

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### พลับ (Persimmon)

“ลูกพลับ” หรือ “พลับ” เป็นพืชในสกุลไดโอดีโอสไพรอส (*Diospyros*) ซึ่งอยู่ในตระกูลเดียวกับมะเกลือ อีบีนาซีชี (Ebenaceae) เป็นไม้ผลยืนต้นมีขนาดใหญ่ ลำต้นมีผิวหยาบกร้าน ขรุขระ สีน้ำตาลแก่ ลักษณะใบมีสีเขียวเข้มเป็นมัน มีรูปร่างกล้าวยรูปหัวใจ ลักษณะผลมีรูปร่างแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ โดยผลอ่อนจะมีสีเขียวอ่อน ผลแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง เนื้อผลแข็ง และเมื่อสุก เต็มที่จะเปลี่ยนเป็นสีแดงส้ม พืชในสกุลนี้มีประมาณ 190 ชนิด ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในเขตหนาว หรือ กึ่งร้อน และอาจพบเห็นได้ในเขตป่าผลัดใบและป่าปรง สำหรับประเทศไทยพืชในสกุลพลับที่พบ เห็น และเจริญดีในตอนนี้ที่นิยมปลูกเป็นการค้ามีอยู่ 4 ชนิด คือ ไดโอดีโอสไพรอสกา基 (*D.kaki* L.), ไดโอดีโอสไพรอสโลตัส (*D.lotus* L.), ไดโอดีโอสไพรอสวอร์จินีนา (*D.virginiana* L.) และ โอลิเยฟีรา เชง (*D.Oleifera* Cheng) โดยชนิดที่สำคัญที่สุดคือ ไดโอดีโอสไพรอสกา基 (*D.kaki* L.) หรือเรียกว่า พลับญี่ปุ่น หรือพลับแห่งตะวันออก สำหรับประเทศไทยมีการปลูกกันมาตั้งแต่ประมาณ พ.ศ. 2470 ในทางภาคเหนือ เช่น เชียงใหม่ เชียงราย (สุรินทร์ นิตสำราญชิต. 2543)

#### การจัดแบ่งประเภทของพลับ

พลับสามารถจัดแบ่งประเภทตามสีของเนื้อผล ซึ่งได้รับอิทธิพลจากการผสมเกสร โดยแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ได้รับการผสมเกสรแล้วสีของเนื้อผลไม่เปลี่ยนแปลง (pollination constant) และกลุ่มที่ได้รับการผสมเกสรแล้วสีเนื้อผลมีสีดำในกรณีที่ผลมีเมล็ด (pollination variant)

นอกจากความแตกต่างด้านสีของเนื้อผลแล้ว ยังสามารถจัดแบ่งพลับตามรสชาติได้ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ พลับเฝ้า (astringent persimmon) และพลับหวาน (non-astringent persimmon) ซึ่งถ้ารวมความแตกต่างด้านสีของเนื้อผล และรสชาติจะสามารถแบ่งพลับได้ออกเป็น 4 กลุ่ม (สร้างสรรค์ ศรีวรรณ. 2554) คือ

1. Non-astringent and pollination constant (PCNA) เป็นกลุ่มพลับที่มีรสหวาน มีจุดเด่นของแทนนินในเนื้อผล พันธุ์ที่สำคัญได้แก่ Fuyu, Jiro, Gosho และ Sunaga
2. Non-astringent and pollination variant (PCVA) เป็นกลุ่มพลับที่มีรสหวาน มีจุดเด่นของแทนนินในเนื้อผล ที่ไม่มีเมล็ดจะมีรสเผ็ด พันธุ์ที่สำคัญได้แก่ Zenjimaru, Shogatsu, Mizushima และ Amyhyakume
3. Astringent and pollination constant (PCA) เป็นกลุ่มพลับที่มีรสเผ็ดไม่กรุณาดีด้วย

ของแทนนินในเนื้อผล พันธุ์ที่สำคัญได้แก่ Yokono, Yotsumizo, Shakokushi, Hagakushi, Hachiya, Gionbo และ Xichu (P2)

4. Astringent and pollination variant (PVA) เป็นกลุ่มพลับที่มีรสเผ็ด มีจุดเด่นของแทนนินในเนื้อผล พันธุ์ที่สำคัญได้แก่ Aizumishirazu, Emon, Koshuhhyakume และ Hiratanenashi พันธุ์พลับที่ปลูกในประเทศไทย

พลับที่ปลูกในประเทศไทยมีทั้งที่เป็น pollination constant และ pollination variant และมีทั้งพันธุ์เผ็ด และพันธุ์หวาน (พิทยา วงศ์ช้าง. 2542) แต่พันธุ์ที่นิยมปลูกทางการค้า ได้แก่

1. พันธุ์ Xichu (พันธุ์ P2) พลับเผ็ด ที่ลักษณะผลมีรูปร่างกลมจนถึงเหลี่ยม อาจพบเป็นรูปตัวเหลี่ยมถึงแบนเหลี่ยม เนื้อผลสีเหลืองอ่อน สีเนื้องที่ในผลติดเมล็ดเป็นพันธุ์ที่นำเข้ามาจากประเทศจีน

2. พันธุ์ Ang-sai (พันธุ์ P3) พลับเผ็ด ที่ลักษณะผลสีเหลี่ยมแบน ติดผลดก มีผลค่อนข้างเล็ก อาจจะเห็นเป็นพู 4 หู มีเมล็ดตั้งแต่ 0-8 เมล็ด มีสีน้ำตาล เนื้อผลมีรสเผ็ด เมื่อสุกจะเป็นสีแดง

