ระยะพัฒนาการต่อปริมาณสารพฤกษเคมีและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในใบมะนาวโห่

Developing Stage on Phytochemical Content and Antioxidant Activities in Karanda Leaves

ภานุวัฒน์ สีพันธ์[1], สกุลกานต์ สิมลา[1*], พัชรี สิริตระกูลศักดิ์[1] และ ชฎาพร เสนาคุณ[1]

Panuwat Seepun[1], Sakunkan Simla[1*], Phatcharee Siritrakulsak[1] and Chadaporn Senakun[1]

บทคัดย่อ: มะนาวโห่ส่วนใหญ่นิยมรับประทานในส่วนที่เป็นผลแต่พบว่า ผลมะนาวโห่มีช่วงเวลาในการติดผลไม่สามารถออกผลได้ตลอดทั้งปี การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารพฤกษเคมี และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในใบมะนาวโห่ในแต่ละระยะ เนื่องจากมะนาวโห่มีใบออกตลอดทั้งปี และไม่มีการพลัดใบ จึงได้ทำการประเมินปริมาณสารพฤกษเคมีบางประการ และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระในใบมะนาวโห่ โดยทำการประเมินใบสดทั้ง 3 ระยะ คือ ใบอ่อน ใบเพสลาด และใบแก่ ผลจากการศึกษาพบว่า เมื่อใบมะนาวโห่มีระยะพัฒนาการเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณสารพฤกษเคมีเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งในระยะใบแก่ให้มีปริมาณ Phenolic, Flavonoids, ความเป็นกรด วิตามินซี น้ำตาลทั้งหมดมากที่สุด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ FRAP มากที่สุด ระยะใบอ่อนให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH มากที่สุด และระยะใบเพสลาดให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS มากที่สุด ดังนั้นการเลือกนำใบมะนาวโห่ไปใช้ประโยชน์จึงควรพิจารณาที่ระยะใบแต่ละระยะ เพื่อให้สามารถใช้ประโยชน์จากใบมะนาวโห่ได้อย่างสูงสุด

คำสำคัญ: มะนาวโห่, สารพฤกษเคมี

ABSTRACT: Karanda fruit (*Carissa carandas* L.) is an indigenous fruit in Thailand and it is available in all parts of the country. The fruit is popular because of its good taste with sour and sweet flavors. However, production of karanda fruit is dependent on seasons as the crop does not yield fruits all year round, and the fruit is available in the market in some seasons and rare in the others. The objective of this study was to evaluate phytochemicals and antioxidant activity in leaves of karanda at different leaf development stages as karanda is an evergreen plant and leaves are available all the time for all growth stages. The information on phytochemicals and antioxidant activity in leaves of karanda might provide the possibility to use leaves as a substitute of fruits for production of these phytochemicals. The evaluation was carried out at three leaf growth stages including young leaves, fully expanded leaves and mature leaves. Mature leaves had the highest total phenolic content, total flavonoid content, tritratable acid, vitamin C and total soluble solid, and the values of antioxidant activity determined by FRAP and ABTS were also highest. Fully-expended leaves had the highest values of antioxidant activity determined by DPPH. The information in this study is important for selection and utilization of karanda leaves to obtain high phytochemicals and antioxidant activity at different leaf growth stages.

Keywords: *Carissa carandas* L., phytochemicals, antioxidant activity

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150
Department of Agricultural Technology, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Kantarawichai District, MahaSarakham 44150

