

บทคัดย่อ

ผลหม่อนอุดมไปด้วยสารโพลีฟีนอลส์ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ และแอนโธไซยานินส์ ซึ่งได้รับการยืนยันแล้วว่ามีผลดีต่อสุขภาพของมนุษย์ ผลหม่อนสุกจำนวน 8 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์นครราชสีมา 60 (NS 60) พันธุ์บุรีรัมย์ 60 (BR 60) พันธุ์ชุมพร (CP) พันธุ์วาวิ (WV) พันธุ์เชียงใหม่ (CM) พันธุ์พิบูลทอง (PT) พันธุ์กำแพงแสน (KS) และพันธุ์ไร่ก้านจูล (KJ) ซึ่งนิยมปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยนำมาวิเคราะห์กิจกรรมการต้านออกซิเดชันฟีนอลิกโดยรวมด้วยวิธีการต่างๆ ได้แก่ ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)), DPPH[•] (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical) และ ferric reducing/antioxidant power (FRAP) แสดงผลในรูปแบบ TEAC หาปริมาณฟีนอลิกโดยรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และหาปริมาณฟลาโวนอยด์โดยรวมใช้วิธี aluminium chloride colorimetric assay หาปริมาณกรดอินทรีย์ (oxalic acid, tartaric acid, malic acid, ascorbic acid, lactic acid, acetic acid, citric acid และ benzoic acid) ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ((+)-catechin, (-)-epicatechin, rutin, procyanidin B1, procyanidin B2, myricetin, *trans*-resveratrol, luteolin, quercetin, naringenin และ kaempferol) ปริมาณกรดฟีนอลิก (gallic acid, protocatechuic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, chlorogenic acid, vanillic acid, caffeic acid, syringic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, sinapinic acid และ cinnamic acid) ปริมาณแอนโธไซยานิน (kuromanin (cyanidin 3-O-glucoside), keracyanidin (cyanidin-3-rutinoside), malvin (malvidin 3,5-diglucoside), delphinidin, cyanidin, pelargonidin, และ malvidin) ด้วย reverse phase high-performance liquid chromatographic (RP-HPLC) ที่มีตัวตรวจวัดแบบ UV ผลการทดลองพบว่าปริมาณฟีนอลิกโดยรวมพบในช่วง 17.38-50.93 mg GAE/100g น้ำหนักสด สามารถเรียงลำดับปริมาณฟีนอลิกโดยรวมจากมากไปน้อยได้ดังนี้: พันธุ์วาวิ > พันธุ์ไร่ก้านจูล > พันธุ์นครราชสีมา 60 > พันธุ์เชียงใหม่ > พันธุ์พิบูลทอง > พันธุ์ชุมพร > พันธุ์บุรีรัมย์ 60 > พันธุ์กำแพงแสน ปริมาณฟีนอลิกโดยรวมสูงที่สุดพบในหม่อนพันธุ์วาวิมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 50.93 mg GAE/100g น้ำหนักสด ขณะที่หม่อนพันธุ์กำแพงแสน ปริมาณฟีนอลิกโดยรวมต่ำที่สุดเท่ากับ 17.38 mg GAE/100g น้ำหนักสด ปริมาณฟลาโวนอยด์โดยรวมมีความแปรผันในผลหม่อนแต่ละพันธุ์ โดยพบอยู่ในช่วง 11.98-47.79 mg CE/100g น้ำหนักสด ผลหม่อนพันธุ์ไร่ก้านจูล พันธุ์วาวิ และพันธุ์นครราชสีมา 60 มีปริมาณฟลาโวนอยด์โดยรวมสูงกว่าหม่อนพันธุ์อื่นๆ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 47.79, 36.61 และ 35.43 mg CE/100g น้ำหนักสด ตามลำดับ ไลโคปีนพบในผลหม่อนในช่วง 0.29-0.72 µg/g น้ำหนักสด ขณะที่ปีต้า-แคโรทีนในผลหม่อนมีปริมาณอยู่ในช่วง 0.45-1.77 µg/g น้ำหนักสด ผลหม่อนจึงเป็นแหล่งที่มีปริมาณไลโคปีนและปีต้า-แคโรทีนต่ำ จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ พบว่า ascorbic acid เป็นกรดอินทรีย์ที่พบมากที่สุด รองลงมาคือ benzoic acid, malic acid และ tartaric acid ตามลำดับ ในจำนวนนี้หม่อน

