The Journal of Applied Science **Vol. 18 No. 2: 79-96 [2019]**
วารสารวิทยาศาสตร์ประยุกต์ doi: 10.14416/j.appsci.2019.11.002
ISSN 1513-7805 (Printed in Thailand) ISSN 2586-9663 (Online)

Research Article

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์ต่าง ๆ และอายุที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยว

Antioxidant capacity in different cultivars of sunflower sprouts and their harvesting indices

มยุรา ทองช่วง[1]* ฉัตรกมล คุณสมบัติ[2] รุ้งนภา โต๊ะทอง[2] วรรณี นาคนาวา[2] กิติศาสตร์ กระบวน[2]
วชิราภรณ์ อาชวาคม[1] และ นุชนาถ วุฒิประดิษฐกุล[3]

Mayura Thongchuang[1]*, Chatkamol Kunsombat[2], Rungnapa Taothong[2], Wannee Naknawa[2], Kitisart Kraboun[2], Vachiraporn Ajavakom[1] and Nuchanat Wutipraditkul[3]

[1]ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง เขตบางกะปิ กรุงเทพฯ 10240

[2]สาขาวิชาเทคโนโลยีและการจัดการความปลอดภัยของอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ เขตสาทร กรุงเทพฯ 10120

[3]ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

[1]Department of Chemistry, Faculty of Science, Ramkhamhaeng University, Bang Kapi, Bangkok 10240, Thailand

[2]Division of Food Safety Management and Technology, Department of Science, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Krungthep, Sathon, Bangkok 10120, Thailand

[3]Department of Biochemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok 10330, Thailand

***E-mail**: mayura.t@rumail.ru.ac.th

Received: 21/07/2019; Revised: 29/10/2019; Accepted: 14/11/2019

บทคัดย่อ

ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความใส่ใจในการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพมากขึ้น การบริโภคต้นอ่อนพืชจึงได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นเนื่องจากต้นอ่อนพืชให้คุณค่าทางโภชนาการสูงกว่าเมล็ดพืช ต้นอ่อนทานตะวันนับเป็นต้นอ่อนพืชที่ได้รับความนิยมอย่างมาก เนื่องจากอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการและสารพฤกษเคมี เช่น สารในกลุ่มฟีนอลิก วิตามิน และสารสีต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการดูแลสุขภาพและการป้องกันโรค งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ต้นอ่อนทานตะวันและอายุของต้นอ่อนทานตะวันที่เหมาะสมสำหรับการเก็บเกี่ยวเพื่อให้ผู้บริโภคได้รับสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด โดยคัดเลือกจากต้น

อ่อนทานตะวัน 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ผู้บริโภคนิยมรับประทานในท้องตลาดประเทศไทย โดยระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวต้นอ่อน คือ ขณะที่ต้นอ่อนอายุ 5 7 9 และ 14 วัน ผู้วิจัยได้ศึกษาการเจริญของต้นอ่อน ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารสำคัญที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณคลอโรฟิลล์ และปริมาณแคโรทีนอยด์ พบว่า ในระยะเวลา 14 วัน สายพันธุ์แปซิฟิกมีอัตราการเจริญสูงที่สุด รองลงมาคือสายพันธุ์จัมโบ้ และอาตูเอล (0.20 0.18 และ 0.16 กรัมน้ำหนักสดต่อวัน ตามลำดับ) จากการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging และการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด พบว่า สายพันธุ์แปซิฟิกอายุ 5 วัน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเท่ากับ 14.38 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด และมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 73.09 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ในการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ พบว่า ต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิกอายุ 14 วันมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และแคโรทีนอยด์สูงที่สุด เท่ากับ 0.37 0.12 0.57 และ 7.4 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ดังนั้น เพื่อให้ผู้บริโภคได้รับสารที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากต้นอ่อนทานตะวันมากที่สุด สายพันธุ์และอายุของต้นอ่อนทานตะวันที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวคือ สายพันธุ์แปซิฟิก อายุ 5 วัน จะเห็นได้ว่าจีโนไทป์ของเมล็ดทานตะวันสายพันธุ์ต่าง ๆ มีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวัน และสารที่น่าจะเป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging คือ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

คำสำคัญ: ต้นอ่อนทานตะวัน, ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ, สารฟีนอลิก, คลอโรฟิลล์, แคโรทีนอยด์

Abstract

Nowadays, consumers pay more attention to healthy food consumption. Consumption of crop sprout has been increasing in popularity. The crop sprouts provide higher nutritional value than seeds. Sunflower sprout is considered a favored sprout due to its rich nutrition and phytochemicals such as phenolic compounds, vitamins and various pigments, especially antioxidant activity substances, the important roles in human health care and disease prevention. This research aimed to investigate three sunflower cultivars to select the proper cultivar and its age period for harvesting to receive the highest antioxidant capacity. Three different sunflower cultivars (*Helianthus annuus* L. cvs. Jumbo, Pacific and Artuel), that consumers prefer in Thai market, were elucidated by four harvesting time: 5, 7, 9 and 14 days. The studies of growth, the amount of important substances in relation to antioxidants including total phenolic compound, chlorophyll, carotenoid and antioxidant capacity were carried out. The results revealed that within 14 days of cultivation, cv. Pacific sprout showed the highest growth rate,

followed by cvs. Jumbo and Artuel (0.20, 0.18 and 0.16 g fresh weight per day, respectively). An antioxidant capacity by DPPH free radical scavenging assay and total phenolic content analysis also indicated that 5-day-old cv. Pacific sprout had the highest antioxidant capacity (14.38 milligrams equivalent of ascorbic acid per 100 grams of fresh weight) with high total phenolic content to 73.09 mg equivalent of gallic acid per 100 grams of fresh weight. In the analysis of chlorophyll content and carotenoid content, cv. Pacific sunflower sprout for 14 days showed the highest of chlorophyll a, total chlorophyll and carotenoid contents at 0.37, 0.12, 0.57 and 7.4 mg per gram of fresh weight, respectively. To obtain the most antioxidants from sunflower sprout, cv. Pacific sunflower sprout of 5 days was suitable for harvesting. This study confirmed that genotype of sunflower seed affected an antioxidant capacity of sunflower sprout. Probably, the dominant substances in antioxidant capacity by DPPH free radical scavenging assay are total phenolic compounds.

