมากขึ้น ปริมาณแอนโธไซยานินส์ทั้งหมด ไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ และไซยานิดิน-3-รูทิโนไซด์เพิ่มขึ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนงานวิจัยจากโครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว.ร่วมกับสำนักงานส่งเสริมวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม(สสว.) เพื่อการตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติและนานาชาติ และศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ปราโมทย์ สฤษดิ์นิรันดร์ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้ความอนุเคราะห์ผลหม่อนสำหรับทำการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ธนะบูลย์ สัจจาอนันตกุล. 2548. เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผลิตผลสดเกษตร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. (อัดสำเนา)

Chantanawarangoon, S. 2005. Characterization and concentration of phenolic compounds in tart cherry and plum juices. Ph.D. Thesis, Cornell University.

Giusti, M.M. and R. E. Wrolstad. 2005. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopoy, pp. 19-31. In R.E. Wrolstad, T.E. Acree, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwartz, C.F. Shoemaker, D. Smith and P. Sporns, eds. Handbook of Food Analytical Chemistry. Wiley-Interscience, Hoboken, New Jersey.

Hakkinen, S. 2000. Flavonols and phenolic acids in berries and berry product. Ph.D. Thesis, Kuopio University.

Kim, D.O., K.W. Lee, H.J. Lee and C.Y. Lee. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50: 3713-3717.

Lima, V.L.A.G., E.A. Melo, M.I.S. Maciel, F.G. Prazeres, R.S. Musser and D.E.S. Lima. 2005. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. Food Chemistry. 90: 565-568.

Mozetic, B., P. Trebse, M. Simcic and J. Hribar. 2004. Changes of anthocyanins and hydroxycinnamic acids affecting the skin colour during maturation of sweet cherries (*Prunus avium* L.). Lebensmittel Wissenschaft and Technology. 37: 123-128.

Pawlowska, A.M., W. Oleszek and A. Braca. 2008. Quali-quantitive analyses of flavonoids of *Morus nigra* L. and *Morus alba* L. (Moraceae) fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56: 3377-3380.

Rodriguez-Saona, L.E. and R.E. Wrolstad. 2005. Extraction, isolation, and purification of anthocyanins, pp. 7-17. In R.E. Wrolstad, T.E. Acree, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwartz, C.F. Shoemaker, D. Smith and P. Sporns, eds. Handbook of Food Analytical Chemistry. Wiley-Interscience, Hoboken, New Jersey.