

วิชาสัมมนา (1201-480)

การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในต้นอ่อนทานตะวัน

Study on antioxidants in sunflower seedlings

โดย

นางสาวพัชราวดี คงกิจ

รหัสนักศึกษา 60120041064

อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์ภัทรรลดา สุธรรมวงศ์

ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ภาคการศึกษาที่ 2/2563

วันที่ 13 เดือน มีนาคม พ.ศ. 2564

เรื่อง : การศึกษาการเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระในต้นอ่อนทานตะวัน
(Study on antioxidants in sunflower seedlings)

ผู้สัมมนา: นางสาวพัชรารดี คงกิจ รหัสนักศึกษา 60120041064

หลักสูตร : วิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชา : พืชไร่

อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์ภัทร์ลดา สุธรรมวงศ์

บทคัดย่อ

สัมมนาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมการผลิตต้นอ่อนทานตะวันเพื่อให้ได้สารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น โดยการฉีดพ่นสารโซเดียมคลอไรด์ที่ 400 มิลลิโมลาร์ ส่งผลให้ทานตะวันอ่อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้น หรือการแช่เมล็ดในสารละลายกรดซาลิซิลิกพบว่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 3 ของการเพาะและจะค่อย ๆ ลดต่ำลง หรือการฉีดพ่นสารละลาย Phenylalanine ในปริมาณความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นอ่อนทานตะวันมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ปริมาณฟีนอลิก และปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุด หรือหากปลูกเพื่อเก็บเกี่ยวในระยะที่เหมาะสมพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกมีมากที่สุดเมื่อต้นอ่อนทานตะวันมีอายุ 5 วันหลังเพาะ

คำสำคัญ: ต้นอ่อนทานตะวัน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โซเดียมคลอไรด์ กรดซาลิซิลิก Phenylalanine เก็บเกี่ยว

ศึกษาการเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระในต้นอ่อนทานตะวัน

บทนำ

อาหารเพื่อสุขภาพ คืออาหารที่นอกเหนือจากสารอาหารหลักที่จำเป็นต่อร่างกาย อาหารเพื่อสุขภาพยังช่วยในการลดต่อโรคต่าง ๆ ปัจจุบันผู้บริโภคนิยมบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพ โดยเฉพาะผักกอกหรือไมโครกรีน ซึ่งเป็นแหล่งของสารอาหารที่มีคุณค่าและมีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ เนื่องจากมี วิตามิน แร่ธาตุ และสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าผักใบเขียว พืชที่นิยมนำมาบริโภค ได้แก่ ถั่วเขียว ถั่วดำ ถั่วเหลือง ถั่วลันเตา ทานตะวัน และข้าว โดยเรียกรวมกันว่าผักกอก

ต้นอ่อนทานตะวัน (*Helianthus annuus* L.) หรือทานตะวันงอก เป็นผักที่นิยมบริโภคในปัจจุบันเนื่องจากใช้ระยะเวลาในการเพาะปลูกสั้น นำมาประกอบอาหารได้ง่าย และต้นอ่อนทานตะวันมีสารที่มีคุณสมบัติทางด้านพิษเคมี มีสารอาหาร แร่ธาตุ วิตามิน และสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการดูแลสุขภาพและการป้องกันโรคต่าง ๆ สารพิษเคมีเหล่านี้มีคุณสมบัติที่เกี่ยวกับการต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) การต้านจุลินทรีย์ (anti-microbial) การบรรเทาอาการของโรคเบาหวาน (anti-diabetic) การบรรเทาอาการของโรคความดันโลหิตสูง (anti-hypertensive) การต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) และการสมานบาดแผล (wound healing) (Jiraungkoorskul, 2016; Guo et al., 2017 อ้างโดย มยุรา และคณะ, 2019) สารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดและต้นอ่อนทานตะวัน ได้แก่ วิตามิน E วิตามิน C แคโรทีนอยด์และเอนไซม์ที่ช่วยในการต้านอนุมูลอิสระ คือ Catalase, Glutathione dehydrogenase, Guaiacol peroxidase, Glutathione reductase (Guo et al., 2017 อ้างโดย มยุรา และคณะ, 2019)

สายพันธุ์ของเมล็ดทานตะวันที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดมีหลายชนิด มีทั้งพันธุ์ผสมเปิด พันธุ์สังเคราะห์ และพันธุ์ลูกผสม โดยสายพันธุ์เมล็ดทานตะวันที่ได้รับความนิยมอย่างสูงในการนำมาเพาะเป็นต้นอ่อนทานตะวัน คือสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตุเอล จากการศึกษาวิจัยต้นอ่อนทานตะวันในประเทศไทย พบว่า ปริมาณวิตามิน C สารฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งทำให้ต้นอ่อนทานตะวันที่อายุ 5 วัน มีความเหมาะสมต่อการบริโภคมากที่สุด (Pagamas and Krongkaomasan, 2013; Paseephol et al., 2015 อ้างโดย มยุรา และคณะ, 2019) และหลังจาก

