ปริมาณแอนโทไซยานินในหม่อนผล

Anthocyanin content in fruit mulberry

นพพร กองพันธ์[1], อำนวย คำตื้อ[2*], ฉันทนา อารมย์ดี[3], สถาพร วงศ์เจริญวนกิจ[4], และ ปรียา หวังสมนึก[5]

Nopporn Kongpun[1], Amnouy Kamtuo[2*], Chantana Aromdee[3], Sataporn Wongjareonwanagit[4], and Preeya Wangsomnuk[5]

บทคัดย่อ: ผลหม่อน จัดอยู่ในกลุ่มผลไม้สีม่วงที่สามารถทดแทนผลไม้กลุ่มเบอรี่ ซึ่งผลิตได้น้อยในประเทศไทย ผลสุกมีแอนโทไซยานิน ซึ่งเป็นสารพฤกษเคมีที่มีผลดีต่อสุขภาพ ในด้านยับยั้งการแข็งตัวของหลอดเลือด และต้านการเกิดมะเร็ง การรวบรวมพันธุ์หม่อนผลจากแหล่งต่างๆ เพื่อนำมาศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินในผลหม่อน จึงมีความสำคัญต่อการพัฒนาการปรับปรุงพันธุ์หม่อนผล ในการศึกษานี้ ได้ดำเนินการศึกษาปริมาณแอนโทไซยานิน ในผลของหม่อนผล 34 พันธุ์หรือโคลน โดยเก็บผลหม่อนสุก นำมาวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ด้วยวิธีการแปรระดับพีเอช (pH differential method) ในเดือนมีนาคม ปี 2551 และ ปี 2552 จากการศึกษา พบว่า ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในปี 2551 และ 2552 อยู่ในช่วงระหว่าง 0.00 - 18.36 % โดยน้ำหนัก/น้ำหนัก (w/w) และ 0.00 - 27.71 % w/w ตามลำดับ ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด โดยเฉลี่ยในปี 2552 สูงกว่าในปี 2551 และปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ในแต่ละพันธุ์หรือโคลนในแต่ละปีต่างกัน และหม่อนผลพันธุ์ขุนกลาง 3 (Khun Klang 3) และบุรีรัมย์ 60 (Buri Ram 60) มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงในทั้งสองปี

คำสำคัญ: หม่อนผล ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด สารพฤกษเคมี

[1] นักศึกษาปริญญาเอก ภาควิชาพืชศาสตร์ และทรัพยากรเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002
Graduate student, Department of Plant Science and Agriculture Resource, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, 40002, Thailand

[2] ภาควิชาพืชศาสตร์ และทรัพยากรเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002
Department of Plant Science and Agriculture Resource, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, 40002, Thailand

[3] ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002
Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, 40002, Thailand

[4] ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติ ฯ อุดรธานี อ.เพ็ญ จ.อุดรธานี 41150
Queen Sirikit Sericulture Center, Udon Thani, Phen District, Udon Thani Province, 41150, Thailand

[5] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002
Department of Biology, Faculty of Science, Khon Kaen University, 40002, Thailand

* Corresponding author: amnouy@kku.ac.th

Abstract: Fruit mulberry is a nutrition fruit, which has been classified in the violet tone color fruit group, and can be used for substituting berry fruit in Thailand. Anthocyanin is important phytochemical content in mulberry fruit, which is essential for human health in inhibiting atherosclerosis and as anticancer agent. Fruit mulberry clones/cultivars/accessions were collected for investigating anthocyanin content that is important in fruit mulberry breeding and development. Total anthocyanin content in mature fruits of 34 mulberry clones/cultivars/accessions was analyzed by pH differential method in March 2008 and 2009. The results indicated that total anthocyanin content ranged from 0.00 - 18.36 % w/w in 2008, and 0.00 - 27.71 % w/w in 2009. Mean total anthocyanin content in 2009 was higher than that in 2008, and total anthocyanin contents among mulberry clones/cultivars/accessions in each year were difference. Khun Klang 3 and Buri Ram 60 had high total anthocyanin contents in both years.
Keywords: fruit mulberry, total anthocyanin content, phytochemical

คำนำ

ผลหม่อนจัดอยู่ในกลุ่มผลไม้สีม่วง เช่นเดียวกับองุ่นแดง บลูเบอรี่ ราสเบอรี่ และแบล็คเบอรี่ ฯลฯ ประกอบด้วยแอนโทไซยานิน ซึ่งเป็นสารพฤกษเคมี (phytochemical) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน และต้านการเกิดมะเร็ง (Liu et al., 2008 and Butt et al., 2008) แอนโทไซยานิน พบได้ในส่วนต่างๆ ในต้นหม่อน ได้แก่ ใบ ลำต้น และผล แต่พบในส่วนผลมากที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลหม่อนสุก อนุพันธ์ของแอนโทไซยานินที่พบในผลหม่อน ได้แก่ แอนโทไซยานินชนิด cyanidin 3-glucoside, pelargonidin-3-glucoside และ petunidin 3-rutinoside (Timberlake, 1981) จากคุณประโยชน์ที่ให้ผลดีต่อสุขภาพ ผลหม่อนจึงถูกนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้แก่ ไวน์ น้ำผลไม้ แยม โยเกิร์ต นมเปรี้ยว พาย ไอศรีม และผลไม้แช่อิ่ม คิดเป็นมูลค่ารวม จากผู้ผลิตในประเทศในปี 2548 รวมเป็นเงิน 127,570,000 บาท จากการแปรรูปได้หลายรูปแบบ ผลหม่อนจึงจัดได้ว่า เป็นผลไม้ที่สามารถทดแทนการนำเข้าผลไม้ และผลิตภัณฑ์อาหารจำพวกเบอรี่ เช่น บลูเบอรี่ แบล็คเบอรี่ ราสเบอรี่ ที่มีราคาสูงได้ (ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติฯ เชียงใหม่, 2549) แต่การตรวจสอบว่า หม่อนผลพันธุ์ใดที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูง ยังมีการศึกษาน้อยในประเทศไทย ดังนั้น การศึกษานี้ จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาถึงปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ในผลหม่อนสุก เพื่อประเมินหาพันธุ์หม่อนที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงนั้น เพื่อใช้ในการคัดเลือก และพัฒนาพันธุ์หม่อน ที่มุ่งเน้นการให้ประโยชน์ด้านโภชนาการ ต่อไป

วิธีการศึกษา

หม่อนที่ใช้ในการศึกษา คือ หม่อนที่ได้ทำการรวบรวมมาจากแหล่งต่างๆ ในประเทศไทย ส่วนใหญ่อยู่ในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นำมาติดตาในต้นตอหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 และพันธุ์คุณไพ ที่ปลูกไว้ในระยะปลูก 2 x 2 ม. จำนวน 6 ต้น ต่อพันธุ์หรือโคลน ในแปลงรวบรวมพันธุ์ของศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติฯ อุดรธานี ก่อนทำการเก็บตัวอย่างผลหม่อน เตรียมความสมบูรณ์ให้กับต้นหม่อน ด้วยการตัดกลางหรือตัดครึ่งต้น (ตัดสูงจากพื้นดินประมาณ 60 - 80 ซม.) ในเดือน มิถุนายน 2550 หลังจากตัดกลางแล้ว 2 เดือน ตัดแต่งกิ่งแขนงออก ให้เหลือเพียงกิ่งหลักประมาณ 6 - 8 กิ่งต่อต้น เมื่อหม่อนมีอายุ 8 เดือน บังคับให้หม่อนออกดอกติดผล โดยริดใบหม่อนทิ้ง และให้น้ำ จากนั้น ทำการเก็บตัวอย่างผลหม่อนใน เดือนมีนาคม 2551 และในปี 2552 บังคับให้หม่อนติดผล เช่นเดียวกับปี 2551

สุ่มเก็บตัวอย่างผลหม่อนสุก (ผลหม่อนที่มีสีม่วงเข้มจนเกือบดำตลอดทั้งผล) ในหม่อนจำนวน 34 พันธุ์ สุ่มเก็บผลหม่อนสุกจาก 6 ต้นที่นำมาปลูกขยายพันธุ์ไว้ รวมกันให้ได้ 200 กรัมในแต่ละพันธุ์ นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °ซ ชั่งผลหม่อนสุกน้ำหนัก 20 กรัม จำนวน