* Corresponding author: sakunkans@gmail.com

บทนำ

มะนาวโห่ (*Carissa carandas* L.) อยู่ในวงศ์ Apocynaceae มีชื่อสามัญคือ Karanda, Carunda และ Christ's thorn มีชื่อพื้นเมืองอื่นๆ เช่น มะนาวไม่รู้โห่ หนามแดง และหนามขี้แฮด มะนาวโห่เป็นผลไม้โบราณพื้นเมืองชนิดหนึ่งที่สามารถเก็บเกี่ยวผลได้ตลอดทั้งปี แต่จะมีมากในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงกรกฎาคม มะนาวโห่เป็นไม้พุ่มสูงประมาณ 2-3 เมตร เปลือกลำต้นมีสีน้ำตาลเข้ม ลำต้นเป็นหนามแหลม มียางสีขาว ใบเป็นใบเดี่ยว ใบรูปรีเกือบกลม ปลายใบเว้าเล็กน้อย โคนใบมนเว้าเข้าหาก้านใบ หลังใบและท้องใบเรียบ ใบอ่อนมีสีแดง ก้านใบสั้น ช่อดอกแบบช่อกระจุก (Cyme) ที่ซอกใบใกล้ปลายยอด ผลเป็นรูปทรงกลมรี ผิวเรียบ ผลอ่อนสีขาว ผลแก่เป็นสีชมพูจนเป็นสีแดงเข้มจนเกือบดำ เมล็ดแบน มี 6 เมล็ด (Kumar et al., 2013) มะนาวโห่เป็นที่รู้จักกันไม่มากนัก มีมาตั้งแต่สมัยโบราณ ลำต้น เปลือก ราก ใบ ผล และเมล็ด มีการนำมาใช้ในการทำยาสมุนไพร จากการศึกษาพบว่าเป็นสมุนไพรที่ใช้ทั่วไปในประเทศอินเดีย และพบทั่วไปในทวีปเอเชีย มะนาวโห่เป็นพืชที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้งสูง มีสรรพคุณทางสมุนไพรสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคบางชนิด เช่น โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง โรคทางเดินหายใจ โรคอัลไซเมอร์ โรคหิด ถ่ายพยาธิ และลดอาการคัน ป้องกันการอักเสบ ลดไข้ บำรุงหัวใจ บำรุงตับ ป้องกันเชื้อแบคทีเรียและไวรัส เป็นต้น นอกจากนี้ในทางการแพทย์พบว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระประเภทต่างๆ (Bhaskar and Balakrishnan, 2009) การศึกษาถึงชนิด และปริมาณของสารสำคัญ และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ในผักและผลไม้เป็นสิ่งที่ได้รับความสนใจมากในปัจจุบัน เช่นเดียวกับมะนาวโห่ที่มีการกล่าวอ้างสรรพคุณต่างๆ ตามภูมิปัญญาชาวบ้านที่ได้รับการถ่ายทอดมาเป็นเวลานาน มีรายงานการศึกษา พบว่าสารสกัดของมะนาวโห่ที่ใช้อะซิโตนมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา ได้แก่ *Escherichia coli, Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Aspergillus niger* และ *Candida albicans* (Bhaskar and Balakrishnan, 2009)

ใบมะนาวโห่เป็นชิ้นส่วนที่มีรายงานว่ามีสรรพคุณทางยา Sadek et al. (2013) จึงทำการประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากใบของมะนาวโห่ โดยใช้ตัวทำละลายแตกต่างกันพบว่าการใช้สารสกัดจากเฮกเซนทำให้มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในใบมะนาวโห่สูงที่สุดคือ 4.88 มิลลิกรัมต่อกรัม รองลงมาคือ เอทานอล ที่ 3.61 มิลลิกรัมต่อกรัม (Sadek et al., 2013) และยังพบว่าในใบมะนาวโห่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในรูปของ Catalase, Superoxide dismutase, Glutathione-S-Transferase, Reduced glutathione ที่มีการยับยั้งกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่ปริมาณ 1.9, 42, 146 และ 50 ไมโครโมลาต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ (Dua and Nupur, 2013)

พัฒนาการของพืชเป็นการเปลี่ยนแปลงทางด้านรูปร่างทั้งลักษณะภายนอกและกายวิภาคภายใน ซึ่งเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและองค์ประกอบของเซลล์ (cell differentiation) (สมบุญ, 2554) เช่น การเจริญทางกิ่งใบ (Vegetative Growth) การเจริญเติบโตและพัฒนาการในช่วงนี้ นับตั้งแต่พืชเริ่มงอกจากเมล็ดหรือเริ่มมีชีวิตใหม่ ไปจนถึงเริ่มมีตาดอก (สังคม, ม.ป.ป.) เนื่องจากระยะพัฒนาการเป็นผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการทำงานของเซลล์ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมีภายในเซลล์ด้วย เห็นได้จากการศึกษาผลของระยะการสุกที่มีต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในผลมะนาวโห่ พบว่า ระยะการสุกของผลมีผลต่อค่าสี (L*, a* และ b*) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณวิตามินซี ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH โดยผลสุกเป็นระยะที่มีสีเข้มและมีปริมาณสารพฤกษเคมีและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด โดยปริมาณสารพฤกษเคมีชนิดต่างๆ มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น เมื่อผลมีการสุกมากขึ้น (สกุลกานต์, 2556) นอกจากนี้ยังมีในรายงานการศึกษาผลของระยะพัฒนาการของยอด ใบอ่อน และใบแก่ของทุเรียน จำนวน 10 พันธุ์ จากศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี และทำการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น โดย ใช้วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhdrazyl (DPPH) การประเมินความสามารถในการ