3. พันธุ์ Niu Scin (พันธุ์ P4) พลับเผ็ด ที่ผลมีลักษณะคล้ายรูปหัวใจ ขนาดผลค่อนข้างใหญ่ เนื้อสีเหลืองอ่อน

4. พันธุ์ Hachiya พลับเผ็ด ที่ให้ผลผลิตทางการค้าดีที่สุด ผลรูปไข่ น้ำหนักเฉลี่ยต่อผล 230-240 กรัม มีเมล็ดน้อย ภายหลังกำจัดความเผ็ดสีผลจะคล้ำ หมายความว่าเมล็ดจะหายไปทำให้ผลอนแห้ง

5. พันธุ์ Fuyu พลับหวาน ที่นิยมปลูกมากในพื้นที่ปลูกพลับหวานทั่วหมู่บ้านในประเทศไทย ผู้ปลูกเนื้อผลสีเหลืองอ่อน มีรสหวาน ผลผลิตสามารถเก็บไว้ได้นาน

6. พันธุ์ Jiro พลับหวานที่นิยมปลูกมากจากพันธุ์ Fuyu น้ำหนักเฉลี่ยต่อผล 250-260 กรัม คุณภาพดี เนื้อละเอียด

7. พันธุ์ Goshō พลับหวานพันธุ์เก่าแก่ จัดได้ว่าเป็นพลับหวานที่ดีที่สุด คุณภาพดี ผิวผลสุกมีสีแดงอมส้ม เนื้อละเอียด สีขาว รสหวาน ผลผลิตไม่ดีเนื่องจากมีการร่วงของผลเมื่อผลแก่

#### องค์ประกอบทางเคมีของพลับ

องค์ประกอบทางเคมีของพลับ ประกอบด้วยน้ำตาล และของแข็งที่สามารถละลายน้ำได้ เช่น เพคติน แทนนิน แคโรทินอยด์ กรดแอกโซอร์บิกและกรดอะมิโน

1. น้ำตาล น้ำตาลที่พบภายในเนื้อของผล ได้แก่ ฟรักโทส และกลูโคส ซึ่งมีปริมาณมากกว่า 90 เมอร์เซ็นต์ของน้ำตาลทั้งหมด และพบว่าปริมาณฟรักโทสมากกว่ากลูโคส ส่วนซูโครสพบในปริมาณเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ก่อให้ว่าภายในผลมีกระบวนการทางเอนไซม์เปลี่ยนซูโครสให้อญ্চิญในรูปอิ๊ว (สร้าง ศรีวรรณ, 2554)

2. เพคติน โปรตีนพอกพื้นที่พื้นในผลพลับแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ตามความสามารถในการ

ละลายได้ในด้ำทำละลายในขั้นตอนของการสกัด ซึ่งประกอบด้วยเพกทินที่ละลายได้น้ำ 64 - 69 เปอร์เซ็นต์ ละลายได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 20 - 29 เปอร์เซ็นต์ และละลายได้ในสารโซเดียมเซกแซมมาฟอสเฟต 5 - 10 เปอร์เซ็นต์ (สร้าง ศรีวรรณ, 2554)

3. แทนนิน ความฝาดของพลับเกิดจากแทนนิน ซึ่งอยู่ในรูปละลายน้ำได้ (hydrolysable tannins) และกระจายไปตามส่วนต่าง ๆ ของเนื้อพลับซึ่งเป็นสารประเภท phenolic compounds ปริมาณแทนนินสามารถสกัดออกมากจากผลอ่อนได้ในปริมาณมาก ในระยะผลสุกแทนนินจะเปลี่ยนมาอยู่ในรูปของเยื่อทึ่งตัว สารฝาดจึงหายไป ปริมาณแทนนินขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์ของพลับ (สุรินทร์ นิตสำราญจิต, 2543)

4. แคโรทีนอยด์ สีของผลพลับเกิดขึ้นจากแคโรทีนอยด์ซึ่งมีส่วนประกอบของ cryptoxanthin อู๊ดสี 30 – 40 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ซึ่งให้สีอู๊ดซึ่งระหว่างสีแดงถึงส้มอมเหลือง (สร้าง ศรีวรรณ, 2554)

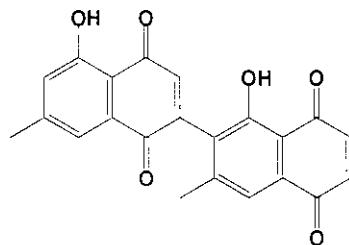
5. กรดแอกโซอร์บิก ผลที่ยังไม่แก่จะมีปริมาณกรดแอกโซอร์บิกสูง จะมีการสะสมอยู่บริเวณผิวของผลมากกว่าบริเวณเนื้อ และนอกจากนี้ยังพบว่าจะมีปริมาณกรดแอกโซอร์บิกบริเวณเนื้อผลมากกว่าบริเวณแกนผล (สร้าง ศรีวรรณ, 2554)

6. กรดอะมิโน พบรได้ทั้งในเนื้อผล กลีบเลี้ยง และเมล็ด กรดอะมิโนที่พบในพลับมีถึง 19 ชนิด คือ alanine, arginine, aspartic acid, glutamic acid, glycine, histidine, leucine, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, cystine และ  $\gamma$ -amino butyric acid ซึ่งจะไม่พบกรดอะมิโนชนิด asparagines รวมอยู่ด้วย (พิทยา วงศ์ช้าง, 2542)

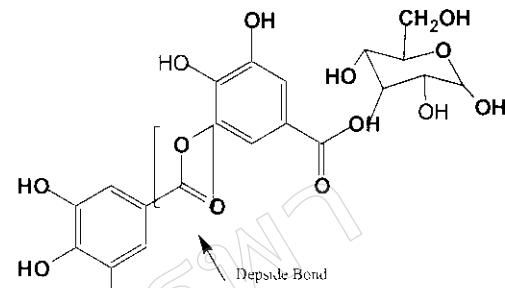
### ความฝาดและกระบวนการขัดความฝาดของพลับ