พันธุ์ไร้ก้านจูล พันธุ์นครราชสีมา 60 พันธุ์เชียงใหม่ และพันธุ์บุรีรัมย์ 60 มีปริมาณ ascorbic acid สูงกว่าพันธุ์อื่นๆ (23.40, 22.26, 21.18, และ 19.86 mg/g น้ำหนักสด ตามลำดับ) benzoic acid ก็พบในผลหม่อนปริมาณสูงเช่นกันโดยพบสูงในหม่อนพันธุ์เชียงใหม่ พันธุ์วาวี และพันธุ์ไร้ก้านจูล (15.10, 15.02 และ 13.40 mg/g น้ำหนักสด ตามลำดับ) นอกจากนี้กรดอินทรีย์อื่นๆ ก็พบเช่นกัน โดย tartaric acid พบในช่วง 3.55-7.10 mg/g น้ำหนักสด malic acid พบในช่วง 3.07-6.70 mg/g น้ำหนักสด lactic acid พบในช่วง 1.18-5.07 mg/g น้ำหนักสด acetic acid พบในช่วง 0.23-1.68 mg/g น้ำหนักสด ขณะที่ citric acid พบในช่วง 1.23-7.85 mg/g น้ำหนักสด เมื่อพิจารณาค่าผลรวมของกรดอินทรีย์สามารถเรียงลำดับจากปริมาณสูงไปต่ำได้ดังนี้ พันธุ์เชียงใหม่ และพันธุ์ไร้ก้านจูล > พันธุ์กำแพงแสน พันธุ์บุรีรัมย์ 60 และพันธุ์นครราชสีมา 60 > พันธุ์วาวี และพันธุ์พิบูลทอง > พันธุ์ชุมพร ผลหม่อนพบปริมาณฟลาโวนอยด์หลักๆ ได้แก่ (+)-catechin (70.05-183.65 mg/100g น้ำหนักสด), procyanidin B1 (11.62-50.83 mg/100g น้ำหนักสด), quercetin (0.77-15.26 mg/100g น้ำหนักสด), rutin (3.09-6.42 mg/100g น้ำหนักสด) และ (-)-epicatechin (1.70-6.62 mg/100g น้ำหนักสด) gallic acid, cinnamic acid และ *p*-hydroxybenzoic acid พบว่าเป็นกรดฟีนอลิกหลักในผลหม่อน ปริมาณ caffeic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, chlorogenic acid และ gallic acid มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 1.06-8.17 mg/100g น้ำหนักสด 1.77-7.13 mg/100g น้ำหนักสด 1.38-6.95 mg/100g น้ำหนักสด และ 1.36-6.25 mg/100g น้ำหนักสด ตามลำดับ ผลรวมปริมาณกรดฟีนอลิกในผลหม่อนพันธุ์ต่างๆ มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 14.01 mg/100g น้ำหนักสด (พันธุ์บุรีรัมย์ 60) ถึง 29.91 mg/100g น้ำหนักสด (พันธุ์ไร้ก้านจูล) ผลจากการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในผลหม่อน พบว่ามีความแปรปรวนในแต่ละพันธุ์ โดยแอนโทไซยานินชนิด kuromanin และ keracyanidin เป็นแอนโทไซยานินหลักที่พบมากที่สุดในการหม่อน delphinidin และ malvin ก็ตรวจพบในปริมาณที่สูงในผลหม่อนเช่นกัน ผลหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 พันธุ์ไร้ก้านจูล พันธุ์ชุมพร และพันธุ์นครราชสีมา 60 มีปริมาณ kuromanin สูงกว่าพันธุ์อื่นๆ ซึ่งมีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 125.94, 123.50, 118.45 และ 104.10 mg/100g น้ำหนักสด ตามลำดับ keracyanidin ก็เป็นแอนโทไซยานินอีกชนิดหนึ่งที่พบในปริมาณสูงโดยเฉพาะอย่างยิ่งหม่อนพันธุ์ไร้ก้านจูลมีปริมาณสูงที่สุดเท่ากับ 30.05 mg/100g น้ำหนักสด ($p \leq 0.05$) ผลรวมปริมาณแอนโทไซยานินสามารถเรียงลำดับจากปริมาณสูงไปต่ำได้ดังนี้ พันธุ์ไร้ก้านจูล > พันธุ์ชุมพร พันธุ์เชียงใหม่ พันธุ์นครราชสีมา 60 และพันธุ์บุรีรัมย์ 60 > พันธุ์พิบูลทอง > พันธุ์วาวี > พันธุ์กำแพงแสน กิจกรรมการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากผลหม่อนพันธุ์นครราชสีมา 60 มีค่าEC₅₀ (ซึ่งค่าEC₅₀ เป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ครึ่งหนึ่ง) ต่ำสุด (241.83 µg/ml) ต่ำกว่าสายพันธุ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) หม่อนพันธุ์ไร้ก้านจูลสามารถยับยั้ง TPRZ-Fe (III) complex ไปเป็น TPTZ-Fe (II) ได้สูงที่สุด เท่ากับ 42.28 mg Fe(II)/g และหม่อนพันธุ์นครราชสีมา 60 พันธุ์วาวี และพันธุ์ชุมพรมีกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ 2,2'-azinobis

