ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อมต่อสารพฤกษเคมีของใบมะละกอ

ธัญญารัตน์ ชุ่มหมื่นไวย์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ปีการศึกษา 2563

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

GENOTYPE X ENVIRONMENT INTERACTIONS ON THE PHYTOCHEMICAL TRAITS OF PAPAYA LEAVES

THANYARAT CHUMMUENWAI

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
MAJOR IN AGRICULTURE FACULTY OF AGRICULTURE
UBON RATCHATHANI UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2020
COPYRIGHT OF UBON RATCHATHANI UNIVERSITY

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณา และความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทินน์ พรหมโชติ และอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รองศาสตราจารย์ ดร.บุญส่ง เอกพงษ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา รุ่งรัชกานนท์ ได้ให้คำแนะนำตรวจสอบแก้ไข ข้อบกพร่องต่าง ๆ เพื่อปรับปรุงให้ดียิ่งขึ้น ด้วยความเอาใจใส่ รวมทั้งการเป็นแบบอย่างที่ดีแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด และขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ ดร.นิมมานรดี พรหมทอง กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและข้อเสนอแนะเพิ่มเติมที่เป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบคุณมูลนิธิพระบรมราชานุสรณ์พระบาทสมเด็จพระปกเกล้าเจ้าอยู่หัวและสมเด็จพระนางเจ้ารำไพพรรณี ทุนสนับสนุนเพื่อใช้ในการค้นคว้าวิจัย ประจำปี 2561 และทุนการศึกษาจากคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ประจำปีการศึกษา 2559 ให้ทุนสนับสนุนการศึกษาและการวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่กรุณามอบเมล็ดพันธุ์มะละกอ เพื่อใช้ในการทดลองครั้งนี้ ขอขอบคุณนักวิชาการ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการคณะเกษตรศาสตร์ทุกท่าน ได้ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และกำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา ขอขอบพระคุณหัวหน้าสำนักงานไร่ฝึกทดลองและเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการเก็บข้อมูล ซึ่งทุกท่านให้ความร่วมมือในการศึกษาจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดี ขอขอบคุณท่านอาจารย์ทุกท่านที่ให้ความรู้ พี่ ๆ เพื่อน ๆ นักศึกษาที่คอยให้กำลังใจ และขอขอบคุณสถาบันการศึกษาแห่งนี้ ที่ได้ให้ความรู้ และประสบการณ์อันมีค่าในการศึกษาครั้งนี้

ท้ายสุดนี้ผู้วิจัยกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และทุกคนในครอบครัว คอยที่ให้กำลังใจ ส่งเสริมและสนับสนุนให้มีการศึกษาที่ดี มีคุณค่าและประโยชน์ที่เกิดจากการศึกษาครั้งนี้ และขอมอบแด่ผู้ที่อยู่เบื้องหลังในการส่งเสริมความสำเร็จ ทั้งที่ได้กล่าวนามถึงและมิได้กล่าวนามถึงทุกท่าน และขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

ธัญญารัตน์ ชุ่มหมื่นไวย์
ผู้วิจัย

บทคัดย่อ

เรื่อง	:	ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อมต่อสารพฤกษเคมีของใบมะละกอ
ผู้วิจัย	:	ธัญญารัตน์ ชุ่มหมื่นไวย์
ชื่อปริญญา	:	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	:	เกษตรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	:	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทินน์ พรหมโชติ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	:	รองศาสตราจารย์ ดร.บุญส่ง เอกพงษ์
	:	รองศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา รุ่งรัชกานนท์
คำสำคัญ	:	ใบมะละกอ, ปริมาณสารพฤกษเคมี, ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ 1) เพื่อทราบปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ 3 ระยะ คือ ระยะใบอ่อน ระยะใบแก่ และระยะใบแก่มาก 2) เพื่อทราบปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมและฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล และ 3) เพื่อทราบค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏระหว่างความสัมพันธ์ปริมาณสารพฤกษเคมีกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และความสัมพันธ์ของลักษณะกายภาพใบมะละกอกับปริมาณสารพฤกษเคมี ผลการทดลองพบว่า ใบมะละกอระยะใบแก่มาก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 116.43 mg GAE.g^{-1} dried extract สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 280.32 mg CE.g^{-1} dried extract และวิตามินซีเท่ากับ 25.94 mg ascorbic acid/100 g FW นอกจากนี้ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH มีค่าร้อยละความสามารถการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 10.89% และวิธี CUPRAC มีค่าเท่ากับ 486.33 mg TE.g^{-1} dried extract การศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมและฤดูกาลในใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล พบว่า ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลมีอิทธิพลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด วิตามินซี และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH และวิธี CUPRAC ยกเว้นสารอัลคาลอยด์ โดยพบว่า มะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่และศรีราชภัฏ ซึ่งเป็นพันธุ์พื้นเมืองที่นิยมปลูกและบริโภคกันมากมีปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ยสูงที่สุดทั้ง 3 ฤดูกาล และจากการศึกษาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏ พบว่า ลักษณะที่มีความสัมพันธ์สูงกว่าลักษณะอื่น ๆ ได้แก่ ความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินซีกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH และวิธี CUPRAC (r=-0.30** และ r=0.49** ตามลำดับ) และความสัมพันธ์ระหว่างสีใบกับวิตามินซี ซึ่งลักษณะความสัมพันธ์เหล่านี้มีประโยชน์สำหรับวางแผนการปรับปรุงพันธุ์มะละกอ ช่วยในการคัดเลือกลูกผสมทางอ้อมของมะละกอ ให้มีปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูง

ABSTRACT

TITLE : GENOTYPE X ENVIRONMENT INTERACTIONS ON THE PHYTOCHEMICAL TRAITS OF PAPAYA LEAVES
AUTHOR : THANYARAT CHUMMUENWAI
DEGREE : MASTER OF SCIENCE
MAJOR : AGRICULTURE
ADVISOR : ASST. PROF. THIN PROMCHOT, Ph.D.
CO-ADVISORS : ASSOC. PROF. BOONSONG EKPONG, Ph.D.
: ASSOC. PROF. KARNCHANA RUNGRUCHKANONT, Ph.D.
KEYWORDS : PAPAYA LEAVES, PHYTOCHEMICAL CONTENTS, GENOTYPE X ENVIRONMENT INTERACTION

The objectives of this research were (1) to evaluate phytochemical contents and the antioxidant activity of papaya leaves in Yellow Krabi in three stages: young, mature and old-mature papaya leaves (2) to estimate the interaction between genotype and season on phytochemical contents in papaya leaves of six varieties from the three seasons and (3) to know the phenotypic correlation coefficient between phytochemical contents with an antioxidant activity and the correlation coefficient between physical properties of papaya leaves with phytochemical contents. The results showed that old-mature papaya leaves had a total phenolic compound of 116.43 mg GAE.g^{-1} dried extract, a total flavonoid compound of 280.32 mg CE.g^{-1} dried extract and vitamin C at 25.94 mg ascorbic acid /100 g FW. In addition, antioxidant activity determined by the DPPH method had a radical scavenging activity of 10.88% and through the CUPRAC method, at 486.33 mg TE.g^{-1} dried extract. A study of genotypes and seasonal interactions in 6 varieties of papaya leaves from the three seasons showed that genotype and seasonal interaction revealed that influence on total phenolic compound, total flavonoid compound, vitamin C and antioxidant activity by the DPPH and CUPRAC method, (except for alkaloids). It was found that Yellow Krabi and Sri Rajabhat (a native variety that is widely cultivated and consumed). It was also found to contain phytochemicals and antioxidant activity that had the highest average among all 3 seasons. From the study of phenotypic correlation coefficient, it was found that the correlation between vitamin C and antioxidant activity by the DPPH and CUPRAC method were r=-0.30** and r=0.49**, respectively, and there was a correlation between leaf color and vitamin C. These relational characteristics are useful for planning papaya breeding.

This will aid in the indirect selection of papaya hybrids that will provide for high phytochemicals and antioxidant activity.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	**ก**
บทคัดย่อภาษาไทย	**ข**
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	**ค**
สารบัญ	**จ**
สารบัญตาราง	**ช**
สารบัญภาพ	**ญ**
คำอธิบายสัญลักษณ์และอักษรย่อ	**ฏ**
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย	2
1.3 สมมติฐานการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.5 ขอบเขตการศึกษา	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะละกอ	4
2.2 ปัจจัยที่ควบคุมการแสดงออกเกี่ยวกับเพศของมะละกอ	7
2.3 สายพันธุ์มะละกอที่ใช้ในการศึกษา	9
2.4 ความสำคัญและการนำไปใช้ประโยชน์ของมะละกอ	10
2.5 สารอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ	11
2.6 สารพฤกษเคมีในใบมะละกอ	17
2.7 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมกับปริมาณสารพฤกษเคมี	26
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 การปลูกและดูแลรักษาต้นมะละกอ	31
3.2 การทดลองที่ 1 การศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่	31
3.3 การทดลองที่ 2 การศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุ์กับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ	35
3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ	36

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัย	
4.1 ผลการทดลองที่ 1 การศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่	40
4.2 ผลการทดลองที่ 2 การศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุ์กับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ	41
บทที่ 5 อภิปรายผล	
5.1 การศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่	54
5.2 การศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุ์กับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ	55
บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะการวิจัย	
6.1 สรุปผลการทดลอง	60
6.2 ข้อเสนอแนะการวิจัย	61
เอกสารอ้างอิง	**62**
ภาคผนวก	
ก ตารางวิเคราะห์ทางสถิติ	73
ข ข้อมูลสภาพอากาศ	79
ค การเตรียมสารและคำนวณหาปริมาณสารพฤกษเคมี	82
ง ภาพสารละลายมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน	98
จ ภาพสายพันธุ์มะละกอที่ใช้ในการศึกษา	102
ฉ ค่า Hue angle	106
ประวัติผู้วิจัย	**108**

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	อัตราส่วนเพศของการผสมข้ามระหว่างชนิดเพศมะละกอที่แตกต่างกัน	8
2.2	Proximate composition of papaya pulp, leaves	11
2.3	การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นในใบมะละกอด้วยสารสกัดชนิดต่าง ๆ	19
3.1	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของลักษณะต่างๆ จากรูปแบบทางสถิติของสมการที่ (1)	37
3.2	องค์ประกอบความแปรปรวนของลักษณะต่าง ๆ จากรูปแบบทางสถิติของสมการที่ (1) โดยกำหนดให้ปัจจัยต่าง ๆ ในสมการเป็นปัจจัยแบบสุ่ม	38
4.1	ค่าการวัดสีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ 3 ระยะ	40
4.2	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ปริมาณวิตามินซี ปริมาณสารอัลคาลอยด์ และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และวิธี CUPRAC ในใบมะละกอ 3 ระยะ	41
4.3	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของปฏิกิริยาร่วมระหว่างสายพันธุ์มะละกอกับฤดูกาลในการเก็บเกี่ยวต่อปริมาณสารพฤกษเคมี	44
4.4	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ลำดับของสเปียรแมนของสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันในใบมะละกอ 6 พันธุ์ เมื่อเก็บเกี่ยวในฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว	45
4.5	ค่าองค์ประกอบความแปรปรวนของปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ	51
4.6	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏ (Phenotypic correlation coefficient) ระหว่างปริมาณสารพฤกษเคมีกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันและลักษณะกายภาพของใบกับปริมาณสารพฤกษเคมี	53
ก.1	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ 3 ระยะต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	74
ก.2	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ 3 ระยะต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	74
ก.3	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ 3 ระยะต่อปริมาณวิตามินซี	74
ก.4	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ 3 ระยะต่อปริมาณสารอัลคาลอยด์	75
ก.5	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ 3 ระยะต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH	75
ก.6	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ 3 ระยะต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC	75

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ก.7	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) และองค์ประกอบความแปรปรวนของใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	76
ก.8	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) และองค์ประกอบความแปรปรวนของใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาลต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	76
ก.9	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) และองค์ประกอบความแปรปรวนของใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาลต่อปริมาณวิตามินซี	77
ก.10	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาลต่อปริมาณสารอัลคาลอยด์	77
ก.11	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) และองค์ประกอบความแปรปรวนของใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาลต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH	78
ก.12	วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) และองค์ประกอบความแปรปรวนของใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาลต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC	78
ข.1	ข้อมูลอุตุนิยมของอำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี ในปี พ.ศ. 2561	80
ข.2	ข้อมูลอุตุนิยมของอำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี ในปี พ.ศ. 2562	81
ค.1.1	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) สำหรับการศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่	84
ค.1.2	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) สำหรับการศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล	85
ค.2.1	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 nm ของสารมาตรฐานคาเทชิน (Catechin) สำหรับการศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่	87
ค.2.2	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 nm ของสารมาตรฐานคาเทชิน (Catechin) สำหรับการศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ 6 สายพันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล	88
ค.6.1	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 nm ของสารมาตรฐานโทรล๊อก (Trolox) สำหรับการศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่	96

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ค.6.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 nm ของสารมาตรฐานโทรล๊อก (trolox) สำหรับการศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุ์กับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล 97

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ลักษณะเพศของดอกมะละกอ	6
2.2	ลักษณะผลของมะละกอ	7
2.3	Reactive oxygen species damage DNA, lipids and proteins	13
2.4	โครงสร้างทางเคมีของสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์	14
2.5	การทำงานเอนไซม์ catalase และ Glutathione peroxidase ในการกำจัดอนุมูลอิสระ	15
2.6	ปฏิกิริยาวิธี CUPRAC และสารที่ทำให้เกิดสี (chromophore) ได้แก่ bis (neocuproine) และ copper (I) มีไอออนเป็นบวก [โปรตอนที่ปลดปล่อยออกมาในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นกลางด้วยสารแอมโมเนียอะซีเตตบัฟเฟอร์ (NH_4Ac buffer)]	17
2.7	แผนภาพกระบวนการสังเคราะห์สารปฐมภูมิ (primary metabolites) และสารทุติยภูมิ (secondary metabolites)	18
2.8	วิถีการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก	22
2.9	โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟลาโวนอยด์	22
2.10	โครงสร้างเคมีกลุ่มย่อยของฟลาโวนอยด์	24
2.11	การเปลี่ยนโครงสร้างของวิตามินซีโดยเอนไซม์ในร่างกาย	25
3.1	ภาพแสดงระยะใบมะละกอที่ศึกษา	32
4.1	ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	45
4.2	ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	46
4.3	ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลของวิตามินซี	47
4.4	ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลของฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH	48
4.5	ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลของฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี CUPRAC	48
4.6	ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลของอัลคาลอยด์	50
ค.1.1	กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ได้สมการ $y = 5.5677x + 0.1387$ ($R^2 = 0.998$) ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 765 nm กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก สำหรับการศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่	84
ค.1.2	กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ได้สมการ $y = 10.303x + 0.1066$ ($R^2 = 0.999$) ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 765 nm กับความเข้มข้นต่างๆ ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก สำหรับการศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล	85

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
ค.2.1	กราฟมาตรฐานคาเทชิน ได้สมการ y= 0.8806x + 0.0455 (R^2 = 0.996) ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 510 nm กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานคาเทชิน สำหรับการศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่	87
ค.2.2	กราฟมาตรฐานคาเทชิน ได้สมการ y= 1.7104x + 0.0417 (R^2 = 0.996) ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 510 nm กับความเข้มข้นต่างๆ ของสารมาตรฐานคาเทชิน สำหรับการศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล	88
ค.6.1	กราฟมาตรฐานโทรล๊อก ได้สมการ y= 2.8058x + 0.4351 (R^2 = 0.998) ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 450 nm กับความเข้มข้นต่างๆ ของสารมาตรฐานโทรล๊อก สำหรับการศึกษาระยะใบมะละกอต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่	96
ค.6.2	กราฟมาตรฐานโทรล๊อก ได้สมการ y= 1.4445x + 0.1888 (R^2 = 0.998) ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 450 nm กับความเข้มข้นต่างๆ ของสารมาตรฐานโทรล๊อก สำหรับการศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุ์กับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล	97
ง.1	สารมาตรฐานกรดแกลลิค (gallic acid) ในการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	99
ง.2	สารมาตรฐานคาเทชิน (catechin) ในการวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	99
ง.3	การไตเตรทสารตัวอย่างจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู ที่มีความเข้มใกล้เคียงกับวิตามินซีมาตรฐาน	100
ง.4	สารมาตรฐานในการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH	100
ง.5	สารมาตรฐานโทรล๊อก (trolox) ในการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC	101
จ.1	มะละกอพันธุ์แขกดำเกษตร	103
จ.2	มะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ	103
จ.3	มะละกอพันธุ์ศรีราชภัฏ	104
จ.4	มะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์	104
จ.5	มะละกอพันธุ์เรดเลดี้	105
จ.6	มะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่	105
ฉ.1	ระบบค่าสี CIELAB และ CIELCH	106

คำอธิบายสัญลักษณ์และอักษรย่อ

สัญลักษณ์และอักษรย่อ	ความหมาย
ABTS	การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้สารละลาย 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)
CUPRAC	วิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี cupric ion reducing antioxidant capacity
CE	สารมาตรฐานคาเทชิน (catechin)
DPPH	วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้สารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
F_o	Minimum Fluorescence
F_m	Maximum Fluorescence
FRAP	วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้สารละลาย Ferric reducing antioxidant power
F_v	Variable fluorescence (F_m-F_o)
F_v/F_m	Photochemical efficiency
FW	Fresh Weight
GAE	สารมาตรฐานกรดแกลลิค (Gallic acid)
IC_{50}	ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์
TE	สารมาตรฐานโทรล๊อก (Trolox)
ROS	Reactive Oxygen Species

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

มะละกอเป็นไม้ผลเศรษฐกิจสำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทยที่มีผลผลิตตลอดปี จากสถิติการเพาะปลูกในปี 2559 พบว่า พื้นที่ปลูกมะละกอทั้งประเทศเท่ากับ 51,921 ไร่ สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 145,029 ตัน (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร, 2560) ประเทศไทยมีทั้งการนำเข้าและส่งออกมะละกอในช่วงปี 2561-2562 มีการนำเข้ามะละกอปริมาณ 98 ตัน มูลค่ารวม 2,373 ล้านบาท ส่วนการส่งออกปริมาณรวม 4,035 ตัน มูลค่ารวม 81,889 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562) จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่า ประเทศไทยมีปริมาณการส่งออกมะละกอมากกว่าการนำเข้า เนื่องจากมะละกอสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่างทั้งการบริโภคผลดิบและผลสุก นำไปใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมด้านต่าง ๆ เช่น ทางด้านอาหาร ทางการแพทย์ เป็นต้น

มะละกอ (*Carica papaya* L.) เป็นพืชอยู่ในวงศ์ Caricaceae มีรายงานพบว่า ผลของมะละกอทั้งผลดิบและผลสุก อุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการมากมาย โดยเฉพาะผลสุกมีวิตามินซีและแคโรทีนอยด์สูงกว่าผลดิบ (Krishna et al., 2008; Yogiraj et al., 2015) นอกจากคุณค่าทางอาหารที่พบในผลมะละกอ ใบมะละกอยังมีสารพฤกษเคมีหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อการรักษาโรคต่าง ๆ เช่น ลดความเสี่ยงของโรคหัวใจ (Runnie et al., 2004) ช่วยสมานบาดแผล (Mahmood, Sidik and Salmah, 2005) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Owoyele et al., 2008) ต้านการเกิดมะเร็ง เนื้องอก (Otsuki et al., 2010) ฤทธิ์ในการต้านจุลชีพ (Baskaran et al., 2012) จากคุณประโยชน์ที่กล่าวมาข้างต้นในใบมะละกอทำให้ได้รับความสนใจ และมีโอกาสในการนำไปใช้ประโยชน์มากขึ้นดังคุณสมบัติที่กล่าวมา ในการผลิตมะละกอเชิงการค้าสายพันธุ์ที่มีปริมาณของสารพฤกษเคมีที่สูงและมีความสม่ำเสมอ หากมีการทราบชนิดและปริมาณรวมถึงกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระในใบของมะละกอจึงมีประโยชน์อย่างมากทางด้านยารักษาโรค ด้านเภสัชกรรมและด้านอาหารเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ใหม่ที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง ๆ อย่างไรก็ตามปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในพืชมักมีความแปรปรวนไม่แน่นอนทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยทางด้านต่าง ๆ เช่น สายพันธุ์ของพืช อุณหภูมิ การเขตกรรม ระยะการสุกแก่และระยะการเก็บเกี่ยวของพืช เป็นต้น (Nantitanon, Yotsawimonwat and Okonogi, 2010) โดยระยะการพัฒนาของใบมีผลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีชนิดต่าง ๆ จากการศึกษาของ นิภาพร ยลสวัสดิ์ มณทินี ธีรารักษ์ และจำรูญ เล้าสินวัฒนา (2557) ประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลจากส่วนของยอดใบอ่อน และใบแก่ของทุเรียน 10 สายพันธุ์ และวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นโดยใช้วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhdrazyl (DPPH) การประเมินความสามารถในการจับกับโลหะและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่า สารสกัดจากใบทุเรียนมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน โดยใบอ่อนทุเรียนพันธุ์กบเจ้าคุณมี

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 381.07 ppm เมื่อทดสอบความสามารถในการจับกับโลหะ พบว่า สารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนทั้ง 10 พันธุ์ มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน ซึ่งสารสกัดเอทานอลจากใบแก่ทุเรียนพันธุ์กำปั่นตาเพ็ง มีความสามารถในการจับกับโลหะมากที่สุดและจากการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่า สารสกัดเอทานอล จากส่วนยอดทุเรียนพันธุ์เมล็ดคชสารมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 2186.70 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อใบแห้ง 100 กรัม สอดคล้องกับการศึกษาของ ภานุวัฒน์ สีพันธ์ และคณะ (2560) ศึกษาระยะการพัฒนาของใบสด 3 ระยะ ได้แก่ ใบอ่อน ใบเพสลาด และใบแก่ ในมะนาวโห่ต่อปริมาณสารพฤกษเคมีและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่า เมื่อใบมะนาวโห่มีระยะพัฒนาการเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณสารพฤกษเคมีต่าง ๆ เพิ่มขึ้นด้วย โดยใบแก่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกฟลาโวนอยด์ ความเป็นกรดวิตามินซี น้ำตาลทั้งหมดมีค่าสูงที่สุด และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ FRAP สูงที่สุด ระยะใบอ่อนให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH มากที่สุด และระยะใบเพสลาดให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS มากที่สุด นอกจากนี้ปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมมีผลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีเช่นเดียวกับการศึกษาของณัฐยาพร หนันต๊ะ และคณะ (2559) ประเมินความแปรปรวนของความเข้มข้นไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนของฟักข้าว 13 สายพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวในช่วงฤดูฝนและฤดูร้อน พบว่า ฤดูกาลมีอิทธิพลต่อความเข้มข้นของไลโคปีนและเบต้าแคโรทีน ในฟักข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ มีการตอบสนองต่อฤดูกาลแตกต่างกันในลักษณะของความเข้มข้นของไลโคปีน เบต้าแคโรทีน และแคโรทีนอยด์รวมแตกต่างกัน เนื่องจากมะละกอเป็นพืชที่ยังไม่มีข้อมูลที่ศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบจากสภาพแวดล้อมต่อสารพฤกษเคมีมีเพียงการรายงานในกลุ่มพืชผักและผลไม้บางชนิดจึงได้นำข้อมูลที่เกี่ยวข้องมาใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงในการศึกษาครั้งนี้อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงของฤดูกาลสามารถส่งผลกระทบต่อปริมาณของสารพฤกษเคมีที่แตกต่างกันในใบของมะละกอแต่ละสายพันธุ์ได้

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.2.1 เพื่อทราบปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ 3 ระยะ คือ ระยะใบอ่อน ระยะใบแก่ และระยะใบแก่มาก

1.2.2 เพื่อทราบปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมและฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล

1.2.3 เพื่อทราบค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏ (Phenotypic correlation coefficient) ระหว่างปริมาณสารพฤกษเคมีกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน และลักษณะกายภาพของใบมะละกอกับปริมาณสารพฤกษเคมี

1.3 สมมติฐานการวิจัย

1.3.1 ระยะใบมะละกอมีผลต่อปริมาณสารพฤกษเคมี

1.3.2 สายพันธุ์มะละกอและฤดูกาลมีผลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงระยะใบมะละกอที่เหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์

1.4.2 ทราบถึงปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุ์และฤดูกาลที่มีผลต่อสารพฤกษเคมีในมะละกอ

1.4.3 ทราบถึงปริมาณและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระในใบของมะละกอ 6 สายพันธุ์ ได้แก่ แขกดำเกษตร แขกดำศรีสะเกษ ศรีราชภัฏ ฮอลแลนด์ เรดเลดี้ และเหลืองกระบี่

1.4.4 ทราบถึงความสัมพันธ์หว่างสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน และลักษณะกายภาพของใบมะละกอกับปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน

1.5 ขอบเขตการศึกษา

1.5.1 ศึกษาระยะใบของมะละกอ 3 ระยะ ได้แก่ ใบอ่อน ใบแก่ และใบแก่มาก เพื่อประเมินปริมาณสารพฤกษเคมี

1.5.2 วิเคราะห์ปริมาณและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระในใบมะละกอที่พัฒนาในฤดูฝน (กรกฎาคม–ตุลาคม พ.ศ. 2561) ฤดูหนาว (พฤศจิกายน พ.ศ. 2561–กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2562) และฤดูร้อน (มีนาคม-มิถุนายน พ.ศ. 2562) จากมะละกอ 6 พันธุ์ ได้แก่ แขกดำเกษตร แขกดำศรีสะเกษ ศรีราชภัฏ ฮอลแลนด์ เรดเลดี้ และเหลืองกระบี่ โดยหาปริมาณสารพฤกษเคมี ได้แก่ การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด ปริมาณวิตามินซี ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และการตรวจสอบฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และวิธี CUPRAC

1.5.3 ศึกษาสหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏ (Phenotypic correlation coefficient) ระหว่างสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน และลักษณะกายภาพของใบมะละกอกับปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มะละกอมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Carica papaya* L. มีชื่อสามัญหลายชื่อ เช่น papaya, papaw, papane และ papepy แต่ที่นิยมเรียกมากที่สุดคือ papaya จัดอยู่ในวงศ์ Caricaceae ซึ่งเป็นวงศ์เล็ก ๆ ของพืชใบเลี้ยงคู่ มะละกอยังมีชื่ออื่นที่ปรากฏในแต่ละภูมิภาคของประเทศไทย ได้แก่ มะก้วยเทศ (ภาคเหนือ) หมักหุ่ง (ลาว นครราชสีมา เลย) ลอกอ (ภาคใต้) กล้วยลา (ยะลา) แตงต้น (สตูล) มะละกอมีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนของทวีปอเมริกากลาง ได้แก่ ประเทศเม็กซิโกตอนใต้และคอสตาริกา ในปี ค.ศ. 1513-1525 (2056-2068) โดยเมล็ดของมะละกอได้แพร่กระจายไปยังปานามาและดาเรียน ต่อไปยังซานโคมิงโก และหมู่เกาะอินดิสตะวันตก เข้าไปยังฟิลิปปินส์ ช่วงกลางศตวรรษที่ 16 แล้วจึงได้แพร่เข้าสู่อินโดนีเซียและอินเดียในศตวรรษที่ 18 เข้าสู่แซนซิบาร์และอูกันดาในปี ค.ศ. 1874 (พ.ศ. 2417) ปัจจุบันมะละกอมีปลูกกันทั่วไปในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อน มีแหล่งผลิตที่สำคัญของโลก ได้แก่ ฮาวายและฟลอริด้าของอเมริกา หมู่เกาะคาริบเบี้ยน อัฟริกาตะวันออก อัฟริกาใต้ ศรีลังกา อินเดีย มาเลเซีย และออสเตรเลีย ส่วนแหล่งผลิตที่สำคัญในประเทศไทย ได้แก่ นครปฐม ราชบุรี นครราชสีมา และศรีสะเกษ โดยการปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมักจะปลูกเพื่อใช้บริโภคผลดิบเป็นส่วนใหญ่ (ธีรนุช เจริญกิจ, 2555) ปัจจุบันแหล่งปลูกมะละกออยู่ในเขตเส้นรุ้งที่ 32 องศาเหนือและใต้ สามารถปลูกได้ที่ระดับความสูง 1500–2100 เมตร เหนือระดับน้ำทะเล แต่ถ้าปลูกเป็นการค้า ควรปลูกที่ความสูงไม่เกิน 1500 เมตร ส่วนการปลูกเพื่อกรีดยางควรปลูกในที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลไม่เกิน 900 เมตร และถ้าปลูกที่อุณหภูมิ 20-30 องศาเซลเซียส จะให้ผลผลิตที่มีคุณภาพดี (กรมวิชาการเกษตร, 2548) มะละกอเป็นพืชดิพพลอยด์ (diploid) ที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 2n=2x=18 (Pedro et al., 2009; Corrêa et al., 2010) และมีขนาดจีโนมเท่ากับ 372 Mb (Arumuganathan and Earle, 1991)

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะละกอ (รภัสสา จันทาศรี, 2552; ธีรนุช เจริญกิจ, 2555; อภิชาต ศรีสะอาด และหนึ่งฤทัย แพรสีทอง, 2559)

2.1.1 ราก (root) ระบบรากของมะละกอ แบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ (1) ระบบรากแก้ว (tap-root) การงอกของเมล็ดอันดับแรกจะมีรากแรก (radical root) งอกออกจากเมล็ด จากนั้นจะเจริญเป็น primary-root และเจริญไปเป็นรากแก้วต่อไป (2) ระบบรากแขนง (branching root) เป็นการงอกของเมล็ดแรกสุด เช่นเดียวกับการงอกแบบที่ (1) แต่แทนที่รากแก้วจะเจริญเป็นรากเดี่ยวที่เห็นได้อย่างชัดเจน กลับแตกเป็นหลายแขนงมีขนาดใกล้เคียงกัน ตั้งแต่ 2-3 รากขึ้นไป ลักษณะเด่นเช่นนี้จะปรากฏให้เห็นอย่างชัดเจน เมื่อต้นกล้าอายุได้ 1 เดือนหรือมากกว่านั้น โดยระบบรากของมะละกอนั้นจะไม่มีอิทธิพลต่อการแสดงเพศของมะละกอ ซึ่งไม่ว่าจะเป็นระบบรากแบบใดก็ตามยังมีโอกาสแสดงเพศผู้เพศเมียและเพศกะเทยในการตัดรากแก้วแก้วออกก็เช่นกันว่าไม่ก่อให้เกิดอิทธิพลใด ๆ ต่อการแสดงเพศและการเปลี่ยนเพศในมะละกอได้เลย

2.1.2 ลำต้น (stem) ลำต้นของมะละกอมีลักษณะเป็นลำสูงชะลูดขึ้นไป มักพบเป็นลำเดี่ยว ๆ ภายในลำต้นจะมีลักษณะกลวง ยกเว้นตรงส่วนข้อต่อ ขนาดของลำต้นจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10-30 เซนติเมตร บริเวณส่วนปลายของลำต้นจะมีใบเกิดเรียงตัวกันแบบเกลียวมีรอยแผลของก้านใบส่วนที่สัมผัสกับลำต้นอย่างชัดเจน ต้นเมื่อยังเล็กอยู่จะเปราะและหักง่าย เพราะมีเนื้อเยื่อที่อ่อนแต่เมื่อมีอายุมากขึ้น 2-3 ปี เนื้อเยื่อเหล่านี้จะเหนียวและแข็งขึ้น ลำต้นจะมีท่อน้ำและท่ออาหารอัดแน่นอยู่เป็นจำนวนมากและมีเส้นใยอยู่น้อย ดังนั้นลักษณะลำต้นของมะละกอจะไม่ค่อยมีกิ่งก้านสาขาเหมือนกับพืชชนิดอื่น ๆ

2.1.3 ใบ (leaves) ใบของมะละกอมีขนาดใหญ่และกว้างประมาณ 25-75 เซนติเมตร ลักษณะทั่วไปคล้ายกับใบปาล์มแต่มีเนื้อผิวอ่อนนิ่มกว่า ส่วนของใบประกอบด้วยก้านใบที่ยาวและกลวง ก้านใบมีสีเขียวอ่อนหรือเจือสีม่วง แผ่นใบเป็นรูปคล้ายหัวใจ ลักษณะเป็นแฉก ๆ แต่ละใบจะมีประมาณ 9 แฉก ขนาดลึกและเป็นซี่กว้าง ใบมะละกอจะเจริญติดอยู่ส่วนยอดของลำต้นดังนั้นในแถบที่มีลมแรงจัดพัดผ่านประจำจึงไม่ควรปลูกมะละกอ มีใบเกิดใหม่ประมาณ 2-3 ใบต่อสัปดาห์ อย่างไรก็ตามจำนวนใบที่เกิดใหม่ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม เช่น ถ้าอุณหภูมิต่ำการเกิดใหม่ของใบจะช้ากว่าที่มีอุณหภูมิสูงใบที่แก่จัดจะหลุดร่วงไป ปกติจะมีใบที่ทำหน้าสังเคราะห์แสงจำนวนประมาณ 15 ใบต่อต้น

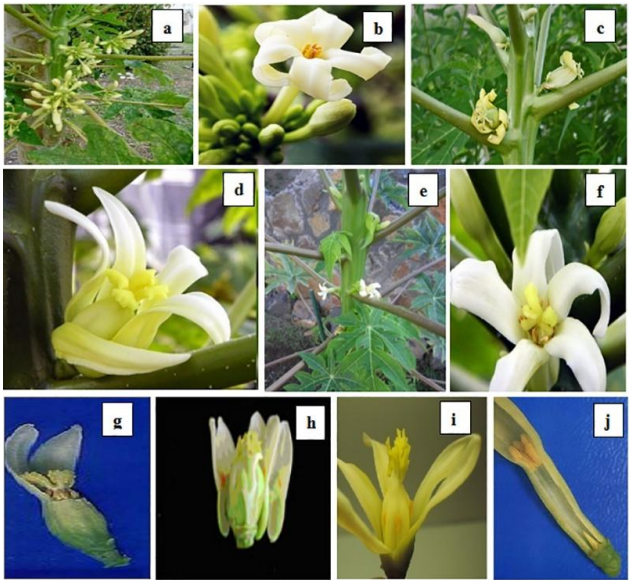
2.1.4 ดอก (flowers) ดอกมะละกอจะเจริญเติบโตที่บริเวณส่วนล่างของลำต้นแต่ไม่ใช่ส่วนล่างที่ต่ำกว่าก้านใบ เพราะทุก ๆ ดอกจะเจริญออกมาตรงซอกเหนือก้านใบเสมอ ดอกอาจจะมีดอกเดียวหรือมากกว่าหนึ่งดอกในหนึ่งก้านดอก ดอกของมะละกอมีอยู่ 3 ชนิด คือ ดอกตัวผู้ (staminate or male flower) ดอกตัวเมีย (pistillate or female flower) และดอกกะเทย (hermaphrodite flower) ดังนั้นจึงอาจเกิดมะละกอต้นตัวผู้ ต้นตัวเมียและต้นสมบูรณ์เพศหรือต้นกะเทย โดยมะละกอต้นเดียวอาจจะมีดอกชนิดเดียวหรือสองชนิดหรืออาจสามชนิด แต่มีปรากฏน้อยมาก ระยะเวลาที่ต้นเดียวกันมีดอกมากกว่าหนึ่งชนิดมักจะสั้นดอกมะละกอสามารถแบ่งโดยอาศัยลักษณะทางเพศ ดังนี้