Keywords: sunflower sprout**,** antioxidant capacity**,** phenolic compound, chlorophyll, carotenoid

บทนำ

ในปัจจุบันการบริโภคต้นอ่อนของเมล็ดพืชชนิดต่าง ๆ ได้รับความนิยมกันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้บริโภคที่ใส่ใจดูแลสุขภาพซึ่งนิยมรับประทานผักและผลไม้สดมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการปรุงสุกหรือแปรรูป และจากการตรวจพบสารเคมีตกค้างในผักและผลไม้สดในท้องตลาด ยิ่งส่งผลให้ผู้บริโภคส่วนหนึ่งเกิดความกังวลในสุขภาพจึงเลือกที่จะบริโภคหรือเพาะต้นอ่อนจากเมล็ดพืช เช่น เมล็ดทานตะวัน เมล็ดข้าวกล้อง เมล็ดถั่วเขียว เมล็ดข้าวสาลี หรือเมล็ดถั่วลันเตา (โต้วเหมี่ยว) เพื่อบริโภคเอง ซึ่งการเพาะต้นอ่อนมีกรรมวิธีที่ง่ายไม่ซับซ้อน ทำให้ผู้บริโภคสามารถรับประทานผักสดที่สะอาด ปลอดภัย ราคาถูก และสามารถกำหนดระยะเวลาที่ต้องการเก็บเกี่ยวผลผลิตได้

การเพาะต้นอ่อนหรือการเกิดต้นอ่อนในระยะแรกของการงอกจากเมล็ดพืช เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของสารเมแทบอไลต์ (metabolites) ต่าง ๆ ในเมล็ดพืชโดยการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการแคทาบอลิซึมและการย่อยของสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ที่สะสมอยู่ในเมล็ดพืช ส่งผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของน้ำตาล กรดแอมิโนอิสระ กรดไขมันบางชนิด เช่น กรดไลโนเลอิก กรดอินทรีย์ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ในขณะที่มีการลดลงของปริมาณสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ (antinutritional factor) เช่น สารยับยั้งโปรตีเอส (protease inhibitor) แทนนิน (tannin) และ เลคติน (lectin) เป็นต้น (Kranner & Colville, 2011; Aguilera et al., 2013; ErbaŞ et al., 2016; Benincasa et al., 2019) นอกจากการเพาะต้นอ่อนจะเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดให้สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ยังไม่งอกแล้ว (Villaluenga et al., 2010; Pajak et al., 2014) ต้นอ่อนยังมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเมล็ดอีกด้วย (Pas´ko et al., 2009)

ต้นอ่อนทานตะวันนับเป็นชนิดของต้นอ่อนที่ได้รับความนิยมอย่างมาก เนื่องจากต้นอ่อนทานตะวันมีสารที่มีคุณสมบัติทางด้านพฤกษเคมี (phytochemicals) หลายชนิด เช่น สารในกลุ่มฟีนอลิก (phenolic compounds) (เช่น caffeic acid, chlorogenic acid, caffeoylquinic acid, cynarine, gallic acid) ฟลาโวนอยด์ (เช่น heliannone, quercetin, luteolin, kaempferol) สารสี (เช่น chlorophyll, carotene, xanthophyll) วิตามิน (เช่น วิตามิน A, วิตามิน B, วิตามิน C, วิตามิน E, niacin) และธาตุ (เช่น calcium, iron, magnesium, phosphorus) ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการดูแลสุขภาพและการป้องกันโรคต่าง ๆ โดยมักใช้ในการแพทย์พื้นบ้าน (traditional medicine) เนื่องด้วยสารพฤกษเคมีเหล่านี้มีคุณสมบัติที่น่าสนใจเกี่ยวกับการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) การต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial) การบรรเทาอาการของโรคเบาหวาน (antidiabetic) การบรรเทาอาการของโรคความดันโลหิตสูง (antihypertensive) การต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) และ การสมานบาดแผล (wound healing) (Jiraungkoorskul, 2016; Guo et al., 2017) โดยสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดและต้นอ่อนทานตะวัน ได้แก่ วิตามิน E วิตามิน C แคโรทีนอยด์ และเอนไซม์ คือ catalase, glutathione dehydrogenase, guaiacol peroxidase, glutathione reductase (Guo et al., 2017) จากประโยชน์ทางโภชนาการและทางการแพทย์ดังกล่าวข้างต้น ต้นอ่อนทานตะวันจึงจัดเป็นอาหารฟังก์ชัน (functional foods) (Guo et al., 2017) และโภชนเภสัช (nutraceuticals) (Jiraungkoorskul, 2016) ที่กำลังได้รับความนิยม

ในประเทศไทย สายพันธุ์ของเมล็ดทานตะวันที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดมีหลายชนิด มีทั้งพันธุ์ผสมเปิด พันธุ์สังเคราะห์ และพันธุ์ลูกผสม ผู้วิจัยพบว่าสายพันธุ์เมล็ดทานตะวันที่มีการนำมาปลูกเป็นต้นอ่อนทานตะวันในท้องตลาดของประเทศไทย ได้แก่ สายพันธุ์อาตูเอล (cv. Artuel) สายพันธุ์แปซิฟิก (cv. Pacific) สายพันธุ์จัมโบ้ (cv. Jumbo) สายพันธุ์สุรนารี (cv. Suranaree) สายพันธุ์เชียงใหม่ (cv. Chiangmai) และ สายพันธุ์อะควอร่า (cv. Aquara) เป็นต้น โดยสายพันธุ์เมล็ดทานตะวันที่ได้รับความนิยมอย่างสูงในการนำมาเพาะเป็นต้นอ่อนทานตะวัน คือ จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล จากการศึกษาวิจัยต้นอ่อนทานตะวันในประเทศไทย พบว่า มีงานวิจัยที่รายงานการศึกษาปริมาณวิตามิน C คลอโรฟิลล์ เส้นใยอาหาร สารฟีนอลิก การต้านอนุมูลอิสระในสายพันธุ์อาตูเอล ซึ่งสรุปว่า ต้นอ่อนทานตะวันอายุ 5 วัน มีความเหมาะสมในการเก็บเกี่ยวเพื่อบริโภคมากที่สุด (Pagamas & Krongkaomasan, 2013; Paseephol et al., 2015) นอกจากนั้นยังมีงานวิจัยที่ศึกษาความสามารถในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Puwaphut, 2016) และการยืดอายุการเก็บรักษาต้นอ่อนทานตะวันพร้อมบริโภค (Boonrod & Suthiluk, 2015) โดยไม่ได้ระบุว่าเป็นการศึกษาในต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์ใด เนื่องจากไม่มีหลักฐานที่แน่ชัดว่าต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก หรืออาตูเอล สายพันธุ์ใดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) บางชนิดจากสายพันธุ์ทั้ง 3 นี้ในขณะที่อายุของต้นอ่อนแตกต่างกัน เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการตัดสินใจของผู้ประกอบการและผู้บริโภคในการเลือกสายพันธุ์และระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวผลผลิต ทั้งนี้ เพื่อให้ผู้บริโภคได้รับประโยชน์จากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงสุด

ดังนั้น ผู้วิจัยมีความสนใจศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวัน 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล ซึ่งเป็นทานตะวันสายพันธุ์ลูกผสมที่ผู้บริโภคนิยมรับประทาน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกว่าสายพันธุ์ใดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging มากที่สุด รวมทั้งศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวต้นอ่อนทานตะวันต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระนั้น โดยระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวต้นอ่อน คือ ขณะต้นอ่อนมีอายุ 5 7 9 และ 14 วัน จากนั้นศึกษาการเจริญของต้นอ่อนโดยการหาน้ำหนักสด (fresh weight) และน้ำหนักแห้ง (dry weight) วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging และวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) ปริมาณคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) และปริมาณแคโรทีนอยด์ (carotenoid)

วิธีการทดลอง

1. วัสดุอุปกรณ์ ได้แก่

1.1 เมล็ดทานตะวัน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์จัมโบ้และอาตูเอล จากบริษัท ซินเจนทา ซีดส์ จำกัด สายพันธุ์แปซิฟิก จากศูนย์วิจัยพืชไร่ จังหวัดนครราชสีมา

เมล็ดทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ มีอายุหลังการเก็บเกี่ยวใกล้เคียงกัน และมีการคัดเลือกขนาดของเมล็ดพันธุ์ให้ใกล้เคียงกัน หลังจากได้รับเมล็ดพันธุ์จากแหล่งเมล็ดพันธุ์มีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ไว้ในตู้เย็นเพื่อรักษาอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียสตลอดเวลา โดยเมล็ดทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์มีอัตราการงอกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยมีอัตราการงอกมากกว่าร้อยละ 95

1.2 ดินสีดา จากห้างหุ้นส่วนจำกัด ส.สมานท่าทราย

2. วิธีดำเนินการทดลอง

การเพาะต้นอ่อนทานตะวัน

นำเมล็ดต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล แช่ในน้ำสะอาดเป็นเวลา 8 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาให้เทน้ำออก จากนั้นห่อเมล็ดด้วยผ้าสะอาดที่ชุ่มน้ำหมาด ๆ และนำมาวางในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เมล็ดทานตะวันมีรากงอก

ถาดหลุมเพาะต้นกล้าที่ใช้มีขนาด 170 x 245 ตารางมิลลิเมตร ใน 1 ถาด ประกอบด้วยหลุมจำนวน 20 หลุม โดยใช้ถาดหลุม 2 ถาดต่อ 1 สายพันธุ์ เมื่อเตรียมดินเรียบร้อยแล้ว วางเมล็ดทานตะวันที่งอกลงบนดินในแต่ละหลุมจำนวน 10-12 เมล็ดต่อหลุม ให้เมล็ดกระจายทั่วหลุม วางถาดหลุมลงในกระบะที่มีน้ำหล่ออยู่ด้านล่างซึ่งมีระดับน้ำสูงสามในสี่ส่วนของถาดหลุม จากนั้นนำมาวางในห้องสำหรับเพาะเพื่อควบคุมอุณหภูมิที่ 25±2 องศาเซลเซียส ค่าความเข้มของแสง (light intensity) ที่ 70-100 μmol/m^2/sec ให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน หมั่นเติมน้ำในกระบะเพื่อรักษาระดับน้ำ เก็บเกี่ยวต้นอ่อนทานตะวันเมื่อต้นอ่อนมีอายุ 5 7 9 และ 14 วัน ตามลำดับ

ในการทดลองได้ทำการทดลอง 5 ซ้ำ โดยเมื่อระยะเวลาการเจริญของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ มีอายุ 5 7 9 และ 14 วัน ทำการเก็บตัวอย่างสายพันธุ์ละ 5 หลุม อย่างสุ่ม ถือเป็นหลุมละ 1 ซ้ำ โดยในการเก็บตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์สารสำคัญต่าง ๆ ใน 1 ซ้ำ นั้น ทำได้โดยการตัดต้นอ่อนทานตะวันจาก 1 หลุม ตั้งแต่ส่วนที่โผล่จากผิวดินแล้วทำให้ต้นอ่อนทานตะวันมีขนาดเล็กลง โดยให้มีความยาวไม่เกิน 1 เซนติเมตร แช่ในไนโตรเจนเหลว จากนั้นจึงเก็บตัวอย่างที่ลดขนาดแล้วโดยการห่อด้วยกระดาษฟอยล์ ขนาดของกระดาษฟอยล์หลังห่อเสร็จเรียบร้อยแล้วมีขนาดไม่เกิน 10x10 ตารางเซนติเมตร เก็บตัวอย่างที่ถูกห่อด้วยกระดาษฟอยล์ไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ เมื่อต้องการวิเคราะห์สารสำคัญจึงนำตัวอย่างมาชั่งให้มีปริมาณตามต้องการในหลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ จำนวน 3 หลอดต่อ 1 ซ้ำ จากนั้นจึงนำมาบดให้ละเอียดในไนโตรเจนเหลว แล้วจึงทำการสกัดสารสำคัญต่อไป

การศึกษาการเจริญของต้นอ่อนทานตะวัน

การหาน้ำหนักสด เมื่อระยะเวลาการเจริญของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ มีอายุ 5 7 9 และ 14 วัน ทำการเก็บต้นอ่อนทานตะวันที่สมบูรณ์ (ไม่รวมราก) สายพันธุ์ละ 5 หลุมอย่างสุ่ม ถือเป็นหลุมละ 1 ซ้ำ มาชั่งน้ำหนัก

การหาน้ำหนักแห้ง โดยนำต้นอ่อนทานตะวันที่หาน้ำหนักสดแล้วมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนต้นอ่อนทานตะวันมีน้ำหนักคงที่ นำออกมาเก็บในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนัก

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging

นำต้นอ่อนทานตะวันปริมาณ 0.05 กรัมในหลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร มาบดให้ละเอียดในไนโตรเจนเหลว สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปปั่นแยกส่วนใสด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เมื่อได้สารสกัดแล้วนำมาวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical scavenging ของ Brand-Williams et al. (1995) โดยใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (microplate reader) นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และแสดงผลความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ชั่งน้ำหนักต้นอ่อนทานตะวันปริมาณ 0.05 กรัมในหลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำมาบดในไนโตรเจนเหลว สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แยกส่วนใสด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เมื่อได้สารสกัดนำมาทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งเป็นวิธีการที่ดัดแปลงจาก Chan et al. (2009) หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้

โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) และแสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์

วิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และแคโรทีนอยด์ โดยนำต้นอ่อนทานตะวันปริมาณ 0.05 กรัมมาบดในไนโตรเจนเหลว จากนั้นนำมาสกัดด้วย *N,N*-dimethylformamide (DMF) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนใสออกจากตะกอนที่ความเร็วรอบ 10,000g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ ที่ความยาวคลื่น 461 647 และ 664 นาโนเมตร และคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และ แคโรทีนอยด์ตามทฤษฎีของ Arnon (1949) ดังสมการด้านล่างนี้ แสดงปริมาณของสารสีชนิดต่าง ๆ ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร) = $12.70(A_{664}) - 2.79(A_{647})$

ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (มิลลิกรัมต่อลิตร) = $20.70(A_{647}) - 4.62(A_{664})$

ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร) = $17.90(A_{647}) + 8.08(A_{664})$

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) = $A_{461} \times 200$

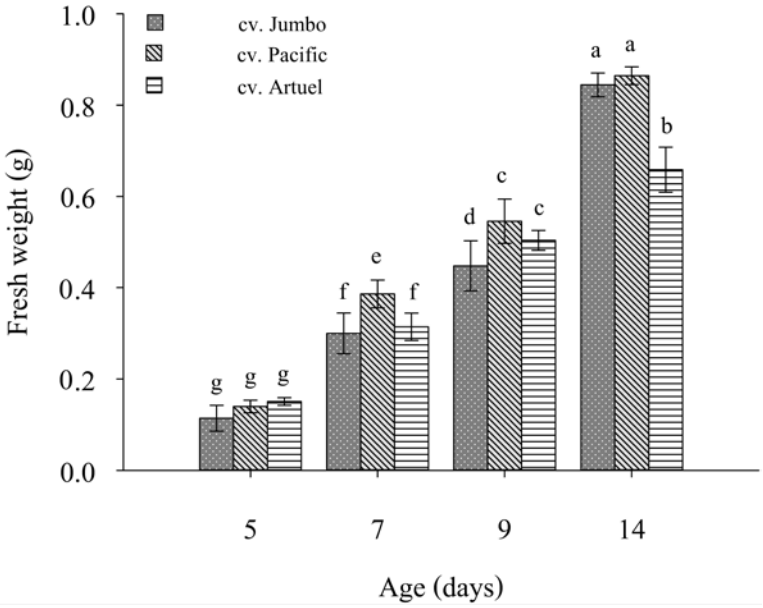
การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองตามแผนการทดสอบแบบ Completely Randomized Design และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

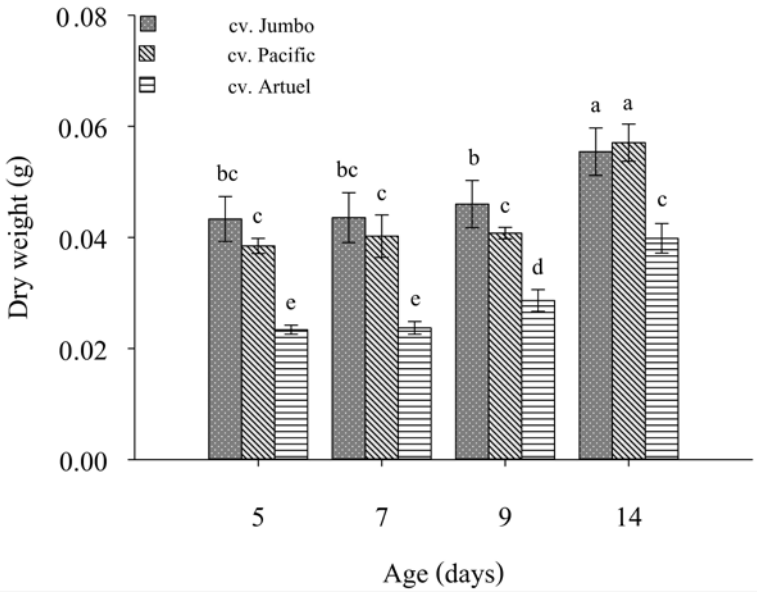
1. การเจริญของต้นอ่อนทานตะวัน

จากการศึกษาการเจริญของต้นอ่อนทานตะวัน 3 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล ณ อายุ 5 7 9 และ 14 วัน โดยการชั่งน้ำหนักสด พบว่า น้ำหนักสดของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตามอายุที่เพิ่มขึ้น (รูปที่ 1) ในระยะเวลาการเจริญ 14 วัน สายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล มีอัตราการเจริญ เท่ากับ 0.18 0.20 และ 0.16 กรัมน้ำหนักสดต่อวัน สายพันธุ์แปซิฟิกจึงมีอัตราการเจริญสูงที่สุด น้ำหนักสดของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิกและจัมโบ้อายุ 14 วันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยสายพันธุ์แปซิฟิกและจัมโบ้มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อต้น เท่ากับ 0.86 และ 0.85 กรัม ตามลำดับ ส่วนสายพันธุ์อาตูเอลอายุ 14 วัน มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 0.66 กรัมเท่านั้น และน้ำหนักสดของต้นอ่อนทานตะวันที่มีอายุ 5 วันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)



รูปที่ 1. น้ำหนักสดของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักสดของต้นอ่อนทานตะวันแต่ละสายพันธุ์ ณ วันที่ 14 กับวันที่ 5 พบว่าสายพันธุ์อาตูเอลมีการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักสดน้อยที่สุด (0.51 กรัม) เมื่อเปรียบเทียบกับอีก 2 สายพันธุ์ (0.72-0.73 กรัม) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Paseephol et al. (2015) ที่รายงานว่าน้ำหนักสดของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์อาตูเอลเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยหลังจากวันที่ 5 เป็นต้นไป ซึ่งอาจเกิดจากสารอาหารที่เก็บสะสมไว้ในเมล็ดมีปริมาณลดลง เมื่อนำต้นอ่อนทานตะวันทั้งสามสายพันธุ์ที่มีอายุต่าง ๆ ไปอบแห้งจนมีน้ำหนักคงที่ ได้ผลน้ำหนักแห้งแสดงดังรูปที่ 2 จะเห็นได้ว่าสายพันธุ์อาตูเอลเมื่ออายุเพิ่มขึ้นน้ำหนักแห้งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทิศทางเดียวกับน้ำหนักสด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างน้ำหนักสดของสายพันธุ์จัมโบ้และแปซิฟิกที่อายุ 9 วันในรูปที่ 1 และน้ำหนักแห้งของสายพันธุ์จัมโบ้และแปซิฟิกที่อายุ 9 วันในรูปที่ 2 พบว่าสายพันธุ์จัมโบ้อายุ 9 วัน มีน้ำหนักแห้ง (0.046 กรัมต่อต้น) มากกว่าสายพันธุ์แปซิฟิก (0.041 กรัมต่อต้น) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่สายพันธุ์จัมโบ้มีน้ำหนักสดน้อยกว่าสายพันธุ์แปซิฟิก อาจเป็นไปได้ว่าสายพันธุ์จัมโบ้อายุ 9 วัน มีน้ำหรือสารที่ระเหยได้เป็นองค์ประกอบน้อยกว่าสายพันธุ์แปซิฟิกที่อายุเท่ากัน ทั้งนี้เมื่อสังเกตจากลักษณะภายนอกของต้นอ่อนจะพบว่าต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้มีลำต้นและใบที่อวบโตและแข็งแรงมากกว่าสายพันธุ์แปซิฟิก อาจกล่าวได้ว่าต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้มีส่วนที่เป็นวัตถุแห้ง (dry matter) สูงกว่าสายพันธุ์แปซิฟิก แสดงให้เห็นว่าความแตกต่างของการเจริญและพัฒนาการของพืชเกิดจากปัจจัยภายในต้นพืช เช่น พันธุกรรม (genetic) เป็นต้น (Techapinyawat, 2005)

