

อิทธิพลของก๊าซโอโซนต่อระดับของสารต้านอนุมูลอิสระในคะน้า (*Brassica alboglabra* Bailey)



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒเพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิตสาขาวิชาชีววิทยา

ธันวาคม 2558

อิทธิพลของก๊าซโอโซนต่อระดับของสารต้านอนุมูลอิสระในคะน้า (*Brassica alboglabra* Bailey)



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒเพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิตสาขาวิชาชีววิทยา

ธันวาคม 2558

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

อิทธิพลของก๊าซโอโซนต่อระดับของสารต้านอนุมูลอิสระในคะน้า (*Brassica alboglabra* Bailey)



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒเพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิตสาขาวิชาชีววิทยา

ธันวาคม 2558

กนกวรรณ ปานสุขสาร. (2558). อิทธิพลของก๊าซโอโซนต่อระดับของสารต้านอนุมูลอิสระในคะน้า (*Brassica alboglabra* Bailey). ปริญญาานิพนธ์ กศ.ม. (ชีววิทยา). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาานิพนธ์: อาจารย์ ดร.สุชมาภรณ์ แสงงาม, รองศาสตราจารย์ ดร.พูนพิภพ เกษมทรัพย์.

ปัจจุบันพบว่าประเทศไทยมีปริมาณก๊าซโอโซนในชั้นบรรยากาศเพิ่มขึ้นเฉลี่ยสูงสุด 106-183 ส่วนในพันล้านส่วน ซึ่งส่งผลทำให้พืชได้รับความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) พืชจะมีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) เพื่อตอบสนองต่อสภาวะดังกล่าว ดังนั้นในการทดลองนี้ได้ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นคะน้า (*Brassica alboglabra* Bailey) ซึ่งเป็นผักที่ได้รับความนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ โดยศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity) และ FRAP (ferric reducing antioxidant power) และการสะสมปริมาณสารประกอบฟีนอลิก วิตามินซี ฟลาโวนอยด์ คลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์รวม แคโรทีนอยด์ และปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde; MDA) ในต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอกระบบ), 0 (ในระบบ), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 หรือ 8 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb ระยะเวลา 2 ชั่วโมง มีค่า DPPH สูงสุดคือ 79.79% inhibition of DPPH activity (1.09 เท่า) ในขณะที่ต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และปริมาณคลอโรฟิลล์รวมสูงสุดคือ 0.241 mg/g FW (1.16 เท่า) และ 0.342 mg/g FW (1.26 เท่า) ตามลำดับ และระยะเวลา 8 ชั่วโมง มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี และปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดคือ 0.103 mg/g FW (1.36 เท่า) และ 0.038 mg/g FW (1.90 เท่า) ตามลำดับ ก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 400 ppb ระยะเวลา 2 ชั่วโมง จะทำให้ต้นคะน้ามีปริมาณวิตามินซีสูงสุดคือ 22.22 mg/100g FW (1.01 เท่า) และที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb ระยะเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าต้นคะน้ามีค่า FRAP สูงสุดคือ 0.1699 $\mu\text{mol/mL}$ (1.39 เท่า) และระยะเวลา 4 ชั่วโมง พบว่ามีการสะสมปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงสุดคือ 0.72 mg GEQ/g FW (1.57 เท่า) และ 10.55 mg CEQ/100g FW (1.34 เท่า) ตามลำดับ และก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ต้นคะน้ามีปริมาณ MDA สูงสุดคือ 0.00114 mmol/mL FW (1.19 เท่า) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งความเสียหายของเซลล์พืชที่วัดได้จากค่า MDA ที่ระดับความเข้มข้นและช่วงเวลาดังกล่าวจะไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของใบคะน้า แต่จะสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของใบคะน้าเมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb ระยะเวลา 8 ชั่วโมง พบว่าบริเวณขอบใบเริ่มหงิกงอและมีสีซีด ดังนั้นจากการทดลองจะเห็นได้ว่าก๊าซโอโซนมีบทบาทในการช่วยเพิ่มความสามารถใน

การด้านอนุมัติสระและปริมาณสารด้านอนุมัติสระในต้นคะน้ำและนำมาใช้เป็นแนวทางในการเพิ่ม
คุณภาพผลผลิตทางการเกษตรต่อไปในอนาคต



EFFECT OF OZONE ON THE LEVEL OF ANTIOXIDANTS IN KALE (*Brassica alboglabra* Bailey).



Presented in Partial Fulfillment of Requirements for the
Master of Education Degree in Biology
At Srinakharinwirot University
December 2015

Kanokwan Pansuksan (2015). *Effect of ozone on the level of antioxidants in kale (Brassica alboglabra Bailey)*. Master thesis, M. Ed. (Biology). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor: Dr. Sukhumaporn Saeng-ngam, Assoc.Prof. Dr. Poonpipope Kasemsap.

Nowadays, Thailand has the highest average amount of ozone in atmosphere 106-183 parts per billion and this high concentration may cause oxidative stress in plants. Plants are able to counteract oxidative stress by producing antioxidants. Therefore, this research aims to study the ability of the antioxidants in kale (*Brassica alboglabra* Bailey), which is a popular vegetable that is widely consumed in Thailand and many countries. To study the ability of antioxidant activity by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity) assay, FRAP (ferric reducing antioxidant power) test, phenolic compound, vitamin C, flavonoids, chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, total chlorophyll, carotenoids and MDA (malondialdehyde) contents in kale that treats with ozone at 0 (out chamber), 0 (in chamber), 200, 400 and 600 ppb for 0, 2, 4, 6 and 8 hours. The results showed that 200 ppb of ozone for 2 hours increased the highest antioxidant activity by DPPH assay [79.79% inhibition of DPPH activity (1.09 times)], for 6 hours increased the highest chlorophyll *a* and total chlorophyll content [0.241 mg/g FW (1.16 times) and 0.342 mg/g FW (1.26 times), respectively] and the 8 hours of ozone exposure increased the highest chlorophyll *b* and carotenoids content in kale [0.103 mg/g FW (1.36 times) and 0.038 mg/g FW (1.90 times)], respectively. On the other hand, 400 ppb of ozone for 2 hours increased the highest vitamin C in kale [22.22 mg/100g FW (1.01 times)]. At last, 600 ppb of ozone for 2 hours increased the highest antioxidant activity by FRAP in kale [0.1699 μ mol/mL (1.39 times)], the 4 hours of ozone exposure increased the highest total phenolic and flavonoids content in kale [0.72 mg GEQ/g FW (1.57 times) and 10.55 mg CEQ/100g FW (1.34 times)], respectively and the 6 hours of ozone exposure increased the highest MDA in kale [0.00114 mmol/mL FW (1.19 times)] when compared with control. Moreover, the plant cells damage by exposure to ozone were measured by increasing MDA content in this condition does not effect on the physical changes of kale leaves, but the margin of leaf showed a slightly chlorosis and twist when exposed to 600 ppb of ozone for 8 hours. Thus, this experiment shows that ozone has a role to enhance the ability of antioxidant and antioxidant contents in kale, and can be used to improve the quality of agricultural products in the future.

ประกาศคุณประการ

ผู้วิจัยกราบขอพระคุณ อาจารย์ ดร. สุขุมภรณ์ แสงงาม อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาโท ที่ให้คำปรึกษา แนวคิด แนวทางการดำเนินการวิจัย แก้ไขตรวจทานปริญญาโท และสนับสนุนเงินทุน ตลอดระยะเวลาที่ทำการวิจัย อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒที่ได้ให้ความรู้และอบรมสั่งสอนตลอดการศึกษา

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. พูนพิภพ เกษมทรัพย์ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ เครื่องมือในการทำวิจัย และสนับสนุนเงินทุนในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ รองศาสตราจารย์ ดร. เฉลิมชัย วงศ์วัฒน์ อาจารย์ ดร. รัชชนก โคโต อาจารย์ ดร. ณรงค์ วงศ์กันทรากกร ที่ให้ความเกียรติเป็นกรรมการ สอบเค้าโครงปริญญาโทและปริญญาโท ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิวาพร ลงยันต์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ และเครื่องมือในการทำวิจัย และคุณลุงสมศักดิ์ เกษตรกรคลองทวีวัฒนาที่ช่วยสอนวิธีการเพาะปลูกและดูแลรักษาต้นคะน้า ขอขอบพระคุณ คุณธีรพัฒน์ วงศ์รักษา เจ้าหน้าที่ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้คำปรึกษาและช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณผู้มีพระคุณและบุคลากร ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒทุกท่านที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษา ความช่วยเหลือ และกำลังใจในการทำวิจัยมาโดยตลอด และ

ข้าพเจ้าขอกราบขอพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และญาติพี่น้องทุก ๆ ท่าน ที่มอบความรัก กำลังใจ คอยเลี้ยงดู คอยอบรมสั่งสอน ให้สติปัญญา แนวทางในการดำเนินชีวิต สนับสนุนด้านการศึกษา และในทุก ๆ ด้าน ด้วยดีเสมอมา

การวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนโดยบัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จากงบประมาณเงินรายได้บัณฑิตวิทยาลัยประจำปี 2557 (เลขที่สัญญา 261/2557) และทุนการศึกษาเพื่อทำปริญญาโท (GRAD S-1-58)

กนกวรรณ ปานสุขสาร

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง.....	1
ความมุ่งหมายของการวิจัย.....	3
ขอบเขตของการวิจัย.....	3
สมมติฐานในงานวิจัย.....	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
คะน้ำ.....	5
ลักษณะทั่วไปของคะน้ำ.....	5
สารอนุมูลอิสระ.....	7
แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ.....	7
ปัจจัยภายในร่างกาย.....	7
ปัจจัยภายนอกในร่างกาย.....	7
ประเภทของอนุมูลอิสระ.....	8
ประโยชน์ของสารอนุมูลอิสระ.....	8
บทบาทของอนุมูลอิสระต่อการเกิดโรคต่าง ๆ.....	9
สารต้านอนุมูลอิสระ.....	9
สารต้านอนุมูลอิสระในผักและผลไม้.....	10
วิตามินซี.....	10
เบต้า-แคโรทีน.....	12
ฟลาโวนอยด์.....	13
สารประกอบฟีนอลิก.....	14
ก๊าซไอโซน.....	15
การประยุกต์ใช้ก๊าซไอโซนกับพืช.....	16
บทบาทของก๊าซไอโซนต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในพืช.....	16
บทบาทของก๊าซไอโซนต่อการเจริญเติบโตของพืช.....	17
บทบาทของก๊าซไอโซนต่อการปิดเปิดปากใบของพืช.....	17

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
2 (ต่อ)	
บทบาทของก๊าซไอโซนต่อปริมาณรงควัตถุและกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช.....	18
บทบาทของก๊าซไอโซนต่อการเกิดลิพิดเพอรอกซิเดชัน (lipid peroxidation).....	19
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	20
การเตรียมพืชในการทดลอง.....	20
ความเข้มข้นของก๊าซไอโซนที่ให้กับต้นคะน้า.....	20
อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย.....	21
อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH.....	21
อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP.....	21
อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก.....	22
อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์วิตามินซี.....	22
อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ฟลาโวนอยด์.....	22
อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์.....	23
อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์การเกิดลิพิดเพอรอกซิเดชันในเนื้อเยื่อใบคะน้า.....	23
ศึกษาผลของก๊าซไอโซนต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในต้นคะน้า.....	24
การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในต้นคะน้า.....	24
วิธีการเตรียมสารสกัดจากต้นคะน้า.....	24
การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay).....	24

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3 (ต่อ)	
การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP).....	24
การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในต้นคะน้า.....	25
การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก.....	25
การสกัดสารประกอบฟีนอลิก.....	25
วิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก.....	25
การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี.....	25
การสกัดวิตามินซี.....	25
วิธีวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี.....	26
การสกัดหาปริมาณฟลาโวนอยด์.....	26
การสกัดสารฟลาโวนอยด์.....	26
วิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์.....	26
ศึกษาผลของก๊าซโอโซนที่มีต่อความเสียหายและการเปลี่ยนทางชีวเคมีในต้นคะน้า.....	27
ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของต้นคะน้า.....	27
ศึกษาการผลของก๊าซโอโซนที่มีต่อปริมาณรงควัตถุในกระบวนการ สังเคราะห์ด้วยแสงของพืช.....	27
การหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์.....	27
ศึกษาการเกิดลิพิดเพอรอกซิเดชันในเนื้อเยื่อใบคะน้า.....	27
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	28
สถานที่ทำการทดลอง.....	28
ระยะเวลาทดลอง.....	28
4 ผลการทดลอง.....	29
การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1- picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay) ในสารสกัดจากต้นคะน้า.....	29

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 (ต่อ)	
การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในสารสกัดจากต้นคะน้า.....	32
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากต้นคะน้า.....	35
ปริมาณวิตามินซีในสารสกัดจากต้นคะน้า.....	38
ปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดจากต้นคะน้า.....	41
การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของต้นคะน้า.....	44
ปริมาณรงควัตถุที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชในต้นคะน้า.....	46
ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ.....	46
ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี.....	49
ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม.....	52
ปริมาณแคโรทีนอยด์.....	55
ศึกษาการเกิดลิพิดเพอรอกซิเดชันในเนื้อเยื่อใบคะน้า.....	58
5 สรุป อภิปราย และข้อเสนอแนะ.....	61
สรุป.....	61
อภิปราย.....	62
ข้อเสนอแนะ.....	69
บรรณานุกรม.....	70
ภาคผนวก.....	81
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	86

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 คุณค่าทางโภชนาการของคะน้าสด 100 กรัม.....	6
2 ประเภทของอนุมูลอิสระที่มีบทบาททางชีววิทยา.....	8
3 การจำแนกสารต้านอนุมูลอิสระตามแหล่งที่มา.....	9
4 ปริมาณวิตามินซีในผักและผลไม้ปริมาณ 100 กรัม.....	11
5 % inhibitionDPPH ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับ ความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมงเมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกัน และที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน	31
6 ค่า FRAP($\mu\text{mol/mL}$) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับ ความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมงเมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกัน และที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน.....	34
7 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (mg GEQ/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อ ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกัน และที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน.....	37
8 ปริมาณของวิตามินซี (mg/100g) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซน ที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมงเมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกัน และที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน	40
9 ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg CEQ/100 g FW) ในสารสกัดจากคะน้าเมื่อคะน้าได้รับ ก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมงเมื่อเปรียบเทียบ ในช่วงเวลาเดียวกันและที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน.....	43

บัญชีตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
10	ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (mg/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกันและที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน	48
11	ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (mg/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมงเมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาและที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน	51
12	ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม (mg/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมงเมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกันและที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน.....	54
13	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมงเมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกัน และที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน	57
14	ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde, MDA) (mmol/mL FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกันและที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน	60

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 คะน้า (<i>Brassica alboglabra</i> Bailey) อายุ 40 วัน.....	5
2 โครงสร้างของวิตามินซี.....	11
3 โครงสร้างของเบต้า-แคโรทีน.....	12
4 โครงสร้างฟลาโวนอยด์.....	13
5 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก.....	14
6 ภาพประกอบ ปริมาณก๊าซไอโซนเฉลี่ยสูงสุดในประเทศไทย.....	16
7 % inhibition DPPH ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซไอโซน ที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง.....	30
8 ค่า FRAP ($\mu\text{mol/mL}$) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซไอโซน ที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง.....	33
9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (mg GEQ/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้า เมื่อได้รับก๊าซไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง.....	36
10 ปริมาณวิตามินซี (mg/100g) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซไอโซน ที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง.....	39
11 ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg CEQ/100g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับ ก๊าซไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง.....	42
12 ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง (a-y) (bar = 4 cm).....	45
13 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (mg/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับ ก๊าซไอโซนที่ความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง.....	47

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
14 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (mg/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับ ก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง.....	50
15 ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม (mg/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับ ก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง.....	53
16 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/100mg FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับ ก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง	56
17 ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde, MDA) (mmol/mL FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง.....	59
18 กราฟมาตรฐานของปริมาณสารประกอบเฟอร์รัสไตรไพริดีลไตรอะซีน [ferroustripyridyltriazine (Fe^{2+} TPTZ)] เพื่อคำนวณหาค่า FRAP ($\mu\text{mol/mL}$).....	82
19 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (gallic acid) เพื่อคำนวณหาปริมาณของ สารประกอบฟีนอลิก (mg GEQ/gFW).....	83
20 กราฟมาตรฐานของวิตามินซี (mg/mL).....	84
21 กราฟมาตรฐานของแคทีชิน (catechin) เพื่อคำนวณหาปริมาณของฟลาโวนอยด์ (mg CEQ/100g FW).....	85

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ppb	=	หนึ่งในพันล้านส่วนหรือ 1/1,000,000,000 มีหน่วย $\mu\text{mol/mol}$
cm	=	เซนติเมตร
Abs	=	ค่าการดูดกลืนแสงมีหน่วยเป็นนาโนเมตร (nm)
mM	=	มิลลิโมลาร์
M	=	โมลาร์
mg	=	มิลลิกรัม
μg	=	ไมโครกรัม
μmol	=	ไมโครโมล
mL	=	มิลลิลิตร
FW	=	น้ำหนักสด
GEQ	=	<i>Gallic acid equivalents</i>
CEQ	=	<i>Catechin equivalents</i>

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

ผักและผลไม้เป็นอาหารที่อุดมไปด้วยสารเบต้า-แคโรทีน (beta-carotene) แอลฟาโทโคฟีรอล (vitamin E) และวิตามินซี (ascorbic acid) รวมทั้งเกลือแร่ ซึ่งจำเป็นต่อร่างกายมนุษย์ซึ่งมีผลทำให้สุขภาพแข็งแรง และช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่าง ๆ ได้ เช่น โรคมะเร็ง (cancer) โรคหลอดเลือดหัวใจ (cardiovascular diseases, CVDs) และอาการอักเสบต่าง ๆ ของร่างกาย (Greewald; et al. 2001; Kris-Etherton; et al., 2002; Temple; & Gladwin. 2003) ปัจจุบันมนุษย์ได้ให้ความสำคัญในการดูแลสุขภาพและใส่ใจกับคุณค่าทางโภชนาการในอาหารที่บริโภคมากขึ้น ด้วยความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในปัจจุบันได้มีการนำเทคนิคต่าง ๆ มาใช้ในด้านของการอุตสาหกรรมและเกษตรกรรมในการผลิตผักหรือผลไม้ เพื่อใช้ในการเพิ่มปริมาณสารอาหารรวมทั้งวิตามินต่าง ๆ ให้มีปริมาณมากขึ้น ตัวอย่างการพัฒนาสายพันธุ์ข้าว เช่น ข้าวทอง (golden rice) เป็นการนำเทคโนโลยีมาช่วยปรับปรุงสายพันธุ์ข้าวเพื่อให้มีการสร้างสารเบต้า-แคโรทีนในเมล็ดข้าว เบต้า-แคโรทีนเป็นสารเริ่มต้นที่สำคัญที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์วิตามินเอ (Kellogg. 2013) แต่เนื่องด้วยสภาพแวดล้อมที่เต็มไปด้วยสารมลพิษต่าง ๆ เช่น ควันบุหรี่ แสงแดด ก๊าซพิษที่เกิดจากกระบวนการผลิตทางอุตสาหกรรม เช่น ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (sulfur dioxide, SO₂) คาร์บอนมอนอกไซด์ (carbon monoxide, CO) ไนโตรเจนไดออกไซด์ (nitrogen dioxide, NO₂) รวมทั้งสารที่ใช้ในการปรุงแต่งในอาหาร สิ่งเหล่านี้ล้วนเป็นปัจจัยที่ส่งผลเสียต่อสุขภาพร่างกายของมนุษย์และก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้ เช่น โรคไขข้ออักเสบ โรคเบาหวาน (Valko; et al. 2007) โรคการเสื่อมของระบบประสาท (neurodegenerative disease) โรคหัวใจ (heart disease) นอกจากนี้ยังส่งผลให้ร่างกายเกิดการสะสมสารอนุมูลอิสระ (free radicals) ซึ่งเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็ง (Sibel; & Gurkan. 2008) และในหลายปีที่ผ่านมา มีผู้เสียชีวิตจากโรคดังกล่าวเป็นจำนวนมากโดยมีสาเหตุหลักมาจากโรคมะเร็ง ในปี พ.ศ.2555 พบว่าประเทศไทยมีผู้ป่วยโรคมะเร็งเพิ่มขึ้นถึง 3,917 คน แบ่งเป็นเพศชาย 39.67% และเพศหญิง 60.33% (กลุ่มงานเทคโนโลยีสารสนเทศ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. 2557) และการหลีกเลี่ยงปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมที่เป็นสาเหตุให้เกิดการสะสมอนุมูลอิสระในร่างกายเป็นไปได้ค่อนข้างยาก ดังนั้นการได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากการบริโภคผักและผลไม้ จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยป้องกันปัญหาด้านสุขภาพของมนุษย์ นอกจากนี้ยังช่วยลดค่าใช้จ่ายทางด้านสาธารณสุขและส่งผลให้ประชากรมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

การเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมเป็นปัญหาที่สำคัญของโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเปลี่ยนแปลงระดับของก๊าซโอโซน (O_3) ในชั้นบรรยากาศของโลก ระดับก๊าซโอโซนของประเทศไทยในแต่ละจังหวัดมีค่าแตกต่างกัน เช่น อำเภอเมือง เชียงใหม่, อำเภอเมือง ขอนแก่น, อำเภอหาดใหญ่ สงขลา, อำเภอบางกรวย นนทบุรี และเขตบางนา กรุงเทพมหานคร ที่มีค่าโอโซนเฉลี่ยสูงถึง 106-183 ส่วนในล้านส่วนต่อชั่วโมง โดยมีค่าสูงกว่าค่ามาตรฐานซึ่งมีค่าอยู่ที่ 100 ส่วนในล้านส่วนต่อชั่วโมง ก๊าซโอโซนเป็นสารมลพิษที่พบมากในชั้นบรรยากาศสตราโตสเฟียร์ (stratosphere) ก๊าซโอโซนส่วนใหญ่เกิดจากกิจกรรมทางอุตสาหกรรม การเผาไหม้เชื้อเพลิงชีวภาพ และการเผาไหม้เชื้อเพลิงจากเครื่องยนต์ และเครื่องจักร ก๊าซโอโซนปนเปื้อนอยู่ในชั้นบรรยากาศและพบว่าระดับความเข้มข้นของก๊าซโอโซนในชั้นบรรยากาศของโลกมีค่าเพิ่มขึ้นในปัจจุบันและคาดว่าจะมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในอนาคต (Voulgarakis; et al. 2011) ก๊าซโอโซนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงต่อสรีรวิทยาของพืช (Krupa; et al., 2001) เช่น ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชและการชักนำการเปิดปิดปากใบของ *Metasequoia glyptostroboides* เมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 60 ppb เป็นเวลา 2 ปี มีค่าลดลง (Zhang; et al. 2014) เนื่องจากโครงสร้างของคลอโรพลาสต์ถูกทำลายจากการได้รับก๊าซโอโซน และการสูญเสียประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ไรบูโลส 1, 5 บิสฟอสเฟตคาร์บอกซิเลส ออกซีจีเนส [ribulose-1, 5- biphosphate carboxylase oxygenase (RuBisCO)] และการควบคุมการเปิดปิดของปากใบ (Fiscus; et al., 2005; Lu; et al., 2009) แต่ในพืชชนิด *Ilex aquifolium* L. เมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 70 ppb เป็นเวลา 28 วัน จะมีอัตราการชักนำการเปิดปิดของปากใบเพิ่มขึ้น (Ranford; & Reiling. 2007) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าก๊าซโอโซนมีผลทำให้พืชเกิดสภาวะความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) โดยการชักนำ reactive oxygen species (ROSs) ให้มีปริมาณเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดการทำลายโปรตีน ลิพิด และกรดนิวคลีอิกภายในเซลล์พืช (Alscher; et al. 1997; Imlay. 2003) แต่มีงานวิจัยจำนวนมากได้นำก๊าซโอโซนมาใช้ในการกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การยืดอายุการเก็บรักษาคุณภาพของน้ำผลไม้เพื่อรักษาคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระในผักและผลไม้ (Torres; et al., 2011) และใช้ก๊าซโอโซนเพื่อรักษาคุณภาพและยืดอายุในการวางขายผลไม้บางชนิด เช่น ส้ม องุ่น ราชเบอร์รี่ ลูกแพร์ แอปเปิ้ล (Beuchat. 1998; Skog; & Chu. 2001) ทั้งยังมีการใช้ก๊าซโอโซนเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดในอาหาร (Jacxsens et al. 2001) ก๊าซโอโซนยังส่งผลชักนำให้พืชเกิดสภาวะ oxidative stress โดยเมื่อพืชอยู่ในสภาวะ oxidative stress พบว่าจะมีกลไกการสะสมสารต้านอนุมูล-อิสระ เช่น สารประกอบฟีนอลิก สารทุติยภูมิต่าง ๆ ซึ่งเป็นกลไกการปรับตัวทางสรีรวิทยาของพืชที่มีต่อสภาวะเครียดที่พืชได้รับจากปัจจัยทางกายภาพ (abiotic stress) (Forney. 2003) จากข้อมูลดังกล่าว การสะสมสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในพืชเมื่อพืชได้รับก๊าซโอโซนสามารถนำมาใช้เป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถใช้ศึกษาถึงผลของก๊าซโอโซนที่ทำให้มีการสะสมสารต้านอนุมูลอิสระในพืชเพิ่มขึ้น และเพื่อให้ผลผลิตทางการเกษตรของเกษตรกรไทยมีคุณภาพเพิ่มขึ้น เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม

ประชากรส่วนใหญ่มีการทำเกษตรกรรมอยู่ในทุกภูมิภาคของประเทศ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะทำการศึกษาอิทธิพลของก๊าซโอโซนต่อการเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในคะน้า (*Brassica alboglabra* Bailey) ทั้งนี้เนื่องจากคะน้าเป็นผักเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย และจากการสำรวจข้อมูลของการเพาะปลูกคะน้าภายในประเทศของศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์พบว่า ในปี พ.ศ.2557 ประเทศไทยมีพื้นที่เก็บเกี่ยว 88,063 ไร่ มีผลผลิตจำนวน 142,398 ตัน คิดเป็นมูลค่าทั้งหมด 2,091.827 ล้านบาท (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ปี 2548-2558. 2558) ประกอบกับในช่วง 5 ปีที่ผ่านมาคะน้ามีราคาขายภายในประเทศไทยสูงถึง 50 บาทต่อกิโลกรัม (ตลาดสี่มุมเมือง. 2558) ทั้งนี้การเพาะปลูกคะน้าสามารถทำได้ตลอดทั้งปีและมีวิธีการปลูกดูแลรักษาง่ายจึงทำให้มีการเพาะปลูกกันอย่างแพร่หลาย ในด้านการบริโภคคะน้าพบว่าคะน้าเป็นผักชนิดหนึ่งที่มีการบริโภคภายในประเทศเป็นจำนวนมากและคาดว่าจะมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทั้งภายในประเทศและทั่วโลกในอนาคตตามการขยายตัวของทางเศรษฐกิจ และจากการนิยมนำบริโภคอาหารประเภทผักที่เพิ่มขึ้นทั่วโลกจึงส่งผลให้ปริมาณการส่งออกและราคาสินค้าเกษตรมีราคาสูงขึ้น หากสามารถเพิ่มคุณภาพของคะน้าที่เพาะปลูกในประเทศไทยให้สูงขึ้นคาดว่าจะส่งผลให้เกษตรกรไทยมีรายได้เพิ่มขึ้นและมูลค่าการส่งออกคะน้าของประเทศเพิ่มขึ้นด้วย ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางในการนำก๊าซโอโซนมาใช้ประโยชน์ในการเพิ่มคุณภาพของพืชผักชนิดต่าง ๆ ต่อไปในอนาคต

ความมุ่งหมายของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของก๊าซโอโซน (O_3) ที่มีผลต่อระดับของสารต้านอนุมูลอิสระในต้นคะน้า
2. เพื่อหาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมในการให้ก๊าซโอโซนกับต้นคะน้าที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับสารต้านอนุมูลอิสระในต้นคะน้า
3. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการของต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซน

ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยครั้งนี้ได้ให้ก๊าซโอโซนกับต้นคะน้าที่ระดับความเข้มข้นและช่วงเวลาต่าง ๆ เพื่อนำมาศึกษาความเข้มข้นของก๊าซโอโซนและช่วงเวลาในการให้ก๊าซโอโซนที่มีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและระดับของสารต้านอนุมูลอิสระในต้นคะน้าและศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของต้นคะน้า

สมมติฐานในงานวิจัย

ก๊าซโอโซนสามารถเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในต้นคะน้าได้และทำให้เกิดลิพิดเพอรอกซิเดชัน (lipid peroxidation) และการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในต้นคะน้าได้



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ผักและผลไม้เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) หลายชนิด เช่น วิตามินซี ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และแคโรทีนอยด์ (carotenoids) คะน้าเป็นผักสวนครัวที่สามารถปลูกรับประทานได้เองและมีจำหน่ายทั่วไปตามท้องตลาด นอกจากนี้ยังมีสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถช่วยป้องกันและลดปริมาณสารอนุมูลอิสระในร่างกายได้



ภาพประกอบ 1 คะน้า (*Brassica alboglabra* Bailey) อายุ 40 วัน

กะน้า

ลักษณะทั่วไปของกะน้า

กะน้า (*Brassica alboglabra* Bailey) (ภาพประกอบ 1) เป็นพืชวงศ์ Brassicaceae มีถิ่นกำเนิดและมีการปลูกกันมากในแถบทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น จีน ไต้หวัน ฮองกง ไทย คะน้าเจริญเติบโตได้ดีในดินเกือบทุกชนิดที่อุดมสมบูรณ์ มีความชื้นสม่ำเสมอและมีแสงแดดเต็มที่ คะน้าเป็นผักอายุ 2 ปี มีอายุการเก็บเกี่ยว 35–45 วัน สามารถเพาะปลูกได้ทุกฤดูตลอดทั้งปี คะน้าเป็นพืชล้มลุก ไม่มีเนื้อไม้ มีความสูงประมาณ 1–3 ฟุต แผ่นใบมีลักษณะหนาและแข็ง มีก้านใบ ใบกว้างรูปไข่กลับ

(obovate) จนถึงเกือบกลม (oblong) ดอกเป็นดอกช่อกระจุก (racemes) ยาว 1 นิ้ว ไม่มีก้านดอก (sessile) กลีบดอกมีสีขาวจนถึงสีเหลือง ส่วนที่นำมาใช้บริโภคคือลำต้นและใบ ค่ะน้ำมีประโยชน์และสรรพคุณทางยาหลายประการ (ตาราง 1) เช่น มีวิตามินซี ซึ่งจะช่วยบำรุงผิวพรรณ กระดูก และฟัน ช่วยลดคอเลสเตอรอลในเลือด นอกจากนี้ค่าน้ำยังมีสารเบต้า-แคโรทีนและสามารถเปลี่ยนไปเป็นวิตามินเอ เพื่อช่วยในการบำรุงสายตา

ตาราง 1 คุณค่าทางโภชนาการของคะน้าสด 100 กรัม

พลังงานทั้งหมด 24 กิโลแคลอรี

คุณค่าทางโภชนาการ	ปริมาณ	
โปรตีน	2.70	กรัม
ไขมัน	0.50	กรัม
คาร์โบไฮเดรต	2.20	กรัม
แคลเซียม	245.00	กรัม
ฟอสฟอรัส	80.00	กรัม
เหล็ก	1.20	มิลลิกรัม
วิตามิน บี 1	0.05	มิลลิกรัม
วิตามิน บี 2	0.08	มิลลิกรัม
ไนอาซิน	1.00	มิลลิกรัม
วิตามินซี	141.00*	มิลลิกรัม
เบต้า-แคโรทีน	2,512.00*	ไมโครกรัม
ใยอาหาร	3.20*	กรัม

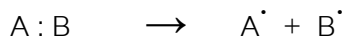
ข้อมูล กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ตารางแสดงคุณค่าของอาหารไทย 2535 * วิเคราะห์โดยสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล (สุนทร ตรีนันทวัน. 2556)

สารอนุมูลอิสระ

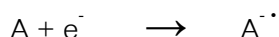
สารอนุมูลอิสระ (free radicals หรือ oxidants) เป็นสารที่มีอะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (single หรือ unpaired electron) ประกอบอยู่ด้วย ทำให้ไม่เสถียรและมีความว่องไวต่อการจับและเกิดปฏิกิริยาเคมีกับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction)

การเกิดอนุมูลอิสระเกิดได้หลายกลไกที่แตกต่างกันคือ

ก. การแตกของพันธะโคเวเลนต์แบบโฮโมไลซิส (homolysis)



ข. การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัวให้แก่อะตอมที่มีประจุเป็นศูนย์



ค. การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัวจากอะตอมที่มีประจุเป็นศูนย์



แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ

สิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิตจะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจนเกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา การเกิดอนุมูลอิสระนี้มีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย โดยแบ่งเป็นปัจจัยภายในร่างกายและภายนอก่างกายดังนี้

ปัจจัยภายในร่างกาย

ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเอง (autooxidation) (Nawar. 1996) แบ่งเป็น 3 ระยะ 1 ระยะเหนี่ยวนำเริ่มต้น (initiation) 2 ระยะเพิ่มจำนวน (propagation) และ 3 ระยะสิ้นสุด (termination) ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีเอนไซม์ (Halliwell; et al. 1995) และโลหะทรานซิชัน (transition metal) (Halliwell. 1999) เป็นตัวเร่ง

ปัจจัยภายนอกในร่างกาย

ยารักษาโรคบางชนิดมีฤทธิ์ส่งเสริมการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) เช่น บลีโอมัยซิน (bleomycin) แอนทราไซคลินส์ (anthracyclines) (Voest; et al. 1994) และเมโทเทร็กเสต (methotrexate) (Gressier; et al. 1994)

รังสี (rays) เช่น รังสีแกมมา (γ-ray) เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายจากการเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนที่ละลายอยู่ในเซลล์ทำให้ได้อนุมูลอิสระเกิดขึ้น (Halliwell; et al. 1995)

ควันบุหรี่ มีอนุมูลอิสระในความเข้มข้นที่สูง พบอนุมูลอิสระในควันบุหรี่ทั้งในแก๊ส (gas phase) และทาร์ (tar phase) อนุมูลอิสระที่พบในแก๊ส เช่น อนุมูลไนตริกออกไซด์ (nitric oxide radical, NO[•]) ไนโตรเจนไดออกไซด์ (nitrogen dioxide, NO₂) และเพอร์ออกซีไนไตรท์ (peroxynitrite, ONOO⁻) ส่วนอนุมูลอิสระที่พบในทาร์ เช่น ไฮดรอกซิลเรดิคัล (hydroxyl radical, OH[•]) ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H₂O₂) ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคปอดอุดตันเรื้อรัง [chronic obstructive

pulmonary disease (COPD)] และโรคถุงลมโป่งพอง (pulmonary emphysema) (Rahman; & Macnee. 1996)

ก๊าซโอโซน (ozone) เป็นสารที่สามารถเปลี่ยนรูปเป็นอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลได้จากการกระตุ้นของคลื่นแสง (Valacchi; et al. 2004) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยภายนอกอื่น ๆ ที่เป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูล-อิสระได้ด้วย เช่น ยาฆ่าแมลง แสงแดด ความร้อน อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว

ประเภทของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระที่มีบทบาททางชีววิทยาแบ่งเป็น 3 ประเภทหลัก ๆ ดังตาราง 2

ตาราง 2 ประเภทของอนุมูลอิสระที่มีบทบาททางชีววิทยา

ประเภทอนุมูลอิสระ	ตัวอย่าง
Reactive oxygen species (ROS, RS)	Superoxide, Superoxide anion ($O_2^{\cdot -}$) Hydroxyl ($OH^{\cdot}$) Hydroperoxyl ($HO_2^{\cdot}$) Peroxyl ($RO_2^{\cdot}$) Alkoxyl ($RO^{\cdot}$) Carbonate ($CO_3^{\cdot -}$) Carbon dioxide ($CO_2^{\cdot -}$)
Reactive nitrogen species (RNS)	Nitric oxide ($NO^{\cdot}$) Nitrogen dioxide ($NO_2^{\cdot}$, $NO_2^{\cdot -}$)
Reactive chlorine species (RCS)	Atomic chlorine (Cl)

ประโยชน์ของสารอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระมีส่วนช่วยในการรักษาโรค เซลล์ร่างกายจำพวกเซลล์เม็ดเลือดขาวใช้สารอนุมูล-อิสระในการกำจัดแบคทีเรีย โดยเมื่อเซลล์แมโครเฟจ (macrophage) กินแบคทีเรียแล้วจะมีการสร้างอนุมูลอิสระมาทำลายแบคทีเรีย ซึ่งมีผลทำให้เกิดการอักเสบและเนื้อเยื่อจะถูกทำลายโดยฉับพลัน นอกจากนี้ทางการแพทย์ยังใช้รังสีเพื่อสร้างอนุมูลอิสระในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งซึ่งเรียกว่า “รังสีรักษา” ซึ่งส่งผลให้เซลล์ฝ่อและตายในที่สุด

บทบาทของอนุมูลอิสระต่อการเกิดโรคต่าง ๆ

อนุมูลอิสระเกิดขึ้นจากปัจจัยภายในและภายนอกในร่างกาย รวมทั้งภาวะที่ร่างกายถูกแวดล้อมไปด้วยมลพิษต่าง ๆ จะส่งผลให้ร่างกายสะสมสารอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นร่างกายจึงจำเป็นต้องมีกระบวนการป้องกัน กำจัด และทำลายสารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นโดยสร้าง “สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants)” อย่างไรก็ตามมีบางสภาวะที่ทำให้เกิดปริมาณสารอนุมูลอิสระมากเกินไปที่ระบบการต้านอนุมูลอิสระจะสามารถจัดการได้เรียกสภาวะนี้

ว่า “oxidative stress” ซึ่งส่งผลกระทบต่าง ๆ ต่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิต เช่น การทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีน ส่งผลให้ตาเกิดต้อกระจก (cataract formation) และส่งผลให้เกิดมะเร็ง ส่วนการเกิดออกซิเดชันของไขมันส่งผลให้เกิดโรคหลอดเลือด (vascular diseases) (Rajendran; et al. 2004; Langsethm. 1995) นอกจากนี้สารอนุมูลอิสระยังไปทำลายเซลล์ทำให้เกิดการเสื่อมชรา (ageing) และการเกิดโรคภัยต่าง ๆ เช่น โรคหลอดเลือดตีบ โรคภูมิคุ้มกันทำลายตนเอง (autoimmune disease) และโรคมะเร็ง (Robak; et al. 1998; Ames; et al. 1993)

สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่ทำหน้าที่ป้องกันหรือทำลายอนุมูลอิสระโดยจับกับอนุมูลอิสระเพื่อลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่จุดตั้งต้นหรือยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Halliwell. 2009) สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งตามแหล่งที่มาได้ 3 ประเภทดังตาราง 3

ตาราง 3 การจำแนกสารต้านอนุมูลอิสระตามแหล่งที่มา

ประเภทสารต้านอนุมูลอิสระ	ตัวอย่าง
สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกายและเป็นเอนไซม์	Superoxide dismutase (SOD)
	Catalase (CAT)
	Glutathione peroxidase (GPX)
	Glutathione reductase (GR)
	Glutathione S-transferase (GST)
สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกายแต่ไม่เป็นเอนไซม์	Glutathione
	Lipoic acid
	Ceruloplasmin
	Albumin
	Transferrin
	Haotoglobin

ตาราง 3 (ต่อ)

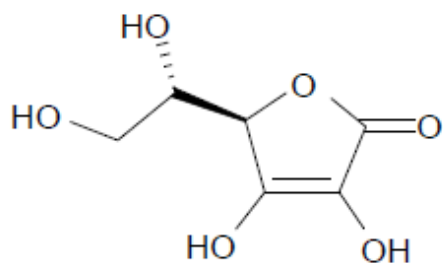
ประเภทสารต้านอนุมูลอิสระ	ตัวอย่าง
	Hemopexin
	Uric acid
	Bilirubin Cysteine
สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในอาหารและไม่เป็นเอนไซม์	Tocopherols
	Carotenoids
	Ascorbic acid
	Steroids
	Ubiquinones
	Thiols
	Inosine
	Pyruvate
	Gallic acid
	Flavonoids

สารต้านอนุมูลอิสระในผักและผลไม้

ผักและผลไม้เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ เช่น วิตามินซี (vitamin C) เบต้า-แคโรทีน (beta-carotene) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) (Alothman; et al. 2010)

วิตามินซี

วิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) มีสูตรโครงสร้างทางเคมี $C_6H_8O_6$ (ภาพประกอบ 2) มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีจึงทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระในเซลล์ซึ่งมีน้ำเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ได้ (Dabbagh; et al. 2014) วิตามินซีเป็นสารประกอบที่สำคัญชนิดหนึ่งในกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ของสิ่งมีชีวิต (Arrigoni; & Tullio. 2002) วิตามินซีช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต้านทาน กระตุ้นการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวให้มีการทำงานที่สมบูรณ์ขึ้น ช่วยป้องกันโรคมะเร็ง ช่วยสร้างคอลลาเจนที่เป็นองค์ประกอบของกระดูกและฟัน นอกจากนี้ยังทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ช่วยรักษาอนุมูลของธาตุเหล็กทำให้เอนไซม์ในร่างกายทำงานปกติ และทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่คอยกำจัดและยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระทำให้ร่างกายไม่เสื่อมสภาพเร็ว แหล่งอาหารที่พบวิตามินซี เช่น มะนาว ส้ม ฝรั่ง มะขามป้อม



ภาพประกอบ 2 โครงสร้างของวิตามินซี (Liu; et al. 2007)

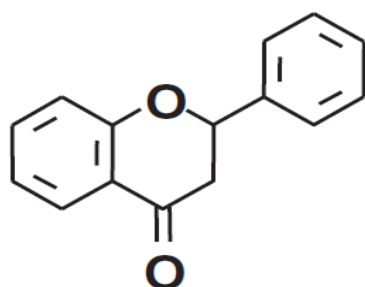
จากการสำรวจข้อมูลของปริมาณวิตามินซีในผักผลไม้พบว่าผักผลไม้แต่ละชนิดมีปริมาณวิตามินซีแตกต่างกันดังตาราง 4

ตาราง 4 ปริมาณวิตามินซีในผักผลไม้ปริมาณ 100 กรัม

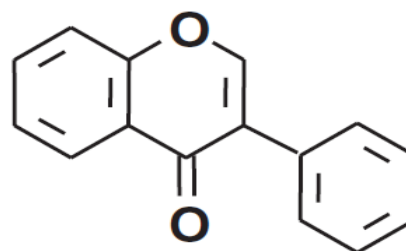
ชนิดผักและผลไม้	ปริมาณวิตามินซี (มิลลิกรัม)
พริกชี้ฟ้าเขียว	204
ฝรั่ง	187
บล็อกโคลี่	183
พริกขี้หนู	178
ผักหวาน	168
พริกชี้ฟ้าแดง	168
คะน้า	141
มะขามป้อม	111
พริกทอง	84
มะละกอสุก	78
ส้ม	71
กระเทียม	52
มะเขือเทศ	32
หอม	28

ฟลาโวนอยด์

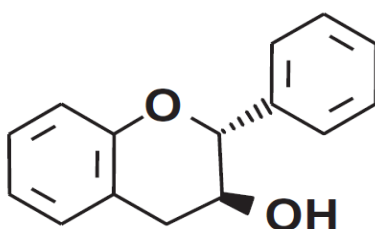
ฟลาโวนอยด์ เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากที่สุด (Petlevski; et al. 2013) เป็นสารประกอบประเภทพอลิฟีนอล (polyphenol) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) รวมอยู่ในโมเลกุลตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป สารฟลาโวนอยด์ เช่น ฟลาโวน (flavone) ไอโซฟลาโวน (isoflavone) แคทีชิน (catechin) ชาโคล (chalcone) (ภาพประกอบ 4) มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ ส่วนใหญ่พบอยู่ร่วมกับน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) ฟลาโวนอยด์สามารถช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยต้านอาการอักเสบ ต้านไวรัส ป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง โรคความดันโลหิตสูง และโรคหัวใจได้ พบมากในผักผลไม้และถั่วเปลือกแข็ง (Eberhardt; et al. 2000; Dragsted. 2003) ซึ่งพบได้ทั้งในส่วนลำต้น ดอก ใบ ผล และเมล็ดของพืช (Cook; & Samman. 1996)



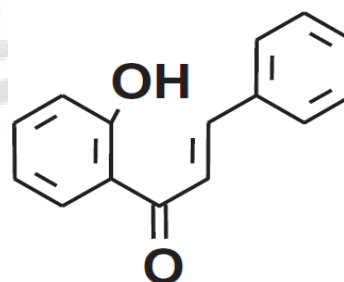
ฟลาโวน (flavonone)



ไอโซฟลาโวน (isoflavone)



แคทีชิน (catechin)

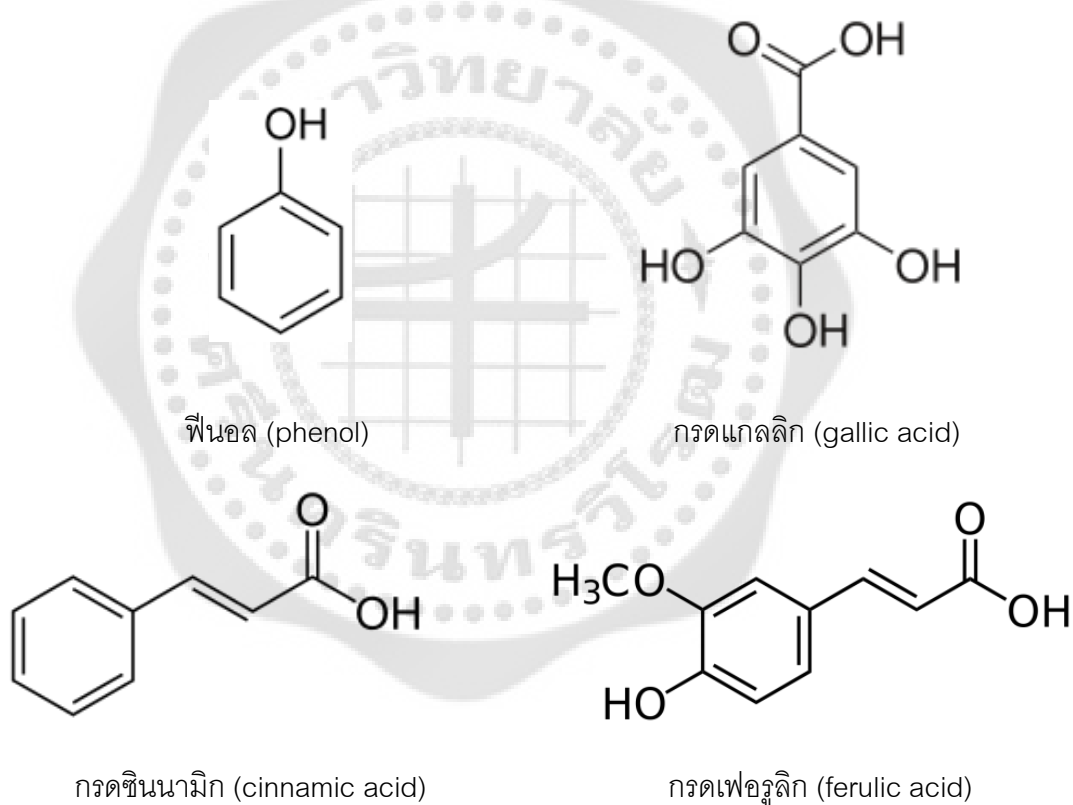


ชาโคล (chalcone)

ภาพประกอบ 4 โครงสร้างฟลาโวนอยด์ (Perez-Vizcaino; & Duarte. 2010)

สารประกอบฟีนอลิก

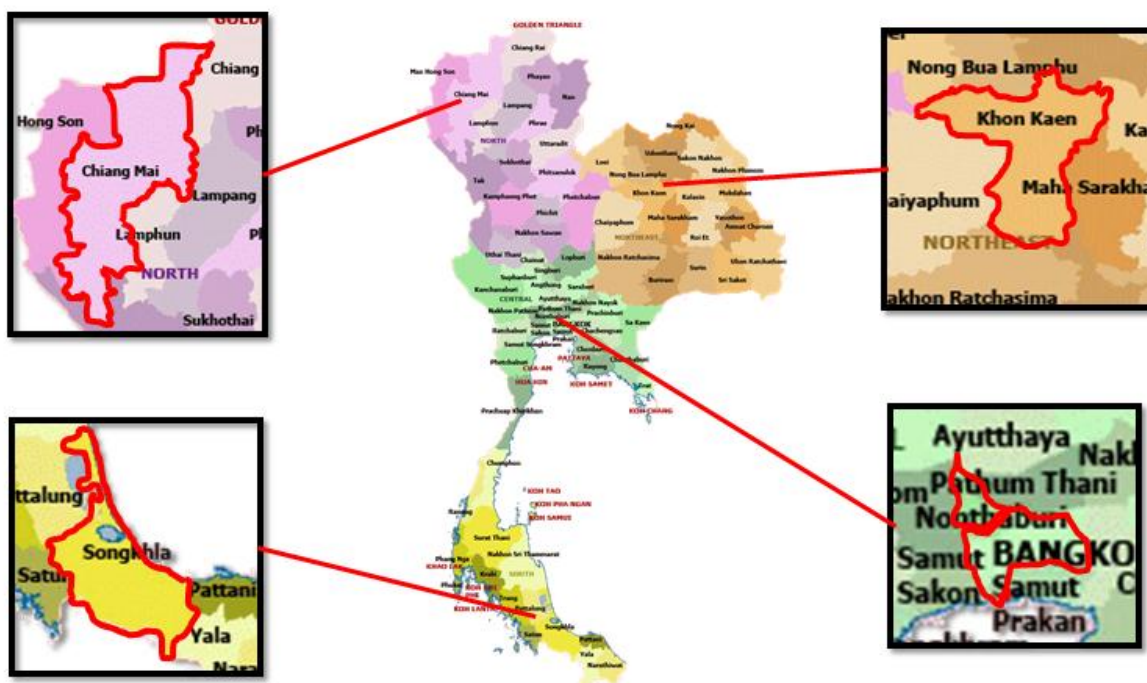
สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก และมีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อย 1 วงประกอบอยู่ เช่น กรดแกลลิก [3, 4, 5-trihydroxy benzoic acid (gallic acid)] กรดซินนามิก [(E)-3-phenylprop-2-enoic acid (cinnamic acid)] กรดเฟอรูลิก [(E)-3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl) prop-2-enoic acid (ferulic acid)] โดยสารประกอบฟีนอลิกพื้นฐานคือ สารฟีนอล (ภาพประกอบ 5) สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และโรคมะเร็ง (Cicerale; et al. 2010; Romani; et al. 1999) นอกจากนี้ยังป้องกันการเกิดลิพิดเพอรอกซิเดชัน (lipid peroxidation) ได้ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. 2558)