5 ซ้ำ นำมาปั่นให้ละเอียดกับน้ำ ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มล. นำสารละลายผลหม่อน มาวัดหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ด้วยวิธีการแปรระดับพีเอช (pH differential method) วัดค่าด้วยเครื่อง Shimadzu 1700 UV-spectophotometer เพื่อหาความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสง ตามวิธีการของ Institute for Nutraceutical Advancement (2004) ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร และ 700 นาโนเมตร คำนวณค่าการดูดกลืนแสง ได้จากค่าการดูดกลืนแสง (A) = (A_{510nm} pH 1.0 - A_{700nm} pH 1.0) - (A_{510nm} pH 4.5 - A_{700nm} pH 4.5) คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเทียบกับ cyanidin 3-glucoside คำนวณค่าเฉลี่ย และวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ด้วยโปรแกรม Statistix 8

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ในผลสุกของหม่อนผล 34 พันธุ์หรือโคลน พบว่า ในปี 2551 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0.00 - 18.36 % โดยน้ำหนัก/น้ำหนัก (w/w) ค่าเฉลี่ยของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด มีค่าเท่ากับ 4.96 % (w/w) หม่อนผลพันธุ์ขุนกลาง 3 (Khun Klang 3) บุรีรัมย์ 60 (Buri Ram 60) และ SRCM 6-50 มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าพันธุ์อื่น สำหรับใน ปี 2552 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0.00 - 27.71 % (w/w) โดยเฉลี่ย มีค่าเท่ากับ 9.28 % (w/w) หม่อนผลพันธุ์ศรีสะเกษ 2802 (Si Sa Ket 2802) ขุนกลาง 2 (Khun Klang 2) ขุนกลาง 3 (Khun Klang 3) มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ในปริมาณที่สูงมาก หม่อนผลพันธุ์เชียงใหม่ (Chiang Mai) และบุรีรัมย์ 60 (Buri Ram 60) มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ในปริมาณสูง แต่หม่อนที่ไม่พบปริมาณแอนโทไซยานินเลย ในทั้งสองปี คือ พันธุ์คลองทราย 1 (Khongsai1) ซึ่งหม่อนผลพันธุ์นี้ มีสีผลสีเขียวอ่อน (**Table 1**) อย่างไรก็ตาม หม่อนผลพันธุ์บุรีรัมย์ 60 และขุนกลาง 3 ที่มีปริมาณแอนโทไซ-ยานินสูงในทั้งสองปีที่ทำได้การศึกษานั้นเมื่อ

Table 1 Level of total anthocyanin content in 34 mulberry accessions/cultivars/clones analyzed in 2008and 2009.

Year	Anthocyanin content (% w/w)	Level	Accession/cultivar/clone
2008	Less than 6.93	Low	BR, KK1, KK2, KK5, KK6, KK7, KW1, PK1, PK2 PK3, PK4, PK5, PK 6, PK 7, BPK, BTK, BMSL, BMSL1, BMSL2, BMSLN, RBR, SJ, PSW, KS1, NM, SK2802, KP03, CM
	6.93 - 13.87	Intermediate	KK4 , NP1, JP, WW, SRCM9003-175
	13.88 - 20.81	High	KK3, BRR60, SRCM6-50
	More than 20.81	Very high	-
2009	Less than 6.93	Low	KK4, KK7, PS1, BPK, BMSL1, BMSL2, SJ, PSW, KS1, WW, KP03
	6.93 - 13.87	Intermediate	RBR, KK1, KK5, KK6, KW1, PS6, PS7, BTK, BMSLN, NP1, JP, NM, SRCM6-50, SRCM9003-175
	13.88 - 20.81	High	CM, BRR60
	More than 20.81	Very high	SK2802, KK2, KK3

BR = Boon Rawd, KK1-7 = Khun Klang 1-7, PS 1-7 = Pak Sam 1-7, BPK = Banpangklang, BTK = Bantamakeag, BMSL1,2 = Banmaesalong1,2 , BMSLN = Banmaesalongnai, RBR = Raiboonrawd, SJ= Suanjarin, PSW = Phonsawan, NP = Nam Prom, KS1 = Khong Sai1, JP = Japan, WW = Wawi, NM = Nakhon Ratchasima, SK2802 = Si Sa Ket2802, KP03 = Kamphaeng Saen03, CM = Chiang Mai, BRR60 = Buri Ram 60

เอาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ของทั้งสองพันธุ์มาพิจารณาความแตกต่างของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ระหว่างปี พบว่า หม่อนผลพันธุ์บุรีรัมย์ 60 มีค่าความแตกต่างของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดระหว่างปีน้อยกว่า ในพันธุ์ขุนกลาง 3 ซึ่งแสดงว่าปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ในหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 มีปริมาณที่คงที่ กว่าพันธุ์ขุนกลาง 3 (**Figure 1**) ดังนั้น จึงเป็นพันธุ์ที่ควรคัดเลือกไว้เพื่อนำไปปรับปรุงพันธุ์ พัฒนาให้มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงต่อไป และเป็นพันธุ์ที่มีความเหมาะสมกับการปลูกในพื้นที่เขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่การใช้พันธุ์เพื่อสร้างลูกผสม ยังคงต้องศึกษาถึงการผสมพันธุ์ คู่ผสม และความแข็งแรงของลูกผสม ฯลฯ

นอกจากนี้ ผลจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด พบว่า หม่อนผลแต่ละพันธุ์ในแต่ละปี มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดที่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$) และมีปฏิสัมพันธ์ของปีกับพันธุ์ของหม่อนผล (**Table 2**) จากการศึกษานี้ เห็นได้ว่า ในปี 2552 ปริมาณแอนโทซานินทั้งหมดเฉลี่ย ในผลหม่อนมีปริมาณสูงกว่าปี 2551 และหม่อนผลแต่ละพันธุ์มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ที่แตกต่างกันในแต่ละปี ผลอาจเนื่องมาจากอิทธิพลของสภาพแวดล้อม และลักษณะทางพันธุกรรมของหม่อน ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินของหม่อน ในปี 2548 และปี 2549 ของวิโรจน์ และคณะ (2549) ที่พบว่าผลหม่อนสุกในหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงกว่า พันธุ์อื่นๆ และเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างปี ในปี 2548 มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงกว่าปี 2549

ทั้งนี้ สาเหตุอาจมาจากปัจจัยจากอุณหภูมิ ที่มีผลต่อการสะสมแอนโทไซยานิน เช่นเดียวกันกับการสะสมแอนโทไซยานินในองุ่น ซึ่งพบว่า องุ่นที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิต่ำในเวลากลางคืนมีการสะสมแอนโทไซยานินในผลได้ มากกว่าองุ่นที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงกว่า โดยมีความเกี่ยวเนื่องกับการชักนำให้เกิดการทำงานของกิจกรรมเอนไซม์ ในกระบวนสังเคราะห์แอนโทไซยานิน (Mori et al., 2004) หรือ

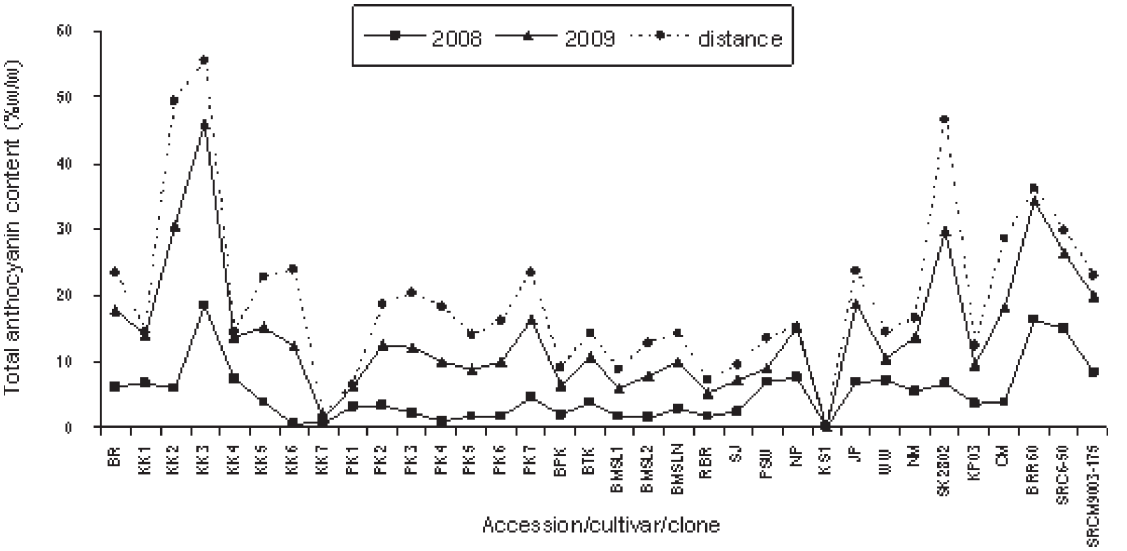

Figure 1 Distance between years and total anthocyanin content of 34 mulberry accessions/cultivars/clones analyzed in 2008, 2009.