ดอกตัวผู้ (male flower) ดอกตัวผู้มีขนาดเล็กที่สุด เกิดเป็นช่อบนก้านดอกมีลักษณะยาวห้อยลงมา ดอกย่อยแต่ละดอกประกอบด้วยกลีบเลี้ยงซึ่งมีสีเขียว มีจำนวนเท่ากับกลีบดอก คือ 5 อัน กลีบเลี้ยงมีขนาดสั้นมากเกิดล้อมรอบฐานของหลอดกลีบดอก กลีบดอกมีสีขาวเชื่อมกันเป็นหลอด แต่ส่วนปลายแยกออกจากกัน เกสรตัวผู้มีจำนวน 10 อัน (ยาว 5 อันและสั้น 5 อัน) เกิดสลับกันบนกลีบดอกภายในดอกจะไม่มีรังไข่ ต้นตัวผู้บางต้นจะมีดอกกะเทยขนาดเล็กบริเวณปลายก้านช่อดอกและจะให้ผลที่มีลักษณะยาว รูปร่างผิดปกติ บางครั้งเรียกว่า “มะละกอนมยาน” มะละกอตัวผู้ที่ปลูกอยู่ในเขตที่มีอุณหภูมิเย็นมาก ๆ จะเกิดดอกสมบูรณ์เพศ บริเวณส่วนกลางของลำต้น (ภาพที่ 2.1a และภาพที่ 2.1b)

ดอกตัวเมีย (female flower) จะมีดอกขนาดใหญ่ที่สุด ยาวประมาณ 1-2.5 นิ้ว เกิดเป็นดอกเดียวหรือช่อสั้น ๆ ดอกประกอบด้วยกลีบเลี้ยง 5 กลีบ เกิดติดกันอยู่บริเวณฐานกลีบดอกซึ่งมีจำนวน 5 อัน เกิดแยกกัน เกสรตัวเมียประกอบด้วยรังไข่ขนาดใหญ่ มีพูรังไข่ 3 พูตื้น ๆ โดยทั่วไปดอกชนิดนี้จำเป็นต้องได้รับละอองเกสรจากที่อื่นมาผสมจึงจะติดเป็นผล ยกเว้นบางต้นอาจเกิดผลได้โดยไม่ต้องได้รับการผสม (ภาพที่ 2.1a และภาพที่ 2.1b)

ดอกสมบูรณ์เพศหรือดอกกะเทย (hermaphrodite flower) มีเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน โดยดอกสมบูรณ์เพศจะมี 4 ชนิดตามตำแหน่งของเกสรตัวผู้และยังมีการพัฒนา

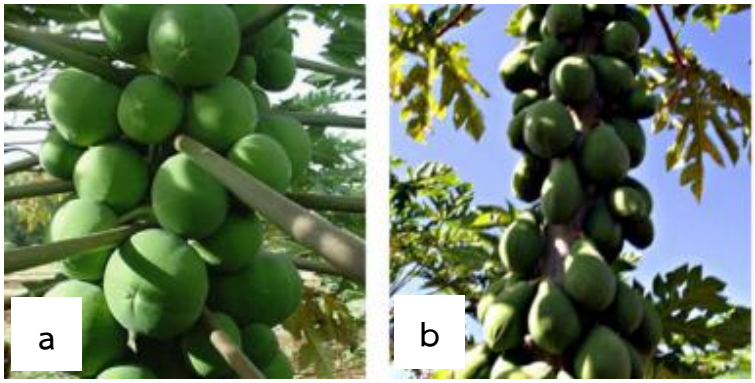
เป็นดอกแต่ละชนิดได้ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน ได้แก่ (1) ดอกสมบูรณ์เพศแบบ elongata เป็นดอกสมบูรณ์เพศที่พบมากกว่าดอกสมบูรณ์เพศชนิดอื่น ๆ ลักษณะของดอกเป็นดอกที่มีขนาดยาว ส่วนฐานดอกและปลายดอกมีขนาดใกล้เคียงกัน รังไข่ของดอกยาว เมื่อติดผลจะมีรูปร่างยาว ทรงกระบอกสวย ช่องว่างภายในผลแคบ เนื้อหนา ซึ่งเป็นที่นิยมของตลาดเป็นอย่างมาก (ภาพที่ 2.1g และภาพที่ 2.2b) (2) ดอกสมบูรณ์เพศแบบ pentandria เป็นดอกที่มีลักษณะคล้ายกับดอกตัวเมีย แต่มีลักษณะต่างจากดอกตัวเมียตรงที่มีเกสรตัวผู้ติดอยู่ที่ฐานของกลีบดอก ดอกชนิดนี้เกิดขึ้นได้เมื่ออากาศเย็นผลที่ได้จะมีลักษณะกลมเหมือนผลจากดอกตัวเมีย แต่จะมีรอยเป็นพูแยกเห็นได้ชัดเจนเนื้อของผลค่อนข้างบางเพราะมีช่องว่างภายในผลมาก จึงไม่เป็นที่นิยมของตลาด (ภาพที่ 2.1i) (3) ดอกสมบูรณ์เพศแบบcarpelloid อาจจะเกิดเป็นดอกชนิด elongate และ pentandria ที่มีก้านเกสรตัวผู้เจริญมาติดอยู่ที่รังไข่ (ovary) ทำให้ผลมะละกอที่ได้บิดเบี้ยว ผิดปกติ จึงไม่เป็นที่ต้องการของตลาด (ภาพที่ 2.1h) (4) ดอกสมบูรณ์เพศแบบ reduced elongata เป็นดอกที่มีลักษณะเหมือนดอกตัวผู้แต่ดอกมีขนาดใหญ่กว่า กลีบของดอกแข็ง สั้น และหนากว่า เกสรตัวเมียไม่เจริญ จึงทำให้ไม่สามารถติดผลได้ ซึ่งดอกชนิดนี้เกิดขึ้นได้เมื่ออากาศร้อน (ภาพที่ 2.1j)



ภาพที่ 2.1 ลักษณะเพศของดอกมะละกอ: a คือ Male plant b คือ Male flower c คือ Female plant d คือ Female flower e คือ Hermaphrodite plant f คือ Hermaphrodite flower g คือ Hermaphrodite elongata flower h คือ Hermaphrodite carpelloid flower i คือ Hermaphrodite pentandria flower และ j คือ Hermaphrodite sterile flower

ที่มา: Vashistha et al. (2016)

2.1.5 ผล (fruit) ผลเป็นแบบผลเดี่ยว ผลมะละกอมีผิวเปลือกบางเรียบ เมื่ออ่อนมีสีเขียวหรือเขียวคล้ำ เมื่อสุกมีสีเหลืองหรือเหลืองส้ม เนื้อมีสีส้มหรือส้มปนแดง เนื้อรับประทานได้มีรสชาติดี ตรงกลางผลมีช่องว่างที่มี 5 ร่องปรากฏอยู่รูปร่างของผลขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์และชนิดของดอก ผลที่เกิดจากดอกตัวเมียจะมีรูปร่างกลมป้อม เนื้อขาวช่องว่างภายในผลกว้าง (ภาพที่ 2.2a) ส่วนผลที่เกิดจากดอกสมบูรณ์เพศ (กะเทย) มีลักษณะต่าง ๆ กันตามแบบของดอก นั่นคือ ผลที่เกิดจากดอกแบบ pentendria มีรูปร่างป้อม มีร่องลึกเกิดตรงแนวเดียวกันกับตำแหน่งของเกสรตัวผู้ทั้ง 5 อัน และมีรอยแผลอันเกิดจากกลีบดอกเป็นรอยชัดเจนบริเวณฐานของผล ผลที่เกิดจากดอกแบบ elongata มีรูปร่างยาว ช่องว่างในผลแคบ รอยแยกของพูรังไข่ภายในผลมีขนาดเล็ก และผลที่เกิดจากดอกแบบ carpelloid มีรูปร่างผิดปกติ คือ มีรอยคล้ายแผลที่เชื่อมติดกันอยู่ตรงด้านใดด้านหนึ่ง เรียกว่า cat face รอยนี้เกิดจากเกสรตัวผู้ที่เชื่อมติดกับเกสรตัวเมียหรืออาจเกิดจากเกสรตัวเมียที่ไม่สมบูรณ์



ภาพที่ 2.2 ลักษณะผลของมะละกอ: a คือ ผลของดอกเพศเมีย และ b คือ ผลของดอกสมบูรณ์เพศ
ที่มา: Ming, Yu and Moore (2007)

2.1.6 เมล็ด (seed) เมล็ดมีจำนวนมากและติดอยู่กับผนังด้านในของรังไข่ เมล็ดมีรูปร่างกลม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 มิลลิเมตร เมล็ดเมื่ออ่อนมีสีขาว แต่เมื่อแก่จัดจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ ผิวเปลือกย่นและมีเยื่อหุ้มอยู่เรียกว่า sarcotesta เป็นสารยับยั้งการงอกของเมล็ด คัพภะขนาดกลางมีลักษณะตรง ใบเลี้ยงแบนรูปไข่ อาหารคัพภะจะอยู่ล้อมรอบใบเลี้ยง ในหนึ่งกรัมจะมีจำนวนเมล็ดแห้งประมาณ 50 เมล็ด

2.2 ปัจจัยที่ควบคุมการแสดงออกเกี่ยวกับเพศของมะละกอ

การแสดงออกเกี่ยวกับเพศของมะละกอสามารถสังเกตลักษณะของเพศได้ก็ต่อเมื่อต้นมะละกอได้ออกดอกแล้ว ซึ่งต้องใช้เวลาอย่างน้อย 3-4 เดือนจึงจะพ้นระยะ juvenile ทำให้ยากที่จะกำหนดหรือระบุเพศของมะละกอได้อย่างถูกต้องก่อนออกดอก โดยการแสดงเพศของมะละกอมีหลายปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้อง ได้แก่

2.2.1 การควบคุมด้วยยีน การกำหนดเพศของมะละกอถูกควบคุมด้วยยีน 5 คู่ อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 6 เนื่องจากยีนอยู่ในตำแหน่งที่เกาะกันอย่างแน่นหนา การแลกเปลี่ยนชิ้นส่วน (crossing over) ของยีนจึงเกิดขึ้นได้ยากโดยลักษณะที่แสดงออก (phenotype) จึงเหมือนมียีนควบคุมเพียง 1 คู่ (single gene) ที่เรียกว่า ยีน *Sex1* แต่มี 3 อัลลีล (multiple alleles) ได้แก่ อัลลีล M_1 เป็นยีนที่ควบคุมลักษณะต้นเพศผู้ (male) อัลลีล M_2 เป็นยีนที่ควบคุมลักษณะต้นสมบูรณ์เพศหรือต้นกะเทย (hermaphrodite) และอัลลีล *m* เป็นยีนที่ควบคุมลักษณะต้นเพศเมีย (female) (Ming, Yu and Moore, 2007)

ถ้าการรวมตัวกันของอัลลีลดังกล่าวเกิดเป็น homozygous dominant ได้แก่ จีโนไทป์ M_1M_1, M_1M_2 และ M_2M_2 จะไม่สามารถแสดงออกได้เพราะว่ามีลักษณะ lethal gene เกาะติด (link) กับ M_1 และ M_2 เมื่อจับคู่กันทำให้ผสมไม่ติดหรือทำให้ zygote ตาย และไม่สามารถเจริญเติบโต ได้แต่การเข้าคู่กันของอัลลีลที่มีจีโนไทป์เป็น heterozygous (M_1m และ M_2m) และ homozygous recessive (*mm*) ทำให้ zygote มีชีวิตอยู่รอดได้ (Ming, Yu and Moore, 2007) เนื่องจากในยีนที่ควบคุมลักษณะต้นเพศเมีย จะไม่มียีนที่ทำให้เกิด zygotic abortion จะเห็นได้ว่า จีโนไทป์แบบ *mm* จะแสดงลักษณะเพศเมียอย่างคงที่ แต่จีโนไทป์แบบ M_1m และ M_2m จะง่ายต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะ เมื่อมีอิทธิพลภายนอกมากระทบส่งผลทำให้ดอกมะละกอเกิดเป็นชนิดต่าง ๆ ได้ ซึ่งการแสดงเพศมะละกอมียีนควบคุมนี้จะไม่สามารถแยกได้เมื่อต้นยังเล็ก แต่จะแยกเพศได้ก็ต่อเมื่อมะละกอมีดอกแล้วเท่านั้น (สิริกุล วะสี, 2542)

ยีนที่ควบคุมลักษณะเพศต่าง ๆ เมื่อผสมข้ามจะทำให้ทราบอัตราส่วนเพศของลูกที่ต้องการและเป็นที่ต้องการของตลาดมากขึ้น จากตารางที่ 2.1 จะเห็นได้ว่า การผสมข้ามของต้นเพศเมียและเพศผู้ จะได้อัตราส่วนของต้นตัวเมียและต้นตัวผู้ เป็น 1:1 ในขณะที่ต้นเพศเมียผสมกับต้นสมบูรณ์เพศ จะได้อัตราส่วนของต้นตัวเมียและต้นสมบูรณ์เพศเป็น 1:1 เช่นเดียวกัน แต่ว่าลักษณะเพศของมะละกอที่ต้องการในเชิงพาณิชย์ ได้แก่ ต้นสมบูรณ์เพศ ฉะนั้น การที่จะให้ได้ต้นสมบูรณ์เพศในอัตราส่วนเพศที่มากกว่าเดิมนั้น ต้นสมบูรณ์เพศจะต้องผสมตัวเองจึงจะทำให้ได้อัตราส่วนเพศของต้นสมบูรณ์เพศต่อต้นตัวเมียเป็น 2:1

ตารางที่ 2.1 อัตราส่วนเพศของการผสมข้ามระหว่างชนิดเพศมะละกอที่แตกต่างกัน

Crosses	Sex ratio		
	Female (*mm*)	Hermaphrodite (M_2m)	male (M_1m)
Female (*mm*) x male (M_1m)	1	0	1
Female (*mm*) x Hermaphrodite (M_2m)	1	1	0
Hermaphrodite (M_2m) x male (M_1m)	1	1	1
Hermaphrodite (M_2m) selfing	1	2	0

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Ming, Yu and Moore (2007)

2.2.2 สิ่งแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น และช่วงแสงของวัน จะมีอิทธิพลอย่างมากต่อการแสดงเพศดอกหรือการเปลี่ยนเพศในต้นมะละกอ โดยอาจเปลี่ยนดอกตัวผู้เป็นดอกสมบูรณ์เพศ หรือดอกสมบูรณ์เพศเป็นดอกเพศผู้ก็ได้ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อม ซึ่งต้นสมบูรณ์เพศสามารถเกิดดอกได้หลายชนิดเนื่องจากอิทธิพลของอุณหภูมิ ความชื้น และช่วงแสงของวัน (รภัสรา จันทาศรี, 2552)

2.3 สายพันธุ์มะละกอที่ใช้ในการศึกษา

2.3.1 สายพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ โดยศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ได้รวบรวมพันธุ์มะละกอแขกดำจากจังหวัดราชบุรี และนครราชสีมา แล้วนำเมล็ดมาปลูกในระหว่างปี 2527-2533 เพื่อศึกษาและคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีผลผลิตสูงและคุณภาพผลดี โดยวิธี pure line selection ลักษณะเด่นของมะละกอสายพันธุ์นี้ คือ ลำต้นเตี้ย ติดผลเร็ว ผลผลิตเฉลี่ย 52.2 กิโลกรัมต่อต้นต่อปี (ปีที่ 1) สูงกว่าค่าเฉลี่ยผลผลิตมะละกอแขกดำทั่วไป ผลมีลักษณะกลมยาว ส่วนโคนของผลเล็กกว่าปลายผลเล็กน้อยส่วนหัวผลกว้างเฉลี่ย 7.9 เซนติเมตร ส่วนท้ายผลกว้างเฉลี่ย 8.8 เซนติเมตร และผลยาวเฉลี่ย 29.2 เซนติเมตร ผลดิบมีสีเขียวเข้มเมื่อผลสุกจะมีผิวสีส้ม เนื้อสีแดงเข้ม ลักษณะเนื้อแน่นละเอียดหนา 2.60 เซนติเมตร รสชาติหวาน เหมาะสำหรับบริโภคผลดิบและผลสุก (จิรภา พุทธิวงศ์ และคณะ, 2551)

2.3.2 สายพันธุ์แขกดำเกษตร เป็นมะละกอที่พัฒนาพันธุ์ขึ้นโดยภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ด้วยการนำเมล็ดพันธุ์สายพันธุ์แขกดำที่ผ่านการคัดเลือกพันธุ์ด้วยวิธีคัดเลือกพันธุ์บริสุทธิ์ (pure line selection) มาแล้วจำนวน 4 ชั่วรุ่น (generation) ได้ 3 สายพันธุ์ ที่มีคุณภาพผลเหมาะสมทั้งการบริโภคผลดิบ ผลสุกและแปรรูป จากนั้นนำเมล็ดของทั้ง 3 สายพันธุ์ มาผสมรวมกัน (bulk) ลักษณะเด่นของมะละกอพันธุ์นี้ คือ ปลอด GMOs ผลทรงกระบอกยาว ระยะผลดิบเปลือกสีเขียวเข้ม เนื้อสีขาว ผลสุกเปลือกสีส้มเนื้อสีแดง กรอบหวาน นำมาทำส้มตำได้อร่อย น้ำหนักผลเฉลี่ย 1.6 กิโลกรัม ความเนื้อหนาเฉลี่ย 2.70 เซนติเมตร ความแน่นเนื้อเฉลี่ย 13.8 นิวตัน ความหวาน 13.1 องศาบริกซ์ (เกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์, 2560)

2.3.3 สายพันธุ์ฮอลแลนด์ จะมีชื่อเรียกหลายชื่อ ได้แก่ เรดมาราดอล์ ปลักไม้ลาย และเซซากิ เป็นสายพันธุ์ที่มีการปลูกและได้รับความนิยมมากที่สุดในปัจจุบัน ลักษณะเด่นของมะละกอพันธุ์นี้ คือ ลำต้นใหญ่สีเขียว ใบมี 11 แฉกใหญ่ กลางใบมีกระโดงใบ 1 ใบ ก้านใบสีเขียวตั้งขึ้น ดอกออกเป็นช่อรูปทรงกระบอก ทรงผลสวย ติดผลดก เนื้อแดงอมส้ม อายุเก็บเกี่ยว 8 เดือน น้ำหนักผลประมาณ 800-2,000 กรัม/ผล ไม่เละ เนื้อหนา 2.5-3.0 เซนติเมตร ความหวานวัดได้ 11-13 องศาบริกซ์ ผลผลิตต่อต้น 60-80 กิโลกรัม จุดเด่นที่ปลายผลจะป้านคล้ายผลฟักอ่อน (ธุรกิจการเกษตร, 2556)

2.3.4 สายพันธุ์เหลืองกระบี่ เป็นพันธุ์มะละกอที่เกษตรกรจากสวนบุญบันดาล จ.นครราชสีมา ได้เสาะหาพันธุ์ไม้ใหม่ ๆ จนพบมะละกอพันธุ์นี้ประมาณ 1-2 ต้นที่จังหวัดกระบี่ จึงได้เก็บเมล็ดมาทดลองปลูกที่สวน สายพันธุ์นี้มีลักษณะเด่น คือ มีสีก้านแดงอมม่วง ผิวผลสวยเป็นสีเหลืองทอง ให้ผลผลิตดกดี ลำต้นเตี้ย เนื้อแน่นหนา สีแดง และที่สำคัญต้านทานโรคสูง และยังทนน้ำได้ดี แม้ปลูกในพื้นที่มีน้ำเฉอะแฉะหากไม่ท่วมขังนาน สามารถอยู่ได้ (รักบ้านเกิด, 2558)

2.3.5 สายพันธุ์ศรีราชภัฏหรือพันธุ์ครั่งเนื้อเหลือง เกิดจากการกลายพันธุ์มาจากพันธุ์ครั่งเนื้อแดง ที่ปลูกอยู่ในบริเวณสถานีวิจัยพันธุ์พืชเพาะเลี้ยง อำเภอเชียงยืน จังหวัดมหาสารคาม จากการปลูกจำนวน 1500 ต้น พบว่า มีเนื้อเหลืองเกิดขึ้นเมื่อสุก จำนวน 8 ต้น แล้วปลูกทดสอบ ต่อมาพบว่า มีลักษณะที่ดีแตกต่างจากพันธุ์ครั่งเนื้อแดง คือ ผิวร่องตื้น ความหนาเนื้อมาก มีจุดเด่น คือ มีความทนทานต่อการเกิดโรคใบจุดวงแหวนมากกว่าพันธุ์ครั่งเนื้อแดง ซึ่งลักษณะดีทั้ง 3 อย่างนี้ไม่ปรากฏในพันธุ์ครั่งเนื้อแดง ในขณะที่พันธุ์ครั่งเนื้อแดงมีจุดด้อยคือ ผิวเปลือกเป็นร่องลึกทำให้ไม่สะดวกต่อการปอกเปลือก โดยปริมาณเนื้อสูญเสียไปกับเปลือกที่เฉือนออก ความหนาเนื้อน้อยกว่าสายพันธุ์ครั่งเนื้อเหลือง และมีความทนทานต่อโรคใบจุดวงแหวนต่ำ ส่วนลักษณะเด่นอื่น ๆ พบว่า มีความเหมือนกันคือ ลูกยาวรี เนื้อกรอบสีขาวขุ่น เมื่อสุกเนื้อไม่เละ รสชาติหวาน และไม่แข็งกระด้าง ผลจากต้นตัวเมียมีลักษณะรูปร่างผลยาวต่างจากมะละกอพันธุ์อื่น ๆ คุณภาพของเนื้อเหมาะต่อการบริโภคผลดิบ (วิวัฒน์ ไชยบุญ, รภัสสา จันทาศรี และเกรียงศักดิ์ ไพรวรรณ, 2556)

2.3.6 สายพันธุ์เรดเลดี้ (Red Lady) มะละกอลูกผสมเบอร์ 786 เป็นมะละกอลูกผสมของบริษัทเพื่อนเกษตรกร จำกัด ที่เปิดตัวสายพันธุ์มากกว่า 3 ปีแล้ว มะละกอสายพันธุ์นี้มีจุดเด่น คือ ให้ผลผลิตและติดผลเร็ว ลำต้นสูง 80 เซนติเมตร ก็สามารถติดดอกออกผลได้เร็ว โดยในแต่ละต้นจะมีจำนวนผลดกเฉลี่ย 30 ผลต่อต้น ลักษณะผลสั้นจนถึงยาวรี น้ำหนักเฉลี่ย 1,500-2,000 กรัม ผลที่เกิดจากต้นตัวเมียจะมีลักษณะกลม-สั้น เนื้อสีส้มแดง เนื้อหนาสีส้มแดง กรอบ มีกลิ่นหอม ความหวาน 13 องศาบริกซ์ เหมาะสำหรับการรับประทานสุกหรือดิบ ทนทานต่อการขนส่งได้ดี เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตเร็ว ต้านทานโรคใบด่างจุดวงแหวน (Ring Spot) ที่เกิดจากไวรัสได้เป็นอย่างดี (มติชนกรุ๊ป, 2548)

2.4 ความสำคัญและการนำไปใช้ประโยชน์ของมะละกอ

2.4.1 ความสำคัญทางด้านโภชนาการของมะละกอ

มะละกอ เป็นผลไม้ที่นิยมรับประทานผลสุกทั้งในประเทศและต่างประทศ แต่ในประเทศไทยจะนำผลมะละกอดิบไปแปรรูปเป็นอาหารได้หลายรูปแบบ เช่น แกงส้ม แกงเหลือง แกงอ่อม หรือลวกจิ้มน้ำพริกโดยเฉพาะอย่างยิ่งการนำผลดิบไปบริโภคเป็นส้มตำซึ่งเป็นอาหารพื้นบ้านทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และเป็นที่รู้จักกันดีทั้งชาวไทยและชาวต่างชาติ (สุนันท์ บุตรศาสตร์ และรภัสสา จันทาศรี, 2555) โดยแต่ละส่วนของต้นมะละกอ จะอุดมไปด้วยคุณค่าทางอาหาร เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เส้นใย ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารหรือยารักษาโรค (ตารางที่ 2.2)

ตารางที่ 2.2 Proximate composition of papaya pulp, leaves

	Proximate composition (FW)					
	Moisture (g/100 g)	Carbohydrate (g/100 g)	Protein (g/100 g)	Lipid (g/100 g)	Fiber (g/100 g)	อ้างอิง
Pulp						
Mature green fruit	88.07-88.5	14.9–17.9	0.4–1.14	0.11–0.5	1.05-1.3	Bari et al. (2006)
Ripe	92.7-94.41	20.3-23.5	1.9-2.01	0.27-0.37	0.9-1.01	Bari et al. (2006)
	87.47-91.32	6.50-9.51	0.4-1.17	0.37-0.7	0.83-0.93	Nwofia, Ojimelukwe, and Eji (2012)
Leaves	81.27-85.17	72.64-78.22	5.84-10.80	1.27-3.15	11.41-13.15	Nwofia, Ojimelukwe, and Eji (2012)
	N.A.	N.A.	13.1	3.5	1.95	Nath and Dutta (2016)

หมายเหตุ: N.A. = not available

2.4.2 ความสำคัญทางด้านเภสัชกรรม

มะละกอเป็นพืชล้มลุกที่มีอายุสั้นและเกือบทุกส่วนของต้นมะละกอ ไม่ว่าจะเป็น ใบ ผล เมล็ด เปลือก ราก และน้ำยาง จะประกอบด้วยสารพฤกษเคมีต่าง ๆ ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นสมุนไพรบำบัดรักษาโรคต่าง ๆ ได้แก่ การศึกษาสารสกัดจากใบมะละกอสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งและมีคุณสมบัติเสริมภูมิคุ้มกัน (Otsuki et al., 2010) น้ำมันที่สกัดจากเมล็ดมะละกอมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และลดปริมาณโคเลสเตอรอลในหลอดเลือดสมอง น้ำมะละกอมีฤทธิ์ในการลดความดันโลหิต ลดอัตราการเต้นของหัวใจและทำการปรับความตึงตัวของหลอดเลือด (Vascular Tone) (Eno et al., 2000) ส่วนผิวมะละกอสุก (Epicarp Extract) มีฤทธิ์ในการส่งเสริมกระบวนการรักษาแผลเช่นเดียวกัน และสารสกัดจากรากมะละกอมีฤทธิ์ในการขับปัสสาวะ (Sripanidkulchai et al., 2001; Gurung and Skalko-Basnet, 2009)

2.5 สารอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

2.5.1 สารอนุมูลอิสระ (Free radicals) หรือ Reactive Oxygen Species (ROS) เป็นโมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) อยู่รอบนอก มีอายุสั้นมาก ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจน ทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุลกลายเป็นอนุมูลอิสระ และมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีมาก จึงทำปฏิกิริยากับโมเลกุลต่าง ๆ ภายในร่างกายเพื่อให้ตัวมันเสถียร โดยการดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียรมากขึ้น ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา ดังสมการ 2.1 และ 2.2 (Halliwell, 1999; บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556)

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet} \quad (2.1)$$

$$ROO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\bullet} \quad (2.2)$$

อนุมูลอิสระแบ่งได้ 3 กลุ่ม (ศรมน สุทิน, 2559; อ้างอิงจาก โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550) ได้แก่

(1) กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species: ROS) เช่น อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion radical, $O_2^{\bullet-}$) อนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxyl radical, $ROO^{\bullet}$) อนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical, $^{\bullet}OH$) และอนุมูลไฮโดรเปอร์ออกซิล (hydroperoxyl radical, $HOO_2^{\bullet}$) เป็นต้น

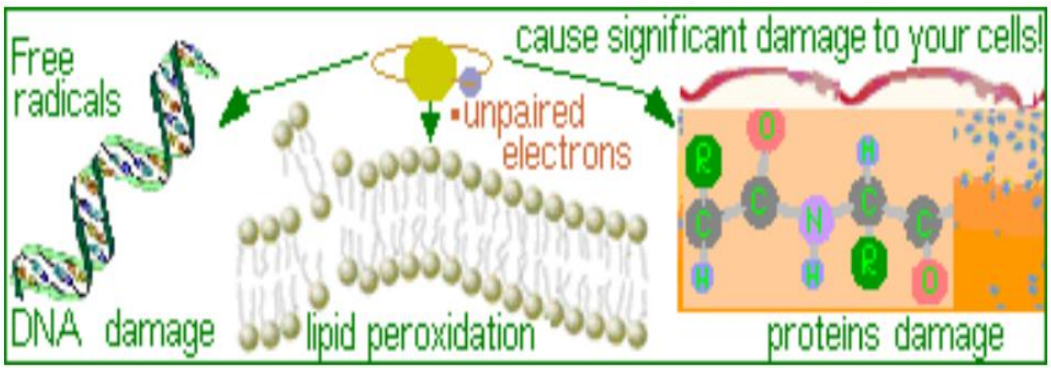
(2) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive nitrogen species: RNS) เช่น อนุมูลไนตริกออกไซด์ (nitric oxide radical, $NO^{\bullet}$) และอนุมูลไนโตรเจนไดออกไซด์ (nitrogen dioxide radical, $NO_2^{\bullet}$, $NO^{\bullet-}$)

(3) กลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive chlorine species: RCS) เช่น อนุมูลคลอรีน (chlorine radical, $Cl^{\bullet}$) และกรดไฮโปคลอรัส (hypochlorous acid, HOCl)

แหล่งที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระในสิ่งมีชีวิต มี 2 แหล่ง ได้แก่

(1) ปัจจัยจากภายในร่างกาย เช่น การเผาผลาญอาหาร การหายใจ การออกกำลังกาย

(2) ปัจจัยจากภายนอกร่างกาย ที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระ ได้แก่ ความเครียด การติดเชื้อ มลพิษในอากาศ เป็นต้น เมื่อมีอนุมูลอิสระมากเกินไปจะส่งผลทำให้เกิดการทำลายสารชีวโมเลกุลทุกประเภททั้งในเซลล์และส่วนประกอบของเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น โปรตีน (protein) ดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) เอนไซม์ (enzyme) ไขมัน (lipid) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) เซลล์เมมเบรน (cell membrane) คอลลาเจน (collagen) ไมโตคอนเดรีย (mitochondria) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissues) (ภาพที่ 2.3) ส่งผลให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อร่างกาย เกิดริ้วรอยเหี่ยวย่นบนใบหน้า รอบดวงตา และผิวพรรณ รวมทั้งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคมะเร็ง (cancer) โรคหัวใจขาดเลือด (coronary heart disease) โรคความจำเสื่อม (alzheimer’sdisease) โรคข้ออักเสบ (arthritis) โรคภูมิแพ้ (allergies) โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคเหงือก โรคเกี่ยวกับสายตา ความผิดปกติของปอดและระบบประสาท โรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจ โรคเกี่ยวกับความผิดปกติของผิวหนัง และโรคลำไส้อักเสบ เป็นต้น (Ames, Shigenaga and Hagen, 1993)



ภาพที่ 2.3 Reactive oxygen species damage DNA, lipids and proteins
ที่มา: Butnariu and Samfira (2012)

2.5.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) มีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระหรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบการป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ ประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป ซึ่งมีทั้งที่เป็นเอนไซม์และไม่เป็นเอนไซม์ สารประกอบที่ละลายในน้ำและสารประกอบที่ละลายในไขมัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) เสริมฤทธิ์ (synergism) และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (enzyme inhibition) ตัวอย่างสมการแสดงการดักจับอนุมูลอิสระในสมการที่ 2.3 และ 2.4 (เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม, 2554; บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556)

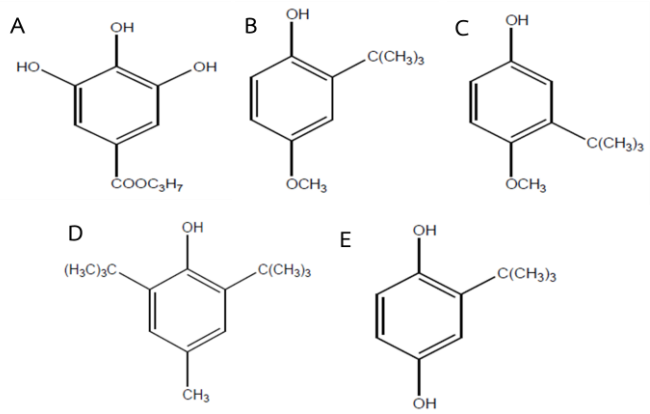
$$R^{\bullet} + AH \longrightarrow RH + A^{\bullet} \qquad (2.3)$$

$$RO^{\bullet} + AH \longrightarrow ROH + A^{\bullet} \qquad (2.4)$$

โดย $R^{\bullet}$ และ $RO^{\bullet}$ คือ อนุมูลอิสระ และ AH คือ สารต้านอนุมูลอิสระ

แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ มี 2 แหล่ง ได้แก่

(1) สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี โดยเป็นสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ propyl gallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylate hydroxyanisole, BHT (butylated hydroxytoluene) และ tertiary butylhydroquinone มีสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 2.4 โดยสารสังเคราะห์ดังกล่าวนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติเปลี่ยนแปลงไปสารสังเคราะห์นี้มีสภาพคงตัวกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติแต่มีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยในการบริโภค (Pokorny, Yanishlieva and Gordon, 2001)

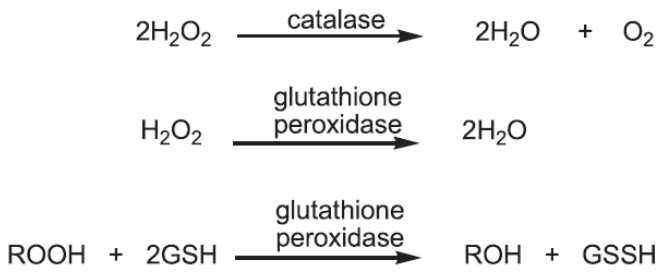


ภาพที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์: A คือ Propyl gallate B คือ 3-Butylated hydroxyanisole C คือ 2-Butylated hydroxyanisole D คือ Butylated hydroxytoluene และ E คือ Tertiary butyl hydroquinone
ที่มา: Howell and Saeed (1999)

(2) สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants) สามารถพบได้ทั้งในจุลชีพสัตว์และพืช ซึ่งมีทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และสารที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (non-nutrient) มีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิคโดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) เช่น แซนโธน (xanthone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลที่เกาะบนวงเบนซีน (aromatic hydroxyl) ตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป หมู่ฟังก์ชั่น (functional group) เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้น หรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้ โดยการให้อนุมูล $H^{\bullet}$ แก่อนุมูลอิสระเหล่านั้น นอกจากนี้สารประกอบโพลีฟีนอลที่มีโครงสร้างของ ortho-dihydroxyl phenol อยู่ในโมเลกุลยังสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูล $OH^{\bullet}$ ในปฏิกิริยาที่มีอนุมูลโลหะทรานซิชั่น คือ Fe^{2+} และ Cu^{2+} เป็นตัวเหนี่ยวนำได้โดยการเข้าจับกับโลหะดังกล่าวเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (complex) (เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม, 2554; อ้างอิงจาก Sánchez-Moreno, Jiménez-Escrig and Saura-Calixto, 2000)

โดยภาวะปกติร่างกายของคนเราจะมีกลไกการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระซึ่งอาศัยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นในร่างกาย เช่น (1) เอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ($O_2^{\bullet-}$) ให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) (2) เอนไซม์ Catalase (CAT) ทำหน้าที่เร่งการเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นน้ำและออกซิเจน และ (3) เอนไซม์ Glutathione peroxidase (GPx) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยารีดักชันของสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ เช่น ลิพิดเปอร์ออกไซด์ (ROOH) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และมีการออกซิไดส์กลูตาไทโอนในรูปรีดิวซ์ (GSH) ร่วมด้วย ได้แสดงตัวอย่างการทำงานของเอนไซม์ดังภาพที่ 2.5 (ศรมน สุทิน, 2559) แต่การสร้างสารต้านอนุมูลอิสระยังไม่เพียงพอและมีขีดจำกัด ประกอบกับเมื่ออายุมากขึ้น ร่างกายจะสร้างสารต้านอนุมูลอิสระได้น้อยลง ดังนั้นร่างกายจึงควรได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกด้วยเช่นกัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระหรือสารแอนติออกซิแดนซ์ที่รู้จักกันดี ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี วิตามินเอ เบต้าแคโรทีน