ภาพประกอบ 5 โครงสร้างสารประกอบฟีนอลิก (Helmenstine. 2014; Deshmukh; & Prabhu. 2011; Sharma. 2011; Paiva, et al. 2013)

ก๊าซโอโซน

จากการสำรวจของฝ่ายข้อมูลอากาศ สำนักจัดการคุณภาพอากาศและเสียง พบว่าประเทศไทยมีปริมาณก๊าซโอโซนในแต่ละจังหวัดแตกต่างกันและมีค่าเฉลี่ยสูงสุด 106–183 ส่วนในพันล้านส่วนต่อชั่วโมง (ภาพประกอบ 6) ก๊าซโอโซนที่ดีจะอยู่ในชั้นบรรยากาศสตราโทสเฟียร์ (stratosphere) ทำหน้าที่ช่วยป้องกันและกักเก็บรังสีอัลตราไวโอเลต (ultraviolet radiation) ไม่ให้มาถึงพื้นโลกมากเกินไปเพราะจะก่อให้เกิดอันตรายกับสิ่งมีชีวิตบนโลก ส่วนก๊าซโอโซนที่ไม่ดีจะอยู่ในระดับผิวโลก ในชั้นบรรยากาศโทรโพสเฟียร์ (troposphere) หากหายใจเข้าไปจะก่อให้เกิดโทษต่อสิ่งมีชีวิต (สำนักสิ่งแวดล้อม กรุงเทพมหานคร, 2558) และก๊าซโอโซนในปริมาณมากจะส่งผลกระทบต่ออวัยวะภายในร่างกายทำให้เป็นอันตรายต่อสุขภาพ ก๊าซโอโซนยังทำให้เกิดอาการเจ็บหน้าอก หายใจไม่ออก ระคายเคืองในลำคอ และส่งผลกระทบต่อระบบทางเดินหายใจทำให้เกิดโรคหอบหืดได้ (Phansiri; & Saithanu. 2013) นอกจากนี้ก๊าซโอโซนเป็นก๊าซพิษซึ่งก่อให้เกิดผลลบกับพืชในด้านต่าง ๆ เช่น ด้านสรีรวิทยา ก๊าซโอโซนทำให้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของมันฝรั่งลดลง (Vandermeiren; et al. 2002) และด้านเกษตรกรรมก๊าซโอโซนทำให้อัตราการเจริญเติบโตของมะเขือเทศลดลง 17-54% (Temple. 1990) นอกจากนี้ยังพบว่าก๊าซโอโซนยังมีประโยชน์ช่วยเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในพืช เช่น ก๊าซโอโซนมีผลทำให้มะเขือเทศมีปริมาณสารลูทีนและไลโคปีนเพิ่มขึ้น (Tzortzakos; et al. 2007) ก๊าซโอโซนสามารถใช้ในการถนอมอาหารสดและอาหารแห้งได้ เนื่องจากก๊าซโอโซนจะช่วยป้องกันและกำจัดการเกิดจุลินทรีย์ต่าง ๆ และรักษาคุณภาพของอาหารได้ ช่วยกำจัดสารตกค้างในผักผลไม้และอาหารทะเลโดยทำปฏิกิริยาออกซิเดชันสารพิษต่าง ๆ ให้เปลี่ยนเป็นสารไม่มีพิษ เช่น สารฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหารทะเล ให้เปลี่ยนเป็นกรดฟอร์มิกซึ่งจะสลายตัวต่อไปเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ นอกจากนี้ก๊าซโอโซนสามารถช่วยบำบัดน้ำทิ้งจากแหล่งชุมชนเนื่องจากก๊าซโอโซนมีคุณสมบัติในการกำจัดและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ได้ดีซึ่งเมื่อผ่านก๊าซโอโซนลงในน้ำทิ้งจะทำให้จุลินทรีย์ในน้ำทิ้งตาย ทั้งยังช่วยให้น้ำเสียมีปริมาณก๊าซออกซิเจนเพิ่มขึ้น (บริษัท ยูโรเอ็นเทค จำกัด. 2558)



ภาพประกอบ 6 ปริมาณก๊าซโอโซนเฉลี่ยสูงสุดในประเทศไทย
ที่มาของภาพ: Siam Air Global. 2012

การประยุกต์ใช้ก๊าซโอโซนกับพืช

บทบาทของก๊าซโอโซนต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในพืช

การให้ก๊าซโอโซนกับ Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^5 ppb เป็นเวลา 106 วัน พบว่าทำให้มีการสะสม ascorbate ในเซลล์เพิ่มขึ้น (Kronfu; et al. 1998) การให้ก๊าซโอโซนในข้าว (*Oryza sativa* L.) สายพันธุ์ Tainung 67 และ Taichung Native 1 พบว่า ก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 400 ppb มีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ ascorbate peroxidase และ glutathione reductase เพิ่มขึ้น (Dai-Ing Lin; et al. 2001) การให้ก๊าซโอโซนกับ *Trifolium repens* และ *Centaurea jacea* ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^5 ppb เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ระยะ 10 วัน พบว่า *T. repens* และ *C. jacea* มีปริมาณวิตามินซีและสารฟีนอลิกเพิ่มขึ้น (Severino; et al. 2007) การให้ก๊าซโอโซนในมะเขือเทศ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของก๊าซโอโซนในช่วง 0.005 (ชุดควบคุม) ถึง 1×10^3 ppb ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้น 95% ชักนำให้มะเขือเทศมีการสะสมสารต้านอนุมูลอิสระได้แก่ เบต้า-แคโรทีน (beta-carotene) ลิวทีน (lutein) และไลโคปีน (lycopene) เพิ่มขึ้น (Tzortzak; et al. 2007) การให้ก๊าซโอโซนกับ *Liriodendron tulipifera* ที่ระดับความเข้มข้น 100-300 ppb เป็นเวลา 15 วัน พบว่าส่งผลให้มีการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น (Ryang; et al. 2009) การให้ก๊าซโอโซนกับใบของ red clover (*Trifolium pratense* L.) พบว่า ปริมาณสารฟีนอลิกในใบ red clover เพิ่มขึ้นเมื่อได้รับก๊าซ

ไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 32.4 ppb และใบ red clover มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง เพิ่มขึ้น 21–23% ซึ่งพบในระยะก่อนที่ใบจะถูกทำลายจากอิทธิพลของก๊าซไอโซน (Saviranta; et al. 2010) การให้ก๊าซไอโซนกับถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris* L.) 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ Fepagro 26 และสายพันธุ์ Irai ที่ระดับความเข้มข้น 122.6 ppb โดยให้ก๊าซไอโซนเป็นเวลา 6 ชั่วโมงต่อวัน ในระยะเวลา 7 วัน พบว่า ไอโซนชักนำให้ถั่วแขกทั้งสองสายพันธุ์ มีการสะสมวิตามินซีและไฮอิน เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และความเข้มข้นของก๊าซไอโซนดังกล่าว ช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ catalase ในถั่วแขกสายพันธุ์ Irai แต่มีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ catalase ในถั่วแขกสายพันธุ์ Fepagro 26 ลดลง (Caregnato; et al. 2013) การให้ก๊าซไอโซนกับมะละกอที่ระดับความเข้มข้น $0-5 \times 10^3$ ppb เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าเมื่อให้ก๊าซไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 2.5 ppm มีผลทำให้ในมะละกอ มีปริมาณวิตามินซี เพิ่มขึ้น 12.4% ปริมาณเบต้า-แคโรทีนเพิ่มขึ้น 19.6% ปริมาณไลโคพีนเพิ่มขึ้น 52.1% และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น 30.9% เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (Ali; et al. 2014)

บทบาทของก๊าซไอโซนต่อการเจริญเติบโตของพืช

ก๊าซไอโซนมีผลทำให้การเจริญเติบโตของพืชลดลง เช่น มีการศึกษาการให้ก๊าซไอโซนในมะเขือเทศ พบว่า มะเขือเทศมีผลผลิตลดลง 17-54% (Temple. 1990) และแตงโม มีผลผลิตลดลง 19.39% (Mills; et al. 2000) การให้ก๊าซไอโซนกับข้าวและ winter wheat พบว่าก๊าซไอโซนทำให้ผลผลิตของ winter wheat ลดลง 10.5% , 58.6% และ 80.4% และผลผลิตของข้าวลดลง 8.2% 26.1% และ 49.1% เมื่อได้รับก๊าซไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 50 100 และ 200 ppb ตามลำดับ (Feng; et al. 2003) การให้ก๊าซไอโซนกับข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) ที่ระดับความเข้มข้น 60 และ 100 ppb โดยให้ระยะเวลาที่ได้รับก๊าซไอโซน 7 ชั่วโมงต่อวัน โดยให้ต้นข้าวสาลีได้รับก๊าซไอโซนเป็นระยะเวลาทั้งหมด 80 วัน พบว่าข้าวสาลีมีน้ำหนักแห้ง และอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง (Akhtar; et al. 2010)

บทบาทของก๊าซไอโซนต่อการปิดเปิดปากใบของพืช

การศึกษามาจากการให้ก๊าซไอโซนกับส้ม (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) พบว่าการให้ก๊าซไอโซนในระยะเวลายาวนาน มีผลชักนำให้พืชมีการปิดปากใบเพิ่มขึ้น (David. 1989) การให้ก๊าซไอโซนกับถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris*) และโอ๊ค 2 สายพันธุ์ ได้แก่ California black oak (*Quercus kelloggii*) และ blue oak (*Q. douglasii*) ที่ระดับความเข้มข้น 70 ppb เป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมงต่อวัน ทำการทดลองเป็นเวลา 1 และ 2 เดือน ตามลำดับ พบว่าก๊าซไอโซนช่วยชะลอการปิดปากใบของพืชทั้งสองชนิด และการให้ก๊าซไอโซนที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 150 ppb เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง กับถั่วแขกที่อยู่ภายใต้สภาวะเครียดจากการขาดน้ำ ทำให้การปิดปากใบช้าลง จึงส่งผลทำให้พืชมีการสูญเสียน้ำเพิ่มขึ้น (Paoletti; et al. 2010; Hoshika; et al. 2013)

บทบาทของก๊าซโอโซนต่อปริมาณรงควัตถุและกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช

การศึกษาผลจากการให้โอโซนกับมันเทศที่ระดับความเข้มข้น 65 ppb เป็นเวลา 5 วัน วันละ 8 ชั่วโมง พบว่า ก๊าซโอโซนมีผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี ลดลง (Keutgen; et al. 1997) การให้ก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 90 และ 135 ppb กับยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) เป็นเวลา 8 ชั่วโมงต่อวัน พบว่า ใบยาสูบมีบริเวณที่เกิด จุดสีน้ำตาลบริเวณแผ่นใบ (necrotic spot) และเกิดการตายของเนื้อเยื่อใบ ใบพืชมีสีเหลืองซีด (chlorosis) และก๊าซโอโซน มีผลในการชักนำให้พืชเกิดกระบวนการเสื่อมชรา (senescence) และทำให้กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชลดลง เนื่องจากรงควัตถุที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช ได้แก่ คลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี ในระบบรับแสงถูกทำลาย (Saitanis; et al. 2001) ก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 11,000 ppb ทำให้มันฝรั่งมีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชลดลง (Vandermeiren; et al. 2002) การศึกษาผลจากการให้ก๊าซโอโซนกับ Aleppo pine (*Pinus halepensis*) พบว่าก๊าซโอโซนมีผลกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant enzymes) แต่ผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบลดลง และพืชมีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชลดลง และก๊าซโอโซน มีผลทำให้ใบพืชมีค่าการนำของปากใบ (stomatal conductance) ลดลง (Alonso; et al., 2003) การให้ก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0.15 และ 0.30 ppm กับ *Pinus ponderosa* เป็นเวลา 51 วัน จากผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของก๊าซโอโซนที่เพิ่มขึ้น มีผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และ คลอโรฟิลล์ บี ในใบของ *P. ponderosa* ลดลง (Anderson; et al. 2003) ผลจากการให้ก๊าซโอโซนกับ *Melissa officilis* ที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb เป็นเวลา 5 ชั่วโมง พบว่า *M. officilis* มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง 63% และมีค่า conductance decreased เท่ากับ -23% (Pellegrini; et al. 2011) การให้โอโซนกับ Siebold's beech (*Fagus crenata*) พบว่าก๊าซโอโซนมีผลทำให้อัตราการปิดปากใบของ *F. crenata* ลดลง นอกจากนี้ก๊าซโอโซนยังทำให้ *F. crenata* มีการเจริญเติบโตช้าลง และมีความสามารถในการควบคุมการสูญเสียน้ำลดลงอีกด้วย (Hoshika; et al. 2012) การให้ก๊าซโอโซนกับยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) ที่ระดับความเข้มข้น 200, 600, 900, 1,200 และ 1,500 ppb พบว่ายางพารามีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง และอัตราการคายน้ำลดลง และก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นในช่วง 600-1,500 ppb ทำให้เกิดจุดสีเหลืองและแถบสีแดงบนใบยางพารา (Sosirikul; et al. 2012)

บทบาทของก๊าซโอโซนต่อการเกิดลิพิดเพอรอกซิเดชัน (lipid peroxidation)

Iglesias; et al. (2006) ได้ทำการศึกษาผลจากการให้ก๊าซโอโซนกับส้ม (Clementina mandarin (*Citrus clementina* Hort. ex Tan.) cv. Marisol) อายุ 3 ปี เป็นเวลา 12 เดือน ที่ระดับความเข้มข้นตามสภาพแวดล้อม (10 ppb) และความเข้มข้นสูง (30 และ 65 ppb) ในห้องที่เปิดด้านบน [open top chambers (OTCs)] พบว่าใบมีปริมาณคลอโรฟิลล์รวม แคโรทีนอยด์ และคาร์โบไฮเดรตลดลง แต่ปริมาณ 1-อะมิโนไซโคลิพอร์เพน-1-คาร์บอกซิลิก แอซิด (ACC) และผลิตภัณฑ์เอทิลีนเพิ่มขึ้น นอกจากนี้พบว่าแหล่งของแอสคอร์เบทในใบลดลงในขณะที่ลิพิดเพอรอกซิเดชันและการรื้อไหลของตัวถูกละลายมีค่าสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีก๊าซโอโซนโอโซนอย่างมีนัยสำคัญ



บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมตัวอย่างพืชในการทดลอง

เพาะเมล็ดพันธุ์คะน้า (*Brassica alboglabra* Bailey) ในกระบะปลูก โดยในการทดลองใช้ต้นคะน้าอายุ 40 วัน

ความเข้มข้นของก๊าซโอโซนที่ให้กับคะน้า

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) และแบ่งชุดการทดลองในการให้ก๊าซโอโซนกับต้นคะน้าที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยกำหนดระดับความเข้มข้นตามระดับก๊าซโอโซนในประเทศไทยซึ่งมีค่าเฉลี่ย 200 ppb และตามกำลังการผลิตของเครื่องผลิตก๊าซโอโซนดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 อากาศปกติ (ambient air 0 ppb O₃) (นอก chamber)

ชุดการทดลองที่ 2 อากาศปกติ (ambient air 0 ppb O₃) (ใน chamber) (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 3 ก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb (ambient air plus 200 ppb O₃)

ชุดการทดลองที่ 4 ก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 400 ppb (ambient air plus 400 ppb O₃)

ชุดการทดลองที่ 5 ก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb (ambient air plus 600 ppb O₃)

ระบบการรมก๊าซโอโซนเริ่มจากเครื่องผลิตก๊าซโอโซน (Photometric Ozone Analyzer-Model 400 A, Teledyne Technologies Company, U.S.A.) ผลิตก๊าซโอโซนผสมกับอากาศปกติในถังพัก (buffer) เพื่อควบคุมความเข้มข้นของก๊าซโอโซนแล้วปล่อยก๊าซโอโซนผ่านท่อเข้าไปใน chamber ที่มีต้นคะน้า โดยให้ก๊าซโอโซนกับต้นคะน้าเป็นระยะเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง และควบคุมอุณหภูมิภายใน chamber ให้มีค่าประมาณ 28-34 องศาเซลเซียส จากนั้นเก็บตัวอย่างใบที่มีการขยายใบเต็มที่หลังจากได้รับก๊าซโอโซนเป็นระยะเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างใบคะน้าแต่ละชุดการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ จำนวนซ้ำละ 3 ต้น จากนั้นชั่งน้ำหนักแล้วห่อด้วยกระดาษอลูมิเนียมและแช่ลงในไนโตรเจนเหลวทันที นำไปเก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาศึกษาในขั้นต่อไป

อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

1. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

- 1.1. กระดาษกรอง Whatman No.1
- 1.2. โกร่ง
- 1.3. ไมโครปิเปต (micropipette)
- 1.4. เครื่องเขย่า (vortex)
- 1.5. หลอดทดลอง
- 1.6. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)
- 1.7. เมทานอล (methanol) (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)
- 1.8. เอทานอล (ethanol) (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)
- 1.9. 2,2-ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล [2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)] (บริษัท

ชิกม่า-อัลดริช)

- 1.10. กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)

2. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

- 2.1. กระดาษกรอง Whatman No.1
- 2.2. โกร่ง
- 2.3. ไมโครปิเปต
- 2.4. เครื่องเขย่า
- 2.5. หลอดทดลอง
- 2.6. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง
- 2.7. เมทานอล (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)
- 2.8. อะซิเตตบัฟเฟอร์ (acetate buffer) (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)
- 2.9. 2,4,6-ไตรไพริดีล-เอส-ไตรอาซีน [2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ)] (บริษัท ชิกม่า-

อัลดริช)

- 2.10. กรดไฮโดรคลอริก
- 2.11. ไอรอน (II) ซัลเฟต เฮปตะไฮเดรต [Iron (II) sulphate heptahydrate]

3. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก

- 3.1. กระดาษกรอง Whatman No.1
- 3.2. โกร่ง
- 3.3. ไมโครปิเปต
- 3.4. เครื่องเข้ (vortex)
- 3.5. หลอดทดลอง
- 3.6. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง
- 3.7. เอทานอล (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)
- 3.8. โฟลีน-ไซโอแคลทู (Folin – Ciocalteu) (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)
- 3.9. น้ำกลั่น
- 3.10. โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)
- 3.11. กรดกาสิก (gallic acid) (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)

4. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์วิตามินซี

- 4.1. กระดาษกรอง Whatman No.1
- 4.2. โกร่ง
- 4.3. ไมโครปิเปต
- 4.4. ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)
- 4.5. เอทานอล (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)
- 4.6. กรดออกซาลิก (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)
- 4.7. 2,6-ไดคลอโรอินโดฟีโนล [2, 6-dichloroindophenol (DCIP)] (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)
- 4.8. วิตามินซี (vitamin c) (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)

5. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ฟลาโวนอยด์

- 5.1. กระดาษกรอง Whatman No.1
- 5.2. โกร่ง
- 5.3. ไมโครปิเปต
- 5.4. เครื่องเข้
- 5.5. หลอดทดลอง
- 5.6. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง
- 5.7. ไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen)
- 5.8. เอทานอล (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)

- 5.9. น้ำกลั่น
- 5.10. โซเดียมไนเตรท (sodium nitrate) (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)
- 5.11. อะลูมิเนียมคลอไรด์ (aluminium chloride) (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)
- 5.12. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)
- 5.13. แคทีชิน (catechin) (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)

6. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์

- 6.1. ไมโครปิเปต
- 6.2. เครื่องเข่า
- 6.3. หลอดทดลอง
- 6.4. หม้อต้มร้อน (water bath)
- 6.5. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง
- 6.6. ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ [dimethyl sulfoxide (DMSO)] (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)

7. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์การเกิดลิพิดเพอรอกซิเดชันในเนื้อเยื่อใบ

คะน้ำ

- 7.1. กระดาษกรอง Whatman No.1
- 7.2. โกร่ง
- 7.3. ไมโครปิเปต
- 7.4. เครื่องเข่า
- 7.5. หลอดทดลอง
- 7.6. หม้อต้มร้อน
- 7.7. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง
- 7.8. กรดไตรคลอโรอะซีติก [trichloroacetic acid (TCA)] (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)
- 7.9. กรดไทโอบาร์บิทูริก [thiobarbituric acid(TBA)] (บริษัท ชิกม่า-อัลดริช)
- 7.10. น้ำแข็ง

ศึกษาผลของก๊าซไอโซนต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในต้นคะน้า

1. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในต้นคะน้า

1.1. วิธีการเตรียมสารสกัดจากต้นคะน้า

ซึ่งตัวอย่างใบคะน้า 2 กรัม เติมสารละลายเมทานอล 100% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าสารที่อุณหภูมิห้องด้วยเครื่องเขย่า (vortex) ทุก 15 นาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นกรองสารละลายที่ได้ด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำสารสกัดที่กรองได้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 2.5 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายเมทานอล 100% จากนั้นนำสารสกัดที่กรองได้เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.2. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay)

วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยดัดแปลงจากวิธีของ Brand-William; et al. (1995) และ Shen; et al. (2010) โดยใช้ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) เป็น stable radical ในตัวทำละลายเอทานอล เตรียมสารละลาย DPPH ที่ระดับความเข้มข้น 0.08 mM ในสารละลายเอทานอล 100% จากนั้นนำสารละลาย DPPH ที่เตรียมไว้ผสมกับกรดไฮโดรคลอริก 0.05 M และเอทานอล 80% ในอัตราส่วน 1:1:1 ปริมาตรรวม 1.8 มิลลิลิตร เติมสารสกัดจากต้นคะน้าปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร นำไปบ่มปฏิกิริยาในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้ง (% inhibition of DPPH activity) ดังสมการ (1)

$$\% \text{ inhibition of DPPH activity} = [(Abs_{\text{control}} - Abs_{\text{sample}}) \times 100] / Abs_{\text{control}} \quad \text{---(1)}$$

1.3. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

การหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยรวมด้วยวิธี FRAP โดยดัดแปลงจากวิธีของ Szollosi & Varga (2002) ด้วยการรีดิวซ์สารประกอบของเฟอริกไตรไพริดีลไตรอาซีน [ferric tripyridyl triazine (Fe^{3+} TPTZ)] ให้เป็นสารประกอบเฟอร์รัสไตรไพริดีลไตรอาซีน [ferrous tripyridyl triazine (Fe^{2+} TPTZ)] นำสารสกัดต้นคะน้าจากวิธีในข้อ 2.1.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย FRAP โดยสารละลาย FRAP เตรียมจากอะซีเตตบัฟเฟอร์ (acetate buffer) 0.3 M ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมกับ 2,4,6-ไตรไพริดีล-เอส-ไตรอาซีน [2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ)] 10 mM ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร (ที่ละลายในกรดไฮโดรคลอริก 40 mM ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร) จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของสารประกอบเฟอร์รัสไตรไพริดีลไตร

อาขึ้นกับสารละลายมาตรฐานของไอรอน (II) ซัลเฟต เฮปตะไฮเดรต [Iron (II) sulphate heptahydrate, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$] โดยคำนวณหาปริมาณของสารประกอบเฟอร์รัสไตรไพริดีลไตรอาซีนได้ดังสมการ (2)

$$\text{FRAP value (mmol ml}^{-1} \text{ sample)} = \text{Abs/slope} \text{ ---(2)}$$

เมื่อ	FRAP value	คือ ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ
	Abs	คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร
	slope	คือ ความชันของเส้นกราฟ จากสมการ $y = ax + b$

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในต้นคะน้า

2.1. การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก

2.1.1. การสกัดสารประกอบฟีนอลิก

ซึ่งตัวอย่างใบคะน้า 2 กรัม นำมาบดให้ละเอียด เติมสารละลายเอทานอล 70% ปริมาตร 6 มิลลิลิตร เขย่าสารที่อุณหภูมิห้องด้วยเครื่องเขย่า (vortex) ทุกครึ่งชั่วโมง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาเก็บไว้ที่มีดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.1.2. วิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในต้นคะน้าโดยดัดแปลงจากวิธีของ Folin; & Ciocalteu. (1927) โดยการนำสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากต้นคะน้าปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย Folin – Ciocalteu ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 10% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มปฏิกิริยาในที่มืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดกาอิก (gallic acid) โดยมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อกรัมน้ำหนักสด (mg GEQ/g FW)

2.2. การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

2.2.1. การสกัดวิตามินซี

ซึ่งตัวอย่างใบคะน้า 2 กรัม บดให้ละเอียดแล้วเติมกรดออกซาลิกเข้มข้น 0.4 % ปรับปริมาตรให้ได้ 20 มิลลิลิตร บ่มในที่มืดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำสารละลายที่กรองได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีด้วยวิธี 2, 6-dichloroindophenol (DCIP) titrimetric method (AOAC. 1998)

2.2.2. การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี

วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีด้วยวิธี DCIP titrimetric method โดยไทเทรตสารสกัดวิตามินซีจากต้นคะน้าด้วยสารละลาย DCIP 0.02 % จนได้สารละลายสีชมพู จากนั้นนำมาคำนวณหาปริมาณวิตามินซีโดยใช้ปริมาณ DCIP ที่ใช้กับสารตัวอย่างเทียบกับวิตามินซีมาตรฐานโดยมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด (mg/100g FW)