ความฝาดของพลับเกิดจากน้ำตาล reducing sugar จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง จะถูกนำมาเก็บสะสมไว้ในรูปของลิวโคแอน โซไซานินกลูโคไซด์ (leucoanthocyanins-3-glucoside) หรือมีชื่อสามัญว่า ไดโอดิสไพริน (diospyrin) ดังภาพที่ 1 ซึ่งเป็นแทนนินชนิดที่ละลายน้ำได้ชนิดหนึ่งเป็นแทนนินส่วนใหญ่ที่พบในพลับโดยในโมเลกุลประกอบด้วย gallic acid, gallocatechin และ gallocatechin gallate เป็นสารที่ไม่เสียหายทำปฏิกิริยากับสารอื่นได้ง่ายในปฏิกิริยาออกซิเดชัน และพอลิเมอร์ไรเรชัน สมบัติของไดโอดิสไพรินที่สำคัญคือ ละลายน้ำได้ง่าย กระจายตัวได้ จึงทำให้เกิดสารฝาดมากกว่า แทนนินชนิดนี้มีลักษณะ ไอคลิโกลเมอร์ มีโมเลกุลของแทนนินต่อกัน 3-10 โมเลกุล สามารถเกิดการ cross linking ที่ซับซ้อน เกิดการตกละกอนกับไกโคลิโกรtein และการ์โนไซเดรตในน้ำลายทำให้เกิดการหล่อล็อคในปากคล่อง จึงรับ

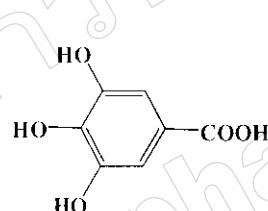
รสฝาดของผลพลับໄicide ซึ่งการเกิดรสฝาดจะเกิดขึ้นกับแทนนินที่ละลายน้ำได้มากกว่าแทนนินที่ไม่ละลายน้ำ (จากรัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข 2549; สรางวุธ ศรีวรวรรณ, 2554)



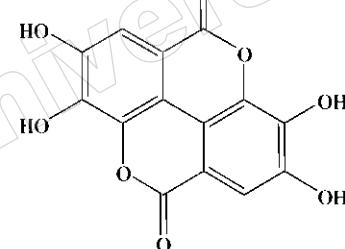
Diospyrin



Gallotannin



Gallic acid



Ellagittannin

ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบทางชีวะที่มีอยู่ในผลัน (จากรัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข 2549)

เมื่อผลของผลันสุกตามธรรมชาติสารໄโคไอส์ไพรินจะเปลี่ยนโครงสร้างไปเป็นแทนนินชนิดที่ไม่ละลายน้ำ โดยการขันตัวกับน้ำตาลหรือเพคตินที่ละลายได้เป็นสารเชิงซ้อน tannin-acetaldehyde และ tannin-pectin ทำให้ความฝาดของผลันลดลง (จากรัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข 2549) ซึ่งถือว่าเป็นปัจจัยรองและเกิดขึ้นหลังจากระยะสุดท้ายของการเจริญเติบโตของผล โดยทั่วไปการบริโภคผลันต้องปล่อยให้ผลสุกตามก่อน แต่การปล่อยให้ผลสุกตามธรรมชาติทำให้ผลสุกนี้มีชีวะไม่เป็นที่ต้องการของตลาด และมีอายุการวางจำหน่ายสั้น ดังนั้นจึงต้องใช้วิธีการขัดความฝาดเพื่อให้ได้ผลผลันที่เนื้อแน่นอย่างหลังการขัดความฝาด เพื่อให้เป็นที่ต้องการของตลาด เป็นที่นิยมของผู้บริโภค

และมีอายุการวางจำหน่ายที่นานขึ้น (สราฐ ศรีวรรณ. 2554) กระบวนการขัดความฝ่าดสามารถทำได้  
หลักวิธีดังนี้ (มนิกย์ โนมิตตระกูล. 2525)

1. การเร่งความสูงของพลับ สามารถทำได้หลักวิธี ได้แก่

1.1 การบ่มด้วยแก๊สอะเซทิลีน ( $C_2H_4$ ) เป็นการนำอากาศที่มีอนกับอะเซทิลีน ( $C_2H_2$ )  
 $CaC_2$ ) ไปทำปฏิกิริยากับน้ำซึ่งจะให้แก๊สอะเซทิลีน ซึ่งเกินจนทำหน้าที่เหมือนกับอะเซทิลีน ( $C_2H_2$ )  
ซึ่งเป็นสาร์โมนพืชช่วยกระตุ้นผลไม้ให้สุกเร็วขึ้น (สายชล เกตุญา. 2549) ซึ่งจะเป็นการเร่งแทนนินที่  
ลดลงน้ำได้ ให้อยู่ในรูปแทนนินที่ไม่ละลายน้ำเร็วขึ้นนั่นคือลดความฝ่าดของพลับได้เร็วขึ้น

1.2 การบ่มด้วยใบสน (ใบไม้) เป็นการนำเอาใบสนคลุกคลับที่เรียงเป็นชั้น โดยเมื่อ  
ทำการเต็มใบไม้จากด้านเดียวจะมีการปลดปล่อยเอทิลีนซึ่งเป็นสาร์โมนพืชออกมาระบุกระตุ้นการ  
สูงของสูกพลับ นอกจากนี้ใบสนที่ใช้ในการบ่มยังคงน้ำออกสู่บรรจุภัณฑ์ทำให้มีความชื้นสัมพัทธ์  
สูงซึ่งทำให้พัฒนาสีผิวของพลับสวยงามตามธรรมชาติ (สายชล เกตุญา. 2549)

