



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาเครื่องสกัดแบบอัลตราโซนิคสำหรับสกัดสารที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ

จากกากองุ่นแดง

Development of ultrasonic assisted extractor for antioxidant extraction  
from red grape pomace

นายกิตติชัย บรรจง

หน้า 6-18.

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH

OC

244

76737

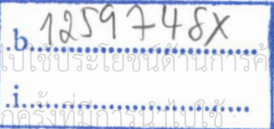
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์อื่นใด  
ไม่ว่ากรณีใดๆ หากพบการเปลี่ยนแปลงเนื้อหา และห้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการแก้ไข

เลขหมู่

130300

เลขทะเบียน

วัน เดือน ปี 3 10 2557



ชื่อโครงการ	การพัฒนาเครื่องสกัดแบบอัลตราโซนิกสำหรับสกัดสารที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระจากกากองุ่นแดง
แหล่งเงิน	งบประมาณแผ่นดิน
งบประมาณประจำปี	2555 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 260,600 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย	1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2554 ถึง 30 กันยายน 2555 /
หัวหน้าโครงการ	นายกิตติชัย บรรจง สาขาวิชาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### บทคัดย่อ

การออกแบบและสร้างเครื่องสกัดอัลตราโซนิกประกอบด้วยเครื่องกำเนิดอัลตราโซนิกขนาด 200 วัตต์ ถึงสกัดอัลตราโซนิกทรงกระบอกเส้นผ่าศูนย์กลาง 12.5 เซนติเมตร สูง 16 เซนติเมตร ติดกับอุปกรณ์อัลตราโซนิกทรานซิวเซอร์แบบพีโซอิเล็กทริก ความถี่ 20, 40 และ 60 kHz นำมาทดลองสกัดกากองุ่นแดงพันธุ์ปักดำ เมื่อใช้คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 40 kHz ใช้อัตราส่วนผงกากองุ่นต่อตัวทำละลายเอธานอล (47.5%) 1:9 นำหนักต่อปริมาตรใช้เวลาสกัด 60 นาที การสกัดที่ปริมาตร 600 มิลลิลิตร ทำให้ได้สารสกัดที่มีผลการวิเคราะห์ทางเคมีโดยเฉลี่ยสูง การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้มากกว่าการไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) ปริมาณของสารแอนโทไซยานินและสารประกอบฟีนอลสกัดที่ความถี่ 20 kHz แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) กับความถี่ 40 และ 60 กิโลเฮิร์ต และค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากความถี่ 40 kHz มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) กับความถี่ 20 และ 60 กิโลเฮิร์ต ระยะเวลาการสกัดที่เหมาะสมด้วยคลื่นอัลตราโซนิก เป็นเวลา 45 นาที เพราะปริมาณสารเพิ่มขึ้นน้อยมากหลังจากนั้น การทดลองใช้อัลตราโซนิกช่วยสกัดร่วมกับความร้อนอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ที่ความถี่ 20 kHz ให้ปริมาณฟีนอลสูงกว่าการช่วยสกัดที่ 40 kHz อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) และให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อช่วยสกัดเป็นเวลา 10 นาที เมื่อวิเคราะห์ปริมาณเรสเวอราทอลและคาเทชินด้วย HPLC การช่วยสกัดกากองุ่นที่ 40 kHz เป็นเวลา 25 นาที ให้ปริมาณเรสเวอราทอลสูงสุดเท่ากับ 0.431 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง การช่วยสกัดที่ความถี่ 20 kHz เป็นเวลา 25 นาที ให้ปริมาณคาเทชินสูงสุดเท่ากับ 1.56 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ พบว่าการช่วยสกัดที่ความถี่ 20 kHz เป็นเวลา 30 นาที ให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับ 48.79 มิลลิกรัมสมมูลของโทรลอคซ์/กรัมตัวอย่าง

**คำสำคัญ:** กากองุ่นแดง การสกัด อัลตราโซนิก สารต้านอนุมูลอิสระ

**Research Title** Development of ultrasonic assisted extractor for antioxidant extraction from red grape pomace

**Researcher** Kittichai Banjong

**Faculty** Agro-industry **Department** Food Process Engineering

### ABSTRACT

The ultrasonic assisted extractor consisted of a 200 W ultrasonic generator and 3 ultrasonic cylinder tanks of 12.5 cm diameter by 16 cm height attached with piezoelectric ultrasonic transducers with 20, 40 and 60 kHz frequency. It was used for the extraction of red grape pomace (Pokdum) with 600 ml 47.5% ethyl alcohol at 1:9 sample weight by alcohol volume for 60 minutes. It was found that ultrasonic extraction yielded more amount of antioxidant than heat extraction at the same conditions ( $P \leq 0.05$ ). There was significantly more anthocyanin and total polyphenol at 20 kHz and the antioxidation activity was higher at 40 kHz ( $P \leq 0.05$ ). It was also noticed that after 45 minutes of ultrasonic extraction the antioxidant was not significantly increased. Ultrasonic assisted extraction followed by heat extraction at 40 °C was also investigated using the ultrasonic extractor. The UAE at 20 kHz yielded significantly high anthocyanin ( $P \leq 0.05$ ) and the high total polyphenol was achieved at 15 min UAE. When resveratrol and catechin was analyzed using HPLC, 40 kHz UAE for 25 minutes yielded 0.431 mg/g sample of resveratrol and 20 kHz UAE for 25 minutes yielded 1.56 mg/g sample of catechin. The antioxidation activity of the extract was 48.79 mg TE/g sample when using 20 kHz UAE for 30 minutes.

**Keywords** : red grape pomace, extraction, ultrasonic, antioxidant

### กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับเงินทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง แหล่งทุนจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. 2555 ผู้วิจัยขอขอบคุณบุคลากรทุกฝ่ายที่สนับสนุนการวิจัยครั้งนี้ รวมทั้งนักศึกษาระดับปริญญาตรีและบัณฑิตศึกษา คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่านที่เกี่ยวข้อง ซึ่งให้ความช่วยเหลือจนโครงการประสบความสำเร็จด้วยดี

นายกิตติชัย บรรจง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญภาพ.....	VII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	2
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย.....	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 อนุทิน.....	4
2.2 สารประกอบฟีนอลิก.....	7
2.3 คุณภาพชีวภาพของสารประกอบฟีนอลิก.....	8
2.4 สารประกอบโพลีฟีนอลในอนุทิน.....	10
2.5 วิธีการวิเคราะห์สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน.....	12
2.6 การสกัด.....	14
2.7 คลื่นอัลตราโซนิก.....	14
บทที่ 3 วิธีการทดลอง.....	26
3.1 วัตถุประสงค์.....	26
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	26
3.3 สารเคมี.....	27
3.4 วิธีการดำเนินงาน.....	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	32
4.1 การทดลองอัตราส่วนปริมาตรการสกัดด้วยอัลตราโซนิคต่อกำลังไฟฟ้า.....	32
4.2 การทดลองความถี่อัลตราโซนิคเปรียบเทียบกับการใช้ความร้อนในการสกัด.....	36
4.3 การทดลองเวลาการสกัดด้วยอัลตราโซนิค.....	39
4.4 การทดลองการสกัดด้วยอัลตราโซนิคและอัลตราโซนิคช่วยสกัดร่วมกับความร้อน.....	43
 บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	 58
 บรรณานุกรม.....	 61
 ภาคผนวก.....	 68
ก การวิเคราะห์องค์ประกอบทางกายภาพ.....	69
ข วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ โพลีฟีนอลทั้งหมด.....	72
ค วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด.....	75
ง การวิเคราะห์ปริมาณเรสเวอราทรอล.....	77
จ การวิเคราะห์ปริมาณคาเทชิน.....	80
ฉ การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH.....	83
 ข้อมูลประวัติผู้วิจัย.....	 87

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ผลของตัวทำละลายในการสกัดโดยอัลตราโซนิก.....	22
2.2 ผลของความถี่ในการสกัดโดยอัลตราโซนิก.....	23
4.1 ปริมาณส่วนประกอบและความชื้นของกากองุ่นตัวอย่าง.....	32
4.2 ปริมาณสารสกัดจากการสกัดปริมาตร 200-1000 มิลลิลิตร.....	33
4.3 ปริมาณสารสกัดที่ความถี่ 28, 40 และ 60 กิโลเฮิร์ต เปรียบเทียบกับไม่ใช่อัลตราโซนิก.....	36
4.4 ปริมาณสารสกัดด้วยอัลตราโซนิกกับด้วยความร้อนที่สภาวะเดียวกัน.....	42
4.5 ค่า $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , Hue, pH และค่า Total solid ของสารสกัดกากองุ่น.....	44
4.6 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกองุ่น.....	55



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาขององุ่นพันธุ์ปอกคำ.....	5
2.2 โครงสร้างพื้นฐานและการระบุตำแหน่งคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลของฟลาโวนอยด์.....	8
2.3 โครงสร้างแอนโทไซยานิน.....	11
2.4 โครงสร้างเรสเวอราทรอล.....	11
2.5 โครงสร้างคาเทชิน.....	12
2.6 ปฏิกริยาของ DPPH assay.....	12
2.7 ปฏิกริยาของการวิเคราะห์สมบัติการต้านปฏิกริยาออกซิเดชัน โดยวิธี FRAP.....	13
2.8 คลื่นความถี่ของอัลตราโซนิกในช่วงต่าง ๆ.....	16
2.9 แสดงการเกิดการฉีกขาดหรือช่องว่างภายในเซลล์หลังสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก.....	16
2.10 การเกิดฟองอากาศในตัวกลางเนื่องจากคลื่นอัลตราโซนิก.....	17
3.1 เครื่องสกัดอัลตราโซนิกขนาดคลื่นความถี่ 20, 40 และ 60 kHz.....	28
4.1 กราฟความสัมพันธ์อุณหภูมิกับเวลาการสกัดปริมาตร 200-1000 มิลลิลิตร.....	34
4.2 กราฟความสัมพันธ์อุณหภูมิกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอัลตราโซนิกเปรียบเทียบกับความร้อน.....	37
4.3 กราฟความสัมพันธ์อุณหภูมิกับเวลาการสกัด.....	39
4.4 กราฟความสัมพันธ์สารประกอบโพลีฟีนอลกับเวลาการสกัด.....	46
4.5 กราฟความสัมพันธ์ปริมาณแอนโทไซยานินกับเวลาการสกัด.....	47
4.6 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานเรสเวอราทรอลและตัวอย่างโครมาโตแกรมของสารสกัดเปลือกองุ่น ซึ่งได้จากการตรวจวิเคราะห์โดยวิธีHPLC เมื่อใช้ตัวตรวจวัดยูวี (UV detector) ที่ความยาวคลื่น 306 นาโนเมตร.....	48
4.7 กราฟความสัมพันธ์ปริมาณเรสเวอราทรอลกับเวลาการสกัด.....	49
4.8 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานคาเทชินและตัวอย่างโครมาโตแกรมของสารสกัดเปลือกองุ่น ซึ่งได้จากการตรวจวิเคราะห์โดยวิธีHPLC เมื่อใช้ตัวตรวจวัดยูวี (UV detector) ที่ความยาวคลื่น 231 นาโนเมตร.....	51
4.9 กราฟความสัมพันธ์ปริมาณคาเทชินกับเวลาการสกัด.....	52
4.10 กราฟความสัมพันธ์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH กับเวลาการสกัด.....	54

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

การดำเนินชีวิตของคนเราในปัจจุบันต้องเผชิญกับสารเคมีและสารปนเปื้อนในรูปแบบต่างๆ มากมายเช่น มลพิษจากท่อไอเสียรถยนต์ โรงงานอุตสาหกรรม หรือกิจกรรมต่างๆ ของมนุษย์ ซึ่งอาจก่อให้เกิดความผิดปกติของร่างกาย มลพิษเหล่านี้คือส่วนหนึ่งที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระ (free radicals) ขึ้นในร่างกาย และก่อให้เกิดอาการเจ็บป่วยและโรคต่างๆ ตามมา เช่น โรคมะเร็ง(cancer) โรคผนังหลอดเลือดแดงแข็งตัว (atherosclerosis) และโรคชรา จากสาเหตุดังกล่าวก่อให้เกิดกระแสความสนใจดูแลสุขภาพมากขึ้น

การบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยเสริมสร้างสุขภาพให้ดีขึ้นได้อย่างเหมาะสม เป็นที่ทราบกันว่าผักและผลไม้เป็นแหล่งสารอาหารเพื่อสุขภาพ เป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยวิตามิน เกลือแร่ โยอาหาร และเป็นแหล่งของสารพฤกษเคมี ที่สำคัญหลายชนิด โดยเฉพาะสารประกอบฟีนอลิก (Laura et al. 2010) ซึ่งมีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยสามารถยับยั้งหรือทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในเซลล์ เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) และคาเทชิน (catechin) ที่มีความสามารถในการยับยั้งไลโปเปอร์ออกซิเดชัน และยับยั้งการทำลายดีเอ็นเอเนื่องจากอนุมูลอิสระ ทั้งยังรักษาอาการอักเสบโดยไปหยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล ซูเปอร์ออกไซด์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Basu et al. 1999) จึงมีส่วนช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคมะเร็งและชะลอความชรา เป็นต้น (โอภาและคณะ, 2551)

องุ่นเป็นผลไม้ชนิดหนึ่งที่นิยมทานสด และเป็นพืชที่ปลูกเพื่อนำผลมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลายเช่น การทำไวน์จากองุ่น, น้ำองุ่น และแยม เป็นต้น ในผลองุ่นทั้งผลประกอบด้วยส่วนของเปลือก เนื้อ และเมล็ดซึ่งในแต่ละส่วนอุดมไปด้วยสารต้านออกซิเดชันเช่น แอนโธไซยานินส์ แทนนิน เรสเวอราทอล (resveratrol) โดยแอนโธไซยานินส์ส่วนใหญ่จะพบในส่วนของเปลือก โดยจะพบในเปลือกองุ่นดำและแดงเป็นส่วนมาก

จากกระบวนการผลิตไวน์องุ่นและน้ำองุ่น มีของเหลือจากกระบวนการผลิตคือ กากองุ่น (เปลือกและเมล็ด) จำนวนมากเฉลี่ยมากกว่า 10 ตัน/ปี (รัฐพล และคณะ, 2551) เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ(Antioxidant) มีความแรงสูงและราคาถูก โดยฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระทำให้มีผลดีต่อสุขภาพ เพราะสามารถป้องกันและลดการทำลายล้างจากสารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายเรา อยู่ตลอดเวลาจากปัจจัยภายในร่างกายและปัจจัยภายนอก ซึ่งการทำลายของอนุมูลอิสระที่มีต่อเซลล์ต่างๆ ของร่างกายย่อมส่งผลให้เกิดความเสื่อมและอ่อนแอของร่างกายโดยรวม ไม่ว่าจะเป็นระบบหลอดเลือด

