การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์ในเยื่อหุ้มเมล็ดผลสุกฟักข้าว (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.) ที่สภาวะการเก็บรักษาแตกต่างกัน

Determination of Carotenoids in Aril of Gac Fruit (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.) in Different Storage Conditions

จิราภรณ์ พิมพ์ภูมี[1*] และ คมศร ลมไธสง[2]
Jiraporn Pimphumee[1*] and Khomsorn Lomthaisong[2]

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบปริมาณของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดที่มีอยู่ในเยื่อหุ้มเมล็ดของฟักข้าวระยะสุกแก่ (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.) ที่สภาวะการเก็บรักษาแตกต่างกัน คือ ที่อุณหภูมิ 4 °C -20 °C และ -70 °C เป็นเวลา 5 วัน 10 วัน และ 15 วัน และเปรียบเทียบปริมาณของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในเยื่อหุ้มเมล็ดของผลสุกฟักข้าวที่ทำให้แห้ง ด้วยวิธีผึ่งให้แห้งด้วยลม และผึ่งให้แห้งด้วยแดดกลางแจ้ง เป็นเวลา 3 และ 5 วัน ทำการวิเคราะห์หาปริมาณของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดโดยนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตรมิเตอร์ และวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของแคโรทีนอยด์ด้วยเทคนิค HPLC ผลการวิจัยพบว่า การเก็บรักษาเยื่อหุ้มเมล็ดของผลสุกฟักข้าวที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 5 วัน และการผึ่งให้แห้งด้วยลม จะมีปริมาณของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด เท่ากับ 4.232 ± 0.100 mg/g และ 2.910 ± 0.114 mg/g ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อนำเยื่อหุ้มเมล็ดของผลสุกฟักข้าวมาวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของแคโรทีนอยด์ด้วยเทคนิค HPLC สามารถตรวจพบแคโรทีนอยด์ 2 ชนิด คือ เบต้าแคโรทีนและไลโคปีน ในปริมาณมากที่สุดเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 5 วัน คือ 2.083 และ 0.701 mg/g ตามลำดับ และพบว่าการผึ่งให้แห้งด้วยลม สามารถตรวจพบเบต้าแคโรทีนและไลโคปีน ในปริมาณมากที่สุดเช่นเดียวกัน คือ 0.637 และ 0.629 mg/g ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการเก็บรักษาเยื่อหุ้มเมล็ดของฟักข้าวระยะสุกแก่ที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 5 วัน และการผึ่งให้แห้งด้วยลม เป็นสภาวะที่เหมาะสมกับการเก็บรักษา

คำสำคัญ: ฟักข้าว แคโรทีนอยด์ เบต้าแคโรทีน ไลโคปีน

Abstract

This study was aimed to determine the carotenoids in aril of Gac fruit (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.) in the different storage conditions, the fully ripe aril of Gac fruit was kept at 4 °C -20 °C and -70 °C for 5 days, 10 days and 15 days and treated by 3 and 5 day of air-drying and sun-drying to compare carotenoid contents with spectrophotometry and HPLC method. The results showed that carotenoid contents at -20 °C for 5 days and air-drying had the highest carotenoid contents at 4.232 ± 0.100 and 2.910 ± 0.114 mg/g, respectively. HPLC method was classified into two types of carotenoids which are β-carotene and lycopene. The amounts of β-carotene and lycopene kept for 5 days at -20 °C was at 2.083 and 0.701 mg/g, respectively. When treated by 3 day of air-drying, the amount of β-carotene and lycopene was at 0.637 and 0.629 mg/g, respectively. Therefore, in this study, we suggested that the suitable

[1]เครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002
[1]Central Instrument, Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002
[2]สาขาวิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002
[2]Department of Biochemistry Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002
*Corresponding author: e-mail: jirpim@kku.ac.th

***Received:** 22 July 2019, **Accepted:** 22 Septerber 2019, **Published:** 19 October 2019*

condition for storage of fully ripe aril of Gac fruit was kept at -20 °C for 5 days and 3 day of air-drying and suitable condition for storage.