1.3 การใช้รังสีแกมมาที่ 0.15-0.25 M rad จะสามารถช่วยลดความฝ่าดลงได้แต่อาจทำ  
ให้เนื้อมีลักษณะที่นิ่ม ไม่เป็นนิขมทางตลาด (สุรินทร์ นิลสำราญจิต. 2543)

1.4 การแช่น้ำแข็ง ถ่าน้ำเอาผลส่วนมากแช่เย็นที่อุณหภูมิ -250 องศาเซลเซียส นาน 10-90 วัน  
จะสามารถลดปริมาณแทนนินที่ลดลงได้ แต่ไม่สามารถทำให้หายฝ่าดสนิทได้

(สุรินทร์ นิลสำราญจิต. 2543)

2. การเก็บรักษาพลับในสภาพไม่มีออกซิเจน (anaerobic) ทำได้หลักวิธี ได้แก่

2.1 การแช่น้ำแข็งใส ( $Ca(OH)_2$ ) ทำโดยนำปูนขาวมาละลายน้ำทึบไว้ 1 คืน rin  
เอาแต่ส่วนที่ใสแซ่พลับนาน 5-7 วัน แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือผลพลับมีอายุการเก็บรักษาสั้น และผลยัง  
มีคราบปูนเกาะบนผิว ทำให้ผิวไม่สวยงามจำหน่าย (สุรินทร์ นิลสำราญจิต. 2543)

2.2 การใช้แอลกอฮอล์ ทำโดยใช้แอลกอฮอล์ 35 – 40 เปอร์เซ็นต์ ร์มผลภายใน  
ภาชนะปิด โดยใช้อัตราส่วนอทานอล 10 มิลลิลิตรต่อบรรจุภัณฑ์ 1 ลิตร ร์มนาน 5-7 วัน วิธีนี้ผลจะ  
คงคุณภาพได้นาน 2 – 3 วัน ข้อเสียของวิธีนี้คือ ผลอาจจะมีกลิ่นแอลกอฮอล์ติดบ้าง และรสชาติอาจ  
เปลี่ยนไป (สราฐ ศรีวรรณ. 2554)

2.3 การรرمด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นวิธีที่ง่าย ทำได้โดยบรรจุผลพลับใน  
ถุงพลาสติกหนา 2.5 มิลลิเมตร ปิดปากถุงให้แน่นจึงคุกເเอกสารออกจากถุงให้หมด เติมแก๊ส  
คาร์บอนไดออกไซด์ ทึ่งไว้ประมาณ 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง วิธีนี้ให้ระยะเวลาในการเก็บรักษาได้นานถึง  
1 เดือน ที่ระดับอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (สุรินทร์ นิลสำราญจิต. 2543)

## แทนนิน (Tannins)

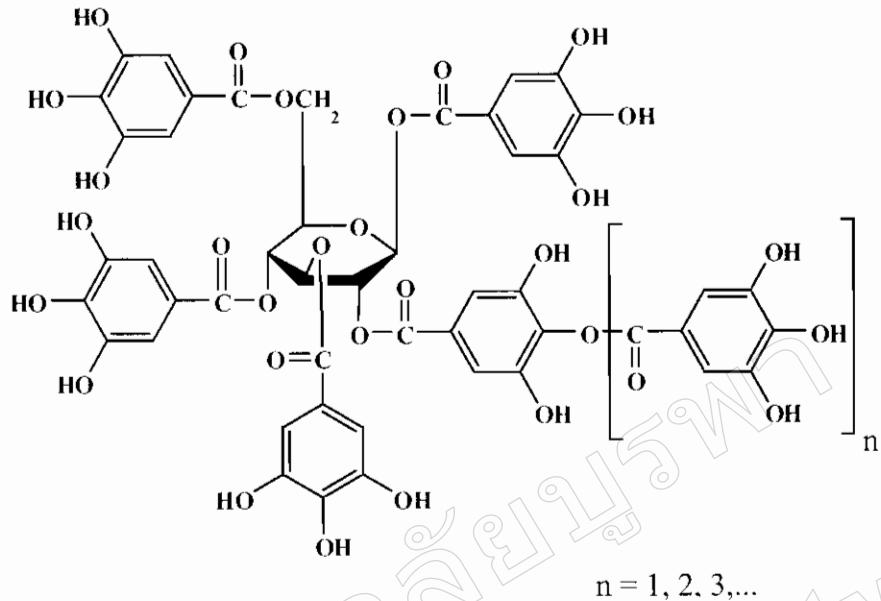
แทนนิน คือ กลุ่มสารประกอบฟิโนอลิกที่มีหมู่ไออกซีเป็นองค์ประกอบจำนวนมาก มีโครงสร้างไม่เกลุกขนาดใหญ่ และซับซ้อน เป็นสารที่ให้ความฝาดในพืช มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อนมีค่า pH ของประมาณ 5.6 น้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 500 – 3,000 Da ห้องขั้มมีหมู่ฟิโนอลิกไออกซิลิสระที่สามารถเกิดการเชื่อมโยงกับโปรตีน และสารใบโอดอลิเมอร์ เช่น เซลลูโลส และเพคติน ได้สารใหม่ที่มีคุณสมบัติคงตัว พนได้ตามส่วนต่าง ๆ ของพืชไม่ว่าจะเป็นเปลือก ลำต้น ราก ใบ ก้าน และผล (สรศักดิ์ เหลี่ยว ใช้พันธุ์, 2531)