จับกับโลหะ และปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบอ่อนทุเรียนพันธุ์กบเจ้าคุณมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด มีค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้อนุมูลอิสระลดลงครึ่งหนึ่งของปริมาณอนุมูลอิสระทั้งหมด หรือ ค่า IC_{50} เท่ากับ 381.07 ppm เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานได้แก่ วิตามินซี และ butylated hydroxyl toluene (BHT) ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.16 ppm และ 21.82 ppm ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัด เอทานอลจากยอดทุเรียนพันธุ์เมล็ดคชสารมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด คือ 2186.70 มิลลิกรัมสมมูลย์ ของกรดแกลลิกต่อใบแห้ง 100 กรัม (นิภาพร, 2557) อย่างไรก็ตามยังไม่พบการศึกษาในระยะพัฒนาการของใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ประโยชน์ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาระยะพัฒนาการของใบในมะนาวโห่ต่อการปริมาณสารพฤกษเคมีต่างๆ เพื่อทราบถึงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ให้มากที่สุด เพื่อนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการใช้ประโยชน์ให้มีประสิทธิภาพและเป็นที่แพร่หลายต่อไป

วิธีการศึกษา

1. การปลูกและดูแลรักษา

ปลูกต้นมะนาวโห่พันธุ์เดียวกัน ขนาดต้นใกล้เคียงกัน และอายุต้นเท่ากัน จำนวน 10 ต้น โดยนำดินร่วน แกลบดิบ แกลบเผา และปุ๋ยคอก อัตราส่วน 6:2:1:2 ผสมให้เข้ากัน ใส่ในท่อปูนซีเมนต์ขนาด 80 เซนติเมตร ปรับระดับดินให้สม่ำเสมอ ปลูกต้นมะนาวโห่ 1 ต้นต่อท่อ มีระยะห่างระหว่างต้น 2 เมตร ระยะห่างระหว่างแถว 2 เมตร ดูแลรักษาโดยให้น้ำโดยใช้ระบบน้ำหยดตลอดฤดูปลูก ใส่ปุ๋ยคอกนอัตรา 1 กิโลกรัมต่อต้น และปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ในอัตรา 14.7 กรัมต่อต้น ทุกๆ 30 วัน โดยโรยกระจายห่างจากโคนต้นประมาณ 10 เซนติเมตร พรวนดินพร้อมกำจัดวัชพืช และใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงตามความเหมาะสม

2. การเตรียมตัวอย่าง

หลังจากที่ต้นปรับสภาพพร้อมเก็บตัวอย่างได้แล้ว ทำการเก็บตัวอย่างใบมะนาวโห่โดยเก็บทั้งหมด 3 ระยะได้แก่ ใบอ่อน (ทำการเก็บที่บริเวณปลายยอดจากใบแรกลงมาถึงใบที่ 3) ใบเพสลาด (เก็บใบที่ไม่อ่อนหรือไม่แก่เกินไป เป็นใบคู่ที่ 5 นับจากปลายยอดลงมา) และใบแก่ (เก็บจากปลายยอดถัดจากคู่ที่ 7 นับจากปลายยอดลงมา) หลังจากเก็บตัวอย่างใบที่รวบรวมเรียบร้อยแล้ว นำไปแช่ไนโตรเจนเหลวนาน 2-3 นาที จากนั้นนำไปแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพของใบ เพื่อสำหรับใช้ในการวิเคราะห์หาสารพฤกษเคมี

3. การสกัดสาร

ทำการสกัดองค์ประกอบทางเคมีของใบมะนาวโห่ประยุกต์ตามวิธีการของจิราภรณ์ และมัณฑนา (2559) โดยชั่งตัวอย่างใบมะนาวโห่ที่ปั่นละเอียดปริมาณ 1 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม Methanol ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ 100 RPM เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 เก็บในขวดสีชาที่มีฝาปิด แล้วนำไปวิเคราะห์ต่อไป