นั้นปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวัน มีแนวโน้มลดลงหลังจากมีอายุ 5 วัน (Guo et al., 2017 อ้างโดย มยุรา และคณะ, 2019) จึงได้มีหลาย ๆ งานวิจัยศึกษาในด้านการเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในต้นอ่อนทานตะวัน ดังนั้นผู้สัมมนาจึงได้รวบรวมวิธีหรือแนวทางจัดการในการเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระหรือสารสำคัญในทานตะวันงอก เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดการทางการเกษตรต่อไป

สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ คือโมเลกุลของสารที่สามารถจับกับตัวรับและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลสารอื่น ๆ ได้ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ ซึ่งสารอนุมูลอิสระ เกิดเป็นปฏิกิริยาแบบลูกโซ่และเข้าทำลายเซลล์ของร่างกาย ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระเข้าไปยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ โดยการเข้าไปจับกับสารอนุมูลอิสระและยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยถูกออกซิไดซ์ (นิรนาม, 2563)

การสร้างสารอนุมูลอิสระในพืช คือการที่พืชมีการปรับตัวที่ระดับชีวเคมี เพื่อป้องกันอันตรายจากความเสียหายระดับเซลล์ เช่น ภายใต้อาการขาดน้ำ ซึ่งสาเหตุที่ทำให้มีการสร้างอนุมูลอิสระ หรือ Reactive Oxygen Species (ROS) ในเซลล์พืชที่มากกว่าปกติ ทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า “oxidative stress” โดย ROS ที่เพิ่มมากขึ้นกลายเป็นพิษและสร้างความเสียหายต่อเซลล์พืช อย่างไรก็ตาม พืชสามารถปรับเปลี่ยนกระบวนการทางชีวเคมีเพื่อหลีกเลี่ยงอันตรายที่เกิดจากอนุมูลอิสระที่มากเกินไปในเซลล์ โดยการเพิ่มความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระให้มากขึ้น พืชเพิ่มการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ (enzymatic antioxidant) เช่น Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Ascorbate Peroxidase (APX), Glutathione Reductase (GR) และสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ (non-enzymatic antioxidant) เช่น Ascorbic Acid (ASH), Glutathione (GSH), Phenolic Compounds และ α -tocopherols (Gill and Tuteja, 2010 อ้างโดย ช่อแก้ว, 2562) พืชจะสร้างสารประกอบฟีนอลมากขึ้นเมื่อพืชเจอสภาวะแล้ง ซึ่งเป็นกลไกระดับเซลล์ชนิดหนึ่งที่พบในพืชหลาย ๆ ชนิด เพื่อป้องกันความเสียหายที่เกิดจากปริมาณอนุมูลอิสระที่มากเกินไป (Dixon and Paiva, 1995)

การเพิ่มฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระในทานตะวัน

โซเดียมคลอไรด์ (*Sodium Chloride: NaCl*)

การเจริญเติบโตของพืชขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมต่าง ๆ เช่น น้ำ แสง อุณหภูมิ สารอาหาร และแร่ธาตุ และความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ยังเป็นปัจจัยพื้นฐานที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งมีงานวิจัยส่วนใหญ่รายงานว่า เมื่อโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้นส่งผลต่อการเหี่ยวเฉาน้ำในดิน และการดูดซึมสารอาหารจากดินเนื่องจากพืชอยู่ในสภาวะความเครียดที่เรียกว่า ความเครียดจากความเค็ม และยังส่งผลต่อเนื่องไปยังพืชโดยลดอัตราการงอก น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความยาวรากรวม และความยาวหน่อ (Shrivastava and Kumar, 2015 อ้างโดย Suchawadee et al., 2018)

Suchawadee et al., (2018) ศึกษาการเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระ ได้ทำการทดลองการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยการนำต้นอ่อนทานตะวันในปริมาณ 2 กรัม มาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ และเติมเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 20 มิลลิลิตร จากนั้นจึงทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำมาหมุนเหวี่ยงที่ $10,000 \times g$ เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นจึงใช้สารเหวี่ยงตะกอนเพื่อตรวจหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) โดยวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวันโดยใช้ DPPH free radical scavenging activity ตามวิธีการของ Enujiugha et al., (2012) ส่วนผสมของปฏิกิริยาซึ่งมีตัวอย่างสารสกัด 0.2 มิลลิลิตร และผสมกับสารละลาย DPPH ในความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ในปริมาณ 3.8 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ค่าการวัดการดูดซับของปฏิกิริยาได้ที่ 517 นาโนเมตร การคำนวณหาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยใช้สูตร

Scavenging activity (%) = $[(1 - \text{absorbance of sample at } 517 \text{ nm} / \text{absorbance of control at } 517 \text{ nm})] \times 100$.