สมบัติที่สำคัญของแทนนินคือ ความฝาดซึ่งเกิดจาก leucoanthocyanins-3-glucoside หรือ diospyrin เกิดการตกตะกอนกับโปรตีน และคาร์บอไไฮเดรตในน้ำลาย และลดการหล่อเลี้ยนในปากจึงทำให้รับรสฝาด แทนนินที่มีโมเลกุลต่อกัน 3 – 10 โมเลกุล หรือโอลิโกเมอร์แทนนิน (oligomer tannins) จะทำให้เกิดรสฝาดมากกว่าแทนนิน โมเลกุลเดียว หรืออนุมอเมอร์แทนนิน (monomer tannins) และแทนนินชนิดที่ไม่คล้ายน้ำ (condensed tannins) (จากรวรรณภัทรธรรมเพชญ. 2549)

แทนนิน แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ แทนนินแท้ (true tannins) และแทนนินเทียม (psudotannins) (อัญมณีปัจฉนทะบุตร. 2540)

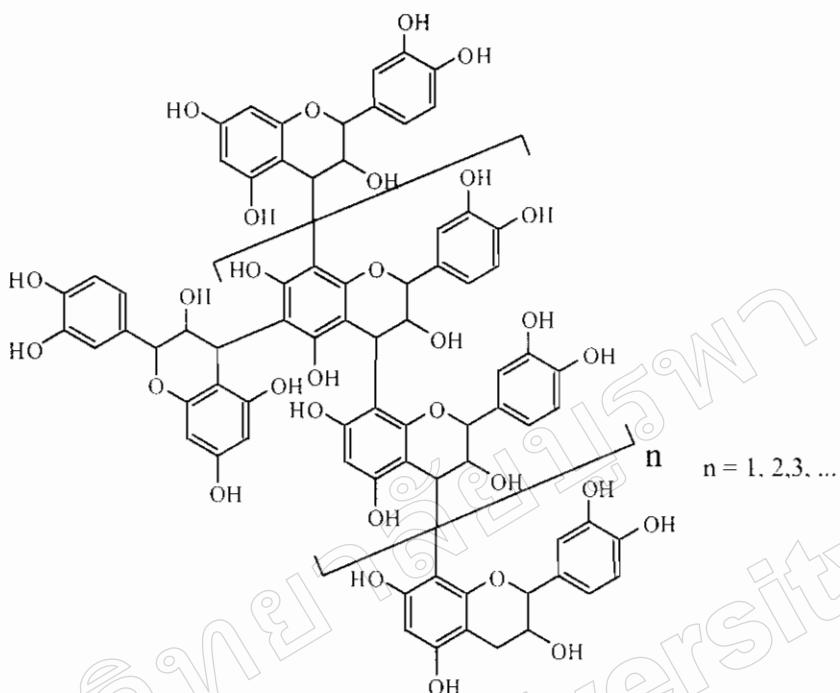
1. แทนนินแท้ (true tannins) จะมีโครงสร้างไม่เกลุกขนาดใหญ่ ซับซ้อน มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 1,000 – 5,000 แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย ได้แก่

1.1 แทนนินชนิดสลายตัวได้ด้วยน้ำ (hydrolysable tannins) คือ แทนนินที่มีโครงสร้างเป็นสารประกอบประเภทโพลีฟิโนอลที่ซับซ้อน ซึ่งจะสลายตัวได้เมื่อทำการแยกสลายด้วยน้ำ ในโครงสร้างไม่เกลุกจะประกอบขึ้นด้วยโครงสร้างพอลิเอสเทอร์ (สรศักดิ์ เหลี่ยว ใช้พันธุ์, 2531) มีสีน้ำตาลอ่อนเหลือง ละลายได้ในน้ำร้อนเมื่อทำปฏิกิริยากับฟอเร็คคลอไรด์จะได้สารละลายสีน้ำเงินที่บริเวณกึ่งกลางของโครงสร้างประกอบด้วยหมู่ poyols carbohydrate (D-glucose) จะสามารถแยกออกเป็นสารโมเลกุลเด็กได้ ทำปฏิกิริยากับกรดอ่อนหรือเบสอ่อนจะได้คาร์บอไไฮเดรตและสารประกอบฟิโนอลิก พนได้ในส่วนของใบ ผัก และส่วนที่ปูดออกมากปกติเมื่อถูกเผาจะได้ตาน้ำ (gall) เป็นสารประกอบที่ประกอบด้วยโครงสร้าง 2 ส่วนใหญ่ คือ ส่วนที่เป็นน้ำตาลโดยมากเป็นน้ำตาลกลูโคส และส่วนที่เป็นกรดฟิโนอลิก เช่น กรดแกลลิก (gallic acid) โดยส่วนที่เป็นกรดฟิโนอลิกจะมากกว่าส่วนที่เป็นน้ำตาล (ฤทธิ์ตันนิน น้อยคนดี, 2551) เมื่อจาก hydrolysable tannins มีกรดแกลลิกเป็นองค์ประกอบจึงละลายน้ำได้ง่าย กระจายตัวได้ดี จึงทำให้รสฝาดมากกว่า condensed tannins หรือแทนนินชนิดรวมด้านบน



ภาพที่ 2 โครงสร้างของแทนนินชนิดสถาบัตต์ได้ (Mane, Sommerer, Cheynier, Cole, & Fulcrand, 2007)