ไลโคปีน และสารพฤกษเคมีต่าง ๆ (phytochemical) เช่น โพลีฟีนอล (polyphenol) และไอโซฟลาโวน (Isoflavone) เป็นต้น ซึ่งสารดังกล่าวนี้ได้มาจากพวกพืชผักและผลไม้ (เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม, 2554; บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556)



ภาพที่ 2.5 การทำงานของเอนไซม์ Catalase และ Glutathione peroxidase ในการกำจัดอนุมูลอิสระ
ที่มา: ศรมน สุทิน (2559)

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity determination) วิธีการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ มีหลายวิธีในการทดสอบโดยงานวิจัยนี้ได้ศึกษาวิธี ได้แก่

(1) การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay เป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่ใช้ reagent คือ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl ($DPPH^{\bullet}$) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรในตัวทำละลายเมทานอล สารละลายนี้มีสีม่วง สามารถวัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปกโตโฟโตรมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เมื่อ $DPPH^{\bullet}$ ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant; AH) หรือกับ radical species ($R^{\bullet}$) จะทำให้ความเข้มของสารละลายสีม่วงจางลงจนเป็นสีเหลือง สามารถบ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ ดังสมการ 2.5 และ 2.6 (Brand-Williams, Cuvelier and Berset,, 1995)

$$DPPH^{\bullet} + AH \longrightarrow DPPH\text{-}H + A^{\bullet} \quad (2.5)$$

$$DPPH^{\bullet} + R^{\bullet} \longrightarrow DPPH\text{-}R \quad (2.6)$$

โดย AH คือ สารต้านอนุมูลอิสระ (ntioxidant)
$R^{\bullet}$ คือ อนุมูลอิสระ (radical species)

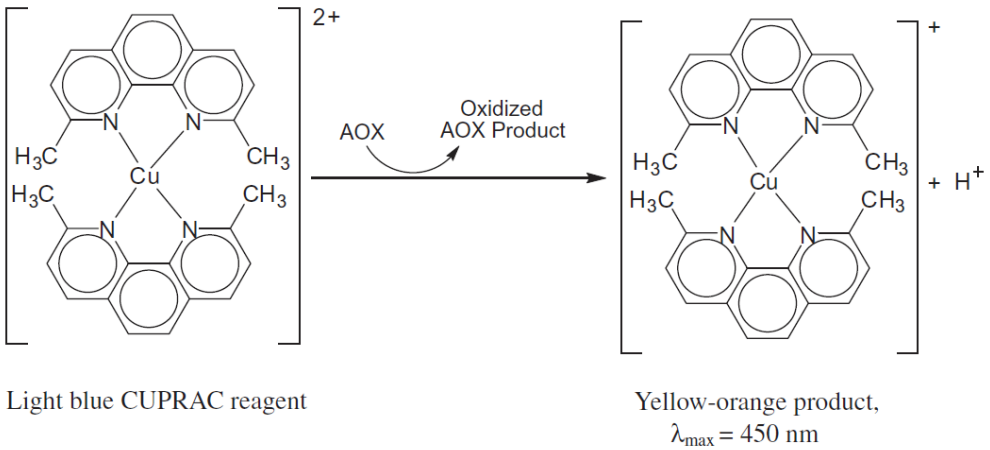
สารมาตรฐานที่ใช้ในการเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือ โทรล็อกซ์ (trolox, 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchlorman-2-carboxylic acid) แสดงค่าเป็น TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) มีหน่วยเป็น mM/mg หรือ μM/mg วิธี DPPH มีข้อดีคือ สะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์ ให้ความถูกต้อง และมี reproducibility สูง แต่มีข้อเสียคือ $DPPH^{\bullet}$ ค่อนข้างเสถียรไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริงและต้องวัดในปฏิกิริยา

ที่เป็นแอลกอฮอล์ (บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556) ได้มีการนำวิธีการนี้มาวิเคราะห์ตัวอย่างในพืชหลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น การศึกษาของ ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ วรางคณา สบายใจ และสิริมาส นิยมไทย (2556) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของใบข่อยดำ (*Clerodendrum disparifolium* Blume) ที่สกัดด้วยเอทิลแอซีเตตและเอทานอล พบว่า สารสกัดเอทิลแอซีเตตและเอทานอลมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยรายงานเป็นค่า IC_{50} เท่ากับ 4.46±0.04 และ 4.03±0.14 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ ปานทิพย์ บุญส่ง และวัลภา เนตรดวงตา (2557) ศึกษาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH จากใบมะม่วง ใบฝรั่ง และใบสับปะรด ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เอทานอล อะซิโตน และปิโตรเลียมอีเทอร์ พบว่า ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบสับปะรดที่สกัดด้วยเอทานอลให้ปริมาณร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระสูงที่สุดเท่ากับ 75.25 แต่สารสกัดจากใบมะม่วงที่สกัดด้วยอะซิโตนให้ปริมาณร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระน้อยที่สุดเท่ากับ 21.78

(2) การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) เป็นวิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สารประกอบเชิงซ้อน ได้แก่ ละลายคอปเปอร์ (II) คลอไรด์ สารละลายนีโอคิวโปรอิน (neocuproine) และแอมโมเนียมอะซีเตตบัฟเฟอร์ (NH_4Ac buffer) สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร (ภาพที่ 2.6) เมื่อสารประกอบเชิงซ้อน $[Cu(II)(Nc)_2]^{2+}$ ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น $Cu(Nc)_2^{+}$ ดังสมการต่อไปนี้

$$n\ Cu(Nc)_2^{2+} + \text{n-electron reductant (AOX)} \longrightarrow n\ Cu(Nc)_2^{+} + \text{n-electron oxidized product} + n\ H^{+}$$

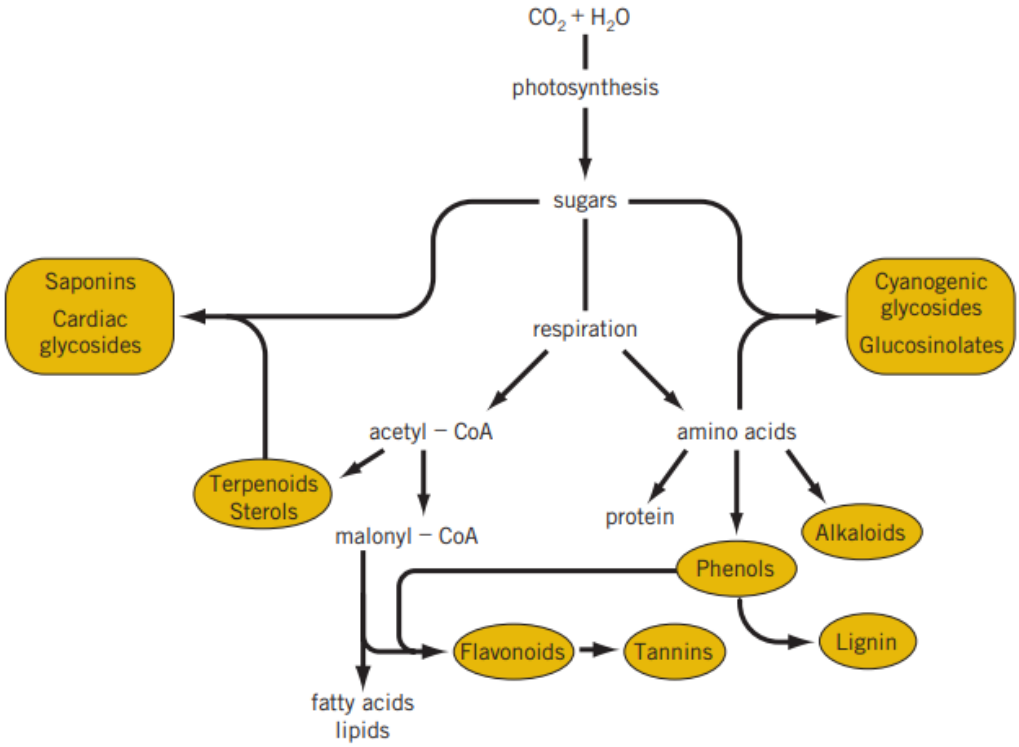
ได้มีการนำวิธีการนี้มาวิเคราะห์ตัวอย่างในพืชหลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น สุภัคศิริ คำก้อน, ประสงค์ สีหานาม และอัณศยา ท่อนโพธิ์ (2559) ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC ในสารสกัดใบ ก้าน และลำต้นขององุ่นป่า (*Ampelocissus martini* Planch.) พบว่า สารสกัดจากใบ ก้าน และลำต้นขององุ่นป่า มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC เท่ากับ 41.58, 10.44 และ 4.82 mg TE/g DW



ภาพที่ 2.6 ปฏิกิริยาวิธี CUPRAC และสารที่ทำให้เกิดสี (chromophore) ได้แก่ bis (neocuproine) และ copper (I) มีไอออนเป็นบวก [โปรตอนที่ปลดปล่อยออกมาในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นกลางด้วยสารแอมโมเนียมอะซีเตตบัฟเฟอร์ (NH_4Ac buffer)]
ที่มา: Özyürek, Güçlü and Apak (2011)

2.6 สารพฤกษเคมี (phytochemical) ในใบมะละกอ

สารพฤกษเคมี (phytochemical) เป็นสารเคมีชนิดต่างๆ ที่สามารถพบในพืช แบ่งกลุ่มของสารเคมีในพืชตามสารตั้งต้น (biosynthetic origin) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ สารปฐมภูมิ (primary metabolites) และสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) โดยสารปฐมภูมิเป็นสารเคมีพื้นฐานที่พบในพืชชั้นสูงโดยทั่วไป พบได้ในพืชเกือบทุกชนิด ส่วนใหญ่เป็นสารที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชและกระบวนสังเคราะห์กรดอะมิโนบางชนิด เช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน ส่วนสารทุติยภูมิเป็นสารที่พืชสร้างจาก intermedial basic metabolism ที่พบแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด ซึ่งสารทุติยภูมิเป็นกลุ่มที่มีฤทธิ์ทางเคมี (chemotaxonomy Group) ได้แก่ แอลคาลอยด์ (alkaloid) แอนทราควิโนน (anthraquinones) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซาโปนิน (saponins) แทนนิน (tannins) เทอร์ปีนอยด์ (terpenoids) สเตียรอยด์ (steroids) และคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ (cardiac glycosides) (อุดมเดชา พลเยี่ยม, 2556) (ภาพที่ 2.7)



ภาพที่ 2.7 แผนภาพกระบวนการสังเคราะห์สารปฐมภูมิ (primary metabolites) และสารทุติยภูมิ (secondary metabolites)
ที่มา: Hopkins and Huner (2009)

มีนักวิจัยหลายท่านได้ตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นด้วยการสกัดสารสำคัญในใบมะละกอ พบว่า ใบมะละกอประกอบด้วยสาร alkaloids, saponins, flavonoids, tannins, glycosides และ phenols เป็นต้น โดยมีการใช้สารสกัดหลายชนิดในการสกัดสาระสำคัญแต่ที่นิยมใช้ในใบมะละกอ ได้แก่ ethanol, methanol, ethyl acetate, acetone, chloroform, hexane และ น้ำ (ตารางที่ 2.3) แม้ว่าการใช้สารสกัดดังกล่าวจะสามารถสกัดสารพฤกษเคมีได้หลายชนิด แต่สารเคมีแต่ละชนิดมีข้อจำกัดในการนำไปใช้ คือ ต้องมีขั้นตอนการกำจัดสารที่จะใช้สกัดสารออก ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงได้เลือกใช้เอทานอล เป็นสารสกัดในการสกัดสารสำคัญของใบมะละกอ เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่มีความสามารถในการละลายกว้าง ราคาไม่แพง ไม่เป็นพิษและปลอดภัยมากกว่าสารสกัดตัวอื่น

ตารางที่ 2.3 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นในใบมะละกอด้วยสารสกัดชนิดต่าง ๆ

สารสกัด	สารพฤกษเคมี									อ้างอิง
	แอนทราควิโนน	เทอร์พีนอยด์	ฟลาโวนอยด์	ซาโปนิน	แทนนิน	แอลคาลอยด์	คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	ฟีนอลิค	สเตอร์รอยด์	
Ethanol	-	+	+	+	-	+	+	-	-	Baskaran et al. (2012)
	+	-	-	-	+	+	-	-	+	Juárez-Rojop et al. (2014)
	-	-	+	+	+	+	+	-	-	Alorkpa et al. (2016)
Methanol	+	-	+	+	+	+	+	-	-	Imaga et al. (2010)
	-	+	+	+	-	-	+	-	-	Baskaran et al. (2012)
	-	-	+	+	+	+	-	+	-	Abdulhamid, Fakai and Ogwihi (2017)
Ethyl acetate	-	+	+	+	-	+	+	+	-	Baskaran et al. (2012)
Acetone	-	+	+	+	-	+	+	+	-	Baskaran et al. (2012)
Chloroform	-	-	-	-	+	+	-	+	-	Baskaran et al. (2012)
	+	-	-	-	-	-	-	-	+	Juárez-Rojop et al. (2014)
	-	-	+	+	+	+	+	+	-	Abdulhamid, Fakai and Ogwihi (2017)

หมายเหตุ: – หมายถึง ตรวจสอบไม่พบ
+ หมายถึง ตรวจสอบพบ

ตารางที่ 2.3 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นในใบมะละกอด้วยสารสกัดชนิดต่าง ๆ (ต่อ)

สารสกัด	สารพฤกษเคมี									อ้างอิง
	แอนทราควิโนน	เทอร์พีนอยด์	ฟลาโวนอยด์	ซาโปนิน	แทนนิน	แอลคาลอยด์	คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	ฟีนอลิค	สเตอร์รอยด์	
Petroleum ether	-	+	-	-	+	+	+	+	-	Baskaran et al. (2012)
Hexane	-	-	-	-	+	+	-	-	-	Baskaran et al. (2012)
	+	-	-	-	-	-	-	-	+	Juárez-Rojop et al. (2014)
	-	-	-	-	+	+	-	-	-	Alorkpa et al. (2016)
	-	-	-	+	-	+	-	-	-	Abdulhamid, Fakai and Ogwihi (2017)
Aquas extract	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Baskaran et al. (2012)
	-	-	-	+	-	+	+	-	-	Abdulhamid, Fakai and Ogwihi (2017)

หมายเหตุ: – หมายถึง ตรวจสอบไม่พบ
+ หมายถึง ตรวจสอบพบ

สารพฤกษเคมีที่พบในใบมะละกอมีหลายชนิด งานวิจัยนี้ได้ศึกษา 4 ชนิด ได้แก่

(1) สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compounds)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารทุติยภูมิที่พบมากในอาหาร และในธรรมชาติพบมากกว่า 8,000 ชนิด โดยมีโครงสร้างประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซี (hydroxyl group) เกาะอยู่กับวงแหวนเบนซีน (aromatic ring) หมู่โมเลกุลสามารถละลายได้ในน้ำ ส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลิกจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบ glycoside พบในช่องว่างภายในเซลล์ (cell vacuole) สารประกอบฟีนอลิกสามารถจำแนกชนิดได้ 4 กลุ่ม ได้แก่

(1.1) กลุ่มกรดฟีโนลิกที่มาจาก hydroxybenzoic acids ได้แก่ gallic acid และกรดฟีโนลิกที่มาจาก hydroxycinnamic acid ได้แก่ caffeic, ferulic และ coumaric acid

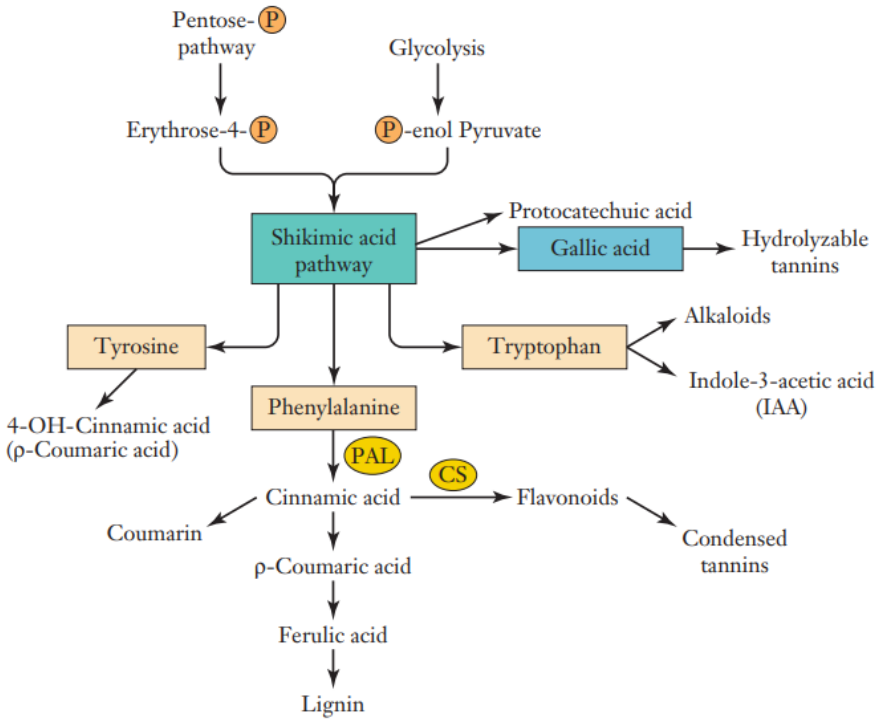
(1.2) กลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นกลุ่มใหญ่ประกอบด้วยกลุ่มฟลาโวนส์ ไอโซฟลาโวนส์ ฟลาโวนอลส์ แอนโธไซยานินส์ และฟลาวานอลส์

(1.3) กลุ่มสติลบีน (stilbenes)

(1.4) กลุ่มลิกนินส์และโพลีเมอร์ของลิกนินส์

การสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกของพืชเกิดขึ้นในวิถีที่เรียกว่า shikimic acid pathway ใช้ในการสังเคราะห์กรดอะมิโนชนิด aromatic 3 ชนิด ได้แก่ Tyrosine, Phenylalanine และ Tryptophan โดยการรวมตัวของ 2 โมเลกุล คือ erythrose-4-P ที่มาจาก pentose-phosphate respiratory pathway และ phosphoenol pyruvate (PEP) มาจาก glycolysis โดยกรดอะมิโน phenylalanine จะมี phenylalanine ammonia lyase (PAL) เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการควบคุมปริมาณการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก กระตุ้นกระบวนการสังเคราะห์กรดอะมิโน phenylalanine ไปเป็น cinnamic acid แล้วเปลี่ยนไปเป็น p-coumaric acid ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกตัวแรก ถูกกระตุ้นด้วย cinnamic acid-4-hydroxylase จากนั้นจะถูกออกซิไดซ์โดยเอนไซม์ peroxidase เปลี่ยนรูปเป็น ferulic acid นอกจากนั้นการออกซิไดซ์จะก่อให้เกิดการรวมตัวเป็นสารที่มีโมเลกุลใหญ่ขึ้น (polymerization) กลายเป็นสารประกอบลิกนิน นอกจากนั้น cinnamic acid ยังสามารถเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของสาร coumarin และสารประกอบฟลาโวนอยด์อีกด้วย (Hopkin and Huner, 2009) (ภาพที่ 2.8)

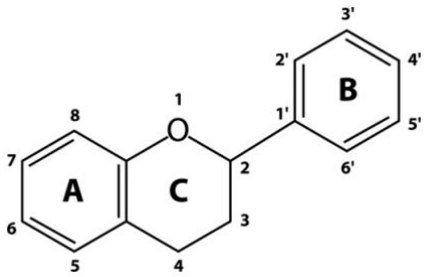
สารประกอบฟีนอลิกมีฤทธิ์หลายอย่าง เช่น ต้านการเกิดสภาวะออกซิเดชัน ป้องกันการเกิดโรคมะเร็งต่าง ๆ เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งหลอดอาหาร มะเร็งผิวหนัง มะเร็งลำไส้ มะเร็งต่อมลูกหมาก และมะเร็งตับ เป็นต้น สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางยา โดยเป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์ต้านสารก่อมะเร็ง ต้านภาวการณ์อักเสบต่าง ๆ และช่วยปรับระบบภูมิคุ้มกัน สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ และโครงสร้างมีความเสถียร สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) และ low-density lipoprotein (LDL) ป้องกันเนื้อเยื่อและดีเอ็นเอจากการถูกทำลายด้วยออกซิเดชัน (ลือชัย บุตคุป, 2555)



ภาพที่ 2.8 วิถีการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก
ที่มา: Hopkins and Huner (2009)

(2) สารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

สารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นกลุ่มของสารประกอบที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrones) มีโมเลกุลขนาดเล็กและมีโครงสร้างประกอบด้วยคาร์บอน 15 ตัว (C_6 - C_3 – C_6) เป็นวงแหวน 3 วงเรียงตัวกัน ได้แก่ วงแหวนเบนซีน (benzene ring) 2 วง (วงแหวน A และ B) เชื่อมต่ออยู่กับวงแหวนไพแรน (heterocyclic pyran ring) ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง (C) (Pietta, 2000) (ภาพที่ 2.9)



ภาพที่ 2.9 โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟลาโวนอยด์
ที่มา: Pietta (2000)

สารประกอบฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยตามโครงสร้างเคมี 7 กลุ่ม (Pietta, 2000; วิภพ สุทธนะ, 2556) ได้แก่

(1) ฟลาโวนอล (flavonols) เกิดจากการที่สารประกอบฟลาโวน (flavones) มีการแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซิล (OH) เพิ่มขึ้นที่ตำแหน่งที่ 3 ตัวอย่างเช่น เคอร์ซิติน (quercetin) หรือ3,5,7,3',4'-Pentahydroxyflavone แคมป์เฟอรอล (kaempferol) ไมริซิติน (myricetin) อะกลัยโคนที่เป็นอนุพันธ์ของฟลาโวนและฟลาโวนอลที่ทราบโครงสร้างมีอีกประมาณ 60 ชนิด ซึ่งจะแตกต่างกันที่หมู่ไฮดรอกซิล (OH) และหมู่เมธอกซี (methoxy group) (ภาพที่ 2.10)

(2) ฟลาโวน (flavones) หรือ 2-phenyl benzopyrone ในโมเลกุลมีพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 ฟลาโวนเป็นสารประกอบที่ไม่มีสี ตัวอย่างเช่น ลูติโอลิน (luteolin), อาพิจินิน (apigenin) และไครซิน (chrysin) (ภาพที่ 2.10)

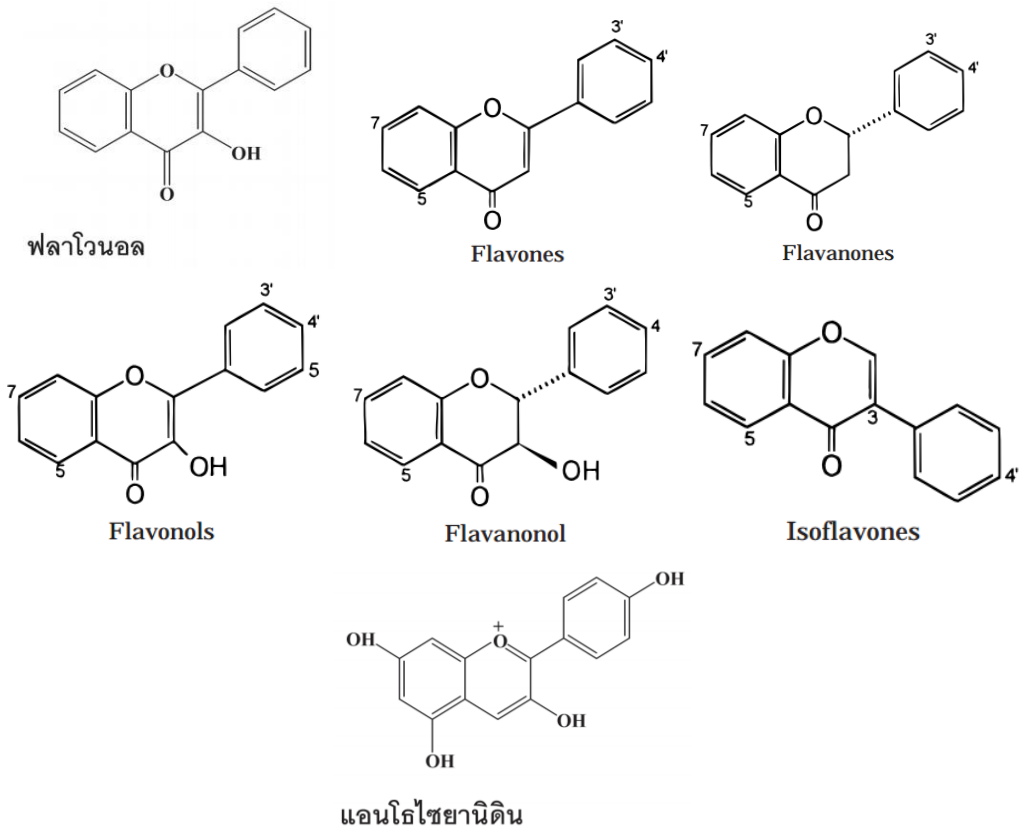
(3) ฟลาวาโนน (flavanones) มีสูตรโครงสร้างคล้ายฟลาโวน แต่พันธะระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 เป็นพันธะเดี่ยว ฟลาวาโนน (flavanones) เป็นฟลาโวนอยด์ที่พบในผลไม้ตระกูลส้ม เช่น เฮสเพอริติน (hesperetin) และ นารินจิน (naringin) ที่ค่าพีเอชเป็นด่าง (pH 12) วงแหวนที่อยู่ภายในโมเลกุลของเฮสเพอริดิน (hesperidin) จะเปิดออกได้เป็น chalcone จะมีสีเหลืองถึงสีน้ำตาล (ภาพที่ 2.10)

(4) ฟลาวานอล (flavanols) เช่น แคทิชิน (catechin), แกลโลแคทิชิน (gallocatechin) อีพิแคทิชิน (epicatechin) อีพิแกลโลแคทิชิน (epigallocatechin) อีพิแคทิชิน-3-แกลเลต (epicatechin-3-gallate) อิพิแกลโลแคทิชิน-3-แกลเลต (epigallocatechin-3-gallate) (ภาพที่ 2.10)

(5) ฟลาวาโนนอล (flavanonols) มีสูตรโครงสร้างคล้ายกับฟลาวาโนน (flavanones) แต่มีหมู่ ไฮดรอกซิล (OH) เพิ่มขึ้นในตำแหน่งที่ 3 ตัวอย่างเช่น แทกซิโฟลิน (taxifolin) (ภาพที่ 2.10)

(6) ไอโซฟลาโวน (isoflavones) มีสูตรโครงสร้างเช่นเดียวกับฟลาโวน (flavones) แต่วงแหวนฟีนิล (phenyl ring) อยู่ที่ตำแหน่งที่ 3 เป็น 3-Phenylbenzopyrone ตัวอย่างเช่น เดดซีน (daidzein), จีนิสตีน (genistein) ไกลซิตีน (glycitein) ฟอร์โมโนเนติน (formononetin) (ภาพที่ 2.10)

(7) แอนโธไซยานิดิน (anthocyanidins) เช่น ไซยานิดิน (cyanidin), เดลฟินิดิน (delphinidin) มาลวิดิน (malvidin) พีลาร์โกนิดิน (pelargonidin) พีโอนิดิน (peonidin) พีทูนิดิน (petunidin) (ภาพที่ 2.10)

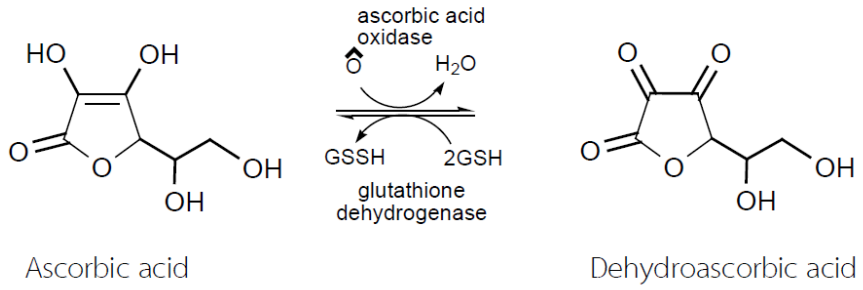


ภาพที่ 2.10 โครงสร้างเคมีกลุ่มย่อยของฟลาโวนอยด์
ที่มา: วิภพ สุทธนะ (2556)

ฟลาโวนอยด์เป็นสารเมแทบอไลท์ขั้นทุติยภูมิในพืชที่สร้างมาจากกรดอะมิโนที่มีวงแหวน (aromatic amino acids) ได้แก่ phenylalanine, tyrosine และ malonate โดยทำหน้าที่เป็นสารให้สีที่สำคัญในพืช ช่วยในการกรองรังสีอัลตราไวเลต และการช่วยตรึงไนโตรเจน ฟลาโวนอยด์พบได้ใน ผัก ผลไม้ ธัญพืช พืชตระกูลถั่ว เครื่องเทศ สมุนไพร ลำต้น กิ่งก้าน ดอก และเมล็ด รวมถึงเครื่องดื่มบางชนิด เช่น ชา โกโก้ เบียร์ และไวน์ เป็นต้น (Pietta, 2000; วิภพ สุทธนะ, 2556)

(3) วิตามินซี (Vitamin C)

วิตามินซีเป็นสารประกอบอินทรีย์มีชื่อทางเคมีว่า กรดแอสคอร์บิก (L-ascorbic acid) หรือแอสคอร์เบต (ascorbate) มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว รสเปรี้ยว ละลายในน้ำ และมีฤทธิ์เป็นกรด วิตามินซีจะถูกออกซิไดส์ได้ง่ายโดยออกซิเจนในอากาศ เมื่อถูกออกซิไดส์แล้วจะเปลี่ยนไปเป็นดีไฮโดรแอสคอร์บิก (dehydro ascorbic acid; DHA) ทั้งนี้จะมีเอนไซม์แอสคอร์บิกออกซิเดส (ascorbic oxidase) และกลูตาไทโอนดีไฮโดรจีเนส (glutathione dehydrogenase) ในการเปลี่ยนวิตามินซีอยู่ในสองรูปคือ กรดแอสคอร์บิกและดีไฮโดรแอสคอร์บิก (ภาพที่ 2.11) (ศรมน สุทิน, 2559)



ภาพที่ 2.11 การเปลี่ยนโครงสร้างของวิตามินซีโดยเอนไซม์ในร่างกาย
ที่มา: ศรมน สุทิน (2559)

(4) อัลคาลอยด์ (Alkaloid)

อัลคาลอยด์ เป็นสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ มีฤทธิ์เป็นด่าง ในโมเลกุลประกอบด้วยธาตุไนโตรเจน (nitrogen; N) อย่างน้อย 1 อะตอม พบมากในพืช แต่อาจพบได้บ้างในแบคทีเรีย รา และสัตว์ (ศิริพร หมาดหล้า และพจนพร ไกรดิษฐ์, 2560) อัลคาลอยด์ส่วนใหญ่ไม่ละลายในน้ำ มีรสขม และมักจะเป็นของแข็งไม่มีสี (สีขาว) (รพีพล ภโววาท และสุรพงษ์ เก็งทอง, 2548)

การจำแนกชนิดของสารอัลคาลอยด์ทำได้หลายวิธี เช่น การแบ่งตามกลุ่มของพืชที่มีอัลคาลอยด์นั้นๆ แบ่งตามคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา แบ่งตามชนิดของสารตั้งต้น และแบ่งตามสูตรโครงสร้างทางเคมี วิธีที่นิยมคือ แบ่งตามชนิดของสารตั้งต้นในชีวสังเคราะห์ ซึ่งสามารถแบ่งอัลคาลอยด์ได้เป็น 3 กลุ่ม (ศิริพร หมาดหล้า และพจนพร ไกรดิษฐ์, 2560) คือ

(1) อัลคาลอยด์แท้จริง (true alkaloids) สูตรโครงสร้างมีอะตอมไนโตรเจนอย่างน้อย 1 อะตอม ที่มาจากกรดอะมิโน และอะตอมไนโตรเจนเป็นส่วนของวงเฮเทอโรไซคลิก (heterocyclic ring) กรดอะมิโนที่เป็นสารตั้งต้นในชีวสังเคราะห์ของอัลคาลอยด์กลุ่มนี้ เช่น แอล-ออร์นิธีน (L-ornithine) แอล-ไลซีน (L-lysine) แอล-ฟีนิลอะลานีน (L-phenylalanine)/แอล-ไทโรซีน (L-tyrosine) แอล-ทริปโตเฟน (L-tryptophan) และ แอล-ฮีสทิดีน (L-histidine) ตัวอย่างสารอัลคาลอยด์ที่แท้จริง เช่น โคเคน (cocaine) นิโคติน (nicotine) พิเพอริดีน (piperidine) พิเพอรีน (piperine) มอร์ฟีน (morphine) อะโทรปีน (atropine) เป็นต้น

(2) โพรโทอัลคาลอยด์ (protoalkaloids) เช่น เมสคาลีน (mescaline) ฮอร์ดินีน (hordenine) และโยฮิมบีน (yohimbine) เป็นกลุ่มของสารอัลคาลอยด์ที่อะตอมไนโตรเจนในโครงสร้างมาจากกรดอะมิโนเช่นเดียวกับอัลคาลอยด์แท้จริง แต่โครงสร้างมีอะตอมไนโตรเจนอยู่นอกวงเฮเทอโรไซคลิก สารตั้งต้นในชีวสังเคราะห์ของอัลคาลอยด์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ แอล-ไทโรซีนและแอล-ทริปโตเฟน

(3) ซูโดอัลคาลอยด์ หรืออัลคาลอยด์เทียม (pseudo-alkaloids) เป็นอัลคาลอยด์ที่โครงคาร์บอน (carbon skeleton) ไม่ได้มาจากกรดอะมิโน สูตรโครงสร้างประกอบด้วยอะตอมไนโตรเจนในวงเฮเทอโรไซคลิก สารตั้งต้นในชีวสังเคราะห์ของอัลคาลอยด์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ แอซิเตต (acetate) กรดไพรูวิก (pyruvic acid) กรดเฟอรูลิก (ferulic acid) เจอรานิออล (geraniol) ซาโปนิน (saponins และ อะดีนีน (adenine)/กวานีน (guanine) ซึ่งเป็นสารตั้งต้น (precursor) หรือสารที่

เกิดจากกระบวนการเปลี่ยนของสารตั้งต้น (postcursor) ของกรดอะมิโน ตัวอย่างสารอัลคาลอยด์ที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ เช่น คาเฟอีน (caffeine) แคปไซซิน (capsaicin) ทีโอโบรมีน (theobromine) และธีโอฟิลลีน (theophylline) เป็นต้น

อัลคาลอยด์ถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคอย่างกว้างขวาง เช่น ใช้เป็นยาระงับปวด ยาชาเฉพาะที่ ยาแก้ไอ ยาแก้หอบหืด ยารักษาแผลในกระเพาะและลำไส้ ยาลดความดัน ยาควบคุมการเต้นของหัวใจ และอัลคาลอยด์บางตัวมีฤทธิ์ต้านมะเร็ง (ศิริพร หมาดหล้า และพจนพร ไกรดิษฐ์, 2560)