Keywords: gac fruit**,** carotenoid**,** ß-carotene, lycopene

บทนำ

ปัจจุบันนี้ประเทศไทยเกิดการตื่นตัวด้านสุขภาพเป็นอย่างมาก จะเห็นได้จากการรณรงค์ออกกำลังกาย แนะนำการรับประทานอาหารที่มีประโยชน์ จึงทำให้เกิดการพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพต่าง ๆ ขึ้นอย่างมากมายหลากหลายรูปแบบ ที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากจะเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้มาจากการแปรรูปผักผลไม้ต่างๆ เช่น สารสกัดแคปซูล หรือการสกัด คั้นสดเป็นเครื่องดื่มชนิดต่าง ๆ เป็นต้น จึงเป็นผลให้นักวิจัยทำการศึกษาผักผลไม้พันธุ์ต่าง ๆ เพื่อหาสารที่เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค เพราะธรรมชาติได้สรรสร้างให้ผักและผลไม้ต่าง ๆ มีสีสันที่แตกต่างกัน ซึ่งสีสันเหล่านี้ล้วนมีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น สีขาวจากผักกาดขาวมีออร์กาโนซัลไฟด์ (organosulfide) และฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ช่วยป้องกันมะเร็งและโรคหลอดเลือดหัวใจ สีเขียวจากผักคะน้ามีลูทีน (lutein) ซัลโฟรเฟน (sulforphane) ซีแซนทีน (zeaxanthin) ซึ่งช่วยป้องกันโรคตาและมะเร็ง สีเหลืองจากข้าวโพดมีคริปโทแซนทีน (cryptoxanthin) ช่วยป้องกันมะเร็ง และสีแดงจากมะเขือเทศมีไลโคปีน (lycopene) สามารถป้องกันมะเร็งต่อมลูกหมากได้ (Heber, 2002) จะเห็นได้ว่าพืชผักผลไม้ที่มีสีส้ม แดง และเหลือง จะสามารถลดความเสี่ยงการเป็นมะเร็งได้เป็นอย่างดี เพราะมีสารที่เรียกว่า แคโรทีนอยด์ (carotenoid) ซึ่งเป็นรงควัตถุที่พบอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ ทั้งในผักผลไม้ที่มีสีส้ม แดง และเหลือง และพบได้ในสาหร่ายหรือจุลชีพที่สังเคราะห์แสงได้ (วีระศักดิ์, 2005) จากการศึกษาพบว่าปัจจุบันมีแคโรทีนอยด์ที่พบได้ในธรรมชาติกว่า 700 โมเลกุล และสามารถตรวจสอบโครงสร้างได้ ทำให้แบ่งแคโรทีนอยด์ออกเป็น 2 กลุ่มหลัก คือ แคโรทีน (carotene) และแซนโทฟิล (xanthophyll) สารทั้ง 2 กลุ่มนี้จะมีความสำคัญอย่างยิ่งแก่พืชและสิ่งมีชีวิตที่สังเคราะห์แสงได้ (photosynthetic organism) เพราะจะดูดกลืนพลังงานแสง ส่งต่อให้คลอโรฟิลล์ในกระบวนการสังเคราะห์แสง เป็นตัวจับรังสีอัลตราไวโอเลต (UV) ช่วยปกป้องพืชจากปฏิกิริยาออกซิเดชันอันเนื่องจากแสง (photooxidation) ปกป้องพืชจากสภาวะที่ไม่เหมาะสม หรือการกระทบกับแสงแดดอย่างรุนแรง รวมถึงป้องกันการทำลายเซลล์จากอนุมูลอิสระ (free radical) (Britton, 1995)