เนื่องจากการเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้โซเดียมคลอไรด์ พบว่า การที่ต้นอ่อนทานตะวันมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของสาร NaCl ความเข้มข้นที่ทำให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุดคือระดับความเข้มข้น 800 มิลลิโมลาร์ ให้ค่าในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ $31.870 \pm 5.303\%$ แต่ในทางสถิติมีค่าไม่แตกต่างกันกับความเข้มข้นของสาร NaCl ในระดับความเข้มข้น 400, 600 และ 1000 มิลลิโมลาร์ มีค่าเท่ากับ $26.302 \pm 1.770\%$, $26.895 \pm 1.388\%$ และ $31.194 \pm 2.233\%$ ตามลำดับ ส่วนระดับความเข้มข้นที่ให้

ค่าในการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดคือ control (0) ที่ให้ค่าในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ $18.066 \pm 0.897\%$ แต่ในทางสถิติมีค่าไม่แตกต่างกันกับความเข้มข้นของสาร NaCl ในระดับความเข้มข้น 200, 400 มิลลิโมลาร์ มีค่าเท่ากับ $18.828 \pm 2.036\%$, $26.302 \pm 1.770\%$

ตารางที่ 1 ผลของความเข้มข้นของ NaCl ต่าง ๆ ในฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในทานตะวันงอก

NaCl treatment (mM)	Antioxidant activity (%)
control	$18.066 \pm 0.897a$
200	$18.828 \pm 2.036ab$
400	$26.302 \pm 1.770abc$
600	$26.895 \pm 1.388bc$
800	$31.870 \pm 5.303c$
1000	$31.194 \pm 2.233c$
F-test	*

Each value is given as mean $\pm$ SE a-b Means with different superscripts within a column indicate significant differences ($p < 0.05$)

ที่มา: ดัดแปลงจาก Suchawadee et al., (2018)

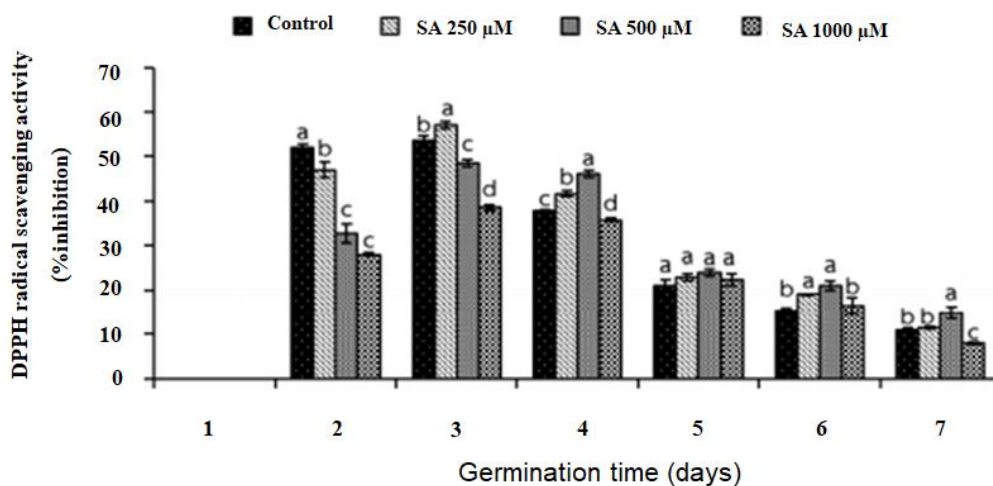
กรดซาลิซิลิก (salicylic acid, SA)