2.7 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมกับปริมาณสารพฤกษเคมี

ลักษณะปรากฏ (phenotype) เป็นลักษณะทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตที่ได้ปรากฏออกมาและสามารถมองเห็นได้ ซึ่งลักษณะที่แสดงออกมาให้เห็นเนื่องมาจากอิทธิพลของพันธุกรรม (Genotype) สภาพแวดล้อม (Environment) และปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อม (Genotype and Environment Interaction) โดยสามารถเขียนสมการแสดงความสัมพันธ์ได้ (ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2539; ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ, 2541) ดังนี้

$$P = G + E + GE$$

โดย P หมายถึง ลักษณะปรากฏ (phenotype)

G หมายถึง ลักษณะทางพันธุกรรม (genotype)

E หมายถึง สภาพแวดล้อม (environment)

GE หมายถึง ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อม (genotype and environment interaction)

จากสมการทำให้ทราบว่าลักษณะปรากฏจะแสดงออกในระดับต่างกันเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน โดยเฉพาะในลักษณะปริมาณซึ่งสภาพแวดล้อมมีบทบาทในการแสดงออกมากกว่าในลักษณะคุณภาพ จากปฏิกิริยาร่วมดังกล่าวทำให้พืชที่แสดงออกต่างกัน ไม่จำเป็นที่จะต้องมีพันธุกรรมที่ต่างกัน และในทางกลับกัน พืชที่มีพันธุกรรมต่างกัน อาจแสดงออกได้เหมือนกัน ดังนั้นการประเมินปฏิกิริยาร่วมของพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม จึงมีความสำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์พืช 2 ประการ ในประการแรก คือ ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมจะนำไปใช้ในขั้นตอนการคัดเลือกพันธุ์ เพื่อทำให้สามารถเลือกพ่อแม่ที่เหมาะสม เพื่อที่จะให้ได้ลูกที่มีลักษณะที่ต้องการต่อไป ส่วนประการที่สอง คือ ถ้าไม่มีการประเมินปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมก็ยากที่จะตัดสินว่าลักษณะที่ปรากฏนั้นเป็นผลมาจากอิทธิพลของพันธุกรรมหรือสภาพแวดล้อมมากกว่ากัน (สุพรรณิกา สงวนศิลป์, 2555)

ค่าองค์ประกอบความแปรปรวนของลักษณะปรากฏ ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ (2541) ได้กล่าวว่า ความแตกต่างหรือความแปรปรวนของลักษณะปรากฏ (phenotypic variance) ในประชากรหนึ่ง ๆ เป็นผลเนื่องจากความแปรปรวนของลักษณะทางพันธุกรรม (genotypic variance) และความแปรปรวนของสภาพแวดล้อม (environment variance) ที่แตกต่างกัน หรืออาจเนื่องจากความแปรปรวนของปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อม จากที่กล่าวมาสามารถแบ่งความแปรปรวนของลักษณะปรากฏ ได้ดังนี้

$$V_p = V_G + V_E + V_{GE}$$

โดย V_p = ค่าความแปรปรวนของลักษณะปรากฏ

V_G = ค่าความแปรปรวนของลักษณะทางพันธุกรรม

V_E = ค่าความแปรปรวนของสภาพแวดล้อม

V_{GE} = ค่าความแปรปรวนของปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อม

อัตราความแปรปรวนของลักษณะปรากฏ สามารถจำแนกได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่

(1) เพ็นนิทรานซ์ (penetrance) คือ อัตราส่วนของพันธุกรรมชนิดหนึ่งที่แสดงลักษณะปรากฏให้ปรากฏตามที่คาดหมายไว้ ซึ่งเป็นการแสดงออกของลักษณะทางพันธุกรรมแบบใดแบบหนึ่งที่แสดงออกมาให้เห็นในลักษณะปรากฏนั้น ๆ

(2) เอ็กซ์เพรซซิวิตี้ (expressivity) คือ ความสามารถการแสดงออกของยีนต่อลักษณะปรากฏที่แสดงออกมา ยีนบางชนิดมีความสามารถในการแสดงออกไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมเป็นหลัก โดยสภาพแวดล้อมจะมีอิทธิพลกำหนดการแสดงออกของยีน

(3) ฟีโนโคฟี (phenocopy) คือ การเปลี่ยนแปลงของลักษณะปรากฏลักษณะใดลักษณะหนึ่งจนกระทั่งลักษณะปรากฏนั้นมีความคล้ายคลึงกับลักษณะปรากฏอีกลักษณะหนึ่งที่ควบคุมด้วยยีนอีกตัวหนึ่งโดยเฉพาะ เป็นการเปลี่ยนแปลงของลักษณะปรากฏที่เกิดจากสภาพแวดล้อม แต่ลักษณะนี้ไม่สามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลานได้ (ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2539)

ความสัมพันธ์ของลักษณะทางพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม Allard and Bradshaw (1964) ได้จำแนกสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อลักษณะทางพันธุกรรมออกเป็น 2 ประเภท คือ

(1) สภาพแวดล้อมที่สามารถทำนายได้ โดยประเมินจากลักษณะที่ต้องการแบบเฉพาะเจาะจง เช่น ชนิดของดินกับลักษณะทางพันธุกรรม ระยะปลูกพืชกับลักษณะทางพันธุกรรม เป็นต้น

(2) สภาพแวดล้อมที่ไม่สามารถทำนายได้ โดยประเมินจากปฏิกิริยาร่วมระหว่างลักษณะทางพันธุกรรมกับสถานที่ปลูก (genotype x location) ลักษณะทางพันธุกรรมกับปี (genotype x year) และลักษณะทางพันธุกรรม สถานที่ปลูก และปี (genotype x location x year) เป็นต้น

กฤษฎา สัมพันธารักษ์ (2528) กล่าวว่า ลักษณะปรากฏของพืชที่แสดงออกมาให้เห็นตลอดเวลาจนความผันแปรของพืชแต่ละต้น ภายในประชากรเกิดขึ้นได้ด้วยสาเหตุ 2 ประการ คือ ประการที่ 1 ได้แก่ ความผันแปรทางพันธุกรรม เช่น การแสดงออกของยีน (gene expression) ซึ่งสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้ และประการที่ 2 ได้แก่ ความผันแปรเนื่องจากเนื่องจากสภาพแวดล้อม ซึ่งไม่สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้และถือเป็นอุปสรรคต่อการคัดเลือกอีกด้วย (พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์,

2525) โดยเฉพาะอย่างยิ่งลักษณะทางปริมาณ (quantitative trait) ซึ่งถูกควบคุมด้วยยีนหลายยีน (polygenes) การถ่ายทอดทางพันธุกรรมของลักษณะปริมาณเป็นผลจากการแสดงออกของยีน ได้แก่ modifying gene ซึ่งเป็นกลุ่มของยีนที่มีผลต่อการเพิ่มหรือลดการแสดงออกของยีนหลัก (major gene) และ multiple factors ประกอบด้วยยีนหลายตัว โดยแต่ละตำแหน่งจะแสดงออกอย่างอิสระและเป็นไปในเชิงบวก ซึ่งจะผันแปรไปตามสภาพแวดล้อม หากสภาพแวดล้อมมีอิทธิพลมากต่อการแสดงออกของยีน ความก้าวหน้าในการปรับปรุงพันธุ์พืชจะช้าตามไปด้วย (สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์, 2528)

จากการรวบรวมงานวิจัยการทดสอบปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม โดยมีการศึกษาความแปรปรวนทั้งในไม้ผลเขตร้อนและไม้ผลเขตหนาว ได้แก่

สุทิน พรหมโชติ (2545) ศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อมของพีช [*Prunus persica* (L.) Batsch.] 13 สายพันธุ์ และเนคทารีน [*Prunus persica* var. *nectarica*] 5 สายพันธุ์ ของลักษณะทางกายภาพของกิ่งและคุณภาพผล โดยประเมินจาก 2 สถานที่ปลูก คือ สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง และศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ขุนวาง เป็นเวลา 2 ปี คือ พ.ศ. 2543 และ พ.ศ. 2544 พบว่า ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสถานที่ปลูกมีผลต่อจำนวนตาดอกในพีชและเนคทารีน (*Prob.*=0.006) และสัดส่วนความกว้างต่อความยาวผลในพีช (*Prob.*=0.009) ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับปีมีผลต่อความหนาเนื้อในพีช (*Prob.*=0.006) ปฏิกิริยาร่วมระหว่างสถานที่ปลูกกับปีมีผลต่อจำนวนตาใบในพีชและเนคทารีน (*Prob.*=0.049) ความหนาเนื้อในพีช (*Prob.*=0.032) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำในพีช (*Prob.*=0.0001) ปริมาณกรดในพีช (*Prob.*=0.01) และปริมาณกรดในเนคทารีน (*Prob.*=0.001) โดยความแปรปรวนของลักษณะทางกายภาพกิ่งของพีชและเนคทารีน คุณภาพผลของพีชและเนคทารีน เป็นผลมาจากอิทธิพลของพันธุกรรม (4.9-28.1%, 2.5-26.2%, 0-17.1%) สถานที่ปลูก (0-19.5%, 0-13.1%, 0-11.9%) ปี (0-36.1%, 0-63.3%, 4.3-54.7%) ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสถานที่ปลูก (0-12%, 0-13.1%, 0-20.8%) ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับปี (0-9.7%, 0-12.6%, 0-17.1%) ปฏิกิริยาร่วมระหว่างสถานที่ปลูกกับปี (0.4-6.7%, 0-70%, 0-33.6%) และปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมสถานที่ปลูก และปี (0-16.3%, 13-26.2%, 0-23.4%)

สุพรรณิกา สงวนศิลป์ (2555) ศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อมต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณวิตามินซีและคุณภาพในผลฝรั่ง (*Psidium guajava* L.) 21 สายพันธุ์ ประกอบด้วยพันธุ์เนื้อสีขาว 9 พันธุ์ เนื้อสีม่วงแดง 2 พันธุ์ เนื้อสีชมพู 7 พันธุ์ และเนื้อสีครีม 3 พันธุ์ ในฤดูร้อนและฤดูฝนปี 2553 และฤดูหนาวปี 2554 จากการทดลองพบว่า พันธุ์ฝรั่งมีความหลากหลายในทุกลักษณะ ดังนี้ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [6.9-17.1 μMol/g fresh weight (FW)] ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (119-239 mg/100 g FW) ปริมาณวิตามินซี (30-140 mg/100 g FW) น้ำหนักผล (54-526 g) Hue angle ของสีผิว (61-115) Hue angle ของสีเนื้อ (24-116) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (6.6-10.7%Brix) และปริมาณกรด(0.25-1.42%) สารประกอบฟีนอลิกที่พบมากในผลฝรั่ง (>10 mg/100 g FW) ได้แก่ catechin (26.7-86.6) ferulic acid (25.0-65.3) และ quercetin (11.8-65.6) ส่วนอีก 8 ชนิดนั้นพบในปริมาณค่อนข้างน้อย (<10 mg/100 g FW) โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิกและ

วิตามินซี ส่วนใหญ่พบมากที่สุดในฝรั่งพันธุ์เนื้อสีม่วงแดง จากการวิเคราะห์องค์ประกอบความแปรปรวน พบว่า อิทธิพลของพันธุกรรมมีค่าระหว่าง 1.2% ใน gallic acid ถึง 82.6% ใน kaempferol อิทธิพลของฤดูกาลมีค่าระหว่าง 0.0% ใน gallic acid และ kaempferol ถึง 22.1% ในวิตามินซี อิทธิพลของปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลมีค่าระหว่าง 5.2% ใน quercetin ถึง 35.0% ใน chlorogenic acid และอิทธิพลระหว่างผลภายในพันธุ์มีค่าระหว่าง 3.2% ใน Hue angle ของสีเนื้อถึง 81.1% ใน quercetin โดยชนิดสารประกอบฟีนอลิกที่มีความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของพันธุกรรมสูง ได้แก่ kaempferol (82.6%) apigenin (78.7%) และ cyaniding-3-gluvoside (62.8%) และจากการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ปรากฏระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับสารประกอบฟีนอลิก วิตามินซี และคุณภาพผล พบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและวิตามินซีแต่มีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงข้ามกับน้ำหนักผล Hue angle ของสีผิว และ Hue angle ของสีเนื้อ

สุนันท์ บุตรศาสตร์ และรภัสสา จันทาศรี (2555) วิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ และกรดฟีนอลิก รวมทั้งทดสอบฤทธิ์การต้านออกซิเดชันโดยการยับยั้งอนุมูล DPPH, ABTS และ FRAP ในมะละกอผลดิบและผลสุกจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์แขกนวลกำแพงแสน แขกนวลกาฬสินธุ์ ครั่งเนื้อเหลือง และครั่งเนื้อแดง โดยมีการปลูกในพื้นที่ต่างกัน 5 แหล่งในจังหวัดมหาสารคาม ได้แก่ อำเภอโกสุมพิสัย อำเภอเมือง อำเภอบรบือ อำเภอกันทรวิชัย และอำเภอชื่นชม จากผลการทดลองพบว่า แหล่งปลูกและสายพันธุ์มะละกอ มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ และกรดฟีนอลิก รวมทั้งความสามารถในการต้านออกซิเดชันของมะละกอ ซึ่งมะละกอทั้ง 4 สายพันธุ์ เป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลิกที่มีสมบัติต้านออกซิเดชันได้ดี โดยมะละกอผลสุก จะเป็นแหล่งของปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแคโรทีนอยด์ รวมทั้งมีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันทั้ง 3 วิธี คือ DPPH, ABTS และ FRAP สูงกว่ามะละกอผลดิบ นอกจากนี้มะละกอสายพันธุ์แขกนวลกาฬสินธุ์และครั่งเนื้อแดงมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูง โดยเฉพาะไลโคปีนและเบต้าแคโรทีน

ณัฐยาพร หนันต๊ะ และคณะ (2559) ที่ทำการประเมินความแปรปรวนของความเข้มข้นของไลโคปีน และเบต้าแคโรทีน ในฟักข้าวจำนวน 13 สายพันธุ์ ที่รวบรวมจากประเทศไทยและประเทศเวียดนาม ที่เก็บเกี่ยวใน 2 ฤดู ได้แก่ ฤดูฝน และฤดูแล้ง จากการทดลองพบว่า ฤดูกาลมีอิทธิพลต่อความเข้มข้นของไลโคปีน และเบต้าแคโรทีน โดยฟักข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ มีการตอบสนองต่อฤดูกาลแตกต่างกันในลักษณะความเข้มข้นของไลโคปีน เบต้าแคโรทีน และแคโรทีนอยด์รวมแตกต่างกัน ซึ่งฟักข้าวที่เก็บเกี่ยวในฤดูแล้งจะมีความเข้มข้นของไลโคปีนเฉลี่ยสูงกว่าฟักข้าวที่เก็บเกี่ยวในช่วงฤดูฝนโดยฟักข้าวสายพันธุ์ KKU ac. 10-098 มีความเข้มข้นของไลโคปีน เบต้าแคโรทีนและแคโรทีนอยด์รวมสูงที่สุดในทั้งสองฤดูที่ทำการทดสอบ

Connor et al. (2005) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมในปริมาณสารในกลุ่มแอนโธไซยานิน และความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในแบลคเบอร์รี่ 16 สายพันธุ์ และเบอร์รี่ลูกผสม (*Rubus* L. species) ที่เก็บเกี่ยวในปี 2002 และ 2003 ในประเทศนิวซีแลนด์และโอเรกอน พบว่า ปริมาณสารกลุ่มแอนโธไซยานินมีความแปรปรวนอย่างมาก โดยความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของพันธุ์ส่งผลปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด คิดเป็น 40% ของความแปรปรวน

ทั้งหมด ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรม สถานที่ และปี มีอิทธิพลต่อปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด คิดเป็น 39% ของความแปรปรวนทั้งหมด โดยความแปรปรวนที่เกิดจากพันธุกรรมของปริมาณสารแอนโธไซยานินในกลุ่ม cyanidin 3-*o*-glucoside (63%) และ cyanidin 3-*o*-rutinoside (92%) ค่ามากกว่าความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของพันธุกรรมของลักษณะปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมด ในขณะที่ความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรม สถานที่ และปี มีความแปรปรวนน้อยกว่า [cyanidin 3-*o*-glucoside (23%) และ cyanidin 3-*o*-rutinoside (7%)] สำหรับปริมาณสารแอนโธไซยานินในกลุ่ม cyanidin 3-*o*-sophoroside และ cyanidin 3-o-(2^{G}-glucosylrutinoside) พบเพียง 4 สายพันธุ์ มีความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของพันธุกรรมเท่ากับ 64% และ 76% ตามลำดับ ในขณะที่ความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรม สถานที่ และปี มีค่าเท่ากับ 18% และ 24% ตามลำดับ สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่พบนัยสำคัญในความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของพันธุกรรม คิดเป็น 11% ในทางกลับกันความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของปีและปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม มีอิทธิพลอย่างมากต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คิดเป็น 22% และ 55% ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์สหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏ พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมดมีความสัมพันธ์ในทางบวก (r=0.63) แต่มีความสัมพันธ์น้อยกว่าความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (r=0.97)

Caliskan and Polat (2012) ศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของผลมะเดื่อฝรั่ง (*Ficus casica* L.) 11 สายพันธุ์ ในสวนเดียวกัน ระยะเวลา 3 ปี พบว่า มะเดื่อฝรั่งแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณของสารและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จะเห็นได้ว่าปัจจัยที่สำคัญในการประเมินสารพฤกษเคมีในมะละกอและผลไม้ชนิดอื่น จะมีอิทธิพลหลัก คือ พันธุกรรมและมีปัจจัยอื่น ๆ เข้ามาเกี่ยวข้องด้วย เช่น สภาพแวดล้อม และการเขตกรรมในรอบปี เป็นต้น

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การปลูกและดูแลรักษาต้นมะละกอ

เพาะเมล็ดพันธุ์มะละกอจำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ แขกดำเกษตร แขกดำศรีสะเกษ ศรีราชภัฏ ฮอลแลนด์ เรดเลดี้ และเหลืองกระบี่ โดยนำเมล็ดพันธุ์มะละกอมาแช่ในน้ำอุ่นอุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง แล้วห่อด้วยกระดาษทิชชู 1 คืน แล้วนำเมล็ดเพาะในถาดหลุมวัสดุเพาะกล้าใช้พีทมอส จำนวน 2-3 เมล็ดต่อหลุม เมื่อมีใบจริง 2-3 ใบ หรืออายุประมาณ 1 เดือน ทำการย้ายต้นกล้าปลูกลงในถุงเพาะชำขนาด 5x8 นิ้ว ซึ่งมีส่วนผสมของวัสดุปลูก คือ ดิน, แกลบดิบ, แกลบเผา, ปุ๋ยคอก อัตราส่วน 2:1:1:1 ปูนขาวและปุ๋ยสูตร 15-15-15 อย่างละ 50 กรัม เมื่อต้นกล้าอายุประมาณ 45-60 วัน ทำการย้ายปลูกลงในแปลงทดลองเมื่อเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2561 ณ สำนักงานไร่ฝึกทดลองและห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ทำการยกร่องแปลง ใช้ระยะปลูก 3x3 เมตร หลังจาก 1 เดือนเมื่อต้นกล้าตั้งตัวได้ใส่ปุ๋ยสูตรเสมอ ผสมกับยูเรีย อัตรา 15 กรัม/ต้น พอเริ่มออกดอก-ติดผล จะใส่ปุ๋ยสูตร 13–13-21 ส่วนการให้น้ำ จะพิจารณาสภาพของดินในขณะนั้น โดยให้ผ่านระบบน้ำหยดตลอดฤดูปลูก เมื่อต้นมะละกออายุประมาณ 3 เดือน ใส่ปุ๋ยคอกอัตรา 2.5 กิโลกรัมต่อต้น และให้ปุ๋ยทางใบฉีดพ่นทุก ๆ 7 วัน นอกจากนี้ทำการพรวนดินพร้อมกำจัดวัชพืช และใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงตามความเหมาะสม พอต้นกล้ามีอายุได้ 4 เดือนจึงเริ่มออกดอก ทำการบันทึกลักษณะการเจริญเติบโตของต้นมะละกอต่อไป

3.2 การทดลองที่ 1 การศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) มี 3 กรรมวิธี ประกอบด้วย ระยะที่ 1 ใบอ่อน (ใบที่นับจากปลายยอดข้อที่ 8 และ 9) ระยะที่ 2 ใบแก่ (ใบที่นับจากปลายยอดข้อที่ 10 และ 11) และระยะที่ 3 ใบแก่มาก (ใบที่นับจากปลายยอดข้อที่ 12-14) (ภาพที่ 3.1) ในมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ จำนวน 5 ซ้ำ (ต้น) โดยเก็บตัวอย่างในช่วงเวลา 07:00 - 08:00 น. จากนั้นนำมาทำความสะอาด ผึ่งลมให้แห้ง แล้วใช้แผ่นเทียบสี (color chart) (Royal Horticultural Society, England) วัดสีใบแต่ละระยะเพื่อศึกษาค่าสีและนำไปใช้เป็นดัชนีในการกำหนดระยะการเลือกใบมะละกอ แปลงค่าสีที่ http://rhscf.orgfree.com/c.htm แล้วแปลงเป็นค่า Hue angle ตามวิธีการของ McGuire (1992) การเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์สารพฤกษเคมีโดยตัดใบเป็นชิ้นเล็ก ๆ แบ่งตัวอย่างแต่ละระยะใบชั่งน้ำหนักที่แน่นอน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ภาพที่ 3.1 ระยะของใบมะละกอที่ศึกษา: โดยเริ่มทำเครื่องหมายข้อที่ 4 นับลงมาจากยอดแบ่งระยะใบ 3 ระยะ คือ ระยะที่ 1 ใบอ่อน (ใบที่นับจากปลายยอดข้อที่ 8 และ 9) ระยะที่ 2 ใบแก่ (ใบที่นับจากปลายยอดข้อที่ 10 และ 11) และระยะที่ 3 ใบแก่มาก (ใบที่นับจากปลายยอดข้อที่ 12-14)

การสกัดสารจากใบมะละกอดัดแปลงจากวิธีของ Vuong et al. (2013) นำตัวอย่างใบ 10 กรัม มาสกัดด้วย absolute ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นละเอียด (Homogenizer) แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำสารสกัดที่ได้มากรองผ่านด้วยผ้าขาวบาง 3 ชั้น และกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No. 1) จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporation) จนตัวทำละลายระเหยออกจนหมด นำสารสกัดที่ได้บรรจุใส่ถุงซิปพลาสติก ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส แล้วนำไปตรวจสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และการตรวจสอบฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ วิธี CUPRAC ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณสารอัลคาลอยด์และปริมาณวิตามินซีจะใช้ใบสดของมะละกอ มีขั้นตอนการวิเคราะห์ดังนี้

3.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) ดัดแปลงจากวิธีของ Slinkard and Singleton (1997)

โดยใช้กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน เตรียมระดับความเข้มข้นของแกลลิก ได้แก่ 0, 0.02, 0.06, 0.10, 0.14, 0.18 และ 0.20 mg/ml แล้วทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกแต่ละความเข้มข้นมา 250 ไมโครลิตร เติมสารละลาย 10% Folin-Ciocalteus reagent ปริมาตร 1250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 8 นาที จากนั้นเติม 7.5% Na_2CO_3 ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร ผสมสารให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer (รุ่น Evolution 300 PC, Becthai) ทำการทดลอง 5 ซ้ำ และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (ภาพที่ ข.1.1 และ ข.1.2) ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (mg GAE.g^{-1} dried extract)

3.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (total flavonoid content) ดัดแปลงจากวิธีของ Zhishen, Mengcheng and Jianming (1999)

โดยใช้คาเทชิน (catechin) เป็นสารมาตรฐาน เตรียมระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0, 0.03, 0.09, 0.15, 0.21, 0.27 และ 0.30 mg/ml ทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานคาเทชินแต่ละความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเติมสารละลาย 5% $NaNO_2$ ปริมาณ 0.15 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที แล้วเติมสารละลาย 10% $AlCl_3$ ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที และเติมสารละลาย 4% NaOH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่น 0.7 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer (รุ่น Evolution 300 PC, Becthai) โดยทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ และหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานคาเทชิน (ภาพที่ ข.2.1 และ ข.2.2) ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของคาเทชินต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (mg CE.g^{-1} dried extract)

3.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี (ascorbic acid) ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC (2000)

โดยเตรียมตัวอย่างใบสดของมะละกอจำนวน 5 กรัม เติมเอทานอล 15 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด centrifuge ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นละเอียด (Homogenizer) แล้วนำมากรองสารด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จนได้สารละลายส่วนใส บันทึกน้ำหนักไว้ แล้วทำการวิเคราะห์โดยการเตรียมสารละลาย 3%Metaphosphoric acid (HPO_3) ใน 8%glacial acetic acid ปริมาตร 500 มิลลิลิตร (สาร A) และสารละลาย 0.02% 2,6-dichlorophenol sodium salt ปริมาตร 500 มิลลิลิตร (สาร B) หลังจากนั้นนำมาหาวิตามินซีของน้ำคั้นตัวอย่างใบมะละกอ โดยการเติมสารละลาย A ปริมาตร 5 มิลลิลิตรลงใน Erlenmeyer flask แล้วเติมน้ำคั้นตัวอย่างลงไป 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปไตรเตรทด้วยสาร B จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู ที่มีความเข้มใกล้เคียงกับวิตามินซีมาตรฐาน

(ภาพที่ ค.3) บันทึกปริมาตรของสาร B ที่ใช้ไตเตรท แล้วนำมาคำนวณปริมาณวิตามินซี [mg ascorbic acid/100 g FW]

3.2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณอัลคาลอยด์ (alkaloid) ดัดแปลงจากวิธีของ Chugh, Mehta and Dua (2012)

โดยเตรียมตัวอย่างใบสดของมะละกอ 5 กรัม เติม 10% CH_3CO_2H in C_2H_5OH ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำมากรองสารด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำสารละลายส่วนใสที่ได้ไประเหยสารออกให้เหลือปริมาณสาร ¼ ของปริมาตรเดิม ใน water bath อุณหภูมิไม่เกิน 65 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาเติม Conc. NH_4OH จนสารละลายเริ่มนอนก้นหรือมี pH~9 เมื่อสารละลายเซ็ตตัว ทำการเก็บตะกอนแล้วล้างตะกอนด้วยการเจือจางของของสารละลาย 1% NH_4OH นำมากรองสารด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1 รอให้ตัวอย่างแห้ง ทำการชั่งน้ำหนักตัวอย่างและนำไปคำนวณ

3.2.5 การตรวจสอบฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH free radical scavenging ดัดแปลงจากวิธีของ Thaipong et al. (2006)

โดยใช้โทรล๊อก (trolox) เป็นสารมาตรฐาน เตรียมระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.04, 0.20, 0.40, และ 0.60 mM ปิเปตสารละลายมาตรฐานโทรล๊อกแต่ละความเข้มข้นมา 50 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น $6x10^{-5}$ M ปริมาตร 950 ไมโครลิตร แล้วนำไปเก็บไว้ในที่มืดอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer (รุ่น Evolution 300 PC, Becthai) โดยทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ และตรวจสอบฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารตัวอย่าง แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณค่าร้อยละความสามารถการต้านอนุมูลอิสระ (% radical scavenging activity)

3.2.6 การตรวจสอบฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC (Total antioxidant capacity) ดัดแปลงจากวิธี Apak et al. (2004)

โดยใช้โทรล๊อก เป็นสารมาตรฐาน ทำการผสมสารละลายคอปเปอร์ (ll) คลอไรด์ ($CuCl_2$) ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร สารละลายนีโอคิวโปรอิน (neocuproine) ความเข้มข้น $7.5x10^{-3}$ M ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายแอมโมเนียมอะซีเตต (NH_4Ac) ที่ pH=7.0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐานโทรล๊อกปริมาตร 1.1 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำสารละลายบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer (รุ่น Evolution 300 PC, Becthai) ทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ และตรวจสอบฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานโทรล๊อก (ภาพที่ ข.6.1 และ ข.6.2) ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของโทรล๊อกต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (mg $TE.g^{-1}$ dried extract)

3.3 การทดลองที่ 2 การศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุ์กับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ

วางแผนการทดลองแบบ 6x3 factorial experiments in Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วยมะละกอ 6 พันธุ์ ได้แก่ แขกดำเกษตร แขกดำศรีสะเกษ ศรีราชภัฏ ฮอลแลนด์ เรดเลดี้ และเหลืองกระบี่ ทำการทดลองพันธุ์ละ 5 ต้น (ซ้ำ) เลือกระยะใบที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 โดยเก็บใบที่พัฒนาการ 3 ฤดูกาล ได้แก่ ฤดูฝน (กรกฎาคม–ตุลาคม พ.ศ. 2561) ฤดูหนาว (พฤศจิกายน พ.ศ. 2561–กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2562) และฤดูร้อน (มีนาคม-มิถุนายน พ.ศ. 2562) จากนั้นนำใบมาล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งลมให้แห้ง ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ และชั่งน้ำหนัก (กรัม) ใบที่แน่นอน นำไปสกัดตัวอย่างใบและหาปริมาณสารพฤกษเคมีเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

แล้วหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏ (Phenotypic correlation coefficient) ระหว่างลักษณะกายภาพของใบกับปริมาณสารพฤกษเคมี โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) ใช้สายพันธุ์มะละกอ 6 พันธุ์ ได้แก่ แขกดำเกษตร แขกดำศรีสะเกษ ศรีราชภัฏ ฮอลแลนด์ เรดเลดี้ และเหลืองกระบี่ ทำการทดลองสายพันธุ์ละ 5 ต้น (ซ้ำ) ซ้ำละ 3 ใบ โดยใช้ระยะใบแก่มากมาศึกษาลักษณะกายภาพของใบมะละกอ ได้แก่

(1) วัดพื้นที่ใบ ด้วยเครื่องวัดพื้นที่ใบรุ่น LI 3000

(2) ความกว้างใบ (เซนติเมตร) โดยใช้ไม้บรรทัดวัดในส่วนขอบใบจากด้านซ้ายสุดมาถึงขอบใบด้านขวาสุด

(3) ความยาวใบ (เซนติเมตร) โดยใช้ไม้บรรทัดวัดส่วนโคนใบด้านล่างที่ติดกับก้านใบมาถึงปลายใบในด้านตรงข้าม

(4) สีใบ ด้วยแผ่นเทียบสี (Royal Horticultural Society, England) และเครื่อง Color readerบันทึกผลค่าสี L*, a* และ b* เป็นระบบการบรรยายสีแบบสามมิติ ซึ่งค่า L* หมายถึง ความสว่าง มีค่าตั้งแต่ 0-100 (ดำ-สว่าง) ค่า a* และ b* จะบอกทิศทางของสี โดย +a* หมายถึง อยู่ในทิศของสีแดง -a* หมายถึง อยู่ในทิศของสีเขียว +b* หมายถึง อยู่ในทิศของสีเหลือง -b* หมายถึง อยู่ในทิศของสีน้ำเงิน

(5) คลอโรฟิลล์ วัดด้วยเครื่องวัดคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซ็นต์รุ่น Handy PEA โดยบันทึกค่า F_0 (minimum fluorescence intensity) ค่า F_m (maximum fluorescence intensity) และค่า F_v/F_m

(6) น้ำหนักสด ชั่งน้ำหนักใบมะละกอแต่ละใบโดยใช้เครื่องชั่งทศนิยมสองตำแหน่ง มีหน่วยเป็นกรัม

(7) น้ำหนักแห้ง อบตัวอย่างด้วยตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อน้ำหนักคงที่ จึงนำมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยมสองตำแหน่ง มีหน่วยเป็นกรัม

นำข้อมูลดังกล่าวมาวิเคราะห์ข้อมูล เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะกายภาพของใบที่มีผลต่อปริมาณสารพฤกษเคมี ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และวิธี CUPRAC ปริมาณ

สารอัลคาลอยด์ และวิตามินซี ด้วยสูตรสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียรสัน (Pearson's correlation coefficient) ดังนี้

$$r_{xy} = \frac{N\sum xy - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{[N\sum x^2 - (\sum x)^2][N\sum y^2 - (\sum y)^2]}}$$

โดยที่

r_{xy} = Correlation coefficient between x and y

N = number of pairs of scores

$\sum xy$ = sum of the products of paired scores

$\sum x$ = sum of x scores

$\sum y$ = sum of y scores

$\sum x^2$ = sum of squared x scores

$\sum y^2$ = sum of squared y scores

3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

3.4.1 ผลของระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมี

วิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์วิธี Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.4.2 ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุ์กับฤดูกาลของสารพฤกษเคมีในใบของมะละกอ

นำข้อมูลจากการทดลองในแต่ละฤดูกาลของลักษณะต่าง ๆ และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติแบบ Completely Randomized Design (CRD) ซึ่งจัดสิ่งทดลองแบบแฟคทอเรียล ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยที่ 1 คือ พันธุกรรม (genotype) มีจำนวน 6 ระดับ และปัจจัยที่ 2 คือ ฤดูกาล (season) มีจำนวน 3 ระดับ ทั้งสองปัจจัยกำหนดให้เป็นแบบสุ่ม (random effect) มีรูปแบบสถิติ (statistical model) คือ

$$Y_{ijr} = \mu + G_i + S_j + (GS)_{ij} + E_{r(ij)} \qquad (3.1)$$

Y_{ijr} = ค่าสังเกตของพันธุกรรมที่ i ฤดูปลูก j และซ้ำที่ r

μ = ค่าเฉลี่ยทั้งหมด

G_i = อิทธิพลของพันธุกรรมที่ i, i = 1, 2, 3, ..., g และ g = 6

S_j = อิทธิพลของฤดูกาลที่ j, j = 1, 2, 3, ..., s และ s = 3

$(GS)_{ij}$ = ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมที่ i กับฤดูกาลที่ j

$E_{r(ij)}$ = ค่าความคลาดเคลื่อน โดยที่ $E_{r(ij)} \sim N(0, \sigma^2)$, r = 1, 2 และ 3

ทดสอบนัยสำคัญปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลของสารพฤกษเคมีในใบของมะละกอ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปของสถิติ และใช้วิธี General Linear Model (PROC GLM) สามารถจำแนกองค์ประกอบความแปรปรวนออกเป็น อิทธิพลของพันธุกรรม อิทธิพลของฤดูกาล และอิทธิพลของปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาล (G x S) (ตารางที่ 3.1)

ตารางที่ 3.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของลักษณะต่าง ๆ จากรูปแบบทางสถิติของสมการที่ 3.1

Source of variation	d.f.	SS	MS	F-test
Genotype (G)	(g-1)	SS_1	MS_1	MS_1 / MS_3
Season (S)	(s-1)	SS_2	MS_2	MS_2 / MS_3
G x S	(g-1) (s-1)	SS_3	MS_3	MS_3 / MS_4
Error	(r-1) (gs)	SS_4	MS_4	
Total	rgs-1			

หมายเหตุ: g คือ จำนวนพันธุกรรม s คือ ฤดูกาล และ r คือ จำนวนซ้ำ

เมื่อทดสอบนัยสำคัญทางสถิติแล้วถ้าพบว่าลักษณะใดที่มีปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อม ให้นำค่าเฉลี่ยของลักษณะดังกล่าวมาหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ลำดับของสเปียรแมน (Spearman's rank correlation coefficient) ตามสูตร ดังนี้

$$r_x = 1 - \frac{6(\sum d^2)}{n(n^2-1)}$$

โดย r_x = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ลำดับของสเปียรแมน
d = ผลต่างลำดับที่ของ x และ y ในแต่ละคู่
n = ขนาดของตัวอย่างที่สุ่ม (คู่)