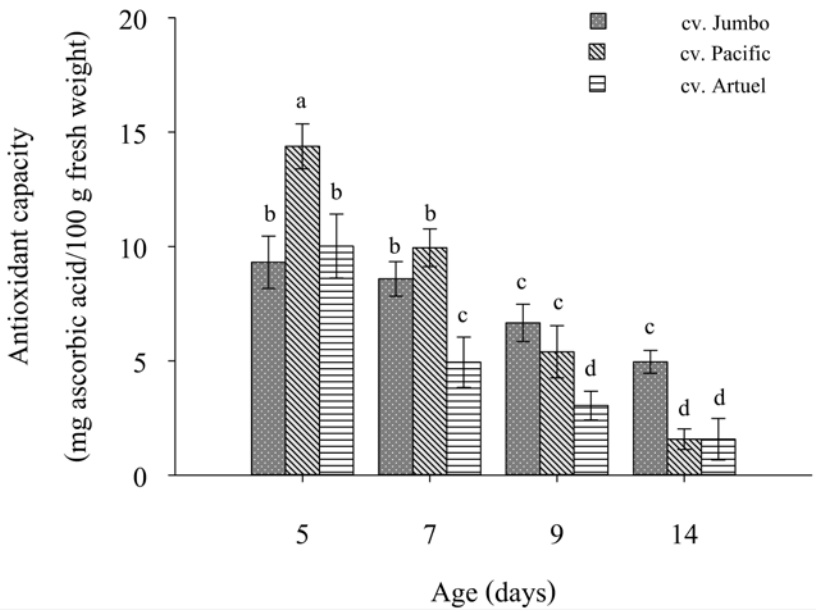


รูปที่ 2. น้ำหนักแห้งของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

2. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

จากการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging ของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ที่อายุต่าง ๆ โดยใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐาน ได้ผลแสดงดังรูปที่ 3 พบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ มีแนวโน้มลดลงหลังจากมีอายุ 5 วัน โดยต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิกอายุ 5 วัน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ 14.38 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับสายพันธุ์จัมโบ้และอาตูเอลซึ่งมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 9.31 และ 10.02 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ แต่เมื่อต้นอ่อนมีอายุ 7 และ 9 วัน พบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิกกับจัมโบ้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อระยะเวลาในการเพาะต้นอ่อนทานตะวันเพิ่มขึ้น เห็นได้ว่าสายพันธุ์แปซิฟิกมีความสามารถในต้านอนุมูลอิสระลดลงอย่างชัดเจน ในขณะที่สายพันธุ์จัมโบ้และสายพันธุ์อาตูเอลมีความสามารถในต้านอนุมูลอิสระลดลงแบบค่อยป็นค่อยไป และจากการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน ได้ผลดังรูปที่ 4 พบว่า ต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์เมื่อมีอายุ 5 วัน มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์

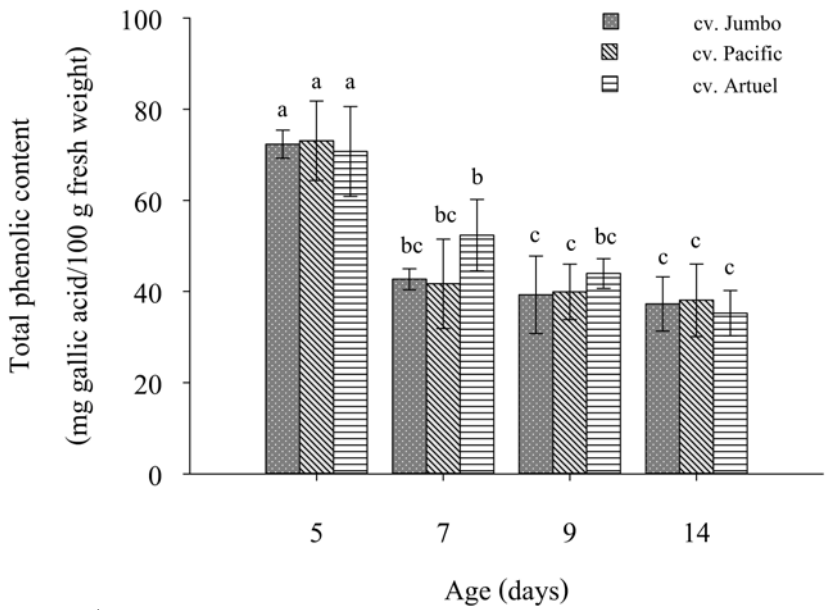
จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 72.31 73.09 และ 70.75 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ แต่จากการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (รูปที่ 3) ที่พบว่าต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิกมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอีก 2 สายพันธุ์ ถึงแม้จะมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดใกล้เคียงกันกับอีก 2 สายพันธุ์ก็ตาม ทั้งนี้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนต่าง ๆ นอกจากจะเกิดจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารฟีนอลิกทั้งหมด เช่น โทโคฟีรอล ฟลาโวนอยด์และกรดฟีนอลิกแล้ว ยังเกิดจากฤทธิ์ของเพปไทด์บางชนิด คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มเอนไซม์ เช่น catalase, glutathione oxidase และ guaiacol peroxidase ได้อีกด้วย (Guo et al., 2017)