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมี และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมี ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Reagent ซึ่งประยุกต์วิธีการของ Krasaetep (2012) วิเคราะห์ปริมาณ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ประยุกต์วิธีการของ Krasaetep (2012) วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH assay) (ABTS) and (FRAP) ประยุกต์วิธีการของ Krasaetep (2012) วิเคราะห์ปริมาณกรด ปริมาณวิตามินซี และปริมาณน้ำตาล Krasaetep (2012)

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของลักษณะปริมาณของสารพฤกษเคมีและความสามารถในการต้านอนุมูล

อิสระ ตามแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จำนวน 5 ซ้ำ

ผลการศึกษา

ปริมาณสารพฤกษเคมี และความสามารถในใบระยะพัฒนาการของใบที่ต่างกัน 3 ระยะ ทำให้ สารประกอบฟินอลิกทั้งหมด ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ วิตามินซี ของแข็งที่ละลายน้ำได้ (**Table 1**) และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH, ABTS และ FRAP (**Table 2**) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นในลักษณะของสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่พบว่าระยะพัฒนาการที่ต่างกันไม่ทำให้มีปริมาณแตกต่างกัน (**Table 1**) ผลจากการประเมินปริมาณสารพฤกษเคมีในใบของมะนาวโห่ 3 ระยะพบว่า ระยะใบแก่ เป็นระยะที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด กรดที่ไตเตรทได้ ของแข็งที่ละลายน้ำได้ และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระในรูปของ FRAP มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ที่ 99% ตามลำดับ ยกเว้นในส่วนวิตามินซี แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ 95% ส่วนระยะใบแก่สามารถให้เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระในรูปของ ABTS และความสามารถในการจับโละในรูปของ FRAP ได้มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ที่ 99% (**Table 2**) และระยะใบเพสลาดสามารถให้เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH assay มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ที่ 99% (**Table 2**)

สารประกอบฟินอลิกในระยะใบแก่ให้ปริมานสารมากที่สุดที่ 2,168.40 mg GAE/100 g FW รองลงมาคือระยะใบเพสลาดให้ปริมาณ 1,334.00 mg GAE/100 g FW ส่วนในระยะใบอ่อนให้ปริมาณน้อยที่สุดที่ 1,334 mg GAE/100 g FW (**Table 1**) สารประกอบฟลาโวนอยด์ ในระยะใบแก่ให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงที่สุดที่ 1,022.10 mg QE/100 g FW รองลงมาคือใบเพสลาดมีปริมาณ 1,000 mg QE/100 g FW ส่วนระยะใบอ่อนให้ปริมาณฟลาโวนอยด์น้อยที่สุดที่ 923.50 mg QE/100 g FW (**Table 1**) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity, TA) จากผลการทดลองในระยะใบแก่ให้ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ได้สูงที่สุดคือ 0.45% รองลงมาคือระยะใบเพสลาดให้ปริมานที่ 0.32% ส่วนในระยะใบอ่อนให้ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ได้น้อยที่สุดที่ 0.30% (**Table 1**) วิตามินซี และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ในระยะใบแก่ให้ปริมาณวิตามินซี และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มากที่สุดที่ 56.77 mg/100 g FW และ 9.30 ^{oBrix} รองลงมาคือระยะใบเพสลาดที่ให้ปริมาณวิตามินซี และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ที่ 54.55 mg/100 g FW และ 6.20 ^{oBrix} ส่วนในระยะใบอ่อนพบว่าให้ปริมาณวิตามินซี และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้น้อยที่สุดที่ 51.11 mg/100 g FW และ 5.90 ^{oBrix} (**Table 1**) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH assay ในระยะใบเพสลาดให้เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดที่ 47.26% รองลงมาคือใบแก่ที่ให้เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระที่ 36.48% ส่วนในใบอ่อนให้เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดที่ 35.16% (**Table 2**) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS assay ในระยะใบแก่สามารถให้เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุดที่ 32.94% รองลงมาคือระยะใบอ่อนที่ให้เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระที่ 14.10% ส่วนในระยะใบเพสลาดให้เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดที่ 13.12% (**Table 2**) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ FRAP assay ซึ่งในระยะใบแก่ พบว่าให้ความสามารถในการจับโลหะมากที่สุดที่ 17477.00 mM Fe(II)/100g FW รองลงมาคือระยะใบเพสลาดที่ให้ความสามารถในการจับโลหะที่ 7794.30 mM Fe(II)/100g FW ส่วนในระยะใบอ่อนให้ความสามารถในการจับโลหะน้อยที่สุดที่ 7628.90 mM Fe(II)/100g FW (**Table 2**)