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม มีผักผลไม้ที่มีสีส้ม แดง และเหลือง เป็นจำนวนมากที่ และนิยมนำมาเป็นอาหาร หรือยา เช่น มะเขือเทศ ส้ม ฟักทอง ข้าวโพด มะละกอสุก เป็นต้น แต่ยังมีอีกหลายชนิดที่นักวิจัยกำลังศึกษาถึงสรรพคุณต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐาน และใช้อ้างอิงสำหรับงานด้านอาหาร และยา หนึ่งในนั้นคือ ฟักข้าว (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.) ฟักข้าวจัดอยู่ในวงศ์วงศ์ Cucurbitaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกันกับแตงกวาและมะระ เป็นไม้เถาเลื้อย ผลอ่อนจะมีสีเขียว เปลือกมีหนามและจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ส้ม แดง เมื่อผลสุกตามลำดับ ในแต่ละท้องถิ่นจะมีชื่อเรียกที่แตกต่างกัน เช่น ขี้กาเครือ (ปัตตานี ภาคใต้) ผักข้าว (ตาก ภาคเหนือ) มะข้าว (แพร่) หมากอูบข้าว (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) หรือในประเทศเวียดนาม เรียกว่า แก็ก (Gac) เป็นต้น (วราภรณ์, 2548) ฟักข้าวมีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชีย เช่นประเทศจีน พม่า ไทย ลาว บังกลาเทศ มาเลเซีย และฟิลิปปินส์ (Hasan *et al*., 1987; Iwamoto *et al*., 1985) มีงานวิจัยเกี่ยวกับฟักข้าวหลายงานที่พบว่า ในเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีแดงของฟักข้าวระยะสุกแก่นั้น จะมีสารอาหารและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายหลายชนิด เช่น กรดไขมันจำเป็น และสารกลุ่มแคโรทีน-นอยด์ ได้แก่ไลโคปีนซึ่งมีปริมาณมากกว่ามะเขือเทศถึง 12 เท่า และเบต้าแคโรทีนมีปริมาณมากกว่าแครอทถึง 10 เท่า (ประภัสสร, 2554) นอกจากนี้มีงานวิจัยทั้งจากประเทศไทยและต่างประเทศที่พบว่าฟักข้าวสามารถมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง และลดความเสี่ยงการเกิดโรคมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งปอด มะเร็งกระเพาะอาหารและมะเร็งปากมดลูก เป็นต้น รวมถึงโรคเบาหวานและโรคหัวใจ (Deming *et al*., 2005) และงานวิจัยของ Chuethong *et al.* (2007) นักวิจัยจาก

มหาวิทยาลัยมหิดลได้วิจัยพบว่าเมล็ดของฟักข้าวนั้นจะมีโปรตีน cochinin A และ cochinin B ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง รวมถึงช่วยยับยั้งการสร้างโปรตีนภายในเซลล์มะเร็ง เพราะไปยับยั้งการทำงานของไรโบโซม (Ribosome-inactivating proteins) ซึ่งจะทำให้ไม่เกิดการสังเคราะห์ของโปรตีนภายในเซลล์ และงานวิจัยชิ้นนี้มีการจดสิทธิบัตรเกี่ยวกับโปรตีนในเมล็ดฟักข้าวแล้ว

จะเห็นได้ว่าแคโรทีนอยด์ที่มีอยู่ในฟักข้าวนั้นมีประโยชน์หลากหลาย จึงทำให้ได้รับความสนใจและมีแนวโน้มความต้องการทั้งในการบริโภคและการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมที่มากขึ้น (ณัฐยาพร และคณะ, 2557) มีนักวิจัยจำนวนมากที่ให้ความสนใจกับสารสำคัญต่าง ๆ ในฟักข้าว แต่สารเหล่านี้สามารถสลายตัวได้ง่ายด้วยปัจจัยต่าง ๆ อาทิเช่น แสง อุณหภูมิ เป็นต้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแคโรทีนอยด์ในเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวระยะสุกแก่ ที่สภาวะการเก็บรักษาต่าง ๆ และหาสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาที่ทำให้เกิดการสูญเสียแคโรทีนอยด์น้อยที่สุด

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของแคโรทีนอยด์ที่มีอยู่ในผลสุกของผลฟักข้าว
2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณของแคโรทีนอยด์ที่มีอยู่ในผลสุกของผลฟักข้าว ที่สภาวะการเก็บรักษาต่าง ๆ