3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate (ABTS^{•+}) สูงกว่าหม่อนพันธุ์อื่น มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.21, 4.19 และ 3.42 mg TEAC/g ตามลำดับ พบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างปริมาณฟีนอลิกโดยรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์โดยรวมของผลหม่อนต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH, ABTS^{•+} และ FRAP แสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลิกในผลหม่อนมีฤทธิ์สูงในการต้านออกซิเดชัน จะเห็นได้ชัดจากหม่อนพันธุ์ที่มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันสูงจะมีปริมาณฟีนอลิกโดยรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์โดยรวมสูง

คำสำคัญ : ผลหม่อน, ฟลาโวนอยด์, กรดฟีนอลิก, HPLC, กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน

ABSTRACT

Mulberry is rich in polyphenols, flavonoids, and anthocyanins, which have been suggested to be responsible for health benefits. The total antioxidant capacity was estimated by the following methods: ABTS^{•+} (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)), DPPH[•] (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical) and ferric reducing/antioxidant power (FRAP) expressed as TEAC. The total phenolics were measured using a Folin-Ciocalteu assay. The content of total flavonoids was measured also spectrophotometrically by using the aluminium chloride colorimetric assay. The concentrations of organic acids (oxalic acid, tataric acid, malic acid, ascorbic acid, lactic acid, acetic acid, citric acid, and benzoic acid), flavonoids ((+)-catechin, (-)-epicatechin, rutin, procyanidin B1, procyanidin B2, myricetin, *trans*-resveratrol, luteolin, quercetin, naringenin, and kaempferol), phenolic acids (gallic acid, protocatechuic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, chlorogenic acid, vanillic acid, caffeic acid, syringic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, sinapinic acid, and cinnamic acid), and anthocyanins (kuromanin (cyanidin 3-O-glucoside), keracyanidin (cyanidin-3-rutinoside), malvin (malvidin 3,5-diglucoside), delphinidin, cyanidin, pelargonidin, and malvidin) in mulberry fruits of 8 cultivars [Nakhonratchasima 60 (NS 60), Buriram 60 (BR 60), Chumphon (CP), Wavee (WV), Chaingmai (CM), Pikultong (PT), Kamphaengsaen (KS), and Kamnanchul (KJ)] grown in Northeastern Thailand were examined. The materials were extracted with methanol and analyzed by reverse phase high-performance liquid chromatographic (RP-HPLC) with UV detection. The total phenolic content was found from 17.38 to 50.93 mg GAE/100g fresh weight. Total phenolic contents of the eight cultivars of mulberry fruits decreased in the following order: WV > KJ > NS 60 > CM > PT > CP > BR 60 > KS. The highest total phenolic content was present in WV (50.93 mg GAE/100g fresh weight), whereas, lowest was present in KS (17.38 mg GAE/100g fresh weight). The total flavonoid contents varied significantly ($p < 0.05$) among mulberry fruits ranged from 11.98-47.79 mg CE/100g fresh weight. Among mulberry cultivars, KJ, WV, and NS 60 exhibited the highest amounts of total flavonoid contents (47.79, 36.61 and 35.43 mg CE/100g fresh weight, respectively). Lycopene contents of fresh mulberry fruits ranged from