2.3. การสกัดหาปริมาณฟลาโวนอยด์

2.3.1. การสกัดสารฟลาโวนอยด์

ชั่งตัวอย่างใบคะน้า 2 กรัม นำมาบดให้ละเอียด เติมสารละลายเอทานอล 70% ปริมาตร 6 มิลลิลิตร เขย่าสารที่อุณหภูมิห้องด้วยเครื่องเขย่า (vortex) ทุกครึ่งชั่วโมง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำมารองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาเก็บไว้ที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.3.2. วิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์

การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ตามวิธีของ Allothman; et al. (2010) นำสารสกัดฟลาโวนอยด์จากต้นคะน้าปริมาณ 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 4 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำละลายไฮเดียมไนเตรท 5% (w/v) ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตรทันที ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมน้ำละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ 10% (w/v) ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติมน้ำละลายไฮเดียมไฮดรอกไซด์ 1 M ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 10 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากัน จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานแคทีชิน (catechin) โดยมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด (mg CEQ/100g FW)

ศึกษาผลของก๊าซโอโซนที่มีต่อความเสียหายและการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในต้นคะน้า

1. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของใบคะน้า

สังเกตลักษณะทางกายภาพของใบคะน้า หลังจากได้รับก๊าซโอโซนที่ความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb ที่เวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง ตามลำดับ

2. ศึกษาผลของก๊าซโอโซนที่มีต่อปริมาณรงควัตถุที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช

2.1. การหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์ โดยดัดแปลงจากวิธีของวิรัตน์ ภูวิวัฒน์. (2539) ซึ่งตัวอย่างใบคะน้า 0.1 กรัม เติมน้ำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ [dimethyl sulfoxide (DMSO)] ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเขย่าสารที่อุณหภูมิห้องด้วยเครื่องเขย่า (vortex) นำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที กรองชิ้นส่วนของใบออก เจือจางสารสกัดด้วย DMSO อัตราส่วน 1:2 นำสารสกัดที่ได้ไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 665, 649 และ 480 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้คำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์ โดยมีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ($\mu\text{g}/100 \text{ mg FW}$) ได้ดังสมการของ Arnon (1949) (3) (4) (5) (6)

$$\text{Chlorophyll a} = 12.19 D_{665} - 3.45 D_{649} \text{ ---(3)}$$

$$\text{Chlorophyll b} = 21.99 D_{649} - 5.32 D_{665} \text{ ---(4)}$$

$$\text{Total chlorophyll} = \text{Chlorophyll a} + \text{Chlorophyll b} \text{ ---(5)}$$

$$\text{Total carotenoid} = \frac{[(1000 \times D_{480}) - (2.14 \times \text{Chlorophyll a}) - (70.16 \times \text{Chlorophyll b})]}{\text{เมื่อ } D_{665} = \text{ค่าการดูดกลืนแสง 220 ยาวคลื่น 665 นาโนเมตร}} \text{ ---(6)}$$

$$D_{649} = \text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 649 นาโนเมตร}$$

$$D_{480} = \text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร}$$

3. ศึกษาการเกิดลิพิดเพอรอกซิเดชันในเนื้อเยื่อใบคะน้า

การเกิดลิพิดเพอรอกซิเดชัน (lipid peroxidation) จะได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารประเภทแอลดีไฮด์ (aldehyde) คือ มาลอนไดอัลดีไฮด์ [malondialdehyde (MDA)] ซึ่งเป็นวิธีการวัดปริมาณไทโอบาร์บิทรูริกแอซิดรีแอคทีฟซับสแตนซ์ [thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)] โดยดัดแปลงจากวิธีของ Heath & Packer (1968) โดยวัดการเกิดลิพิดเพอรอกซิเดชันที่ได้จากปฏิกิริยาระหว่าง MDA กับกรดไทโอบาร์บิทรูริก [thiobarbituric acid (TBA)] ได้สารประกอบ TBARS

ชั่งตัวอย่างใบคะน้า 1 กรัม บดให้ละเอียด แล้วเติมกรดไตรคลอโรอะซีติก [trichloroacetic acid (TCA)] 0.1% ปริมาตร 5 เขย่าสารที่อุณหภูมิห้องด้วยเครื่องเขย่า (vortex) ทุก 10 นาที เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำส่วนใสของสารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมกรดไทโอบาร์บิทูริก (ที่ละลายในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซีติก 20%) 0.5% ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร นำมาต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และทำให้เย็นลงทันทีเพื่อหยุดปฏิกิริยาโดยแช่ในน้ำแข็งเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (vortex) เป็นเวลา 1 นาที นำสารละลายส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 และ 600 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้คำนวณหาปริมาณ TBARS โดยมีหน่วยเป็นมิลลิโมลต่อมิลลิลิตรน้ำหนักสด (mmol/mL FW) ดังสมการ (7)

$$\text{TBARS equivalents} = [(\text{Abs}_{532} - \text{Abs}_{600}) \times 10^3] / 155,000 \text{ ---(7)}$$

เมื่อ TBARS equivalents คือ ปริมาณ MDA

Abs_{532} คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร

Abs_{600} คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

155,000 ($\text{mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) คือ ค่า extinction coefficient ของ MDA

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ของข้อมูล ตามแผนการทดลองและทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq .05$)

สถานที่ทำการทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาของพืช ห้อง 323 ตึก 15 ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
2. แปลงเพาะปลูก 1 ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

ระยะเวลาทดลอง

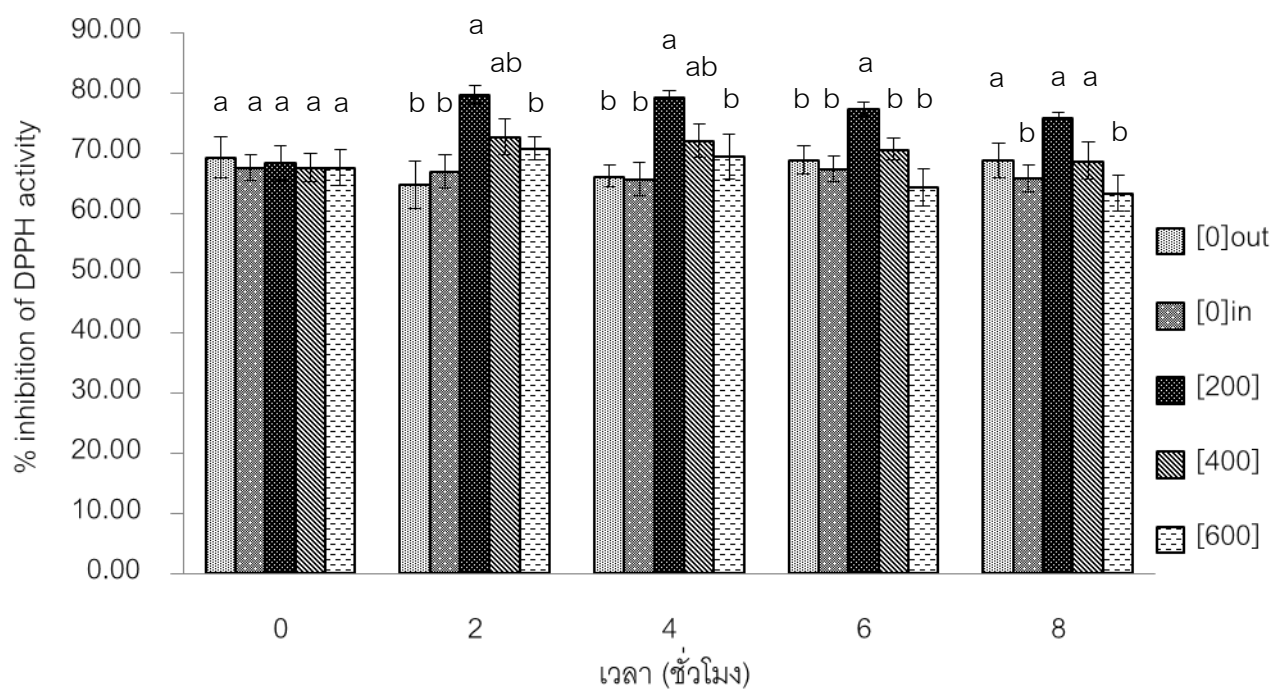
เดือนมกราคม พ.ศ. 2557 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2558

บทที่ 4

ผลการทดลอง

การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ในสารสกัดจากต้นคะน้า

การทดสอบด้วยวิธี DPPH เป็นวิธีที่ทดสอบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ DPPH โดยตรง โดยสารชนิดนี้มีสีม่วงจะมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร อนุมูลอิสระ DPPH จะไปรับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้สารละลายเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลืองจนถึงสีใส ส่งผลให้อนุมูลอิสระลดลงจึงใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากคะน้าได้โดยแสดงในค่า % inhibition of DPPH activity จากการทดลองนำสารสกัดจากต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและเวลาแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมในช่วงเวลาเดียวกัน (ภาพประกอบ 6, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb มีค่า DPPH สูงสุด คือ 79.79% inhibition of DPPH activity แต่มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 400 ppb ในช่วงเวลาเดียวกัน ซึ่งมีค่า DPPH คือ 72.78% inhibition of DPPH activity เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาพประกอบ 7, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb เป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีค่า DPPH สูงสุด คือ 79.79% inhibition of DPPH activity แต่มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 4, 6 และ 8 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งมีค่า DPPH คือ 79.38, 77.32 และ 75.92% inhibition of DPPH activity ตามลำดับ และจากการทดลองเมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่า ต้นคะน้ามีค่า DPPH สูงสุด คือ 79.79% inhibition of DPPH activity ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้น 1.23, 1.19, 1.09 และ 1.13 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 400 และ 600 ppb ตามลำดับ ที่ช่วงเวลาเดียวกัน



ภาพประกอบ 7 % inhibition of DPPH activity ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

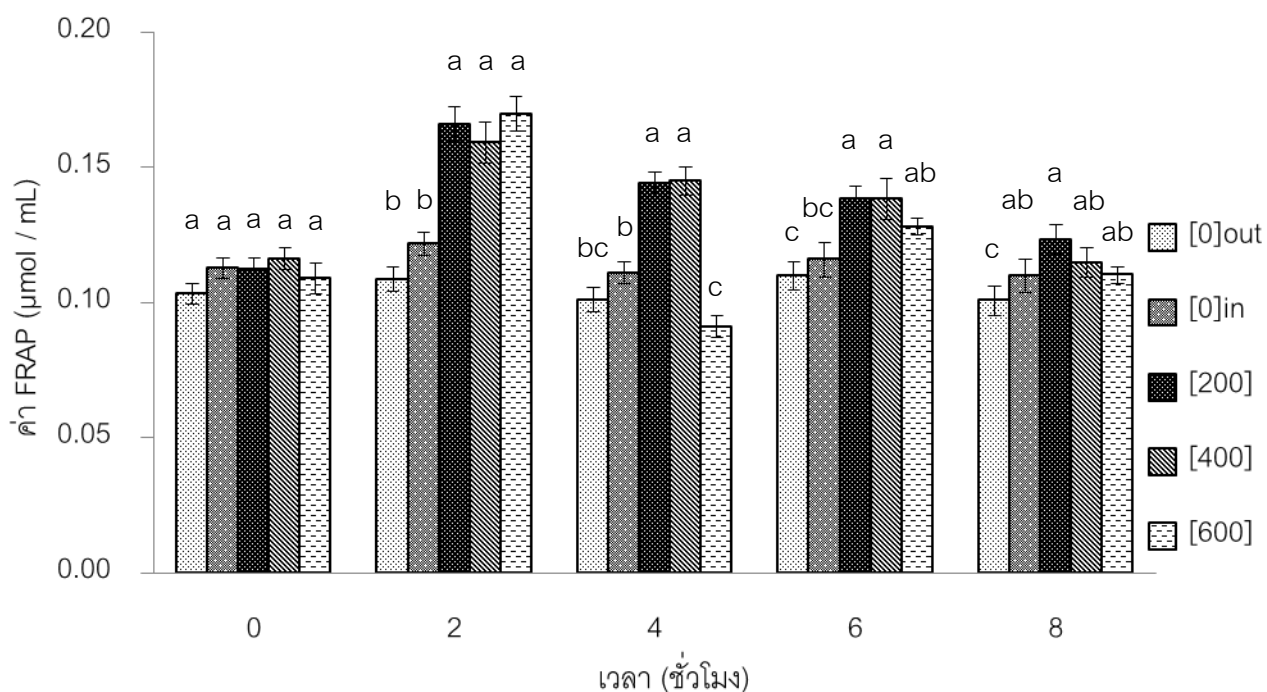
ตาราง 5 % inhibition of DPPH activity ในสารสกัดจากต้นคันทนาเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกัน (อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก) และที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่) โดยตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กและตัวพิมพ์ใหญ่ที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงค่าที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq .05$) ในแนวนอนตามลำดับจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ความเข้มข้นของก๊าซโอโซน (ppb)	ค่า % inhibition of DPPH activity ($\bar{X} \pm SE$)				
	เวลา (ชั่วโมง)				
	0	2	4	6	8
0 (นอก chamber)	69.30 $\pm$ 3.47 aA	64.79 $\pm$ 3.91 bA	66.20 $\pm$ 1.75 bA	68.85 $\pm$ 2.36 bA	68.78 $\pm$ 2.88 abA
0 (ใน chamber)	67.62 $\pm$ 2.09 aA	66.99 $\pm$ 2.72 bA	65.70 $\pm$ 2.69 bA	67.43 $\pm$ 2.15 bA	65.81 $\pm$ 2.26 bA
200	68.40 $\pm$ 2.91 aB	79.79 $\pm$ 1.56 aA	79.38 $\pm$ 0.93 aA	77.32 $\pm$ 1.15 aA	75.92 $\pm$ 0.88 aA
400	67.50 $\pm$ 2.35 aA	72.78 $\pm$ 3.02 abA	72.11 $\pm$ 2.72 abA	70.67 $\pm$ 1.85 bA	68.73 $\pm$ 3.11 abA
600	67.64 $\pm$ 3.02 aA	70.83 $\pm$ 1.86 bA	69.46 $\pm$ 3.71 bA	64.29 $\pm$ 3.03 bA	63.36 $\pm$ 3.00 bA

หมายเหตุ $\bar{X}$ ค่าเฉลี่ยข้อมูล
SE (standard error) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานข้อมูล

การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ในสารสกัดจากต้นคะน้า

การทดสอบด้วยวิธี FRAP เป็นวิธีที่ใช้ทดสอบความสามารถในการทำปฏิกิริยาของเหล็ก (Fe^{3+}) ซึ่งจะอยู่ในรูปสารประกอบ ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+} -TPTZ) เป็นสารละลายไม่มีสี และเมื่อถูกรีดิวซ์ด้วยสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้ Fe^{3+} -TPTZ เปลี่ยนเป็น ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+} -TPTZ) ส่งผลให้สารละลายเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีม่วงน้ำเงิน สาร Fe^{2+} -TPTZ ที่เกิดขึ้นจึงใช้เป็นตัวบ่งชี้ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากต้นคะน้าในการทดลองได้โดยแสดงในค่า FRAP ($\mu\text{mol/mL}$) จากการทดลองนำสารสกัดจากต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและเวลาแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมในช่วงเวลาเดียวกัน (ภาพประกอบ 6, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb มีค่า FRAP สูงสุด คือ $0.1699 \mu\text{mol/mL}$ แต่มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 400 ppb ในช่วงเวลาเดียวกัน ซึ่งมีค่า FRAP คือ 0.1659 และ $0.1593 \mu\text{mol/mL}$ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาพประกอบ 7, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีค่า FRAP สูงสุด คือ $0.1699 \mu\text{mol/mL}$ ซึ่งมีค่าแตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 0, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน และจากการทดลองเมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่ามีค่า FRAP สูงสุด คือ $0.1699 \mu\text{mol/mL}$ ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้น 1.56, 1.39, 1.02 และ 1.07 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200 และ 400 ppb ตามลำดับ ที่ช่วงเวลาเดียวกัน



ภาพประกอบ 8 ค่า FRAP ($\mu\text{mol/mL}$) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

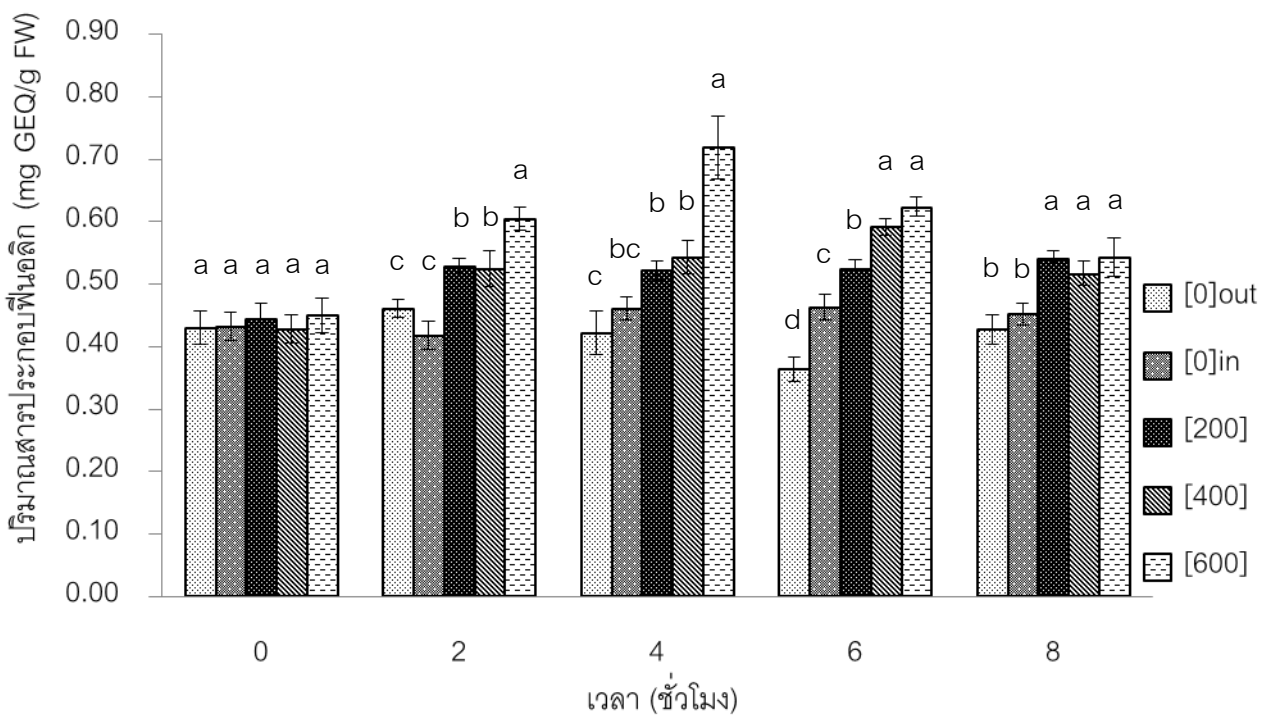
ตาราง 6 ค่า FRAP ($\mu\text{mol/mL}$) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกัน (อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก) และที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่) โดยตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กและตัวพิมพ์ใหญ่ที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงค่าที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq .05$) ในแนวดิ่งและแนวนอนตามลำดับจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ความเข้มข้นของก๊าซโอโซน (ppb)	ค่า FRAP ($\mu\text{mol/mL}$) ($\bar{X} \pm \text{SE}$)				
	เวลา (ชั่วโมง)				
	0	2	4	6	8
0 (นอก chamber)	0.1033 $\pm$ 0.004 aA	0.1086 $\pm$ 0.004 bA	0.1011 $\pm$ 0.005 bcA	0.1101 $\pm$ 0.005 cA	0.1008 $\pm$ 0.005 bA
0 (ใน chamber)	0.1128 $\pm$ 0.004 aA	0.1219 $\pm$ 0.004 bA	0.1110 $\pm$ 0.004 bA	0.1159 $\pm$ 0.007 bcA	0.1098 $\pm$ 0.006 abA
200	0.1122 $\pm$ 0.004 aC	0.1659 $\pm$ 0.006 aA	0.1441 $\pm$ 0.004 aB	0.1383 $\pm$ 0.005 aB	0.1233 $\pm$ 0.005 aC
400	0.1162 $\pm$ 0.004 aC	0.1593 $\pm$ 0.008 aA	0.1450 $\pm$ 0.005 aAB	0.1385 $\pm$ 0.008 aB	0.1148 $\pm$ 0.005 abC
600	0.1090 $\pm$ 0.006 aC	0.1699 $\pm$ 0.006 aA	0.0911 $\pm$ 0.004 cD	0.1281 $\pm$ 0.003 abB	0.1103 $\pm$ 0.003 abC

หมายเหตุ $\bar{X}$ ค่าเฉลี่ยข้อมูล
SE (standard error) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานข้อมูล

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากต้นคะน้า

จากการทดลองนำสารสกัดจากต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและเวลาแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมในช่วงเวลาเดียวกัน (ภาพประกอบ 6, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด คือ 0.72 mg GEQ/g FW ซึ่งมีค่าแตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200 และ 400 ppb ในช่วงเวลาเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาพประกอบ 7, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 4 ชั่วโมง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด คือ 0.72 mg GEQ/g FW ซึ่งมีค่าแตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 0, 2, 6 และ 8 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน และจากการทดลองเมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดคือ 0.72 mg GEQ/g FW ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้น 1.71, 1.57, 1.38 และ 1.33 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200 และ 400 ppb ตามลำดับ ที่ช่วงเวลาเดียวกัน



ภาพประกอบ 9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (mg GEQ/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซไฮโดรเจนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

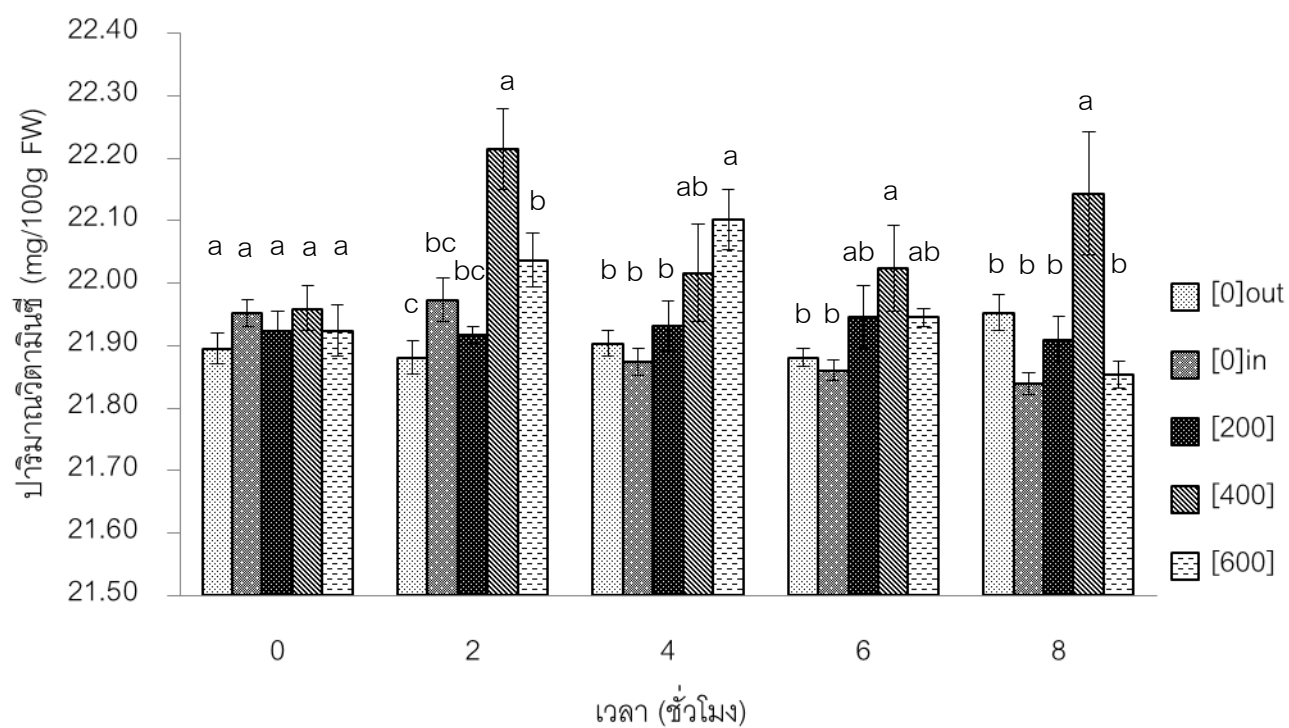
ตาราง 7 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (mg GEQ/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกัน (อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก) และที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่) โดยตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กและตัวพิมพ์ใหญ่ที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงค่าที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq .05$) ในแนวตั้ง และแนวนอนตามลำดับจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRTT

ความเข้มข้นของก๊าซโอโซน (ppb)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (mg GEQ/g FW) ($\bar{X} \pm SE$)				
	เวลา (ชั่วโมง)				
	0	2	4	6	8
0 (นอก chamber)	0.43 $\pm$ 0.03 aAB	0.46 $\pm$ 0.01 cA	0.42 $\pm$ 0.03 cAB	0.36 $\pm$ 0.02 dB	0.43 $\pm$ 0.02 bAB
0 (ใน chamber)	0.43 $\pm$ 0.02 aA	0.42 $\pm$ 0.02 cA	0.46 $\pm$ 0.02 bcA	0.46 $\pm$ 0.02 cA	0.45 $\pm$ 0.02 bA
200	0.44 $\pm$ 0.03 aB	0.53 $\pm$ 0.01 bA	0.52 $\pm$ 0.01 bA	0.52 $\pm$ 0.02 bA	0.54 $\pm$ 0.01 aA
400	0.43 $\pm$ 0.02 aC	0.52 $\pm$ 0.03 bAB	0.54 $\pm$ 0.03 bAB	0.52 $\pm$ 0.01 aA	0.52 $\pm$ 0.02 aB
600	0.45 $\pm$ 0.03 aC	0.61 $\pm$ 0.02 aB	0.72 $\pm$ 0.05 aA	0.62 $\pm$ 0.01 aB	0.54 $\pm$ 0.03 aB