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างผลฟักข้าวระยะสุกแก่จากต้นที่ปลูกที่แปลงเกษตรคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จากต้นเดียวกันจำนวน 3 ผล บันทึกลักษณะทางกายภาพ ทำการแยกส่วนของเยื้อหุ้มเมล็ดของฟักข้าวที่มีสีแดงเข้มออกจากเมล็ดรวมกันทั้ง 3 ผล ซึ่งต้องไม่มีการปนเปื้อนส่วนของเนื้อผลฟักข้าว จากนั้นปั่นรวมกันให้ละเอียดแล้วชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 0.05 กรัม นำไปเก็บรักษาและทำให้แห้งตามสภาวะที่กำหนด ดังนี้

1.1 ตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดผลฟักข้าวสด
1.2 เก็บตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 5, 10 และ 15 วัน
1.3 เก็บตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 5, 10 และ 15 วัน
1.4 เก็บตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิ -70 °C เป็นเวลา 5, 10 และ 15 วัน
1.5 นำตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดไปผึ่งให้แห้งด้วยลม เป็นเวลา 3 และ 5 วัน
1.6 นำตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดไปผึ่งให้แห้งด้วยแดดกลางแจ้ง เป็นเวลา 3 และ 5 วัน

2. การสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์รวมจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวระยะสุกแก่

นำตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดจากสภาวะต่าง ๆ มาบดรวมกับตัวทำละลายผสม Hexane: Acetone: Ethanol (อัตราส่วน 2:1:1) ปริมาตร 1 ml จากนั้นเติม Butylated Hydroxytoluene (BHT) ลงไปเล็กน้อย ปริมาตร 100 µl เพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชันของแคโรทีนอยด์ จากนั้นนำสารที่ได้กรองผ่านสำลีลงในกรวยแยก เติม Hexane ลงไปปริมาตร 5 ml เขย่ากรวยแยกเบา ๆ เติมน้ำกลั่นลงไปปริมาตร 10 ml เพื่อสกัดแคโรทีนอยด์ออกจากตัวอย่าง ซึ่งจะเห็นสารละลายเกิดการแยกชั้น โดยชั้นบนคือส่วนของ Hexane ส่วนชั้นล่างคือส่วนของน้ำ ทำการเก็บสารละลายชั้นบนออกมาเพื่อระเหย Hexane ออก แล้วจึงนำมาละลายด้วย Methanol และปรับปริมาตรให้ได้ 4 ml ทั้งนี้ทุกขั้นตอนจะต้องทำในสภาวะที่มีแสงน้อยที่สุดเพื่อลดการสลายตัวของสาร

นำสารละลายตัวอย่างที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ด้วยเครื่อง Spectrophotometer (Shimadzu รุ่น UV-160A, Japan) ซึ่งทำให้ทราบถึงปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวระยะสุกแก่ในแต่ละสภาวะการเก็บรักษาและการทำให้แห้ง เก็บสารละลายตัวอย่างที่เหลือจากการวัดด้วยเทคนิค Spectrophotometry ไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อรอนำไปวิเคราะห์ต่อด้วยเทคนิค HPLC

3. การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์ในเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวระยะสุกแก่ด้วยเทคนิค HPLC

3.1 การเตรียมสารมาตรฐานแคโรทีนอยด์

เตรียมสารมาตรฐานเบต้าแคโรทีนและไลโคปีน ผลิตภัณฑ์ของ Sigma-Aldrich (Germany) ละลายและเจือจางสารด้วย petroleum ether จำนวน 5 ความเข้มข้น คือ 0.5 1 2 4 8 µg/ml กรองสารละลายมาตรฐานทั้ง 2 สารผ่าน Syringe filter 0.45 µm ก่อนนำไปวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของแคโรทีนอยด์ด้วยเครื่อง HPLC

3.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวระยะสุกแก่

นำสารละลายตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวระยะสุกแก่ที่เหลือจากการวัดด้วยเทคนิค Spectrophotometry ปริมาตร 1 ml มาเจือจางด้วย petroleum ether ปริมาตร 5 ml เพื่อให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงของกราฟมาตรฐาน กรองสารละลายตัวอย่างผ่าน Syringe filter 0.45 µm ก่อนนำไปวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของแคโรทีนอยด์ด้วยเครื่อง HPLC