หัวใจ, ผิวหนัง, ตา เป็นต้น ทำให้เกิดความสนใจจากผู้บริโภค นักวิทยาศาสตร์จำนวนมากจึงมีการนำ  
 อนุมาสกัดเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ ทั้งในด้านผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ากากองุ่นถึงแม้จะเป็นสิ่งที่เหลือจากกระบวนการผลิต แต่ยัง  
 พบสารประกอบโพลีฟีนอลและสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในปริมาณสูง ซึ่งเป็นสารมีฤทธิ์ทางชีวภาพ  
 ในการต้านอนุมูลอิสระ ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆหลายชนิด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะ  
 พัฒนากระบวนการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในกากองุ่นให้มีสมรรถภาพ ทั้งด้านคุณภาพ ปริมาณ และ  
 เวลาในการสกัด เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์  
 ต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

การหาสภาวะในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากกากองุ่นพันธุ์ปักดำ โดยสกัดด้วยคลื่นอัลตรา  
 โซนิกที่ปัจจัยต่างๆ โดย

1. พัฒนากระบวนการสกัดกากองุ่นแดงด้วยอัลตราโซนิก ออกแบบเครื่องสกัดและกระบวนการ  
 สกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากกากองุ่น
2. ศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสกัดสารสกัดกากองุ่นด้วยคลื่นอัลตราโซนิก
3. ศึกษาผลการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากกากองุ่นแดงพันธุ์ปักดำและเปรียบเทียบปริมาณ  
 สารต้านอนุมูลอิสระจากกากองุ่นซึ่งเป็นสารสำคัญต่อสุขภาพ โดยการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราโซนิกกับ  
 การสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับความร้อน

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

เครื่องสกัดสารสกัดกากองุ่นด้วยอัลตราโซนิกในห้องปฏิบัติการวิศวกรรมแปรรูปอาหาร  
 ส่วนประกอบของกากองุ่น ปัจจัยการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากกากองุ่นพันธุ์ปักดำด้วยคลื่นอัลตรา  
 โซนิก สำหรับการสกัดด้วยอัลตราโซนิกและการสกัดด้วยอัลตราโซนิกร่วมกับความร้อน การวิเคราะห์  
 สารสกัดที่ได้ทางกายภาพบางประการและทางเคมี เพื่อให้ทราบองค์ประกอบสำคัญของสารที่สกัดได้  
 การเปรียบเทียบกระบวนการสกัดในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากกากองุ่น นอกจากนี้ยังสามารถ  
 นำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้เพิ่มมูลค่าวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูป เพื่อนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด  
 ต่อไป

## 1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

เตรียมเครื่องสกัดอัลตราโซนิกเพื่อใช้ในการทดลองปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสาร  
 สกัดจากกากองุ่นแดงพันธุ์ปักดำ โดยดำเนินการทดลองปัจจัยสภาวะต่าง ๆ ได้แก่ การทดลองปริมาตรที่  
 เหมาะสมของการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกต่อกำลังไฟฟ้า 200 วัตต์ การทดลองความถี่คลื่นอัลตราโซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิก การทดลองเวลาที่มีผลต่อการสกัดโดยเปรียบเทียบกับการใช้ความร้อน (Water bath) ที่สภาวะเดียวกัน นอกจากนี้ยังทำการทดลองกระบวนการช่วยการสกัดด้วยอัลตราโซนิกร่วมกับความร้อน (Ultrasonic assisted extraction) เปรียบเทียบสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารที่สกัดได้

### 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ปัจจัยต่าง ๆ ในกระบวนการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิก เพื่อใช้สกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากกากองุ่นแดงได้อย่างมีประสิทธิภาพ และผลของการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากกากองุ่นแดงโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับความร้อน ที่มีต่อปริมาณและคุณภาพของสารที่สกัดได้



## บทที่ 2

### วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 องุ่น

องุ่นมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vitis vinifera* Linn. วงศ์ VITACEA เป็นผลไม้ที่ปลูกกันทั่วโลก ปัจจุบันมีมากกว่า 8,000 ชนิด ในแต่ละปีให้ผลผลิตเกินกว่า 57,000 ตัน นอกจากส่วนหนึ่งรับประทานเป็นผลสดแล้ว ผลผลิตประมาณ 80% ใช้ทำเหล้าและเครื่องดื่ม (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2553)

##### 2.1.1 ลักษณะทั่วไปขององุ่น

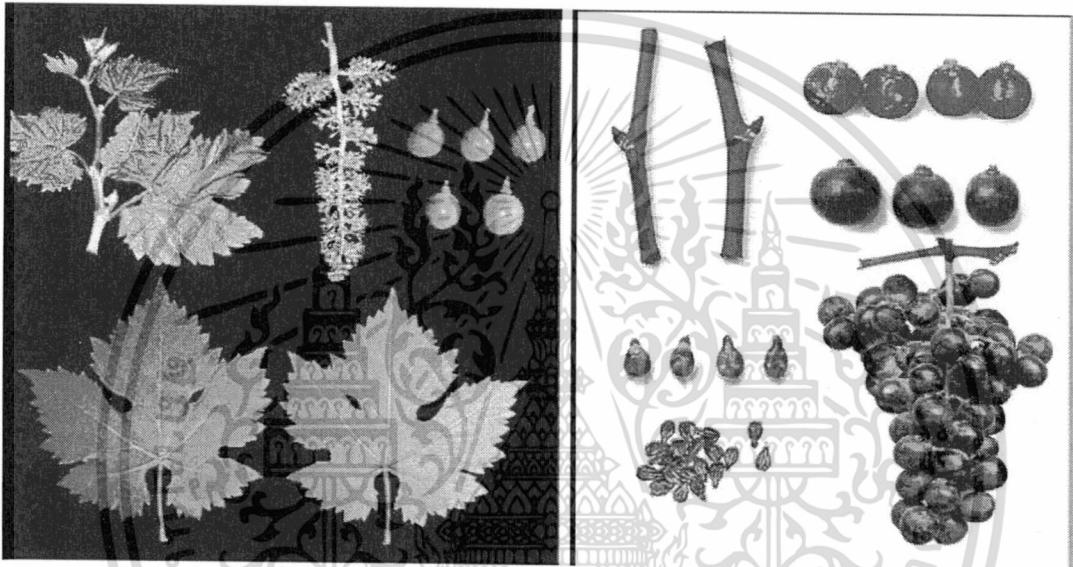
องุ่น เป็นพืชยืนต้น มีลักษณะเป็นไม้พุ่มเลื้อย มีลักษณะเนื้อแข็งและมีลำต้น กิ่งถาวรอายุเกิน 1 ฤดู ถ้าปล่อยให้เจริญเติบโตตามธรรมชาติจะเลื้อยเกาะกิ่งไม้ ใบกลมขอบหยักเว้าลึก 5 พู โคนใบเว้าเป็นรูปหัวใจ ดอกออกเป็นช่อแยกแขนง ดอกย่อยขนาดเล็กสีเขียวมีหมวก จะหลุดออกเมื่อดอกบานกลีบดอกเมื่อบานสีขาว โคนเชื่อมติดกัน ปลายแยก 5 กลีบ เป็นผลเดี่ยวที่ออกเป็นพวง (เป็นผลเดี่ยวที่เกิดจากดอกช่อแต่ดอกไม่หลอมรวมกัน) ผลย่อยรูปกลมรีและฉ่ำน้ำ มีผิวหนวลเกาะและรสหวาน มีสีเขียว, ม่วงแดง และม่วงดำแล้วแต่พันธุ์ ในผลมีเมล็ดประมาณ 1 - 4 เมล็ด

##### 2.1.2 องุ่นในประเทศไทย

ปัจจุบันนี้มีการปลูกองุ่นกันแพร่หลายมากในประเทศไทย ไร่องุ่นบางไร่จะนำผลผลิตไปทำไวน์ แต่บางไร่เน้นเรื่องการจำหน่ายผลองุ่น องุ่นที่ปลูกในเมืองไทยมีมากมายหลายพันธุ์ ทั้งลูกใหญ่ ลูกเล็ก สีเขียว สีแดง สีม่วง มีเมล็ด ไร้เมล็ด มีให้ผู้บริโภคเลือกหลากหลาย จากหลักฐานทางประวัติศาสตร์ มีการบ่งบอกว่ามีการปลูกองุ่นกันมามากกว่า 5,000 ปี องุ่นสามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตหนาว เขตกึ่งร้อนกึ่งหนาว และเขตร้อน สำหรับประเทศไทยไม่ปรากฏหลักฐานแน่ชัดว่านำเข้ามาในสมัยใด แต่คาดว่าน่าจะนำเข้ามาตั้งแต่ในสมัยรัชกาลที่ 5 โดยพระองค์ท่าน ได้นำพันธุ์ไม้แปลกๆ จากต่างประเทศที่ได้เสด็จประพาสมาปลูกในประเทศไทย และเชื่อว่าในจำนวนพันธุ์ไม้แปลกๆ เหล่านั้น น่าจะมีพันธุ์องุ่นรวมอยู่ด้วย ในสมัยรัชกาลที่ 7 มีหลักฐานยืนยันว่าเริ่มมีการปลูกองุ่นกันบ้างแต่ผลองุ่นที่ได้มีรสเปรี้ยว การปลูกองุ่นจึงซบเซาไป ต่อมาในปี พ.ศ. 2493 ได้เริ่มมีการปลูกองุ่นอย่างจริงจัง โดยหลวงสมานวนกิจ ได้นำพันธุ์องุ่นมาจากมลรัฐแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา และปี พ.ศ. 2497 ดร. พิศ ปัญญาลักษณ์ ได้นำพันธุ์องุ่นมาจากทวีปยุโรปซึ่งสามารถปลูกได้ผลเป็นที่น่าพอใจ นับแต่นั้นมาการปลูกองุ่นในประเทศไทยจึงแพร่หลายมากขึ้น ในปี 2550 ประเทศไทยนำเข้าผลองุ่นสดและผลิตภัณฑ์ (องุ่นแห้งและน้ำองุ่น) เป็นมูลค่ามากถึง 1,404 ล้านบาท โดยองุ่นสดมีมูลค่ามากที่สุดถึง 1,242 ล้านบาท (ผลผลิตสดประมาณ 24,247 ตัน) ขณะที่การส่งออกประเทศไทยสามารถส่งออกผลองุ่นได้เพียงปีละ 1 ล้านบาทเศษเท่านั้น โดยพื้นที่ปลูกองุ่นในประเทศไทยในปี 2550 ที่ผ่านมามีพื้นที่ปลูกองุ่นเพียง 26,108

ไร่ และได้ผลผลิตประมาณ 27,561 ตัน เมื่อคิดเฉลี่ยต่อไร่แล้วปรากฏว่าได้ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 2,741 กิโลกรัม/ไร่/ปี ซึ่งถือว่าค่อนข้างสูง(รัฐพล, 2552)

องุ่นพันธุ์ปักดำ เป็นองุ่นที่มีลักษณะผลกลม สีม่วงเข้ม เปลือกหนา มีรสเปรี้ยวอมหวาน และมีน้ำมาก เป็นพันธุ์ที่สามารถปรับตัวและเจริญเติบโตได้ดี ให้ผลผลิตต่อปีสูง ทำให้มีราคาตกต่ำในช่วงฤดูการผลิตไม่มีปัญหาเกี่ยวกับเรื่องผลแตก(ระยะใกล้เก็บเกี่ยว) และอายุการเก็บเกี่ยวสั้น เป็นองุ่นที่นิยมปลูกมากในพื้นที่ภาคตะวันตก เช่น เขตอำเภอสามพราน และนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม และอำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร (วันดี, 2547) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาขององุ่นพันธุ์ปักดำแสดงดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาขององุ่นพันธุ์ปักดำ  
ที่มา : รัฐพล และคณะ (2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสกัดสารในชาออกจากใบชาในการผลิตชาสำเร็จรูปละลายได้ทันที เป็นต้น ฉวีวรรณ และ สุรชิต (2550) ได้รายงานการสกัดสารเคอร์คิวมิน ฟิโนสโตรบิน คาเฟอีน จากกระชายดำด้วยคลื่นอัลตราโซนิค โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดได้แก่ (1) อุณหภูมิที่ 60 °ซ. (2) เวลาที่ใช้ในการสกัด 2 ชั่วโมง (3) อัตราส่วนกระชายดำต่อปริมาณเอทานอลคือ 1:20 เมื่อทำการเปรียบเทียบวิธีการสกัดแบบต่าง ๆ พบว่าปริมาณสารเคอร์คิวมิน ฟิโนสโตรบิน และคาเฟอีนที่สกัดได้จากวิธีคลื่นอัลตราโซนิคนั้นมีค่ามากที่สุด โดยมีค่าสารต่าง ๆ ดังนี้ 2.209, 492.3 และ 1096.4 มก./กก. กระชายดำแห้งตามลำดับ Cho และคณะ (2006) ได้ศึกษาวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในอุณหภูมิตดลองสกัดที่อุณหภูมิ 60 °ซ มีเอทานอล 80% เป็นตัวทำละลาย พบว่ามีปริมาณสารเรสเวอราทรอลในสารสกัดของพันธุ์ *Campbell* ที่สกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคความถี่ 47 kHz เป็นเวลา 3 นาทีเท่ากับ 438 ไมโครกรัมต่อกรัมของแห้ง เทียบกับการสกัดธรรมดาเป็นเวลา 30 นาทีซึ่งได้ปริมาณสารเรสเวอราทรอลเท่ากับ 353 ไมโครกรัมต่อกรัมของแห้ง และเมื่อทดลองวิธีสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคกับพันธุ์ *Gerbong* มีปริมาณสารเรสเวอราทรอลเท่ากับ 171 ไมโครกรัมต่อกรัมของแห้ง ซึ่งช่วยเพิ่มปริมาณสารสกัดถึง 24-30.5% เมื่อเทียบกับการสกัดธรรมดา Chen และคณะ (2007) ได้รายงานการสกัดสารแอนโธไซยานินจากราสเบอร์รี่แดงด้วยคลื่นอัลตราโซนิค เปรียบเทียบกับการสกัดด้วยวิธีธรรมดา กับการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค ใช้ความถี่ 22 kHz กำลัง 400 W อุณหภูมิ 40 °ซ แต่การสกัดด้วยวิธีธรรมดาจะใช้ อุณหภูมิ 71±1 °ซ ผลคือการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคใช้เวลา 3.3 นาที โดยได้ผลผลิต 34.5±0.5% (mg/100 g wet) และการสกัดด้วยวิธีธรรมดาจะใช้เวลา 53 นาที ได้ผลผลิต 35.1±0.5% (mg/100 g wet) พบว่า การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคใช้เวลาในการสกัดเพียง 3.3 นาที ซึ่งน้อยกว่าการสกัดโดยไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิค ซึ่งใช้เวลาในการสกัดถึง 53 นาที Ma และคณะ (2008) ได้ศึกษาการสกัดเฮสเพอริดินจากเปลือกส้มเขียวหวานด้วยอัลตราโซนิค และศึกษาตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อการสกัด ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย ปริมาตรของตัวทำละลาย อุณหภูมิ เวลา กำลังของคลื่นอัลตราโซนิค และความถี่ของคลื่นอัลตราโซนิค พบว่า ชนิดของตัวทำละลาย ความถี่ และอุณหภูมิ มีผลต่อปริมาณสารสกัดเฮสเพอริดินที่ได้จากเปลือกส้มเขียวหวานมากที่สุด และเมื่อทำการสกัดที่อุณหภูมิและเวลาเดียวกันแต่ความถี่ต่างกัน (20, 60, 100 kHz) โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่า ปริมาณสารสกัดเฮสเพอริดินที่ได้ที่ความถี่ 60 kHz มีปริมาณมากที่สุด จึงสรุปได้ว่า การสกัดเฮสเพอริดินจากเปลือกส้มเขียวหวานด้วยคลื่นอัลตราโซนิคความถี่ 60 kHz ที่อุณหภูมิ 40 °ซ เวลา 60 นาที จะได้สาร เฮสเพอริดินปริมาณมากที่สุด Zhang และคณะ (2009) ได้ศึกษาวิธีการสกัด epimedin C จากใบ *Epimedium* สด ด้วยวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ศึกษาตัวทำละลายที่ใช้ ได้แก่ น้ำ, เอทานอล, เมทานอล และอะซิโตนในโทล ได้ผลดีที่สุดคือใช้ตัวทำละลายเมทานอล และเมื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคกับการสกัดแบบชอกท์เลตซึ่งสกัดที่อุณหภูมิ 80 °ซ นาน 45 นาที พบว่าวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคและแบบชอกท์เลตได้ปริมาณสาร epimedin C เท่ากับ 86 และ 37 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ Viroit และคณะ (2009) ได้ศึกษาการสกัดสารประกอบโพลีฟีนอลจากกากแอปเปิ้ล ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการใช้คลื่นอัลตราโซนิกช่วยสกัด ที่ความถี่ 25 กิโลเฮิร์ต โดยใช้เอธานอล 50 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกเข้าช่วยกับการสกัดธรรมดา ที่เวลาการสกัด 45 นาทีเท่ากัน ได้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในสารสกัดเท่ากับ 964 และ 769 มิลลิกรัมสมมูลกาเทชินต่อ 100 กรัมกากแอปเปิ้ล ตามลำดับ และพบว่าวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกเพิ่มปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลถึง 20 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการสกัดธรรมดา Li และคณะ (2011) ได้ศึกษาการใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการสกัดน้ำมันจาก *Isatis indigotica* ที่ความถี่คลื่นอัลตราโซนิก 40 kHz อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 44 นาที เปรียบเทียบกับการสกัดแบบชอกห์เลตเป็นเวลา 8 ชั่วโมง พบว่าการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกได้ปริมาณน้ำมันสกัดเฉลี่ยเท่ากับ  $81.20 \pm 0.21$  เปอร์เซ็นต์ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวในน้ำมันสกัดเท่ากับ 6.19 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งได้ปริมาณสูงกว่าวิธีการสกัดแบบชอกห์เลตที่ได้ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวในน้ำมันสกัดเท่ากับ 5.92 เปอร์เซ็นต์ Zhao และคณะ (2012) ได้ศึกษาผลของคลื่นอัลตราโซนิกในการฉายบนพืชตระกูล *Podophyllum peltatum* ในการสกัดสารสารโพลีฟีนอลที่ออกซิน (podophyllotoxin) โดยนำวัตถุดิบมาฉายด้วยคลื่นอัลตราโซนิกก่อนทำการสกัด เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของวัตถุดิบ โดยสกัดด้วยทำละลายเอธานอล 30 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 2, 4, 7, 12 และ 20 นาที พบว่าวัตถุดิบที่ผ่านการฉายคลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 24 kHz ก่อนสกัด จะมีปริมาณช่องว่างในเซลล์จาก 29.2679 Å เป็น 56.1844 Å เมื่อเทียบกับวัตถุดิบที่ไม่ผ่านการฉายด้วยคลื่น อัลตราโซนิก ซึ่งทำให้ได้ปริมาณสารโพลีฟีนอลที่ออกซินเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน

### 2.7.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดโดยการใช้คลื่นอัลตราโซนิก

ปัจจัยสำคัญที่ช่วยให้การสกัดมีประสิทธิภาพดีคือตัวทำละลาย ปริมาณและความเข้มข้นของตัวทำละลายจะมีผลต่อการสกัดโดยใช้อัลตราโซนิก เพราะจะส่งต่อกระบวนการเกิด กระบวนการ cavitation โดยคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น แรงตึงผิว, ความหนืด และความดันไอ ของตัวทำละลาย มีผลต่อการเกิด cavitation (Haizhou et al. 2004) ขั้วของตัวทำละลายเป็นอีกปัจจัยที่สำคัญ การสกัดด้วยน้ำเป็นตัวทำละลายที่ดีเนื่องจากเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและราคาถูก แต่น้ำบางครั้งไม่สามารถจะแยกสารออกมาได้อย่างสมบูรณ์ จำเป็นต้องใช้สารอินทรีย์เป็นตัวช่วยในการทำละลาย เช่น เอทานอล เมทานอล บิวทานอล เฮกเซน อะซิโตน เป็นต้น ตารางที่ 2.1 แสดงผลของตัวทำละลายในการสกัดโดยใช้อัลตราโซนิก ยศพนธ์ และคณะ (2551) วิจารณ์การสกัดสารสำคัญจากผลส้มแขกด้วยคลื่นอัลตราโซนิก โดยใช้อ่างอัลตราโซนิก ความถี่คลื่น 40 kHz ที่อุณหภูมิห้อง ได้ผลที่ดีที่สุดคือ ใช้ตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้น 47.5% เป็นเวลา 30 นาทีในการสกัดด้วยอัตราส่วนของผงส้มแขกต่อตัวทำละลายเอทานอลเท่ากับ 1:5 กรัม/มิลลิลิตร ซึ่งได้ปริมาณกรดทั้งหมด 5.16% และปริมาณของผลผลิตที่ได้ 50.93% โดยกำหนดปริมาตรของสารละลาย 8 ลิตร และศึกษาที่สภาวะตัวแปรต่างๆ ในการสกัด ได้แก่ ความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอลที่ 0%, 47.5% และ 95% เวลาที่ใช้ในการสกัด 30, 60 และ 90 นาที และอัตราส่วนของผงส้มแขกต่อตัวทำละลายเอทานอลเท่ากับ 1:5, 1:10 และ 1:15 กรัม/มิลลิลิตร ความถี่อัลตราโซนิก ส่วนมากใช้คลื่นในช่วงความถี่ 20 kHz - 100 kHz ที่กำลังไฟฟ้า 100 - 800 วัตต์ การเลือกใช้ความถี่ที่เหมาะสม จะ

ช่วยลดเวลาการสกัดสารได้ ตัวอย่างเช่นการสกัดเฮสเพอริดินจากเปลือกส้มเขียวหวานด้วยคลื่นอัลตราโซนิคความถี่ 60 kHz ที่อุณหภูมิ 40 °ซ เวลา 60 นาที จะได้สารเฮสเพอริดินปริมาณมากที่สุด Ma และคณะ (2008) ได้ศึกษาการสกัดเฮสเพอริดินจากเปลือกส้มเขียวหวานด้วยอ่างอัลตราโซนิค และศึกษาตัวแปรต่างๆที่มีผลต่อการสกัด ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย ปริมาตรของตัวทำละลาย อุณหภูมิ เวลา กำลังของคลื่นอัลตราโซนิค และความถี่ของคลื่นอัลตราโซนิค พบว่า ชนิดของตัวทำละลาย ความถี่ และอุณหภูมิ มีผลต่อปริมาณสารสกัดเฮสเพอริดินที่ได้จากเปลือกส้มเขียวหวานมากที่สุด และเมื่อทำการสกัดที่อุณหภูมิและเวลาเดียวกันแต่ความถี่ต่างกัน (20, 60, 100 kHz) โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่าปริมาณสารสกัดเฮสเพอริดินที่ได้ที่ความถี่ 60 kHz มีปริมาณมากที่สุด



ตารางที่ 2.1 ผลของตัวทำละลายในการสกัดโดยอัลตราโซนิค

Reference	Product	Extracting solvent	Remark
Jadhao et al. (2009)	Vanillin	Ethanol, methanol, acetonitrile, acetone, chloroform, hexane	Extraction of vanillin was higher in polar solvents such as ethanol, methanol and least in the case of nonpolar solvent such as hexane
Adje et al. (2010)	Polyphenolic compounds	Acidified-water-based media (sulphuric acid and citric acid), methanol-water (acidified with hydrochloric acid)	Acidified-water based media lead to the maximum extraction level of polyphenols than those obtained in the alcohol-based medium
Pena et al. (2005)	Monoterpenoids in wine	Pentane, dichloromethane	The best results achieved with pure dichloromethane and worst with pure pentane. Using mixtures in different proportions of both solvents, the extraction efficiency increased when the proportion of dichloromethane increased
Zhao et al. (2007)	Saikosaponins	Ethanol-water	Maximum yields obtained at 50% (v/v) ethanol-water composition
Barbero et al. (2008)	Capsaicinoids	Acetonitrile, ethanol, methanol and Water	Methanol and ethanol gives similar and higher quantities of extract than acetonitrile, addition of varying quantities of water to methanol did not produce any improvement
Wu et al. (2001)	Saponins	Methanol, water-butanol, water-methanol	Highest yield achieved with water saturated butanol
Li et al. (2004)	Oil	Hexane, isopropanol and 3:2 hexane-isopropanol mixture	Isopropanol gave increased oil yield than hexane. The mixed solvent gave highest yield than any of the other solvent

Reference	Product	Extracting solvent	Remark
Macias-Sancheza et al. (2009)	Carotenoids and chlorophylls	N, N Dimethylformamide, methanol	Higher extraction yield with dimethylformamide than methanol
Wang et al. (2008)	Phenolic compounds	Ethanol, methanol, acetone	Ethanol extracts gave the highest content of total phenolics, followed by methanol extracts and acetone extracts
Dong et al. (2010)	Salvianolic acid B	Methanol, ethanol n-butanol and water	Solvents with high polarities such as methanol and ethanol are better than lower polarity compound n-butanol

ที่มา : Shirsatha และคณะ, 2012

### ตารางที่ 2.2 ผลของความเร็วในการสกัดโดยอัลตราโซนิก

Reference	Material extracted	Equipment details	Important results
Khan et al. (2010)	Polyphenols from orange peel	Ultrasonic bath operating at 25 kHz	Total phenolic content obtained by UAE during 15 min was significantly higher than by Soxhlet extraction during 60 min
Lujan et al. (2006)	Biophenols from olive leaves	Ultrasonic probe operating at 20 kHz	UAE for 25 min gave same yield as 24 h conventional method
Rouhani et al. (2009)	Natural pigments from rhizomes of Curcuma Longa L	Ultrasonic bath operating at 35 kHz	The yield of ultrasound-assisted extraction was three times higher than the traditional method
Boonkird et al. (2008)	Capsaicinoids from Capsicum frutescens	Ultrasonic bath operating at 35 kHz	3 h UAE gave 87.4% yield compared to 79.4% for industrial hot maceration process for 15 h

Reference	Material extracted	Equipment details	Important results
Rostagno et al. (2003)	Soy isoflavones from soybeans	Ultrasonic probe operating at 24 kHz	For different solvents isoflavone yields obtained with UAE were (0–15%) higher than those with mix stirring
Sun and Tomkinson (2003)	Hemicellulose from wheat bran	Ultrasonic probe operating at 20 kHz	Total extraction time shortened from 60 min for conventional extraction to 5 min of UAE with 60% reduction in consumption of NaOH
Hromadkova et al. (2002)	Madder ( <i>Rubia tinctorum</i> ) roots dyes	Ultrasonic bath operating at 25 kHz	The ultrasonic process reduced extraction time (18 min versus 1 h) and energy cost with a better yield
Akaha et al. (2003)	Rutin and quercetin from <i>Euonymus alatus</i> (Thunb.) Sieb	Ultrasonic Bath operating at 50 kHz	Significant 4-fold reduction in extraction time and improvement in yield
Gao et al. (2009)	Carotenoids from citrus peels	Ultrasonic probe operating at 21–25 kHz	Extraction yield increased almost three times that of conventional extraction for particle sizes greater than 0.20 mm

ที่มา : Shirsatha และคณะ, 2012

การใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดช่วยให้อัตราการแพร่กระจายและการถ่ายเทมวลสารของตัวทำละลายเกิดขึ้นได้ดี (Shirsatha et al. 2012) Tang-Bin และคณะ (2011) รายงานผลของอุณหภูมิต่อการสกัดสารแอนโทไซยานินในลูกหม่อน การสกัดโดยคลื่นอัลตราโซนิก ที่กำลังไฟฟ้า 200 วัตต์ ความถี่ 40 kHz เวลา 60 นาที ตัวแปรของอุณหภูมิในการสกัดคือ 20, 30, 40, 50 และ 60 °ซ พบปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ในช่วง 54.09-62.58 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง ภายใต้อุณหภูมิที่แตกต่างกัน ปริมาณแอนโทไซยานินมีปริมาณเด่นชัดที่สุด ที่การสกัดโดยใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ธีรพงษ์ และคณะ (2554) การให้ความร้อนช่วยในการสกัด ทำให้ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดเกิดการละลายได้ดีขึ้น ซึ่งในการทดลองได้รายงานปริมาณโพลีฟีนอลในเปลือกองุ่น ใช้วิธีการสกัดโดยตัวทำละลายได้แก่ น้ำ เอทานอล และปิโตเลียมอีเทอร์ เวลาในการสกัดคือ 1, 12 และ 24 ชั่วโมง ส่วนน้ำแปรอุณหภูมิคือ 30, 40 และ 50 °ซ พบว่าได้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลสูงสุดเมื่อสกัดด้วยเอทานอล ผลของการเพิ่มอุณหภูมิน้ำเป็น 40 และ 50 °ซ ช่วยให้ได้ปริมาณโพลีฟีนอลเพิ่มขึ้นโดยมีปริมาณอยู่ในช่วง 9.64 – 13.10 มิลลิกรัมสมมูลยักรดเกลติก/กรัม น้ำหนักแห้ง

การกำหนดเวลาในการสกัดเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องศึกษา เพราะการใช้อัลตราโซนิกจะก่อให้เกิดสารสูญเสียของสารละลายได้ในกรณีที่เป็นวัตถุดิบที่ไวต่อความร้อน (Romdhane and Gourdon, 2002) Tang-Bin และคณะ (2011) รายงานผลของอุณหภูมิต่อการสกัดสารแอนโทไซยานินในลูกหม่อน การสกัดโดยคลื่นอัลตราโซนิก ที่กำลังไฟฟ้า 200 วัตต์ ความถี่ 40 kHz เวลา 60 นาที ตัวแปรของอุณหภูมิในการสกัดคือ 20, 30, 40, 50 และ 60 °ซ พบปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ในช่วง 54.09-62.58 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง ภายใต้อุณหภูมิที่แตกต่างกัน ปริมาณแอนโทไซยานินมีปริมาณเด่นชัดที่สุด ที่การสกัดโดยใช้อุณหภูมิ 40 °ซ

