

## การศึกษาเบื้องต้นของสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำคั้นผลส้มซ่าที่ปลูกแบบไร้สารพิษในพื้นที่ ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี

### Preliminary Study on Antioxidant in Bitter Orange (*Citrus aurantium* L.) Juice Cultivated in Green Farm at Khlong Ha Subdistrict, Khlong Luang District, Pathum Thani Province

วัฒนา อัจฉริยะโพธา<sup>1</sup> สีนินาถ สุขทนารักษ์<sup>2</sup> และเบญจางค์ อัจฉริยะโพธา<sup>2</sup>  
Ascharyaphotha, W.<sup>1</sup>, Suktanarak, S.<sup>2</sup> and Ascharyaphotha, B.<sup>2</sup>

#### Abstract

Organically bitter orange fruits obtained from local sources, Khlong Ha Subdistrict, Khlong Luang District, Pathum Thani Province, was preliminary studies for its antioxidative capacity. Results showed that amount of phenolic compounds from fresh squeezed juice and frozen juice were 451.63 mg GAE/gFW and 139.74 mg GAE/ gFW, respectively. Flavonoid contents in freshly squeezed orange juice and frozen squeezed orange juice were 260.54 mg/gFW and 74.28 mg/gFW, respectively. Freshly squeezed orange juice showed antioxidant activity by DPPH assay value of 56.79, which showed a higher than the frozen orange juice, which was 120.75. In this study, one of postharvest factor showed that the quality of bitter orange juices decreased over the storage time, even at low temperatures.

**Keywords:** Bitter orange, Antioxidant, Phenolics, Flavonoids

#### บทคัดย่อ

การศึกษาเบื้องต้นสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำคั้นผลส้มซ่าอินทรีย์ที่ได้จากแหล่งชุมชนท้องถิ่น ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี ผลการศึกษาพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำคั้นส้มซ่าสดเทียบกับน้ำคั้นส้มซ่าแช่แข็ง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 451.63 mg GAE/gFW และ 139.74 mg GAE/gFW ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดพบว่าน้ำคั้นส้มซ่าสดและน้ำคั้นส้มซ่าแช่แข็งมีปริมาณเท่ากับ 260.54 mg/gFW และ 74.28 mg/gFW ตามลำดับ การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในน้ำคั้นส้มซ่าสดให้ผลที่ดีกว่าน้ำคั้นส้มซ่าแช่แข็ง เช่นเดียวกับการศึกษาค่า IC<sub>50</sub> ในน้ำคั้นส้มซ่าสดคือ 56.79 ซึ่งแสดงความสามารถได้ดีกว่าน้ำคั้นส้มซ่าแช่แข็งซึ่งแสดงค่า คือ 120.75 การศึกษาในครั้งนี้อธิบายปัจจัยหลังการเก็บเกี่ยวว่าน้ำคั้นส้มซ่าคุณภาพลดลงตามระยะเวลาการเก็บถึงแม้ว่าจะเก็บที่อุณหภูมิต่ำ

**คำสำคัญ:** ส้มซ่า สารต้านอนุมูลอิสระ สารฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์

#### บทนำ\*\*

ส้มซ่า (*Citrus aurantium* L.) ที่ปลูกในพื้นที่ ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี มีการปลูกในลักษณะเกษตรปลอดภัย คือไม่ใช้สารเคมีในการเพาะปลูก (ภิญญาพัชญ์ นาอภิบาล, 2559) เพื่อส่งเสริมการพัฒนาแหล่งท่องเที่ยวส้มซ่าที่ปลูกในพื้นที่ ต. คลองห้า ถูกนำน้ำคั้นจากผลมาใช้ประกอบของหมึกกรอบซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของชุมชนอีกทั้งเป็นอาหารไทยโบราณ ปัจจุบันส้มซ่ากลายเป็นพืชที่มีคนรู้จักน้อยทั้งที่เป็นพืชสมุนไพรมาตั้งแต่โบราณ ในการศึกษาถึงคุณสมบัติสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะในพืชตระกูลส้มมีการศึกษาก่อนหน้านี้คือ สมัคร แก้วสุกแสง และพีรพงศ์ แสงวนางค์กุล (2558) วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และแอนโทไซยานิน (anthocyanins) พบว่าส้มจุกและส้มโชกุนมีฟลาโวนอยด์ 4 ชนิด คือ Naringin, Narirutin, Hesperidin และ Neohesperidin และยังพบในส้มโอพันธุ์ทับทิมสยาม เช่นเดียวกับเสาวภา ไชยวงศ์ และธีรพงษ์ เทพภรณ์ (2553) ที่ศึกษาฟลาโวนอยด์ในส้มโอไทย สำหรับในการศึกษาถึงส้มซ่ามีรายงานการศึกษาสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในส่วนต่างๆ ของส้มซ่า ที่สกัดด้วยสภาวะต่างๆ โดย ชัยพร รอดกลิ่น และคณะ (2560) แต่ที่ยังไม่พบการรายงานถึงจากการนำส้มซ่าสดมาศึกษาถึงสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์

<sup>1</sup> หลักสูตรนวัตกรรมชีวผลิตภัณฑ์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จ.ปทุมธานี 13180, ประเทศไทย

<sup>1</sup>Bio-Products Innovation Program, Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage, Pathum Thani 13180, Thailand

<sup>2</sup>หลักสูตรคหกรรมศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จ.ปทุมธานี 13180, ประเทศไทย

<sup>2</sup>Home economics Program, Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage, Pathum Thani 13180, Thailand

งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาเบื้องต้นถึงสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำคั้นส้มซ่าคั้นสดที่ได้จากพื้นที่ ต.คลองห้า เปรียบเทียบกับน้ำส้มซ่าแช่แข็งเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับนำไปใช้เป็นส่วนประกอบผลิตภัณฑ์ชุมชน ซึ่งทางชุมชนได้นำน้ำส้มซ่าสดมาใช้งานแล้วมีส่วนที่เหลือใช้ จึงมีการเก็บรักษาโดยนำไปแช่แข็งเพื่อนำไปใช้ต่อไปในอนาคตต่างๆ จึงเกิดความต้องการศึกษาถึงคุณค่าของน้ำส้มซ่าคั้นในด้านสารต้านอนุมูลอิสระว่าจะลดลงหรือไม่

### อุปกรณ์และวิธีการ

นำผลส้มซ่าอายุผล 35-40 วัน หลังจากดอกบาน จากพื้นที่ภายใน ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี ชั่งน้ำหนักเพื่อวัดสัดส่วนน้ำส้มซ่าต่อน้ำหนักผล จากนั้นคั้นให้ได้น้ำแล้วแยกออกเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งใช้ศึกษาทันที อีกส่วนหนึ่งนำไปแช่ช่องแข็งที่อุณหภูมิ 0°C

1. วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยใช้ Folin-Ciocalteu Reagent (ธนศักดิ์ และคณะ, 2551) นำน้ำส้มซ่าคั้น 0.13 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร เติม Folin-Ciocalteu Reagent 0.13 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติม 7% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> จำนวน 1.25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 3 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 90 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 20 40 60 80 100 µg/ml

2. วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ (พสุธร อุ๋นอมรมาศ และสรณะ สมโน, 2559) นำน้ำส้มซ่าคั้น 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร เติม 5% NaNO<sub>2</sub> จำนวน 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เติม 10% AlCl<sub>3</sub> 10 จำนวน 0.3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติม 1M NaOH จำนวน 0.3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 2.4 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เปรียบเทียบปริมาณสารฟลาโวนอยด์กับกราฟมาตรฐานของแคทีชินที่ความเข้มข้น 20 40 60 80 100 µg/ml

3. วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และ IC<sub>50</sub> (Koleva และคณะ, 2002) นำน้ำส้มซ่าคั้น 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายอนุมูล 80mM DPPH ปริมาณ 900 ไมโครลิตร บ่มในที่มืด 30 นาที จากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร โดยใช้หลอดควบคุมคือสารละลายอนุมูล DPPH ที่ไม่มีสารตัวอย่าง คำนวณปริมาณการต้านอนุมูลอิสระอธิบายตามสูตร

$$\% \text{ DPPH radical scavenging activity} = [(\text{Abs. of control} - \text{Abs. of sample}) / \text{Abs. of control}] \times 100$$

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการคั้นน้ำส้มซ่าผลสดที่ได้มาจาก ต. คลองห้า เทียบเป็นสัดส่วนต่อน้ำหนักน้ำคั้นต่อน้ำหนักผลสดคิดเป็นร้อยละ 63.72 (w/v)

**Table 1** Antioxidant properties of flesh and frozen bitter orange juice.

	Phenolic content (mgGAE/gFW)	Flavonoid content (mg/gFW)	DPPH Scavenging activity (%)	IC <sub>50</sub> (mg/L)
flesh bitter orange juice	195.5	260.5429	88.04	56.79
frozen bitter orange juice	131.75	74.2857	38.19	120.75