3.4.3 ค่าองค์ประกอบความแปรปรวน

วิเคราะห์ค่าองค์ประกอบความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด วิตามินซี ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH และ CUPRAC ตามรูปแบบสถิติ (statistical model) ของสมการที่ 3.1 โดยใช้โปรแกรม SAS (SAS Institute, Cary, N.C.) และใช้วิธี PROC VARCOMP สามารถจำแนกองค์ประกอบความแปรปรวนออกเป็น 4 ประเภท ดังนี้ 1. ความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของพันธุกรรม (σ^2_G) 2. ความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของฤดูกาล (σ^2_S) 3. ความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมและฤดูกาล (σ^2_{GS}) และ 4. ความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของผลภายในพันธุ์ (ตารางที่ 3.2)

ตารางที่ 3.2 องค์ประกอบความแปรปรวนของลักษณะต่างๆ จากรูปแบบทางสถิติของสมการที่ 3.1 โดยกำหนดให้ปัจจัยต่างๆ ในสมการเป็นปัจจัยแบบสุ่ม (random effect)

Source of variation	d.f.	MS	EMS
Genotype (G)	(g-1)	MS_1	$\sigma^2_e + r\sigma^2_{GS} + rs\sigma^2_G$
Season (S)	(s-1)	MS_2	$\sigma^2_e + r\sigma^2_{GS} + rg\sigma^2_S$
G x S	(g-1) (s-1)	MS_3	$\sigma^2_e + r\sigma^2_{GS}$
Error	(r-1) (gs)	MS_4	σ^2_e
Total	rgs-1		

หมายเหตุ g คือ จำนวนพันธุกรรม s คือ ฤดูกาล และ r คือ จำนวนซ้ำ

3.4.4 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ปรากฏ

วิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ปรากฏระหว่างลักษณะกายภาพของใบกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด วิตามินซี อัลคาลอยด์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH และ CUPRAC โดยใช้โปรแกรม SAS ด้วยวิธี PROC CORR โดยลักษณะที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ปรากฏเป็นบวก (positive correlation coefficient) แสดงว่า ลักษณะมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกัน และลักษณะที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ปรากฏเป็นลบ (negative correlation coefficient) แสดงว่า ลักษณะมีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงข้ามกัน

บทที่ 4
ผลการวิจัย

การศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมต่อสารพฤกษเคมีของใบมะละกอ (*Carica papaya* L.) โดยการทดลองครั้งนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น การทดลองที่ 1 การศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ การทดลองที่ 2 การศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุ์กับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล มีผลการทดลอง ดังนี้

4.1 ผลการทดลองที่ 1 การศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่

จากการศึกษาระยะใบมะละกอ 3 ระยะ ได้แก่ ระยะที่ 1 ใบอ่อน ระยะที่ 2 ใบแก่ และระยะที่ 3 ใบแก่มาก โดยเก็บตัวอย่างใบมะละกอแต่ละระยะทำการวัดสีใบด้วยแผ่นเทียบสี (color chart) แปลงค่าสีที่ http://rhscf.orgfree.com/c.htm จะพบว่า ระยะที่ 1 ใบอ่อน มีสีเขียวอ่อน ระยะที่ 2 ใบแก่ มีสีเขียว และระยะที่ 3 ใบแก่มาก มีสีเขียวปนเหลือง โดยลักษณะค่าสี L* ระยะที่ 3 ใบแก่มาก จะมีค่า L* = 43.33 มากที่สุด รองลงมาคือระยะที่ 2 ใบแก่ มีค่า L* = 42.00 และระยะที่ 1 มีค่า L* = 41.60 ขณะที่ค่า a* ระยะที่ 3 ใบแก่มาก มีค่า a* = -22.50 มากที่สุด รองลงมาคือระยะที่ 2 ใบแก่ ค่า a* = -22.21 และระยะที่ 1 ใบอ่อน ค่า a* = -20.07 ส่วนค่า b* ในระยะที่ 3 ใบแก่มาก จะมีค่า b* = 26.10 ในขณะที่ระยะที่ 1 ใบอ่อน และระยะที่ 2 ใบแก่ มีค่าเท่ากับ 24.13 และ 24.60 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเมื่อค่า L* มีค่าเข้าใกล้ 100 สีที่ได้จะสว่างเป็นสีขาว ในขณะที่ ค่า a* มีค่าติดลบสีที่ได้จะมีสีเขียว และค่า b* มีค่าเป็นบวกสีที่ได้จะมีสีเหลือง เมื่อระยะใบมีการพัฒนาเพิ่มมากขึ้นจะส่งผลทำให้มีสีใบสว่าง (ค่า L*) มากขึ้น สีเขียวลดลง (ค่า a*) สุดท้ายใบจะพัฒนาเป็นค่าสีเหลือง (b*) นอกจากนี้ยังได้หาค่า Hue angle (h°) เพื่อหาเฉดสีหลักของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ พบว่า ระยะที่ 2 ใบแก่ และระยะที่ 3 ใบแก่มากจะมีค่า h° เท่ากับ 133 และระยะที่ 1 ใบอ่อน จะมีค่า h° เท่ากับ 131 (ตารางที่ 4.1) จะเห็นได้ว่า ใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ จะมีค่าเฉดสีหลักเป็นสีเขียว (ภาพที่ ฉ.1)

ตารางที่ 4.1 ค่าการวัดสีของใบมะละกอพันธ์เหลืองกระบี่ 3 ระยะ

ระยะใบ	คำอธิบายสีใบ	ค่าการวัดสีใบ			ค่า Hue angle
		L*	a*	b*	(h^{o})
ระยะที่ 1 ใบอ่อน	มีสีเขียวอ่อน	41.60	-20.07	24.13	131
ระยะที่ 2 ใบแก่	มีสีเขียว	42.00	-22.21	24.60	133
ระยะที่ 3 ใบแก่มาก	มีสีเขียวปนเหลือง	43.33	-22.50	26.10	133

หมายเหตุ: L* = ความสว่าง (Lightness) มีค่าตั้งแต่ 0-100

a* = แกนสีจากสีเขียว (-a) จนถึงสีแดง (+a)

b* = แกนสีจากสีน้ำเงิน (-b) จนถึงสีเหลือง (+b)

h^{o} = 0 หรือ 360 = วัตถุมีสีม่วง-แดง 90 = วัตถุมีสีเหลือง 180 = วัตถุมีสีเขียวอมฟ้า 270 = วัตถุมีสีน้ำเงิน

การวิเคราะห์หาปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันในใบมะละกอที่มีอายุต่างกัน 3 ระยะ ได้แก่ ระยะที่ 1 ใบอ่อน ระยะที่ 2 ใบแก่ และระยะที่ 3 ใบแก่มาก พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณวิตามินซี มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ยกเว้นปริมาณสารอัลคาลอยด์ ยังพบว่า ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และวิธี CUPRAC ของใบมะละกอทั้ง 3 ระยะ มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 4.2) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าใบมะละกอในระยะที่ 3 ใบแก่มาก มีค่าค่อนข้างสูงกว่าในระยะอื่น ๆ ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 116.43 mg GAE.g^{-1} dried extract สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 280.32 mg CE.g^{-1} dried extract และปริมาณวิตามินซีเท่ากับ 25.94 mg ascorbic acid/100 g FW นอกจากนี้ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH และวิธี CUPRAC ในใบมะละกอระยะที่ 2 และระยะที่ 3 มีค่าค่อนข้างสูงเช่นเดียวกัน โดยวิธี DPPH มีค่าร้อยละความสามารถการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 13.28% และ 10.89% ตามลำดับ ส่วนวิธี CUPRAC ในใบมะละกอระยะที่ 2 และระยะที่ 3 มีค่าเท่ากับ 433.13 และ 486.33 mg TE.g^{-1} dried extract ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ปริมาณวิตามินซี ปริมาณสารอัลคาลอยด์ และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และวิธี CUPRAC ในใบมะละกอ 3 ระยะ

ระยะการพัฒนาของใบ	Total Phenolic Content (mg GAE.g^{-1} dried extract)	Total Flavonoid Content (mg CE.g^{-1} dried extract)	Ascorbic Acid (mg ascorbic acid /100 g FW)	Alkaloid (g)	DPPH (% radical scavenging activity)	CUPRAC (mg TE.g^{-1} dried extract)
ระยะที่ 1 ใบอ่อน	89.84b	105.47c	16.81b	12.18	8.49c	246.44c
ระยะที่ 2 ใบแก่	123.91a	222.72b	20.45b	15.22	13.28a	433.13b
ระยะที่ 3 ใบแก่มาก	116.43a	280.32a	25.94a	16.18	10.89b	486.33a
F-test	0.01	<0.01	<0.01	0.32	<0.01	<0.01
CV (%)	34.20	29.32	31.80	27.85	31.11	19.68

หมายเหตุ: ** = ความแตกต่างทางสถิติที่ 99%, ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ
GAE = gallic acid, CE = catechin, TE = trolox
(ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ที่สมบูรณ์อยู่ในภาคผนวกตารางที่ ก.1-ก.6)

4.2 ผลการทดลองที่ 2 การศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุ์กับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ

จากผลการทดลองที่ 1 การศึกษาผลของอายุใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของมะละกอ จะเห็นว่าระยะการพัฒนาของใบมะละกอระยะที่ 3 ใบแก่มากจะมีปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันมากกว่าระยะใบอื่น ดังนั้นจึงเก็บใบมะละกอระยะที่ 3 ใบแก่มาก (ใบที่นับจากปลายยอดข้อที่ 12-14) มาศึกษาต่อในการทดลองที่ 2 เพื่อต่อยอดการศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างสายพันธุ์มะละกอกับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมี

4.2.1 ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันในใบมะละกอ 6 สายพันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล

ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาล มีอิทธิพลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในใบมะละกอ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 107.43 mg GAE.g^{-1} dried extract ซึ่งใบมะละกอที่เก็บเกี่ยวในฤดูหนาวจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด โดยพันธุ์ฮอลแลนด์กับแขกดำศรีสะเกษ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าพันธุ์อื่น มีค่าเท่ากับ 119.53 และ 118.07 mg GAE.g^{-1} dried extract ตามลำดับ รองลงมาคือ ฤดูร้อน พบว่าพันธุ์ฮอลแลนด์กับแขกดำเกษตร มีค่าเท่ากับ 117.10 และ 116.71 mg GAE.g^{-1} dried extract ตามลำดับ ส่วนในฤดูฝน พบว่า พันธุ์เรดเลดี้ จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าพันธุ์อื่นมีค่าเท่ากับ 131.76 mg GAE.g^{-1} dried extract (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.1)

ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาล มีอิทธิพลต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในใบมะละกอ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 63.48 mg CE.g^{-1} dried extract ซึ่งใบมะละกอที่เก็บเกี่ยวในฤดูร้อนจะมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด พบว่า พันธุ์ศรีราชภัฏ จะมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าพันธุ์อื่น มีค่าเท่ากับ 106.26 mg CE.g^{-1} dried extract รองลงมาคือ ฤดูหนาว พบว่า พันธุ์เหลืองกระบี่ มีค่าเท่ากับ 79.50 mg CE.g^{-1} dried extract ส่วนฤดูฝน พบว่า พันธุ์เหลืองกระบี่กับแขกดำศรีสะเกษ จะมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าพันธุ์อื่น มีค่าเท่ากับ 64.02 และ 62.46 mg CE.g^{-1} dried extract (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.2)

ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาล มีอิทธิพลต่อปริมาณวิตามินซี โดยปริมาณวิตามินซีในใบมะละกอ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 14.44 mg ascorbic acid /100 g FW ซึ่งใบมะละกอที่เก็บเกี่ยวในฤดูหนาว จะมีปริมาณวิตามินซีสูงกว่าฤดูกาลอื่น ๆ พบว่า พันธุ์ศรีราชภัฏ มีปริมาณวิตามินซีเท่ากับ 33.96 mg ascorbic acid /100 g FW รองลงมาได้แก่ ฤดูร้อน พบว่า แขกดำศรีสะเกษ กับฮอลแลนด์ มีปริมาณวิตามินซีเท่ากับ 11.18 และ 10.94 mg ascorbic acid /100 g FW ในขณะที่ฤดูฝน จะมีปริมาณวิตามินซีน้อยที่สุด พบว่า แขกดำศรีสะเกษ และเรดเลดี้ มีค่าเท่ากับ 6.81 และ 6.74 mg ascorbic acid /100 g FW (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.3)

ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาล มีอิทธิพลต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH โดยฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH มีค่าเฉลี่ยร้อยละความสามารถการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 14.57 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใบมะละกอที่เก็บเกี่ยวในฤดูฝน จะมีค่าร้อยละความสามารถการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าฤดูกาลอื่น พบว่า พันธุ์เรดเลดี้ มีค่าร้อยละความสามารถการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเท่ากับ 21.39 รองลงมาได้แก่ ฤดูร้อน พบว่า พันธุ์เรดเลดี้ มีค่าร้อยละความสามารถการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 16.14 ในขณะที่ฤดูหนาว มีค่าร้อยละความสามารถการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด พบว่า พันธุ์เหลืองกระบี่ มีค่าร้อยละความสามารถการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 14.80 (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.4)

ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาล มีอิทธิพลต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC โดยฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC มีค่าเฉลี่ยการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดเท่ากับ 925.58 mg TE.g^{-1} dried extract ซึ่งใบมะละกอที่เก็บเกี่ยวในฤดูหนาว มีค่าการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดสูงที่สุด พบว่า พันธุ์ศรีราชภัฏ มีค่าการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดเท่ากับ 1131.64 mg TE.g^{-1} dried extract รองลงมาได้แก่ ฤดูร้อน พบว่า พันธุ์ฮอลแลนด์กับเหลืองกระบี่ มีค่าการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดเท่ากับ 958.64 และ 957.54 mg TE.g^{-1} dried extract ตามลำดับ ในขณะที่ฤดูฝน มีค่าการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดน้อยที่สุด พบว่า พันธุ์เหลืองกระบี่ มีค่าต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดเท่ากับ 983.03 mg TE.g^{-1} dried extract (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.5)

ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาล ไม่มีอิทธิพลต่อปริมาณสารอัลคาลอยด์ซึ่งใบมะละกอแต่ละสายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยมะละกอทั้ง 6 สายพันธุ์ จะมีปริมาณสารอัลคาลอยด์อยู่ระหว่าง 35.78-42.99 กรัม/ตัวอย่างสด สำหรับฤดูกาลในการเก็บเกี่ยวใบมะละกอ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยทั้ง 3 ฤดูกาล จะมีปริมาณสารอัลคาลอยด์อยู่ระหว่าง 38.45-39.71 กรัม/ตัวอย่างสด (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.6)

การทดสอบนัยสำคัญทางสถิติของลักษณะที่มีปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อม มาหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ลำดับของสเปียรแมน ผลการทดลองพบว่า สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด วิตามินซี ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ลำดับของสเปียรแมนเท่ากับ -0.07, 0.39, 0.11, -0.11 และ -0.41 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) จะเห็นได้ว่า เมื่อทดสอบความสัมพันธ์ลำดับของสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ จะพบว่าปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอ 6 สายพันธุ์ ที่เก็บเกี่ยวจาก 3 ฤดูกาล (ฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว) ไม่พบการเปลี่ยนแปลงลำดับของปริมาณสารพฤกษเคมีที่ประเมินได้ของมะละกอทั้ง 6 สายพันธุ์ หรือมีการเปลี่ยนแปลงลำดับเพียงเล็กน้อยจนไม่พบความแตกต่างของลำดับที่เปลี่ยนในแต่ละฤดูกาลที่ทำการเก็บเกี่ยวใบมะละกอ (ภาพที่ 4.1-4.6)

ตารางที่ 4.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของปฏิกิริยาร่วมระหว่างสายพันธุ์มะละกอกับฤดูกาลในการเก็บเกี่ยวต่อปริมาณสารพฤกษเคมี

		Total Phenolic Content (mg GAE g^{-1} dried extract)	Total Flavonoid Content (mg CE.g^{-1} dried extract)	Ascorbic Acid (mg ascorbic acid / g 100 FW)	Alkaloid (g/ FW)	DPPH (% radical scavenging activity)	CUPRAC (mg TE.g^{-1} dried extract)
Genotype (G)	แขกดำเกษตร	112.24a	53.94c	13.53bc	42.99	14.14bcd	896.56b
	แขกดำศรีสะเกษ	105.82b	72.04ab	16.93a	36.92	14.46bc	945.98a
	ฮอลแลนด์	109.23ab	66.65b	14.41b	40.83	14.84b	939.57a
	ศรีราชภัฏ	100.52c	67.59ab	15.85a	37.58	13.31d	921.52ab
	เหลืองกระบี่	106.19b	74.36a	12.56c	41.01	13.76cd	927.24ab
	เรดเลดี้	112.31a	46.31d	13.38bc	35.78	16.89a	922.59ab
	เฉลี่ย	107.72	63.48	14.44	39.18	14.57	925.58
Prob		<.001	<0.01	<0.01	0.19	<0.01	0.105
Season (S)	ฤดูร้อน	107.58ab	83.39a	10.09b	39.39	13.87b	893.79b
	ฤดูฝน	105.92b	52.15b	5.84c	38.45	16.57a	856.80c
	ฤดูหนาว	109.66a	54.90b	27.45a	39.71	13.26b	1026.15a
Prob		0.04	<0.01	<0.01	0.85	<0.01	<0.01
Genotype x Season							
แขกดำเกษตร	ฤดูร้อน	116.71a	78.04ced	9.96bc	44.94	12.84ef	834.12d
	ฤดูฝน	117.24c	53.29b	4.80de	40.55	16.56bc	914.02b
	ฤดูหนาว	102.77d	30.49ef	25.84d	43.46	13.03de	941.55e
แขกดำศรีสะเกษ	ฤดูร้อน	111.58bc	78.06cd	11.18a	36.27	14.52b	930.25b
	ฤดูฝน	87.79e	62.47a	6.81a	37.36	15.17e	801.34e
	ฤดูหนาว	118.07a	75.59b	32.79b	37.14	13.68c	1106.36bc
ฮอลแลนด์	ฤดูร้อน	118.00a	85.31b	10.94a	36.86	13.04de	958.64a
	ฤดูฝน	90.16d	50.50c	5.57c	43.66	17.22b	835.51d
	ฤดูหนาว	119.53a	64.15c	26.73c	41.95	14.26b	1024.56d
ศรีราชภัฏ	ฤดูร้อน	113.07b	106.26a	8.63e	39.07	13.53c	769.55e
	ฤดูฝน	87.23ef	47.95d	4.95d	37.27	15.76d	863.36c
	ฤดูหนาว	101.27de	48.56d	33.96a	36.41	10.64f	1131.64a
เหลืองกระบี่	ฤดูร้อน	90.87e	79.57c	10.15b	41.21	13.14d	957.54a
	ฤดูฝน	121.33b	64.02a	6.17b	40.61	13.33f	983.03a
	ฤดูหนาว	106.37c	79.50a	21.38f	41.22	14.80a	841.16f
เรดเลดี้	ฤดูร้อน	95.25d	73.12f	9.66bdc	38.00	16.14a	912.62c
	ฤดูฝน	131.76a	34.69e	6.74a	31.24	21.39a	743.54f
	ฤดูหนาว	109.92b	31.11e	23.76e	38.09	13.15d	1111.62b
Prob		<.001	<0.01	<0.01	0.93	<0.01	<0.01
CV (%)		11.95	33.398	27.94	22.37	18.96	11.90

หมายเหตุ: *, ** = ความแตกต่างทางสถิติที่ 95% และ 99% , ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

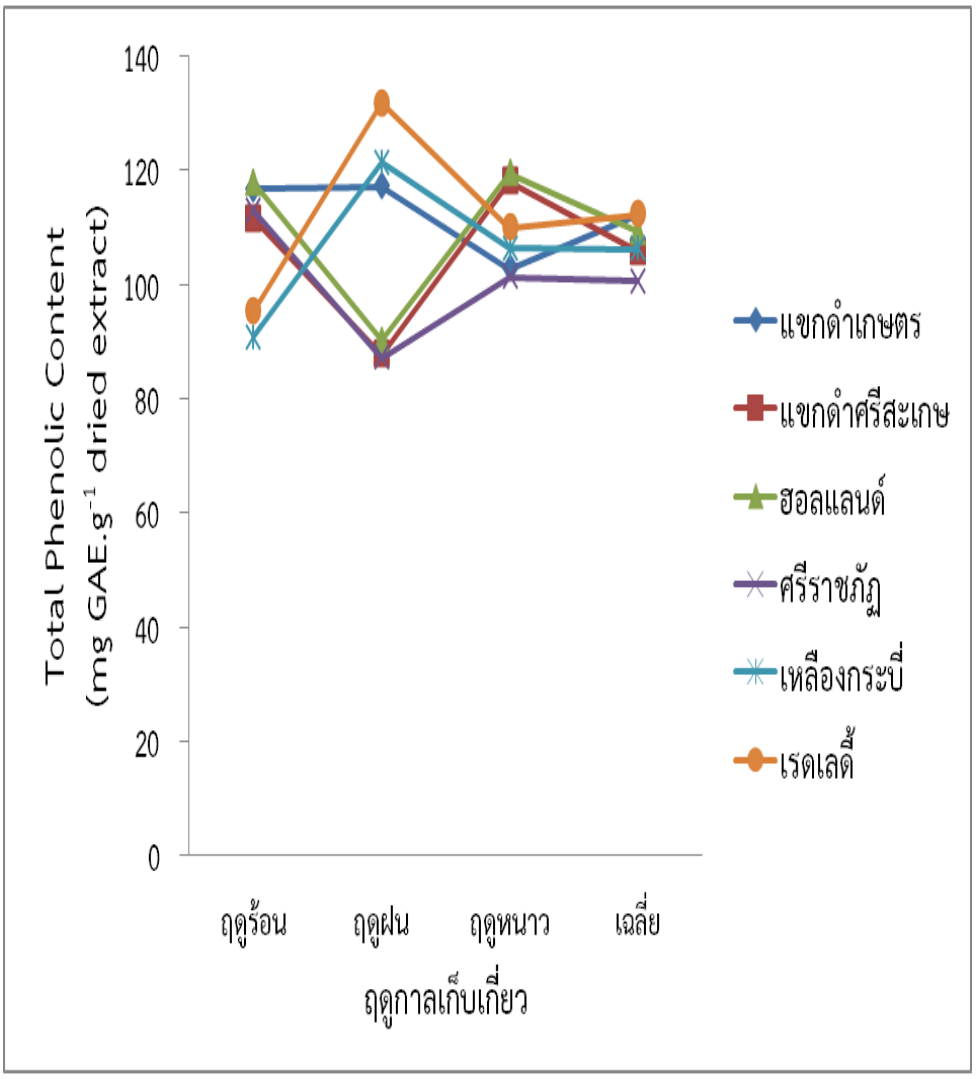
a,b,c,d,e,f ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรแตกต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

(ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ที่สมบูรณ์อยู่ในภาคผนวกตารางที่ ก.7-ก.12)

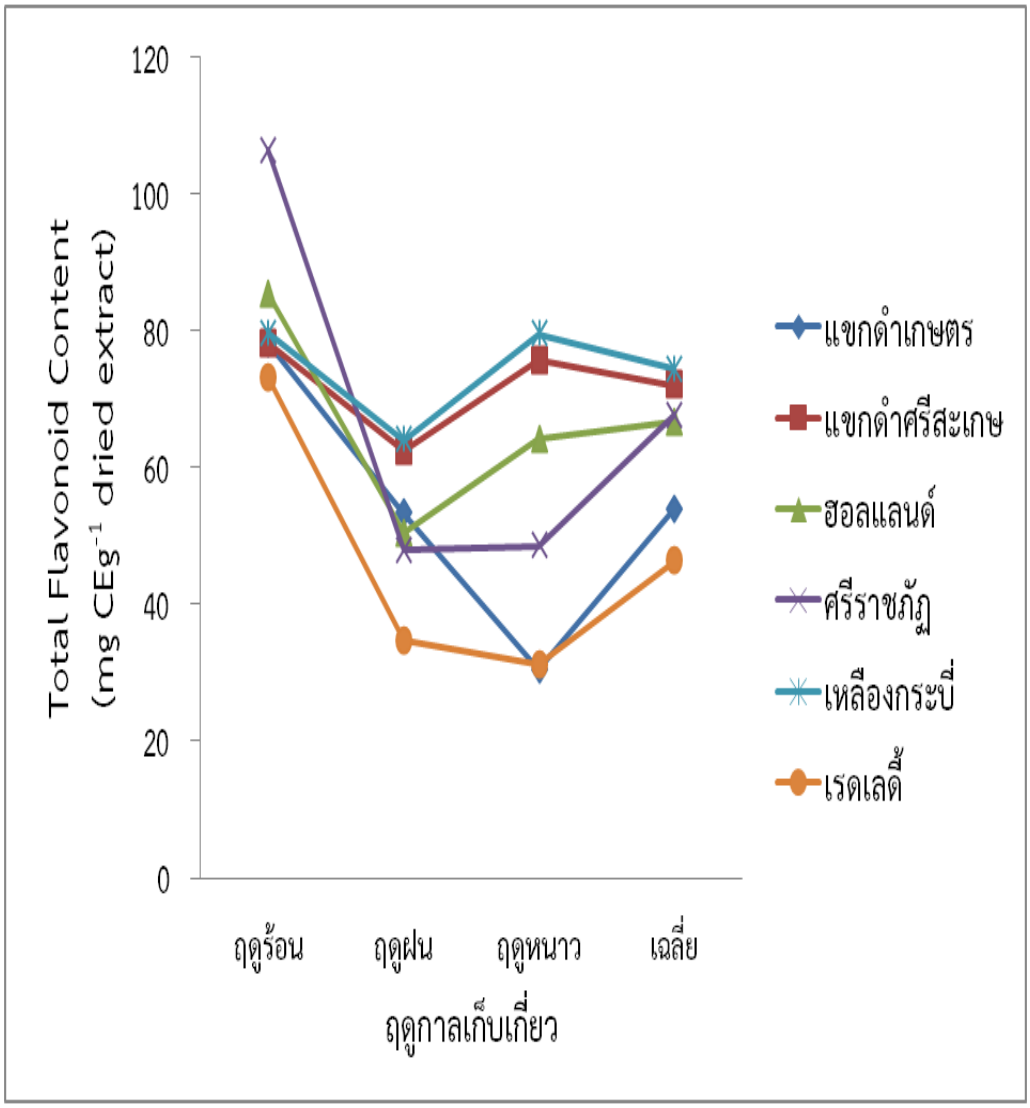
ตารางที่ 4.4 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ลำดับของสเปียรแมนของสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในใบมะละกอ 6 พันธุ์ เมื่อเก็บเกี่ยวในฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว

Source of variation	r_x				
	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	วิตามินซี	DPPH	CUPRAC
G x S	-0.07	0.39	0.11	-0.11	-0.41
t-test	ns	ns	ns	ns	ns

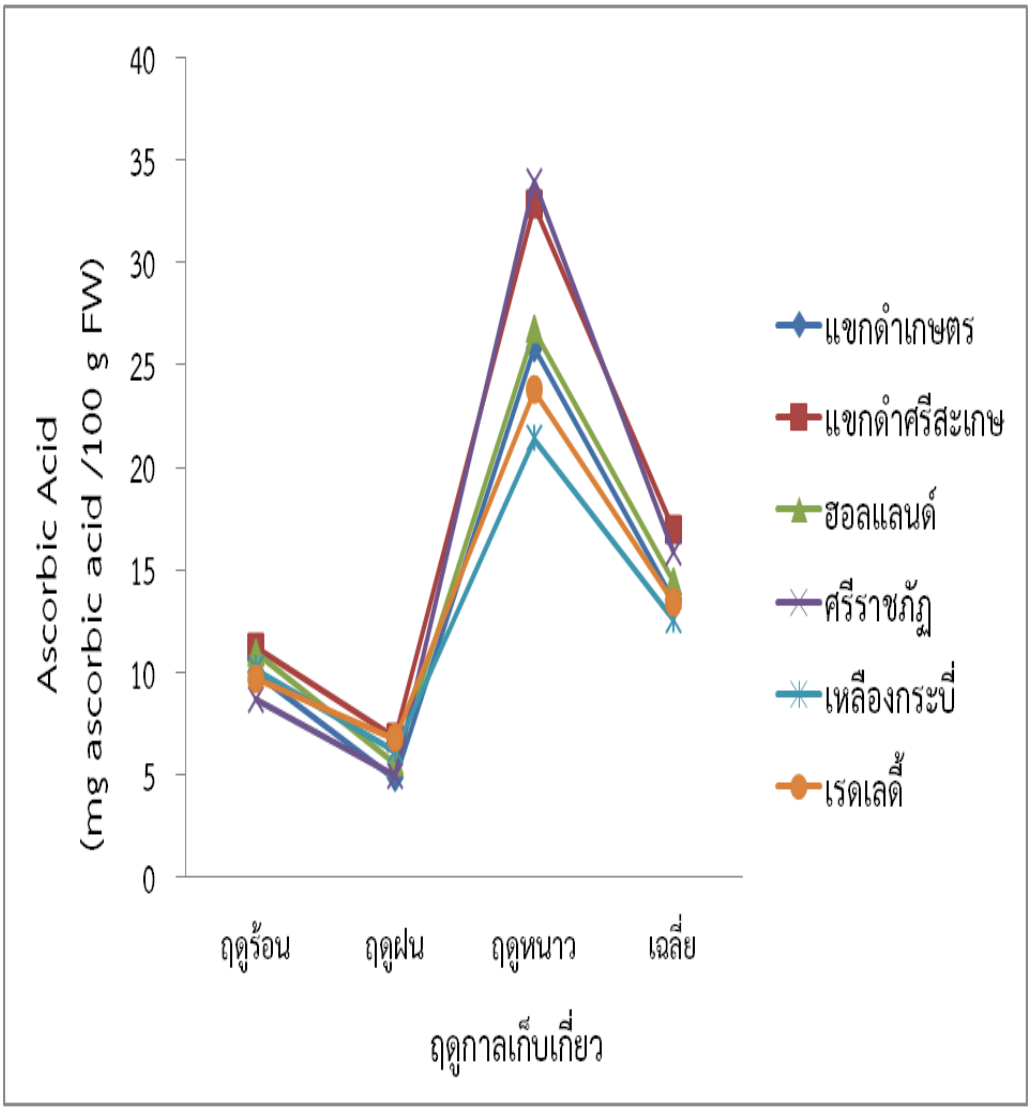
หมายเหตุ: G x S คือ ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมและฤดูกาล
r_x คือ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ลำดับของสเปียรแมน



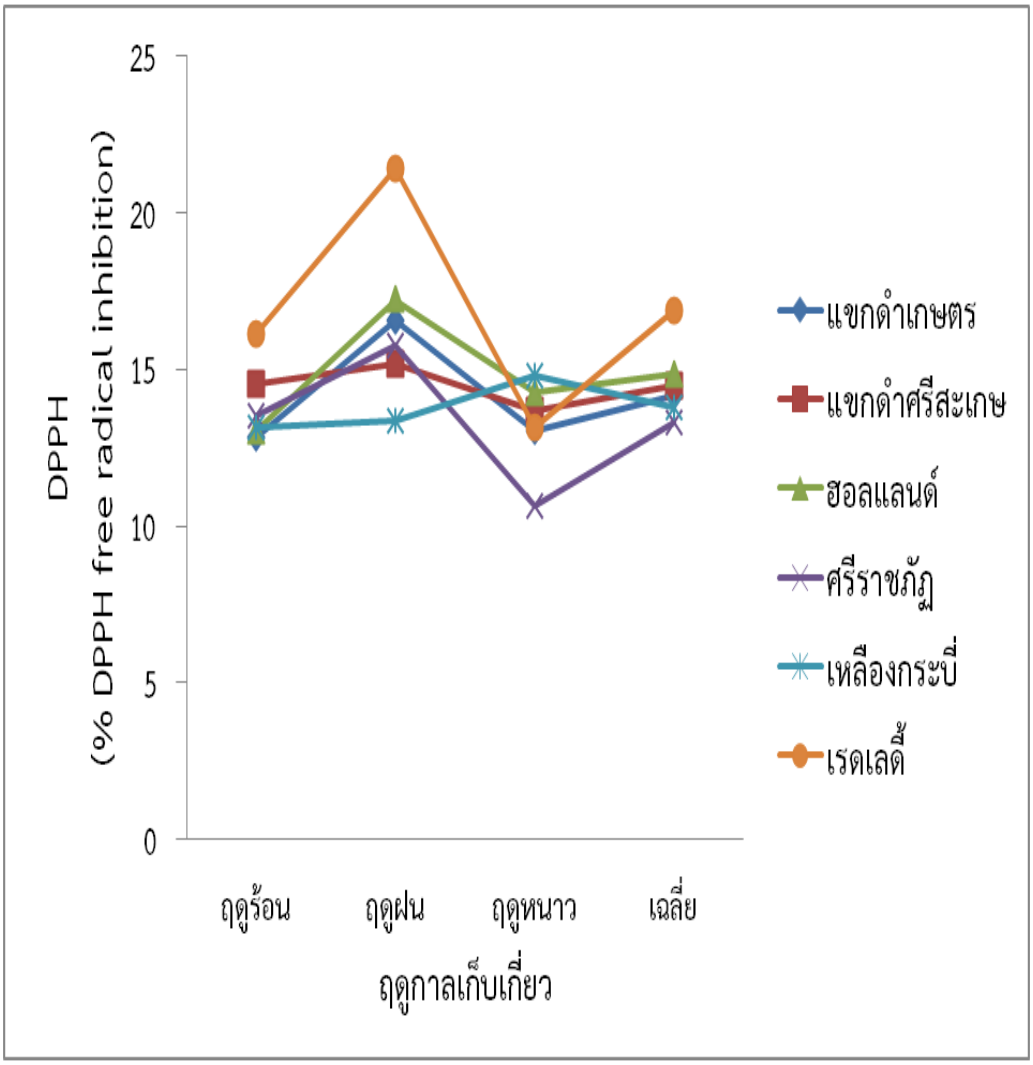
ภาพที่ 4.1 ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด



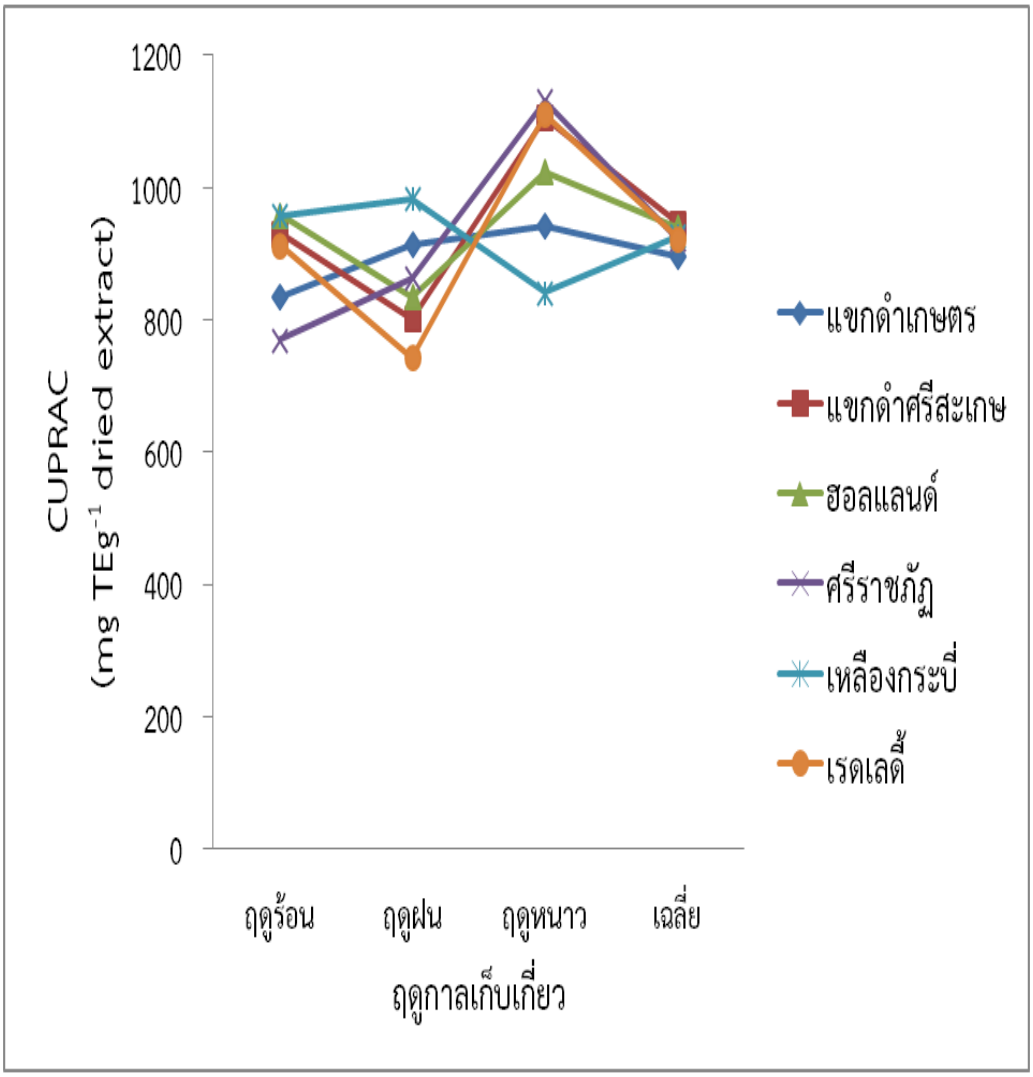
ภาพที่ 4.2 ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด



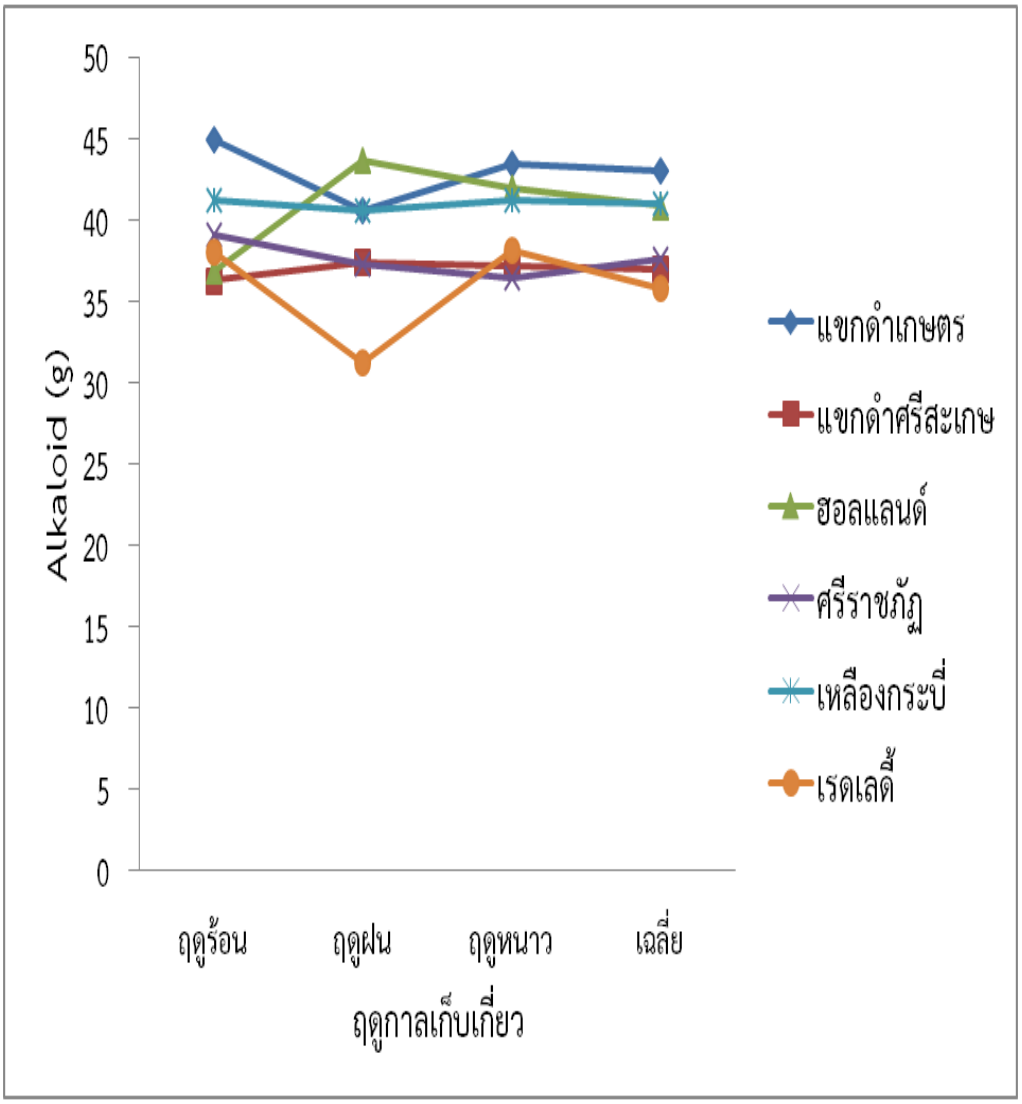
ภาพที่ 4.3 ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลของวิตามินซี



ภาพที่ 4.4 ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลของฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH



ภาพที่ 4.5 ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลของฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี CUPRAC



ภาพที่ 4.6 ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลของอัลคาลอยด์

4.2.2 ค่าองค์ประกอบความแปรปรวน

การวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบความแปรปรวนของปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในใบมะละกอ 6 พันธุ์ โดยเก็บเกี่ยวใบมะละกอ 3 ฤดูกาล ได้แก่ ฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว สามารถจำแนกความแปรปรวนออกเป็น 4 ประเภท ได้แก่ 1. ความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของพันธุกรรม (σ^2_G) 2. ความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของฤดูกาล (σ^2_S) 3. ความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมและฤดูกาล (σ^2_{GS}) และ 4. ความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของผลภายในพันธุ์ (σ^2_e) แสดงผลการทดลอง ดังตารางที่ 4.5 ดังนี้

ความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของพันธุกรรม (σ^2_G) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.71-40.54 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (40.54 เปอร์เซ็นต์) เป็นลักษณะที่ได้รับอิทธิพลของพันธุกรรมมากที่สุด สำหรับปริมาณสารพฤกษเคมีอื่น ๆ ที่พบเรียงตามลำดับจากมากไปน้อย

ได้แก่ ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (12.83 เปอร์เซ็นต์) สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (10.24 เปอร์เซ็นต์) ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC (4.72 เปอร์เซ็นต์) และวิตามินซี (0.71 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 4.5)

ความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของฤดูกาล (σ^2_S) มีค่าอยู่ระหว่าง 35.41-99.09 เปอร์เซ็นต์ พบว่า วิตามินซี (99.10 เปอร์เซ็นต์) เป็นลักษณะที่ได้รับอิทธิพลของฤดูกาลมากที่สุดสำหรับปริมาณสารพฤกษเคมีอื่น ๆ ที่พบเรียงตามลำดับจากมากไปน้อย ได้แก่ ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC (91.35 เปอร์เซ็นต์) สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (88.27 เปอร์เซ็นต์) ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (84.76 เปอร์เซ็นต์) และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (35.41 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 4.5)

ความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมและฤดูกาล (σ^2_{GS}) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.20-23.93 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (23.93 เปอร์เซ็นต์) เป็นลักษณะที่ได้รับอิทธิพลของปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมและฤดูกาลมากที่สุด สำหรับปริมาณสารพฤกษเคมีอื่น ๆ ที่พบเรียงตามลำดับจากมากไปน้อย ได้แก่ ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC (3.90 เปอร์เซ็นต์) ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (2.36 เปอร์เซ็นต์) สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (1.47 เปอร์เซ็นต์) และวิตามินซี (0.20 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 4.5)

ความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของตัวอย่างภายในพันธุ์ (σ^2_e) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.00-0.12 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (0.12 เปอร์เซ็นต์) เป็นลักษณะที่ได้รับอิทธิพลของตัวอย่างภายในพันธุ์มากที่สุด สำหรับปริมาณสารพฤกษเคมีอื่น ๆ ที่พบเรียงตามลำดับจากมากไปน้อย ได้แก่ ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (0.05 เปอร์เซ็นต์) ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (0.03 เปอร์เซ็นต์) สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (0.03 เปอร์เซ็นต์) และวิตามินซี (0.00 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 ค่าองค์ประกอบความแปรปรวนของปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ

ปริมาณสารพฤกษเคมี	องค์ประกอบความแปรปรวน (เปอร์เซ็นต์)			
	σ^2_G	σ^2_S	σ^2_{GS}	σ^2_e
สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	<u>40.54</u>	35.41	<u>23.93</u>	<u>0.12</u>
สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	10.24	88.27	1.47	0.03
วิตามินซี	0.71	<u>99.09</u>	0.20	0.00
DPPH	12.83	84.77	2.36	0.05
CUPRAC	4.72	91.35	3.90	0.03

หมายเหตุ: ตัวเลขที่ขีดเส้นใต้ คือ ค่าองค์ประกอบความแปรปรวนสูงสุดของลักษณะนั้น ๆ เมื่อเปรียบเทียบกับองค์ประกอบความแปรปรวนทั้งหมด

4.2.3 การศึกษาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏ (Phenotypic correlation coefficient)

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด วิตามินซี อัลคาลอยด์ ต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH และ CUPRAC ในใบมะละกอ ดังตารางที่ 4.6 จะเห็นได้ว่า ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด มีค่าสหสัมพันธ์เชิงลบกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH และ CUPRAC (r=-0.19** และ -0.13** ตามลำดับ) ปริมาณวิตามินซี ค่าสหสัมพันธ์ในทางบวกกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี CUPRAC (r=0.49**) นอกจากนี้ปริมาณวิตามินซียังมีค่าสหสัมพันธ์ในทางลบกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH (r=-0.30**) และปริมาณอัลคาลอยด์มีค่าสหสัมพันธ์ในทางลบกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH (r=-0.28**)

การศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะกายภาพ ได้แก่ น้ำหนักใบ ความกว้างใบ ความยาวใบ พื้นที่ใบ คลอโรฟิลล์ สีใบ และปริมาณความชื้น ต่อปริมาณสารพฤกษเคมี ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด วิตามินซี อัลคาลอยด์ ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และวิธี CUPRAC แสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (ตารางที่ 4.6) พบว่า ลักษณะกายภาพของใบมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารพฤกษเคมีทุกชนิดแตกต่างกัน โดยความยาวของใบมีสหสัมพันธ์ในทางลบกับวิตามินซี (r=-0.21*) ค่า f_0 ของคลอโรฟิลล์ มีสหสัมพันธ์ในทางบวกกับสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (r=0.26**) แล้วยังมีสหสัมพันธ์ในทางลบกับวิตามินซีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC (r=-0.45** และ r=-0.22* ตามลำดับ) ค่า f_m ของคลอโรฟิลล์มีสหสัมพันธ์ในทางบวกกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (r=0.38**) และค่า f_m ของคลอโรฟิลล์ ยังมีสหสัมพันธ์ในทางลบกับวิตามินซี (r=-0.31**) ค่า f_v/f_m ของคลอโรฟิลล์ มีสหสัมพันธ์ในทางบวกกับสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด วิตามินซี และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (r=0.21*, r=0.24* และ r=0.22* ตามลำดับ) แต่ค่า f_v/f_m ของคลอโรฟิลล์ มีสหสัมพันธ์ในทางลบกับสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (r=-0.35**) ค่า L* ของสีใบ มีสหสัมพันธ์ในทางลบกับวิตามินซีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC (r=-0.80** และ r=-0.39**) ค่า a* ของสีใบมีสหสัมพันธ์ในทางบวกกับวิตามินซีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC (r=0.65** และ r=0.35** ตามลำดับ) แต่ค่า a* ของสีใบ มีสหสัมพันธ์ในทางลบกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (r=-0.25*) ค่า b* ของสีใบ มีสหสัมพันธ์ในทางบวกกับสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (r=0.24*) แต่ค่า b* ของสีใบ ยังมีสหสัมพันธ์ในทางลบกับวิตามินซีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC (r=-0.70** และ r=-0.32** ตามลำดับ)

ตารางที่ 4.6 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏ (Phenotypic correlation coefficient) ระหว่างปริมาณสารพฤกษเคมีกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และลักษณะกายภาพของใบกับปริมาณสารพฤกษเคมี

		สารพฤกษเคมี						ลักษณะกายภาพ									
		สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	วิตามินซี	อัลคาลอยด์	DPPH	CUPRAC	น้ำหนักใบ	ความกว้างใบ	ความยาวใบ	พื้นที่ใบ	คลอโรฟิลด์			สีใบ		
												f_o	f_m	f_v/f_m	L*	a*	b*
สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด		0.02															
วิตามินซี		0.07	-0.11*														
อัลคาลอยด์		-0.13	0.08	0.01													
DPPH		0.06	-0.19**	-0.30**	-0.28**												
CUPRAC		0.05	-0.13**	0.49**	-0.04	-0.29**											
น้ำหนักใบ		0.05	0.00	-0.12	0.09	-0.02	-0.05										
ความกว้างใบ		0.10	-0.04	-0.03	0.08	-0.02	-0.06	0.89**									
ความยาวใบ		-0.01	-0.15	-0.21*	0.08	0.09	-0.18	0.78**	0.81**								
พื้นที่ใบ		-0.02	-0.09	-0.13	0.06	0.02	-0.07	0.93**	0.88**	0.89							
คลอโรฟิลด์	fo	0.03	0.26**	-0.45**	0.03	0.10	-0.22*	0.03	0.03	0.02	-0.01						
	fm	0.17	-0.09	-0.31**	-0.10	0.38**	-0.15	0.19	0.13	0.27**	0.24*	0.54**					
	fv/fm	0.21*	-0.35**	0.24*	-0.11	0.22*	0.13	0.17	0.12	0.22*	0.23*	-0.62**	0.21*				
สีใบ	L*	-0.12	0.19	-0.80**	-0.05	0.09	-0.39**	-0.03	-0.10	0.04	-0.03	0.65**	0.38**	-0.46**			
	a*	0.08	0.15	0.65**	0.03	-0.25*	0.35**	-0.11	0.06	-0.27**	-0.15	-0.17	-0.54**	-0.24*	-0.64**		
	b*	-0.13	0.24*	-0.70**	0.01	-0.03	-0.32**	-0.10	-0.13	-0.04	-0.11	0.67**	0.26**	-0.57**	0.96**	-0.51**	
ปริมาณความชื้น		-0.02	0.13	-0.03	0.18	-0.18	0.17	0.55**	0.50**	0.47**	0.52**	0.27**	0.12	-0.19	0.05	0.12	0.04

หมายเหตุ: *, ** มีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

บทที่ 5
อภิปรายผล

5.1 การศึกษาผลของระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่

การพัฒนาการของพืชเป็นการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ทั้งลักษณะภายนอกและกายวิภาคภายใน เป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและองค์ประกอบของเซลล์ (cell differentiation) (สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์, 2548) การเจริญเติบโตและพัฒนาการทางลำต้น โดยเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายยอดจะมีลักษณะพิเศษและมีความสามารถในการแตกแขนงหรือเจริญออกไปด้านข้างเพื่อเกิดเป็นส่วนของใบและลำต้น ส่วนที่เป็นกิ่ง (vegetative organs) และอวัยวะสืบพันธุ์ (reproductive organs) ได้ (ลิลลี่ กาวีต๊ะ และคณะ, 2549) ใบของมะละกอมีขนาดใหญ่ ส่วนของใบประกอบด้วยก้านใบที่ยาวและกลวง ซึ่งใบมะละกอเจริญติดอยู่ส่วนยอดของลำต้น (รภัสสา จันทาศรี, 2552; ธีรนุช เจริญกิจ, 2555; อภิชาต ศรีสะอาด และหนึ่งฤทัย แพรสีทอง, 2559) โดยทั่วไปปริมาณของสารทุติยภูมิในพืชมักแปรผันตามอิทธิพลทั้งจากปัจจัยภายในพืชและสิ่งแวดล้อม อีกทั้งการสังเคราะห์สารทุติยภูมิในพืชยังมีความสัมพันธ์กับระยะการเจริญเติบโตของพืช โดยสารทุติยภูมิบางชนิดสร้างขึ้นมากในระยะที่พืชยังอายุน้อย ในขณะที่สารทุติยภูมิบางกลุ่มสังเคราะห์ในปริมาณมากเมื่อพืชเข้าสู่ระยะเจริญเติบโตเต็มที่ (ชนันดา ศรีบุญไทย และคณะ, 2559 อ้างอิงจาก Banthorpe, 1994) ดังเช่นการทดลองครั้งนี้ได้ศึกษาระยะการพัฒนาใบของมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ต่อปริมาณสารพฤกษเคมี พบว่า ระยะการพัฒนาของใบมะละกอแต่ละระยะมีผลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีหรือความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระชนิดต่าง ๆ แตกต่างกัน โดยระยะใบแก่มากจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ปริมาณวิตามินซี ปริมาณสารอัลคาลอยด์ และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC มากที่สุด (ตารางที่ 4.2) ฉะนั้นการเลือกใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ไปใช้ประโยชน์ได้พิจารณาที่ระยะใบแก่มาก เพื่อนำไปสกัดสารสำคัญจากใบมะละกอให้สามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ภานุวัฒน์ สีพันธ์ และคณะ (2560) พบว่า เมื่อใบมะนาวโห่มีระยะพัฒนาการเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณสารพฤกษเคมีต่าง ๆ เพิ่มขึ้นด้วย โดยระยะใบแก่ของใบมะนาวโห่จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ความเป็นกรด วิตามินซี น้ำตาลทั้งหมดสูงที่สุด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ FRAP สูงที่สุด โดยปริมาณสารพฤกษเคมีชนิดต่าง ๆ มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อใบมะนาวโห่มีอายุยาวนานมากขึ้น ส่วนความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH ซึ่งพบมากที่สุดในระยะใบอ่อน หลังจากนั้นจะลดลงตามระยะพัฒนาการของใบ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS พบมากที่สุดในระยะใบเพสลาด ในขณะที่ Chang et al. (2018) ศึกษาระยะการพัฒนาของใบมะไฟจีน 4 ระยะ ได้แก่ ใบตาดอก (leaf buds), ใบอ่อน (young leaves), ใบแก่ (mature leaves) และใบแก่มาก (old leaves) ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (ทั้ง total, free, และ bound) ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (ทั้ง total, free, and bound) และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี oxygen radical absorbance capacity (ORAC) พบว่า ใบตาดอก (leaf buds) มีปริมาณ Total phenolic และ

Free phenolic สูงที่สุดเท่ากับ 2046±91 mg GAE/100 g และ 1880±87 mg GAE/100 g ตามลำดับ ส่วนใบแก่และใบแก่มาก มีค่าต่ำที่สุดเท่ากับ 1367±32 และ1345±32 mg GAE/100 g ในขณะที่ใบแก่มาก จะมีปริมาณ Free flavonoids เท่ากับ 1397±93 mg CE/100 g ในขณะที่ใบตาดอก ใบแก่ และใบอ่อน มีค่าเท่ากับ 792.2±96.3, 745.6±64.1 และ 570.1±66.6 mg CE/100 g ตามลำดับ นอกจากนี้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ORAC พบว่า ใบตาดอกมีค่า Total ORAC และ Free ORAC สูงที่สุด รองลงมา คือ ใบแก่มาก ใบอ่อน และใบแก่ ในขณะที่ Nobossé, Fombang and Mbofung (2018) ศึกษาอายุใบมะรุม (*Moringa oleifera* L.) ได้แก่ อายุ 30 45 และ 60 วัน ต่อปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ พบว่า ใบมะรุมที่อายุ 60 วัน จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุด และมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุดอีกด้วย นอกจากนี้ใบมะรุมที่อายุ 30 วัน จะมีวิตามินซี คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ สูงที่สุด และมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS สูงที่สุดอีกด้วย

5.2 การศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุ์กับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีใบมะละกอ 6 พันธุ์ ใน 3 ฤดูกาล

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในใบมะละกอ พบว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 107.43 mg GAE.g^{-1} dried extract มีค่าระดับปานกลางเมื่อเทียบกับผักและสมุนไพรชนิดอื่น ๆ โดย ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ วรางคณา สบายใจ และสิริมาส นิยมไทย (2556) ได้ตรวจสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในใบข่อยดำ (*Clerodendrum disparifolium* Blume) พบว่า ใบข่อยดำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 289.49 mg GAE/g crude extract ในขณะที่ จุฑารัตน์ ศรีประเสริฐ (2559) ได้ตรวจสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในใบของแคนา (*Dolichandrone serrulata*) พบว่า ใบของแคนามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 63.38 mg GAE.g^{-1} และเรณู คำหอม (2559) ได้ตรวจสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในใบของปีบ (*Millingtonia hortensis*) พบว่า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 31.87 mg GAE/g จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดใบใบมะละกอ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 63.48 mg CE.g^{-1} dried extract มีค่าสูงกว่าเมื่อเทียบกับการศึกษาของ Asghar et al. (2016) ได้ตรวจสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในใบมะละกอ (*Carica papaya* L.) พบว่า ใบมะละกอมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์เท่ากับ 21.88 mg CE/g dry power จากการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในใบมะละกอมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 14.44 mg ascorbic acid /100 g FW มีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Ayoola and Adeyeye (2010) ได้วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในใบของมะละกอ พบว่า มีวิตามินซีเท่ากับ 16.29 mg/100 g จากการวิเคราะห์หาอัลคาลอยด์ในใบมะละกอ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 39.18 g/FW มีค่าสูงเมื่อเทียบกับผักและสมุนไพร โดย Chugh et al. (2012) ได้ตรวจสอบหาปริมาณอัลคาลอยด์ในกะเพรา (*Ocimum sanctum*) พบบว่า มีอัลคาลอยด์เท่ากับ 5.92 (w/w %) และผักชีลาวมีอัลคาลอยด์เท่ากับ 5.44 (w/w %) จากการวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ในใบมะละกอ มีค่าเฉลี่ยร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 14.57 มีค่าต่ำกว่าการศึกษาของ Asghar et al. (2016) ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในใบมะละกอ พบว่า มีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 75.05%

และจากการวิเคราะห์หาและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC มีค่าเฉลี่ยการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดเท่ากับ 925.58 mg TE.g^{-1} dried extract เมื่อเทียบกับการศึกษาของ Vuong et al. (2013) ได้ตรวจสอบฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC มีค่าเท่ากับ 122.47±1.81 µg TE/g

จากการศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลในใบมะละกอ 6 สายพันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล พบว่า มีอิทธิพลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด วิตามินซี และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH กับวิธี CUPRAC และยังพบว่าไม่มีอิทธิพลต่อปริมาณสารอัลคาลอยด์ ดังตารางที่ 4.3 จะเห็นได้ว่า ปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในใบมะละกอ อาจได้รับอิทธิพลมาจากปัจจัยหลายประการ เช่น สภาพภูมิอากาศ สายพันธุ์ของพืช ฤดูกาล เทคนิคและเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจสอบ (Farhadi et al. 2016) โดยข้อมูลสภาพอากาศในระหว่างการศึกษาอ้างอิงจากศูนย์อุตุนิยมภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ของอำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2561 ถึงมิถุนายน พ.ศ. 2562 ในช่วงฤดูฝน (กรกฎาคม–ตุลาคม พ.ศ. 2561) มีอุณหภูมิเฉลี่ยสูงสุดและต่ำสุดเท่ากับ 32.7 และ 24.7 องศาเซลเซียส ตามลำดับ มีความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยเท่ากับ 78.5% ฤดูหนาว (พฤศจิกายน พ.ศ. 2561–กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2562) มีอุณหภูมิเฉลี่ยสูงสุดและต่ำสุดเท่ากับ 34.3 และ 21.6 องศาเซลเซียส ตามลำดับ มีความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยเท่ากับ 64% และฤดูร้อน (มีนาคม-มิถุนายน พ.ศ. 2562) มีอุณหภูมิเฉลี่ยสูงสุดและต่ำสุดเท่ากับ 36.7 และ 26.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ มีความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยเท่ากับ 65.75% โดยช่วงเดือนเมษายน (ฤดูร้อน) มีอุณหภูมิสูงสุดเท่ากับ 38.4 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยในช่วงฤดูฝนเท่ากับ 255.5 มิลลิเมตร ขณะที่ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยในช่วงฤดูหนาวเท่ากับ 6.3 มิลลิเมตร และปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยในช่วงฤดูร้อนเท่ากับ 112.3 มิลลิเมตร (ตารางที่ ข.1 และ ข.2) จะเห็นได้ว่า ปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน มีความแปรปรวนตามสภาพแวดล้อมที่ได้รับอันเนื่องมาจากอิทธิพลของปฏิกิริยาร่วมระหว่างสายพันธุ์มะละกอกับฤดูกาลที่เก็บเกี่ยว โดยพบว่าพันธุกรรมเดียวกันของมะละกอที่มีอายุเดียวกัน การเขตกรรมเหมือนกัน เมื่อเก็บเกี่ยวต่างฤดูกัน คือ ฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว เป็นผลทำให้มีการแสดงออกของปริมาณสารที่ต่างกัน สำหรับนักปรับปรุงพันธุ์หากต้องการที่จะประเมินพ่อ แม่ หรือลูกผสม ที่มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด วิตามินซี อัลคาลอยด์ และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันที่มีปริมาณสูง ๆ ควรทำการประเมินผลดังนี้ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดให้ประเมินในฤดูร้อน สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดให้ประเมินในฤดูร้อน วิตามินซีให้ประเมินในฤดูหนาว อัลคาลอยด์ประเมินฤดูกาลใดก็ได้ และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH และ CUPRAC ให้ประเมินในฤดูฝนและฤดูหนาว ตามลำดับ โดยปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันที่ได้รับอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม แสดงให้เห็นว่าอิทธิพลของพันธุกรรมและอิทธิพลของสภาพแวดล้อม จะมีความสำคัญอย่างมากต่อการแสดงออกของปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอทั้ง 6 สายพันธุ์ หากพิจารณาในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช การทราบอิทธิพลของสภาพแวดล้อมต่อการแสดงออกของลักษณะปรากฏ (phenotype) เป็นประโยชน์อย่างมากต่อการคัดเลือกลูกผสม (selection) ด้านการวางแผนการคัดเลือกลูกผสม ซึ่งการผลิตใบมะละกอโดยใช้ระยะใบแก่มากไปสกัดสารพฤกษเคมีอาจต้องมีการประเมินในหลายฤดูกาล หลายสถานที่ หรือหลายปี แล้วใช้ค่าเฉลี่ยเหล่านี้มาเป็นเกณฑ์ในการคัดเลือก ส่วนความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลร่วมระหว่าง

พันธุกรรมและสภาพแวดล้อมไม่มีอิทธิพลนั้น จะเห็นได้ว่า การปลูกมะละกอเพื่อใช้สารอัลคาลอยด์จากใบแก่ไปใช้ประโยชน์สามารถใช้พันธุ์มะละกอชนิดใดก็ได้ และปลูกเพื่อเก็บผลผลิตในฤดูกาลใดก็สามารถให้ผลผลิตที่มีปริมาณอัลคาลอยด์ไม่แตกต่างกัน ถือเป็นข้อดีของการผลิตเพื่อสกัดสารดังกล่าวในเชิงอุตสาหกรรม และเป็นข้อดีสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ที่นักปรับปรุงพันธุ์สามารถทำการคัดเลือกลูกผสมที่มีปริมาณอัลคาลอยด์สูงในทุกฤดูกาลได้

ฉะนั้น สารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ จัดเป็นลักษณะทางปริมาณ (quantitative trait) เนื่องจากสภาพแวดล้อมมีบทบาทต่อการแสดงออกของลักษณะค่อนข้างมาก ซึ่งปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมเป็นตัวจำกัดการแสดงออกของพันธุ์ในแต่ละสภาพแวดล้อมให้แตกต่างกัน เป็นผลทำให้ปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีความแตกต่างกัน และยังทำให้ยากต่อการคัดเลือกพันธุ์พืชให้สามารถใช้ได้อย่างกว้างขวาง ดังนั้น ข้อมูลทางด้านพันธุกรรม สภาพแวดล้อม รวมทั้งปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม มีผลต่อการสร้างสะสมหรือการเปลี่ยนแปลงของสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ น่าจะเป็นประโยชน์ต่อการวางแผนการผลิต การดูแลการจัดการมะละกอให้ได้คุณภาพและผลผลิตที่สูง และยังเป็นประโยชน์ต่องานด้านการปรับปรุงพันธุ์มะละกอให้มีปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูงขึ้น

จากการทดสอบค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ลำดับของสเปียรแมน (ตารางที่ 4.4) พบว่า ปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในมะละกอ 6 สายพันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล สรุปว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน ซึ่งสหสัมพันธ์ลำดับของสเปียรแมน (spearman rank correlation) เป็นสถิติที่ใช้หาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร 2 ชุด ที่อยู่ในระดับเรียงลำดับกันว่ามีสัมพันธ์กันหรือไม่ หมายความว่า การทดสอบสถิติสหสัมพันธ์ลำดับของสเปียรแมนของปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาล ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของลำดับพันธุ์

จากการวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบความแปรปรวน โดยใช้ข้อมูลจากองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด วิตามินซี ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC ในใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ได้รับความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของพันธุกรรมสูงกว่าลักษณะอื่น ๆ ดังนั้น การที่จะปรับปรุงพันธุ์มะละกอเพื่อสร้างพันธุ์ที่มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง มีโอกาสประสบความสำเร็จในการเพิ่มปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าในลักษณะอื่น ๆ ส่วนลักษณะที่มีความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของพันธุกรรมในระดับปานกลางหรือระดับต่ำนั้น โอกาสที่จะคัดเลือกให้สำเร็จก็จะมีน้อยหรือต้องใช้เวลาในการปรับปรุงพันธุ์มากขึ้น ซึ่งเราสามารถเพิ่มโอกาสประสบความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์ได้ โดยการเพิ่มความแปรปรวนทางพันธุกรรมให้มีความหลากหลาย มีหลายวิธี เช่น การรวบรวมพันธุ์เพิ่มในเชื้อพันธุกรรม การผสมข้าม หรือการทำให้เกิดความหลากหลายโดยการกลายพันธุ์ เป็นต้น นอกจากนี้สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด วิตามินซี ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH และ CUPRAC จะได้รับความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของฤดูกาลในระดับสูง แสดงว่า ลักษณะดังกล่าวนี้ มีการแสดงออกขึ้นกับสภาพแวดล้อมในฤดูกาลนั้น ๆ ซึ่งสภาพแวดล้อมที่ส่งผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งอิทธิพลของปริมาณแสง อุณหภูมิ และปริมาณน้ำฝน เป็นต้น

จากการศึกษาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏของความสัมพันธ์ระหว่างสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูอิสระ และความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะกายภาพกับปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันในใบมะละกอ ดังตารางที่ 4.6 จะเห็นได้ว่า ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด มีค่าสหสัมพันธ์เชิงลบกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH และ CUPRAC (r=-0.19** และ r=-0.13** ตามลำดับ) หมายความว่า เมื่อใบมะละกอมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลง ทำให้มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH และ CUPRAC เพิ่มขึ้น ปริมาณวิตามินซี ค่าสหสัมพันธ์ในทางบวกกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี CUPRAC (r=0.49**) หมายความว่า เมื่อใบมะละกอมีปริมาณวิตามินซีเพิ่มขึ้น จะมีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี CUPRAC เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ปริมาณวิตามินซียังมีค่าสหสัมพันธ์ในทางลบกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH (r=-0.30**) หมายความว่า เมื่อใบมะละกอมีปริมาณวิตามินซีลดลง ทำให้มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH เพิ่มขึ้น และปริมาณอัลคาลอยด์มีค่าสหสัมพันธ์ในทางลบกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH (r=-0.28**) หมายความว่า เมื่อใบมะละกอมีปริมาณอัลคาลอยด์ลดลงจะทำให้ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH เพิ่มขึ้นตามไปด้วย

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะกายภาพกับปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันในใบมะละกอ ดังตารางที่ 4.6 จะเห็นได้ว่า ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวใบกับปริมาณวิตามินซี มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในทางลบ (r=-0.21*) หมายความว่า มะละกอที่มีใบสั้นมักจะพบปริมาณวิตามินซีเพิ่มขึ้น ในความสัมพันธ์ระหว่างค่า f_o ของคลอโรฟิลด์กับสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในทางบวก (r=0.26**) หมายความว่า เมื่อค่า f_o ของคลอโรฟิลด์เพิ่มขึ้น จะทำให้มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นตาม นอกจากนี้ค่า f_o ของคลอโรฟิลด์ยังมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในทางลบกับปริมาณวิตามินซี และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี CUPRAC (r=-0.45** และ r=-0.22* ตามลำดับ) หมายความว่า เมื่อค่า f_o ของคลอโรฟิลด์ลดลง จะทำให้ปริมาณวิตามินซี และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี CUPRAC เพิ่มขึ้นความสัมพันธ์ระหว่างค่า f_m ของคลอโรฟิลด์กับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในทางบวก (r=0.38**) หมายความว่า เมื่อค่า f_m ของคลอโรฟิลด์เพิ่มขึ้น จะทำให้ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ค่า f_m ของคลอโรฟิลด์ ยังมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในทางลบกับวิตามินซี (r=-0.31**) หมายความว่า เมื่อค่า f_m ของคลอโรฟิลด์ลดลง จะทำให้ปริมาณวิตามินซีเพิ่มขึ้น ความสัมพันธ์ระหว่างค่า f_v/f_m ของคลอโรฟิลด์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด วิตามินซี และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในทางบวก (r=0.21*, r=0.24* และ r=0.22* ตามลำดับ) หมายความว่า เมื่อค่า f_v/f_m ของคลอโรฟิลด์เพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด วิตามินซี และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ค่า f_v/f_m ของคลอโรฟิลด์ ยังมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในทางลบกับสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (r=-0.35**) หมายความว่า เมื่อค่า f_v/f_m ของคลอโรฟิลด์ลดลงจะทำให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น ความสัมพันธ์ระหว่างค่า L* ของสีใบ กับวิตามินซี และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี CUPRAC จะมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในทางลบ (r=-0.80** และ r=-0.39** ตามลำดับ) หมายความว่า เมื่อค่าสี L* ของสีใบลดลง จะทำให้ปริมาณวิตามินซี และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี CUPRAC เพิ่มขึ้น ความสัมพันธ์ระหว่างค่า a* ของสีใบกับวิตามินซี และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วย