### บทที่ 3 วิธีการทดลอง

#### 3.1 วัตถุประสงค์

กากองุ่น พันธุ์ปักดำ จากบริษัท สยามไวเนอรี่ จำกัด

#### 3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1) ตู้อบแห้งลมร้อนแบบชั้น
- 2) เครื่องบด pin mill
- 3) เครื่องปิดผนึกสุญญากาศ (Alpha-Pack Enterprise Limited, OAPV-400, Germany)
- 4) ตู้แช่แข็ง อุณหภูมิในการแช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส
- 5) ตู้เย็น ((SANYO, RM-852C ENG), Thailand)
- 6) เครื่องหมุนเหวี่ยง (BOECO, C-20, Germany)
- 7) เครื่องกรองสุญญากาศ (SIBATA, WJ-20, Japan)
- 8) เครื่องผสม (VORTEX GENIES, G-560E, USA)
- 9) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Thermo scientific, USA) พร้อม เซลล์
- 10) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert, WNB14, Germany)
- 11) เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง
- 12) เครื่องคนสาร (Magnetic stirrer)
- 13) ชุดถังสกัดอัลตราโซนิค ขนาดความจุ 1 ลิตร 200 วัตต์ ความถี่ 20, 40 และ 60 กิโลเฮิร์ต
- 14) ไมโครปีเปต
- 15) เทอร์โมมิเตอร์
- 16) บีกเกอร์ ขนาด 50, 100, 250 และ 1,000 มิลลิลิตร
- 17) ขวดปรับปริมาตร ขนาด 50, 100, 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
- 18) ปีเปต ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
- 19) ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 และ 250 มิลลิลิตร
- 20) ลูกยาง
- 21) หลอดทดลอง
- 22) กระบอกตวง ขนาด 100 และ 1,000 มิลลิลิตร
- 23) กระดาษกรอง เบอร์ 1 (Whatman paper)
- 24) Hot air oven

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 25) โทคุดความชื้น
- 26) ที่ตีบ (tong)
- 27) อะลูมิเนียมแกน
- 20) ผ้าขาวบาง

### 3.3 สารเคมี

- เอธานอล 95%
- น้ำกลั่น
- โซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )
- สารละลาย Folin-Ciocalteu
- โพแทสเซียมคลอไรด์บัพเฟอร์ (KCl)
- โซเดียมอะซิเตตบัพเฟอร์ ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )
- ไฮโดรคลอริก (HCl)
- กรดแกลลิก (gallic acid)
- โทรลอกซ์ (Trolox)
- 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
- อะซิโตไนไตร (Acetonitrile)
- เรสเวอราทรอล (resveratrol)
- คาเทชิน (catechin)
- กรดอะซิติก (acetic acid)

### 3.4 วิธีการดำเนินงาน

#### 3.4.1 การเตรียมวัตถุดิบ

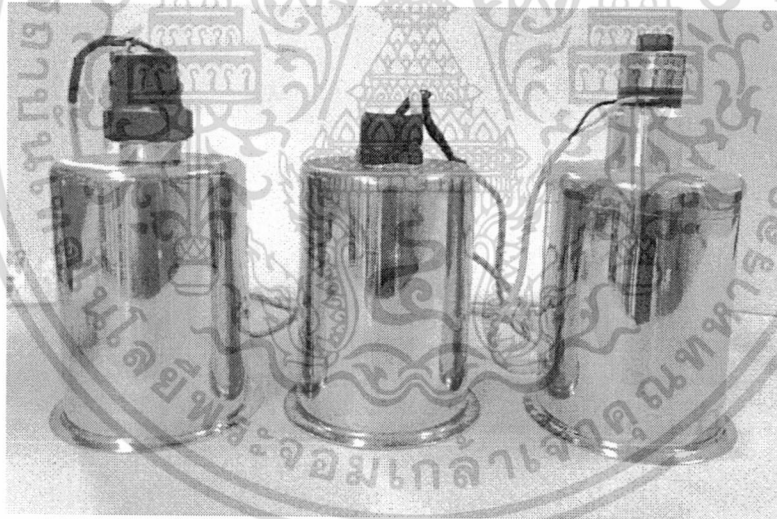
กากองุ่นพันธุ์ป็อกดำ (Pokdum) ซึ่งเป็นของเหลือจากกระบวนการทำไวน์จากบริษัทสยามไวเนอรี จำกัด นำกากองุ่นสดไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (tray dry) ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 8-10 ชั่วโมง กากองุ่นจะมีลักษณะแห้ง นำไปวิเคราะห์ปริมาณความชื้นหลังอบแห้ง แล้วนำมาแยกส่วนเมล็ด เปลือก ก้าน ออกจากกัน ซึ่งน้ำหนักส่วนต่าง ๆ เพื่อบันทึกส่วนประกอบเป็นร้อยละของ เปลือกองุ่น เมล็ด และส่วนอื่น ๆ แล้วแยกส่วนเปลือกไปบดหยาบด้วยเครื่อง hemmer mill เก็บบรรจุผงกากองุ่นที่ได้ในถุงปิดผนึกด้วยเครื่องสุญญากาศ จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -18 °ซ เพื่อรอนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

### 3.4.2 เครื่องสกัดอัลตราโซนิก (Ultrasonic assisted extractor)

เครื่องสกัดอัลตราโซนิกที่ออกแบบและพัฒนาขึ้นใช้ในการทดลองเป็นแบบการส่งผ่านคลื่นอัลตราโซนิกโดยตรง ประกอบด้วย ถังบรรจุตัวอย่างทำด้วยสแตนเลสตีลรูปทรงกระบอก จำนวน 3 ใบ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12.5 เซนติเมตร สูง 16 เซนติเมตร สามารถสกัดสารปริมาตร 1000 มิลลิลิตร แต่ ละถังเชื่อมต่อด้านล่างกับอัลตราโซนิกทรานสดิวเซอร์ชนิดพีโซอิเล็กทริก (Piezoelectric ultrasonic transducer) ขนาดคลื่นความถี่ 20, 40 และ 60 kHz ทรานสดิวเซอร์จะรับกำลังไฟฟ้าจากเครื่องกำเนิดคลื่น อัลตราโซนิก (Ultrasonic generator) ที่ปรับขนาดกำลังไฟฟ้าได้สูงสุด 200 วัตต์ ดังแสดงในภาพที่ 3.1

วิธีการใช้งาน

- 1) ติดตั้งถังสกัดอัลตราโซนิก คลื่นความถี่ 20, 40 หรือ 60 kHz กับเครื่องกำเนิดอัลตราโซนิก
- 2) ชั่งและบรรจุวัตถุดิบที่ต้องการสกัด ได้แก่กากองุ่นแดง ลงในถังสกัด
- 2) เติมน้ำละลายได้แก่เอทิลแอลกอฮอล์ตามปริมาตรที่กำหนด
- 3) เปิดเครื่องกำเนิดอัลตราโซนิก ปรับกำลังไฟฟ้า 100 หรือ 200 วัตต์
- 4) เมื่อครบกำหนดระยะเวลาสกัด ปิดเครื่อง



ภาพที่ 3.1 เครื่องสกัดอัลตราโซนิกขนาดคลื่นความถี่ 20, 40 และ 60 kHz

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4.3 การทดลองอัตราส่วนปริมาตรการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกต่อกำลังไฟฟ้า

การทดลองอัตราส่วนปริมาตรการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกต่อกำลังไฟฟ้า นำผงกากองุ่นและเอธานอล 47.5%, v/v มาสกัดด้วยถังอัลตราโซนิกที่สร้างขึ้น ที่อุณหภูมิห้อง เวลา 60 นาที โดยใช้ปริมาตรต่างๆ ได้แก่ 200, 400, 600, 800 และ 1,000 มิลลิลิตร กำลังไฟฟ้าที่ใช้สำหรับกำเนิดคลื่นอัลตราโซนิกเท่ากับ 200 วัตต์ ซึ่งเทียบเท่ากับอัตราส่วนกำลังไฟฟ้า 1.00, 0.50, 0.33, 0.25 และ 0.20 วัตต์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ทดลอง 3 ซ้ำ แผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (RCBD) สารสกัดที่ได้นำไปกรองแยกกากออกด้วยผ้าขาวบาง นำสารสกัดไปเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยเครื่องเหวี่ยง (centrifuge) ด้วยความเร็วรอบในการเหวี่ยง 4,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วกรองอีกครั้งด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ ได้สารสกัดใสมีสี นำสารสกัดไปวิเคราะห์ทางเคมี ดังนี้ วิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมดในสารสกัดกากองุ่น โดยวิธี AOAC (1990) วิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดกากองุ่น โดยวิธี pH-different วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกากองุ่น โดยวิธี DPPH วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดกากองุ่น นำข้อมูลผลการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiples Rang Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ผลการศึกษาจะทำให้ทราบปริมาตรสารต่อกำลังไฟฟ้าที่เหมาะสม และนำไปใช้ในการทดลองช่วงต่อไป นำข้อมูลผลการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiples Rang Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

### 3.4.4 การทดลองความถี่คลื่นอัลตราโซนิก เปรียบเทียบกับการใช้ความร้อนในการสกัด

นำผงกากองุ่นและเอธานอล 47.5% v/v มาสกัดด้วยถังอัลตราโซนิกที่อุณหภูมิห้อง เวลา 60 นาที โดยใช้ ความถี่ของคลื่นอัลตราโซนิกที่ 20, 40 และ 60 kHz กิโลเฮิรต์ เปรียบเทียบกับการสกัดด้วยความร้อน ใน water bath โดยทดลอง 3 ครั้ง แผนการทดลองแบบแฟกตอเรียลในบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in RCBD) สารสกัดใสมีสีนำไปวิเคราะห์ทางเคมี เช่นเดียวกับหัวข้อก่อนหน้านี้ ได้แก่ วิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมดในสารสกัดจากกากองุ่น โดยวิธี AOAC (1990) วิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดจากกากองุ่นโดยวิธี pH-different วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากองุ่น โดยวิธี DPPH วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากกากองุ่น นำข้อมูลผลการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiples Rang Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% สารสกัดที่ได้นำไปกรองแยกกากออกด้วยผ้าขาวบาง นำสารสกัดไปเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยเครื่องเหวี่ยง (centrifuge) ด้วยความเร็วรอบในการเหวี่ยง 4,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วกรองอีกครั้งด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ ได้สารสกัดใสมีสี นำข้อมูลผลการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiples Rang Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

### 3.4.5 การทดลองเวลาการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค

เลือกสภาวะการสกัดที่เหมาะสมจากการทดลองตอนที่แล้ว นำผงกากองุ่นและเอธานอล 47.5% v/v มาสกัดด้วยอัลตราโซนิค โดยใช้ความถี่ และอัตราส่วนปริมาตรที่เหมาะสม ทำการทดลองที่อุณหภูมิห้อง เวลาสกัด 15, 30, 45, 60 และ 90 นาที เปรียบเทียบกับการสกัดด้วยความร้อนที่สภาวะเดียวกัน ได้สารสกัดนำไปวิเคราะห์ทางเคมีและสถิติเช่นเดียวกัน โดยนำผลจากการทดลองข้างต้นมาใช้ ดังนี้ อัตราส่วนกากองุ่นต่อเอธานอลเท่ากับ 1:9 ปริมาตร 600 มิลลิลิตร มาสกัดด้วยอัลตราโซนิคความถี่คลื่น 40 kHz ที่อุณหภูมิห้อง โดยมีปัจจัยคือ ระยะเวลาสกัดที่ 15, 30, 45, 60 และ 90 นาที โดยทดลอง 3 ซ้ำ แผนการทดลองแบบแฟคตอเรียลในบล็อกกลุ่มสมบูรณ์ (Factorial in RCBD) สารสกัดที่ได้นำไปกรองแยกกากออกด้วยผ้าขาวบาง นำสารสกัดไปเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยเครื่องเหวี่ยง (centrifuge) ด้วยความเร็วรอบในการเหวี่ยง 4,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วกรองอีกครั้งด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ ได้สารสกัดใสมีสี แล้วนำไปวิเคราะห์ทางเคมี ดังนี้ วิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมดในสารสกัดจากกากองุ่น โดยวิธี AOAC (1990) วิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดจากกากองุ่น โดยวิธี pH-different วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากองุ่น โดยวิธี DPPH วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากกากองุ่น การวิเคราะห์ทางสถิติ ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiples Rang Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

### 3.4.6 การทดลองหาความถี่และเวลาที่เหมาะสม เปรียบเทียบระหว่างระหว่างการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค และการใช้คลื่นอัลตราโซนิคร่วมกับความร้อน (Water bath)

นำผงกากองุ่น เดิมตัวทำละลายเอธานอล 47.5% โดยผสมผงกากองุ่นบดกับสารละลายในอัตราส่วน 1:9 (w/v) ที่ปริมาตร 600 ml สกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคที่ความถี่ 20 และ 40 kHz เป็นเวลา 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที จากนั้นนำมาให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 40 °C เวลา 30 นาที กรองแยกกากออกด้วยผ้าขาวบาง นำสารสกัดไปเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยเครื่องเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 4000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วกรองอีกครั้งด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ สารสกัดที่ได้นำไปวิเคราะห์ค่าทางเคมี ดังนี้

- วัดสีสารสกัดจากองุ่น โดยบันทึกค่า CIE L\*, a\* และ b\*
- วิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด้วย pH meter
- วิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมดในสารสกัดจากกากองุ่น โดยวิธี AOAC (1990)
- วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากกากองุ่น
- วิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดจากกากองุ่น โดยวิธี pH-different
- วิเคราะห์หาปริมาณสารเรสเวอราทรอลในสารสกัดจากองุ่น ด้วยเครื่อง HPLC
- วิเคราะห์หาปริมาณสารคาเทชินในสารสกัดจากองุ่น ด้วยเครื่อง HPLC

- วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากองุ่น

ในการทดลองใช้จำนวนซ้ำของการทดลอง 3 ซ้ำ ประเมินผลทางสถิติโดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCBD แล้ววิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New Multiple's Range Test (DMRT)

#### 3.4.7 การวิเคราะห์ทางกายภาพ

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ปริมาณของแข็งทั้งหมด การวัดค่าความเป็นกรดต่าง และการวัดค่าสี ได้แสดงรายละเอียดไว้ในภาคผนวก ก

#### 3.4.8 การวิเคราะห์ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด

การวัดปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ใช้วิธีการของ Singleton และ Rossi (1999) โดยรายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข

#### 3.4.9 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

การวัดปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมด ใช้วิธี pH-different (Guisti and Wrolsta, 2001) ดังแสดงในภาคผนวก ค

#### 3.4.10 การวิเคราะห์ปริมาณเรสเวอราทอล

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณเรสเวอราทอลในสารสกัดจากองุ่น ทำด้วยเครื่อง HPLC โดยสร้างกราฟมาตรฐานเรสเวอราทอล มีรายละเอียดวิธีการแสดงในภาคผนวก ง

#### 3.4.11 การวิเคราะห์ปริมาณคาเทชิน

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณคาเทชินในสารสกัดจากองุ่น ทำด้วยเครื่อง HPLC เช่นกัน โดยการสร้างกราฟมาตรฐานของคาเทชิน รายละเอียดคอลัมน์และสภาวะที่ใช้วัดแสดงในภาคผนวก จ

#### 3.4.12 การวิเคราะห์ความสามารถต้านอนุมูลอิสระ

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากองุ่นในการทดลองนี้ใช้วิธีการ DPPH scavenging activity (Murakami et al., 2004) รายละเอียดวิธีการแสดงในภาคผนวก ฉ

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาทางกายของกากองุ่นพันธุ์ปักดำ โดยหาร้อยละส่วนของเปลือก เมล็ด และหาปริมาณความชื้น เพื่อให้ทราบถึงปริมาณของส่วนต่างๆ ของกากองุ่นที่เหลือจากกระบวนการผลิตไวน์ (บริษัทสยามไวน์เนอรี่) พบว่าหลังจากนำกากองุ่นที่เหลือจากกระบวนการผลิตไวน์มาอบแห้งและแยกส่วน เปลือก เมล็ด และส่วนอื่นๆ (ก้านและใบ) แสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่ากากองุ่นเมื่อแยกส่วนที่เป็นเปลือกและเมล็ดออกจากกันแล้ว มีปริมาณของเมล็ดคองุ่นอยู่สูงถึง 78.2% และส่วนของเปลือกองุ่นอยู่ 12.8% จะสังเกตได้ว่าพบเมล็ดคองุ่นในปริมาณที่สูงเนื่องจากองุ่นพันธุ์ปักดำจะเป็นองุ่นที่มีเมล็ดอยู่ในผลมากถึง 2-4 เมล็ด จึงให้มีเมล็ดที่เหลือจากกระบวนการผลิตไวน์อยู่สูง

ความชื้นของกากองุ่นหลังผ่านการอบให้แห้งที่ 60 °ซ นาน 10 ชั่วโมง พบว่ามีความชื้นอยู่ร้อยละ 9.34

ตารางที่ 4.1 ปริมาณส่วนประกอบและความชื้นของกากองุ่นตัวอย่าง

Component	Percentage (%)
Grape pomace	
- Peel	12.80±0.42
- Seed	78.20±0.21
- Other	8.00±0.15
Moisture content	9.34±0.12

#### 4.1 การทดลองอัตราส่วนปริมาตรการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกต่อกำลังไฟฟ้า

ปริมาตรของการสกัดตัวอย่างต่อกำลังไฟฟ้าที่ใช้สกัด 200 W โดยควบคุมการสกัดที่สภาวะเดียวกัน คือใช้คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 40 kHz ใช้อัตราส่วนผงกากองุ่นต่อตัวทำละลายเอทานอล (47.5%) 1:9 น้ำหนักต่อปริมาตรใช้เวลาสกัด 60 นาที เปรียบเทียบการสกัดที่ปริมาตรครั้งละ 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิลิตร กำลังไฟฟ้าที่ใช้สำหรับกำเนิดคลื่นอัลตราโซนิกเท่ากับ 200 วัตต์ ซึ่งเทียบเท่ากับอัตราส่วนกำลังไฟฟ้า 1.00, 0.50, 0.33, 0.25 และ 0.20 วัตต์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ได้ผลการทดลองดังนี้

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารสกัดจากการสกัดปริมาตร 200-1000 มิลลิลิตร

Volume (ml)	Power Ratio (W/ml)	Total Solids* (%)	Anthocyanin* (mg/g sample)	Polyphenol* ( $\mu\text{g GE/g sample}$ )	Antioxidant Activity* (%)
200	1.00	3.20 $\pm$ 0.24 <sup>d</sup>	49.56 $\pm$ 1.79 <sup>b</sup>	1133.96 $\pm$ 4.51 <sup>d</sup>	21.63 $\pm$ 0.81 <sup>d</sup>
400	0.50	2.99 $\pm$ 0.11 <sup>c</sup>	46.55 $\pm$ 1.34 <sup>a</sup>	1015.32 $\pm$ 2.16 <sup>c</sup>	21.20 $\pm$ 0.15 <sup>cd</sup>
600	0.33	2.92 $\pm$ 0.99 <sup>bc</sup>	44.76 $\pm$ 1.35 <sup>a</sup>	1015.97 $\pm$ 0.46 <sup>c</sup>	20.51 $\pm$ 0.26 <sup>c</sup>
800	0.25	2.79 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>	44.86 $\pm$ 1.74 <sup>a</sup>	831.77 $\pm$ 3.20 <sup>a</sup>	19.21 $\pm$ 0.90 <sup>b</sup>
1000	0.20	2.84 $\pm$ 0.63 <sup>ab</sup>	44.76 $\pm$ 1.01 <sup>a</sup>	805.51 $\pm$ 2.53 <sup>b</sup>	17.40 $\pm$ 0.92 <sup>a</sup>

\* อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงค่าตัวเลขที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การสกัดตัวอย่างที่ปริมาตร 200 มิลลิลิตร มีปริมาณของแข็งทั้งหมด, ปริมาณสารแอนโทไซยานิน, ปริมาณสารประกอบฟีนอลและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับปริมาตรอื่น โดยพบว่ามีความสูงกว่าแสดงว่าที่ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เครื่องสกัดจะทำงานอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด เนื่องจากมีอัตราส่วนกำลังไฟฟ้าต่อปริมาตรสูงสุด หรือคิดเทียบกันแล้วมีค่า 1 วัตต์ต่อมิลลิลิตร ขณะที่ในอัตราส่วนอื่น มีอัตราส่วนกำลังไฟฟ้าต่อมิลลิลิตรต่ำกว่าค่อนข้างมาก ในระหว่างกระบวนการสกัด ที่ระดับปริมาตร 200 มิลลิลิตร ต่อกำลังไฟฟ้า 200 W ทำให้เกิดอุณหภูมิสูงกว่าการสกัดที่ระดับปริมาตรอื่นมาก โดยมีอุณหภูมิสูงสุดถึง 79.7 °ซ เปรียบเทียบกับการสกัดที่ปริมาตร 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิลิตร/ 200 วัตต์ ที่มีอุณหภูมิ 68.8, 61.0, 51.5 และ 48.3 °ซ ตามลำดับ (ภาพที่ 4.1) การเพิ่มของอุณหภูมิระหว่างการสกัดมีลักษณะเป็นเส้นโค้งขึ้น แสดงถึงอัตราการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิมิมีแนวโน้มลดลงเมื่อเวลาผ่านไป และจะเข้าสู่จุดสมดุล เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจนมีระดับคงที่ในที่สุด อัตราส่วนกำลังไฟฟ้าที่สารตัวอย่างได้รับมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิของสารในถังสกัด และมีผลต่อปริมาณสารต่าง ๆ ที่สกัดได้ด้วย ดังจะได้อธิบายต่อไป



ภาพที่ 4.1 กราฟความสัมพันธ์อุณหภูมิกับเวลาการสกัดปริมาตร 200-1000 มิลลิลิตร

คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 40 kHz ให้ปริมาณของของแข็งทั้งหมดที่ได้จากการสกัดตัวอย่าง ปริมาตรต่างๆ โดยวิเคราะห์หาปริมาณโดยเฉลี่ยของของแข็งทั้งหมดโดยใช้ตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส (ภาคผนวก ก) ดังที่รายงานโดย AOAC (1990) นำหนักที่ได้นำไปคำนวณหาปริมาณของแข็งทั้งหมด ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.2 ปริมาณโดยเฉลี่ยของของแข็งทั้งหมดสกัดที่ ปริมาตรต่างๆมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% มีความสัมพันธ์กับ ปริมาณสารแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอล และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังได้กล่าวมาแล้วว่า ปริมาตรที่แตกต่างกัน สามารถสกัดปริมาณของแข็งทั้งหมดได้แตกต่างกัน เมื่อคิดเป็นร้อยละจะอยู่ใน ช่วงใกล้เคียงกันคือ 2.86-3.28 % เมื่อเปรียบเทียบผลของปริมาตรที่ 200 400 และ 600 มิลลิลิตร จะมีความแตกต่างกันไม่มากนัก การสกัดด้วยปริมาตรมากกว่าต่อกำลังไฟฟ้าเท่ากันจึงมีความคุ้มค่ากว่า เพราะสกัดได้ปริมาตรต่อครั้งมากกว่า จึงช่วยลดเวลาและพลังงานที่ใช้ได้

สารแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากปริมาตรต่างๆ โดยนำสารสกัดไปวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานินโดยวิธี pH-different (Giusti and Wrolstad, 2001) คำนวณเป็นค่าเฉลี่ย ผลที่ได้แสดงใน ตารางที่ 4.2 ก่อนหน้านี้ พบว่าปริมาณโดยเฉลี่ยของสารแอนโทไซยานินจากการสกัดปริมาตร 200 มิลลิลิตรมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับปริมาตร 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิลิตร โดยปริมาณสูงกว่าจากระดับอื่นเล็กน้อย โดยมีค่าอยู่ในช่วง 44.8-49.6

ปริมาณฟีนอลได้จากการนำสารสกัดไปวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลโดยดัดแปลงวิธีจาก Singleton and Rossi (1999) โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก นำค่าที่ได้ไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลในหน่วย ไมโครกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง วิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าปริมาณ โดยเฉลี่ยสารประกอบฟีนอลจากการสกัดปริมาตร 200 มิลลิลิตรมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับปริมาตร 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิลิตร ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.2

การต้านอนุมูลอิสระวิเคราะห์โดยดัดแปลงจากวิธีที่รายงานโดย Murakami และคณะ (2004) เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐาน จากนั้นนำไปคำนวณหาค่าเฉลี่ยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระคิดเป็นร้อยละ วิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.2 ก่อนหน้านี้

ผลการวิเคราะห์ทางเคมี จากการสกัดที่ปริมาตร 200 มิลลิลิตร มีปริมาณสูงที่สุด แต่เมื่อพิจารณาจากอุณหภูมิที่เกิดขึ้นในภาพที่ 4.1 ก่อนหน้านี้ จะเห็นว่าที่ปริมาตร 200 มิลลิลิตรมีอุณหภูมิสูงถึง 79.7 °ซ ซึ่ง เป็นอุณหภูมิที่สูงกว่าจุดเดือดของเอธานอล 47.5% (Clark, 2009) จึงพิจารณาการสกัดที่ปริมาตร 400-1000 มิลลิลิตร พบว่าปริมาณสารแอนโทไซยานินที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แต่ปริมาณโดยเฉลี่ยของสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้จากปริมาตร 400 และ 600 มิลลิลิตร มีปริมาณ  $1,015.32 \pm 2.157$  และ  $1015.97 \pm 0.457$  ไมโครกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม น้ำหนักแห้งตามลำดับ ซึ่งมากกว่าการสกัดตัวอย่างที่ปริมาตร 800 และ 1000 มิลลิลิตร ซึ่งมีปริมาณโดยเฉลี่ยของสารประกอบฟีนอลเท่ากับ  $831.77 \pm 3.196$  และ  $805.51 \pm 2.533$  ไมโครกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม น้ำหนักแห้งตามลำดับดังตารางที่ 4.1 และเมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสกัดตัวอย่างที่ปริมาตร 400 และ 600 มิลลิลิตรจากตารางที่ 4.2 เห็นได้ว่าไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เช่นเดียวกับปริมาณของแข็งทั้งหมดเฉลี่ย เมื่อพิจารณาถึงอุณหภูมิที่เกิดขึ้นระหว่างการสกัดตามภาพที่ 4.1 พบว่าที่ปริมาตร 400 มิลลิลิตร มีอุณหภูมิสูง 68.8 °ซ เมื่อสกัดครบ 1 ชั่วโมง ขณะที่การสกัดที่ปริมาตร 600 มิลลิลิตร มีอุณหภูมิ 61 °ซ ใกล้เคียงกับอุณหภูมิการสกัดจากองุ่นรายงานโดย (Romero-Perez et al., 2001; Lafka et al., 2007; Spigno et al., 2007) สรุปได้ว่าการสกัดที่ปริมาตร 600 มิลลิลิตร ทำให้ได้สารสกัดที่มีผลการวิเคราะห์ทางเคมีโดยเฉลี่ยสูง โดยมีอุณหภูมิที่เกิดขึ้นใกล้เคียงกับการสกัดด้วยความร้อน ปริมาตร 600 มิลลิลิตร จึงเป็นตัวเลือกที่เหมาะสมในการสกัดด้วยอัลตราโซนิก 40 kHz กำลังไฟฟ้า 200 วัตต์ และจะนำผลนี้ไปปรับใช้กับการสกัดด้วยอัลตราโซนิกในงานวิจัยนี้

#### 4.2 การทดลองความถี่คลื่นอัลตราโซนิก เปรียบเทียบกับการใช้ความร้อนในการสกัด

การสกัดใช้สภาวะเดียวกัน คือปริมาตรสกัด 600 มิลลิลิตร อัตราส่วนผงกากองุ่นต่อตัวทำละลายเอธานอล (47.5%, v/v) เท่ากับ 1:9 และใช้เวลาในการสกัด 1 ชั่วโมง สกัดตัวอย่างด้วยคลื่นอัลตราโซนิกใช้ความถี่ที่ 20, 40 และ 60 kHz เปรียบเทียบกับการสกัดด้วยความร้อน (Water bath) โดยไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกแต่ควบคุมอุณหภูมิเทียบเท่ากับอุณหภูมิที่เกิดจากเครื่องสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก W(20), W(40) และ W(60) ตามลำดับ ซึ่งได้ผลการทดลองแสดงในตาราง 4.3 ข้างล่างนี้

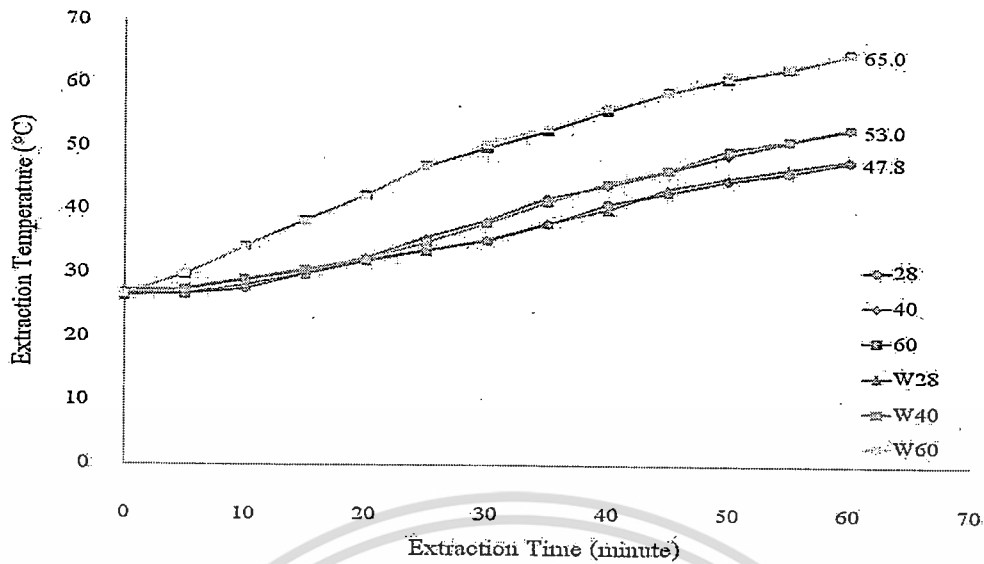
ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารสกัดที่ความถี่ 20, 40 และ 60 kHz เปรียบเทียบกับไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิก

Frequency **(kHz)	Total Solids* (%)	Anthocyanin* (mg/g sample)	Polyphenol* (µg GE/g sample)	Antioxidant Activity* (%)
20	2.77±0.05 <sup>bc</sup>	45.27±0.18 <sup>e</sup>	960.51±4.90 <sup>d</sup>	25.22±1.32 <sup>b</sup>
W(20)	2.64±0.13 <sup>ab</sup>	40.67±0.08 <sup>a</sup>	792.50±2.11 <sup>a</sup>	23.81±0.79 <sup>ab</sup>
40	2.91±0.05 <sup>c</sup>	43.59±0.23 <sup>d</sup>	1087.86±6.23 <sup>c</sup>	29.52±0.50 <sup>d</sup>
W(40)	2.58±0.06 <sup>a</sup>	41.06±0.47 <sup>a</sup>	847.97±2.11 <sup>b</sup>	22.87±0.44 <sup>a</sup>
60	2.90±0.07 <sup>c</sup>	43.01±0.34 <sup>c</sup>	1090.44±3.11 <sup>c</sup>	27.42±0.52 <sup>c</sup>
W(60)	2.74±0.19 <sup>abc</sup>	41.84±0.21 <sup>b</sup>	947.95±2.04 <sup>c</sup>	27.65±0.50 <sup>c</sup>

\* อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงค่าตัวเลขที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\*\* W(f) หมายถึง การสกัดด้วยอุณหภูมิโดยไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิก ด้วยอุณหภูมิเทียบเท่าความถี่คลื่นอัลตราโซนิก (f) นั้น

การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกความถี่ที่ 20, 40 และ 60 kHz กับ การสกัดด้วยความร้อน (Water bath) โดยไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่อุณหภูมิเทียบเท่ากับอุณหภูมิที่เกิดจากเครื่องสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกที่ W(20), W(40) และ W(60) สร้างกราฟเปรียบเทียบอุณหภูมิตั้งแต่เริ่มต้นจนถึง 60 นาที อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิสามารถควบคุมอุณหภูมิระหว่างการสกัดให้เทียบเท่ากับอุณหภูมิที่เกิดขึ้นจากเครื่องสกัดอัลตราโซนิก ทั้งนี้เพื่อให้เห็นอิทธิพลของคลื่นอัลตราโซนิกต่อผลการวิเคราะห์เคมีของสารสกัดเปรียบเทียบกับของความร้อนระหว่างการสกัด



ภาพที่ 4.2 กราฟความสัมพันธ์อุณหภูมิกับเวลาการสกัดอัลตราโซนิกเปรียบเทียบกับความร้อน

ปริมาณของแข็งทั้งหมดเฉลี่ยที่ได้จากการสกัดที่อัลตราโซนิกความถี่ต่างๆเทียบกับการสกัดด้วยความร้อน (Water bath) โดยไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่สภาวะเดียวกัน ปริมาณของแข็งทั้งหมดจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยความร้อนที่อุณหภูมิเทียบเท่าความถี่ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกจะได้ปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงกว่าการสกัดด้วยความร้อนที่สภาวะเดียวกัน (ตารางที่ 4.3)

ปริมาณโดยเฉลี่ยของสารแอนโธไซยานิน จากการสกัดด้วยอัลตราโซนิกที่ความถี่ เปรียบเทียบกับการสกัดด้วยความร้อน (Water bath) ที่สภาวะเดียวกันโดยไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิก เมื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าปริมาณสารแอนโธไซยานินจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยความร้อน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกจะได้ปริมาณโดยเฉลี่ยของสารแอนโธไซยานินสูงกว่าการสกัดด้วยความร้อน ผลการทดลองที่ได้แสดงในตารางที่ 4.3 ก่อนหน้านี้

ปริมาณสารประกอบฟีนอลจากการสกัด เทียบกับการสกัดด้วยความร้อน (Water bath) ที่สภาวะเดียวกันโดยไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิก ปริมาณสารประกอบฟีนอลจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยความร้อนที่อุณหภูมิเทียบเท่าความถี่ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกจะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลเฉลี่ยสูงกว่าการไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิก และเมื่อเทียบผล ระหว่างการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก พบว่าที่ความถี่ 40 และ 60 kHz ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และมีค่าสูงกว่าที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ต ผลการทดลองที่ได้แสดงในตารางที่ 4.3

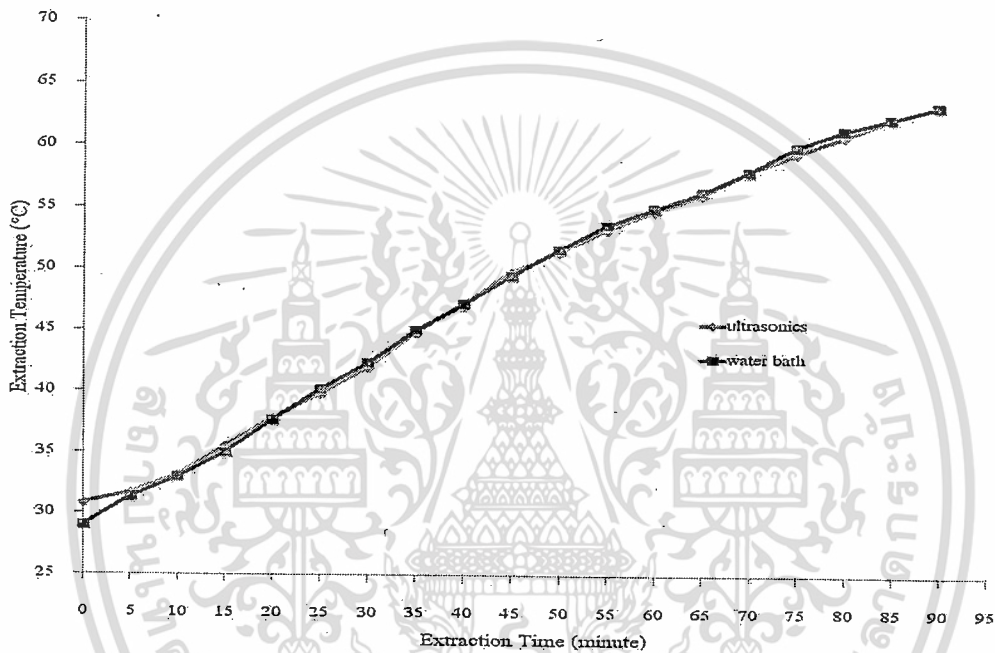
ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากการสกัดด้วยอัลตราโซนิก เทียบกับการสกัดด้วยความร้อน (Water bath) ที่สภาวะเดียวกันโดยไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิก ค่าเฉลี่ยของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก เปรียบเทียบกับการสกัดด้วยความร้อนในสภาวะเดียวกัน โดยการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกที่ความถี่ 60 kHz เมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยความร้อนในสภาวะเดียวกัน (W(60)) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจะมีค่าสูงสุดเมื่อสกัดด้วยความถี่ 40 kHz ผลการทดลองที่ได้แสดงในตารางที่ 4.3

การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกและการไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิก โดยควบคุมด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิมีอุณหภูมิเทียบเท่ากัน การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกจะมีปริมาณโดยเฉลี่ยของสารมากกว่าการสกัดโดยไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิก โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังแสดงในตารางที่ 4.3 เมื่อเปรียบเทียบผลระหว่างการสกัดโดยไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกด้วยกัน พบว่าการสกัดด้วยความร้อนอุณหภูมิเทียบเท่าความถี่ 60 kHz (W(60)) ได้ปริมาณโดยเฉลี่ยของสารสูงที่สุด โดยมีปริมาณโดยเฉลี่ยของแอนโทไซยานินเท่ากับ  $41.84 \pm 0.21$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณโดยเฉลี่ยของสารประกอบฟีนอล  $947.95 \pm 2.04$  ไมโครกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยเฉลี่ยร้อยละ  $27.65 \pm 0.50$  และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับการสกัดด้วยความร้อนอุณหภูมิเทียบเท่าความถี่ 20 (W(20)) และ 40 (W(40)) kHz ซึ่งได้ปริมาณโดยเฉลี่ยของสารแอนโทไซยานินเท่ากับ  $40.67 \pm 0.08$  และ  $41.06 \pm 0.47$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณโดยเฉลี่ยของสารประกอบฟีนอล  $792.50 \pm 2.11$  และ  $847.97 \pm 2.11$  ไมโครกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ  $23.81 \pm 0.79$  และ  $22.87 \pm 0.44$  ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบผลการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกด้วยกัน พบว่าปริมาณโดยเฉลี่ยของสารแอนโทไซยานินที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ต มีปริมาณเท่ากับ  $45.27 \pm 0.18$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ภาพที่ 4.8) โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับความถี่ 40 และ 60 kHz เมื่อพิจารณาปริมาณโดยเฉลี่ยของสารประกอบฟีนอลที่ความถี่ 20 kHz มีค่าเท่ากับ  $960.51 \pm 4.90$  ไมโครกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับที่ความถี่ 40 และ 60 kHz ซึ่งได้ปริมาณ  $1,087.86 \pm 6.23$  และ  $1,090.44 \pm 3.11$  ไมโครกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนค่าเฉลี่ยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากความถี่ 40 kHz นั้นมีร้อยละการทำลายสาร DPPH เท่ากับ  $29.52 \pm 0.50$  โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับความถี่ 20 และ 60 กิโลเฮิร์ต

#### 4.3 การทดลองเวลาการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก

การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 40 kHz กับการสกัดด้วยความร้อน (Water bath) โดยไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกแต่ควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในสภาวะเดียวกัน ใช้เวลาในการสกัดตั้งแต่ 15, 30, 45, 60 และ 90 นาทีตามลำดับ การหาผลของเวลาที่เหมาะสม สร้างกราฟเปรียบเทียบอุณหภูมิตั้งแต่เริ่มต้นจนถึง 90 นาที ดังแสดงในภาพที่ 4.3 จะเห็นได้ว่าอย่างน้อยน้ำควบคุมอุณหภูมิสามารถควบคุมอุณหภูมิระหว่างการสกัดให้เทียบเท่ากับอุณหภูมิที่เกิดขึ้นจากเครื่องสกัดอัลตราโซนิก ทั้งนี้เพื่อให้เห็นอิทธิพลของคลื่นอัลตราโซนิกต่อผลการวิเคราะห์เคมีของสารสกัดเปรียบเทียบกับของความร้อนระหว่างการสกัด



ภาพที่ 4.3 กราฟความสัมพันธ์อุณหภูมิกับเวลาการสกัด

ปริมาณของแข็งทั้งหมด การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก เปรียบเทียบกับการสกัดด้วยความร้อน (Water bath) ที่สภาวะเดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกได้ปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงกว่าการสกัดด้วยความร้อนที่สภาวะเดียวกัน ผลการทดลองที่ได้แสดงในตารางที่ 4.4

สารแอนโทไซยานินจาก พบว่าปริมาณสารแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดด้วยอัลตราโซนิก เปรียบเทียบกับการสกัดด้วยความร้อนที่สภาวะเดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยการสกัดด้วยคลื่น อัลตราโซนิกจะได้ปริมาณ โดยเฉลี่ยของสารแอนโทไซยานินคง ที่ตั้งแต่เวลา 45 นาทีแรกของการสกัด แต่การสกัดด้วยความร้อนที่สภาวะเดียวกัน แอนโทไซยานิน เพิ่มขึ้นจนถึงเวลา 90 นาที ผลการทดลองที่ได้แสดงในตารางที่ 4.4

สารประกอบฟีนอล เปรียบเทียบการสกัดด้วยอัลตราโซนิกกับการสกัดด้วยความร้อน (Water bath) ที่สภาวะเดียวกัน ปริมาณสารประกอบฟีนอลจากการสกัดด้วยอัลตราโซนิก มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกจะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงกว่า การสกัดด้วยความร้อนที่สภาวะเดียวกัน โดยการสกัดด้วยความร้อนที่สภาวะเดียวกันเป็นเวลา 90 นาที ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 45 นาที ดังผลการทดลองที่ได้ แสดงในตารางที่ 4.4 แสดงให้เห็นว่าการสกัดด้วยอัลตราโซนิกเป็นระยะเวลา 45 นาที ได้สารประกอบฟีนอลเทียบเท่ากับการสกัดด้วยความร้อน 90 นาที อาจสรุปได้ว่าการสกัดด้วยอัลตราโซนิก ช่วยลดระยะเวลาการสกัดสารประกอบฟีนอลในกากองุ่นได้เป็นอย่างดี

ความสามารถการต้านอนุมูลอิสระจากการสกัดกากองุ่นด้วยอัลตราโซนิก เปรียบเทียบกับการสกัดด้วยความร้อน (Water bath) ที่สภาวะเดียวกัน ที่ช่วงเวลาเดียวกัน พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากการสกัดด้วยคลื่น อัลตราโซนิกเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยความร้อนที่สภาวะเดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ผลการทดลองที่ได้แสดงผลในตารางที่ 4.4 และเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระคิดเป็นไมโครกรัมโทรลอคซ์ต่อกรัม น้ำหนักแห้ง พบว่าการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก เป็นเวลา 45 นาที ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับการสกัดด้วยความร้อนที่อุณหภูมิเทียบเท่ากับความถี่ (Water bath) เป็นเวลา 90 นาที ผลที่ได้นี้เป็นไปในทำนองเดียวกันกับปริมาณสารประกอบฟีนอล กล่าวคือการสกัดด้วยอัลตราโซนิก สามารถช่วยลดระยะเวลาการสกัดได้ดี

กาหาปริมาณสารสกัดที่ระยะเวลาสกัด 0 – 90 นาที เปรียบเทียบระหว่างการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 40 kHz กับการสกัดด้วยความร้อน (Water bath) ในสภาวะเดียวกัน พบว่าปริมาณสารแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอล และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการใช้คลื่นอัลตราโซนิกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะเวลา 45 นาทีแรก หลังจากนั้นมีการเพิ่มขึ้นน้อยมาก ในขณะที่การสกัดด้วยความร้อน ปริมาณสารแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอล และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่สกัดได้มีค่าเพิ่มขึ้นตลอดจนถึงเวลา 90 นาที การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 45 นาที มีปริมาณสารแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอล และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับการสกัดด้วยความร้อนเป็นเวลา 90 นาที โดยการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 45 นาที มีปริมาณ โดยเฉลี่ยของสารแอนโทไซยานินเท่ากับ  $43.68 \pm 0.56$  มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ปริมาณโดยเฉลี่ยของสารประกอบฟีนอลเท่ากับ  $1,119.78 \pm 8.99$  ไมโครกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ค่าเฉลี่ยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระคิดเป็นร้อยละ  $31.85 \pm 0.03$  และเท่ากับ  $39,233.74 \pm 20.02$  ไมโครกรัมโทรลอคซ์ต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ดังแสดงผลในตารางที่ 4.3 ซึ่งผลที่ได้ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับการสกัดด้วยความร้อนเป็นเวลา 90 นาที ได้ปริมาณสารแอนโทไซยานินเท่ากับ  $43.72 \pm 0.71$  มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ปริมาณ โดยเฉลี่ยของสารประกอบฟีนอลเท่ากับ  $1141.54 \pm 73.66$  ไมโครกรัมสมมูลย์ของ

กรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และค่าเฉลี่ยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระร้อยละ  $31.49 \pm 0.40$  และเท่ากับ  $37,620.86 \pm 581.62$  ไมโครกรัมโทรลออกซ์ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

เมื่อเปรียบเทียบการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคด้วยกันพบว่าปริมาณสารแอนโทไซยานินและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสกัดที่ 45 นาทีกับการสกัดที่ 60 และ 90 นาที ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังนั้นจึงระยะเวลาสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคเป็นเวลา 45 นาที อาจสรุปได้ว่าเป็นช่วงระยะเวลาที่เหมาะสม เนื่องจากหลังจาก 45 นาทีแล้ว ปริมาณสารที่สกัดได้เพิ่มขึ้นน้อยมาก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ปริมาณสารสกัดด้วยอัลตราโซนิคกับด้วยความร้อนที่สภาวะเดียวกัน

Extraction	Extract	Total Solids (%)*	Anthocyanin* (mg/g sample)	Polyphenol* (µg GE/g sample)	Antioxidant Activity* (%)	Antioxidant Activity* (µg TE/g sample) <sup>ns</sup>
Ultrasonic	15	2.46±0.05 <sup>b</sup>	36.91±0.49 <sup>ab</sup>	844.71±42.66 <sup>ab</sup>	25.93±0.61 <sup>b</sup>	20385.59±59.66 <sup>b</sup>
	30	2.63±0.08 <sup>d</sup>	40.56±1.27 <sup>c</sup>	978.96±54.11 <sup>cd</sup>	30.24±0.48 <sup>d</sup>	33592.00±21.72 <sup>d</sup>
	45	2.76±0.03 <sup>c</sup>	43.68±0.56 <sup>c</sup>	1119.78±8.99 <sup>c</sup>	31.85±0.03 <sup>ef</sup>	39233.74±20.02 <sup>e</sup>
	60	2.85±0.07 <sup>f</sup>	42.61±0.76 <sup>dc</sup>	1158.43±37.12 <sup>ef</sup>	32.51±0.16 <sup>f</sup>	39461.07±163.36 <sup>e</sup>
	90	2.97±0.04 <sup>g</sup>	42.27±0.92 <sup>cd</sup>	1234.20±93.70 <sup>f</sup>	34.04±0.31 <sup>g</sup>	39336.37±232.32 <sup>e</sup>
Water bath	15	2.38±0.04 <sup>a</sup>	35.95±0.18 <sup>a</sup>	773.18±43.65 <sup>a</sup>	20.13±0.39 <sup>a</sup>	25713.91±596.85 <sup>a</sup>
	30	2.56±0.04 <sup>c</sup>	38.33±2.69 <sup>b</sup>	916.15±15.70 <sup>bc</sup>	25.48±0.64 <sup>b</sup>	29568.63±164.21 <sup>c</sup>
	45	2.64±0.04 <sup>d</sup>	40.85±0.30 <sup>cd</sup>	979.62±7.05 <sup>cd</sup>	29.45±0.62 <sup>c</sup>	33193.05±340.73 <sup>d</sup>
	60	2.77±0.09 <sup>e</sup>	41.90±0.86 <sup>cd</sup>	1037.33±56.55 <sup>d</sup>	29.74±0.58 <sup>cd</sup>	35660.99±544.92 <sup>e</sup>
	90	2.80±0.05 <sup>ef</sup>	43.72±0.71 <sup>e</sup>	1141.54±73.66 <sup>e</sup>	31.49±0.39 <sup>e</sup>	37620.86±581.62 <sup>f</sup>

\* อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%  
ns ค่าตัวเลขในแนวตั้งเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95

#### 4.4 การทดลองการสกัดด้วยอัลตราโซนิค และอัลตราโซนิคช่วยสกัดร่วมกับความร้อน

การหาผลของเวลาที่เหมาะสมในการสกัด เปรียบเทียบการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค กับ อัลตราโซนิคช่วยการสกัดร่วมกับความร้อน (Water bath) ที่ความถี่ 20 และ 40 kHz ใช้เวลาในการช่วยสกัดตั้งแต่ 5, 10, 15, 20, 25, 30 และ 60 นาทีตามลำดับ การสกัดใช้สภาวะเดียวกัน คือปริมาตรสกัด 600 มิลลิลิตร อัตราส่วนผงกากองุ่นต่อตัวทำละลายเอทานอล (47.5%, v/v) เท่ากับ 1:9 ตามด้วยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา -30 นาที

##### 4.4.1 องค์ประกอบทางกายภาพของสารสกัดกากองุ่น

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางกายภาพของสารสกัดจากองุ่นจะแสดงผลดังตารางที่ 4.5 พบว่า ค่าสีที่วัดได้สามารถบอกราคาด้านอนุมูลอิสระได้เช่นเดียวกัน เนื่องจากสีของสารสกัดองุ่นเป็น เม็ดสีที่ถูกสกัดออกมาได้จากเปลือกองุ่น ส่วนมากสารกลุ่มนี้จะเป็นสารในกลุ่มพลาโคโนเจน เป็นสารที่ให้สีม่วง (Liang, 2008) ความเสถียรของสีในน้ำองุ่นขึ้นอยู่กั pH, อุณหภูมิ และ ออกซิเจน จากการศึกษาค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  ที่ความถี่เดียวกัน และเวลาในการสกัดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ที่ความถี่ต่างกันค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อพิจารณาค่า  $L^*$  พบว่า การสกัดที่ความถี่ 20 kHz จะให้ระดับความเข้มของสารสกัดสูงกว่าการสกัดที่ 40 kHz และที่ความถี่ 40 kHz ช่วงการสกัดที่ใช้ระยะเวลาสั้น 5 -15 นาที ให้ความเข้มสีของสารสกัดกากองุ่นน้อยที่สุด เมื่อดูค่า Hue จากการทดลองพบว่าอยู่ในช่วง 0.5 – 0.67 สรุปได้ว่าสารสกัดองุ่นที่ได้ออกสีม่วงแดง โดยมีผลสอดคล้องกับ Liang และคณะ (2008) ซึ่งค่าสีที่ได้จากการสกัดสารสกัดองุ่นจากพันธุ์ที่ต่างกันและเวลาในการสกัดต่างกันจะให้ค่าสีที่ได้ต่างกันด้วยเช่นกัน จากการวิเคราะห์พบว่า ค่า pH ของสารสกัดกากองุ่นที่สกัดในความถี่และเวลาต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.5 ระดับของ pH จะส่งผลต่อค่าสีและปริมาณแอนโทไซยานิน จากผลการทดลองค่า pH ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงค่าสีและปริมาณแอนโทไซยานิน จึงไม่เกี่ยวเนื่องกัน นอกจากนี้ค่า pH มีความสัมพันธ์กันปริมาณโพลีฟีนอลเช่นเดียวกัน เนื่องจากสารประกอบโพลีฟีนอลบางตัวมีฤทธิ์เป็นกรดเช่น ปริมาณกรดแกลลิก กรดคาเฟอิก กรดซินนาปิก และกรดเฟอร์ูลิก เป็นต้น

จากการศึกษาปริมาณโดยเฉลี่ยของแข็งทั้งหมดที่ได้จากการสกัดตัวอย่างด้วยคลื่นอัลตราโซนิค ในอัตราส่วน 9:1 ด้วยเอทานอล 50% โดยนำสารสกัดที่ได้วิเคราะห์ปริมาณโดยเฉลี่ยของของแข็งทั้งหมด ดังที่รายงานโดย AOAC (1990) นำหนักที่ได้นำไปคำนวณปริมาณโดยเฉลี่ยของของแข็งทั้งหมด ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.5 จากการวิเคราะห์พบว่า ปริมาณโดยเฉลี่ยของของแข็งทั้งหมดที่สกัดในความถี่และเวลาต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4.5 วิเคราะห์ค่า L\*, a\*, b\*, Hue, pH และค่า Total solid ของสารสกัดจากองุ่น

Frequency	Extract	L*	a*	b*	Hue	pH <sup>ms</sup>	Total solid <sup>ms</sup>
20 kHz	5	30.88±0.33 <sup>ab</sup>	26.47±0.22 <sup>ab</sup>	8.52±0.23 <sup>bc</sup>	0.50±0.19 <sup>a</sup>	4.43	14.89±1.50
	10	31.45±1.18 <sup>ab</sup>	26.51±0.20 <sup>ab</sup>	8.66±0.25 <sup>bc</sup>	0.51±0.12 <sup>a</sup>	4.45	15.14±1.80
	15	30.15±1.31 <sup>ab</sup>	26.93±0.18 <sup>a</sup>	9.07±0.1 <sup>abc</sup>	0.52±0.17 <sup>ab</sup>	4.43	15.38±1.71
	20	30.52±1.12 <sup>ab</sup>	26.76±0.14 <sup>ab</sup>	8.91±0.27 <sup>abc</sup>	0.52±0.15 <sup>ab</sup>	4.42	15.48±1.96
	25	29.54±0.96 <sup>a</sup>	26.38±0.29 <sup>ab</sup>	8.57±0.16 <sup>bc</sup>	0.51±0.18 <sup>a</sup>	4.50	15.64±1.53
	30	29.48±1.02 <sup>a</sup>	26.63±0.21 <sup>ab</sup>	9.23±0.10 <sup>abc</sup>	0.54±0.14 <sup>ab</sup>	4.43	14.81±1.90
40 kHz	60	29.41±0.70 <sup>a</sup>	26.73±0.12 <sup>ab</sup>	8.71±0.10 <sup>bc</sup>	0.51±0.17 <sup>a</sup>	4.49	15.33±1.81
	5	31.96±0.48 <sup>b</sup>	23.06±0.46 <sup>cd</sup>	9.51±0.63 <sup>abc</sup>	0.64±0.36 <sup>c</sup>	4.47	13.25±0.56
	10	31.84±1.85 <sup>b</sup>	25.20±0.20 <sup>abc</sup>	9.43±0.94 <sup>abc</sup>	0.64±0.22 <sup>c</sup>	4.42	13.65±0.69
	15	32.19±0.99 <sup>b</sup>	23.70±0.11 <sup>cd</sup>	9.90±0.44 <sup>a</sup>	0.65±0.31 <sup>c</sup>	4.44	13.49±0.46
	20	31.07±0.27 <sup>ab</sup>	24.21±0.38 <sup>cd</sup>	9.78±0.57 <sup>ab</sup>	0.63±0.23 <sup>c</sup>	4.52	13.88±0.80
	25	30.90±1.60 <sup>ab</sup>	24.32±0.26 <sup>cd</sup>	9.52±1.03 <sup>abc</sup>	0.67±0.27 <sup>c</sup>	4.48	14.25±0.84
30		30.46±1.51 <sup>ab</sup>	24.81±1.68 <sup>bcd</sup>	8.90±0.33 <sup>abc</sup>	0.57±0.17 <sup>b</sup>	4.46	14.41±1.11
	60	31.19±0.88 <sup>ab</sup>	24.23±0.81 <sup>d</sup>	9.34±1.15 <sup>abc</sup>	0.63±0.02 <sup>c</sup>	4.45	14.29±1.33

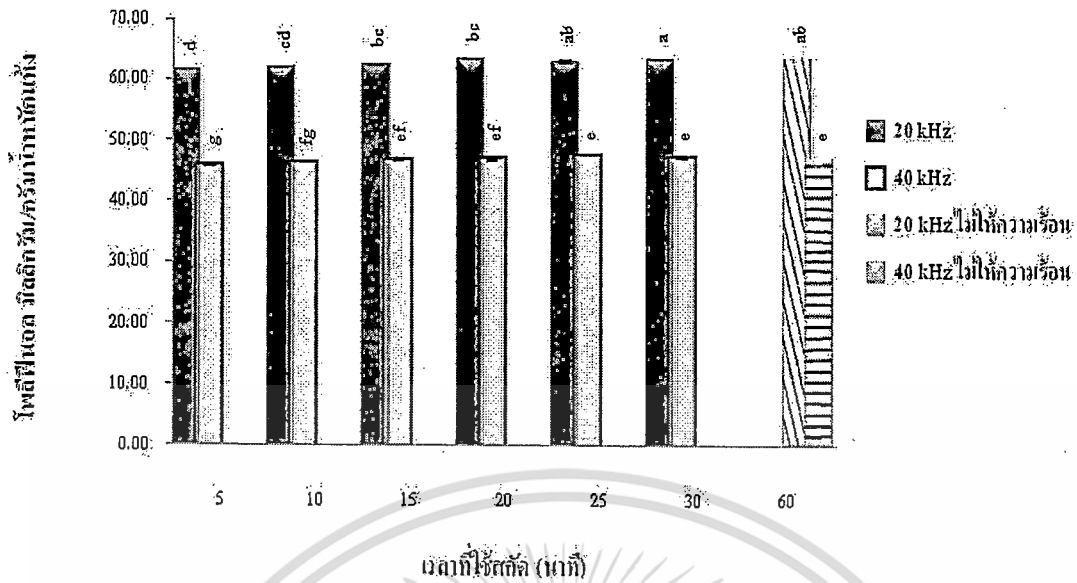
\* อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงค่าตัวเลขที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ms ค่าตัวเลขในแนวตั้งเดียวกัน ไม่มีค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95

#### 4.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณโพสตีฟีนอลทั้งหมดในกากองุ่น

จากการวิเคราะห์ปริมาณโพสตีฟีนอลทั้งหมดในกากองุ่นพันธุ์ปักดำ ที่เหลือจากกระบวนการผลิตไวน์ คำนวณหาปริมาณโพสตีฟีนอลทั้งหมดโดยใช้กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก และรายงานในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิก/กรัมน้ำหนักแห้ง ได้ผลดังภาพที่ 4.4 พบว่า การสกัดที่ความถี่ 20 kHz กับความถี่ 40 kHz ให้ปริมาณโพสตีฟีนอลแตกต่างกัน โดยการสกัดโดยใช้ความถี่ 20 kHz มีปริมาณโพสตีฟีนอลสูงกว่าการสกัดโดยใช้ความถี่ 40 kHz โดยให้ปริมาณโพสตีฟีนอลอยู่ในช่วง 61.56 – 63.48 และ 45.88 – 47.36 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิก/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าปริมาณโพสตีฟีนอลจะสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงการสกัดเริ่มต้นของการ และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตั้งแต่ช่วง 15 - 60 นาที ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการรายงานของ Carla และคณะ (2012) รายงานการสกัดสารโพสตีฟีนอลจากเมล็ดองุ่น โดยใช้ความถี่ที่ 20 kHz กำลัง 200 W ตัวแปรเวลาคือ 5, 15, 40 และ 60 นาที พบว่า ในช่วงการสกัดสารที่ 15 นาที ให้ปริมาณสารโพสตีฟีนอลสูงสุด เนื่องจากสารประกอบโพสตีฟีนอลอยู่ในเนื้อเยื่อชั้นนอกสุด ตัวทำละลายสามารถเข้าถึงได้เร็ว อัตราการโอนสารจึงเกิดขึ้นได้เร็ว แต่หลังจาก 15 นาทีสารที่ได้มีปริมาณคงที่ และมีแนวโน้มลดลง