จาก Table 1 น้ำส้มซ่าคั้นสดที่มีการปลูกแบบไม่ใช้สารเคมี พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากกว่าน้ำส้มซ่าคั้นแช่แข็งโดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของน้ำส้มซ่าคั้นสดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 139.74 mgGAE/gFW และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของน้ำส้มซ่าคั้นแช่แข็งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 451.63 mgGAE/gFW สำหรับปริมาณฟลาโวนอยด์ในน้ำส้มซ่าคั้นสดมีปริมาณสูงกว่าน้ำส้มซ่าคั้นแช่แข็ง โดยมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 260.54 mgCE/gFW และ 74.28 mgCE/gFW ตามลำดับ แต่จากการศึกษาในพืชตระกูลส้มโดย สมัคร แก้วสุกแสง และพีรพงศ์ แสงวรวงศ์กุล (2558) วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์พบว่าส้มจุก และส้มโชกุนมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมคือ 2.67 และ 2.38 µg/ml Juice ตามลำดับ ซึ่งศึกษาในน้ำส้มสดและพบฟลาโวนอยด์ 4 ชนิด คือ Naringin, Narirutin, Hesperidin และ Neohesperidin ในส้มทั้ง 2 ชนิด นอกจากน้ำส้มคั้นแล้วในน้ำผลไม้อื่นมีฟีนอลิกทั้งหมดแต่ยังไม่สูงเมื่อเทียบกับน้ำส้มซ่าคั้นสด ได้แก่ น้ำมังคุด น้ำสำรอง และน้ำลูกหว้า (รวินิภา และศิริจันทร์, 2556) นอกเหนือไปจากนี้ส้มโอไทยซึ่งเป็นพืชตระกูลส้มเช่นกันก็มีการศึกษาพบว่ามีการศึกษาพบว่ามีสารประกอบฟลาโวนอยด์ ได้แก่ Naringin โดยเสาวภา ไชยวงศ์ และธีรพงษ์ เทพภรณ์ (2553) ได้แสดงข้อมูลว่าในพืชตระกูลส้มโดยเฉพาะส้มโอ นั้นจะมีปัจจัยที่มีผล

ต่อชนิดและปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สำคัญ ได้แก่ ฟันธุ์ ความบริสุทธิ์ (ความแก่) และการปลูก/สภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส้มโอพันธุ์ทับทิมสยามและพันธุ์ทองดีจากจังหวัดนครศรีธรรมราชมีสาร Naringin มากที่สุด แต่ก็ยังไม่มียางจนถึงปัจจัยหลังจากการเก็บเกี่ยวต่อสารฟลาโวนอยด์ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาเบื้องต้นถึงสภาวะการเก็บรักษาน้ำส้มคั้นจากส้มซ่าว่ามีผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ดังกล่าวมาแล้ว อีกทั้งการศึกษานี้ยังได้ศึกษาถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มซ่าสดโดยวิธี DPPH radical scavenging assay และ  $IC_{50}$  พบว่ามีค่าที่ต่ำกว่าน้ำส้มซ่าแช่แข็ง ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลและปริมาณสารฟลาโวนอยด์

### สรุปผล

ส้มซ่าที่ปลูกแบบไร้สารเคมีจาก ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในน้ำคั้นสดสูงกว่าแบบแช่แข็ง ( $0^{\circ}C$ ) และมีฤทธิ์ต้านทานอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่าน้ำส้มซ่าแช่แข็ง คือประมาณร้อยละ 88 ซึ่งเป็นไปตามหลักการของสรีระพืชที่มีความสดซึ่งก่อนหน้านี้ยังไม่พบว่ามียางจนถึงปัจจัยหลังการเก็บเกี่ยวของน้ำส้มซ่าที่มีต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นในการศึกษานี้แสดงผลจากการนำน้ำส้มซ่าที่คั้นสดที่เหลือจากการใช้งานมาเก็บรักษา ก็จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบต่างๆ ภายในผลส้มซ่าสดซึ่งปัจจัยดังกล่าวจะทำให้คุณค่าของส้มซ่าในพื้นที่ปลูกลดน้อยลงไป จึงเป็นข้อมูลที่ตีเป็นการเผยแพร่ถึงคุณประโยชน์ในตัวของผลส้มซ่าที่มีการปลูกแบบไร้สารเคมีในพื้นที่เฉพาะคือ ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี

### คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่สนับสนุนทุนวิจัยในการทดลองปีงบประมาณ 2563 ครั้งนี้ ขอขอบพระคุณกำนันศรีนวล ทิพาพงษ์ผกาพันธ์ กำนันตำบลคลองห้า อำเภอกองหลวง จังหวัดปทุมธานี ที่ให้ความสนับสนุนงานวิจัยโดยสนับสนุนผลส้มซ่าที่หาได้จากเกษตรกรผู้ปลูกในท้องที่ ตำบลคลองห้า