หมายเหตุ $\bar{X}$ ค่าเฉลี่ยข้อมูล
SE (standard error) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานข้อมูล

ปริมาณวิตามินซีในสารสกัดจากต้นคะน้า

จากการทดลองนำสารสกัดจากต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและเวลาแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมในช่วงเวลาเดียวกัน (ภาพประกอบ 6, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppb มีปริมาณวิตามินซีสูงสุด คือ 22.22 mg/100g FW ซึ่งมีค่าแตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200 และ 600 ppb ในช่วงเวลาเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาพประกอบ 7, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 400 ppb เป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีปริมาณวิตามินซีสูงสุด คือ 22.22 mg/100g FW แต่มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 4, 6 และ 8 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งมีปริมาณวิตามินซีคือ 22.02, 22.02 และ 22.14 mg/100g FW ตามลำดับ และจากการทดลองเมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 400 ppb เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณวิตามินซีสูงสุดคือ 22.22 mg/100g FW ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้น 1.02, 1.01, 1.01 และ 1.01 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200 และ 600 ppb ตามลำดับ ที่ช่วงเวลาเดียวกัน



ภาพประกอบ 10 ปริมาณวิตามินซี (mg/100g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

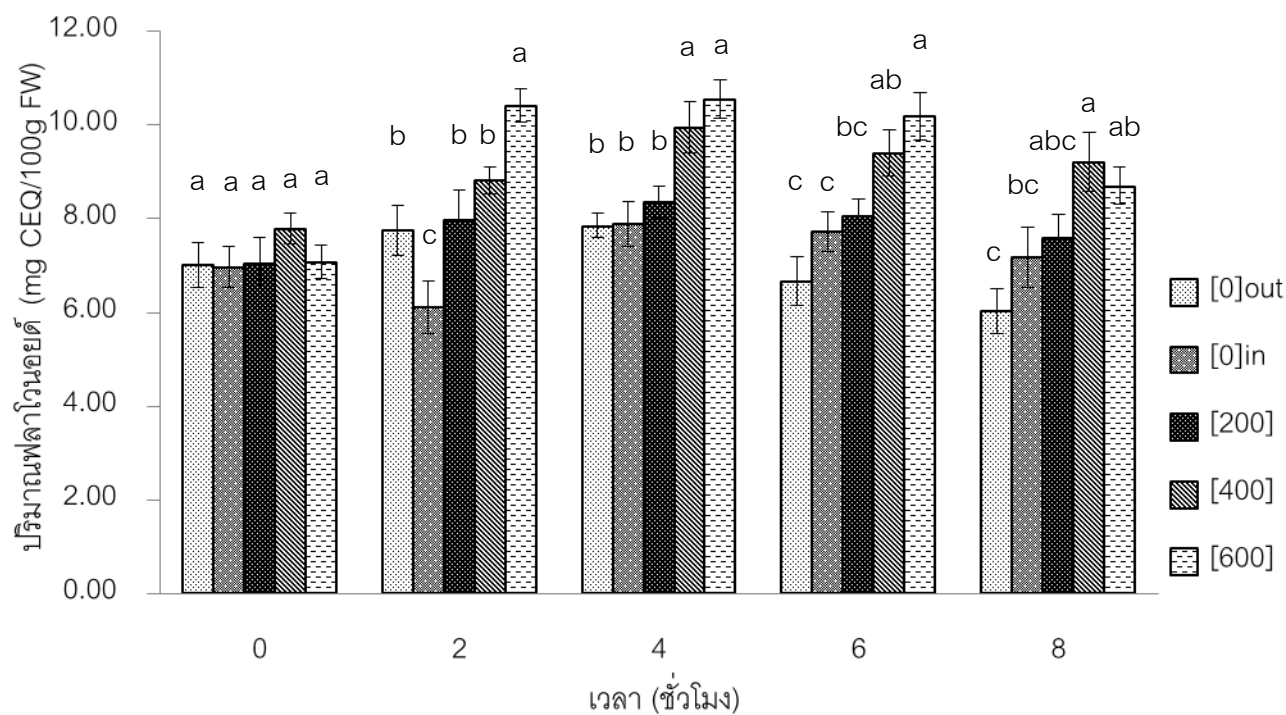
ตาราง 8 ปริมาณของวิตามินซี (mg/100g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกัน (อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก) และที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่) โดยตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กและตัวพิมพ์ใหญ่ที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงค่าที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq .05$) ในแนวตั้ง และแนวนอนตามลำดับจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ความเข้มข้นของก๊าซโอโซน (ppb)	ปริมาณวิตามินซี (mg/100g FW) ($\bar{X} \pm SE$)				
	เวลา (ชั่วโมง)				
	0	2	4	6	8
0 (นอก chamber)	21.90 $\pm$ 0.03 aA	21.88 $\pm$ 0.03 cA	21.90 $\pm$ 0.02 bA	21.88 $\pm$ 0.01 bA	21.95 $\pm$ 0.03 bA
0 (ใน chamber)	21.95 $\pm$ 0.02 aA	21.97 $\pm$ 0.03 bcA	21.87 $\pm$ 0.02 bB	21.86 $\pm$ 0.02 bB	21.84 $\pm$ 0.02 bB
200	21.92 $\pm$ 0.03 aA	21.92 $\pm$ 0.01 bcA	21.93 $\pm$ 0.04 bA	21.95 $\pm$ 0.05 abA	21.91 $\pm$ 0.04 bA
400	21.96 $\pm$ 0.04 aB	22.22 $\pm$ 0.06 aA	22.02 $\pm$ 0.08 abAB	22.02 $\pm$ 0.07 aAB	22.14 $\pm$ 0.10 aAB
600	21.92 $\pm$ 0.04 aC	22.04 $\pm$ 0.04 bAB	22.10 $\pm$ 0.05 aA	21.95 $\pm$ 0.01 abBC	21.85 $\pm$ 0.02 bC

หมายเหตุ $\bar{X}$ ค่าเฉลี่ยข้อมูล
SE (standard error) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานข้อมูล

ปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดจากต้นคะน้า

จากการทดลองนำสารสกัดจากต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและเวลาแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมในช่วงเวลาเดียวกัน (ภาพประกอบ 6, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด คือ 10.55 mg CEQ/100g FW ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 400 ppb ในช่วงเวลาเดียวกัน ซึ่งมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์คือ 9.95 mg CEQ/100g FW เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาพประกอบ 7, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 4 ชั่วโมง มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด คือ 10.55 mg CEQ/100g FW แต่มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 2 และ 6 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์คือ 10.41 และ 10.19 mg CEQ/100g FW ตามลำดับ และจากการทดลองเมื่อต้นคะน้าได้รับโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุดคือ 10.55 mg CEQ/100g FW ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้น 1.34, 1.34, 1.26 และ 1.06 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200 และ 400 ppb ตามลำดับ ที่ช่วงเวลาเดียวกัน



ภาพประกอบ 11 ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg CEQ/100g FW) ในสัรสกัดจากต้นกระเทียมที่ได้รับก๊าซไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ตาราง 9 ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg CEQ/100 g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกัน (อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก) และที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่) โดยตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กและตัวพิมพ์ใหญ่ที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงค่าที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq .05$) ในแนวตั้ง และแนวนอนตามลำดับจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

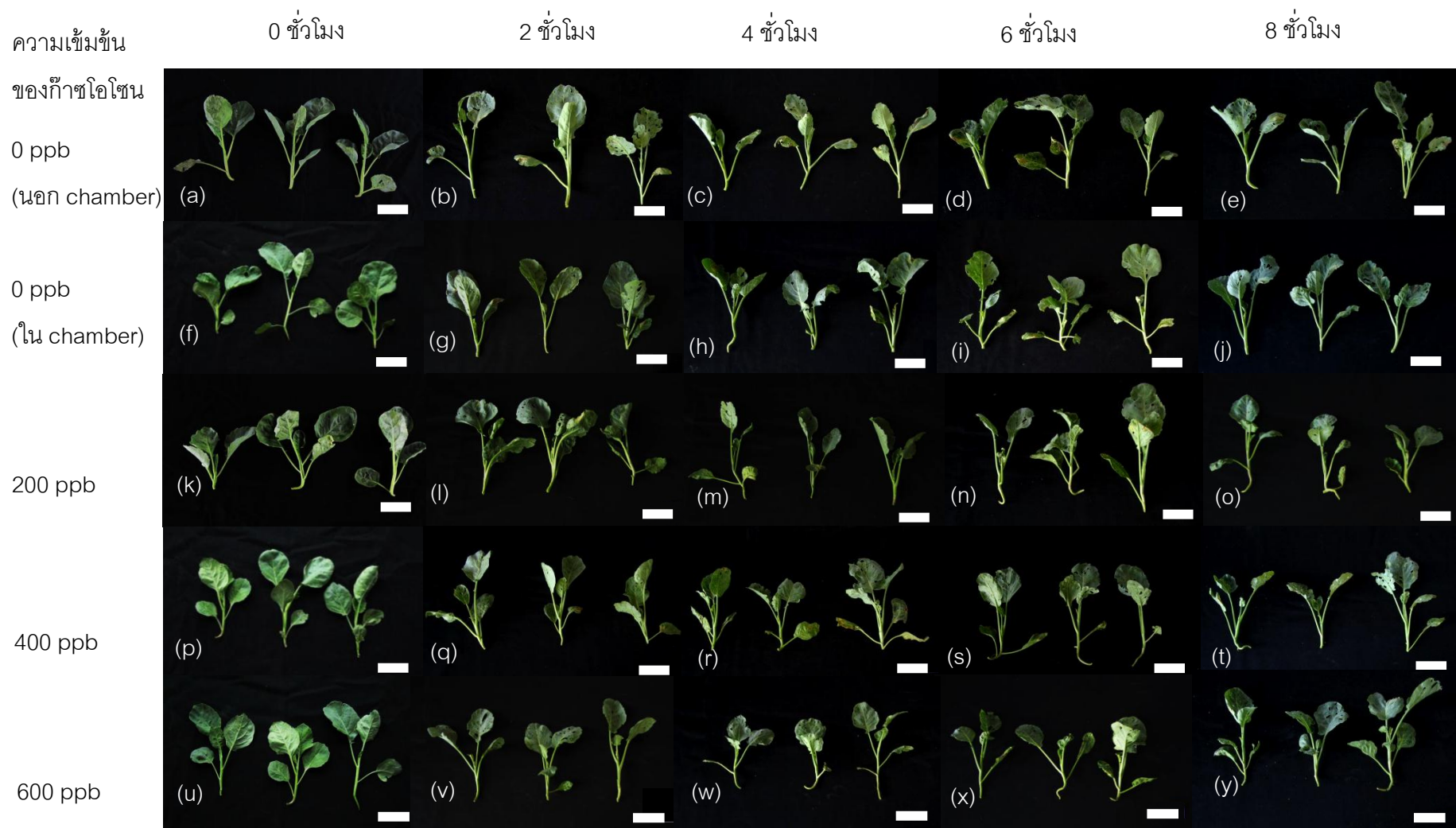
ความเข้มข้นของก๊าซโอโซน (ppb)	ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg CEQ/100g FW) ($\bar{X} \pm SE$)				
	เวลา (ชั่วโมง)				
	0	2	4	6	8
0 (นอก chamber)	7.01 $\pm$ 0.49 aAB	7.75 $\pm$ 0.53 bA	7.85 $\pm$ 0.25 bA	6.67 $\pm$ 0.52 cAB	6.03 $\pm$ 0.49 cB
0 (ใน chamber)	6.96 $\pm$ 0.44 aAB	6.11 $\pm$ 0.56 cB	7.89 $\pm$ 0.47 bA	7.73 $\pm$ 0.42 cAB	7.18 $\pm$ 0.65 bcAB
200	7.05 $\pm$ 0.55 aA	7.98 $\pm$ 0.64 bA	8.36 $\pm$ 0.34 bA	8.07 $\pm$ 0.36 bcA	7.59 $\pm$ 0.49 abcA
400	7.79 $\pm$ 0.34 aB	8.82 $\pm$ 0.29 bAB	9.95 $\pm$ 0.55 aA	9.40 $\pm$ 0.50 abA	9.21 $\pm$ 0.62 aAB
600	7.08 $\pm$ 0.36 aC	10.41 $\pm$ 0.35 aA	10.55 $\pm$ 0.42 aA	10.19 $\pm$ 0.49 aA	8.70 $\pm$ 0.39 abB

หมายเหตุ $\bar{X}$ ค่าเฉลี่ยข้อมูล
SE (standard error) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานข้อมูล

การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของต้นคะน้า

จากการทดลองเมื่อสังเกตลักษณะทางกายภาพของต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber) 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของก๊าซโอโซนที่สูงขึ้นและระยะเวลาที่เพิ่มมากขึ้นจะทำให้ใบคะน้ามีการหยิกงอบริเวณขอบใบซึ่งปรากฏชัดเจนขึ้นในใบคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 8 ชั่วโมง และสีของผิวใบเริ่มมีสีซีดแต่ยังปรากฏให้เห็นยังไม่ชัดเจน (ภาพประกอบ 16, 17, 18, 19 และ 20)



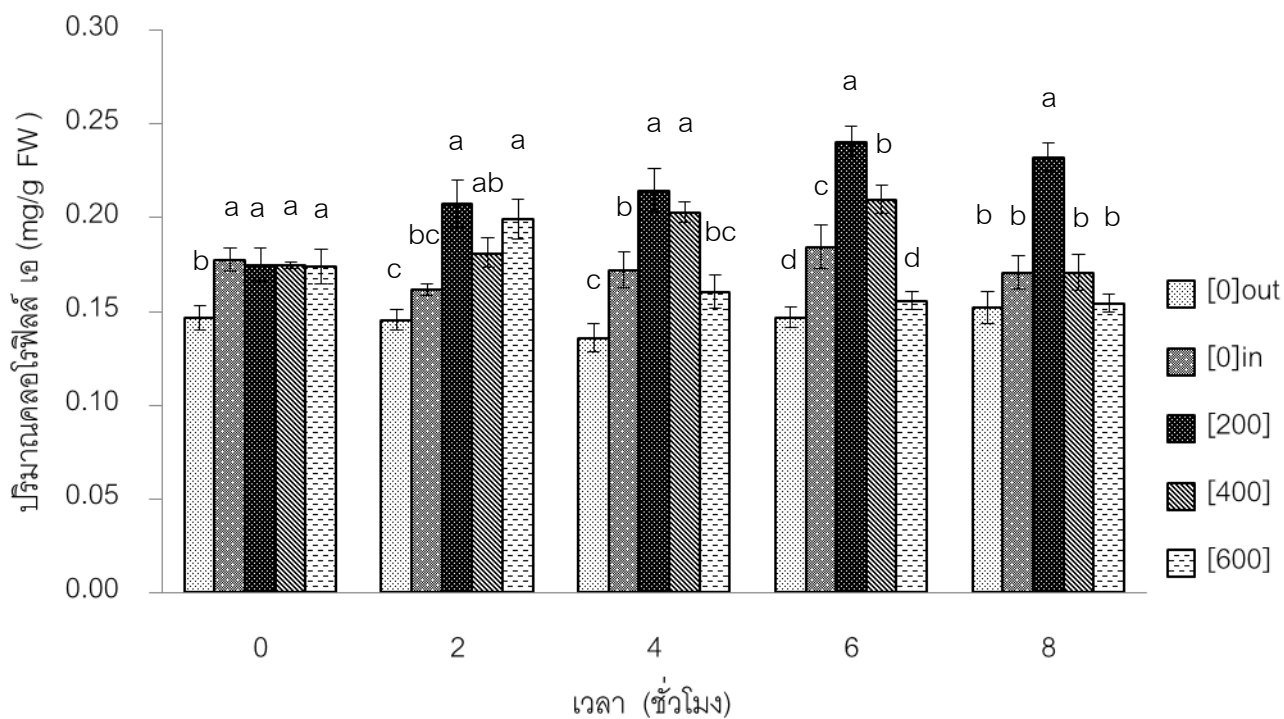


ภาพประกอบ 12 ต้นค่น้ำที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง (a-y) (bar = 4 cm)

ปริมาณรงควัตถุที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชในต้นคะน้า

ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ

จากการทดลองนำสารสกัดจากต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและเวลาแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมในช่วงเวลาเดียวกัน (ภาพประกอบ 6, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุด คือ 0.241 mg/g FW ซึ่งมีค่าแตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 400 และ 600 ppb ในช่วงเวลาเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาพประกอบ 7, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุด คือ 0.241 mg/g FW แต่มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 4 และ 8 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คือ 0.215, และ 0.232 mg/g FW ตามลำดับ และจากการทดลองเมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุดคือ 0.241 mg/g FW ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้น 1.64, 1.16, 1.15 และ 1.37 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 400 และ 600 ppb ตามลำดับ ที่ช่วงเวลาเดียวกัน



ภาพประกอบ 13 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (mg/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ตาราง 10 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (mg/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกัน (อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก) และที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่) โดยตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กและตัวพิมพ์ใหญ่ที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงค่าที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq .05$) ในแนวนอนตามลำดับจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ความเข้มข้นของก๊าซโอโซน (ppb)	ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (mg/g FW) ($\bar{X} \pm SE$)				
	เวลา (ชั่วโมง)				
	0	2	4	6	8
0 (นอก chamber)	0.147 $\pm$ 0.007 bA	0.146 $\pm$ 0.005 cA	0.136 $\pm$ 0.008 cA	0.147 $\pm$ 0.006 dA	0.152 $\pm$ 0.008 bA
0 (ใน chamber)	0.178 $\pm$ 0.006 aA	0.162 $\pm$ 0.003 bcA	0.172 $\pm$ 0.010 bA	0.184 $\pm$ 0.012 cA	0.171 $\pm$ 0.009 bA
200	0.175 $\pm$ 0.009 aC	0.208 $\pm$ 0.012 aB	0.215 $\pm$ 0.012 aAB	0.241 $\pm$ 0.008 aA	0.232 $\pm$ 0.008 aAB
400	0.175 $\pm$ 0.001 aB	0.181 $\pm$ 0.008 abB	0.203 $\pm$ 0.005 aA	0.210 $\pm$ 0.008 bA	0.171 $\pm$ 0.009 bB
600	0.174 $\pm$ 0.009 aB	0.199 $\pm$ 0.010 aA	0.161 $\pm$ 0.009 bcB	0.156 $\pm$ 0.005 dB	0.155 $\pm$ 0.005 bB

หมายเหตุ $\bar{X}$

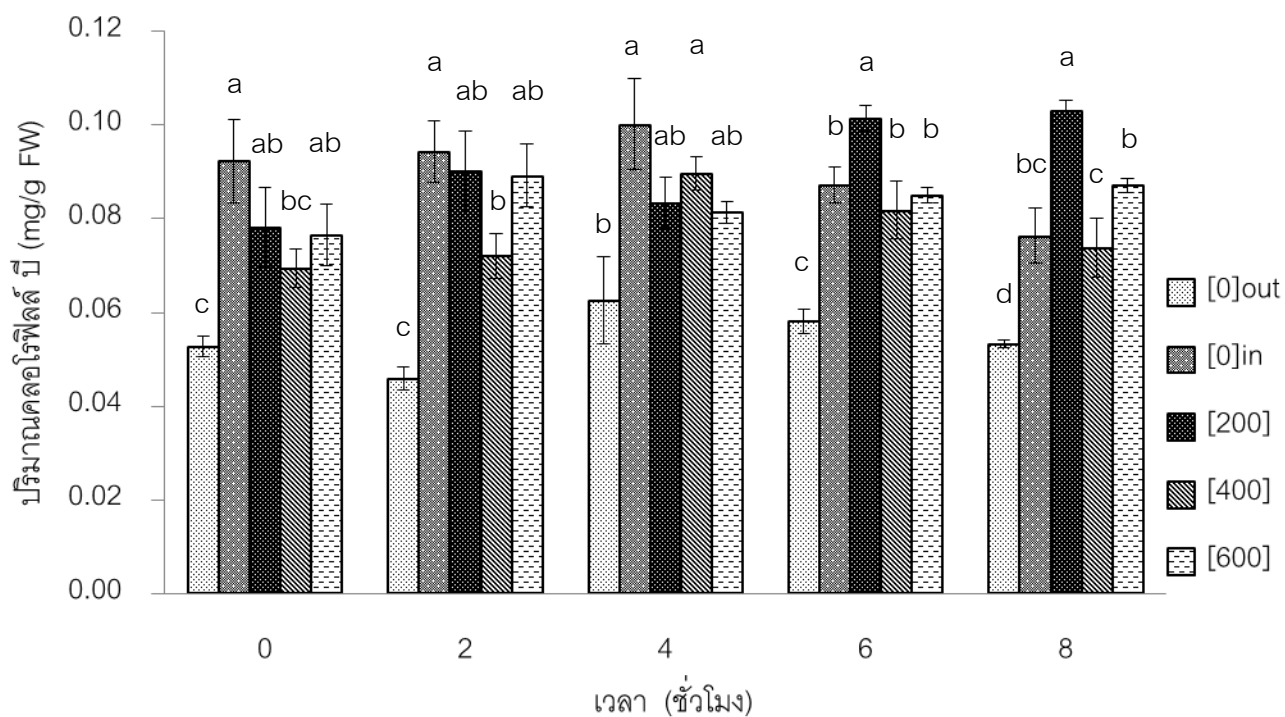
SE (standard error)

ค่าเฉลี่ยข้อมูล

ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานข้อมูล

ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี

จากการทดลองนำสารสกัดจากต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและเวลาแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมในช่วงเวลาเดียวกัน (ภาพประกอบ 6, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี สูงสุด คือ 0.103 mg/g FW ซึ่งมีค่าแตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 400 และ 600 ppb ในช่วงเวลาเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาพประกอบ 7, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb เป็นเวลา 8 ชั่วโมง มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี สูงสุด คือ และ 0.103 mg/g FW แต่มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 2, 4 และ 6 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งมีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี คือ 0.090, 0.083, 0.101 mg/g FW ตามลำดับ และจากการทดลองเมื่อต้นคะน้าได้รับโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb เป็น 8 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี สูงสุดคือ 0.103 mg/g FW ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้น 1.94, 1.36, 1.39 และ 1.18 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 400 และ 600 ppb ตามลำดับ ที่ช่วงเวลาเดียวกัน



ภาพประกอบ 14 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (mg/g FW) ในสารสกัดจากคะน้าเมื่อได้รับก๊าซไฮโดรเจนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

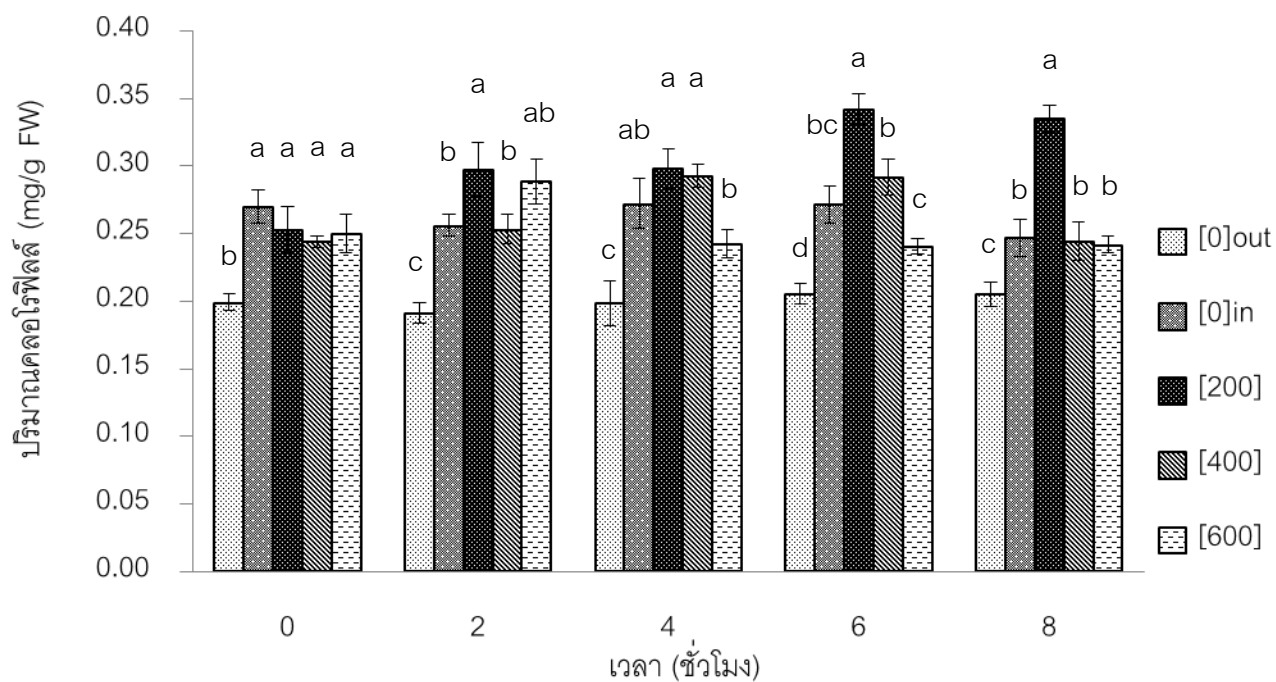
ตาราง 11 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (mg/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกัน (อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก) และที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่) โดยตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กและตัวพิมพ์ใหญ่ที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงค่าที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq .05$) ในแนวนอนตามลำดับจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ความเข้มข้นของก๊าซโอโซน (ppb)	ปริมาณปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (mg/g FW) ($\bar{X} \pm SE$)				
	เวลา (ชั่วโมง)				
	0	2	4	6	8
0 (นอก chamber)	0.053 $\pm$ 0.002 cAB	0.046 $\pm$ 0.002 cB	0.063 $\pm$ 0.009 bA	0.058 $\pm$ 0.003 cAB	0.053 $\pm$ 0.001 dAB
0 (ใน chamber)	0.092 $\pm$ 0.009 aAB	0.094 $\pm$ 0.006 aAB	0.100 $\pm$ 0.010 aA	0.087 $\pm$ 0.004 bAB	0.076 $\pm$ 0.006 bcB
200	0.078 $\pm$ 0.009 abB	0.090 $\pm$ 0.009 abAB	0.083 $\pm$ 0.005 abAB	0.101 $\pm$ 0.003 aA	0.103 $\pm$ 0.002 aA
400	0.069 $\pm$ 0.004 bcB	0.072 $\pm$ 0.005 bB	0.090 $\pm$ 0.003 aA	0.082 $\pm$ 0.006 bAB	0.074 $\pm$ 0.006 cB
600	0.076 $\pm$ 0.006 abA	0.089 $\pm$ 0.007 abA	0.081 $\pm$ 0.002 abA	0.085 $\pm$ 0.002 bA	0.087 $\pm$ 0.002 bA