1.2 แทนนินชนิดรวมตัวแน่น (condensed tannins) คือ แทนนินที่มีโครงสร้างเป็นพวงสารประกอบฟลูออร์ฟีนอลที่ซับซ้อน แตกตัวหรือแยกสลายด้วยน้ำได้ยากกว่า hydrolysable tannins ทั้งนี้ เพราะ โครงสร้างในโมเลกุลของแทนนินประเภทนี้ไม่มีน้ำตาลออยจิจังแยกสลายได้ยาก และถาวนาน้ำได้น้อย (สารศักดิ์ เหลี่ยว ไซพันธุ์, 2531) แทนนินชนิดนี้เป็นสารประกอบ polyphenols เป็นพอลิเมอร์ของสารประกอบฟลูออร์ฟีนอลิก มีโครงสร้างซับซ้อน ละลายน้ำได้ไม่ดี จึงมีรสฝาดน้อยกว่า hydrolysable tannins เป็นอนุพันธุ์ของสารประกอบกลุ่ม flavonoids เมื่อนำมานึ่นในกรดเจือจางหรือนำมานำมาทำปฏิกิริยากับเอนไซม์จะได้สารประกอบที่เป็นรูปสัมฐานสีแดง ไม่ถาวรน้ำซึ่งเรียกว่า phobaphenes หรือ tannin red และเมื่อนำมากลั่นแบบ dry distillation จะได้สารประกอบที่เป็น catechol tannins สารประกอบในกลุ่มนี้จึงมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า catechol tannins (ฤทธิ์รัตน์ น้อยคนดี, 2551; อัญมณี ปิณฑะบุตร, 2540)



ภาพที่ 3 โครงสร้างของแทนนินชนิดรวมตัวແเน່ນ (Goncalves, Soares, Mateus, & Freitas, 2007)

2. แทนนินเทียม (psudotannins) แทนนินชนิดนี้มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 1.000 มัคพบ  
อยู่ร่วมกับแทนนินแท้ เช่น กรดกลอลิคิกาเทชินส์ (catechins) กรดคลอโรเจนิก (chlorogenic acid)  
และกรดไอpecacuanhic acid เป็นต้น (อัญมณี ปีล万物บุตร, 2540)

คุณสมบัติทางกายภาพและการเคมีของแทนนิน (วรรณวิภาก ชื่อตระกูล, 2554)

1. เป็นสารประกอบแคนนีที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ โครงสร้างซับซ้อน ไม่สามารถแตกผลึกได้
2. สามารถรวมตัวได้ดีกับโปรตีนและหนังสัตว์ สามารถเปลี่ยนหนังดิบให้กลายเป็นหนังฟอกหรือหนังสำเร็จได้
3. มีฤทธิ์ต้านเชื้อจากไก่โคโปรดีนที่อยู่ในน้ำลายตกตะกอนกับแทนนินทำให้การหล่อลิ่นในปากลดลง
4. สามารถละลายได้ในน้ำ และกอ肖ล์ อะซีโตน และ ไฟริคิน แต่ไม่ละลายในตัวกำลังลายที่ไม่มีข้าว เช่น อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม และเมื่ออยู่ในน้ำจะมีสภาพเป็นกolloidal

5. มีคุณสมบัติเป็นยาฝาดสามารถ เนื่องจากสารธรรมชาตัวได้กับไนโตรกลูตอง โปรตีนเกิดเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างคงตัว
6. เมื่อทำปฏิกิริยากับกลีอของเหลวจะเกิดสารละลายสีน้ำเงินหรือสีเขียว
7. สามารถทดสอบกับกลีอของโลหะได้
8. สามารถทดสอบกับสารละลายโพแทสเซียมได้โดยเมตหรือกรดโครมิก
9. สามารถทำให้แยกออกได้ และสารอินทรีที่มีสมบัติเป็นเบสทดสอบได้
10. ในสารละลายที่เป็นเบส แทนนินจะคุกชันออกซิเจนและเปลี่ยนเป็นสีคล้ำขึ้น
11. ทำปฏิกิริยากับสารละลายโพแทสเซียมฟอร์ซีไซเดนด์ (potassium ferric cyanide) และแอนโนเนียเกิดสารละลายสีแดงขึ้น

#### การตรวจสอบสมบัติของแทนนิน (Schanderl, 1970)

แทนนินและสารประกอบในกลุ่มของแทนนินพบได้ทั่วไปในส่วนต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของพืช เป็นสารประกอบพากฟินอลิกเบงออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ hydrolysable tannins คือสารประกอบที่ประกอบด้วยกลุ่ม polyhydric alcohol โดยปกติเป็นอนุพันธ์ของกรดแกลลิก (gallic acid) โดยประกอบด้วย 2 ส่วน คือส่วนที่เป็นน้ำตาลและส่วนที่เป็นกรดฟินอลิก และ condensed tannins เป็นพอลิเมอร์ของสารกลุ่ม flavonoid (flavan-3-ol) หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า catechin

การตรวจสอบสมบัติของแทนนินสามารถทดสอบได้หลายวิธี โดยแต่ละวิธีใช้สารในการทำปฏิกิริยานั้น ดังนี้

1. ตรวจสอบโดยใช้วิธี vanillin hydrochloric ใช้สารประกอบวานิลลินในกรดกลีอเข้มข้น (vallin-conc. HCl) ทดสอบ ใช้ในการถ่ายอิงหาปرمิตาcondensed tannins โดยหลักการ คือใช้ทดสอบสารประกอบประเภทฟินอลิกกลุ่ม flavonoid ซึ่งจะเกิดสารสีแดง แล้วนำไปวัดค่าการคุณลักษณะที่ความยาวคลื่นประมาณ 500 nm ในเมตร
2. ตรวจสอบโดยใช้วิธี folin-denis ใช้สารละลาย folin-denins reagent เป็นสารทดสอบโดยหลักการคืออาศัยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของหมู่ phenolic hydroxyl โดยหมูฟินอลิกจะไปรีดิวช์ phosphotungstomolydic acid เกิดเป็นสารเชิงซ้อนสีน้ำเงิน แล้วนำไปวัดค่าการคุณลักษณะที่ความยาวคลื่นประมาณ 700 nm คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมดโดยนำเทียบกับสารละลายน้ำ Triturant กรดแกลลิก กรดแกลลิก หรือคาเทชิน
3. ตรวจสอบโดยการทำปฏิกิริยากับสารละลายเจลติน (gelatin solution) หรือ