รูปที่ 3. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์มีอายุเพิ่มขึ้น ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มลดลง ซึ่งสอดคล้องกับหลายงานวิจัยที่รายงานว่าการเจริญของต้นอ่อนหรือการงอกจากเมล็ดที่รับประทานได้ เช่น บรอกโคลี ทานตะวัน ข้าวสาลี ถั่วเลนทิล มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเมื่อคำนวณในฐานน้ำหนักสดเมื่อต้นอ่อนมีอายุเพิ่มขึ้น เนื่องจากการดูดน้ำของเมล็ด (imbibition) การเจริญของต้นอ่อน และการดูดซึมน้ำ (water absorption) ที่เพิ่มขึ้น มีผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดถูกเจือจางลง (Randhir et al., 2004; Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2010; Pérez-Balibrea et al., 2011) เช่นเดียวกับผลการทดลองของผู้วิจัยที่พบว่า เมื่อต้นอ่อนทานตะวันมีอายุมากขึ้น

ปริมาณน้ำหรือสารที่ระเหยได้ที่เป็นองค์ประกอบของต้นอ่อนมีปริมาณเพิ่มขึ้น (เปรียบเทียบจากรูปที่ 1 และรูปที่ 2 ตามลำดับ) ปริมาณน้ำที่เพิ่มขึ้นในต้นอ่อนตามระยะเวลาของการเจริญส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเจือจางลง ดังนั้น การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในฐานน้ำหนักแห้งจะเป็นการกำจัดอิทธิพลของความชื้นหรือน้ำออกไป นอกจากนั้นอาจอธิบายได้ว่าการลดลงของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเกิดจากการพัฒนาและการเจริญของพืชที่มีการนำสารฟีนอลิก เช่น ferulic acid และ *p*-coumaric acids ไปรวมตัวกับสารอินทรีย์ชนิดอื่น เช่น คาร์โบไฮเดรตหรือโปรตีน เพื่อสร้างเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช เช่น ลิกนิน หรือเซลลูโลส (Hung et al., 2012) จากผลการทดลองนี้สามารถกล่าวได้ว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวันมีแนวโน้มลดลงเมื่ออายุเพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่ลดลง เช่นเดียวกับผลงานวิจัยของ Pérez-Balibrea et al. (2011) ที่รายงานว่าเมื่อระยะเวลาในการเพาะต้นอ่อนเพิ่มขึ้น สารฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของบรอกโคลีสายพันธุ์ที่แตกต่างกันมีแนวโน้มลดลงเช่นกัน



รูปที่ 4. ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

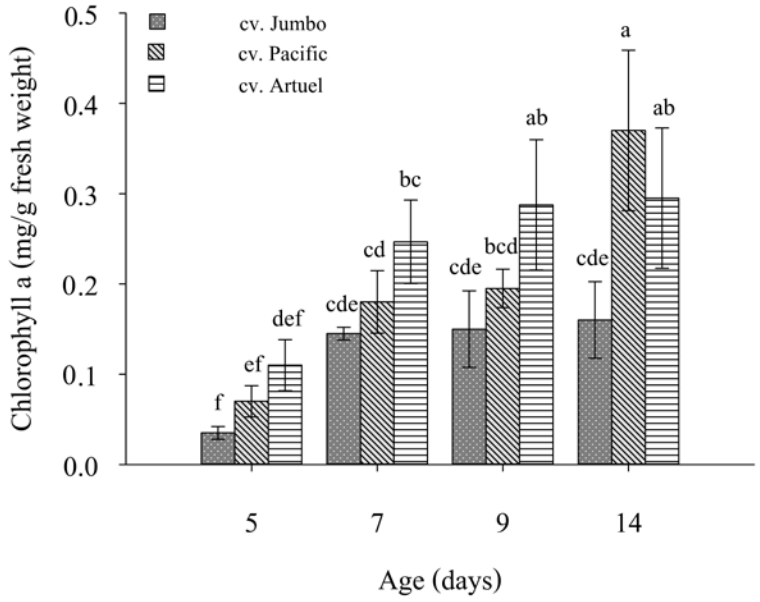
งานวิจัยของ Cho et al. (2008) ได้สรุปว่าในระยะที่เป็นต้นอ่อนทานตะวัน ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging ของทานตะวันจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ด เนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เมลาโทนิน และไอโซฟลาโวนทั้งหมด ดังนั้นในงานวิจัยนี้สารที่น่าจะเป็น

สารสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging คือ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เนื่องจากแอลกอฮอล์โดยเฉพาะเอทานอลและเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารประกอบพวกพอลิฟีนอล (Siriamornpun, 2014) ซึ่งในงานวิจัยนี้ใช้เอทานอลในการสกัดสารในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging และยังสอดคล้องกับที่มีรายงานว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระประเภทสารประกอบพอลิฟีนอล (Siriamornpun, 2014)

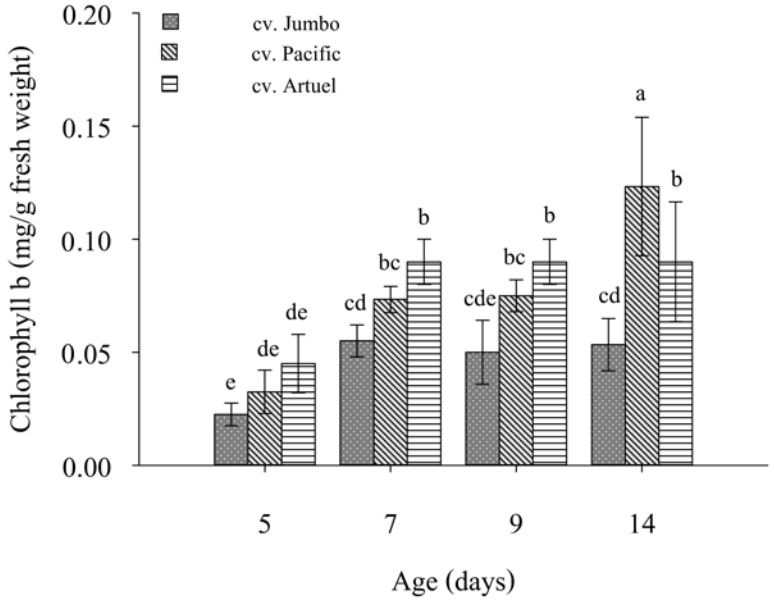
3. การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์

ผลการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และปริมาณแคโรทีนอยด์ของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ที่อายุต่าง ๆ แสดงดังรูปที่ 5-8 ตามลำดับ พบว่า ต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ที่มีอายุ 5-9 วันเท่ากัน มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และปริมาณแคโรทีนอยด์ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และพบว่าปริมาณสารสีเหล่านี้ของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์มีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเจริญ โดยสายพันธุ์แปซิฟิกอายุ 14 วัน มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุด เท่ากับ 0.37 0.12 0.57 และ 7.40 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับที่มีรายงานวิจัยว่า ในช่วงอายุแรกของการเจริญของพืช ปริมาณของธาตุหลัก ธาตุรอง และสารสีในการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชจะมีปริมาณเพิ่มขึ้น (Pinto et al., 2014) และสอดคล้องกับการศึกษาของ Pagamas & Krongkaomasan (2013) ที่พบว่า ต้นอ่อนทานตะวันช่วงอายุ 1-5 วัน มีปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นตามช่วงอายุที่มากขึ้น จากรูปที่ 5-8 จะเห็นได้ว่าเมื่ออายุของต้นอ่อนทานตะวันเพิ่มขึ้น ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นโดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณแคโรทีนอยด์ ทั้งนี้เนื่องจากอัตราส่วนของคลอโรฟิลล์ต่อแคโรทีนอยด์เป็นปัจจัยจำเป็นในการรักษากระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชให้เกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ หรืออาจกล่าวได้ว่า สมดุลระหว่างปริมาณของคลอโรฟิลล์ต่อแคโรทีนอยด์เป็นปัจจัยที่จำเป็นต่อกระบวนการรักษาสมดุลของพืช (homeostasis) นั่นเอง (Hannoufa & Hossain, 2012) คลอโรฟิลล์นับเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง แล้วยังถือได้ว่าเป็นแหล่งของธาตุที่สำคัญคือแมกนีเซียมอีกด้วย ส่วนแคโรทีนอยด์ ได้แก่ แคโรทีน (carotene) และ แซนโทฟิลล์ (xanthophyll) มีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์ในการเพิ่มการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อโรคต่าง ๆ เช่น มะเร็ง โรคหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น (Alda et al., 2011)

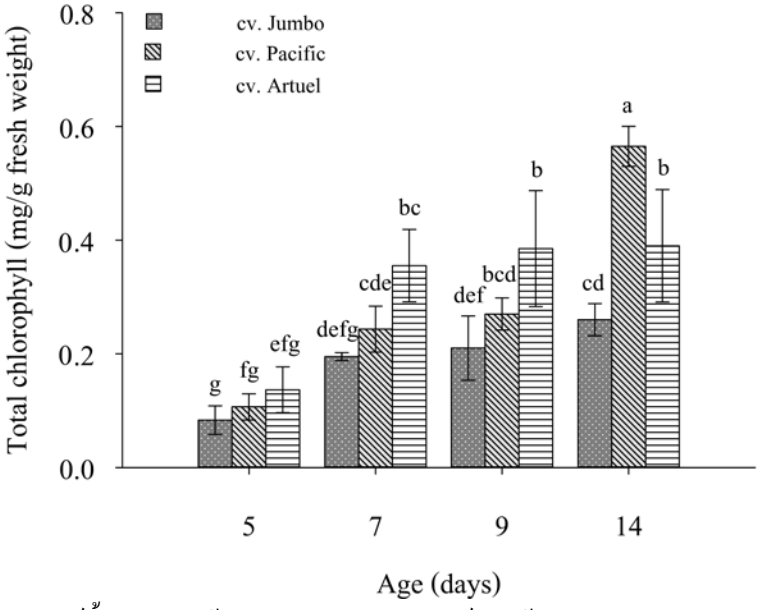
อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบผลความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (รูปที่ 3) กับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (รูปที่ 4) และปริมาณสารสีต่าง ๆ (รูปที่ 5-8) ของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ที่อายุต่าง ๆ อาจกล่าวได้ว่า คลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์อาจจะไม่ได้มีบทบาทหลักในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์เหล่านี้ เนื่องจากปริมาณสารสีเหล่านี้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อต้นอ่อนมีอายุเพิ่มขึ้น แต่ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนกลับลดลง



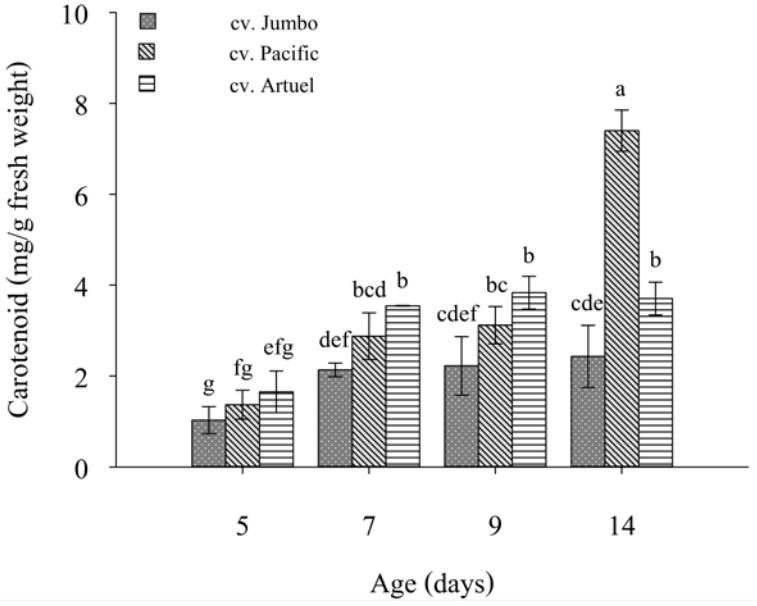
รูปที่ 5. ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)



รูปที่ 6. ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)



รูปที่ 7. ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)



รูปที่ 8. ปริมาณแคโรทีนอยด์ของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

จากผลการทดลอง ผู้วิจัยพบว่าต้นอ่อนทานตะวันอายุ 5 วัน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH free radical scavenging ได้ดีที่สุด โดยระยะการเจริญของต้นอ่อนทานตะวันที่วางจำหน่ายในท้องตลาดและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเป็นระยะที่ต้นอ่อนมีอายุ 4-7 วัน (Srisaad & Samrongyen, 2016) หรือ 6-9 วัน (Jiraungkoorskul, 2016) ซึ่งอยู่ในระยะที่ต้นอ่อนมีใบเลี้ยง 2 ใบ โดยหากปล่อยให้ต้นอ่อนเจริญต่อไปมากกว่านี้หรือจนกระทั่งอยู่ในระยะที่มีใบที่ 3 จะทำให้ต้นอ่อนแก่เกินไป ทำให้เหนียว มีรสขม และไม่อร่อย (Srisaad & Samrongyen, 2016; Jiraungkoorskul, 2016) ดังนั้น คุณภาพการรับประทานสด (สลัด) หรือปรุงสุกของต้นอ่อนทานตะวันอายุ 5 วัน จึงน่าจะเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการเจริญของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่า ต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิกมีอัตราการเจริญสูงที่สุด รองลงมาคือ สายพันธุ์จัมโบ้และอาตูเอล ตามลำดับ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์มีแนวโน้มลดลงเมื่อมีอายุเพิ่มขึ้น ต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิกอายุ 5 วัน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่สูงด้วยเช่นกัน ดังนั้นสารที่น่าจะเป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging คือ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด การศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า เมื่ออายุเพิ่มขึ้นต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ มีปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ดังนั้น เพื่อให้ผู้บริโภคได้รับสารที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากต้นอ่อนทานตะวันมากที่สุด สายพันธุ์และอายุของต้นอ่อนทานตะวันที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวคือ สายพันธุ์แปซิฟิกอายุ 5 วัน รองลงมาคือ สายพันธุ์จัมโบ้อายุ 5 วัน และสายพันธุ์อาตูเอลอายุ 5 วัน ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าลักษณะทางพันธุกรรมหรือจีโนไทป์ (genotype) ของเมล็ดทานตะวันสายพันธุ์ต่าง ๆ มีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวัน

เอกสารอ้างอิง

Aguilera, Y., Díaz, M. F., Jiménez, T., Jiménez, T., Benítez, V. & Herrera, T. et al. (2013). Changes in nonnutritional factors and antioxidant activity during germination of nonconventional legumes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(34), 8120-8125. doi: 10.1021/jf4022652

Alda, S., Camelia, M., Diana, D., Liana, A. & Nita, L. (2011). The dynamic of pigments level in sunflower sprouts after zinc compounds supplementing in growth. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, *15*(2), 212-216.

Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, *24*(1), 1-15. doi: 10.1104/pp.24.1.1

Benincasa, P., Falcinelli, B., Lutts, S., Stagnari, F. & Galieni, A. (2019). Sprouted grains: a comprehensive review. *Nutrients*, *11*(2), 29 pp. doi:10.3390/nu11020421

Boonrod, K. & Suthiluk, P. (2015). Effect of electrolyzed bubble water combined with packaging on quality monitoring and shelf life extension of ready-to-eat sunflower (*Helianthus annuus*) sprouts. *Agricultural Science Journal*, *46*(3) (Suppl.), 677-680. (in Thai)

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *28*(1), 25-30. doi: 10.1016/s0023-6438(95)80008-5

Cevallos-Casals, B. A. & Cisneros-Zevallos, L. (2010). Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chemistry, 119*(4), 1485-1490. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.09.030

Chan, E. W. C., Lim, Y. Y., Wong, S. K., Lim, K. K., Tan, S. P. & Lianto, F. S. et al. (2009). Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. *Food Chemistry*, *113*(1), 166-172. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.07.090

Cho, M. H., No, H. K. & Prinyawiwatkul, W. (2008). Chitosan treatments affect growth and selected quality of sunflower sprouts. *Journal of Food Science*, *73*(1), S70-S77. doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00607.x

ErbaŞ, S., Tonguç, M. & Şanli, A. (2016). Mobilization of seed reserves during germination and early seedling growth of two sunflower cultivars. *Journal of Applied Botany and Food Quality, 89*, 217-222. https://doi.org/10.5073/JABFQ.2016.089.028

Guo, S., Ge, Y. & Jom, K. M. (2017). A review of phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of the common sunfower seed and sprouts (*Helianthus annuus* L.) *Chemistry Central Journal*, *11*(95), 10 pp. doi: 10.1186/s13065-017-0328-7

Hannoufa, A. & Hossain, Z. (2012). Regulation of carotenoid accumulation in plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *1*(3), 198-202. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.023

Hung, P. V., Hatcher, D. W. & Barker, W. (2011) Phenolic acid composition of sprouted wheats by ultra-performance liquid chromatography (UPLC) and their antioxidant activities. *Food chemistry, 126*(4), 1896-901. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.12.015

Jiraungkoorskul, W. (2016). Review of nutraceutical uses of an antioxidant sunflower sprout, *Helianthus annuus*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, *9*(6), 21-23. doi: 10.22159/ajpcr.2016.v9i6.12874

Kranner, I. & Colville, L. (2011). Metals and seeds: biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, *72*(1), 93-105. doi: 10.1016/j.envexpbot.2010.05.005

Pagamas, P. & Krongkaomasan, T. (2013). Vitamin C, chlorophyll and fiber contents of sunflower sprouts at different stages. *Agricultural Science Journal*, *44*(3) (Suppl.), 142-145. (in Thai)

Pajak, P., Socha, R., Galkowska, D., Roznowski, J. & Fortuna, T. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food chemistry*, *143*, 300-306 doi: 10.1016/j.foodchem.2013.07.064

Paseephol, T., Jaifuai, P. & Nasoomfun, N. (2015). Changes in physical characteristics, total phenolics and antioxidant activity during growth of sunflower sprouts. *Agricultural Science Journal*, *46*(3/1) (Suppl.), 44-47. (in Thai)

Pas´ko, P., Barton´, H., Zagrodzki, P., Gorinstein, S., Fołta, M. & Zachwieja, Z. (2009) Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chemistry*, *115*(3), 994-998. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.01.037

Pérez-Balibrea, S., Moreno, D. A. & García-Viguera, C. (2011). Genotypic effects on the phytochemical quality of seeds and sprouts from commercial broccoli cultivars. *Food Chemistry*, *125*(2), 348-354. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.09.004

Pinto, E., Almeida, A. A., Aguiar, A. A. R. M. & Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2014). Changes in macrominerals, macrominerals, trace elements and pigments content during lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth: influence of soil composition. *Food Chemistry*, *152*, 603-611. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.023

Puwaphut, R., Yusuh, M. & Mekarat, S. (2015). Suitable period of young sunflower (*Helianthus annuus* L.) for the ability of bioactive compounds production. *Princess of Naradhiwas University Journal*, *8*(1), 90-100. (in Thai)

Randhir, R., Lin, Y. T. & Shetty, K. (2004). Stimulation of phenolics, antioxidant and antimicrobial activities in dark germinated mung bean sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Process Biochemistry*, *39*(5), 637-646. doi: 10.1016/s0032-9592(03)00197-3

Siriamornpun, S. (2014). *Antioxidants in Food* (1st ed.). Bangkok, Thailand: Odeon Store Co., Ltd. (in Thai)

Srisaad, A. & Samrongyen, P. (2016). *Assorted Germinating Seeds of Metropolitan Vol. 2* (1st ed.). Samut Sakhon, Thailand: Naka Inter Media Co., Ltd. (in Thai)

Techapinyawat, S. (2005). *Plant Biology* (1st ed.). Bangkok, Thailand: Kasetsart University Press. (in Thai)

Villaluenga, C. M., Penas, E., Ciska, E., Piskula, M. K., Kozlowska, H. & Valverde, C. V. et al. (2010). Time dependence of bioactive compounds and antioxidant capacity during germination of different cultivars of broccoli and radish seeds. *Food Chemistry*, *120*(3), 710-716. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.10.067