Table 2 Combine analysis variance of total anthocyanin content with CRD experiments over two years.

Source	DF	SS	MS	F
Year (E)	1	43.559	43.559	176.14**
Accession/Cultivar/Clone (G)	33	200.170	6.0658	24.53**
G X E	33	52.546	1.5923	6.44**
Pooled error	272	67.263	0.2473	
Total	339			
CV (%)	18.84			

** Significantly different at 0.01 level of probability

ปัจจัยอื่นๆ เช่น ปริมาณน้ำฝน อายุของต้นหม่อน และการสะสมคาร์โบไฮเดรต เป็นต้น ดังนั้น ในการคัดเลือกพันธุ์หม่อนผลเพื่อเพิ่มปริมาณแอนโทไซยานิน จึงต้องคำนึงอิทธิพลของสิ่งแวดล้อม ในการกำหนดการวางแผนการปรับปรุงพันธุ์หม่อนผล

สรุป

หม่อนผลพันธุ์บุรีรัมย์ 60 และขุนกลาง 3 มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูง ในทั้งสองปี แต่หม่อนผลพันธุ์บุรีรัมย์ 60 มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดที่คงที่กว่า หม่อนแต่ละพันธุ์ในแต่ละปีมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และมีปฏิสัมพันธ์ของปีกับพันธุ์ของหม่อนผล

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติฯ อุดรธานี จ.อุดรธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านพันธุ์หม่อนผล และการจัดการพันธุ์หม่อนผลที่ใช้ในการศึกษา ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในด้านอำนวยความสะดวก ด้านการปฏิบัติการวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน โครงการปรับปรุงพันธุ์หม่อนผลสด มหาวิทยาลัยขอนแก่น และสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร ด้านการสนับสนุนงบประมาณในการวิจัยและทุนการศึกษา

เอกสารอ้างอิง

วิโรจน์ แก้วเรือง สถาพร วงศ์เจริญวนกิจ กรกนก อิงคนินันท์ และจารุนันท์ วงษ์ไทย. 2550. การศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและกรดโฟลิกในผลหม่อนพันธุ์ต่างๆ. รายงานผลงานวิจัยหม่อนไหม ประจำปี 2549. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย กรุงเทพฯ

ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติฯ เชียงใหม่. 2549. หม่อนผลสดพันธุ์เชียงใหม่. เอกสารเสนอคณะกรรมการวิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อพิจารณาเป็นพันธุ์แนะนำ (เอกสารอัดสำเนา). กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

Butt, M.S., A. Nazir, M.T. Sultan and K. Schroën. 2008. *Morus alba* L. nature's functional tonic. Trends in Food Science & Technology 19: 502-512.

Institute for Nutraceutical Advancement. 2004. Anthocyanin content in Bilberry by pH-differential spectrophotometry INA method 116.000. Available: http://www.nsf.org/business/ ina/ bilberry.asp? program=INA. Accessed Sep.14, 2007.

Liu, L.K., H.J Lee, Y.W. Shih, C.C Chyau. and C.J. Wang. 2008. Mulberry anthocyanin extracts inhibit LDL oxidation and macrophage-derived foam cell formation induced by oxidative LDL. Journal of Food Science 73: 113-121.

Mori, K., S. Sugaya. and H. Gemma. 2004. Regulatory mechanism of anthocyanin biosynthesis in Kyoho grape berries grown under different temperature conditions. Environment Control in Biology 42: 21-30.

Timberlake, C.F. 1981. Anthocyanin in fruit and vegetables, pp. 221-224. *In* J. Friend and M.J.C. Rhodes. Recent Advance in the Biochemistry of Fruit and Vegetables. Academic Press Inc Ltd., New York.