หมายเหตุ $\bar{X}$ ค่าเฉลี่ยข้อมูล
SE (standard error) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานข้อมูล

ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม

จากการทดลองนำสารสกัดจากต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและเวลาแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมในช่วงเวลาเดียวกัน (ภาพประกอบ 6, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb มีปริมาณคลอโรฟิลล์รวมสูงสุด คือ 0.342 mg/g FW ซึ่งมีค่าแตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 400 และ 600 ppb ในช่วงเวลาเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาพประกอบ 7, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณคลอโรฟิลล์รวมสูงสุดคือ 0.342 mg/g FW แต่มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 2, 4 และ 8 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งมีปริมาณคลอโรฟิลล์รวมคือ 0.298, 0.298 และ 0.335 mg/g FW ตามลำดับ และจากการทดลองเมื่อคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณคลอโรฟิลล์รวมสูงสุดคือ 0.342 mg/g FW ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้น 1.67, 1.26, 1.17 และ 1.42 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 400 และ 600 ppb ตามลำดับ ที่ช่วงเวลาเดียวกัน



ภาพประกอบ 15 ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม (mg/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ตาราง 12 ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม (mg/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกัน (อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก) และที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่) โดยตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กและตัวพิมพ์ใหญ่ที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงค่าที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq .05$) ในแนวนอนตามลำดับจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

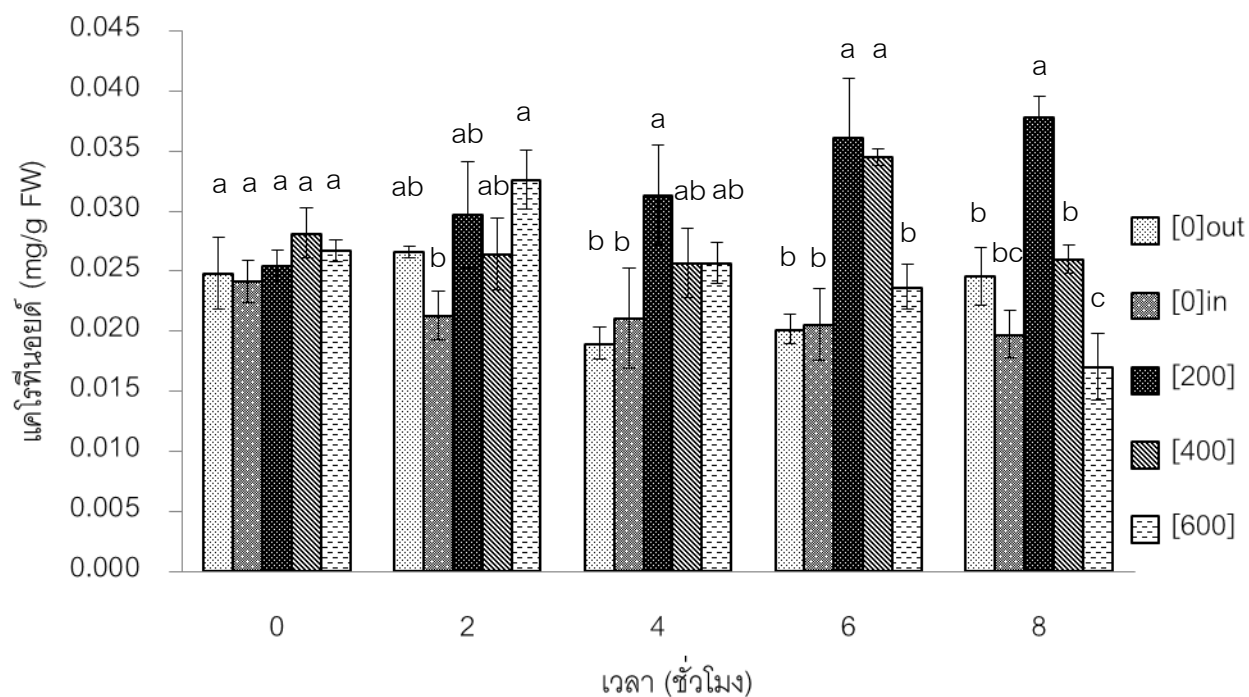
ความเข้มข้นของก๊าซโอโซน (ppb)	ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม (mg/g FW) ($\bar{X} \pm SE$)				
	เวลา (ชั่วโมง)				
	0	2	4	6	8
0 (นอก chamber)	0.199 $\pm$ 0.007 bA	0.192 $\pm$ 0.008 cA	0.199 $\pm$ 0.016 cA	0.205 $\pm$ 0.008 dA	0.205 $\pm$ 0.009 cA
0 (ใน chamber)	0.270 $\pm$ 0.012 aA	0.256 $\pm$ 0.008 bA	0.272 $\pm$ 0.018 abA	0.272 $\pm$ 0.014 bcA	0.247 $\pm$ 0.014 bA
200	0.253 $\pm$ 0.017 aB	0.298 $\pm$ 0.020 aAB	0.298 $\pm$ 0.014 aAB	0.342 $\pm$ 0.011 aA	0.335 $\pm$ 0.010 aA
400	0.244 $\pm$ 0.004 aB	0.253 $\pm$ 0.011 bB	0.293 $\pm$ 0.008 aA	0.292 $\pm$ 0.013 bA	0.245 $\pm$ 0.014 bB
600	0.250 $\pm$ 0.014 aB	0.289 $\pm$ 0.016 abA	0.242 $\pm$ 0.010 bB	0.241 $\pm$ 0.006 cB	0.242 $\pm$ 0.006 bB

หมายเหตุ $\bar{X}$ คือ ค่าเฉลี่ยข้อมูล

SE (standard error) คือ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานข้อมูล

ปริมาณแคโรทีนอยด์

จากการทดลองนำสารสกัดจากต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและเวลาแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมในช่วงเวลาเดียวกัน (ภาพประกอบ 6, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดคือ 0.038 mg/g FW ซึ่งมีค่าแตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 400 และ 600 ppb ในช่วงเวลาเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาพประกอบ 7, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb เป็นเวลา 8 ชั่วโมง มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดคือ 0.038 mg/g FW แต่มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 2, 4 และ 6 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งมีปริมาณแคโรทีนอยด์คือ 0.030, 0.031 และ 0.036 mg/g FW ตามลำดับ และจากการทดลองเมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb เป็นเวลา 8 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด 0.038 mg/g FW ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้น 1.52, 1.90, 1.46 และ 2.24 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 400 และ 600 ppb ตามลำดับ ที่ช่วงเวลาเดียวกัน



ภาพประกอบ 16 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงค่าที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq .05$) จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ตาราง 13 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/g FW) ในสารสกัดจากต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกัน (อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก) และที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่) โดยตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กและตัวพิมพ์ใหญ่ที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงค่าที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq .05$) ในแนวตั้ง และแนวนอนตามลำดับจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

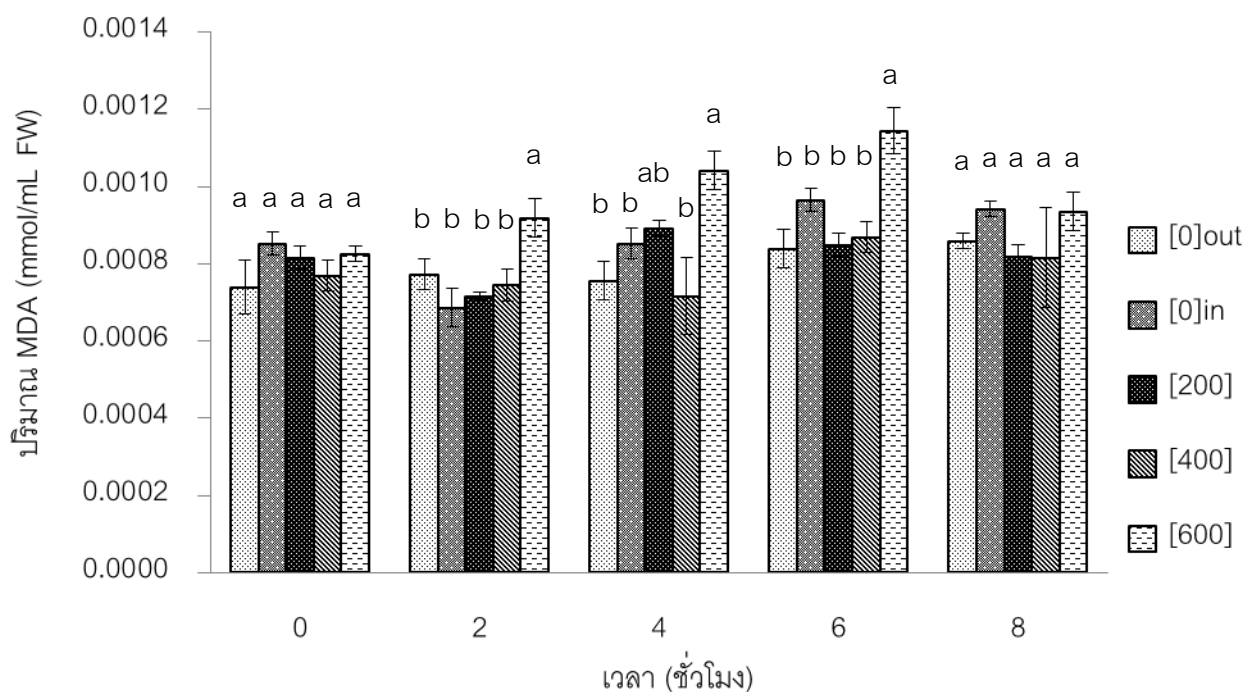
ความเข้มข้นของก๊าซโอโซน (ppb)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/g FW) ($\bar{X} \pm SE$)				
	เวลา (ชั่วโมง)				
	0	2	4	6	8
0 (นอก chamber)	0.025 $\pm$ 0.003 aAB	0.027 $\pm$ 0.0005 abA	0.019 $\pm$ 0.001 bB	0.020 $\pm$ 0.001 bB	0.025 $\pm$ 0.002 bAB
0 (ใน chamber)	0.024 $\pm$ 0.002 aA	0.021 $\pm$ 0.002 bA	0.021 $\pm$ 0.004 bA	0.021 $\pm$ 0.003 bA	0.020 $\pm$ 0.002 bcA
200	0.025 $\pm$ 0.001 aB	0.030 $\pm$ 0.004 abAB	0.031 $\pm$ 0.004 aAB	0.036 $\pm$ 0.005 aAB	0.038 $\pm$ 0.002 aA
400	0.028 $\pm$ 0.002 aAB	0.026 $\pm$ 0.003 abB	0.026 $\pm$ 0.003 abB	0.035 $\pm$ 0.001 aA	0.026 $\pm$ 0.001 bB
600	0.027 $\pm$ 0.001 aAB	0.033 $\pm$ 0.002 aA	0.026 $\pm$ 0.002 abB	0.024 $\pm$ 0.002 bB	0.017 $\pm$ 0.003 cC

หมายเหตุ $\bar{X}$ คือ ค่าเฉลี่ยข้อมูล

SE (standard error) คือ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานข้อมูล

ศึกษาการเกิดลิพิดเพอรอกซิเดชันในเนื้อเยื่อใบคะน้า

การเกิดลิพิดเพอรอกซิเดชัน (lipid peroxidation) เป็นปฏิกิริยาที่เกิดจากการที่ไขมันได้รับเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจากปัจจัยต่าง ๆ หากเกิดขึ้นในพืชจะส่งผลให้โครงสร้างบริเวณเมมเบรนของพืชได้รับความเสียหาย โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาลิพิดเพอรอกซิเดชันคือ มาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde, MDA) ในการทดลองนี้จึงทำการทดสอบหาปริมาณ MDA ของต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซน ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงความเสียหายของต้นคะน้าจากการที่ได้รับก๊าซโอโซน จากการทดลองนำสารสกัดจากต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและเวลาแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมในช่วงเวลาเดียวกัน (ภาพประกอบ 6, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb มีปริมาณ MDA สูงสุดคือ 0.00114 mmol/mL FW ซึ่งมีค่าแตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200 และ 400 ppb ในช่วงเวลาเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาพประกอบ 7, ตาราง 4) พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณ MDA สูงสุดคือ 0.00114 mmol/mL FW แต่มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p \leq .05$) กับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งมีปริมาณ MDA คือ 0.00104 mmol/mL FW และจากผลการทดลองเมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณ MDA สูงสุดคือ 0.00114 mmol/mL FW ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้น 1.36, 1.19, 1.34 และ 1.31 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 400 และ 600 ppb ตามลำดับ ที่ช่วงเวลาเดียวกัน



ภาพประกอบ 17 ปริมาณ MDA (mmol/mL FW) ในสารสกัดจากค่าน้ำเมื่อค่าน้ำได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงค่าที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq .05$) จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ตาราง 14 ปริมาณ MDA (mmol/mL FW) ในสารสกัดจากคะน้าเมื่อคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกัน (อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก) และที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่) โดยตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กและตัวพิมพ์ใหญ่ที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงค่าที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq .05$) ในแนวนอนตามลำดับจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ความเข้มข้นของก๊าซโอโซน (ppb)	ปริมาณ MDA (mmol/mL FW) ($\bar{X} \pm SE$)				
	เวลา (ชั่วโมง)				
	0	2	4	6	8
0 (นอก chamber)	0.00074 $\pm$ 0.0007 aA	0.00077 $\pm$ 0.00004 bA	0.00075 $\pm$ 0.00005 bA	0.00084 $\pm$ 0.00005 bA	0.00086 $\pm$ 0.00002 aA
0 (ใน chamber)	0.00085 $\pm$ 0.00003 aA	0.00069 $\pm$ 0.00005 bB	0.00085 $\pm$ 0.00004 bA	0.00096 $\pm$ 0.00003 bA	0.00094 $\pm$ 0.00002 aA
200	0.00082 $\pm$ 0.00003 aA	0.00072 $\pm$ 0.00001 bB	0.00089 $\pm$ 0.00002 abA	0.00085 $\pm$ 0.00003 bA	0.00082 $\pm$ 0.00003 aA
400	0.00077 $\pm$ 0.00004 aA	0.00074 $\pm$ 0.00004 bA	0.00072 $\pm$ 0.00010 bA	0.00087 $\pm$ 0.00004 bA	0.00082 $\pm$ 0.00013 aA
600	0.00083 $\pm$ 0.00002 aC	0.00092 $\pm$ 0.00004 aBC	0.00104 $\pm$ 0.00004 aAB	0.00114 $\pm$ 0.00006 aA	0.00094 $\pm$ 0.00005 aBC

หมายเหตุ

$\bar{X}$

ค่าเฉลี่ยข้อมูล

SE (standard error)

ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานข้อมูล

บทที่ 5

สรุป อภิปราย และข้อเสนอแนะ

สรุป

จากการทดลองเมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0, 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง พบว่า

1. เมื่อพิจารณาที่ระดับความเข้มข้นของก๊าซโอโซนที่มีผลต่อระดับของสารต้านอนุมูลอิสระในต้นคะน้า พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH สูงสุด จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์สูงสุด ในขณะที่ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 400 ppb จะมีปริมาณวิตามินซีสูงสุด และต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์สูงสุด

2. เมื่อพิจารณาที่ช่วงระยะเวลาที่ต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่มีผลต่อระดับของสารต้านอนุมูลอิสระในต้นคะน้า พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH, FRAP และปริมาณวิตามินซีสูงสุด ในขณะที่ต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ต้นคะน้าจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด ซึ่งเมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ต้นคะน้าจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม และปริมาณ MDA สูงสุด และที่เวลา 8 ชั่วโมง จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี และปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด

3. เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการของต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซน พบว่า ต้นคะน้าเริ่มมีอาการบริเวณขอบใบหงิกงอและสีเริ่มซีดที่บริเวณขอบใบ แต่อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของต้นคะน้าปรากฏออกมาให้เห็นยังไม่ชัดเจน

ก๊าซโอโซนมีอิทธิพลช่วยให้ต้นคะน้ามีการสะสมปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น แม้ว่าก๊าซโอโซนจะส่งผลกระทบต่อโครงสร้างภายในเซลล์ของต้นคะน้า แต่จากผลการทดลองเบื้องต้นยังไม่สามารถสังเกตเห็นความเสียหายที่เกิดกับต้นคะน้าได้ด้วยตาเปล่า ดังนั้นการรมก๊าซโอโซนให้กับต้นคะน้าในระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตจึงเป็นวิธีที่สามารถนำมาใช้เพิ่มคุณภาพของผลผลิตในการปลูกคะน้าได้

อภิปราย

ศึกษาผลของก๊าซโอโซนต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในต้นคะน้า

1. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay)

การศึกษาค้นหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ที่สะดวก รวดเร็ว และง่ายต่อการวิเคราะห์และให้ความถูกต้องสูง ซึ่งใช้ reagent คือ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) โดยทำละลายในเมทานอลและให้สารละลายสีม่วง สามารถดูดกลืนคลื่นแสงได้ดีที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ในปี 2010 Allothman; et al. ได้ทำการทดสอบหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ในสับปะรด กล้วย และฝรั่งที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 8 ± 0.2 ml/s เป็นเวลา 0-30 นาที มีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ในพืชทั้ง 3 ชนิดเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและช่วงเวลาเดียวกัน และจากการทดลองหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดจากต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและช่วงเวลาที่เหมาะสมมีผลทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของคะน้าเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุม และในการศึกษานี้พบว่าเมื่อคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าคะน้ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นสูงสุด 79.79 % inhibition of DPPH activity ที่ $p \leq .05$ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ryang; et al. (2009) ได้ทำการศึกษาค้นหาผลจากการให้ก๊าซโอโซนกับ *Liriodendron tulipifera* ที่ระดับความเข้มข้นและช่วงเวลาที่เหมาะสมคือ 100-300 ppb เป็นเวลา 15 วัน พบว่าพืชชนิดนี้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น และค่า DPPH ที่เพิ่มขึ้นเมื่อคะน้าได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าสอดคล้องกับค่า FRAP ของคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 2 ชั่วโมงเช่นกัน

2. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

การศึกษาค้นหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว มีขั้นตอนการทดลองที่ไม่ยุ่งยาก และมีค่าใช้จ่ายน้อย เมื่อสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+} -TPTZ) ได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระ แล้วจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+} -TPTZ) ซึ่งเป็นสีม่วง และวัดการดูดกลืนคลื่นแสงที่มีความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร จากการทดลองหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดจากต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0-600 ppb เป็นเวลา 0-8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณก๊าซโอโซนที่ระดับความ

เข้มข้นและช่วงเวลาที่เหมาะสมมีผลทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของคะน้าเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุม และในการศึกษานี้พบว่าเมื่อคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งแสดงในค่า FRAP มีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดคือ 0.1699 $\mu\text{mol/mL}$ ที่ $p \leq .05$ และจะเริ่มลดลงเมื่อคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 4, 6 และ 8 ชั่วโมง (ภาพที่ 1, ตารางที่ 1) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้นนี้อาจจะเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ กล่าวคือ เมื่อคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์นั้นเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เช่นกัน และที่ 2 ชั่วโมงพบว่าต้นคะน้ามีค่า FRAP สูงสุดซึ่งสอดคล้องกับค่า DPPH และปริมาณวิตามินซีที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุดในช่วงเวลาเดียวกัน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นคะน้าที่ลดลงในช่วงเวลา 4, 6 และ 8 ชั่วโมง เมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb คาดว่าน่าจะมาจากการลดลงของปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก วิตามินซี และฟลาโวนอยด์ ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 6 และ 8 ชั่วโมง จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและวิตามินซีลดลง และพบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ลดลงเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 8 ชั่วโมง และนอกจากนี้ การลดลงของค่า FRAP ที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 4 ชั่วโมง อาจเพราะมีสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่น เช่น คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ มีปริมาณลดลง (Sakaki; et al.1983) เมื่อได้รับก๊าซโอโซนในระยะเวลานานเพิ่มขึ้น

การทดสอบด้วยวิธี DPPH และ FRAP เป็นวิธีที่ใช้ในการทดสอบหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยจะให้ผลการทดสอบในทิศทางเดียวกัน และในปี 2010 Alothman; et al. ได้ทำการทดสอบหาค่า DPPH และ FRAP ในสับปะรด กล้วย และฝรั่งที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 8 ± 0.2 ml/s เป็นเวลา 0-30 นาที พบว่าให้ค่า DPPH และ FRAP เพิ่มขึ้นในทิศทางเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองนี้ พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีค่าค่า DPPH (% inhibition of DPPH activity) และค่า FRAP ($\mu\text{mol/mL}$) สูงที่สุด เมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 600 ppb ตามลำดับ

การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในต้นคะน้า

1. การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก

ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนระดับความเข้มข้นและช่วงเวลาที่เหมาะสมมีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ส่งผลให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดคือ 0.72 mg GEQ/g sample ที่ $p \leq .05$ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Saleem; et al. (2001) ได้ทำการศึกษาผลจากการให้ก๊าซโอโซนกับ european silver birch (*Betula pendula* Roth) พบว่าฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิกมีปริมาณเพิ่มขึ้น สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Rice-Evans; et al. 1996) มีคุณสมบัติป้องกันและกำจัดการเกิด ROS ที่เกิดขึ้น (Wang; et al. 2006; Dorta; et al. 2008) และมีรายงานว่า การตอบสนองของพืชต่อก๊าซโอโซนส่วนหนึ่งมีสาเหตุจากการถูกกระตุ้นของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีน แอมโมเนียไลเอส [phenylalanine ammonia lyase (PAL)] ซึ่ง PAL เป็นเอนไซม์ที่สำคัญของการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดในพืช เช่น สารฟลาโวนอยด์ โดยในปี 2007 Gonzalez-Aguilar; et al. พบว่าการกระตุ้นเอนไซม์ PAL ในมะม่วงสายพันธุ์ “Haden” มีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกในมะม่วงเพิ่มขึ้น ในปี 1973 Camm; & Towers. ได้รายงานว่า มีหลายปัจจัยที่ช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ PAL และการเพิ่มขึ้นของสารประกอบฟีนอลิกอาจมีสาเหตุมาจากการปรับเปลี่ยนของผนังเซลล์ (cell wall modification) ระหว่างที่พืชได้รับก๊าซโอโซน ซึ่งส่งผลให้เกิดการสะสมของสารประกอบฟีนอลิก บริเวณผนังเซลล์ได้ (Allothman; et al. 2010) และในปี 1992 Maier-Maercker; & Koch. ได้รายงานว่า เมื่อพืชได้รับก๊าซโอโซนจะทำให้ลิกนินบริเวณผนังเซลล์หายไปจึงเกิดการสะสมของสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มมากขึ้นที่บริเวณผนังเซลล์ของเซลล์คุม (guard cells) และเซลล์ข้างเซลล์คุม (subsidiary cells) ในขณะที่ Hoigne; & Bader. (1983) รายงานว่าก๊าซโอโซนเกิดการสลายตัวเองตามธรรมชาติทำให้แตกตัวเป็นอนุมูลอิสระหลายชนิด เช่น ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydroperoxyl, H_2O_2), ไฮดรอกซิลเรดิคัล (hydroxyl radical, $OH\cdot$) ซุปเปอร์ออกไซด์ เรดิคัล (superoxide radicals, $\cdot O_2$) ดังนั้นอนุมูลอิสระที่ได้จากการแตกตัวของก๊าซโอโซนจะถูกจับโดยสารประกอบฟีนอลิกในผลไม้ ซึ่งคาดว่า เป็นสาเหตุทำให้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในต้นคะน้าลดลงเมื่อได้รับก๊าซโอโซน

2. การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

ต้นคะน้าที่ได้รับโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและช่วงเวลาที่เหมาะสมมีผลทำให้ปริมาณวิตามินซีเพิ่มขึ้น ดังนี้ เมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 400 ppb เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าต้นคะน้ามีปริมาณวิตามินซีเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยมีปริมาณวิตามินซี 22.22 mg/100g FW อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Severino; et al. (2007) ได้ทำการศึกษาผลจากการให้ก๊าซโอโซนกับ *Trifolium repens* และ *Centaurea jacea* ที่ระดับความเข้มข้นและช่วงเวลาที่เหมาะสมคือ 1×10^5 ppb เป็นเวลา 8 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่าพืชทั้ง