3.3 การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์ด้วยเทคนิค HPLC

วิเคราะห์หาชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์โดยใช้เครื่อง HPLC ผลิตภัณฑ์ของ Shimadzu (JAPAN) รุ่น LC-20A ประกอบด้วย ระบบปั๊ม รุ่น LC-20A ระบบการฉีดสารแบบอัตโนมัติ รุ่น SIL-20A และเครื่องตรวจวัดชนิด Photodiode array detector รุ่น SPD-M20A โดยสภาวะเครื่อง HPLC เป็นดังนี้

เฟสอยู่กับที่ (column): Inertsil QDS-3 ขนาด 4.6x250 mm (GL, Science Inc., JAPAN)

เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase): Acetonitrile (A) : Dichloromethane (B) : Methanol (C) อัตราส่วน A:B:C คือ 28:42:30 นาน 10 นาที แล้วปรับอัตราส่วน A:B:C เป็น 32:48:20 ภายใน 5 นาที แล้วคงที่อัตราส่วนเดิมนาน 5 นาที จากนั้นปรับเป็น 100% A ภายใน 5 นาที และคงที่ด้วยอัตราส่วนนี้นาน 10 นาที อัตราการไหล (flow rate): 1 ml/min ใช้ตัวตรวจวัด (detector): UV-Vis ที่ความยาวคลื่น 450 nm โดยปริมาตรสารที่ฉีด (injection volume): 20 µl

ผลการวิจัย

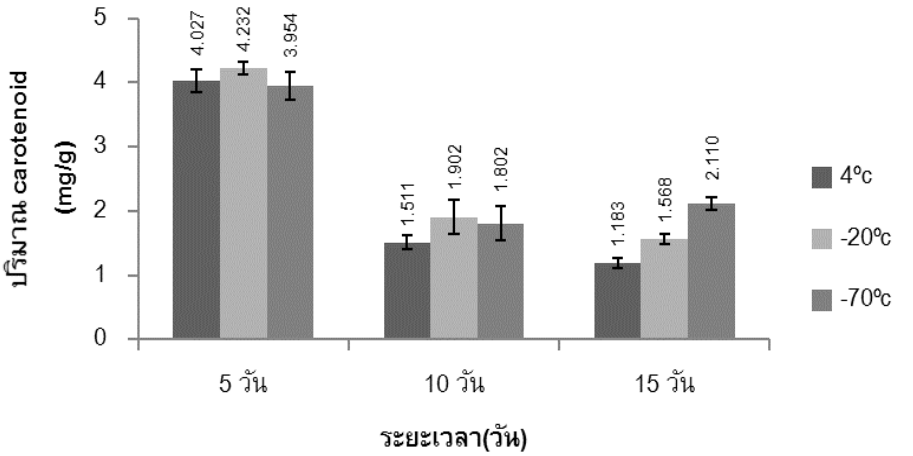
1. การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในเยื่อหุ้มเมล็ดผลสุกฟักข้าวด้วยเทคนิค Spectrophotometry

เมื่อนำสารละลายตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดผลสุกฟักข้าวที่สภาวะการเก็บรักษาต่าง ๆ กัน มาทำการสกัดและวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม ด้วยเทคนิค Spectrophotometry ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 1

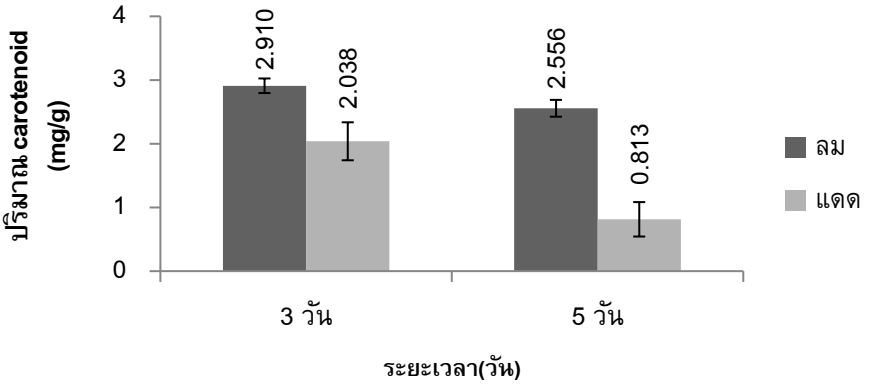
ตารางที่ 1 ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมของตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดผลสุกฟักข้าวที่สภาวะการเก็บรักษาต่าง ๆ กัน และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Spectrophotometry