วิธี CUPRAC จะมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในทางบวก (r=0.65** และ r=0.35** ตามลำดับ) หมายความว่า เมื่อค่าสี a* ของสีใบเพิ่มขึ้น จะทำให้ปริมาณวิตามินซี และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ค่า a* ของสีใบ ยังมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในทางลบกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (r=-0.25*) หมายความว่า เมื่อค่า a* ลดลง จะทำให้ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH เพิ่มขึ้น ความสัมพันธ์ระหว่างค่า b* ของสีใบ กับสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในทางบวก (r=0.24*) หมายความว่า เมื่อค่า b* เพิ่มขึ้น จะทำให้สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ ค่า b* ของสีใบ ยังมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในทางลบกับวิตามินซี และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC (r=-0.70** และ r=-0.32** ตามลำดับ) หมายความว่า เมื่อค่า b* ของสีใบลดลง จะทำให้วิตามินซี และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC เพิ่มขึ้น

จะเห็นได้ว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของของลักษณะปรากฏ ได้แก่ ความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินซีกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH (r=-0.30**) ความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินซีกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี CUPRAC (r=0.49**) และความสัมพันธ์ระหว่างอัลคาลอยกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH (r=-0.28**) นอกจากนี้ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะกายภาพของใบมะละกอกับปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน ได้แก่ ความสัมพันธ์ระหว่างค่า L* กับวิตามินซี (r=-0.80**) ค่า a* กับวิตามินซี (r=0.65**) และค่า b* กับวิตามินซี (r=-0.70**) ซึ่งเป็นลักษณะที่มีความสัมพันธ์สูง ในการปรับปรุงพันธุ์มะละกอการนำลักษณะความสัมพันธ์ดังกล่าวมาใช้ประโยชน์สำหรับวางแผนการปรับปรุงพันธุ์มะละกอให้มีประสิทธิภาพ โดยอาศัยการคัดเลือกทางอ้อมจากลักษณะความสัมพันธ์ดังกล่าว ในการคัดเลือกลูกผสมมะละกอ ที่มีปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูง ซึ่งการนำข้อมูลความสัมพันธ์ดังกล่าวมาใช้ประโยชน์เป็นเพียงการประเมินการคัดเลือกพันธุ์ลูกผสมเบื้องต้นเท่านั้น ทำให้ช่วยประหยัดงบประมาณ และลดขั้นตอนของการคัดเลือกลูกผสมทำให้การวางแผนการปรับปรุงพันธุ์มะละกอประสบความสำเร็จได้ตามเป้าหมาย คล้ายกับการศึกษาของ อรุณทิพย์ เหมะธุลิน และคณะ (2556) ได้ทำการประเมินความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี (L*, a* และ b*) กับปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง พบว่า ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในเมล็ดข้าวโพดมีสหสัมพันธ์ทางลบกับค่าสี L* และ b* (r=-0.69** และ r=-0.61**) และมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับค่าสี a* (r=-0.60**) อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แสดงให้เห็นว่าลักษณะค่าสี (L*, a*และ b*) สามารถนำมาใช้คัดเลือกพันธุ์ข้าวโพดทางอ้อมเพื่อเพิ่มปริมาณแอนโทไซยานินได้ โดยการคัดเลือกพันธุ์ที่มีค่า L* ต่ำ ค่า a* สูง และค่า b* ต่ำ จะทำให้มีโอกาสได้พันธุ์ข้าวโพดที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงด้วยเช่นเดียวกัน

บทที่ 6
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการทดลอง

6.1.1 ผลของระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ พบว่า ใบมะละกอทั้ง 3 ระยะ ได้แก่ ระยะใบอ่อน ระยะใบแก่ และระยะใบแก่มาก มีปริมาณสารพฤกษเคมี ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และวิตามินซี รวมทั้งฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH และวิธี CUPRAC ที่แตกต่างกัน ซึ่งใบมะละกอในระยะที่ 3 ใบแก่มาก มีปริมาณสารค่อนข้างสูงกว่าในระยะอื่น ๆ ใบมะละกอระยะใบแก่มาก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 116.43 mg GAE.g^{-1} dried extract สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 280.32 mg CE.g^{-1} dried extract และวิตามินซีเท่ากับ 25.94 mg ascorbic acid/100 g FW นอกจากนี้ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH มีค่าร้อยละความสามารถการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 10.89% ตามลำดับ และวิธี CUPRAC มีค่าเท่ากับ และ 486.33 mg TE.g^{-1} dried extract

6.1.2 ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อมต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล พบว่า ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาล มีอิทธิพลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด วิตามินซี รวมทั้งฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH และวิธี CUPRAC ยกเว้นสารอัลคาลอยด์ โดยพบว่า มะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่และศรีราชภัฏ ซึ่งเป็นพันธุ์พื้นเมืองที่นิยมปลูกและบริโภคกันมาก อีกทั้งยังพบว่ามีปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันเฉลี่ยสูงที่สุดทั้ง 3 ฤดูกาล

ค่าองค์ประกอบความแปรปรวนของปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน พบว่า สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (40.54 เปอร์เซ็นต์) เป็นลักษณะที่ได้รับอิทธิพลของพันธุกรรมมากกว่าลักษณะอื่น ๆ ในขณะที่วิตามินซี (99.10 เปอร์เซ็นต์) ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC (91.35 เปอร์เซ็นต์) สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (88.27 เปอร์เซ็นต์) ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (84.76 เปอร์เซ็นต์) เป็นลักษณะที่ได้รับอิทธิพลของฤดูกาลมากที่สุด

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏระหว่างความสัมพันธ์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด วิตามินซี อัลคาลอยด์ ต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH และ CUPRAC พบว่า ลักษณะที่มีความสัมพันธ์สูงกว่าลักษณะอื่น ๆ ได้แก่ ความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินซีกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH (r=-0.30**) ความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินซีกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี CUPRAC (r=0.49**) และความสัมพันธ์ระหว่างอัลคาลอย์กับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันวิธี DPPH (r=-0.28**) นอกจากนี้ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะกายภาพของใบมะละกอกับปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน พบว่า ลักษณะที่มีความสัมพันธ์สูงกว่าลักษณะอื่น ๆ ได้แก่ ความสัมพันธ์ระหว่างค่า L* กับวิตามินซี (r=-0.80**) ค่า a* กับวิตามินซี (r=0.65**) และค่า b* กับวิตามินซี (r=-0.70**)

6.2 ข้อเสนอแนะการวิจัย

6.2.1 จากการทดลองจะเห็นได้ว่า ใบมะละกอเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่หลากหลาย ช่วยในการประยุกต์ใช้ในด้านอาหาร ด้านเภสัชกรรม และทางการแพทย์ มีการนำไปใช้ประโยชน์ให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น

6.2.2 ควรศึกษาเพิ่มเติมถึงปริมาณสารพฤกษเคมีทั้งหมดในใบและส่วนประกอบต่าง ๆ ของมะละกอเพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารทุติยภูมิที่พบในส่วนของมะละกอ

6.2.3 ควรศึกษาเพิ่มเติมถึงวิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน เช่น ABTS และ FRAP เพื่อยืนยันผลการต้านอนุมูลอิสระ เพื่อให้เห็นถึงความสามารถของสารสกัดใบมะละกอ

6.2.4 จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏระหว่างความสัมพันธ์สารพฤกษเคมีต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน และความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะกายภาพของใบมะละกอกับปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน ยังไม่มีรายงานการศึกษาในใบมะละกอมากนัก และพบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีค่าค่อนข้างต่ำ อาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือของข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

เอกสารอ้างอิง

กฤษฎา สัมพันธารักษ์. **หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช**. กรุงเทพฯ: ไทยวัฒนาพาณิช, 2528.

กรมวิชาการเกษตร. **มะละกอ**. กรุงเทพฯ: ฐิติมงคล, 2548.

กิตติศักดิ์ ผุยชา และสุภัชญา ธานี. "ผลของวิตามินซีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและสุขภาพในสัตว์น้ำ", **วารสารการเกษตรราชภัฏ**. 13(2): 63-70; กรกฎาคม-ธันวาคม, 2557.

เกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์. "มะละกอพันธุ์แขกดำเกษตร", **วารสารเกษตรอภิรมย์**. 15(3): 47-49; มกราคม-กุมภาพันธ์, 2560.

จิรภา พุทธิวงศ์ และคณะ. (2559). "เทคโนโลยีการผลิตเมล็ดพันธุ์มะละกอแขกดำศรีสะเกษและการนำไปใช้ประโยชน์", **คลังผลงานวิจัย กรมวิชาการเกษตร**. http://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=1654. 12 พฤษภาคม, 2563.

เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม. "อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา", **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์**. 1(1): 59-70; พฤษภาคม-สิงหาคม, 2554.

_____. "อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา", **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์**. 1(1): 59-70; 2554. อ้างอิงจาก Sánchez-Moreno, C., Jiménez-Escrig, A. and Saura-Calixto, J. "Study of low-density lipoprotein oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols", **Nutrition Research**. 20(7): 941-953, 2000.

ชนันดา ศรีบุญไทย และคณะ. "ผลของอายุเก็บเกี่ยวต่อการให้ผลผลิตและสารทุติยภูมิในใบของกระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa* L.)", **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์**. 3 ฉบับพิเศษ (lll): M02/13-20; 2559. อ้างอิงจาก Banthorpe, D.V. "Terpenoids", In **Natural Products**. p.331–339. Esses: University of Essex, 1994.

ช่อแก้ว อนิลบล. "การตอบสนองของสารประกอบฟีนอลในพืชภายใต้สภาวะแล้ง", **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า**. 37(4): 729-734; ตุลาคม-ธันวาคม, 2562.

ณัฐยาพร หนันต๊ะ และคณะ. "การเปรียบเทียบสารพฤกษเคมีในฟักข้าว 13 สายพันธุ์ในสองฤดู", **วารสารแก่นเกษตร**. 44(1)(ฉบับพิเศษ): 167-174; 25-26 มกราคม, 2559.

ธีรนุช เจริญกิจ. **ไม้ผลเขตร้อน**. เชียงใหม่: คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้, 2555.

ธุรกิจการเกษตร. (2556). "มะละกอฮอลแลนด์ (Holland Papaya)", **Thaibusiness**. https://www.thaibusiness.in.th/-holland-papaya-970/. 12 พฤษภาคม, 2563.

นงลักษณ์ พยัคฆศิรินาวิน อุบล ชินวัง และสุวัฒน์ ธีระพงษ์ธนากร. "การประยุกต์ใช้เทคนิคคลอโรฟิลด์ฟลูออเรสเซ็นท์กับพืชสวน", **วารสารการเกษตรราชภัฏ**. 13(2): 37-46; กรกฎาคม-ธันวาคม, 2557.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

นวรัตน์ อุดมประเสริฐ. **สรีรวิทยาของพืชภายใต้สภาวะเครียด**. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2558.

นิภาพร ยลสวัสดิ์ มณทินี ธีรารักษ์ และจำรูญ เล้าสินวัฒนา. “การประเมินความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระและการจับโลหะและปริมาณฟินอลิคจากใบทุเรียน 10 พันธุ์”, **วารสารแก่นเกษตร**. 42(3)(ฉบับพิเศษ): 88-93; 29-31 กรกฎาคม, 2557.

บุญโชติ มณีศรี. **การวิเคราะห์อัลคาลอยด์ในส่วนต่าง ๆ ของต้นมะละกอ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2551.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. “อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ”, **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 21(3): 275-286; กรกฎาคม-กันยายน, 2556.

ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. **พันธุศาสตร์**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2541.

ปานทิพย์ บุญส่ง และวัลภา เนตรดวงตา. “ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของใบพืชไม้ผลเขตร้อนบางชนิด”, **วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ**. 24(3): 624-633; กันยายน-ธันวาคม, 2557.

พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. **พันธุศาสตร์ปริมาณที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2525.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. **พันธุศาสตร์**. กรุงเทพฯ: ไทยวัฒนาพาณิช, 2539.

ภานุวัฒน์ สีพันธ์ และคณะ. “ระยะพัฒนาการต่อปริมาณสารพฤกษเคมีและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในใบมะนาวโห่”, **วารสารแก่นเกษตร**. 45(1)(ฉบับพิเศษ): 336-341; 23-24 มกราคม, 2560.

มติชนกรุ๊ป. (2548). “รายงานพิเศษ มะละกอพืชพันล้าน”, **เทคโนโลยีชาวบ้าน**. http://info.matichon.co.th/techno/techno.php?srctag=0511150648&srcday=2008/07/01&search=no. 12 พฤษภาคม, 2563.

รพีพล ภโววาท และสุรพงษ์ เก็งทอง. **เภสัชพฤกษศาสตร์**. นนทบุรี: มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช, 2548.

รภัสสา จันทาศรี. **มะละกอเพื่อการค้า**. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์, 2552.

รักบ้านเกิด. (2558). “มะละกอเหลองกระบี่ ผลสวย ลูกดก ทำเงินเร็ว”, **รักบ้านเกิด**. https://www.rakbankerd.com/agriculture/page.php?id=8540&s=tblplant. 12 พฤษภาคม, 2563.

ลิลลี่ กาวีต๊ะ. **การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานและพัฒนาการของพืช**. กรุงเทพฯ: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546.

ลิลลี่ กาวีต๊ะ และคณะ. **สรีรวิทยาของพืช**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2549.

ลือชัย บุตคุป. “สารประกอบฟีโนลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพ”, **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม**. 31(4): 443-455; กรกฎาคม-สิงหาคม, 2555.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

วนาลี พิงคะสัน และสิริวัฒน์ สาครวาสี. “การชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศทนร้อนโดยการพ่นสารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ทางใบ”, ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 53**. น. 49-57. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2558.

วิภพ สุทธนะ. “ฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์: กลไกการออกฤทธิ์”, **วารสารศรีนครินทร์เวชสาร**. 28(4): 567-582; 30 ธันวาคม, 2556.

วิวัฒน์ ไชยบุญ รภัสสา จันทาศรี และเกรียงศักดิ์ ไพรวรรณ. “การทดสอบมะละกอพันธุ์ศรีราชภัฏในพื้นที่จังหวัดมหาสารคาม”, **วารสารเกษตรพระวรุณ**. 10(2): 135-146; กรกฎาคม-ธันวาคม, 2556.

ศรมน สุทิน. “วิตามินกับอนุมูลอิสระ”, **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ**. 2(1): 80-92; มกราคม-มิถุนายน, 2559.

_____. “วิตามินซีกับอนุมูลอิสระ”, **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ**. 2(1): 80-92; 2559; อ้างอิงจาก โอภา วัชระคุปต์ และคณะ. **สารต้านอนุมูลอิสระ (radical scavenging agents)**. กรุงเทพฯ: นิวไทยมิตรการพิมพ์, 2550.

ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ วรางคณา สบายใจ และสิริมาส นิยมไทย. “การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมี และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของใบข่อยดำ”, **วารสารวิทยาศาสตร์ขอนแก่น**. 41(3): 723-730; กรกฎาคม-กันยายน, 2556.

ศิริพร หมาดหล้า และพจนพร ไกรดิษฐ์. “สารอัลคาลอยด์จากพืช และกลไกการออกฤทธิ์ระดับโมเลกุลในการต้านมะเร็ง”, **สงขลานครินทร์เวชสาร**. 35(1): 83-94; มกราคม-มีนาคม, 2560.

ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. (2560). “มะละกอ”, กรมส่งเสริมการเกษตร. http://www.agriinfo.doae.go.th/year60/plant/rortor/fruit2/papaya. 1 กันยายน, 2563.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. **สรีรวิทยาของพืช**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2548.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. **สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศปี 2562**. ศูนย์สารสนเทศการเกษตร: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562.

สิริกุล วะสี. **มะละกอ เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ โครงการการแก้ปัญหามะละกอเพื่อเพิ่มผลผลิตที่มีคุณภาพสำหรับอุตสาหกรรมผลไม้กระป๋องเพื่อส่งออก**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2542.

_____. **มะละกอพืชความหวังใหม่ของเกษตรกร**. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 2557.

สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์. **การปรับปรุงพันธุ์พืช**. กรุงเทพฯ: ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, 2528.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

สุทินน์ พรหมโชติ. **ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อมของพีช [*Prunus persica* (L.) Batsch.] และเนคทารีน [*Prunus persica* var. *nectarica*] บนที่สูงทางภาคเหนือของประเทศไทย**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2545.

สุนันท์ บุตรศาสตร์ และรภัสสา จันทาศรี. **รายงานวิจัยการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์และกรดฟีนอลิกในมะละกอสายพันธุ์ครั่งเนื้อแดงและครั่งเนื้อเหลือง**. มหาสารคาม: มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม, 2555.

สุพรรณิกา สงวนศิลป์. **ปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อมของสารประกอบฟีนอลิกในผลฝรั่ง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2555.

สุภัคศิริ คำก้อน ประสงค์ สีหานาม และอัณศยา ท่อนโพธิ์. “ปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากส่วนที่แตกต่างกันขององุ่นป่า”, ใน **การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยมหาสารคามวิจัยครั้งที่ 12**. น.257-265. มหาสารคาม: มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 2559.

เสรี เลาเทาะ ชิติ ศรีตนทิพย์ และปริญญาวดี ศรีตนทิพย์. “ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ สารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระกับค่าดัชนีความเขียวในผลผลิตของผักเชียงดาภายใต้อัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน”, **วารสารแก่นเกษตร**. 42(3)ฉบับพิเศษ: 795-801; กรกฎาคม, 2557.

อภิชาต ศรีสะอาด และหนึ่งฤทัย แพรสีทอง. **วางแผนปลูกมะละกอให้ออกช่วงแพง**. สมุทรสาคร: นาคา, 2559.

อรุณทิพย์ เหมะธุลิน และคณะ. “ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี (L*, a* และ b*) กับปริมาณแอนโทไซยานินในเชื้อพันธุกรรมข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง”, **วารสารแก่นเกษตร**. 40(4)ฉบับพิเศษ: 59-64; ธันวาคม, 2555.

อุดมเดชา พลเยี่ยม. **รายงานวิจัยการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากมะเดื่อ**. กรุงเทพฯ: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร, 2556.

Abdulhamid, A., Fakai, I.M. and Ogwihi, O.J. “Phytochemical Screening, Chromatographic Studies and Antibacterial Activity of *Carica Papaya* Leaves Extracts”, **International Journal of Medicinal Plants and Natural Products**. 3(1): 11-15; 27 August, 2017.

Allard, R.W. and Bradshaw, A.D. “Implications of genotype-environment interactions in applied plant breeding”, **Crop Science**. 4(5): 504-507; September-October, 1964.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Alorkpa, E.J. and et al. "Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant properties of assorted *Carica papaya* leaves in Ghana", **Journal of Medicinal Plants Studies**. 4(6): 193-198; 27 October, 2016.

Ames, B.N., Shigenaga, M.K. and Hagen, T.M. "Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging", **Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America**. 90(17): 7915-7922; September, 1993.

AOAC. **Official Methods of Analysis Of The Association Of Official Analytical Chemists**. Montgomery: Gaithersburg, 2000.

Apak, R. and et al. "Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method", **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 52(26): 7970–7981; December, 2004.

Arumuganathan, K. and Earle, E.D. "Nuclear DNA Content of Some Important Plant Species", **Plant Molecular Biology Reporter**. 9(3): 208-218; November, 1991.

Ayoola, P.B. and Adeyeye, A. "Phytochemical and nutrient evaluation of *Carica papaya* (Pawpaw) leaves", **International Journal of Research and Analytical Reviews**. 5(3): 325-328; December, 2010.

Bari, L. and et al. "Nutritional analysis of two local varieties of papaya (*Carica papaya* L.) at different maturation stages", **Pakistan Journal of Biological Sciences**. 9(1): 137-140; January, 2006.

Baskaran, C. and et al. "The efficacy of *Carica papaya* leaf extract on some bacterial and a fungal strain by well diffusion method", **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**. 2(2): 658-662; December, 2012.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. "Use of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity", **LWT-Food Science and Technology.** 28(1): 25-30; June, 1995.

Butnariu, M. and Samfira, l. "Free Radicals and Oxidative Stress", **Journal of Bioequivalence & Bioavailability**. 4(3): 4-6; 12 April, 2012.

Caliskan, O. and Polat, A.A. "Effect of genotype and harvest year on phytochemical and fruit quality properties of Turkish fig genotypes", **Spanish Journal of Agricultural Research**. 10(4); 1048-1058; December, 2012.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Chang, X. and et al. “Impact of Leaf Development Stages on Polyphenolics Profile and Antioxidant Activity in *Clausena lansium* (Lour.) Skeels”, **BioMed Research International**. 4: 1-8; June, 2018.

Chen, C.Y.O. and Blumberg, J.B. “Phytochemical composition of nuts”, **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**. 17(suppl 1): 329-332; February, 2008.

Chugh, C.A., Mehta, S. and Dua, H. “Phytochemical Screening and Evaluation of Biological Activities of Some Medicinal Plants of Phagwara, Punjab”, **Asian Journal of Chemistry**. 24(12): 5903-5905; December, 2012.

Connor, A.M. and et al. “Genetic and Environmental Variation in Anthocyanins and their Relationship to Antioxidant Activity in Blackberry and Hybridberry Cultivars”, **Journal of the American Society for Horticultural Science**. 130(5): 680-687; September, 2005.

Corrêa, D.J.P. and et al. “Meiotic behavior of *Carica papaya* and *Vasconcellea Monoica*”, **Caryologia**. 63(3): 229-236; 10 February, 2010.

Dixon, R.A. and Paiva, N.L. “Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism”, **The Plant Cell**. 7(7): 1085-1097; July, 1995.

Eno, A.E. and et al. “Blood pressure depression by the fruit juice of *Carica papaya* (L.) in renal and DOCA-induced hypertension in the rat”, **Phytotherapy Research**. 14(4): 235-239; 8 June, 2000.

Espadas, J.L. and et al. “Phenolic compounds increase their concentration in *Carica papaya* leaves under drought stress”, **Acta Physiologiae Plantarum**. 41(180): 1-7; November, 2019.

Farhadi, K.F. and et al. “Determination of phenolic compounds content and antioxidant activity in skin, pulp, seed, cane and leaf of five native grape cultivars in West”, **Food Chemistry**. 199: 847-855; December, 2016.

Gill, S.S. and Tuteja, N. “Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants”, **Plant Physiology and Biochemistry**. 48(12): 909-930; December, 2010.

Gurung, S. and Skalko-Basnet, N. “Wound healing properties of *Carica papaya* latex: in vivo evaluation in mice burn model”, **Journal of ethnopharmacology**. 121(2): 338-341; 21 January, 2009.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Halliwell, B. "Anioxidant defense mechanism: From the beginning to the end of the beginning", **Free Radical Research**. 31(4): 261-272; 7 July, 1999.

Hinkle, D.E, William, W. and Stephen, G.J. **Applied Statistics for the Behavior Science**. New York: Houghton Mifflin, 1998.

Hopkins, W.G. and Huner, N.P.A. **Introduction to Plant Physiology**. New Jersey: Wiley, 2009.

Howell, N.K. and Saeed, S. "The effect of antioxidants on the production of lipid oxidation products and transfer of free radicals in oxidized lipid-protein systems", In **Antioxidants in human health and disease**. Basu, T.K., Temple, N.J. and Garg, M.L. Editors. p.43-54. London: CABI, 1999.

Hura, T., Hura, K., and Grzesiak, S. "Contents of total phenolics and ferulic acid, and PAL activity during water potential changes in leaves of maize single-cross hybrids of different drought tolerance", **Journal of Agronomy and Crop Science**. 194(2): 104-112; March, 2008.

Imaga, N.A. and et al. "Phytochemical and antioxidant nutrient constituents of *Carica papaya* and *Parquetina nigrescens* extracts", **Scientific Research and Essays**. 5(16): 2201-2205; 18 August, 2010.

Juárez-Rojop, I.E. and et al. "Phytochemical screening and hypoglycemic activity of *Carica papaya* leaf in streptozotocin-induced diabetic rats", **Revista Brasileira de Farmacognosia.** 24(3): 341-347; May-June, 2014.

Krishna, K.L., Paridhavi, M. and Patel, J.A. "Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of papaya (*Carica papaya* Linn)", **Natural Product Radiance**. 7(4): 364-373; July-August, 2008.

Li, H., Tsao, R. and Deng, Z. "Factors affecting the antioxidant potential and health benefits of plant foods", **Canadian Journal of Plant Science**. 92: 1101-1111; January, 2012.

Mahmood, A.A., Sidik, K. and Salmah, I. "Wound healing activity of *Carica papaya* L. aqueous leaf extract in rats", **International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences.** 1(4): 398-401; January, 2005.

McGuire, R.G. "Reporting of Objective Color Measurements", **Hortscience**. 27(12): 1254-1255; December, 1992.

Ming, R., Yu, Q. and Moore, P.H. "Sex determination in papaya", **Elsevier**. 18(3): 401-408; June, 2007.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Nantitanon, W, Yotsawimonwat, S. and Okonogi, S. "Factors influencing Antioxidant activities and total phenolic content of guava leaf extract", **LWT-Food Science and Technology**. 43(7): 1095-1103; September, 2010.

Nath, R. and Dutta, M. "Phytochemical and Proximate Analysis of Papaya (*Carica papaya*) Leaves", **Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences**. 3(2): 85-87; February-March, 2016.

Nobossé, P., Fombang, E.N. and Mbofung, C.M.F. "Effects of age and extraction solvent on phytochemical content and antioxidant activity of fresh *Moringa oleifera* L. leaves", **Food Science Nutrition**. 6(8): 2188-2198; September, 2018.

Nwofia, G.E, Ojimelukwe, P., and Eji, C. "Chemical composition of leaves, fruit pulp and seeds in some *Carica papaya* (L.) morphotypes", **International Journal of Medicinal and Aromatic Plants**. 2(1): 200-206; March, 2012.

Otsuki, N and et al. "Aqueous extract of *Carica papaya* leaves exhibits anti-tumor activity and immunomodulatory effects", **Journal of Ethnopharmacology**. 127(3): 760-767; December, 2010.

Owoyele, B. and et al. "Anti-inflammatory activities of ethanolic extract of *Carica papaya* leaves", **Inflammopharmacology**. 16(4): 168-73; August, 2008.

Özyürek, M., Güçlü, K. and Apak, R. "The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement", **Trends in Analytical Chemistry**. 30(4): 652-664; April, 2011.

Pedro, C.D.J. and et al. "Karyotype determination in three Caricaceae species emphasizing the cultivated form (*C. papaya* L.)", **Caryologia**. 62(1): 10-15; 4 February, 2009.

Pietta, P.G. "Flavonoids as Antioxidants", **Journal of Natural Products**. 63(7): 1035-1042, July, 2000.

Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M. **Antioxidants in Food: Practical Applications**. New York: CRC Press. 2001.

Runnie, I. and et al. "Vasorelaxation induced by common edible tropical plant extracts in isolated rat aorta and mesenteric vascular bed", **Journal of Ethnopharmacology**. 92(2-3): 311-316; June, 2004.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Sada, B., Soylu, S. and Yetim, E. "Drought and oxidative stress", **African Journal of Biotechnology**. 10(54): 11102-11109; September, 2011.

Slinkard, K. and Singleton, V.L. "Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods", **American Journal of Enology and Viticulture**. 28(1): 49-55, 1 January, 1997.

Sripanidkulchai, B. and et al. "Diuretic effects of selected Thai indigenous medicinal plants in rats", **Journal of ethnopharmacology**. 75(2-3): 185-190; May, 2001.

Thaipong, K. and et al. "Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts", **Journal of Food Composition and Analysis**. 19(6-7): 669–675; September-November, 2006.

Tiwari, P. and et al. "Phytochemical screening and Extraction: A Review", **Internationale Pharmaceutica Sciencia**. 1(1): 98-106; January-March, 2011.

Vashistha, P. and et al. "Genetics of Sex Chromosomes and Sex-linked Molecular Markers in Papaya (*Carica papaya* L.)", **Molecular Plant Breeding**. 7(28): 1-18; 12 August, 2016.

Vuong, Q. V. and et al. "Effect of extraction conditions on total phenolic compounds and antioxidant activities of *Carica papaya* leaf aqueous", **Journal of Herbal Medicine**. 3(3): 104-111; 17 July, 2013.

Yogiraj, V. and et al. "*Carica papaya* Linn: An Overview", **International Journal of Herbal Medicine**. 2(5): 01-08; February, 2015.

Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. "The determination of flavonoid contents In mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals", **Food Chemistry**. 64(4): 555–559; March, 1999.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
ตารางวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ ก.1 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ 3 ระยะต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

Source of variation	d.f.	Means Square	Prob. of F-test
Stage	2	8016.16	0.01
Tree	4	2467.53	0.15
Error	68	1416.38	
Total	74		

ตารางที่ ก.2 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ 3 ระยะต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

Source of variation	d.f.	Means Square	Prob. of F-test
Stage	2	198502.57	<0.01
Tree	4	27538.26	<0.01
Error	68	3536.50	
Total	74		

ตารางที่ ก.3 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ 3 ระยะต่อปริมาณวิตามินซี

Source of variation	d.f.	Means Square	Prob. of F-test
Stage	2	528.16	<0.01
Tree	4	313.75	<0.01
Error	68	44.87	
Total	74		

ตารางที่ ก.4 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ 3 ระยะต่อปริมาณสารอัลคาลอยด์

Source of variation	d.f.	Means Square	Prob. of F-test
Stage	2	21.73	0.32
Tree	4	36.94	0.15
Error	8	16.37	
Total	14		

ตารางที่ ก.5 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ 3 ระยะต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH

Source of variation	d.f.	Means Square	Prob. of F-test
Stage	2	143.30	<0.01
Tree	4	26.49	0.07
Error	68	11.46	
Total	74		

ตารางที่ ก.6 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ 3 ระยะต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC

Source of variation	d.f.	Means Square	Prob. of F-test
Stage	2	396783.67	<0.01
Tree	4	28970.99	<0.01
Error	68	5852.22	
Total	74		

ตารางที่ ก.7 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) และองค์ประกอบความแปรปรวนของใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

Source of variation	d.f.	Means Square	Variance Component	Prob. of F-test
genotype	5	1523.11	55773.97	<.001
season	2	526.22	48713.88	0.04
genotype x season	10	6552.33	32927.37	<.001
Error	432	165.74	165.74	
Total	449			

ตารางที่ ก.8 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) และองค์ประกอบความแปรปรวนของใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาลต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

Source of variation	d.f.	Means Square	Variance Component	Prob. of F-test
genotype	5	9068.51	158782.77	<0.01
season	2	44879.38	1369136.54	<0.01
genotype x season	10	4461.12	22755.11	<0.01
Error	432	449.52	449.52	
Total	449			

ตารางที่ ก.9 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) และองค์ประกอบความแปรปรวนของใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาลต่อปริมาณวิตามินซี

Source of variation	d.f.	Means Square	Variance Component	Prob. of F-test
genotype	5	204.28	4225.66	<0.01
season	2	19587.64	588790.69	<0.01
genotype x season	10	229.04	1161.48	<0.01
Error	432	16.29	16.29	
Total	449			

ตารางที่ ก.10 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) ของใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาลต่อปริมาณสารอัลคาลอยด์

Source of variation	d.f.	Means Square	Prob. of F-test
genotype	5	119.32	0.19
season	2	12.89	0.85
genotype x season	10	32.70	0.93
Error	72	76.85	
Total	89		

ตารางที่ ก.11 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) และองค์ประกอบความแปรปรวนของใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาลต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH

Source of variation	d.f.	Means Square	Variance Component	Prob. of F-test
genotype	5	118.38	2176.31	<0.01
season	2	465.93	14378.61	<0.01
genotype x season	10	78.59	400.59	<0.01
Error	432	7.63	7.63	
Total	449			

ตารางที่ ก.12 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA table) และองค์ประกอบความแปรปรวนของใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาลต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC

Source of variation	d.f.	Means Square	Variance Component	Prob. of F-test
genotype	5	22234.60	1925158.33	0.105
season	2	1189148.12	37266083.06	<0.01
genotype x season	10	315900.02	1591639.40	<0.01
Error	432	12139.33	12139.33	
Total	449			

ภาคผนวก ข
ข้อมูลสภาพอากาศ

ตารางที่ ข.1 ข้อมูลอุตุนิยมของอำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี ในปี พ.ศ. 2561

เดือน	ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	จำนวนวันที่มีฝนตก (วัน)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)			ความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
			สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย	
มกราคม	0	0	32.9	19.8	26.4	62
กุมภาพันธ์	0	0	33.3	19.0	26.2	58
มีนาคม	140	7	34.0	22.8	28.4	67
เมษายน	98.8	6	34.9	24.2	29.6	65
พฤษภาคม	170.5	15	34.9	25.3	30.1	73
มิถุนายน	291.1	21	33.7	25.4	29.6	77
กรกฎาคม	309.5	24	32.1	25.1	28.6	81
สิงหาคม	318.2	24	31.8	25.0	28.4	81
กันยายน	317	18	33.0	24.8	28.9	79
ตุลาคม	77.3	7	34.0	23.7	28.9	73
พฤศจิกายน	11.7	5	33.6	22.5	28.1	70
ธันวาคม	0.9	1	33.9	21.4	27.7	66

ที่มา: ศูนย์อุตุนิยมภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง

ตารางที่ ข.2 ข้อมูลอุตุนิยมของอำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี ในปี พ.ศ. 2562

เดือน	ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	จำนวนวันที่มีฝนตก (วัน)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)			ความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
			สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย	
มกราคม	0	0	33.5	19.1	26.3	61
กุมภาพันธ์	0	0	36.3	23.4	29.9	59
มีนาคม	19.5	4	37.3	25.3	31.3	56
เมษายน	91.4	6	38.4	26.4	32.4	62
พฤษภาคม	236.3	18	35.6	26.0	30.8	72
มิถุนายน	102	12	35.3	26.4	30.9	73
กรกฎาคม	318.5	19	33.7	25.0	29.4	76
สิงหาคม	341.9	24	32.1	25.0	28.6	81
กันยายน	554.5	17	31.7	24.3	28.0	79
ตุลาคม	26.6	5	33.6	23.9	28.8	71
พฤศจิกายน	7	3	32.1	21.2	26.7	69
ธันวาคม	0	0	31.6	18.5	25.1	63

ที่มา: ศูนย์อุตุนิยมภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง

ภาคผนวก ค
การเตรียมสารและการคำนวณหาปริมาณสารพฤกษเคมี

ภาคผนวก ค.1 การเตรียมสารและการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

1. การตรวจสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric

1.1 การเตรียมสารเคมี

1.1.1 สารละลาย Folin-ciocalteau's phenol reagent ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปิเปตสารละลาย Folin-ciocalteau มาปริมาตร 10 ml ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml จากนั้นเก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 $^{\circ}$C

1.1.2 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ชั่งสาร Na_2CO_3 มา 7.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml เก็บสารละลายในขวดใสที่อุณหภูมิห้อง

1.1.3 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) ความเข้มข้น 1 mg/ml ชั่งกรดแกลลิค 0.01 g ละลายด้วย 80% ethanol 10 ml จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้น 20-200 µg/ml เพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน

1.2 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content)