2 ชนิดมีปริมาณวิตามินซีเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับผลการทดลองของ Ali; et al. (2014) ซึ่งได้ทำการศึกษาผลจากการให้ก๊าซโอโซนกับมะละกอ เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณวิตามินซีเพิ่มขึ้น 12.4% เมื่อมะละกอได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 2.5×10^3 ppb ในปี 1999 Perez; et al. ได้รายงานว่าก๊าซโอโซนมีบทบาทในการยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์วิตามินซีคือ เอนไซม์แอสคอร์เบทเพอร์ออกซิเดส (ascorbate peroxidase) และเอนไซม์แอสคอร์เบทออกซิเดส (ascorbate oxidase) ซึ่งเอนไซม์แอสคอร์เบทออกซิเดสเป็นเอนไซม์ที่มีคอปเปอร์เป็นองค์ประกอบและเป็นเอนไซม์ที่ช่วยในการทำลายวิตามินซี โดยเอนไซม์แอสคอร์เบทออกซิเดสจะไปออกซิไดซ์วิตามินซีให้เป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (dehydroascorbic acid (DHA)) และการได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นที่สูงเป็นระยะเวลานานจะทำให้มีการส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์แอสคอร์เบทเพอร์ออกซิเดสส่งผลทำให้วิตามินซีเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ปริมาณวิตามินซีที่ลดลงนั้น เนื่องจากวิตามินซีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจึงทำหน้าที่ในการกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดจากก๊าซโอโซน เช่น ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2), ซุปเปอร์ออกไซด์เรดิเคิล (superoxide radicals, $\cdot O_2$) ไฮดรอกซิลเรดิเคิล (hydroxyl radical, $OH\cdot$) ซึ่งอยู่ภายในเซลล์พืช (Moldau. 1998) และเนื่องจากวิตามินซีไวต่ออุณหภูมิและปฏิกิริยาต่าง ๆ (Tiwari; et al. 2008) ดังนั้นการลดลงของปริมาณวิตามินซีในต้นค่น้านั้นมีสาเหตุมาจากวิตามินซีไปทำหน้าที่ในการจับกับอนุมูลอิสระขณะที่ต้นค่น้านั้นได้รับก๊าซโอโซน และอาจมีปัจจัยอื่นที่ส่งผลให้ปริมาณวิตามินซีลดลงอีกด้วย เช่น เอนไซม์แอสคอร์เบทออกซิเดส (ascorbate oxidase) ซึ่งเอนไซม์นี้จะถูกกระตุ้นภายใต้สภาวะเครียด เช่น สภาวะเครียดจากการได้รับสารเคมี เช่น โลหะหนัก เช่น Cu^{2+} Ag^+ Fe^{3+} โดยมีรายงานว่าเอนไซม์แอสคอร์เบทออกซิเดสจะไปมีส่วนช่วยทำให้วิตามินซีเปลี่ยนเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (Lee; & Kader. 2000) และเมื่อพิจารณาดูระหว่างช่วงเวลาที่ต้นค่น้านั้นได้รับก๊าซโอโซนพบว่าการลดลงของวิตามินซีในต้นค่น้านั้นอาจจะเป็นเนื่องมาจากต้นค่น้านั้นได้รับก๊าซโอโซนเป็นระยะเวลาหนึ่งที่มีช่วงเวลาที่จะทำให้วิตามินซีในต้นค่น้านั้นถูกออกซิไดซ์ได้ ซึ่งในปี 2008 Tiwari; et al. ได้รายงานว่ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มลดลงจาก 41.59×10^4 เป็น 12.70×10^4 mg/100mL หลังจากได้รับก๊าซโอโซนเป็นเวลา 10 นาที ซึ่งก๊าซโอโซนจะไปออกซิไดซ์สารอินทรีย์ในพืชซึ่งมี 2 วิธีหลัก คือ การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยตรงจากโมเลกุลของก๊าซโอโซน และ หรือโดยอนุมูลอิสระ เช่น $OH\cdot$ ซึ่งถือว่าเป็นตัวออกซิไดซ์ที่มีประสิทธิภาพและเป็น nonselective oxidize reagent และการศึกษาของ Garcia-Viguera; & Bridle. (1999) ได้รายงานว่าการสลายตัวของวิตามินซีจากก๊าซโอโซนเกิดขึ้นเพราะกลไกของอนุมูลอิสระ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าต้นค่น้านั้นที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและช่วงเวลาที่เหมาะสมจะส่งผลทำให้ปริมาณของวิตามินซีเพิ่มขึ้น

3. การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและช่วงเวลาที่เหมาะสมมีผลทำให้ปริมาณฟลาโวนอยด์เพิ่มขึ้น โดยเมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าต้นคะน้ามีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุดคือ 10.55 mg CEQ/100g FW ที่ $p \leq .05$ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและช่วงเวลาเดียวกันที่ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นสูงสุด ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดหนึ่งและมีหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Rice-Evans; et al. 1996) มีคุณสมบัติป้องกันและกำจัดการเกิด Reactive oxygen species (ROS) (Wang; et al. 2006; Dorta; et al. 2008) และในปี 2008 Puckette; et al. ได้ทำการศึกษาข้อมูลทางชีวโมเลกุลของพืชตระกูลถั่วเมื่อได้รับก๊าซโอโซนพบว่า ก๊าซโอโซนจะไปกระตุ้นกระบวนการทรานสคริปชัน (transcription) ของยีน (flavonoid biosynthesis genes) จึงทำให้มีการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์และไอโซฟลาโวนอยด์เพิ่มขึ้น และจากผลการทดลองดังกล่าว สามารถบ่งชี้ได้ว่าสารประกอบฟีนอลิกมีบทบาทสำคัญที่ช่วยให้พืชตระกูลถั่วปรับตัวได้อย่างรวดเร็วขณะที่ได้รับความเครียดจากก๊าซโอโซน

ศึกษาผลของก๊าซโอโซนที่มีต่อความเสียหายและการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในคะน้า

1. การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

จากการทดลองและสังเกตลักษณะทางกายภาพของคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0-600 ppb เป็นเวลา 0-8 ชั่วโมง พบว่าขอบใบคะน้าเริ่มมีการหงิกงอและมีสีซีดซึ่งเริ่มสังเกตเห็นได้จากคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 8 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ ดังในการทดลองซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่ไม่ชัดเจนทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากระยะเวลาที่ต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนนั้นยังไม่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพได้อย่างชัดเจน ก่อนหน้านี้นี้ในปี 2001 Saleem; et al. รายงานว่าเมื่อพืช European silver birch (*Betula pendula* Roth) ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 10-100 ppm ซึ่งส่งผลทำให้ขนาดใบน้ำหนักแห้งของต้นและรากลดลงซึ่งบ่งชี้ได้ว่าพืชชนิดนี้มีการเจริญเติบโตลดลง และทำให้เกิดกระบวนการตายของเซลล์พืช (senescence) และใบมีสีเหลืองเนื่องจากปริมาณคลอโรฟิลล์และแมกนีเซียมลดลงเมื่อพืชได้รับก๊าซโอโซน

2. ศึกษาผลของก๊าซโอโซนที่มีต่อปริมาณรงควัตถุที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช

จากการทดลองหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์รวมและแคโรทีนอยด์ของสารสกัดจากคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0 (นอก chamber), 0 (ใน chamber), 200, 400 และ 600 ppb เป็นเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและช่วงเวลาที่เหมาะสมมีผลทำให้ต้นคะน้ามีรงควัตถุต่าง ๆ เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และจาก

ผลการทดลองพบว่าเมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุดคือ 0.241 mg/g FW อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb เป็นเวลา 8 ชั่วโมง มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี สูงสุดคือ 0.103 mg/g FW ที่ $p \leq .05$ ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณคลอโรฟิลล์รวมสูงสุดคือ 0.342 mg/g FW อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) และต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppb เป็นเวลา 8 ชั่วโมง มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด 0.038 mg/g FW อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) ทั้งนี้การลดลงของคลอโรฟิลล์ในช่วงเวลาและก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ เนื่องจากการสลายตัวอย่างรวดเร็วของคลอโรฟิลล์ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงเมตาบอลิซึมที่ถูกชักนำโดยก๊าซโอโซนที่อยู่ในบริเวณโครงสร้างของเซลล์ และไวต่อการถูกกระตุ้นจากก๊าซโอโซนจึงทำให้พื้นที่ของคลอโรพลาสต์มีปริมาณลดลง (Ojanpera; et al. 1992) ในปี 1983 Castelfranco; & Beale. รายงานว่าก๊าซโอโซนมีผลทำให้คลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี สลายตัว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sakaki; et al. (1983) รายงานว่าเมื่อผักปวยเล้ง (spinach) ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 500 ppb เป็นระยะเวลา 6-8 ชั่วโมง ในการสังเคราะห์ด้วยแสงช่วงปฏิกิริยาที่ต้องใช้แสง (light dependent) มีผลทำให้คลอโรฟิลล์ เอ และแคโรทีนอยด์เริ่มสลายตัว และทำให้คลอโรฟิลล์ บี มีแนวโน้มลดลงเช่นกัน เนื่องจากระบวนการทางชีวเคมีที่เกิดจากการชักนำของก๊าซโอโซน จึงบ่งชี้ได้ว่าการสลายตัวของรงควัตถุ เช่น โมเลกุลของคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี นั้นเกิดจากการสะสม superoxide ขณะที่พืชได้รับก๊าซโอโซน ทั้งนี้ก๊าซโอโซนยังทำให้เกิดกระบวนการเสื่อมสภาพ (senescence) ของใบได้ โดยก๊าซโอโซนจะไปลดกระบวนการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon fixation) ทำลายส่วนของเยื่อหุ้มคลอโรพลาสต์ ทำลายเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ ทำลายโปรตีนและคลอโรฟิลล์ และลดกิจกรรมของเอนไซม์ Rubisco ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของใบ (Sakaki; et al. 1983; Pleijel; et al. 1994; Welfare; et al. 1996) นอกจากนี้พืชยังมีกระบวนการคืนสภาพของคลอโรฟิลล์ได้ โดยในปี 1990 Tenga; et al. พบว่าเกิดกระบวนการคืนสภาพของคลอโรฟิลล์ในใบมะเขือเทศที่ได้รับก๊าซโอโซนซึ่งจะดำเนินไปอย่างช้า ๆ กระบวนการนี้จะเกิดขึ้นในคลอโรฟิลล์ เอ น้อยกว่าคลอโรฟิลล์ บี จึงส่งผลให้อัตราของคลอโรฟิลล์ บี ต่อคลอโรฟิลล์ เอ (chl b/a ratio) เพิ่มขึ้น ในปี 2001 Castagna; et al. รายงานว่าก๊าซโอโซนมีผลทำให้ปริมาณบีต้าแคโรทีนลดลง โดยบีต้าแคโรทีน (beta β -carotene) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในกลุ่มแคโรทีนอยด์ซึ่งอยู่ในคลอโรพลาสต์จะจับกับอนุมูลอิสระที่เกิดจากก๊าซโอโซน เนื่องจากแคโรทีนอยด์มีบทบาทสำคัญทางสรีรวิทยาในการป้องกันอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น (Schindler; & Lichtenthaler. 1994)

3. ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเพอรอกซิเดชันในเนื้อเยื่อในคะน้า

ต้นคะน้าที่ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและช่วงเวลาที่เหมาะสมมีผลทำให้ปริมาณ malondialdehyde (MDA) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเกิดเพอรอกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของพืช (unsaturated membrane fatty acids) (Mudd; et al. 1971) เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการทดลองเมื่อต้นคะน้าได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 600 ppb เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ส่งผลให้มีปริมาณ MDA สูงสุดคือ 0.00114 mmol/mL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sakaki; et al. (1983) รายงานว่าเมื่อผักปวยเล้ง (spinach) ได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 500 ppb เป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง ส่งผลให้ปริมาณของ MDA เพิ่มขึ้น และในปี 2002 Halliwell; & Gutteridge. รายงานว่าการสะสมของ MDA นั้นบ่งชี้ได้ว่าบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์จะถูกทำลายหลังจากที่เกิดปฏิกิริยาถูกใช้ของอนุมูลอิสระเมื่อพืชได้รับก๊าซโอโซน ทั้งนี้ Sakaki; et al. (1983) ได้รายงานว่าการเสียหายของลิพิดบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของพืชอาจมีปัจจัยหลักมาจากก๊าซโอโซนเช่นกัน โดยก๊าซโอโซนจะเข้าไปทำลายระบบเยื่อหุ้มเซลล์ส่งผลให้ลิพิดที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลายทำให้เกิดการสร้าง MDA ในเซลล์พืชซึ่งเป็นตัวชี้วัดการเกิดลิพิดเพอรอกซิเดชัน (Tomlinson; & Ricb. 1970; Frederick; & Heath. 1975) โดย Sakaki; et al. (1983) พบว่าเมื่อผักปวยเล้งได้รับก๊าซโอโซน 500 ppb เป็นเวลา 0-24 ชั่วโมง จะเกิดการสะสม MAD และมีปริมาณ MDA เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ที่เวลา 8.5 ชั่วโมง โดยที่มีเอนไซม์ polyphenol oxidase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่อยู่ติดกับเยื่อหุ้มไทลาคอยด์เมื่อเอนไซม์ polyphenol oxidase ถูกกระตุ้นจากก๊าซโอโซนที่เข้ามาในคลอโรพลาสต์จะส่งผลให้โครงสร้างของเยื่อหุ้มไทลาคอยด์เสียหายจึงทำให้เกิดการสะสม MDA บริเวณเยื่อหุ้มไทลาคอยด์

ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองพบว่าระดับความเข้มข้นของก๊าซโอโซนและช่วงเวลาที่ทำให้ก๊าซโอโซนมีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งทดสอบด้วยวิธี DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity) และ FRAP (ferric reducing antioxidant power) และปริมาณสารประกอบฟีนอลิก วิตามินซี ฟลาโวนอยด์ คลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์รวม แคโรทีนอยด์ และ MDA (malondialdehyde) ของต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซน แต่การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของต้นคะน้าเมื่อได้รับก๊าซโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและเวลาที่แตกต่างกันนั้นไม่สามารถสังเกตได้ด้วยตา (invisible injury) ดังนั้นการทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืชจึงเป็นกระบวนการสำคัญที่ทำให้ทราบถึงผลของการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่แท้จริงของต้นคะน้า นอกจากนี้ก๊าซโอโซนยังมีผลต่อความสามารถในการทำงานของเยื่อเลือกผ่าน (permeable membrane) ซึ่งทำให้พืชสูญเสียน้ำหนักสุทธิของน้ำ (net water) ในเซลล์เนื่องจากเยื่อเลือกผ่านมีการทำงานที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อพืชได้รับก๊าซโอโซนด้วยเหตุนี้จึงส่งผลให้อัตราส่วนของน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งของพืชลดลง (Sakaki; et al. 1983) และ

ดังนั้นจากผลการทดลองนี้สามารถนำองค์ความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มคุณภาพและมูลค่าของผลผลิตทางการเกษตรให้แก่เกษตรกร ทั้งยังเป็นแนวทางหนึ่งที่ช่วยให้ผู้บริโภคมีโอกาสได้รับประทานผักผลไม้ที่มีคุณค่าทางโภชนาการทางอาหารเพิ่มขึ้นเพื่อส่งเสริมให้มีสุขภาพร่างกายที่ดีต่อไป

อย่างไรก็ตามการทดลองในครั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาอิทธิพลของก๊าซโอโซนที่มีผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในต้นคะน้าชั้นเบื้องต้น ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของวิธีการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยว (postharvest) เพื่อให้สารต้านอนุมูลอิสระถึงมือผู้บริโภค นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นแนวทางในการศึกษาอิทธิพลของก๊าซโอโซนในพืชชนิดอื่นเพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของพืชผักเศรษฐกิจที่สำคัญของไทยต่อไป



บรรณานุกรม

- กลุ่มงานเทคโนโลยีสารสนเทศ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. (2557). *ทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล พ.ศ. 2555 (HOSPITAL BASED CANCER REGISTRY ANNUAL REPORT 2012)*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ตะวันออก.
- กลุ่มงานวิเคราะห์อาหารและโภชนาการ กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. (2544). *ตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย NUTRITIVE VALUES OF THAI FOODS*. ปรับปรุงครั้งที่ 3. โรงพิมพ์องค์การทหารผ่านศึก.
- ตลาดสี่มุมเมือง. *ราคาสินค้าเกษตร*. สืบค้นเมื่อ 3 กุมภาพันธ์ 2558. จาก <http://www.taladsimummuang.com>
- บริษัท ยูโรเอ็นเทค จำกัด. (2558). *รักชีวิต รักไอโซน*. สืบค้นเมื่อวันที่ 20 พฤศจิกายน 2558, จาก www.euroentech.com
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. (2558). *Phenolic compounds / สารประกอบฟีนอล*. สืบค้นเมื่อ 3 กุมภาพันธ์ 2558. จาก <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compound>
- วิรัตน์ ภูวิวัฒน์. 2539. อิทธิพลของความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของคะน้า (Chinese kale: *Brassica alboglaba* Bailey) ที่ปลูกในโรงเรือนตาข่าย, *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*. 14(2): 3-10.
- ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ปี 2548-2558. (2558). *ระบบสารสนเทศการผลิตทางการเกษตร*. Online. Available from: <http://www.oae.go.th>
- สุนทร ตรินันทวัน. (2556). *คะน้า เกราะป้องกันมะเร็ง*. สืบค้นเมื่อ 5 กุมภาพันธ์ 2558. จาก <http://edtech.ipst.ac.th/index.php//2022-07-29-04-02-00/2011-08-09-07-26-40/2011-08-09-06-29-06/803-2013-01-04-05-50-41.html>
- Aherne, S.A.; Daly, T.; Jiwan, M.A.; O' Sullivan, L.; & O'Brien, N.M. (2010). Bioavailability of beta-carotene isomers from raw and cooked carrots using an in vitro digestion model coupled with a human intestinal Caco-2 cell model. *Food Research International*. 43(5): 1449–1454.
- Akhtar, N.; Yamaguchi, M.; Inada, H.; Hoshino, D. Kondo, T.; & Izuta, T. (2010). Effects of ozone on growth, yield and leaf gas exchange rates of two Bangladeshi cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environmental Pollution*. 1763-1767.

- Ali, A.; Kyng Ong, M.; & F. Forney, C. (2014). Effect of ozone pre-conditioning on quality and antioxidant capacity of papaya fruit during ambient storage. *Food Chemistry*. 142: 19-26.
- Allothman, M.; Kaur, B.; Fazilah, A.; Bhat, R.; & Karim, A.A. (2010). Ozone-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 11: 666–671.
- Alonso, R.; Elvira, S.; Inclán, R.; Bermejo, V.; Castillo, F.J.; & Gimeno, B.S. (2003). Responses of Aleppo pine to ozone. Air pollution, global change and forests in the new millennium. 359–374
- Alscher, R.G.; Donahue, J.L.; & Cramer, C.L. (1997). Reactive oxygen species and antioxidants: relationship in green cells. *Physiologia Plantarum*. 100: 224-233.
- Ames, B. N.; Shigenaga, M.K.; & Hagen, T.M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences (U.S.A.)* 90: 7915-7922.
- Anderson, P.D.; Palmer, B.; Houppis, J.L.J.; Smith, M.K.; & Pushnik, J.C. (2003). Chloroplastic responses of ponderosa pine (*Pinus ponderosa*) seedlings to ozone exposure. *Environment International*. 29: 407-413.
- AOAC, (1998). *Office Methods of Analysis*. 16th ed. Association of official Analytical Chemists, Washington, D.C. 1:600-792.
- Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*. 24: 1-15
- Arrigoni, O.; & Tullio, M.C.D. (2002). Ascorbic acid: much more than just an antioxidant, *Biochimica et Biophysica Acta*. 1569; 1–9.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; & Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technology*. 28: 25-30.
- Beuchat, L.R. (1998). Surface decontamination of fruits and vegetables. *A review. World Health Organization (FSF/FOS/98.2)*.
- Camm, E.L.; & Towers, G.H.N. (1973). Phenylalanine ammonia-lyase, *A review. Phytochemistry*, 12: 961-973.
- Caregnato, F. F.; Bortolin, R.C.; Junior, A.M.D.; & Moreira, J.C. (2013). Exposure to elevated ozone levels differentially affects the antioxidant capacity and the redox homeostasis of two subtropical *Phaseolus vulgaris* L. varieties. *Chemosphere*. 1-11.

- Castelfranco, P.A.; & Beale, S.I. (1983). Chlorophyll biosynthesis. Recent advances and areas of current interest. *Annual Review of Plant Physiology*. 34: 241-278.
- Castagna, A.; Nali, C.; Ciompi, S.; Lorenzini, G.; Soldatini, G.F.; & Ranieri, A. (2001). Ozone exposure affects photosynthesis of pumpkin (*Cucurbita pepo*) plants. *New Phytologist*. 152: 223–229.
- Cicerale, S.; Lucas, L.; & Keast, R. (2010). Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil. *International Journal of Molecular Science*. 11; 458-479.
- Cook, N.C.; & Samman, S. (1996). Flavonoids: chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 7(2): 66–76.
- Dabbagh, H.A., Azami, F.; Farrokhpour, H.; & Chermahini, A.N. (2014). Theoretical study on structure, conformation, stability and electronic transition of C4 and C5 anions of ascorbic acid stereoisomers. *Chermahini Journal of Molecular Structure*. 1061: 69–75.
- Dai-Ing Lin; Huu-Sheng Lur; & Chu. C. (2001). Effects of abscisic acid on ozone tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Plant Growth Regulation*. 295-300.
- David, M.O. (1989). The growth and yield effects of ambient air pollution on valencia orange trees. *Statewide Air Pollution Research Center, University of California*.
- Deshmukh, H.; & Prabhu, P.J. (2011). Development of RP-HPLC method for Qualitative Analysis of Active Ingredient (Gallic acid) from Stem Bark of *Dendrophthoe falcate* Linn. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. 3(2): 146-149.
- Dorta, D.J.; Pigoso, A.A.; Mingatto, F.E.; Rodrigues, T.; Pestana, C.R.; Uyemura, S.A.; Santos A.C.; & Curti, C. (2008). Antioxidant activity of flavonoids in isolated mitochondria. *Phytotherapy Research*. 22: 1213–1218.
- Dragsted, L.O. (2003). Antioxidant Actions of Polyphenols in Humans. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. Volume. 73(2): 112-119.
- Eberhardt, M.V.; Lee, C.Y.; Liu, R.H. (2000). Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*. 405:903-904.
- Feng, Z.W.; Jin, M.H.; Zhang, F.Z.; & Huang, Y.Z. (2003). Effects of ground-level ozone (O₃) pollution on the yields of rice and winter wheat in the Yangtze River Delta. *Journal of Environmental Sciences (China)*. 15(3): 360-2.

- Fiscus, E.L.; Booker, F.L.; & Burkey, K.O. (2005). Crop responses to ozone: uptake, models of action, carbon assimilation and partitioning. *Plant, Cell and Environment*. 28: 997-1011.
- Folin, O.; & Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal of Biological Chemistry*. 73: 627-650.
- Forney, C.F., (2003). Postharvest response of horticultural products to ozone. In: Hodges, D.M. (Ed.), *Postharvest Oxidative Stress in Horticultural Crops*. Food Products Press, New York: 13-54.
- Frederick, P.E.; & Heath, R.L. (1975). Ozone-induced fatty acid and viability changes in *Chlorella*. *Plant Physiology*. 55: 15-19.
- Garcia-Viguera, C.; & Bridle, P. (1999). Influence of structure on colour stability of anthocyanins flavylium salts with ascorbic acid. *Food Chemistry*. 64: 21-26.
- Gonzalez-Aguilar, G.A.; Zavaleta-Gatica, R.; & Tiznado-Hernández, M.E. (2007). Improving postharvest quality of mango 'Haden' by UV-C treatment. *Postharvest Biology and Technology*. 45: 108-116.
- Greewald, P.; Clifford, C.K.; & Milner, J.A. (2001). Diet and cancer prevention. *European Journal of Cancer*. 37: 948-956.
- Grenfell-Lee, D.; Zeller, S.; Cardoso, R.; & Pucaj, K. (2014). The safety of β -carotene from *Yarrowia lipolytica*. *Food and Chemical Toxicology*. 65: 1-11.
- Gressier, B.; Lebegue, S.; & Brunet, C. (1994). Proxidant properties of methotrexate evaluation and prevention by an antioxidant drug. *Archiv der Pharmazie-Chemistry in Life Science*. 49: 679-681.
- Halliwell, B. (2009). The wanderings of a free radical. *Free Radical Biology and Medicine*. 46: 531-542.
- Halliwell, B.; & Gutteridge, J., (2002). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Third edition, Oxford University Press.
- Halliwell, B. (1999). Antioxidant defense mechanism: from the beginning to the end. *Society for Free Radical Biology and Medicine*. 31: 261-272.
- Halliwell, B.; Aeschbach, R.; Loliger, J.; & Aruoma, O.I. (1995). The characterization of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*. 33: 601-617.

- Heath, R.L.; & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives in Biochemistry and Biophysics*. 125: 189–198.
- Helmenstine, A.M. (2014). *Phenol Chemical Structure*. Retrieved February 3, 2015, From <http://chemistry.about.com/od/factsstructures/ig/Chemical-Structures---P/Phenol.-eY6.htm>
- Hoigne, J.; & Bader, H. (1983). Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water. I: Non-dissociating organic compounds. *Water Research*. 17: 173-183.
- Hoshika, Y.; Omasa, K.; & Paoletti, E. (2013). Both ozone exposure and soil water stress are able to induce stomatal sluggishness. *Environmental and Experimental Botany*. 19–23
- Hoshika, Y.; Watanabe, M.; Inada, N.; & Koike, T. (2012). Ozone-induced stomatal sluggishness develops progressively in Siebold's beech (*Fagus crenata*). *Environmental Pollution*. 166: 152–156.
- Iglesias, D. J.; Calatayud, A.; Barreno, E.; Primo-Millo, E.; & Talon, M. (2006). Responses of citrus plants to ozone: leaf biochemistry, antioxidant mechanisms and lipid peroxidation. *Plant Physiology and Biochemistry*. 44: 125–131.
- Imlay, J. A. (2003). Pathways of oxidative damage. *Annual Review of Microbiology* 57: 395-418.
- Jacxsens, L.; Devlieghere, F.; Van der Steen, C.; & Debevere, J. (2001). Effect of high oxygen modified atmosphere packaging on microbial growth and sensorial qualities of fresh-cut produce. *International Journal of Food Microbiology*. 71: 197-210.
- Kellogg. (2013). *The Lies in the Promises of Golden Rice*. Quezon City, Philippines
- Keutgen, N.; Mierowska, A.J.; Chen, K.; Janssens, M.J.J.; & Lenz, F. (1997). Gas exchange and chlorophyll fluorescence responses of sweet potato leaves to ozone. *Journal of the Southern African Society for Horticultural Sciences*. 7: 48-50.
- Kiokias, S.; & Gordon, M.H. (2004). Antioxidant properties of carotenoids in vitro and in vivo. *Food Reviews International*. 20(2): 99–121.
- Kris-Etherton, Hecker, K.D.; Bonanome, A.; Coval, S.M.; Binkoski, A.E.; Hilpert, K.F., Griel, A.E.; & Etherton, T.D. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *American Journal of Medicine*. 113: 71-88.

- Kronfu, G.; Polle, A.; Tausz, M.; Havranek, W.M.; Wieser, G. (1998). Effects of ozone and mild drought stress on gas exchange, antioxidants and chloroplast pigments in current-year needles of young Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). *Trees*. 482-489.
- Krupa, S.; McGrath, M.T.; Andersen, C.P.; Booker, F.L.; Burkey, K.O.; Chappelka, A.H.; Chevone, B.I.; Pell, E.J.; & Zilinskas, B.A. (2001). Ambient Ozone and Plant Health. *Plant Disease*. 85: 4-12.
- Langsethm, L. (1995). Oxidants, antioxidants, and disease prevention. *ILSI Press*: Washington, DC.
- Lee, S.K.; & Kader, A.A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*. 20: 207-220.
- Liu, H.; Xiang, B.; & Qu L. (2007). Structure analysis of ascorbic acid using near-infrared spectroscopy and generalized two-dimensional correlation spectroscopy. *Journal of Molecular Structure*. 794:12-17.
- Maier-Maercker, U.; & Koch, W. (1992). Histological examination of spruce needles from a long-term gas exchange experiment in pure and polluted air in the field. *Trees*. 6: 186-194.
- Martin, A.; Mattea, F.; Gutierrez, L.; Miguel, F.; & Cocero, M.J. (2007). Co-precipitation of carotenoids and bio-polymers with the supercritical anti-solvent process. *Journal of Supercritical Fluids*. 41: 138-147.
- Mills, G.; Ball, B.; Hayes, F.; Fuhrer, J.; Skarby, L.; Gimeno, B.; De Temmerman, L.; & Heagle, A. (2000). Development of a multi-factor model for predicting the critical level of ozone for white clover. *Environmental Pollution*. 109: 533-542.
- Moldau, H. (1998). Hierarchy of ozone scavenging reactions in the plant cell wall. *Journal of Plant Physiology*. 104: 617-622.
- Mudd, J. B.; McManus, T.T.; Ongun, A.; & McCulloch, T.E. (1971). Inhibition of glycolipid biosynthesis in chloroplasts by ozone and sulfhydryl reagents. *Plant Physiology*. 48: 335-339.
- Nawar, W.W. (1996). Lipid. In O. R. Fennema (eds.), *Food Chemistry*. 210-243.
- Ojanpera, K.; Sutien, S.; Pleuel, H.; & Sellden, G. (1992). Exposure of spring wheat, *Triticum aestivum* L., cv. Drabant, to different concentrations of ozone in open-top chambers: effects on the ultrastructure of flag leaf cells. *New Phytologist*. 120: 39-48.

- Paiva, L.B.; Goldbeck, R.; Santos, W.D.; & Squina, F.M. (2013). Ferulic acid and derivatives: molecules with potential application in the pharmaceutical field. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 49(3): 395-410.
- Paoletti, E.; & Grulke, N. E. (2010). Ozone exposure and stomatal sluggishness in different plant physiognomic classes. *Environmental Pollution*. 2664–2671.
- Pellegrini, E.; Carucci, M.G.; Campanella, A.; Lorenzini, G.; & Nali, C. (2011). Ozone stress in *Melissa officinalis* plants assessed by photosynthetic function. *Environmental and Experimental Botany*. 94–101.
- Petlevski, R.; Flajs, D.; Kalodera, Z.; Koncic, M. Zovko(2013). Composition and antioxidant activity of aqueous and ethanolic *Pelargonium radula* extracts. *South African Journal of Botany*. 85: 17–22.
- Pleijel, H.; Skarby, L.; Ojanper, K.; & Sellden, G. (1994). Exposure of oats, *Avena sativa* L., to filtered and unfiltered air in open-top chambers: effects on grain yield and quality. *Environmental Pollution*. 86(2): 129-134.
- Perez A. G.; Sanz, C.; Ríos, J.J.; Olías, R.; & Olías, J.M. (1999). Effects of ozone treatment on postharvest strawberry quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47(4):1652-6.
- Perez-Vizcaino, F.; & Duarte, J. (2010). Flavonols and cardiovascular disease. *Molecular Aspects of Medicine*. 31: 478–494
- Phansiri, S.; & Saithanu, K. (2013). Department of Mathematics, Faculty of Science, Burapha University. Prediction of Daily Maximum Concentration of Ground Level Ozone with Principal Component Regression Model. *Burapha Science Journal*. 1: 144-152.
- Puckette, M.C.; Tang, Y.; & Mahalingam, R. (2008). Transcriptomic changes induced by acute ozone in resistant and sensitive *Medicago truncatula* accessions. *BMC Plant Biology*. 8: 46.
- Rahman, I.; & Macnee, W. (1996). Role of oxidants/antioxidants in amoking-induced lung disease. *Free Radical Biology & Medicine*. 5: 669-681.
- Rajendran, M.; Manisankar, P.; Gandhidasan, R.; & Murugesan, R. (2004). Free radical scavenging efficiency of a few naturally occurring flavonoids: a comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemietry*. 52: 7389-7394.

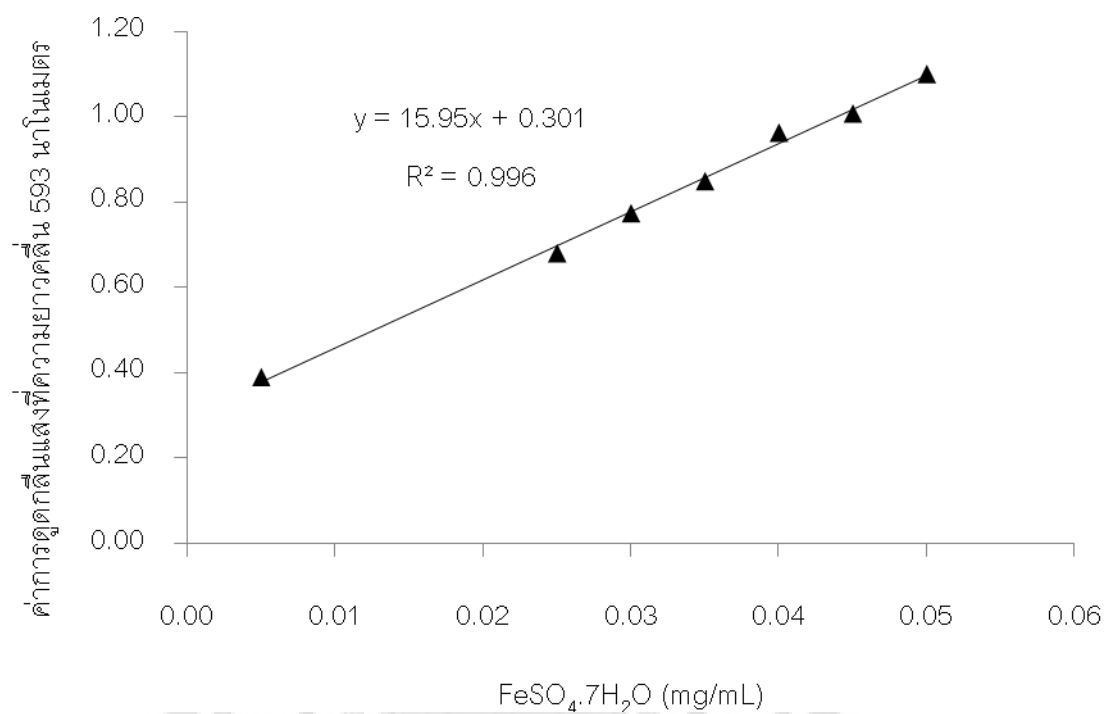
- Ranford, J.; & Relling, K. (2007). Ozone induced leaf loss and decreased leaf production of European Holly (*Ilex aquifolium* L.) over multiple seasons. *Environmental Pollution*. 1: 355-364.
- Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.; & Paganga, G. (1996). Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*. 20: 933–956.
- Robak, J.; Duniec, Z.; Rzadkowska-Bodalska, H.; Olechnowicz-Stepien, W.; & Cisowski, W. (1998). Screening of the influence of flavonoids on lipoxygenase and cyclooxygenase activity, as well as on nonenzymatic lipid oxidation. *Polish Journal of Pharmacology and Pharmacy*. 40: 451-458.
- Romani, A.; Mulinacci, N.; Pinelli, P.; Vincieri, F.F.; & Cimato, A. (1999). Polyphenolic content in five Tuscany cultivars of *Olea europaea* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 964-967.
- Ryang S. Z.; Woo, S.Y.; Kwon, S.Y.; Kim, S.H.; Lee, S.H.; Kim, K.N.; & Lee, D.K. (2009). Changes of net photosynthesis, antioxidant enzyme activities, and antioxidant contents of *Liriodendron tulipifera* under elevated ozone. *Photosynthetica*. 19-25.
- Sakaki, T.; Kondo, N.; & Sugahara, K. (1983). Break down of photosynthetic pigments and lipids in spinach leaves with ozone fumigation: role of active oxygens. *Physiologia Plantarum*. 59: 28-34.
- Saleem, A.; Loponen, J.; Pihlaja, K.; & Oksanen, E. (2001). Effects of long-term open-field ozone exposure on leaf phenolics of European silver birch (*Betula pendula* Roth). *Journal of Chemical Ecology*. 27: 1049–1062.
- Saitanis, C.J.; Riga-Karandinos, A.N.; & Karandinos, M.G. (2001). Effects of ozone on chlorophyll and quantum yield of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) varieties. *Chemistry for Protection of the Environment*. 945–953.
- Saviranta, N.M.M.; Julkunen-Tiitto, R.; Oksanen, E.; & Karjalainen, R.O. (2010). Leaf phenolic compounds in red clover (*Trifolium pratense* L.) induced by exposure to moderately elevated ozone. *Environmental Pollution*. 440–446.
- Schindler, C.; & Lichtenthaler, H.K. (1994). Is there a correlation between light-induced zeaxanthin accumulations and quenching of variable chlorophyll a fluorescence? *Plant Physiology and Biochemistry*. 32: 813–823.
- Severino, J.F.; Stich, K.; & Soja, G. (2007). Ozone stress and antioxidant substances in *Trifolium repens* and *Centaurea jacealeaves*. *Environmental Pollution*. 146: 707-714.

- Sharma, P. (2011). Cinnamic acid derivatives: A new chapter of various pharmacological activities . *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 3(2):403-423.
- Shen, C.Z.; Jun, H.Y.; Choi, S.H.; Kim, Y.M.; Jung, E.J.; Oh, G.S.; Joo, S.J.; Kim, S.H.; & Kim I.K. (2010). Evaluation of antioxidant activities and active compound separate from water soluble extracts of korean black pine barks. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 31: 3567.
- Siam Air Global. (2012). *Interative Hotel Map Thailand*. Retrieved November 9, 2015, from <http://siamairglobal.com/Thailand%20Travel/Thailand%20Map.htm>
- Sibel, P.F.; & Gurkan, H. (2008). The role of free radicals in ethiopathogenesis of diseases. *Advances in Molecular Biology*. (1): 1-9.
- Skog, J.L.; & Chu, C.L. (2001). Effect of ozone on qualities of fruits and vegetables in cold storage. *Cannadian Journal of Plant Science*. 18: 773-778.
- Sosirikul, K.; Kasemsap, P.; & Kositsup, B. (2012). Effects of ozone on photosynthesis of para rubber *Hevea brasiliensis* Muell. *Agricultural Science*. 17-20.
- Szollosi, R.; & Varga, I.S. (2002). Total antioxidant power in some species of Labiatae (Adaptation of FRAP method). *Acta Biologica Szegediensis*. 46(3-4):125-127.
- Temple, N.J.; & Gladwin, K.K. (2003). Fruit, vegetables, and the preservation of cancer: *Research challenges*. *Nutrition*. 19: 467-470.
- Temple, P.J. (1990). Growth and yield responses of processing tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars to ozone. *Environmenmental and Experimental Botany*. 30: 283-291.
- Tenga, A.Z.; & Ormrod, D.P. (1990). Diminished greenness of tomato leaves exposed to ozone and post-exposure recovery of greenness. *Environmental Pollution*. 64: 29-41.
- Tiwari, B.K.; Muthukumarappan, K.; O'Donnell, C.P.; & Cullen, P.J. (2008). Kinetics of freshly squeezed orange juice quality changes during ozone processing. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 56: 6416-6422.
- Tomlinson, H. & Rich. S. (1970). Lipid peroxidation, A result of injury in bean leaves exposed to ozone. *Phytopathology*. 60: 1531-1532.
- Torres, B.; Tiwari, B.K.; Patras, A.; Wijngaard, H.H.; Brunton, N.; Cullen, P.J.; & O'Donnell, C.P. (2011). Effect of ozone processing on the colour, rheological properties and phenolic content of apple juice. *Food Chemistry*. 124: 721–726.

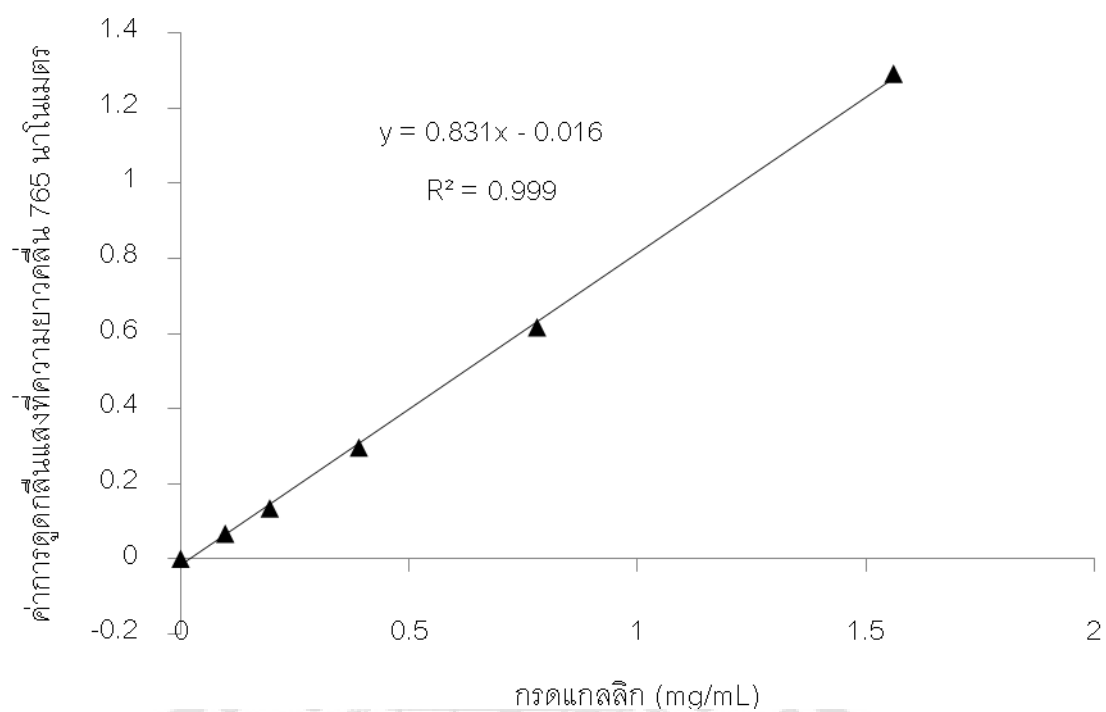
- Tzortzakis, N.; Borland, A.; & Singletonl, B.J. (2007). Impact of atmospheric ozone-enrichment on quality-related attributes of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 45: 317-325.
- Valkoa, M.; Leibfritz, D.; & Moncol, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 39: 44–84.
- Valacchi, G.; Pagnin, E.; Corbacho, A.M.; Olano, E.; Davis, P.A.; Packer, L.; & Cross, C.E. (2004). In vivo ozone exposure induces antioxidant/stress-related responses in murine lung and skin. *Free Radical Biology and Medicine*. 36: 673-681.
- Vandermeiren, K.; Blac, C.; Lawson, T.; Casanova, N.A.; & Ojanpera, K. (2002). Photosynthetic and stomatal responses of potatoes grown under elevated CO₂ and/or O₃ results from the European CHIP-programme. *European Journal Agronomy*. 17: 337-352.
- Voest, E.E.; Vreugdenhil, G.; & Marx, J. (1994). Iron-chelating agents in non-iron overload conditions. *Annals of Internal Medicine*. 120: 490-499.
- Voulgarakis, A.; Hadjinicolaou, P.; & Pyle, J.A. (2011). Increases in global tropospheric ozone following an El Nino event: Examining stratospheric ozone variability as a potential driver. *Atmospheric Science Letters*. 12: 228-232.
- Welfare, K.; Flower, T.J.; Taylor, G.; & Yeo, A.R. (1996). Additive and antagonistic effects of ozone and salinity on the growth, ion contents and gas exchange of five varieties of rice *Oryza sativa* L. *Environmental Pollution*. 92(3): 257-266.
- Wang, L.; Tu, Y.C.; Lian, T.W.; Hung, J.T.; Yen, J.H.; & Wu, M.J. (2006). Distinctive antioxidant and antiinflammatory effects of flavonols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 9798–9804.
- Zhang, W.; Feng, Z.; Wang, X.; & Niu, J. (2014). Impacts of elevated ozone on growth and photosynthesis of *Glyptostroboides* Hu et Cheng. *Plant Science*. 226: 182-188.

ภาคผนวก

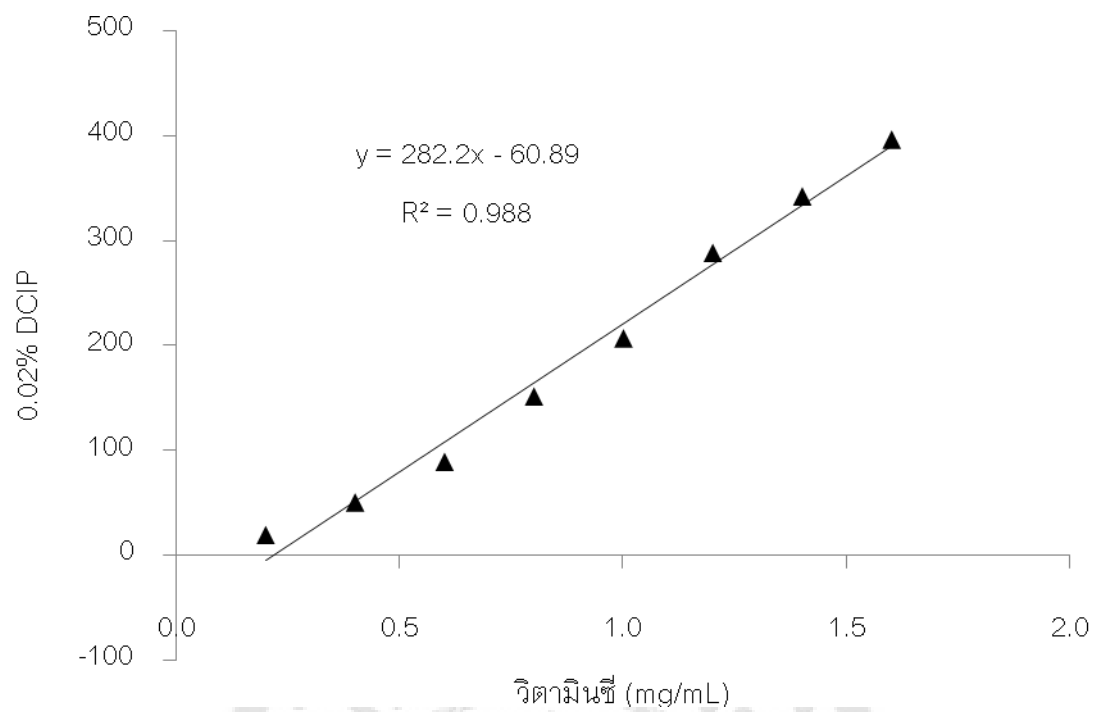




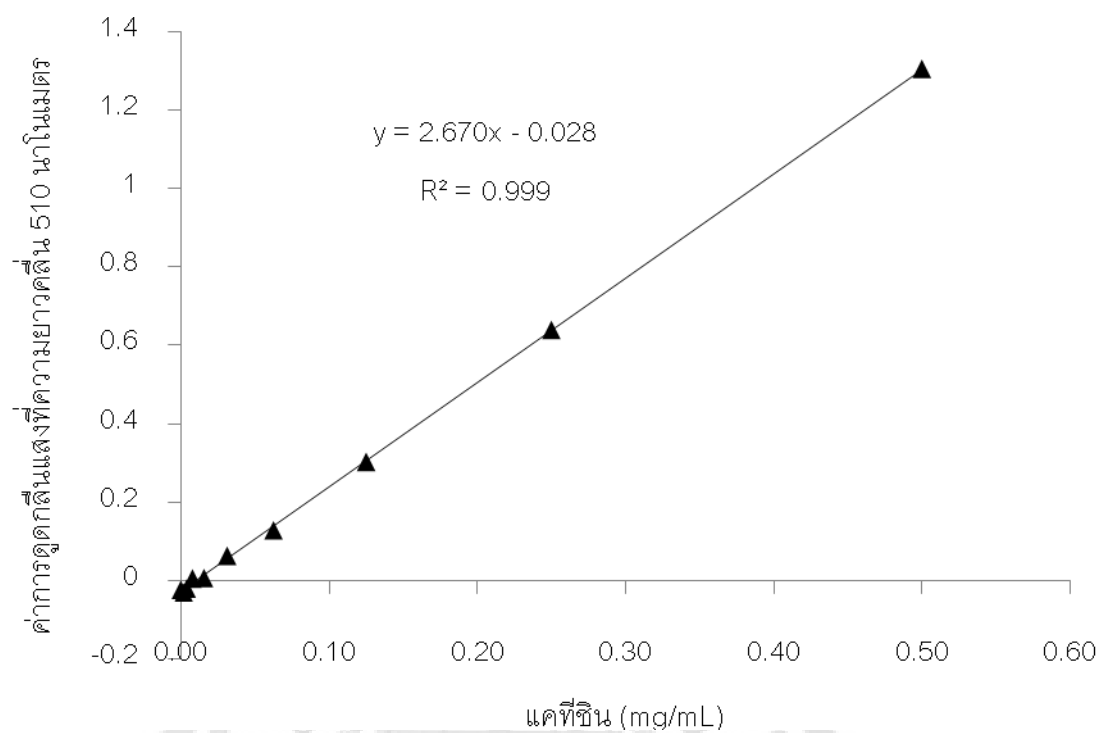
ภาพประกอบ 18 กราฟมาตรฐานของปริมาณสารประกอบเฟอร์รัสไตรไพริดีลไตรอาซีน[ferrous tripyridyltriazine (Fe²⁺ TPTZ)] เพื่อดำเนินการหาค่า FRAP (μmol/mL)



ภาพประกอบ 19 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (gallic acid) เพื่อคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก (mg GEQ/gFW)



ภาพประกอบ 20 กราฟมาตรฐานของวิตามินซี (mg/mL)



ภาพประกอบ 21 กราฟมาตรฐานของแคทีชิน (catechin) เพื่อกำหนดหาปริมาณของฟลาโวนอยด์ (mg CEQ/100g FW)

ประวัติย่อผู้วิจัย



ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวกนกวรรณ ปานสุขसार
วันเดือนปีเกิด	19 กันยายน 2532
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดน่าน
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	116 บ้านดอนมูล ตำบลคูใต้ ถนนยันตรกิจโกศล ซอยมหาเศรษฐี อำเภอเมือง จังหวัดน่าน
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2554	ปริญญาตรี (วิทยาศาสตร์บัณฑิต) สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จากมหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2558	ปริญญาโท (การศึกษามหาบัณฑิต) สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