กรดซาลิซิลิก (salicylic acid, SA) คือสารประกอบฟีนอลิกที่พบอยู่ในธรรมชาติ ซึ่งเป็นกระบวนการที่พืชเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมีเพื่อสร้างอาหารจากโมเลกุลของคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ไปเป็นคาร์โบไฮเดรต ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทั้งระยะเจริญทางกิ่งก้านและระยะเจริญพันธุ์ แต่มีความอ่อนไหวต่ออุณหภูมิสูงเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในกลุ่มพืช C3 (C3 photosynthetic pathway) ในสภาพอุณหภูมิสูงและแสงแดดจัดการสังเคราะห์ด้วยแสงอาจถูกยับยั้ง (photoinhibition) ซึ่งจะทำให้ผลผลิตของพืช C3 ถูกกระทบอย่างหนัก (อภิชาติ, 2557 อ้างโดย สุดใจ และคณะ, 2019) ซึ่งสามารถสังเคราะห์จากกรดอะมิโนฟีนิลอลานีน (phenylalanine, Phe, F) ซึ่งเป็นอะมิโนจำเป็นที่ร่างกายสร้างขึ้นเองไม่ได้ กรดอะมิโนฟีนิลอลานีนจะได้รับจากการรับประทานอาหารเท่านั้น กรดซาลิซิลิกมีฤทธิ์ในการควบคุมการเจริญเติบโตและการตอบสนองทางสรีรวิทยาของพืช จึงได้จัดไว้ในกลุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และยังทำหน้าที่เป็นสัญญาณไปกระตุ้นการทำงานของยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนต่าง ๆ ที่ช่วยในการต้านทานต่อเชื้อโรค และยังทำหน้าที่กระตุ้นการเชื่อมต่อของโปรตีนที่

เป็นโครงสร้างของผนังเซลล์ซึ่งจะทำให้ผนังเซลล์มีความแข็งแรงมากขึ้นควบคุมการปิด-เปิดของปากใบ การงอกของเมล็ด การดูดซับประจุ การแสดงออกของเพศ และการต้านทานการเข้าทำลายของโรคของพืช (Hayat and Ahmad, 2007 อ้างโดย สุชาวลีวรรณ และคณะ, 2560) จากรายงานการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า การแช่เมล็ดในสารละลายกรดซาลิซิลิก สามารถเพิ่มการงอกของเมล็ดและการเติบโตของต้นอ่อนได้ ซึ่งระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดซาลิซิลิก ที่เหมาะสมจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช

นอกจากนี้ กรดซาลิซิลิกยังมีฤทธิ์ในการเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีหน้าที่ยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นตลอดเวลาให้ลดลงหรือหายไป โดยมีรายงานการศึกษาพบว่า การแช่เมล็ดในสารละลายกรดซาลิซิลิก สามารถเพิ่มศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ด้วย ซึ่งระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดซาลิซิลิกที่เหมาะสมจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช (Andarwulanand Shetty, 1999 อ้างโดย สุชาวลีวรรณ และคณะ, 2560)

สุชาวลีวรรณ และคณะ, (2560) ได้ทำการศึกษาการเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระด้วยการใช้กรดซาลิซิลิก วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) โดยคัดเลือกเมล็ดทานตะวันที่สมบูรณ์ปราศจากโรคและแมลง แบ่งเมล็ดออกเป็น 4 กลุ่ม นำเมล็ดแต่ละกลุ่มไปแช่ในสารละลายซาลิซิลิกในความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 250, 500, และ 1000 ไมโครเมตร ตามลำดับ เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ในอัตราส่วนเมล็ดต่อสารละลายกรดซาลิซิลิกเท่ากับ 1 ต่อ 5 จากนั้นนำเมล็ดไปห่อด้วยผ้าขาวบางทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำเมล็ดออกมาเพาะในถาดพลาสติกที่บรรจุด้วยแกลบดำผสมกับขุยมะพร้าว ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ภายใต้สภาพที่มีแสงธรรมชาติ อุณหภูมิ 30 ± 3 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65-70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 7 วันให้น้ำโดยการฉีดพ่นทุกวัน ทั้งนี้ในแต่ละชุดการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ ๆ ละ 70 เมล็ด ในทุก ๆ วัน และทำการสุ่มเก็บตัวอย่างต้นอ่อนทานตะวันในแต่ละชุดการทดลองเพื่อวิเคราะห์ผล พบว่าในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นและสูงที่สุดในวันที่ 3 ของการเพาะ หลังจากนั้นค่อย ๆ ลดต่ำลง การแช่เมล็ดในสารละลายกรดซาลิซิลิกก่อนการเพาะ สามารถทำให้เพิ่มศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ความเข้มข้นที่ดีที่สุดคือ 500 ไมโครเมตร มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 14.93 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติคิดเป็น 38.37 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การแช่เมล็ดด้วยสารละลายกรดซาลิซิลิกความเข้มข้น 250 และ 1000 ไมโครเมตร ไม่สามารถทำให้การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มศักยภาพได้ โดยมีค่าเท่ากับ 11.41 และ 7.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลลัพธ์แสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 ผลของการแช่กรดซาลิซิลิก ต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดของต้นอ่อนทานตะวันระหว่างการงอกใน 7 วัน

ที่มา: ดัดแปลงจาก สุขาวลีวรรณ และคณะ, (2560)

Phenylalanine (Phe)

Phenylalanine (Phe) เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารทุติยภูมิหลายชนิด มีบทบาทในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการสร้างสารทุติยภูมิของพืช ซึ่งเป็นสารที่ได้มาจากการนำจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (photosynthesis) รวมทั้งสารอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ นอกจากนี้ยังมีการหายใจ (respiration) ที่มีสารประกอบต่าง ๆ เกิดขึ้นมากมาย และมีการสร้างพลังงานด้วย ได้แก่ สารพวก คาร์โบไฮเดรต ไขมัน กรดอะมิโน โปรตีน เพียวรีน และไพริมิดีน เข้ามาสู่กระบวนการชีวสังเคราะห์ เพื่อสร้างสารชนิดต่าง ๆ ที่จำเป็นสำหรับการดำรงชีวิตอีกทอดหนึ่ง ได้แก่ สารพวก อัลคาลอยด์ (alkaloids) ฟีนอลิก (phenolics) อะซีโทจีนิน (acetogenins) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoids) (El-Din et al., 2005; Seo et al., 2015 อ้างโดย ภาณุมาศ และคณะ, 2019) นอกจากนี้ Phe ยังมีบทบาทในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

ภาณุมาศ และคณะ, (2019) ทำการศึกษาในการเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระด้วยการใช้ Phenylalanine วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำมี 6 ทรีตเมนต์ คือการแช่เมล็ดในสารละลาย Phenylalanine ความเข้มข้น 0, 100, 200, 400, 600 และ 800 มิลลิกรัมต่อลิตร การเตรียมเมล็ดโดยการนำเมล็ดทานตะวันพันธุ์อาฟาเอลและจัมโบ้มา

แช่ในสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร / ปริมาตร) นาน 3 นาที แล้วล้างน้ำไหลผ่าน 3 นาที จากนั้นนำเมล็ดมาแช่ในสารละลาย Phenylalanine ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำเมล็ดมาล้างผ่านน้ำไหล 1 นาที ทำการวิเคราะห์ศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Mun'im และคณะ , (2003) โดยเตรียม สารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์ ซึ่งประกอบด้วย DPPH ที่ละลายด้วย 95 เปอร์เซ็นต์ Ethanol ปริมาตร 1,500 ไมโครลิตร และสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ในชุดทดลอง (สำหรับชุดควบคุมใช้ 80 เปอร์เซ็นต์ Ethanol แทนสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้) ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า วางไว้ในที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง วัดค่าดูดกลืนแสง แล้วนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{ศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ (\%)} = [(Ab - As) / Ab] \times 100$$

เมื่อ Ab คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นในชุด blank ที่ 517 นาโนเมตร

As คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นในชุดทดลองที่ 517 นาโน เมตร

ผลการทดลองของ ภาณุมาศ และคณะ, (2019) พบว่า การเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระโดยการพ่นสารละลาย Phenylalanine ในความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นอ่อนทานตะวันทั้งพันธุ์อาฟาเอลและจัมโบ้ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุด โดยมีค่า EC50 12.50 ± 0.03 และ 13.25 ± 1.49 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ผลลัพธ์แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลของการใช้ฟีนอลอะลาโนนต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (EC50) ของต้นอ่อนทานตะวัน พันธุ์ Arfael และ Jumbo

phe conc. (mg/L)	TPC (mg GAE/g dry extract)		TFC (mg CE/g dry extract)		DPPH (EC50: µg/mL)	
	Arfael	Jumbo	Arfael	Jumbo	Arfael	Jumbo
0	55.35±4.61b	26.84±3.70b	86.17±6.68	72.48±14.27	19.01±4.08a	21.98±1.03a
100	55.58±1.82b	26.50±2.39b	86.56±2.86	69.98±16.38	17.70±3.43a	18.52±5.11a
200	56.54±0.66b	26.89±5.93b	84.17±10.92	73.12±9.13	15.51±3.27ab	18.40±1.19a
400	63.32±1.33a	34.25±1.57a	98.55±7.01	82.53±17.04	12.50±0.03b	13.25±1.49b
F-test	**	*	ns	ns	*	**

Means ± S.D. within each column followed by the same letters are not significantly different at $p < 0.05$ level by DMRT; ns = non-significantly; * = significantly different at $p < 0.05$; ** = significantly different at $p < 0.01$
ที่มา: ดัดแปลงจาก ภาณุมาศ และคณะ, (2019)

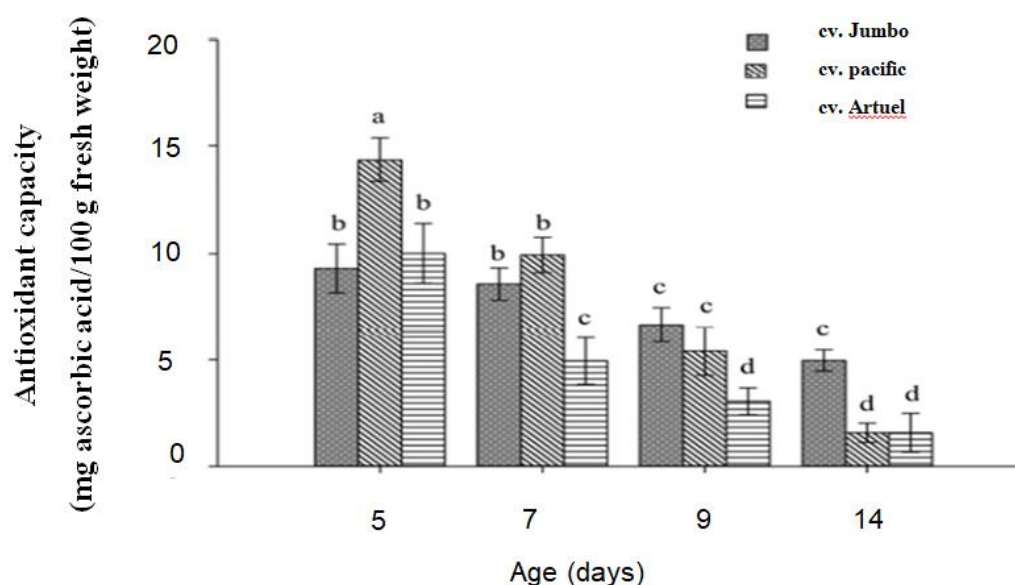
การเก็บเกี่ยว

กระบวนการของการเกิดต้นอ่อนในระยะแรกของการงอกจากเมล็ดพืช เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของสารเมแทบอลิต์ (metabolites) ต่าง ๆ ในเมล็ดพืชโดยเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการแคทาบอลิซึมและการย่อยของสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันที่สะสมอยู่ในเมล็ดพืชยังส่งผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของน้ำตาล กรดอะมิโนอิสระ กรดไขมันบางชนิด เช่น กรดไลโนเลอิก กรดอินทรีย์ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ในขณะที่มีการลดลงของปริมาณสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ (anti nutritional factor) เช่น สารยับยั้งโปรติเอส (protease inhibitor) แทนนิน (tannin) และเลคติน (lectin) เป็นต้น (Kranter and Colville, 2011; Aguilera et al., 2013; Erbaş et al., 2016; Benincasa et al., 2019 อ้างโดย มยุรา และคณะ, 2019)

มยุรา และคณะ, (2019) ศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ดำเนินการเพาะต้นอ่อนทานตะวัน 3 สายพันธุ์ ทำการทดลอง 5 ซ้ำ โดยเมื่อต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ แปซิฟิก จัมโบ้ และอาตุเอล ทำการเก็บตัวอย่างที่อายุ 5, 7, 9 และ 14 วัน หลังจากนั้น นำต้นอ่อนทานตะวันปริมาณ 0.05 กรัมในหลอดไมโครเซนตริฟิวซ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร มาบดให้ละเอียดในไนโตรเจนเหลว สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปปั่นแยกส่วนใสด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เมื่อได้สารสกัดแล้วนำมาวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical scavenging ของ Brand-Williams et al., (1995) โดยใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (microplate reader) นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และแสดงผลความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด

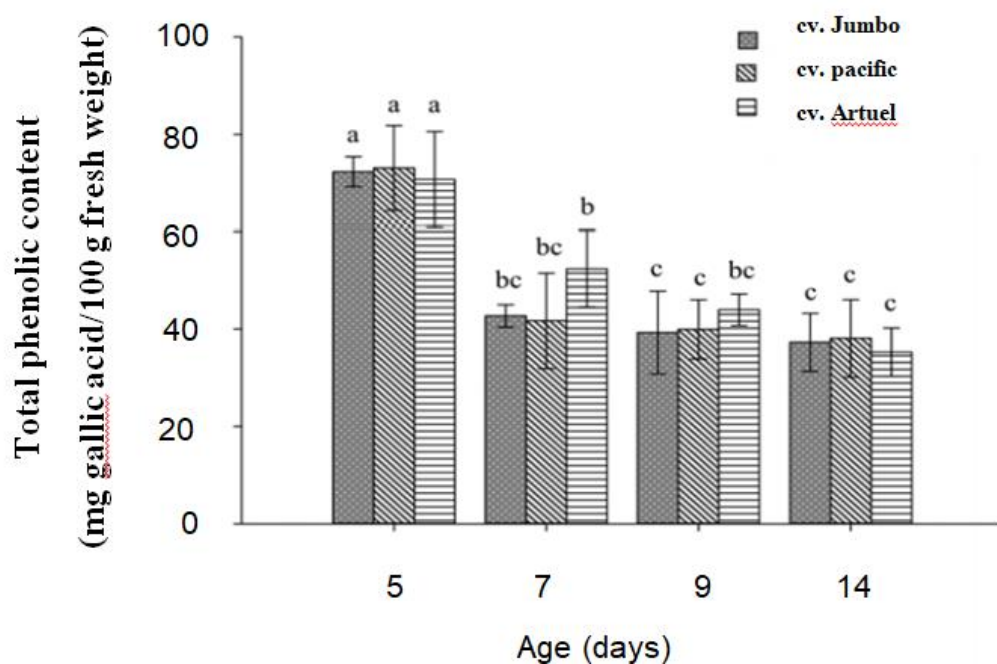
จากผลการทดลองพบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging ของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ที่อายุต่าง ๆ โดยใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐาน ได้ผลแสดงดังรูปที่ 2 และ 3 พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ มีแนวโน้มลดลงหลังจากมีอายุ 5 วัน โดยต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิกอายุ 5 วัน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ 14.38 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับสายพันธุ์จัมโบ้และอาตุเอลซึ่งมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 9.31 และ 10.02 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสดตามลำดับ แต่เมื่อต้นอ่อนมีอายุ 7 และ 9 วัน พบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิก กับจัมโบ้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อระยะเวลาในการเพาะต้นอ่อนทานตะวันเพิ่มขึ้น เห็นได้ว่าสายพันธุ์แปซิฟิกมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงอย่างชัดเจน ในขณะที่สายพันธุ์จัมโบ้และสายพันธุ์อาตุเอลมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงแบบค่อยเป็นค่อยไป และจากการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี FolinCiocalteu โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน ได้ผลตามรูปที่ 2 พบว่า ต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์เมื่อมีอายุ 5 วัน มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์ จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตุเอล มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

เท่ากับ 72.31, 73.09 และ 70.75 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ จากรูปที่ 2 และ 3 พบว่าต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิกมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอีก 2 สายพันธุ์ ถึงแม้จะมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดใกล้เคียงกันกับอีก 2 สายพันธุ์ก็ตาม ทั้งนี้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนต่าง ๆ นอกจากจะเกิดจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารฟีนอลิกทั้งหมด เช่น โทโคฟีรอล ฟลาโวนอยด์และกรดฟีนอลิกแล้ว ยังเกิดจากฤทธิ์ของเอนไซม์บางชนิด คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มเอนไซม์ เช่น catalase, glutathione oxidase และ guaiacol peroxidase อีกด้วย (Guo et al., 2017 อ้างถึงในมยุรา และคณะ, 2019)



รูปที่ 2 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตูเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%)

ที่มา: ดัดแปลงจาก มยุรา และคณะ, (2019)



รูปที่ 3 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แพซิฟิก และอาตูเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%)

ที่มา: ดัดแปลงจาก มยุรา และคณะ, (2019)

สรุป

ทานตะวันงอกเป็นอาหารสุขภาพ ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ราคาถูก หาได้ง่าย หากต้องการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยการเพิ่มฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ สามารถทำได้หลายวิธี เช่น แช่เมล็ดก่อนปลูกโดยแช่ในสารละลายซาลิซิลิก หรือฉีดพ่นด้วยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 400 มิลลิโมลาร์ หรือทั้งแช่เมล็ดและฉีดพ่นในเวลาเดียวกันด้วย Phenylalanine ที่ระดับความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร และเปรียบเทียบสายพันธุ์ต่อสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิก พบว่าสายพันธุ์แปซิฟิกที่เก็บเกี่ยว 5 วันหลังเพาะ มากที่สุดซึ่งมีความเป็นไปได้ว่า ทานตะวันพันธุ์แปซิฟิกมีศักยภาพเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระได้ดี

อ้างอิง

- ช่อแก้ว อนิลบล. 2562. การตอบสนองของสารประกอบฟีนอลในพืชภายใต้สภาวะแล้ง. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. หน้า729-734.
- นรินาม. 2563. สารต้านอนุมูลอิสระ [[สารต้านอนุมูลอิสระ - วิกีพีเดีย \(wikipedia.org\)](https://www.wikipedia.org)].วันที่ 20 เดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2564.
- ภาณุมาศ ฤทธิ์ไชย เยาวพา จิระเกียรติกุล และรัตนพร พระชัย. 2019. ผลของ Phenylalanine ต่อความงอกของเมล็ดและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวัน. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. หน้า 1751-1756.
- มยุรา ทองช่วง จัตรกมล คุณสมบัติ รุ่งนภา โต๊ะทอง วรณิ นาคนาวา กิตติศาสตร์ กระบวน วชิราภรณ์ อาชวาคม และนุชนาถ วุฒิประดิษฐ์กุล. 2019. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์ต่าง ๆ และอายุที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยว. วารสารวิทยาศาสตร์ประยุกต์. หน้า 79-93.
- สุชาวลีวรรณ ตรีเสน และชนิกานัญญ์ จันท์รมาทอง. 2560. ผลของการแช่เมล็ดด้วยกรดซาลิซิลิก ต่อความงอกของเมล็ด การเจริญเติบโตและศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวัน. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ปีที่4 ฉบับที่4 (ตุลาคม-ธันวาคม): 36-40.
- สุดใจ ล้อเจริญ ปริยานุช จุลกะ และยิ่งยง ไพสุขสานติวัฒนา. 2019. ผลของกรดซาลิซิลิกต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงและผลผลิตของพริกหัวเรือที่ปลูกในโรงเรือน. วารสารวิชาการเกษตร. 37(3):286-297.
- อภิชาติ วรรณวิจิตร. 2557. โครงการสถานภาพงานวิจัยด้านเทคโนโลยีชีวภาพกับการปรับปรุงระบบการสังเคราะห์แสงภายใต้สภาวะโลกร้อน . [<https://dna.kps.ku.ac.th/index.php/research-develop/data-base/c4-project-rice>]. 13 กุมภาพันธ์ 2564.
- Andarwulan, N. and K. Shetty. 1999. Improvement of pea (*Pisum sativum*) seed vigour response by fish protein hydrolysates in combination with acetyl salicylic acid. Process Biochem. 35: 159-165.
- Aguilera, Y., Diaz, M.F., Jimenez, T., Jimenez, T., Benitez, V. and Herrera, T. 2013. Changes in nonnutritional Factors and antioxidant activity during germination

- of nonconventional legumes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61(34):8120-8125.
- Benincasa, P., Falcinelli, B., Lutts, s., stagnari, F. and Galieni, A. 2019. Sprouted grains: a comprehensive review. *Nutrients*. 11(2):29.
- Dixon, R.A. and N.L. paiva. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The plant cell*.7(7):1085-1097.
- El- Din, K.M. G. and El-Wahed, M.S. A. A. , 2005, Effect of some amino acids on growth and essential oil content of chamomile plant, *Int. J. Agri. Biol.* 7: 376-380.
- Erbas, s., Tonguc, M. and Sanli, A. 2016. Mobilization of seed reserves during germination and early seedling growth of two sunflower cultivars. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 89:217-222.
- Gill, s.s. and N.Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop paints. *Plant physiology ang Biochenistry*.48(12):909-930.
- Guo, S., Ge, Y. & Jom, K. M. 2017. A review of phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of the common sunflower seed and sprouts (*Helianthus annuus* L.) *Chemistry Central Journal*. 11(95): 10.
- Hayat, S. and A. Ahmad. 2007. *Salicylic Acid. A Plant Hormone*. Dordrecht: Springer.
- Jiraungkoorskul, W. 2016. Review of nutraceutical uses of an antioxidant sunflower sprout. *Helianthus annuus*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 9(6): 21-23.
- Kranner, I. and colvill, L. 2011. Metals and seeds: biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. *Environmental and Experimental Botany*. 72(1):93-105.
- Pagamas, P. & Krongkaomasan, T. 2013. Vitamin C, chlorophyll and fiber contents of sunflower sprouts at different stages. *Agricultural Science Journal*. 44(3):142-145.

- Paseephol, T., Jaifuai, P. & Nasoomfun, N. 2015. Changes in physical characteristics, total phenolics and antioxidant activity during growth of sunflower sprouts. *Agricultural Science Journal*. 46(3/1):44-47.
- Shrivastava, P. and Kumar, R. 2015. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 22:123-131.
- Suchawadee Somsamran Somkiat Phornphisutthimas and Chalermchai Wongwattana. 2018. Effects of Sodium Chloride on Growth and Antioxidant Activity in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Sprouts. *Researchgate.*, 155-161