วิจารณ์

ใบแต่ละระยะในการศึกษาครั้งนี้มีการสะสมปริมาณสารพฤกษเคมี หรือความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ แตกต่างกันไป การที่ในระยะใบแก่เป็นระยะที่มีปริมาณสารพฤกษเคมีหลายชนิดมากกว่าในระยะอื่น เนื่องมาจากระยะใบแก่เป็นระยะที่ใบมีอายุมาก จึงอาจเป็นสาเหตุให้มีการสะสมสาร

พฤกษเคมีไว้ในใบได้มากกว่าใบระยะอื่น ดังจะเห็นได้จากการศึกษาของ นิภาพร และคณะ (2557) ซึ่งได้ทำการศึกษาความสามารถในการจับโลหะจากส่วนยอด ใบอ่อน และใบแก่ของทุเรียน 10 สายพันธุ์ จากศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี โดยพบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบแก่ของทุเรียนพันธุ์กำปั่นตาเพ็งมีความสามารถในการจับกับโลหะมากที่สุด ขัดแย้งกับงานของ Shiow and Hsin (2000) ทำการศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในระยะใบอ่อน และใบแก่ของแบล็กเบอร์รี่ ราสเบอร์รี่ และสตรอว์เบอร์รี่ พบว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในทั้งชนิดพืชและระยะพัฒนาการ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบสารฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดในระยะใบอ่อนของใบแบล็กเบอร์รี่มีปริมาณที่ 20.9 mg GAE/100 g FW และ 83.6 mg GAE/100 g DW และยังมีรายงานการศึกษาชนิดและปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในใบและดอกเม่าตัวผู้ ทั้ง 20 สายต้น พบว่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในใบเม่ามีการกระจายตัวมากกว่าในดอกเม่า ยกเว้น Gallic acid ที่พบในใบเม่าตัวผู้มีปริมาณสูงที่สุด โดยมีปริมาณมากที่สุดในใบเม่าตัวผู้สายต้น SKM13 (17,883.68 mg/100 g DW) (สุดารัตน์, 2557) สำหรับปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ ปริมาณวิตามินซี และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ จะพบมากในใบมะนาวโห่ระยะใบแก่ เมื่อเทียบกับใบระยะเพสลาด และใบอ่อน อย่างมีนัยสำคัญ โดยเมื่อใบมีอายุมากขึ้น ปริมาณสารสำคัญต่างๆ ก็จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ซึ่งจากผลการทดลองทำให้สามารถเลือกใช้ประโยชน์จากใบมะนาวโห่ที่ระยะต่างๆ ได้เหมาะสมกับการนำไปใช้มากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากใบแต่ละระยะจะมีปริมาณสารพฤกษเคมีและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน

Table 1 Quantity of inhibitors the formation of oxidants FRAP, DPPH and ABTS in *Carissa carandas* L. three stage.

stage development	FRAP	DPPH	ABTS
	mg per 100 g sample	(% Inhibition)	(% Inhibition)
Leaflet	4714.20 b	13,028 a	791.60 a
Early mature leaves	4809.40 b	10,596 b	800.60 a
Late mature leaves	10383.00 a	12,763 a	617.90 b
F-Test	**	**	**
CV (%)	15.01	6.75	4.11

[1/]Values followed by the same letter in the column are not significantly different p≤0.05.

Table 2 Quantity of phenolic compounds, flavonoids, Acidity, vitamin C and Total sugar. In *Carissa carandas* L. three stage.

Stage development	Phenolic	Flavonoids	Acidity	Vitamin C	Total sugar
	mg GAE/100 gFW	mg per 100 g sample	% Titratable acidity (100%)	mg per 100 g sample	(Brix)
Leaflet	1,353.50 b	923.50	0.60 b	45.40 b	5.90 b
Early mature leaves	1,334.00 b	1,000.00	0.60 b	48.00 a	6.20 b
Late matue leaves	2,168.40 a	1,022.10	0.90 a	49.70 a	9.30 a
F-Test	**	ns	**	*	**
CV (%)	9.94	10.61	10.13	3.93	3.34

[1/]Values followed by the same letter in the column are not significantly different p≤0.05.

สรุป

ผลจากการศึกษาสามารถสรุปได้ว่า เมื่อใบมะนาวโห่มีระยะพัฒนาการเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณสารพฤกษเคมีต่างๆ เพิ่มขึ้นด้วย โดยระยะใบแก่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิค ฟลาโวนอยด์ ความเป็นกรด วิตามินซี น้ำตาลทั้งหมดสูงที่สุด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ FRAP สูงที่สุด โดยปริมาณสารพฤกษเคมีชนิดต่างๆ มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อใบมะนาวโห่มีอายุยาวนานมากขึ้น ส่วนความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH ซึ่งพบมากที่สุดในระยะใบอ่อน หลังจากนั้นจะลดลงตามระยะพัฒนาการของใบ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS พบมากที่สุดในระยะใบเพสลาด ดังนั้นการเลือกนำใบมะนาวโห่ไปใช้ประโยชน์จึงควรพิจารณาที่ระยะใบแก่ของใบด้วย เพื่อให้สามารถใช้ประโยชน์จากใบมะนาวโห่ได้อย่างสูงสุด

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยมหาสารคาม และกองส่งเสริมการวิจัยและบริการวิชาการ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ผู้สนับสนุนทุนวิจัย (จากเงินรายได้คณะฯประจำปี 2558) และได้รับการสนับสนุนวัสดุ อุปกรณ์ จากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สกุลกานต์ สิมลา และ ดร. ชฎาพร เสนาคุณ และสถานที่ในการทำศึกษา โดยศูนย์เครื่องมือกลางมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

เอกสารอ้างอิง

จิราภรณ์ กระแสเทพ และ มัณฑนา นครเรียบ. 2559. ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดข้าวทับทิมชุมแพ. เอกสารการประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว กลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประจำปี 2559 ณ โรงแรมหนองหาร ดิแอลลิแกนท์ จังหวัด วันที่ 8 – 10 มีนาคม 2559, สกลนคร.

นิภาพร ยลสวัสดิ์, มณทินี ธีรารักษ์ และจำรูญ เล้าสินวัฒนา. 2557. การประเมินความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระและการจับโลหะและปริมาณฟีนอลิคจากใบทุเรียน 10 พันธุ์. แก่นเกษตร. 42(ฉบับพิเศษ 3): 88-93.

สกุลกานต์ สิมลา, สุรศักดิ์ บุญแต่ง และพัชรี สิริตระกูลศักดิ์. 2556. การประเมินปริมาณสารพฤกษเคมีบางประการและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระใน *Carissa carandas* L. แก่นเกษตร. 41(ฉบับพิเศษ 1): 602-606.

สังคม เตชะวงค์เสถียร. ม.ป.ป. การเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืช. ภาควิชาพืชสวนคณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 14 หน้า.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2554. สรีรวิทยาของพืช. ข้อมูลบรรณานุกรมของหอสมุดแห่งชาติ. พิมพ์ครั้งที่ 3.สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 237 หน้า.

Bhaskar, V.H and N. Balakrishnan. 2009. Analgesic, Anti-Inflammatory and Antipyretic Activities of *Pergularia daemia* and *Carissa carandas*, DARU Journal of Pharmaceutical Sciences. 17(3): 168-174.

Dua, D., and N.S. Srivastav. 2013. Anti-cancerous and antioxidant potential of aqueous extracts of *annona reticulata, podophyllum peltatum, psidium guajava, ananas comosus, carissa carandas* on mcf-7 cancer cell line. International Journal of Integrative sciences, Innovation and Technology. 4: 15-19.

Krasaetep, J. 2012. Total phenolic Contents And Antixidant Activities From Thai Glutinus Rice Leave Extracts. Master of Science degree in Chemistry Mahasarakham University.

Kumar, S., P. Gupta, and G.K. Virupaksha. 2013. A Critical Review on Karamarda (*Carissa carandas* Linn.). International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives. 4(4): 637–642.

Sadek, Y.B., C. Naiyyum, and S. Mohammad. 2013. Biological Investigations of the Leaf Extracts of *Carissa Carandas* L. Research Science Press. (India) 2: 97-105.