สภาวะ	ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณ carotenoid (mg/g)
ผลสด	0	4.711±0.648
เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C	5	4.027±0.177
	10	1.511±0.101
	15	1.183±0.079
เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C	5	4.232±0.100
	10	1.902±0.270
	15	1.568±0.077
เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -70 °C	5	3.954±0.217
	10	1.802±0.268
	15	2.110±0.101
ผึ่งให้แห้งด้วยลม	3	2.910±0.114
	5	2.556±0.132
ผึ่งให้แห้งด้วยแดดกลางแจ้ง	3	2.038±0.298
	5	0.814±0.270

จากตารางที่ 1 จะพบว่า เมื่อเก็บรักษาเยื่อหุ้มเมล็ดของผลสุกฟักข้าวไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 5 วัน จะมีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมมากที่สุด คือ 4.232±0.100 mg/g และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการทำให้แห้งด้วยการผึ่งให้แห้งด้วยลม และการผึ่งให้แห้งด้วยแดดกลางแจ้งนั้น พบว่า การผึ่งให้แห้งด้วยลมเป็นเวลา 3 วัน จะมีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมมากที่สุดเช่นกัน คือ 2.910±0.114 mg/g (ภาพที่ 1 และ 2)



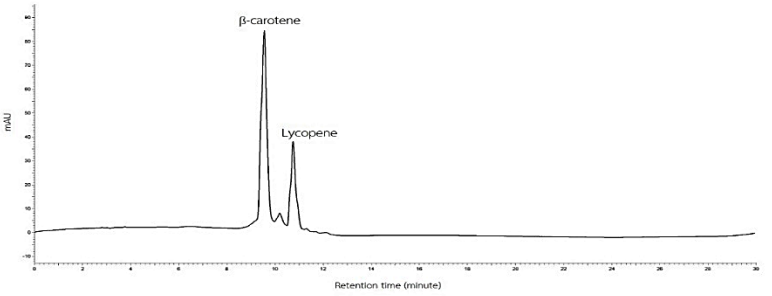
ภาพที่ 1 การเปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์รวมจากตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดของผลสุกฟักข้าว ที่สภาวะการเก็บรักษาต่าง ๆ



ภาพที่ 2 การเปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์รวมจากตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดของผลสุกฟักข้าวระหว่างการผึ่งให้แห้งด้วยลมและการผึ่งให้แห้งด้วยแดดกลางแจ้ง

2. การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์ในเยื่อหุ้มเมล็ดผลสุกฟักข้าวด้วยเทคนิค HPLC

วิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของแคโรทีนอยด์เมื่อเก็บรักษาด้วยสภาวะที่ต่างกันด้วยเทคนิค HPLC สามารถตรวจพบแคโรทีนอยด์ 2 ชนิด คือ เบต้าแคโรทีนและไลโคปีน ที่ Retention time คือ 9.54 และ 10.74 นาที ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 3 และเมื่อเก็บรักษาเยื่อหุ้มเมล็ดของผลสุกฟักข้าวไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 5 วัน จะมีปริมาณของเบต้าแคโรทีนและไลโคปีนคงเหลือมากที่สุด คือ 2.083 และ 0.701 mg/g และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการทำให้แห้งด้วยการผึ่งให้แห้งด้วยลม และการผึ่งให้แห้งด้วยแดดกลางแจ้งนั้น พบว่า การผึ่งให้แห้งด้วยลมเป็นเวลา 3 วัน จะมีปริมาณของเบต้าแคโรทีนและไลโคปีนคงเหลือมากที่สุดเช่นกัน คือ 0.637 และ 0.629 mg/g (ตารางที่ 2)