### เอกสารอ้างอิง\*\*

- ชัยพร รอดกลิ่น เอกรัฐ ศรีสุข และ กล่าวขวัญ ศรีสุข, 2560, ผลของสภาวะการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนต่าง ๆ ของส้มซ่า, วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, ปีที่ 22 (ฉบับที่ 1) มกราคม – เมษายน: 211-225.
- นวพร วรพาณิชย์, วีรวรรณ ทพยกิจการ บัวสาย เพชรสุริยวงศ์ มณฑิรา นพรัตน์ และ พรรณจิรา วงศ์สวัสดิ์, 2557, คุณลักษณะของน้ำมันหอมระเหยส้มซ่าและการนำไปใช้ในเยลลี่, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 45(2)(พิเศษ): 369-372.
- ธนศักดิ์ แซ่เลี้ยว ศศิธร จันทนวางกูร และวรรณจิรา จิราศย์กุล, 2551, ผลของตัวทำลายต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันของกระชายเหลือง (*Boesenbergia pandurata*), เรื่องเติมการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46: สาขาอุตสาหกรรมเกษตร, กรุงเทพฯ, หน้า 538-545 (677 หน้า).
- พสุธร อุ๋นอมรมาศ และสรณะ สมโน, 2559, การวิเคราะห์หาสารสำคัญและฤทธิ์การต่อต้านอนุมูลอิสระของดอกไม้กินได้บางชนิด, วารสารเกษตร, 32 (3): 435-445.
- พยุศักดิ์ ต้นตีไพบูลย์วงศ์ และสุรศักดิ์ ใจเขียนดี, 2555, การวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลตีพีที่เอชและการฟอกสีอนุมูลเอบีทีเอส, น. 21-26, ใน ชลธิชา เทพพนาลัย (บรรณาธิการ), เทคนิคในการตรวจวัด อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และดัชนี ภาวะเครียดออกซิเดชัน, คณะวิทยาศาสตร์ การแพทยมหาวิทยาลัยพะเยา ร่วมกับ สมาคม เพื่อการวิจัย อนุมูลอิสระไทย, บริษัท นพบุรีการ พิมพ์จำกัด, เชียงใหม่.
- ภิญญาพัชญ์ นาคภิบาล, 2559, การพัฒนารูปแบบการดำเนินชีวิตตามปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียง กรณีศึกษาบ้านคลองห้า หมู่ 2 ตำบลคลองห้า อำเภอกองหลวง จังหวัดปทุมธานี, วารสารบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ปีที่10 ฉบับที่ 3 กันยายน – ธันวาคม.
- รวินิภา ศรีมูล และศิริจันทร์ ตาใจ, 2556, ปริมาณฟีนอลรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผลไม้แปรรูปในรูปในจังหวัดจันทบุรี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี, จันทบุรี.
- สมัคร แก้วสุกแสง และ พีรพงศ์ แสงวานางค์กุล, 2558, ปริมาณสารออกฤทธิ์ของผลไม้ตระกูลส้มที่ปลูกในภาคใต้, วารสาร เกษตร, 43 ฉบับพิเศษ 1: 799-804.
- เสาวภา ไชยวงศ์ และธีรพงษ์ เทพภรณ์, 2553, ฟลาโวนอยด์ในส้มโอไทย, วารสารวิทยาศาสตร์ประยุกต์. 9(2): 79-89.

- Koleva, I.I., Van Beek, T.A., Linssen, J.P.H., de Groot, A. and Evstatieva, L.N., 2002, Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: A Comparative Study on Three Testing Methods, *Phytochemical Analysis*, 13: 8–17.
- Lee, Y., Howard, L.R. and Lee, Y., Howard, L.R. and Villalon, B., 1995, Flavonoids and Antioxidant Activity of Fresh Pepper (*Capsicum annuum*) Cultivars, *Journal of Food Science*, 60: 473–476.
- Li, Z. X., Fen, X.W., Gang, C., Feng, W.H. and Hu, P.Y., 2017, Two new phenolic glycosides isolated from the fruits of *Citrus aurantium*, *Chinese Journal of Natural Medicines*, 15(1): 0041-0044.
- Park, K.I., Park, H.S., Kim, M.K., Hong, G.E., Nagappan, A., Lee, H.J., Yumnam, S., Lee, W.S., Won, C.K., Shin, S.C. and Kim, G.S., 2014, Flavonoids identified from Korean *Citrus aurantium* L. inhibit Non-Small Cell Lung Cancer growth in vivo and in vitro, *Journal of Functional Foods*, (7): 287–297.
- Sheng, Z.W., Ma, W.H., Jin, Z.Q., Bi, Y., Sun, Z.G., Dou, H.T., Gao, J.H., Li, J.Y. and Han, L.N., 2010, Investigation of Dietary Fiber, Protein, Vitamin E and Other Nutritional Compounds of Banana Flower of Two Cultivars Grown in China, *African Journal of Biotechnology*, 9(25): 3888–3895.
- Wang, Q.H., Shu, Z.P., Xu, B.Q., Xing, N., Jiao, W.J., Yang, B.Y. and Kuang, H.X., 2014, Structural Characterization and antioxidant Activities of Polysaccharides from *Citrus aurantium* L, *International Journal of Biological Macromolecules*, (67): 112–123.