สารละลายเกลือเจลาติน โดยแทนนินจะตกตะกอนกับไฮด्रอเจนไดออกไซด์ได้สารประกอบเชิงช้อน ไฮดรอเจนแทนนิน

4. ทดสอบโดยการนำไปทำปฏิกิริยากับเฟอริคลอไรด์ ( $\text{FeCl}_3$ ) โดย hydrolysable tannins ให้ตกตะกอนสีน้ำเงินหรือสีน้ำเงินม่วง ส่วน condensed tannins ให้จะผลเป็นตะกอนสีเขียวหรือสีเขียวแกมน้ำตาล

### スペクトโรโฟโตเมทรี (Spectrophotometry) (แม่น อุรศิทธิ์ และคณะ. 2552)

วิธีスペクトโรโฟโตมิทรีเป็นเทคนิคที่นิยมมากใช้ในการวิเคราะห์สาร เช่น สารอินทรีย์ สารอินทรีย์ สารเชิงช้อน โดยอาศัยการดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิล สมบัติของสารดังกล่าวนี้ที่จะนำมาใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ

#### หลักในการหาปริมาณของสารด้วยการวัดปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืน

ในการวัดปริมาณของแสงที่ถูกดูดกลืนด้วยสารตัวอย่างนั้น สามารถทำได้โดยให้ลำแสงผ่านเข้าไปในสารตัวอย่าง แล้ววัดปริมาณของแสงที่ผ่านทะลุออกมายโดยเปรียบเทียบกับแสงที่ทะลุออกมามื่อไม่มีสารตัวอย่าง ซึ่งกฎการดูดกลืนแสงที่สำคัญ 2 กฎ ได้แก่ กฎของแอลเบิร์ต (Lambert's law) และกฎของเบียร์ (Beer's law)

กฎของแலเบิร์ต มีใจความว่า “มีอัตราเสถียร ซึ่งเป็นลำแสงที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว ตัดส่วนของความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนไว้ ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มของแสงที่กระทบตัวกลางนั้น และความเข้มของแสงจะถูกตัวกลางดูดกลืนไว้ในสัดส่วนที่เท่ากัน”

กฎของเบียร์ มีใจความว่า “มีอัตราเสถียร ที่มีความยาวคลื่นเดียว ผ่านตัวกลางเนื้อเดียว สัดส่วนของความเข้มของแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้ จะเปรียบลงกับปริมาณของตัวกลางที่ดูดกลืนแสงนั้น”

เมื่อวัดการดูดกลืนแสงของสารละลาย ปริมาณความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนนั้น จะขึ้นอยู่กับความเข้มของสารละลายและความหนาของสารละลายที่ลำแสงต้องผ่าน จึงจำเป็นต้องรวมกฎของเบียร์และกฎของแลเบิร์ตเข้าด้วยกัน เรียกเป็นกฎของเบียร์-แลเบิร์ต และเขียนเป็นรูปสมการได้ดังนี้

$$\begin{aligned}\Lambda &= \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon b C \\ \%T &= \frac{I}{I_0} \times 100 \\ \Lambda &= 2 - \log \%T\end{aligned}$$

เมื่อ  $I_0$  หมายถึง ความเข้มของแสงก่อนผ่านตัวกลาง

$I$  หมายถึง ความเข้มของแสงซึ่งผ่านตัวกลางแล้ว

$C$  หมายถึง ความเข้มข้นของสาร ( $\text{mol}/\text{dm}^3$ )

$b$  หมายถึง ความหนาของตัวกลาง

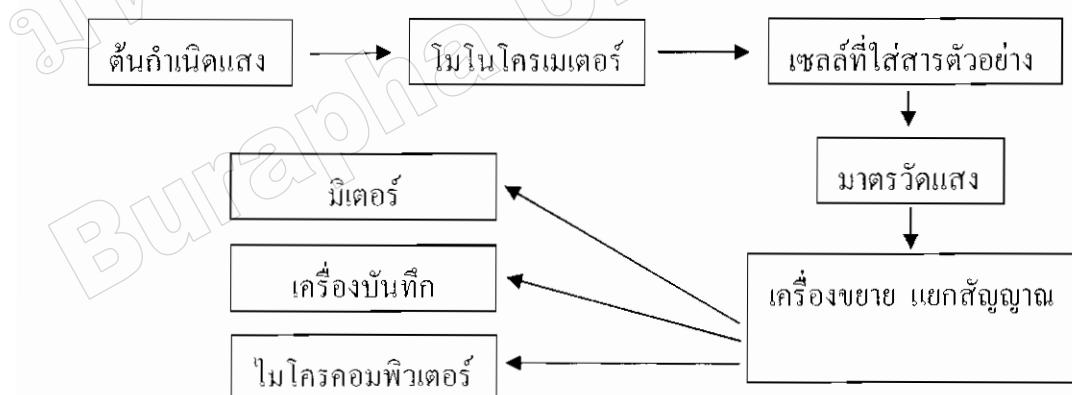
$\varepsilon$  หมายถึง โมลาร์เอบโซบติวิตี้

$T$  หมายถึง การส่งผ่าน

$A$  หมายถึง การคูณด้วยสอง

#### ส่วนประกอบของเครื่องสเปกโพรไฟโตมิเตอร์

เครื่องสเปกโพรไฟโตมิเตอร์โดยทั่วไป จะประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังภาพต่อไปนี้