ภาพที่ 3 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวระยะสุกแก่ ที่ไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 5 วัน ซึ่งสามารถตรวจพบเบต้าแคโรทีนและไลโคปีน ในปริมาณมากที่สุด

ตารางที่ 2 ปริมาณเบต้าแคโรทีนและไลโคปีนในตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดผลสุกฟักข้าวที่สภาวะการเก็บรักษาต่างๆ กัน และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

สภาวะ	ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณ carotenoid (mg/g)	
		เบต้าแคโรทีน	ไลโคปีน
ผลสด	0	2.992	1.146
เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C	5	1.168	0.604
	10	0.546	0.139
	15	0.646	0.101
เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C	5	2.083	0.701
	10	0.619	0.166
	15	0.712	0.206
เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -70 °C	5	0.824	0.516
	10	0.585	0.231
	15	0.754	0.218
ผึ่งให้แห้งด้วยลม	3	0.637	0.629
	5	0.328	0.510
ผึ่งให้แห้งด้วยแดดกลางแจ้ง	3	0.301	0.197
	5	0.161	0.126

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อเก็บรักษาเยื่อหุ้มเมล็ดของผลสุกฟักข้าวไว้ที่อุณหภูมิ และระยะเวลาที่แตกต่างกัน รวมถึงการทำให้ตัวอย่างแห้งด้วยกรรมวิธีที่แตกต่างกันนั้น ส่งผลต่อปริมาณของแคโรทีนอยด์เป็นอย่างมาก โดยพบว่าเก็บรักษาเยื่อหุ้มเมล็ดของผลสุกฟักข้าวไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 5 วัน และการผึ่งให้แห้งด้วยลมเป็นเวลา 3 วัน จะมีปริมาณของแคโรทีนอยด์รวม ปริมาณของเบต้าแคโรทีนและไลโคปีนคงเหลือมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Nhung *et al.* (2010) ที่ได้นำเยื่อหุ้มเมล็ดและน้ำมันของฟักข้าวมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่แตกต่างกันเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไลโคปีนและเบต้าแคโรทีน) ซึ่งพบว่าแคโรทีนอยด์ในเยื่อหุ้มเมล็ดจะคงที่หลังจากระยะเวลาการเก็บรักษาผ่านไป 1 สัปดาห์ แต่จะลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากเก็บไว้แล้ว 2 สัปดาห์ ส่วนน้ำมันที่สกัดออกจากเยื่อหุ้มเมล็ดนั้นจะมีความเข้มข้นของไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนที่ใกล้เคียงกัน และก่อนการเก็บรักษาน้ำมันนั้นจะต้องเติม 0.02% butylated hydroxytoluene (BHT) ลงไปด้วย แล้วจึงเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 15 - 19 สัปดาห์ภายใต้อุณหภูมิที่แตกต่างกัน คือ 5, 45 และ 60 °C และที่อุณหภูมิห้อง พบว่าไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนในน้ำมันลดลง และจะลดลงอย่างรวดเร็วที่มีอุณหภูมิสูง (45 และ 60 °C) นอกจากนี้มีการศึกษาของ Kubola *et al.* (2013) ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณของไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนในน้ำมันของ

ฟักข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน และทำการอบแห้ง ซึ่งตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสกัดแคโรทีนอยด์ คือ คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (2: 1 v/v) และได้ทำการอบแห้งด้วย 3 วิธีเปรียบเทียบกัน คือ การใช้ลมร้อน การอบแห้งด้วยความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ และการแผ่รังสีอินฟราเรดไกล ซึ่งวิธีการอบแห้งโดยใช้ลมร้อนจะให้ปริมาณไลโคปีนสูงสุดและสูงกว่าผลสดอีกด้วย