0.29 to 0.72 $\mu\text{g/g}$ fresh weight. Beta-carotene contents of fresh mulberry fruits ranged from 0.45 to 1.77 $\mu\text{g/g}$ fresh weight. Mulberry fruits were not good sources of lycopene and beta-carotene, which showed a low value. Ascorbic acid was the major organic acid in every mulberry cultivar analyzed, followed by benzoic acid, malic acid, and tataric acid, respectively. Among mulberry cultivars, KJ, NS 60, CM, and BR 60 exhibited the highest amounts of ascorbic acid contents (23.40, 22.26, 21.18, and 19.86 mg/g fresh weight, respectively). Benzoic acid was also high amount in mulberry fruit cultivar analyzed. CM, WV, and KJ exhibited the highest amounts of benzoic acid contents (15.10, 15.02, and 13.40 mg/g fresh weight, respectively). The ranges of other acid concentrations found in fresh mulberry fruits were as follows: tartaric acid, 3.55-7.10 mg/g fresh weight; malic acid, 3.07-6.70 mg/g fresh weight; lactic acid, 1.18-5.07 mg/g fresh weight; acetic acid, 0.23-1.68 mg/g fresh weight; citric acid, 1.23-7.85 mg/g fresh weight. Total organic acid contents of the eight cultivars of mulberry fruits decreased in the following order: CM > KJ > KS > BR 60 > NS 60 > WV > PT > CP. The mulberry fruit revealed the mainly presence of flavonoid compounds including (+)-catechin (70.05-183.65 mg/100g fresh weight), procyanidin B1 (11.62-50.83 mg/100g fresh weight), quercetin (0.77-15.26 mg/100g fresh weight), rutin (3.09-6.42 mg/100g fresh weight), and (-)-epicatechin (1.70-6.62 mg/100g fresh weight). Gallic acid, cinnamic acid, and *p*-hydroxybenzoic acid were found to be the major phenolic acids in mulberry fruit cultivars. The range of caffeic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, chlorogenic acid, and gallic acid, contents were 1.06-8.17 mg/100g fresh weight, 1.77-7.13 mg/100g fresh weight, 1.38-6.95 mg/100g fresh weight, and 1.36-6.25 mg/100g fresh weight, respectively. Sum of phenolic acid ranged from 14.01 mg/100g fresh weight (cultivar BR 60) to 29.91 mg/100g fresh weight (cultivar KJ). The results showed that anthocyanin content of mulberry fruits varied greatly among cultivars. HPLC analysis showed that the predominant anthocyanins in mulberry fruits were kuromanin and keracyanidin. Delphinidin and malvin were also high value in mulberry cultivar analyzed. Among mulberry cultivars, BR 60, KJ, CP, and NS 60 exhibited the highest amounts of kuromanin contents (125.94, 123.50, 118.45, and 104.10 mg/100g fresh weight, respectively). Keracyanidin was also high level in mulberry fruit cultivar analyzed. KJ had the highest keracyanidin content with average value of 30.05 mg/100g fresh weight ($p \leq 0.05$). Sum of anthocyanin contents

of the eight cultivars of mulberry fruits decreased in the following order: KJ > CP, CM, NS 60, BR 60 > PT > WV > KS. Scavenging abilities on DPPH radicals were excellent for ethanolic extract of NS 60 and EC_{50} values, the concentrations of the ethanolic extract of mulberry fruit that exhibit 50% reduction in 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl hydrate (DPPH), of NS 60 (241.83 $\mu\text{g/ml}$) was significantly lower than those of the others ($p \leq 0.05$). KJ had highest reduce TPRZ-Fe (III) complex to TPTZ-Fe (II) (42.28 mg Fe(II)/g) and NS 60, WV, and CP had highest scavenging of 2,20-azinobis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate ($ABTS^{\bullet+}$) radicals (4.21, 4.19, and 3.42 mg TEAC/g, respectively). Total phenolic and total flavonoid contents of the mulberry fruit showed positive correlated to the scavenging activity of DPPH and $ABTS^{\bullet+}$ radicals and the ferric reducing ability (FRAP assay). A significant correlation was obtained between antioxidant activity (DPPH assay) and total phenolic content indicating that phenolic compounds contribute significantly to antioxidant activity of the investigated mulberry fruit. The results obtained demonstrated that the mulberry fruit with high antioxidant activity exhibited relatively high total phenolic and total flavonoid contents.

Keywords : mulberry fruits, flavonoid, phenolic acid, HPLC, antioxidant activity