ภาพที่ 4 ส่วนประกอบของเครื่องสเปกโพรไฟโตมิเตอร์ (แม่น อุณรสิทธิ์ และคณะ, 2552)

หลักการทำงานเครื่องมือดังกล่าวได้นำมาปรับใช้กับงานวิจัยนี้โดยศึกษาหารูปแบบแทนนินในลูกพลันที่ได้จากการนำค่าบริสุทธิ์ต่างๆ โดยใช้วิธีสเปกโพรไฟโตมิตรีเทนวิธีทางโกรมาโทกราฟีเนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก รวดเร็ว อีกทั้งยังให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องอยู่ในเกณฑ์ที่สามารถยอมรับได้ และราคาไม่แพงสำหรับการวิเคราะห์ โดยการทำให้เกิดสีของสารเชิงช้อนโดยการทำ

ปฏิกริยา กับสารละลายน้ำฟอกนิ-เดนิส รีอเจนต์ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง คำนวณหาปริมาณแทนนินจากกราฟมาตรฐาน

### งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สมพร มีเดช และคณะ (2544) ได้ทำการศึกษาปริมาณแทนนินในผลิตภัณฑ์โวน์ที่ผลิตในประเทศไทยโดยวิธีโคลโนมาร์ฟิสมรรถนะสูง ผลการวิจัยพบว่าปริมาณแทนนินในรูปของกรดแกเลลิกและคาทิชินในช่วงเวลาการหมัก โวน์ 11 วัน มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรกของการหมัก 0-6 วัน โดยมีปริมาณกรดแกเลลิก 0.59 ppm และคาทิชิน 0.51 ppm และช่วงหลังการหมัก 7-9 วัน มีปริมาณกรดแกเลลิก 1.58 ppm และคาทิชิน 5.74 ppm หลักวันที่ 10ของการหมักจึงมีแนวโน้มว่ามีกรดแกเลลิก และคาทิชินลดลง

สราชุธ ศรีวรรณ (2554) ได้ทำการศึกษาผลการเก็บเกี่ยว วิธีการกำจัดความฝาด และอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อคุณภาพทางกายภาพและเคมีของผลลัพธ์พืช 2 โดยการนำเอาผลพลัพไปปัจจัดความฝาดด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 100% วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีโดยวิธีการไทยtered ผลการวิจัยพบว่าเวลาไม่มีผลต่อความแห้งของเนื้อผลลัพและปริมาณวิตามินซี เมื่อวางแผนพลัพในอุ่นช่องกัน 2 และ 4 ชั้น ใช้เวลาในการขัดความฝาด 2.3 และ 4 วัน แต่มีผลต่อปริมาณกรดทึ้งหมักที่ไทยtered ได้ ส่วนจำวนชั้นที่ช้อนต่างกันมีผลต่อความแห้งของเนื้อผลลัพและปริมาณวิตามินซี นอกจากนี้ยังพบว่าอุณหภูมิในการบ่มมีผลต่อการขัดความฝาด และความแห้งแห่นของเนื้อผลลัพ เมื่อนำไปสักดิ์ไวรัสและเวลาในการวางจำวนยังพบว่าผลลัพที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8°C มีระยะเวลาวางจำวนน้อยกว่าสันกว่าที่ระดับ 2 และ 4 °C

Ferreira และ Nogueira (1999) ได้ทำการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาคอนเดนซ์แทนนินในถั่ว guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) โดยการทำให้เกิดสารเชิงช้อนสีแดงด้วยวิธีวนิลลิน-ไอโอดีคลอริก (vanillin-HCl) และนำไปวิเคราะห์หาแทนนิน โดยวิธี FIA โดยใช้คาทิชินเป็นสารละลายน้ำมาตรฐาน ผลการวิจัยพบว่าวิธีวิเคราะห์ให้ค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์ (%RSD) ต่ำกว่า 1% เมื่อทำการทดลองทุก ๆ 4 ชั่วโมง และสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างรวดเร็วถึง 60 ตัวอย่างต่อชั่วโมง โดยใช้ขั้นจำกัดต่ำสุดของวิธีวิเคราะห์ 1.05 มิลลิกรัมต่อลิตร

Luthar (1992) ได้วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลและแทนนินในเมล็ดบัคเวด (buckwheat seed) สายพันธุ์ต่าง ๆ ทำให้เกิดสารเชิงช้อนสีแดงด้วยวิธีวนิลลิน-ไอโอดีคลอริก และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโดยวิธีสเปกโตรโฟโตมิทรี พบว่าในเมล็ดบัคเวดมีปริมาณแทนนิน 0.5-4.5 % ซึ่งปริมาณแทนนินจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และสภาพแวดล้อมในการเพาะปลูก

Tamiselvi et al. (2012) ได้วิเคราะห์หาสารประกอบฟีโนอลทั้งหมด แทนนิน และองค์ประกอบเบื้องต้นของพืช *Indigofera aspalathoides* (Shivanar Vembu) ซึ่งมีผลทางเภสัชในการรักษาและบำบัดอาการผิดปกติทางโรคผิวหนัง และโรคมะเร็ง เครื่องมือที่ใช้ในการต้มสกัดด้วยเมทานอล แล้วนำมายาปฏิกรายห้าองค์ประกอบ และปริมาณ โดยการทำให้เกิดสารเชิงซ้อนสีน้ำเงินด้วยวิธี Folin – Ciocalteu และนำมายาปฏิกรายด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี ผลการวิจัยพบว่าในพืชชนิดนี้มีปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมด  $47 \pm 1.532$  mg/g ซึ่งมากกว่าเมื่อเปรียบกับปริมาณแทนนิน  $34.59 \pm 1.788$  mg/g