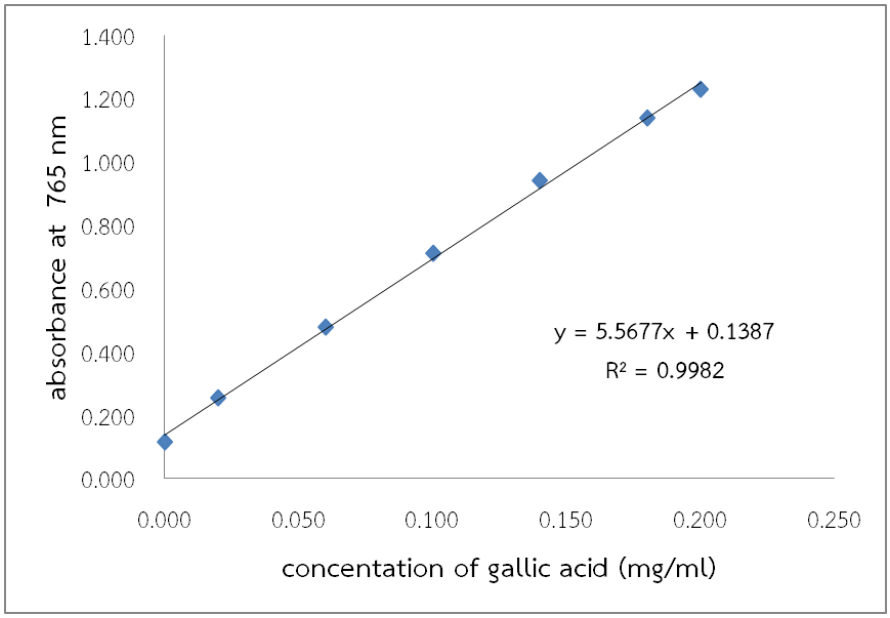
ผสมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (ความเข้มข้น 0.02-0.2 mg/ml) ผสมกับสารละลาย 80% methanol ปริมาตร 2 µl จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกแต่ละความเข้มข้นมา 250 µl ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย 10% Folin-ciocalteau ปริมาตร 1250 µl เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 8 นาที จากนั้นเติม 7.5% Na_2CO_3 ปริมาตร 1000 µl เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer ทำการทดลอง 5 ซ้ำ และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (mg GAE.g^{-1} dried extract)

1.3 การสร้างกราฟมาตรฐาน

สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm (แกน y) กับความเข้มข้นสารมาตรฐานกรดแกลลิก (แกน x) ทำการหาสมการเส้นตรงและค่า R^2 จากกราฟมาตรฐาน

ตารางที่ ค.1.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) สำหรับการศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่

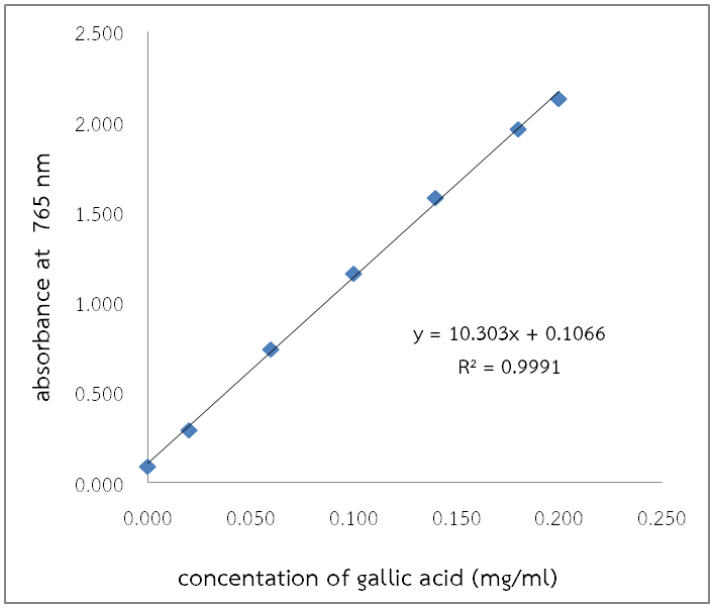
ความเข้มข้นของ Gallic acid (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm					ค่าเฉลี่ย	SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5		
0.00	0.10	0.12	0.12	0.11	0.11	0.12	0.01
0.02	0.23	0.25	0.25	0.29	0.25	0.26	0.02
0.06	0.46	0.49	0.49	0.48	0.48	0.48	0.01
0.10	0.70	0.72	0.72	0.71	0.70	0.71	0.01
0.14	0.91	0.96	0.95	0.95	0.94	0.94	0.02
0.18	1.02	1.16	1.17	1.17	1.18	1.14	0.07
0.20	1.16	1.26	1.25	1.27	1.21	1.23	0.05



ภาพที่ ค.1.1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ได้สมการ y = 5.5677x + 0.1387 (R^2 = 0.998) ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 765 nm กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก สำหรับการศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่

ตารางที่ ค.1.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) สำหรับการศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล

ความเข้มข้นของ Gallic acid (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm					ค่าเฉลี่ย	SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5		
0.00	0.10	0.11	0.07	0.10	0.08	0.09	0.02
0.02	0.25	0.30	0.31	0.31	0.31	0.30	0.03
0.06	0.72	0.76	0.75	0.73	0.73	0.74	0.02
0.1	1.16	1.18	1.20	1.12	1.15	1.16	0.03
0.14	1.53	1.60	1.62	1.59	1.58	1.58	0.03
0.18	1.93	1.99	1.98	1.94	1.96	1.96	0.02
0.20	2.05	2.14	2.11	2.21	2.14	2.13	0.06



ภาพที่ ค.1.2 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ได้สมการ y = 10.303x + 0.1066 (R^2 = 0.999) ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 765 nm กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก สำหรับการศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล

ภาคผนวก ค.2 การเตรียมสารและการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

2. การตรวจสอบหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ตามวิธีการของ Zhisen et al. (1999)

2.1 การเตรียมสารเคมี

2.1.1 สารละลายโซเดียมไนไตร์ต ($NaNO_2$) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ทำการชั่งสาร $NaNO_2$ 5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 ml เก็บสารละลายในขวดใสที่อุณหภูมิห้อง

2.1.2 สารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ทำการชั่งสาร $AlCl_3$ 10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 ml เก็บสารละลายในขวดใสที่อุณหภูมิห้อง

2.1.3 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ทำการชั่งสาร NaOH 4 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 ml เก็บสารละลายในขวดใสที่อุณหภูมิห้อง

2.1.4 สารละลายมาตรฐานคาเทชิน (catechin) ความเข้มข้น 1000 ppm ทำการชั่งสาร 0.01 กรัม ละลายด้วย 80% ethanol ปรับปริมาตรเป็น 10 ml จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.03-0.3 mg/ml เพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน

2.2 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (total flavonoid content)

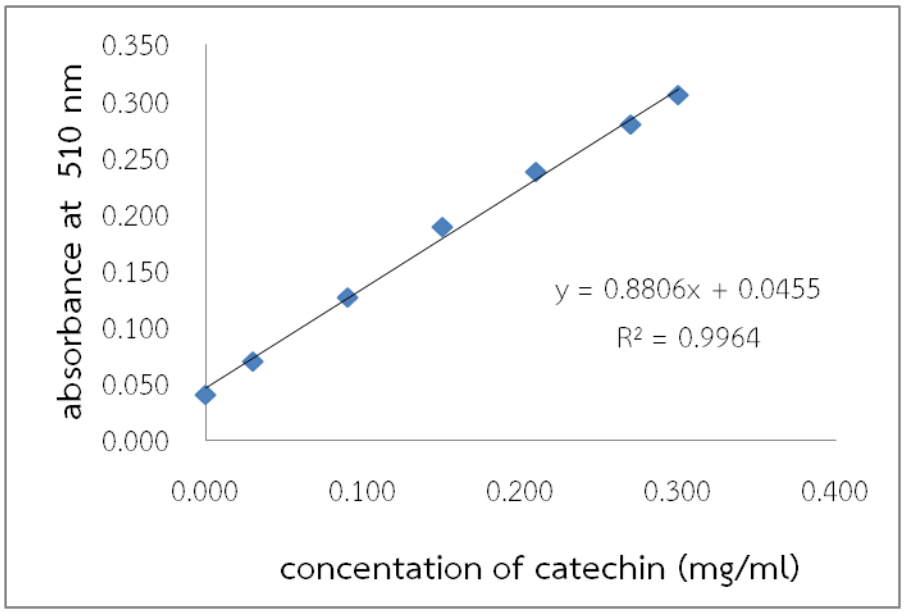
ผสมสารละลายมาตรฐานคาเทชินความเข้มข้น 1000 ppm ผสมกับสารละลาย 80% ethanol 3 µl จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานคาเทชินแต่ละความเข้มข้นมาปริมาตร 0.5 ml แล้วเติมน้ำกลั่น 2 ml และเติมสารละลายโซเดียมไนไตร์ต ($NaNO_2$) ความเข้มข้น 5% ปริมาณ 0.15 ml เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นเติมสารละลายอะลูเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 0.15 ml เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 ml และเติมน้ำกลั่น 0.7 ml ผสมสารให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบกำหนดนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer ทำการทดลอง 5 ซ้ำ และหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานคาเทชินในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของคาเทชินต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (mg $CE.g^{-1}$ dried extract)

2.3 สร้างกราฟมาตรฐาน

การสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 nm กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานคาเทชิน ทำการหาสมการเส้นตรงและค่า R^2 จากกราฟมาตรฐาน

ตารางที่ ค.2.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 nm ของสารมาตรฐานคาเทชิน (Catechin) สำหรับการศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่

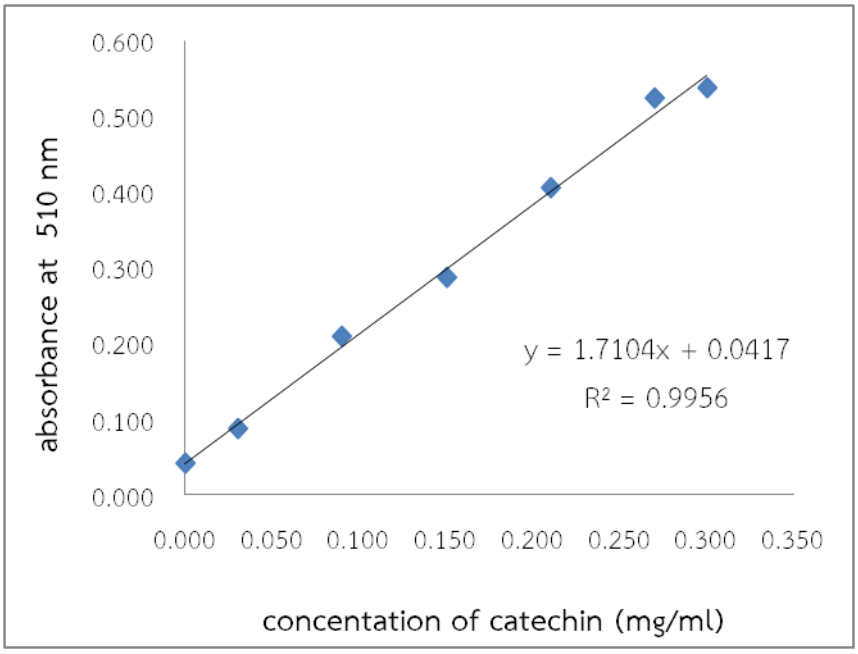
ความเข้มข้นของคาเทชิน (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm					ค่าเฉลี่ย	SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5		
0.00	0.042	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040	0.001
0.03	0.068	0.070	0.069	0.069	0.070	0.069	0.001
0.09	0.122	0.128	0.125	0.127	0.129	0.126	0.003
0.15	0.184	0.189	0.188	0.190	0.188	0.188	0.002
0.21	0.231	0.240	0.239	0.238	0.235	0.237	0.004
0.27	0.279	0.280	0.284	0.287	0.262	0.278	0.010
0.30	0.296	0.313	0.305	0.321	0.287	0.304	0.013



ภาพที่ ค.2.1 กราฟมาตรฐานคาเทชิน ได้สมการ y= 0.8806x + 0.0455 (R^2 = 0.996) ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 510 nm กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานคาเทชิน สำหรับการศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่

ตารางที่ ค.2.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 nm ของสารมาตรฐานคาเทชิน (Catechin) สำหรับการศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ 6 สายพันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล

ความเข้มข้นของคาเทชิน (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm					ค่าเฉลี่ย	SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5		
0.00	0.04	0.04	0.04	0.05	0.04	0.04	0.00
0.03	0.09	0.09	0.08	0.09	0.09	0.09	0.00
0.09	0.20	0.22	0.20	0.22	0.21	0.21	0.01
0.15	0.29	0.31	0.23	0.29	0.31	0.29	0.03
0.21	0.40	0.42	0.42	0.42	0.37	0.41	0.02
0.27	0.52	0.54	0.51	0.53	0.52	0.52	0.01
0.30	0.53	0.53	0.55	0.54	0.53	0.54	0.01



ภาพที่ ค.2.2 กราฟมาตรฐานคาเทชิน ได้สมการ y= 1.7104x + 0.0417 (R^2 = 0.996) ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว510 nm กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานคาเทชิน สำหรับการศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล

ภาคผนวก ค.3 การเตรียมสารและการคำนวณหาปริมาณวิตามินซี

3. การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี (ascorbic acid)

3.1 การเตรียมสารเคมี

3.1.1 สารละลาย 3% Metaphosphoric acid (HPO_3) ใน 8% glacial acetic acid ปริมาตร 500 ml (สาร A) ทำการเทสาร glacial acetic acid ปริมาตร 40 ml ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นอยู่ 200 ml คนให้เข้ากันดี (ควรทำในตู้ดูดควัน) ชั่ง HPO_3 15 กรัม ละลายในสารละลาย glacial acetic acid ที่เตรียมไว้ จากนั้นคนด้วยแท่งแก้วหรือนำไปกวนด้วย magnetic stirrer ให้เข้ากัน และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 500 ml (ทำในตู้ดูดควัน) แล้วกรองสารด้วยกระดาษกรอง Whatman#2 เก็บในขวดแก้วปิดฝาสนิทสีชา หรือหุ้มด้วยกระดาษฟอยล์เพื่อป้องกันแสง เก็บรักษาในตู้เย็น 5-10 °C มีอายุการใช้งาน 7-10 วัน นับจากวันที่เตรียมสาร

3.1.2 สารละลาย 0.02% 2,6-dichloroindophenol sodium salt or dye solution ปริมาตร 500 ml (สาร B) เตรียมตัวทำละลาย คือ Sodium hydrogen carbonate ($NaHCO_3$) หนัก 0.105 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 125 ml ชั่งสาร 2,6-dichloroindophenol sodium salt หนัก 0.105 g ละลายในตัวทำละลายที่เตรียมไว้ จากนั้นคนด้วยแท่งแก้วหรือนำไปกวนด้วย magnetic stirrer ให้เข้ากัน โดยสังเกตที่สารละลายจะไม่มีเม็ดสีหลงเหลืออยู่ และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 500 ml กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman#2 เก็บในขวดแก้วปิดฝาสนิทสีชา หรือหุ้มด้วยกระดาษฟอยล์เพื่อป้องกันแสง เก็บรักษาในตู้เย็น 5-10 °C มีอายุการใช้งาน 7-10 วัน นับจากวันที่เตรียมสาร

3.1.3 การเตรียมสาร Standard ascorbic acid solution สารละลายวิตามินซีมาตรฐาน 1 mg/ml std.AsA ปริมาตร 10 ml (สาร C) ชั่งสาร L-ascorbic acid ปริมาณ 0.01 g ละลายสาร L-ascorbic acid ในสารละลาย 3% Meta-Phosphoric acid ใน 8% Glacial acetic acid ปริมาตร 6 ml เมื่อสารละลายดีแล้วให้ปรับปริมาตรเป็น 10 ml จะได้ความเข้ม 1 mg/ml

3.2 การคำนวณหาปริมาณวิตามินซี

เตรียมตัวอย่างใบสดของมะละกอจำนวน 5 กรัม เติมน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด centrifuge นำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่อง Homogenizer แล้วนำมากรองสารด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จนได้สารละลายส่วนใส บันทึกน้ำหนักไว้ จากนั้นนำมาหาวิตามินซีของน้ำคั้นตัวอย่างใบมะละกอ โดยการเติมสารละลาย A ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงใน Erlenmeyer flask แล้วเติมน้ำคั้นตัวอย่างลงไป 2 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากัน จากนั้นนำไปไตรเตรทด้วยสาร B จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู ที่มีความเข้มใกล้เคียงกับวิตามินซีมาตรฐาน บันทึกปริมาตรของสาร B ที่ใช้ไตเตรท

3.3 คำนวณปริมาณวิตามินซี

สูตร % mg Ascorbic acid/100 กรัม = [(X-B) (F/E) (V/Y)] x 100

โดย X = ปริมาณของสารที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง (ml)
B = ค่าเฉลี่ยของสาร dye ที่ใช้ไตเตรทกับ blank (ml))
F = mg equivalent ascorbic acid/ 1 ml.Dye solution
E = ปริมาณสารมาตรฐานที่ใช้ไตเตรท (ml)
V = ปริมาณสารละลายที่ใช้ไตเตรท (ml)
Y = ปริมาตรสารละลายทั้งหมดที่นำมาไตเตรท (ml)

ภาคผนวก ค.4 การเตรียมสารและการคำนวณหาปริมาณสารอัลคาลอยด์

4. การวิเคราะห์อัลคาลอยด์

4.1 การเตรียมสารเคมี

4.1.1 การเตรียม 10% CH_3CO_2H in ethanol ปิเปตสาร CH_3CO_2H ปริมาตร 100 ml จากนั้นปรับปริมาตรด้วย ethanol จนครบ 1000 ml เก็บสารละลายในขวดใสที่อุณหภูมิห้อง

4.1.2 การเตรียม 1% NH_4OH ปริมาตร 100 ml ปิเปต NH_4OH ปริมาตร 1 ml จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 ml เก็บสารละลายในขวดใสที่อุณหภูมิห้อง

4.2 การหาปริมาณอัลคาลอยด์

เตรียมตัวอย่างใบสดของมะละกอ 5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ เติมตัวสกัด 10% CH_3CO_2H in ethanol ปริมาตร 200 มิลลิลิตร บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ปิดปากฝาด้วยกระดาษฟอยด์ เมื่อครบกำหนดนำมากรองสารด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรอง เบอร์ 1 ใส่ในหลอด centrifuge นำสารละลายส่วนใสที่ได้ไปบ่มใน water bath อุณหภูมิ 65 $^{\circ}$C เพื่อระเหยสารให้เหลือ ¼ ของปริมาตรเดิม นำมาเติม Concentrate NH_4OH จนสารละลายเริ่มนอนก้นหรือมี pH ~9 (ควรทำในตู้ดูควัน) แล้วเทใส่กระดาษกรองสาร เบอร์ 1 (ที่ชั่งน้ำหนักกระดาษกรองแล้ว) ล้างตะกอนด้วย 1% NH_4OH ที่ติดหลอด รอให้ตัวอย่างแห้ง ทำการชั่งน้ำหนักตัวอย่างพร้อมกับกระดาษกรอง คำนวณปริมาณสาร จากสูตร

$$\% \text{ ปริมาณอัลคาลอยด์} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}{\text{น้ำหนักใบ}} \times 100$$

ภาคผนวก ค.5 การเตรียมสารและการคำนวณหาปริมาณฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH free radical scavenging

5. การตรวจสอบการหาปริมาณฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH free radical scavenging

5.1 เตรียมสารเคมี

5.1.1 สารละลาย DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น $6x10^{-5}$ M ปริมาตร 100 ml

น้ำหนักโมเลกุลของ DPPH เท่ากับ 394.32 g/mol

จากสูตร $n = \frac{g}{MW}$

แทนค่า g = $6x10^{-5}$ mol/l x 394.32 g/mol

= 0.0237 g/l

ต้องการเตรียม DPPH ปริมาตร 100 ml จะต้องชั่ง DPPH = (0.0237 g/l x 100 ml) / 1000 ml = 0.0024 g จากนั้นนำมาละลายใน absolute methanol ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml แล้วเก็บไว้ในขวดสีชา อุณหภูมิ 4 °C ควรเตรียมทันทีก่อนใช้ ใช้ได้ประมาณ 3 วัน

5.1.2 สารมาตรฐานโทรล๊อก (trolox) ความเข้มข้น 2 mM

น้ำหนักโมเลกุลของ Trolox = 250.29 g/mol

จากสูตร $n = \frac{g}{MW}$

แทนค่า g = (2 mM x 0.001) (250.29 g/mol)

= 0.50058 g/l

ต้องการเตรียม สารมาตรฐานโทรล๊อก 10 ml ดังนั้นต้องชั่งสารมา = (0.50058 g/l x 10 ml) / 1000 ml = 0.005 g ละลายใน 80% methanol ปรับปริมาตรให้ครบ 10 mL แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C

5.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH free radical scavenging

โดยผสมสารละลายมาตรฐานโทรล๊อก ความเข้มข้น 0.04 - 0.6 mg/mL กับสารละลาย DPPH ที่ละลายในตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น $6x10^{-5}$ M ปริมาตร 950 µl ผสมสารให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer ทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ และคำนวณหาค่าร้อยละความสามารถการต้านอนุมูลอิสระ (% radical scavenging activity)

5.2 ตัวอย่างการคำนวณหาค่าร้อยละความสามารถการต้านอนุมูลอิสระ (% radical scavenging activity) จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\% \text{ radical scavenging activity} = \left[\frac{\text{A control} - \text{A sample}}{\text{A control}}\right] x100$$

เมื่อ A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสารเอทานอล

ภาคผนวก ค.6 การเตรียมสารและการคำนวณหาฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC

6. การคำนวณหาฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC

6.1 การเตรียมสารเคมี

6.1.1 สารละลายคอปเปอร์คลอไรด์ ($CuCl_2$) ความเข้มข้น 10^{-2} M ปริมาตร 100 ml
น้ำหนักโมเลกุลของ $CuCl_2$ = 170.48 g/mol

จากสูตร $n = \frac{g}{MW}$

แทนค่า g = 0.01 mM x 170.48 g/mol
= 1.7048 g/L

ต้องการเตรียม $CuCl_2$ ปริมาตร 100 ml ดังนั้น ต้องชั่งสารมา 0.17048 g นำมาละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

6.1.2 สารละลาย Ammonium acetate (NH_4Ac) buffer ที่ pH =7.0 ความเข้มข้น 1 M ปริมาตร 100 ml
น้ำหนักโมเลกุลของ NH_4Ac = 77.08 g/mol

จากสูตร $n = \frac{g}{MW}$

แทนค่า g = (1000 x 0.001) (77.08 g/mol)
= 77.08 g/L

ต้องการเตรียมสาร NH_4Ac ปริมาตร 100 ml ดังนั้น ต้องชั่งสารมา 7.708 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

6.1.3 สารละลาย Neocuproine ความเข้มข้น 7.5×10^{-3} M ปริมาตร 100 ml
น้ำหนักโมเลกุลของ Neocuproine = 208.26 g/mol

จากสูตร $n = \frac{g}{MW}$

แทนค่า g = (7.5×10^{-3} M) (208.26 g/mol)
= 1.56195 g/L

ต้องการเตรียมสาร Neocuproine ปริมาตร 100 ml ดังนั้น ต้องชั่งสารมา 0.156195 กรัม ละลายใน 96% ethanol แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

6.1.4 สารละลายมาตรฐาน Trolox ความเข้มข้น 1 mM

น้ำหนักโมเลกุลของ Trolox = 250.29 g/mol

จากสูตร $n = \frac{g}{MW}$

แทนค่า g = (1 mM x 0.001) (250.29 g/mol)

= 0.2503 g/L

ต้องการเตรียมสาร Trolox ปริมาตร 5 ml ดังนั้น ต้องชั่งสารมา 0.2503 g/L x 0.005 ml = 0.0013 g ละลายใน 96% ethanol ปรับปริมาตรให้ครบ 5 ml แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 $^{\circ}$C

6.2 การคำนวณหาฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC

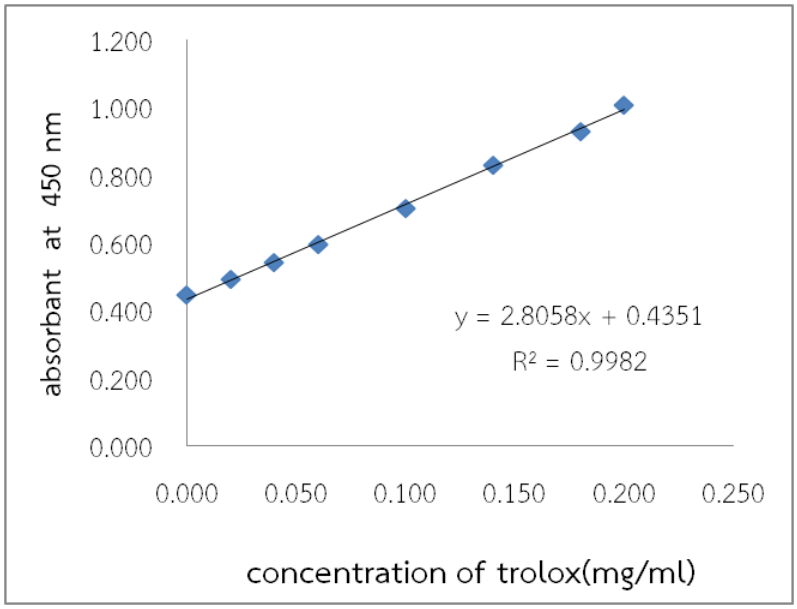
ผสมสารละลายมาตรฐานโทรล๊อก ความเข้มข้น 0.2-0.02 mg/ml กับสารละลาย 96% ethanol จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 1100 µl เติมลงในสารละลาย $CuCl_2$ ปริมาตร 1000 µl สาร neocuproine ปริมาตร 1000 µl และเติมสาร NH_4Ac ปริมาตร 1000 µl ผสมสารให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer ทำการทดลอง 5 ซ้ำ และหาฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี CUPRAC ของสารตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานโทรล๊อก ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของโทรล๊อกต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (mg TE.g^{-1} dried extract)

6.3 สร้างกราฟมาตรฐาน

การสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 nm กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานโทรล๊อก ทำการหาสมการเส้นตรงและค่า R^2 จากกราฟมาตรฐาน

ตารางที่ ค.6.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 nm ของสารมาตรฐานโทรล๊อก (Trolox) สำหรับการศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่

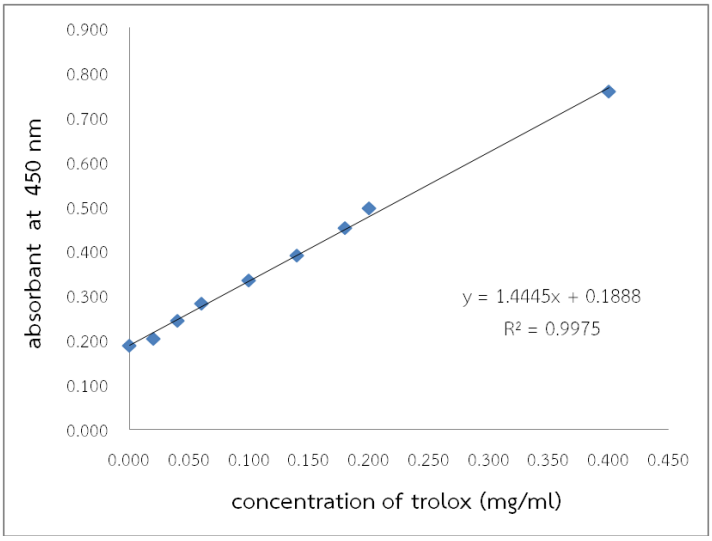
ความเข้มข้นของโทรล๊อก (mg/ml)	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm					ค่าเฉลี่ย	SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5		
0.00	0.43	0.44	0.45	0.46	0.46	0.45	0.02
0.02	0.49	0.48	0.49	0.49	0.50	0.49	0.01
0.04	0.55	0.54	0.54	0.54	0.55	0.54	0.01
0.06	0.60	0.59	0.59	0.60	0.61	0.60	0.01
0.10	0.70	0.70	0.70	0.71	0.71	0.71	0.01
0.14	0.83	0.82	0.83	0.83	0.85	0.83	0.01
0.18	0.96	0.96	0.95	0.95	0.85	0.93	0.05
0.20	1.00	1.01	1.01	1.02	1.02	1.01	0.05



ภาพที่ ค.6.1 กราฟมาตรฐานโทรล๊อก ได้สมการ y= 2.8058x + 0.4351 (R^2 = 0.998) ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 450 nm กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานโทรล๊อก สำหรับการศึกษาระยะใบต่อปริมาณสารพฤกษเคมีของใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่

ตารางที่ ค.6.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 nm ของสารมาตรฐานโทรล๊อก (trolox) สำหรับการศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุ์กับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล

ความเข้มข้นของโทรล๊อก	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm					ค่าเฉลี่ย	SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5		
0	0.19	0.20	0.17	0.19	0.20	0.19	0.01
0.02	0.21	0.20	0.21	0.20	0.21	0.20	0.00
0.04	0.24	0.23	0.24	0.25	0.26	0.24	0.01
0.06	0.30	0.26	0.26	0.27	0.32	0.28	0.02
0.1	0.32	0.34	0.34	0.34	0.35	0.33	0.01
0.14	0.37	0.41	0.40	0.39	0.38	0.39	0.01
0.18	0.44	0.45	0.47	0.45	0.46	0.45	0.01
0.2	0.47	0.49	0.52	0.50	0.51	0.50	0.02
0.4	0.71	0.76	0.77	0.77	0.78	0.76	0.03



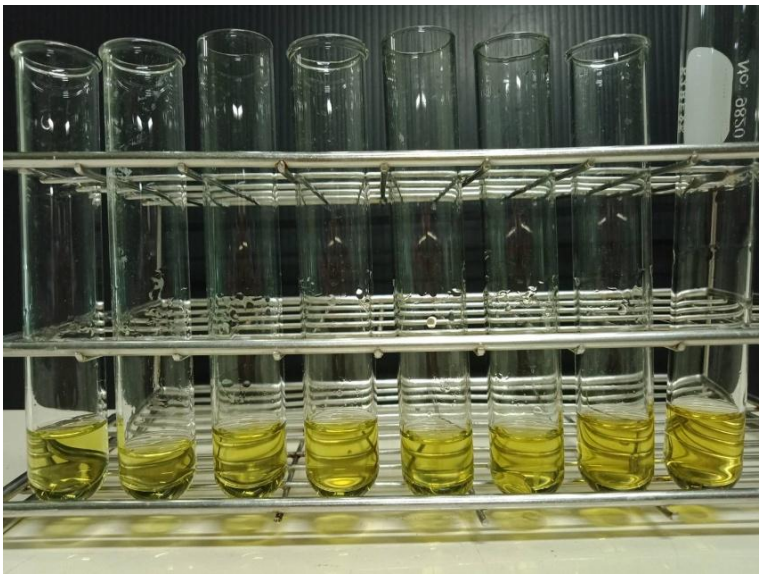
ภาพที่ ค.6.2 กราฟมาตรฐานโทรล๊อก ได้สมการ y= 1.4445x + 0.1888 (R^2 = 0.998) ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 450 nm กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานโทรล๊อก สำหรับการศึกษาปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุ์กับฤดูกาลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีในใบมะละกอ 6 พันธุ์ จาก 3 ฤดูกาล

ภาคผนวก ง
ภาพสารละลายมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณสารพฤกษเคมี และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ภาพที่ ง.1 สารมาตรฐานกรดแกลลิค (gallic acid) ในการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ภาพที่ ง.2 สารมาตรฐานคาเทชิน (catechin) ในการวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ภาพที่ ง.3 การไตเตรทสารตัวอย่างจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู ที่มีความเข้มใกล้เคียงกับวิตามินซีมาตรฐาน



ภาพที่ ง.4 สารมาตรฐานในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ภาพที่ ง.5 สารมาตรฐานโทรล๊อก (trolox) ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี CUPRAC

ภาคผนวก จ
ภาพสายพันธุ์มะละกอที่ใช้ในการศึกษา

ภาพที่ จ.1 มะละกอพันธุ์แขกดำเกษตร

ภาพที่ จ.2 มะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ

ภาพที่ จ.3 มะละกอพันธุ์ศรีราชภัฏ

ภาพที่ จ.4 มะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์

ภาพที่ จ.5 มะละกอพันธุ์เรดเลดี้

ภาพที่ จ.6 มะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่

ภาคผนวก ฉ
ค่า Hue angle

ภาคผนวก ฉ ค่า Hue angle ตามวิธีการของ McGuire (1992)

วัดสีใบมะละกอพันธุ์เหลืองกระบี่ทั้ง 3 ระยะ เพื่อศึกษาค่าสีและการนำไปใช้เป็นดัชนีในการกำหนดระยะการเลือกใบมะละกอ แปลงค่าสีที่ http://rhscf.orgfree.com/c.htm บันทึกผลในหน่วย L* a* b* จากนั้นนำค่าเฉลี่ย a* b* แปลงเป็นค่า Hue angle ตามวิธีการของ McGuire (1992)

โดย $h^* = \tan^{-1}\left(\frac{b*}{a*}\right)$

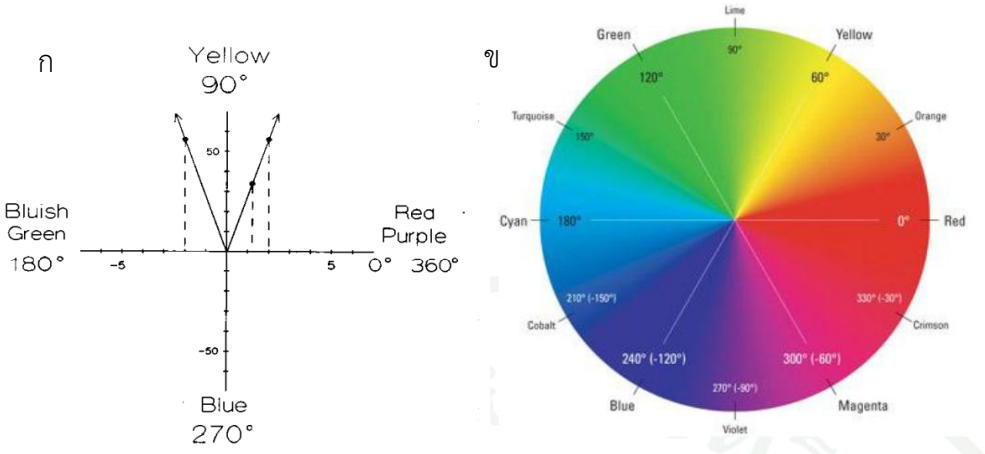
ค่า Hue angle เป็นตัวเลขที่ระบุตำแหน่งของสีในกราฟ มีหน่วยเป็นองศา

ถ้า h* = 0° แสดงว่าเป็น สีแดง

h* = 90° แสดงว่าเป็น สีเหลือง

h* = 180° แสดงว่าเป็น สีเขียว

h* = 270° แสดงว่าเป็น สีน้ำเงิน



ภาพที่ ฉ.1 ระบบค่าสี CIELAB และ CLELCH: ก คือ ค่า L* a* และ b* และ ข คือ ค่า hue angle (h*)

ที่มา: McGuire (1992)

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวธัญญารัตน์ ชุ่มหมื่นไวย์
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2554 - 2558 วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ประวัติการวิจัย	ทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์บางส่วนประจำปี การศึกษา 2562 จากคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ทุนสนับสนุนเพื่อใช้ในการค้นคว้าวิจัย ประจำปี 2561 จากมูลนิธิพระบรมราชานุสรณ์พระบาทสมเด็จพระปกเกล้าเจ้าอยู่หัวและสมเด็จพระนางเจ้ารำไพพรรณี
ประวัติการทำงาน	เดือน ม.ค. – ก.ค. พ.ศ. 2561 ผู้ช่วยวิจัยโครงการ “สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของใบมะละกอ”
ผลงานวิชาการ	**ธัญญารัตน์ ชุ่มหมื่นไวย์** ทินน์ พรหมโชติ และ กาญจนา รุ่งรัชกานนท์. 2562. ผลของอายุใบมะละกอต่อปริมาณสารพฤกษเคมี. ใน รวมบทคัดย่อการประชุมทางวิชาการ ระดับชาติ มอบ.วิจัย ครั้งที่ 13 น. 36-43. สำนักงานส่งเสริมบริหารงานวิจัย บริการวิชาการ และทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี