

## ผลของระยะการสุกของผลต่อสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของไวน์แดงจากเม่าหลวง Effect of Fruits Differential Maturity on Phytochemicals and Bioactivity of Maoluang (*Antidesma bunius* L.) Red Wine

ลือชัย บุตุคูป<sup>1</sup>

Luchai Butkhup<sup>1</sup>

Received: 18 October 2015; Accepted: 24 February 2016

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการหมักไวน์เม่าหลวงโดยใช้ผลที่มีระยะสุกแตกต่างกัน และผลของเทคนิคการหมักไวน์ต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ กรดฟีโนลิก แอนโทไซยานิน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าระยะการสุกของผลและระยะเวลาในการหมักทั้งเปลือกมีผลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีที่สำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ไวน์เม่าหลวงที่หมักด้วยผลสุกทั้งเปลือกมีปริมาณสารฟีโนลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด quercetin, (-)-epicatechin และผลรวมฟลาโวนอยด์สูงสุดเท่ากับ 17.52 mg GAE/L, 800 mg CE/L, 19.69, 381.06 และ 460.87 mg/L ตามลำดับ นอกจากนี้ปริมาณกรดฟีโนลิกชนิด gallic acid, protocatechuic acid และ chlorogenic acid ก็ยังพบสูงสุดในไวน์เม่าหลวงที่หมักด้วยผลสุกทั้งเปลือกเช่นกันเท่ากับ 6.03, 6.81 และ 2.51 mg/L ตามลำดับ cyanidin-3-rutinoside และ malvidin-3,5-diglucoside เป็นแอนโทไซยานินที่พบหลักในไวน์เม่าหลวง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH, FRAP และ ABTS พบฤทธิ์สูงสุดในไวน์เม่าหลวงที่หมักด้วยผลสุกทั้งเปลือก (90.90%, 177.13 mg Fe(II)/L และ 28.40 mg TE/L ตามลำดับ) การศึกษาชี้ให้เห็นว่าการผลิตไวน์แดงจากเม่าหลวงด้วยวิธีการที่เหมาะสมจะช่วยให้ไวน์ที่ได้มีปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง

**คำสำคัญ:** เม่าหลวง เทคนิคการหมักไวน์ สารประกอบฟีโนลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

### Abstract

The aim of this research was to investigate the influence different stages of fruit ripening and winemaking techniques have on the flavonoid, phenolic acid, anthocyanin content and antioxidant potential of Maoluang red wines. Results indicated that the ripening stage of fruit and a longer period of skin contact fermentation positively influence the phytochemicals and antioxidant activity of Maoluang wines. Maoluang wines obtained by ripe fruit and skin contact fermentation (RSF) presented the highest concentration of total phenolic content, total flavonoid content, quercetin, (-)-epicatechin and total of flavonoid content with values of 17.52 mg GAE/L, 800 mg CE/L, 19.69, 381.06 and 460.87 mg/L, respectively. In addition, the highest contents of gallic acid, protocatechuic acid and chlorogenic acid were also observed in Maoluang wines made from RSF with values of 6.03, 6.81 and 2.51 mg/L, respectively. In all wines, the dominant anthocyanins were cyanidin-3-rutinoside and malvidin-3,5-diglucoside. The antioxidant potential, assayed by DPPH, FRAP and ABTS were highest in RSF (90.90%, 177.13 mg Fe(II)/L and 28.40 mg TE/L, respectively). This study could contribute to the establishment of optimal conditions for producing Maoluang red wines which contain more beneficial phenolic compounds and antioxidant properties.

**Keywords:** Maoluang, Winemaking techniques, Phenolic compounds, antioxidant capacity

<sup>1</sup> ผู้ช่วยศาสตราจารย์, ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

<sup>1</sup> Assistant Professor, Department of Biotechnology, Mahasarakham University, Maha Sarakham 44000, Thailand

## บทนำ

สารในกลุ่ม polyphenolics, thiols, carotenoids, tocopherols และน้ำตาลกลูโคสซึ่งปกติพบในผักผลไม้และธัญพืชเป็นสารที่ช่วยในการป้องกันสภาวะออกซิเดชันในร่างกายและช่วยรักษาสมดุลระหว่างอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ<sup>1,2</sup> ในกรณีนี้ที่ร่างกายเกิดความไม่สมดุลจากการมีอนุมูลอิสระมากเกินไปจะทำให้เกิดสภาวะออกซิเดชันเป็นผลให้ดีเอ็นเอและโปรตีนถูกทำลายซึ่งนำไปสู่ความเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรคความผิดปกติทางยีนเช่นโรคมะเร็งเป็นต้น<sup>3,4</sup> สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) จะทำลายอนุมูลอิสระโดยการจับกับอนุมูลอิสระและลดการเกิดหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในธรรมชาติ เช่น ascorbic acid, tocopherols, carotenoids, steroids, ubiquinones, thiols, inosine, taurine, pyruvate, gallic acid, flavonoid, trolox, และ polyphenols มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดอนุมูลอิสระ tocopherol, phenolic acid และ flavonoids ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในผลไม้ที่มีสีต่างๆ เช่นองุ่นและแอปเปิลเป็นต้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งผลไม้ตระกูลเบอร์รี่นอกจากนี้ยังมีสารอีกชนิดหนึ่งที่มีประโยชน์มากคือแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีคุณสมบัติในการป้องกันโรคหัวใจและโรคเส้นเลือดอุดตันในสมองได้<sup>5</sup>

เม่าหลวง (*Antidesma bunius* Linn.) เป็นผลไม้ท้องถิ่นที่พบมากทั่วทุกภาคของไทย ภาคกลางเรียกว่า “มะเม่าแดง” ภาคเหนือเรียกว่า “มักเม่าฤๅษี” ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียกว่า “เม่าหลวง”<sup>6</sup> ผลผลิตเม่าหลวงสูงในปัจจุบันส่วนใหญ่ได้จากการเพาะปลูก ผลห่ามจะมีสีแดงและมีรสเปรี้ยว ขณะที่ผลสุกจะมีสีน้ำตาลอมเปรี้ยวและฝาด น้ำคั้นที่ได้จากผลสุกมีสีม่วงแดงเข้มซึ่งเกิดจากรงค์วัตถุกลุ่มแอนโทไซยานิน ในปัจจุบันเม่าหลวงเป็นผลไม้ที่เป็นที่นิยมจากผู้บริโภคมากไม่ว่าผลสด หรือทำผลิตภัณฑ์เช่น แยม เยลลี่น้ำผลไม้และไวน์แดง เป็นต้น คุณภาพของไวน์แดงจากผลเม่าหลวงจะขึ้นอยู่กับคุณภาพของผลเม่าหลวง การใช้วัตถุติดผลเม่าหลวงสุกล้วนหรือมีส่วนผสมของเม่าหลวงห่ามที่มีผลสีแดงจะให้คุณภาพของไวน์แดงแตกต่างกัน อีกทั้งยังมีผลต่อสารสำคัญแตกต่างกันด้วย อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษาและตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการเกี่ยวกับอิทธิพลดังกล่าวของไวน์แดงจากเม่าหลวง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ทั้งชนิดและปริมาณสารสำคัญได้แก่ สารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) กรดฟีนอลิก (phenolic acid) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของไวน์เม่าหลวงที่ได้จากการหมักโดยใช้ผลเม่าหลวงที่มีระยะการสุกแตกต่างกันซึ่งข้อมูลที่ได้สามารถนำไปใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวน์แดงจากเม่าหลวง

ในเชิงพาณิชย์และเป็นข้อมูลด้านการแปรรูปผลิตภัณฑ์หรืออาหารเสริมสุขภาพจากเม่าหลวงได้

## วิธีการทดลอง

### การหมักไวน์แดง

ตัวอย่างเม่าหลวงในระยะผลสุกและผลห่ามได้มาจากสวนลุงทองเว เพ็ชรเกษม 80 อ.ภูพาน จ.สกลนคร เก็บตัวอย่างผลจากต้นในช่วงเช้าใส่ถุงพลาสติกที่สะอาดโดยแยกผลสุก (ผลมีสีน้ำตาล) และผลห่าม (ผลมีสีแดง) ออกจากกันคนละถุงนำมาแยกกึ่งกัน

การหมักไวน์แดงจะแบ่งรูปแบบการหมักออกเป็น 4 รูปแบบ ได้แก่ 1) การหมักไวน์จากผลห่ามโดยแยกเปลือก 2) การหมักไวน์จากผลห่ามโดยไม่แยกเปลือก 3) การหมักไวน์จากผลสุกโดยแยกเปลือก 4) การหมักไวน์จากผลสุกโดยไม่แยกเปลือกใช้สัดส่วนผลเม่าหลวงต่อน้ำเท่ากันทุกรูปแบบการหมักที่ 1:2 (w/v) และปรับปริมาณความหวานเริ่มต้นเท่ากันที่ 20°Brix โดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* strain Ruby. ferm (Chr Hansen, Denmark) ในปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น (starter culture) 5% (v/v) ที่เตรียมนาน 24 ชั่วโมง หมักที่อุณหภูมิ 25±2°C ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้งหมักทั้งสิ้น 15 วัน โดยมีการเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารฟีนอลิกที่สำคัญได้แก่ กรดฟีนอลิกฟลาโวนอยด์ และแอนโทไซยานิน และตรวจวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP, ABTS และ DPPH

### การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างไวน์ตรวจวัดโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu assay<sup>7</sup> ตัวอย่างไวน์ 12.5 µl เติมน้ำกลั่น 12.5 µl และสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent (ที่ผ่านการเจือจางด้วยน้ำกลั่น 10 เท่า) ปริมาตร 12.5 µl บนหลุมไมโครเพลตผสมให้เข้ากันและปล่อยให้เกิดปฏิกิริยา 6 นาที ก่อนเติม 7% sodium carbonate (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) ปริมาตร 125 µl เพื่อหยุดปฏิกิริยา และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 µl ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 90 นาที ก่อนนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 โดยใช้เครื่อง microplate reader spectrophotometers (Synergy HT, Biotek instruments, USA) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง วิเคราะห์ปริมาณโดยเทียบกับสารมาตรฐานคือกรดแกลลิกซึ่งเตรียมที่ความเข้มข้น 20–600 mg/L ในเมทานอลแสดงผลในหน่วย mg GAE/L

### การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในตัวอย่าง

ไวน์ทำตามวิธีการของ Dewanto และคณะ<sup>9</sup> นำตัวอย่างไวน์มา 25 µl เติมสารละลาย NaNO<sub>2</sub> (7%) ปริมาณ 7.5 µl และน้ำกลั่น ปริมาณ 12.5 µl บนหลุมไมโครเพลตผสมให้เข้ากันและปล่อยให้ เกิดปฏิกิริยาในที่มืดนาน 5 นาทีก่อนนำมาเติม AlCl<sub>3</sub> (10%) ปริมาณ 15 µl จากนั้นเก็บในที่มืดอีก 5 นาทีแล้วเติม สารละลาย 1 M NaOH ปริมาณ 50 µl และน้ำกลั่น 27.5 µl จากนั้นเก็บในที่มืดอีก 5 นาทีจากนั้นนำไปตรวจวัดค่าดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 510 nm โดยใช้ น้ำกลั่นเป็น blank วิเคราะห์ ปริมาณโดยเทียบกับสารมาตรฐานคือ (+)-catechin ซึ่งเตรียม ที่ความเข้มข้น 0–400 mg/L ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้งแสดงผล ในหน่วย mg CE/L

#### การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์

วิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ 8 ชนิด ได้แก่ (+)-catechin, (-)-epicatechin, rutin, myricetin, luteolin, quercetin, naringenin และ kaempferol ด้วยเครื่อง HPLC<sup>9</sup> (Shimadzu Cooperation Analytical & Measuring Instruments Division Kyoto, Japan) ใช้คอลัมน์ชนิด C-18 (250 x 4.6 mm) อุณหภูมิคอลัมน์ 40°C ตัวตรวจวัดชนิด Diode Array Detector (DAD) ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 254 nm ด้วยอัตราการไหล 0.6 ml/min ปริมาตรฉีด 20 µL เฟสเคลื่อนที่สำหรับวิเคราะห์ ได้แก่ สารละลาย A (97.8% H<sub>2</sub>O + 2% CH<sub>3</sub>CN + 0.2 % H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) และสารละลาย B (97.8% CH<sub>3</sub>CN + 2% H<sub>2</sub>O + 0.2 % H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) โดยใช้โปรแกรมระบบเบเรเดียนท์ ดังนี้ 0-9 นาที อัตราการไหลลดลงจาก 0.6 เป็น 0.4 มิลลิลิตรต่อ นาที และ 9-13 นาที อัตราการไหลเพิ่มขึ้นจาก 0.4 เป็น 0.6 มิลลิลิตรต่อ นาที และ 13-55 นาที ให้อัตราการไหลคงที่ที่ 0.6 มิลลิลิตรต่อ นาที สำหรับความเข้มข้นของสารละลาย B คือ 0-30 นาที 20-50%, 30-35 นาที 50-60%, 35-40 นาที 60-20%, 40-55 นาที 20% วิเคราะห์ปริมาณโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ สารประกอบฟลาโวนอยด์แต่ละชนิด

#### การวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิก

วิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิก 10 ชนิด ได้แก่ gallic acid, dihydroxybenzoic acid, 4-hydroxybenzoic acid, chlorogenic acid, vanilic acid, caffeic acid, syringic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid และ sinapinic acid ด้วยเครื่อง HPLC<sup>10</sup> (Shimadzu Cooperation Analytical & Measuring Instruments Division Kyoto, Japan) ใช้คอลัมน์ชนิด C-18 (250 x 4.6 mm) อุณหภูมิคอลัมน์ 38°C ตัวตรวจวัดชนิด Diode Array Detector (DAD) ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 nm ด้วยอัตราการไหล 0.8 ml/min ปริมาตรฉีด 20 µL เฟส

เคลื่อนที่สำหรับวิเคราะห์ได้แก่สารละลาย A (1% Phosphoric acid (pH 2.58)) และสารละลาย B (Acetonitrile) โดยใช้โปรแกรมระบบเบเรเดียนท์ดังนี้ความเข้มข้นของสารละลาย B คือ 0-5 นาที 5-9 %, 5-15 นาที 9%, 15-22 นาที 9-11%, 22-38 นาที 11-18%, 38-43 นาที 18-23%, 43-45 นาที 23-30%, 45-46 นาที 30-80%, 46-55 นาที 80%, 55-60 นาที 80-5%, 60-65 นาที 5%

#### การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน

วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน 7 ชนิด ได้แก่ kuromanin, keracyanidin, malvin, dephinidin, cyanidin, pelargonidin, malvidin ด้วยเครื่อง HPLC<sup>11</sup> (Shimadzu Cooperation Analytical & Measuring Instruments Division Kyoto, Japan) ใช้คอลัมน์ชนิด C-18 (250 x 4.6 mm) อุณหภูมิ คอลัมน์ 40°C ตัวตรวจวัดชนิด Diode Array Detector (DAD) ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 520 nm ด้วยอัตราการไหล 1.0 ml/min ปริมาตรฉีด 20 µL เฟสเคลื่อนที่สำหรับวิเคราะห์ได้แก่ สารละลาย C (Acetonitrile) และสารละลาย D (4% Phosphoric acid) โดยใช้โปรแกรมระบบเบเรเดียนท์ ดังนี้ความเข้มข้นของสารละลาย D ที่ 0-55 นาที 94-75%, 55-65 นาที 75%, 65-70 นาที 75-94%

#### การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การวิเคราะห์ฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH ดัดแปลง จากวิธีการของ Nagai และคณะ<sup>12</sup> ตัวอย่าง 50 µl ผสมกับ สารละลาย 0.2 mM DPPH ปริมาตร 100 µl ให้เข้ากันในไมโครเพลตนาน 1 นาทีจากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดนาน 30 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm ด้วยเครื่อง วัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลตใช้ ascorbic acid เป็น ตัวควบคุมบวก (positive control) คำนวณเปอร์เซ็นต์การ กำจัดอนุมูล DPPH จากสมการเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH =  $\frac{A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ทดสอบ}}}{A_{\text{ควบคุม}}} \times 100$  เมื่อ  $A_{\text{ควบคุม}}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของส่วนควบคุมที่เติมเมธานอลลงไปแทนตัวอย่าง (Blank)  $A_{\text{ทดสอบ}}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

#### การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างโดยการใช้ออนุมูลอิสระเสถียร 2,4,6-tri (2-pyridyl)-tri-azine (TPTZ)<sup>13</sup> เปรียบเทียบกับ FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานโดยเตรียมสารอนุมูลอิสระเสถียร FRAP ให้มีความเข้มข้น 0.1 µg/ml โดยใช้ น้ำเป็นตัวอย่าง

ปริมาตร 30 µl ผสมกับสารละลาย FRAP270 µl ในหลุมไมโครเพลทใช้ Acetate buffer เป็น blank เติมลงไปแทนสารละลาย FRAP ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้งคำนวณประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน แสดงผลในหน่วย mg. สมมูลของ FeSO<sub>4</sub> (mg Fe(II)/L)

**การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay**

เตรียมสารละลาย ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzene-thiazoline-6-sulfonic acid), diamonium salt เข้มข้น 7 mM ในน้ำ 10 ml ผสมกับสารละลาย Potassium persulphate 2.45 mM ในน้ำ 12 ml อัตราส่วน 2:3 ml เก็บในที่มืดและเย็นเป็นเวลานาน 16-18 ชั่วโมงและนำไปเจือจางใน Ethanol ด้วยอัตราส่วน 1:2 ml ก่อนนำไปใช้ตัวอย่าง 10 µl ผสมสารละลาย ABTS 190 µl บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 590nm<sup>14</sup> โดยใช้เครื่อง microplate reader spectrophotometers (Synergy HT, BiotTek instruments, USA) คำนวณโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน Trolox แสดงผลในรูป mg Trolox/L

**ผลและอภิปรายผลการทดลอง**

การดื่มไวน์ในปริมาณที่พอเหมาะ คือ 250-300 มิลลิลิตรต่อวัน จะทำให้อัตราการเกิดโรคเบาหวานช้าลง ความดันโลหิตเพิ่มขึ้นลดอัตราเสี่ยงในการติดเชื้อและการเกิดมะเร็งลดอัตราเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ<sup>15</sup> เนื่องจากไวน์ประกอบด้วยสารกลุ่มฟีนอลิก เช่น quercetin, anthocyanin, flavonols, flavones, catechins, flavanones และ resveratrol สารเหล่านี้

ช่วยสร้างสาร cyclooxygenase ที่ก่อให้เกิดการจับตัวกันของเกล็ดเลือดช่วยลดการเกิดหลอดเลือดอุดตันจากลิ่มเลือด<sup>16</sup> จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในแต่ละรูปแบบในระหว่างการหมักไวน์เม่าหลวง พบว่าเมื่อเวลาผ่านไปในแต่ละระยะของการหมักมีค่าเฉลี่ยของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดลดลง เมื่อสิ้นสุดของการหมักไวน์เม่าหลวง พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในรูปแบบที่เป็นผลสุกที่หมักแบบแยกเปลือกและไม่แยกเปลือกมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเหลืออยู่สูงกว่าเมื่อเทียบกับรูปแบบที่เป็นผลห่ามที่หมักแบบแยกเปลือกและไม่แยกเปลือก โดยไวน์เม่าหลวงที่หมักด้วยผลสุกที่หมักทั้งเปลือกมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเหลืออยู่สูงที่สุดเท่ากับ 17.52 mg GAE/L (Figure 1)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในไวน์เม่าหลวงทั้ง 4 รูปแบบ ในระหว่างการหมักมีทิศทางเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยเฉพาะไวน์เม่าหลวงที่มีการหมักด้วยผลสุกทั้งเปลือกที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเฉลี่ยสูงกว่ารูปแบบอื่น โดยมีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก 733.35mg CE/L (วันที่ 0) อยู่ในช่วง 800 mg CE/L (วันที่ 15) ในขณะที่การหมักไวน์เม่าหลวงอีก 3 รูปแบบมีปริมาณฟลาโวนอยด์โดยรวมที่ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยอยู่ในช่วง 587.89-683.23 mg CE/L (Figure 1) จากผลการทดลองจะสังเกตเห็นว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจะค่อยเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาของการหมักแสดงให้เห็นว่าการหมักไวน์ด้วยผลเม่าหลวงทั้งเปลือกเมื่อยีสต์สร้างแอลกอฮอล์มากขึ้นมีการสกัดสารฟีนอลิกกลุ่มฟลาโวนอยด์ออกมาจากเปลือกเม่าหลวงมากขึ้นจึงทำให้มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงขึ้นตามระยะเวลาของการหมัก ซึ่งเมื่อเทียบกับการหมักแบบแยกเปลือกการหมักแบบทั้งเปลือกจะมีปริมาณสูงกว่า

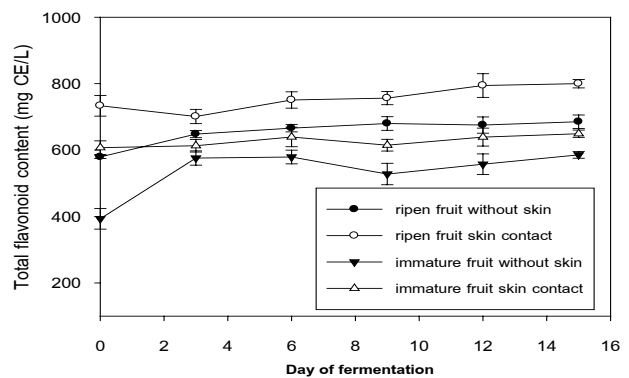
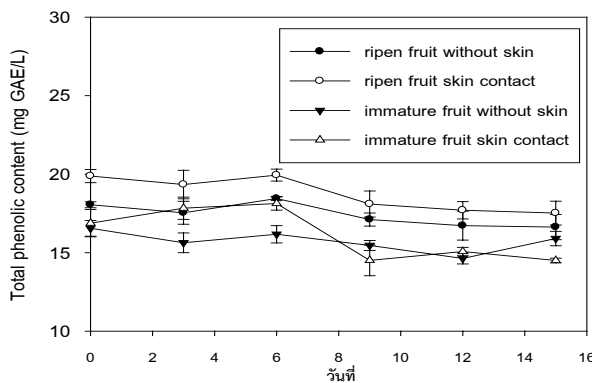


Figure 1 Change of total phenolic content and total flavonoid content during Maoluang wine fermentation

## การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟลาโวนอยด์ในระหว่าง การหมักไวน์เม่าหลวง

(Table 1) แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์ในไวน์ที่หมักด้วยรูปแบบต่างๆ ฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ ได้แก่ flavonols 3 ชนิด คือ quercetin, quercetin-3-O-rutinoside, myricetin กลุ่ม flavan-3-ols 2 ชนิด คือ (+)-catechin และ (-)-epicatechin นอกจากนี้ยังพบ Flavanone ชนิด naringenin และ Stilbene ชนิด *trans-resveratrol* เมื่อสิ้นสุดการหมักพบ quercetin มากที่สุดในไวน์ที่หมักด้วยผลสุกไม่แยกเปลือก (19.69 mg/L) รองลงมาคือไวน์ที่หมักด้วยผลห่ามไม่แยกเปลือก (10.27 mg/L) จึงทำให้ผลรวมฟลาโวนอยด์ในกลุ่ม flavonols สูงตามไปด้วย โดยมีค่าเท่ากับ 24.41 และ 14.34mg/L สำหรับไวน์ที่หมักด้วยผลสุกไม่แยกเปลือก และไวน์ที่หมักด้วยผลห่ามไม่แยกเปลือก ตามลำดับ ฟลาโวนอยด์กลุ่ม flavan-3-ols พบว่า (-)-epicatechin ซึ่งเป็นฟลาโวนอยด์ในกลุ่ม flavan-3-ols ที่พบมากที่สุด โดยพบอยู่ในช่วง 18.64-187.40mg/L สำหรับน้ำเม่าหลวงที่ยังไม่หมัก (must) และ 115.76-381.06mg/L สำหรับไวน์ ซึ่งพบสูงที่สุดในไวน์ที่หมักด้วยผลห่ามไม่แยกเปลือก (381.06mg/L) รองลงมาคือไวน์ที่หมักด้วยผลสุกไม่แยกเปลือก (329.70mg/L) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากในผลห่ามจะมีสารกลุ่มแทนนินซึ่งมีรสฝาดอยู่สูงบริเวณเปลือก ดังนั้นเมื่อหมักทั้งเปลือกจึงทำให้สกัดสารกลุ่มนี้ออกมาได้ดี และเมื่อโครงสร้างของแทนนินสลายหรือแตกออกในระหว่างกระบวนการหมัก ก็จะได้ฟลาโวนอยด์ในกลุ่ม flavan-3-ols คือ (-)-epicatechin และ (+)-catechin เนื่องจากฟลาโวนอยด์ทั้งสองชนิดนี้เป็นโมโนเมอร์ของแทนนิน ผลรวมฟลาโวนอยด์ในกลุ่ม flavan-3-ols พบสูงที่สุดในไวน์ที่

หมักด้วยผลห่ามไม่แยกเปลือก และไวน์ที่หมักด้วยผลสุกไม่แยกเปลือกเท่ากับ 433.62 และ 433.33mg/L ตามลำดับ ผลรวมปริมาณฟลาโวนอยด์พบว่า ไวน์ที่หมักด้วยผลสุกไม่แยกเปลือกมีปริมาณมากที่สุดเท่ากับ 460.87mg/L รองลงมาคือไวน์ที่หมักด้วยผลห่ามไม่แยกเปลือกเท่ากับ 452.25mg/L เมื่อเปรียบเทียบผลทั้งหมดจะเห็นได้ว่าการหมักไวน์ไม่แยกเปลือกสามารถเพิ่มปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ได้สูงขึ้น เมื่อเทียบกับการหมักโดยแยกเปลือก นอกจากนี้ยังพบอีกว่าการหมักทั้งแบบแยกและไม่แยกเปลือกมีปริมาณฟลาโวนอยด์เพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อยๆ ตามระยะเวลาการหมักที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการสลายของสารฟีนอลิกโครงสร้างใหญ่โดยเอนไซม์ กรด และแอลกอฮอล์ที่ยีสต์สร้างขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก และสารเหล่านี้ที่ยีสต์สร้างขึ้นยังสามารถช่วยสกัดสารฟีนอลิกจากเปลือกและเนื้อของเม่าหลวงในรูปแบบที่หมักแบบไม่แยกเปลือก

## การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดฟีนอลิกในตัวอย่าง ไวน์เม่าหลวงระหว่างการหมัก

ระดับการสุกของผลไม้ก็มีอิทธิพลต่อระดับของกรดฟีนอลิกในผลไม้ ซึ่งโดยทั่วไปปริมาณจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามระยะการสุก<sup>17</sup> กรดฟีนอลิกถือได้ว่ามีบทบาทสำคัญต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสของไวน์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งความเปรี้ยวและกลิ่นหอมของไวน์ส่วนหนึ่งมาจากสารในกลุ่มกรดฟีนอลิก ดังนั้นปริมาณกรดฟีนอลิกที่มีในผลไม้ที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักไวน์จะส่งผลต่อคุณภาพของไวน์และปริมาณกรดฟีนอลิกที่อยู่ในไวน์

**Table 1** Flavonoid composition (mg/L) of Maoluang wine made within and without skin contact fermentation

Flavonoid compounds	Immature fruit skin contact		Immature fruit without skin		ripen fruit skin contact		ripen fruit without skin	
	must	wine	must	wine	must	wine	must	wine
<i>Flavonols</i>								
quercetin	5.81±0.12	10.27±0.51	5.69±0.44	4.31±0.18	6.40±0.36	19.59±1.14	0.90±0.05	9.83±0.78
quercetin-3-O-rutinoside	2.41±0.54	3.07±0.36	2.56±0.17	2.21±0.06	1.30±0.05	3.74±0.28	0.34±0.04	3.50±0.19
myricetin	0.76±0.03	1.00±0.02	0.62±0.04	0.56±0.06	0.56±0.13	1.08±0.05	0.58±0.09	0.91±0.08
total flavonols	8.71±1.01	14.34±1.50	8.87±0.51	7.08±0.62	8.26±0.30	24.41±2.12	1.82±0.13	14.24±1.59
<i>Flavan-3-ols</i>								
(+)-catechin	21.94±2.33	52.56±6.19	1.12±0.03	20.25±2.17	4.93±0.31	103.63±31.17	5.07±0.06	61.40±3.16
(-)-epicatechin	158.98±10.15	381.06±15.17	18.64±2.17	115.76±15.19	187.40±23.32	329.70±27.18	154.50±19.43	163.57±17.54
total flavan-3-ols	180.92±13.29	433.62±18.19	19.76±2.98	136.01±22.76	192.33±13.15	433.33±34.77	159.57±18.16	224.97±24.19
<i>Flavanone</i>								
naringenin	0.39±0.05	1.33±0.11	ND	8.41±0.31	ND	0.08±0.01	ND	ND
<i>Stilbene</i>								
<i>trans-resveratrol</i>	3.05±0.18	2.96±0.24	2.55±0.15	ND	3.16±0.18	3.05±0.11	3.18±0.09	2.55±0.05
Total HPLC flavonoids	193.07±14.33	452.25±27.16	31.18±2.19	151.5±17.15	203.75±18.19	460.87±32.14	164.57±17.49	241.76±28.15

ND: not detected

ก็มีผลต่อคุณภาพของไวน์รวมทั้งมีผลต่อผู้บริโภคด้วยจากผลการทดลองใน (Table 2) แสดงปริมาณกรดฟีนอลิก (mg/L) ในตัวอย่างไวน์ที่หมักด้วยผลสุกเปรียบเทียบกับ การหมักด้วยผลห่าม โดยใช้การหมักทั้งเปลือกและแยกเปลือก กรดฟีนอลิกที่พบสามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ hydroxybenzoic acid และ hydroxycinnamic acid ซึ่งทั้งกลุ่มนี้จะมีปริมาณต่างกันไปในแต่ละรูปแบบการหมัก กรดฟีนอลิกกลุ่ม hydroxybenzoic acid จะพบ gallic acid และ protocatechuic acid ในเกือบทุกรูปแบบของการหมัก ส่วน hydroxycinnamic acid จะพบสาร chlorogenic acid และ vanillic acid ซึ่งจะมีปริมาณแตกต่างกันไปของไวน์แต่ละรูปแบบของการหมัก ไวน์ที่หมักไม่แยกเปลือกมีปริมาณ gallic acid มากที่สุดเท่ากับ 6.03 mg/L สูงกว่าเมื่อเทียบกับน้ำเม่าหลวงที่ยังไม่หมักขณะที่ กรดฟีนอลิกชนิด protocatechuic acid ก็มีปริมาณลดลงตลอดระยะเวลาการหมักเช่นกัน โดยไวน์ที่หมักด้วยผลห่ามไม่แยกเปลือกยังคงมีปริมาณ protocatechuic acid มากที่สุดเท่ากับ 6.81 mg/L กรดฟีนอลิกชนิด chlorogenic acid เพิ่มขึ้นในระหว่างการหมักโดยไวน์ที่หมักด้วยผลสุกไม่แยกเปลือกยังคงมีปริมาณมากที่สุดเท่ากับ 2.51 mg/L ผลรวมกรดฟีนอลิกกลุ่ม hydroxybenzoic acid และ hydroxycinnamic acid ในไวน์ที่หมักด้วยผลสุกไม่แยกเปลือกมีปริมาณมากที่สุดเท่ากับ

27.73 mg/L และ 15.78 mg/L ตามลำดับจะเห็นได้ว่าปริมาณกรดฟีนอลิกโดยรวมจะเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อยๆ ตามระยะเวลาการหมัก และในรูปแบบที่หมักโดยไม่แยกเปลือกจะมีปริมาณมากกว่ารูปแบบที่หมักแบบแยกเปลือก ซึ่งการหมักด้วยเม่าหลวงผลสุกจะมีปริมาณกรดฟีนอลิกมากกว่าผลห่าม

### การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอนโทไซยานินในตัวอย่างไวน์เม่าหลวงระหว่างการหมัก

แอนโทไซยานินเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันในร่างกาย เนื่องจากในโครงสร้างมีหมู่ไฮดรอกซิลจำนวนมาก แอนโทไซยานินพบทั่วไปในผลไม้ที่มีสีเข้ม โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ เช่น บิลเบอร์รี่และบลูเบอร์รี่ เป็นต้น<sup>18,19</sup> แอนโทไซยานินเป็นสารกลุ่มสำคัญที่ให้สีแก่พืช จากการศึกษาพบว่าแอนโทไซยานินมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด และมีจำนวนมากที่สุดในบรรดาสารประกอบฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีประมาณ 150 ชนิด จากประมาณ 4,000 ชนิด cyanidin เป็นตัวอย่างสารในกลุ่มแอนโทไซยานินที่พบมากในผลไม้<sup>19</sup> ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาได้มีกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นได้ทดลองกับสัตว์ทดลองด้วย cyanidin พบว่าสามารถป้องกันการเกิด

**Table 2** Phenolic acid composition (mg/L) of Maoluangwine made within and without skin contact fermentation

Treatment	Hydroxybenzoic acid				Hydroxycinnamic acids					Total
	GA	PA	GTA	THBA	CHA	VA	CA	PCA	THCA	
Immature fruit skin contactmust	1.99±0.04	2.27±0.14	ND	4.26±0.15	1.73±0.06	ND	0.92±0.01	ND	2.65±0.04	6.91±0.80
wine	1.69±0.12	6.81±0.32	1.94±0.08	10.44±0.84	1.12±0.03	1.28±0.06	1.07±0.02	ND	3.47±0.15	13.91±1.46
Immature fruit without skinmust	0.31±0.06	ND	ND	0.31±0.06	0.70±0.04	ND	1.66±0.04	0.59±0.07	2.95±0.08	3.26±0.27
wine	0.28±0.02	1.30±0.06	ND	1.58±0.03	2.49±0.13	ND	ND	ND	2.49±0.05	4.07±0.34
Ripen fruit skin contactmust	9.20±0.54	8.92±0.17	4.44±0.10	22.56±1.05	0.81±0.05	ND	ND	ND	0.81±0.06	23.37±1.59
wine	6.03±0.41	1.66±0.03	20.04±1.61	27.73±1.47	2.51±0.20	6.90±0.11	ND	6.37±0.18	15.78±1.49	43.51±2.87
Ripen fruit without skinmust	5.78±0.09	7.30±0.15	ND	13.08±1.39	ND	1.35±0.03	1.12±0.01	0.54±0.06	3.01±0.07	16.09±1.48
wine	5.49±0.48	1.52±0.07	ND	7.01±0.95	4.02±0.15	8.44±0.17	ND	ND	12.46±0.81	19.47±1.96

ND: not detected, GA: gallic acid, PA: protocatechuic acid, GTA: gentistic acid, THBA: total hydroxybenzoic acid, CHA: chlorogenic acid, VA: vanillic acid, CA: caffeic acid, SA: syringic acid, PCA: p-coumaric acid, FA: ferulic acid, THCA: total hydroxycinnamic acids, Total: sum of phenolic acid

**Table 3** Anthocyanin composition (mg/L) of Maoluangwine made within and without skin contact fermentation

Treatment	Cyanidin				Malvidin			Pel	Del	Total
	C-3-G	C-3-R	CY	TCY	M-3,5-D	Mal	TM			
Immature fruit skin contactmust	1.52±0.05	2.36±0.08	ND	3.88±0.06	0.47±0.07	2.47±0.05	2.94±0.41	0.51±0.03	ND	7.33±0.28
wine	1.59±0.02	4.82±0.15	ND	6.41±0.08	2.21±0.08	2.45±0.08	4.66±0.12	ND	ND	11.07±0.64
Immature fruit without skinmust	1.02±0.01	1.22±0.07	ND	2.24±0.05	0.50±0.03	ND	0.50±0.01	ND	1.02±0.02	3.76±0.15
wine	1.01±0.02	1.24±0.09	ND	2.25±0.03	0.68±0.11	ND	0.68±0.07	0.51±0.04	ND	3.43±0.21
Ripen fruit skin contactmust	2.98±0.07	2.87±0.03	ND	5.85±0.07	5.25±0.05	ND	5.25±0.13	0.52±0.02	ND	11.62±1.05
wine	1.20±0.06	19.18±1.28	1.02±0.01	21.40±1.40	4.03±0.03	ND	4.03±0.05	0.68±0.07	1.02±0.05	27.13±1.87
Ripen fruit without skinmust	0.96±0.03	8.71±0.61	ND	9.67±0.12	1.27±0.07	ND	1.27±0.02	0.51±0.06	ND	11.45±1.15
wine	2.54±0.14	1.92±0.07	ND	4.46±0.06	5.16±0.04	ND	5.16±0.06	0.51±0.03	0.79±0.14	10.92±1.48

ND: not detected, C-3-G: cyanidin-3-o-glucoside, C-3-R: cyanidin-3-rutinoside, CY: cyanidin, TCY: Total cyanidin, M-3,5-D: malvidin-3,5-diglucoside, Mal: malvidin, TM: total malvidin, Pel: pelargonidin, Del: delphinidin, Total: sum of anthocyanin

ออกซิเดชันในร่างกายได้ โดยป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์จากการเกิดออกซิเดชันของสารที่เป็นอันตราย<sup>20</sup> นอกจากนี้ ผลการศึกษาที่ผ่านมาสรุปได้ว่า cyanidin สามารถต้านการเกิดออกซิเดชันได้มากกว่าวิตามินอีถึง 4 เท่า<sup>21</sup>แอนโธไซยานินอีกชนิดหนึ่งคือ pelargonidin สามารถป้องกันกรดอะมิโนชนิดไฮโรซีนจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปอร์ออกซีไฮโดรที่ได้<sup>22</sup> และยังพบว่าอนุพันธ์ของแอนโธไซยานินชนิด delphinidin ในมะเขือม่วงที่เรียกว่า nasunin สามารถจับกับอนุมูลอิสระที่เป็นอันตรายในร่างกายได้<sup>23</sup> นอกจากนี้แอนโธไซยานินยังมีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบ สามารถป้องกันเส้นเลือดใหญ่และเส้นเลือดฝอยจากการทำลายจากสภาวะต่างๆ จากน้ำตาลในกระแสโลหิตในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน<sup>24</sup>

ปริมาณแอนโธไซยานินในผลเม่าหลวงจะแปรผันตามระยะการสุกของผล และปริมาณแอนโธไซยานินยังมีผลโดยตรงต่อสีของไวน์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารแอนโธไซยานินชนิดต่างๆ เมื่อหมักไวน์โดยใช้ระยะการสุกต่างกันคือ ผลสุก และผลห่ามได้ผลการทดลองดังแสดงใน (Table 3) พบว่าในไวน์ที่หมักในทุกรูปแบบตรวจพบแอนโธไซยานิน 3 ชนิด ได้แก่ cyanidin-3-O-glucoside, cyanidin-3-rutinoside

และ malvidin-3,5-diglucoside ซึ่งมีปริมาณแตกต่างกันไป โดย cyanidin-3-rutinoside ซึ่งเป็นแอนโธไซยานินกลุ่ม cyanidin พบมากที่สุดในไวน์ที่หมักด้วยผลสุกไม่แยกเปลือกเท่ากับ 19.18 mg/L จึงทำให้มีผลรวมปริมาณแอนโธไซยานินกลุ่ม cyanidin มากที่สุดเท่ากับ 21.40 mg/L สาร malvidin-3,5-diglucoside เป็นแอนโธไซยานินกลุ่ม malvidin พบมากที่สุดในไวน์ที่หมักด้วยผลสุกไม่แยกเปลือก (5.25 mg/L) รองลงมาคือไวน์ที่หมักด้วยผลสุกแบบแยกเปลือกเท่ากับ 5.16 mg/L ผลรวมปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมดในไวน์ที่หมักด้วยผลสุกไม่แยกเปลือกมีปริมาณสูงที่สุดเท่ากับ 27.13 mg/L แสดงให้เห็นว่ามีการสกัดแอนโธไซยานินจากเปลือกเม่าหลวงในระหว่างการหมักจึงทำให้รูปแบบที่หมักทั้งเปลือกมีปริมาณสูงขึ้น

### การเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของไวน์เม่าหลวงในระหว่างการหมัก

ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH ของไวน์ที่หมักรูปแบบต่างๆ แสดงใน (Figure 2) แสดงผลในหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระ

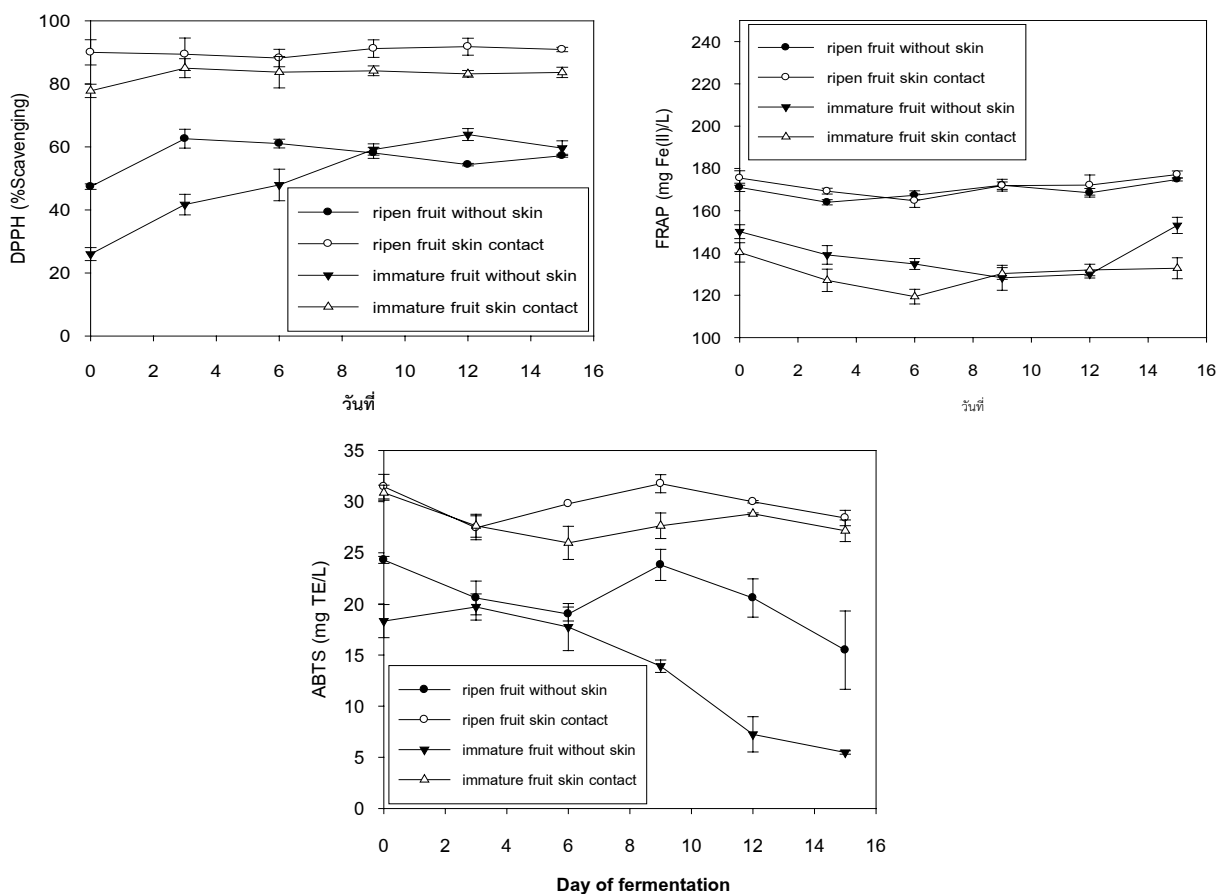


Figure 2 Change of antioxidant activity during Maoluang wine fermentation

จะเห็นได้ว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของไวน์แต่ละรูปแบบให้ผลแตกต่างกัน โดยจะเห็นอย่างชัดเจนว่าไวน์ที่หมักทั้งเปลือกทั้งผลหุ้มและผลสุกมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าไวน์ที่หมักแยกเปลือกโดยไวน์ที่หมักด้วยผลสุกทั้งเปลือกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ (90.90%) ขณะที่ไวน์ที่หมักด้วยผลหุ้มทั้งเปลือกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH รองลงมา (83.63%) เนื่องจากความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระมาจากสารกลุ่มฟีนอลิก ได้แก่ กรดฟีนอลิก แอนโทไซยานินและฟลาโวนอยด์ ซึ่งไวน์ที่หมักด้วยผลสุกทั้งเปลือกมีปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกสูงกว่าไวน์เม่าหลวงชนิดอื่นๆ

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี FRAP ของไวน์ที่หมักรูปแบบต่างๆ แสดงผลใน (Figure 2) ความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กของไวน์ทั้ง 4 ชนิด จะเห็นว่าไวน์ที่หมักด้วยผลสุกทั้งแบบแยกเปลือกและไม่แยกเปลือกมีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กใกล้เคียงกันเท่ากับ 174.78 และ 177.13 mg Fe(II)/L ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าไวน์ที่หมักด้วยผลหุ้มทั้งแบบแยกเปลือก และไม่แยกเปลือก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 153.06 และ 132.80 mg Fe(II)/L และเมื่อสังเกตจากเส้นกราฟจะพบว่าความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในระหว่างการหมัก

ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี ABTS แสดงใน (Figure 2) พบว่าตัวอย่างไวน์ที่หมักแยกเปลือกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจะลดลงเรื่อยๆ ตั้งแต่เริ่มต้นหมัก ขณะที่ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไวน์ที่หมักทั้งเปลือกทั้งผลหุ้มและผลสุกลดลงน้อยกว่าไวน์ที่หมักแยกเปลือก โดยไวน์ที่หมักด้วยผลสุกทั้งเปลือกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS สูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ (28.40 mg TE/L) รองลงมาคือไวน์ที่หมักด้วยผลหุ้มทั้งเปลือก (27.15 mg TE/L)

### สรุปผลการทดลอง

การพัฒนาวิธีการหมักไวน์แดงจากเม่าหลวง โดยศึกษาผลของระยะเวลาสุกของผลและรูปแบบการหมักที่มีผลต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลุ่มฟีนอลิก ได้แก่ กรดฟีนอลิกฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานินและมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาของการหมักโดยเฉพาะอย่างยิ่งไวน์ที่หมักด้วยผลสุกทั้งเปลือกมีปริมาณสูงที่สุดเท่ากับ 17.52 mg GAE/L และ 800 mg CE/L ตามลำดับแสดงให้เห็นว่าการหมักทั้งเปลือกเมื่อยีสต์สร้างแอลกอฮอล์มากขึ้นมีการสกัดสารฟีนอลิกออกมาจากเปลือกเม่าหลวงได้มากขึ้นซึ่งจะมีปริมาณสูงกว่าเมื่อเทียบกับการหมักแบบแยกเปลือกนอกจากนี้ยังพบ

quercetin,(-)-epicatechin และผลรวมฟลาโวนอยด์สูงที่สุดในไวน์ที่หมักด้วยผลสุกไม่แยกเปลือกเท่ากับ 19.69, 381.06 และ 460.87mg/L ตามลำดับปริมาณกรดฟีนอลิกเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อยๆ ตามระยะเวลาการหมัก ไวน์ที่หมักด้วยผลสุกไม่แยกเปลือกมีปริมาณ gallic acid,protocatechuic acid,chlorogenic acid มากที่สุดเท่ากับ 6.03, 6.81 และ 2.51 mg/L ตามลำดับ ขณะที่ cyanidin-3-O-glucoside, cyanidin-3-rutinoside และ malvidin-3,5-diglucoside เป็นสารในกลุ่มแอนโทไซยานินหลักที่พบในตัวอย่างไวน์ที่หมักทุกรูปแบบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH, FRAP และ ABTS ของไวน์ที่หมักด้วยผลสุกทั้งเปลือกมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 90.90%, 177.13 mg Fe(II)/L และ 28.40 mg TE/L ตามลำดับ การศึกษาชี้ให้เห็นว่าการหมักไวน์แดงจากเม่าหลวงด้วยวิธีการหมักด้วยผลสุก ล้วนและหมักโดยไม่ต้องแยกเปลือกจะช่วยให้ไวน์ที่ได้มีปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง

### กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณลุงทองเว เพียรภายลุนที่ได้อนุเคราะห์ตัวอย่างเม่าหลวงเพื่อนำมาใช้ในการศึกษานี้ และศูนย์เครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ ตลอดจนรองศาสตราจารย์ ดร.ศุภชัย สมบัติโตที่ให้คำปรึกษาและช่วยเหลือทุกอย่างจนงานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์

### เอกสารอ้างอิง

1. Adom KK, Liu RH. Antioxidant activity of grains. J Agric Food Chem 2002;9:6182-87.
2. Wolfe K, Wu X, Liu RH. Antioxidant activity of apple peels. 2003;51:6009-14.
3. Moller P, Loft S. Interventions with antioxidants and nutrients in relation to oxidative DNA damage and repair. Mutat Res 2004;551:79-89.
4. Sander CS, Chang H, Hamm F, Elsner P, Thiele JJ. Role of oxidative stress and the antioxidant network in cutaneous carcinogenesis. Int J Dermatol 2004;43:326-35.
5. Sonia de P-T, Diego AM, Cristina G-V. Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: A review of current evidence. Int J Mol Sci 2010; 11:1679-703.
6. เต็ม สมิตินันท์. ชื่อพันธุ์ไม้แห่งประเทศไทย : ชื่อพฤษศาสตร์ ชื่อพื้นเมือง. กรุงเทพฯ : หอพันธุ์ไม้ กรมป่าไม้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2523.



7. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 1965;16:144–58.
8. Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 2002;50:3010–4.
9. Butkhup L, Samappito W, Samappito S. Phenolic composition and antioxidant activity of white mulberry (*Morus alba* L.) fruits. *Int J Food Sci Technol* 2013; 48:934–40.
10. Kubola J, Siriamornpun S, Meeso N. Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. *Food Chem* 2011;126:972–81.
11. Jorjong S, Butkhup L, Samappito S. Phytochemicals and antioxidant capacities of Mao-Luang (*Antidesma buxifolium* L.) cultivars from Northeastern Thailand. *Food Chem* 2015;181:248–55.
12. Nagai T, Myoda T, Nagashima T. Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) *Equisetum arvense* L. *Food Chem* 2005;91:389–94.
13. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996;239:70–6.
14. Seeram NP, Henning SM, Lee R, Niu Y, Scheuller HS, Heber D. Catechin and caffeine contents of green tea dietary supplements and correlation with antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 2006;54:1599–603.
15. Knekt P, Jarvinen R, Seppanen R, Heliovaara M, Teppo L, Pukkala E, Aromaa A. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *American J Epidemiol* 1997;146:223–30.
16. Murias M, Handler N, Erker T. Resveratrol analogues as selective cyclooxygenase-2 inhibitors: synthesis and structure-activity relationship. *Bioorg Med Chem* 2004;12:5571–5578.
17. Mahmood T, Anwar F, Abbas M, Saari N. Effect of maturity on phenolics (phenolic acids and flavonoids) profile of strawberry cultivars and mulberry species from Pakistan. *Int J Mol Sci* 2012;13:4591–607.
18. Bornsek SM, Ziberna L, Polak T, Vanzo A, Ulrich NP, Abram V, Tramer F, Passamonti S. Bilberry and blueberry anthocyanins act as powerful intracellular antioxidants in mammalian cells. *Food Chem* 2012; 134:1878–84.
19. Skrovankova S, Sumczynski D, Mlcek J, Jurikova T, Sochor J. Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. *Int J Mol Sci* 2015;16:24673–706.
20. Noda Y, Matsumoto H, Umaoka Y. Involvement of superoxide radicals in the mouse 2-cell block. *Mol Reprod Dev* 1991; 28:356–60.
21. Rice-Evans C, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol Med* 1996;20: 933–56.
22. Tsuda T. Dietary cyanidin 3-O-beta-D-glucoside increases *ex vivo* oxidative resistance of serum in rats. *Lipids* 1998;33:583–8.
23. Gallo M, Naviglio D, Ferrara L. Nasunin, an antioxidant anthocyanin from eggplant peels, as a natural dye to avoid food allergies and intolerances. *European Sci J* 2014;10:1–11.
24. Tsuda T. The role of anthocyanins as an antioxidant under oxidative stress in rats. *Biofactors* 2000;13: 133–9.