นอกจากนี้ในการทดลอง ผู้วิจัยจึงจำเป็นต้องสกัดสารและเก็บรักษาสารละลายไว้ในที่มืด หรือที่ที่มีแสงสว่างน้อยที่สุด รวมถึงจะต้องเติมสาร Butylated Hydroxytoluene (BHT) ลงไปเล็กน้อย เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันอีกด้วย และผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะในการแยกเยื่อหุ้มเมล็ดออกจากเนื้อของฟักข้าวนั้น จะต้องไม่มีการปนเปื้อนของเนื้อฟักข้าว เนื่องจากในเนื้อของฟักข้าวนั้นมีไขมันค่อนข้างมาก ซึ่งหากปนมาในเยื่อหุ้มเมล็ดจะส่งผลให้มีปริมาณไขมันที่เพิ่มขึ้น

สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองหาปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดผลฟักข้าวสุกแก่ ที่เก็บในสภาวะต่าง ๆ กันนั้นด้วยวิธี spectrophotometry และ HPLC พบว่า การเก็บรักษาฟักข้าวที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 5 วัน และการผึ่งให้แห้งด้วยลมเป็นเวลา 3 วัน สามารถรักษาปริมาณแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุด และ วิธี HPLC สามารถตรวจพบแคโรทีนอยด์ในฟักข้าวได้ 2 ชนิด คือ เบต้าแคโรทีนและไลโคปีน นอกจากนี้ผลการทดลองที่ได้สามารถเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการนำไปประยุกต์ใช้ต่อในงานด้านอุตสาหกรรม หรือทางเภสัชวิทยาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากกองทุนพัฒนาและส่งเสริมด้านวิชาการ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 และได้รับความอนุเคราะห์ด้านสารเคมี ให้คำปรึกษาและแนะนำตลอดการทำวิจัยจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. คมศร ลมไธสง รวมถึงเครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์การใช้เครื่องมือสำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณ มา ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

ณัฐยาพร หนันต๊ะ พัชริน ส่งศรี พลัง สุริหาร และกมล เลิศรัตน์. 2557. การเปรียบเทียบผลผลิตฟักข้าวสายต้นต่างๆ. แก่นเกษตร. 42(ฉบับพิเศษ): 627-633.

ประภัสสร สุขสุทธิ์. 2554. การแปรรูปฟักข้าว. เกษตรก้าวหน้า. 24(3): 43-53.

วราภรณ์ วิชญรัฐ. 2548. ไม้เลื้อยกินได้. สุรีวิยาสาส์น. กรุงเทพฯ. 120 หน้า.

วีระศักดิ์ สามี. 2005. แคโรทีนอยด์: โครงสร้างทางเคมีและกลไกที่มีผลต่อการทำหน้าที่ของร่างกาย. Srinakharineirot Journal of Pharmaceutical Science.10(1): 58-66.

Britton, G. 1995. Structure and properties of carotenoids in relation to function. The Federation of American Societies for Experimental Biology. 9: 1551-1558.

Chuethong, J., Oda, K., Sakurai, H., Saiki, I., Leelamanit, W. 2007. Cochinin B, a novel ribosome-inactivating protein from the seeds of Momordica cochinchinensis. Biol Pharm Bull 30(3): 428-32.

Deming, D.M., Boileau, T.W.-M., Heintz, K.H., Atkinson, C.A. and Erdman, J.W. 2005. Carotenoid in human health and disease In Handbook of antioxidants, revised and expanded. 2nd ed., Cadenas, E. and Packer, L. Marcel Dekker, Inc., New York.

Hasan, C.M., Reza-ul-Jal Rabbar, A. and Waterman, P. 1987. Chondrillasterol from the tubers of *Momorodica cochinchinensis*. Plant Medicine. 53(6): 578-579.

Heber, D. 2002. What Color Is Your Diet?. William Morrow Paperbacks. New York. 288 pages.

Iwamoto, M., Okabe, H. and Yamauchi, T. 1985. Studies on the constituents of *Momorodica cochinchinensis* Spreng. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 33: 1-7.

Kubola, J., Meeso, N. and Siriamornpun, S. 2013. Lycopene and beta carotene concentration in aril oil of gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng) as influenced by aril-drying process and solvents extraction. Food Research International. 50(2): 664-669.

Nhung, D.T.T., Bung, P.N., Ha, N.T. and Phong, T.K. 2010. Changes in lycopene and beta carotene content in aril and oil of gac fruit during storage. Food Chemistry. 121: 326-331