จากข้อมูลการทดลองที่ได้ยังพบว่าการให้ความร้อนช่วยในการสกัด ทำให้ปริมาณโพสตีฟีนอลทั้งหมดเกิดการละลายได้ดีขึ้น ซึ่งในการทดลองของ ชีรพงษ์ และคณะ (2554) ได้รายงานปริมาณโพสตีฟีนอลในกากองุ่น ใช้วิธีการสกัดโดยตัวทำละลายได้แก่ น้ำ เอทานอล และปิโตเลียมอีเทอร์ เวลาในการสกัดคือ 1, 12 และ 24 ชั่วโมง ส่วนน้ำแปรอุณหภูมิคือ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส พบว่าได้ปริมาณสารประกอบโพสตีฟีนอลสูงสุดเมื่อสกัดด้วยเอทานอล ผลของการเพิ่มอุณหภูมิเป็น 40 และ 50 องศาเซลเซียส ช่วยให้ปริมาณโพสตีฟีนอลเพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณอยู่ในช่วง 9.64 – 13.10 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิก/กรัมน้ำหนักแห้ง แต่เมื่อสกัดเป็นระยะเวลาสั้นขึ้น (12 และ 24 ชั่วโมง) มีแนวโน้มปริมาณโพสตีฟีนอลลดลง เนื่องจากการสกัดด้วยน้ำเป็นเวลานานทำให้โพสตีฟีนอลไปจับกับโปรตีนและตกตะกอน หรือสารโพสตีฟีนอลบางชนิดอาจจับกัน ทำให้ไม่ละลายน้ำ (Huang et al., 2005) จากการทดลองเห็นได้ว่าถ้าใช้เวลาในการสกัดนานขึ้นปริมาณโพสตีฟีนอลมีแนวโน้มลดลง

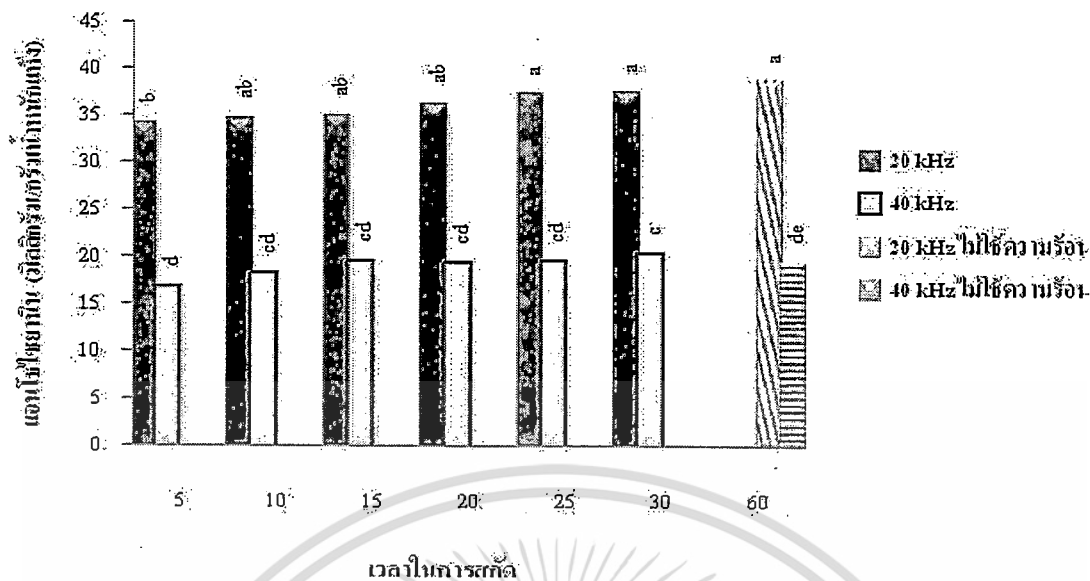


ภาพที่ 4.4 กราฟความสัมพันธ์สารประกอบโพลีฟีนอลกับเวลาการสกัด

#### 4.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในสารสกัดจากองุ่น

จากการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดองุ่นที่ความถี่ และช่วงเวลาแตกต่างกัน โดยวิธี pH - differential รายงานในหน่วยมิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง พบว่าการสกัดที่ความถี่ และช่วงเวลาที่แตกต่างกัน พบปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด โดยการสกัดที่ความถี่ 20 kHz กับความถี่ 40 kHz ให้ปริมาณแอนโทไซยานินแตกต่างกัน การสกัดโดยใช้ความถี่ 20 kHz มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าการสกัดโดยใช้ความถี่ 40 kHz ให้ปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ในช่วง 34.23 – 38.78 และ 16.85 – 20.31 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

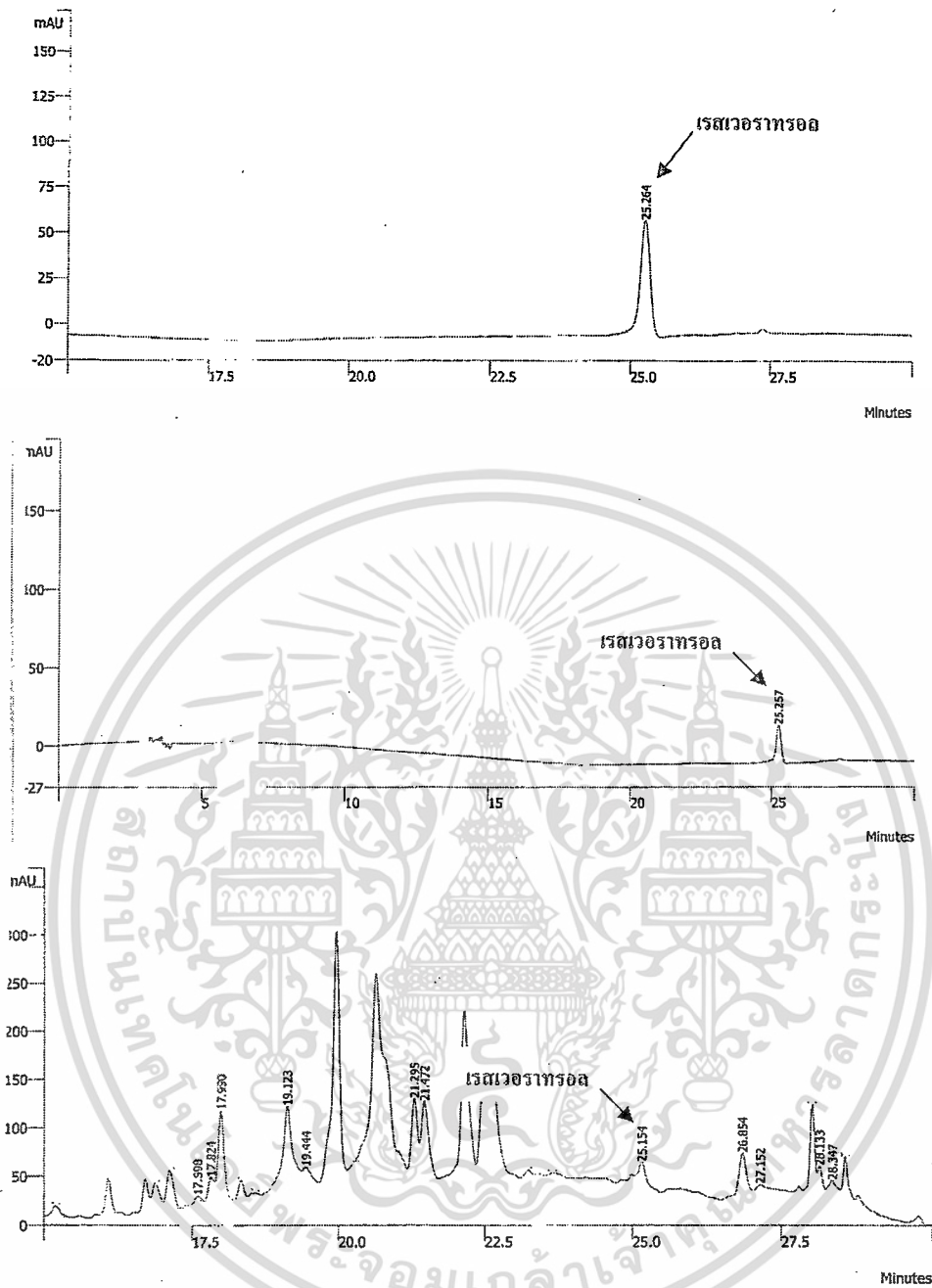
ระยะเวลาจะมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานิน จากภาพที่ 4.5 พบว่าทั้งสองช่วงความถี่ (20 kHz กับ 40 kHz) ปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นสูงในช่วง 10 นาที และมีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับรายงานของ Tang-Bin และคณะ (2011) โดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการสกัด ที่กำลังไฟฟ้า 200 วัตต์ ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ต ตัวแปรของเวลาในการสกัดคือ 20, 40, 60, 80 และ 100 นาที พบว่าภายใต้ระยะเวลาที่แตกต่างกัน ปริมาณแอนโทไซยานิน สูงสุดในนาทีที่ 40 และคงที่จนถึงการสกัดที่ 100 นาที ที่เป็นเช่นนี้เพราะว่าช่วงแรกของการสกัดจะเกิดการปรับสมดุลของสารของสารที่เข้าออกจากเซลล์จะทำให้สารที่ได้เพิ่มสูงขึ้นในช่วงแรก อย่างไรก็ตามสารสกัดจะไม่สามารถเพิ่มขึ้นอีก หลังจากเกิดความสมดุลภายในเซลล์



ภาพที่ 4.5 กราฟความสัมพันธ์ปริมาณแอนโรไซยานินกับเวลาการสกัด

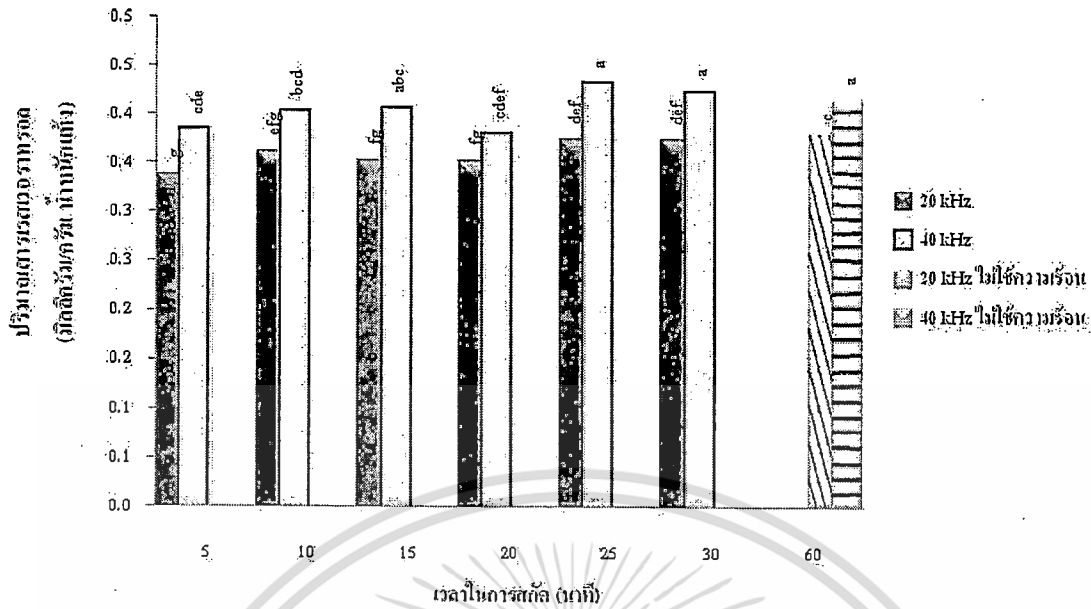
#### 4.4.4 การวิเคราะห์ปริมาณเรสเวอราทรอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากองุ่น

จากการวิเคราะห์ปริมาณเรสเวอราทรอล ด้วย HPLC โดยมีสารมาตรฐานเปรียบเทียบกับสารเรสเวอราทรอล พบว่าเวลาชะของสารมาตรฐานเท่ากับ 25.26 นาที สำหรับภาพที่ 4.19 แสดงตัวอย่างโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณเรสเวอราทรอลในการสกัดจากองุ่น ได้ปริมาณเรสเวอราทรอลแตกต่างกันไปดังแสดงในภาพที่ 4.6



ภาพที่ 4.6 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานเรสเวอราทรอลและตัวอย่างโครมาโตแกรมของสารสกัดจากองุ่น ซึ่งได้จากการตรวจวิเคราะห์โดยวิธี HPLC เมื่อใช้ตัวตรวจวัดยูวี (UV detector) ที่ความยาวคลื่น 306 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.7 กราฟความสัมพันธ์ปริมาณสารระเหยเอทราเทอร์อลกับเวลาการสกัด

ปริมาณสารระเหยเอทราเทอร์อลที่วิเคราะห์ทั้งหมดในสารสกัดจากอชุน ดังภาพที่ 4.7 พบว่า การใช้ความถี่ที่ 40 kHz ให้ปริมาณสารระเหยเอทราเทอร์อลสูงกว่าการสกัดโดยใช้ความถี่ที่ 20 kHz ให้ปริมาณสารระเหยเอทราเทอร์อลอยู่ในช่วง 0.34 – 0.38 และ 0.379 – 0.423 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งให้ผลต่างกับ Yvonne และคณะ (2008) ได้รายงานปริมาณสารระเหยเอทราเทอร์อลในอชุน โดยที่ใช้ความถี่ในการสกัด 3 ระดับ คือ 20 kHz, 40 kHz และ 80 kHz ที่ความถี่ 20 และ 40 kHz ให้ปริมาณสารระเหยเอทราเทอร์อลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ปริมาณสารระเหยเอทราเทอร์อลเท่ากับ 0.038 และ 0.031 มิลลิกรัม/100กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนการสกัดที่ความถี่ 80 kHz ให้ปริมาณสารระเหยเอทราเทอร์อลน้อยที่สุดคือ 0.016 มิลลิกรัม/100กรัมน้ำหนักแห้ง พบว่าการใช้ความถี่ที่แตกต่างกัน เวลาในการสกัดเป็นตัวแปรสำคัญต่อปริมาณสารสกัดที่ได้ โดยการใช้ความถี่ที่ 80 kHz ต้องใช้เวลาในการสกัดนานถึง 180 นาที จะได้ปริมาณสารระเหยเอทราเทอร์อล 0.042 มิลลิกรัม/100กรัมน้ำหนักแห้ง

จากผลการทดลองพบว่าเวลาเป็นอีกตัวแปรหนึ่งในการสกัดที่มีผลให้ปริมาณสารระเหยเอทราเทอร์อลต่างกัน ซึ่งคล้ายคลึงกับงานวิจัยของ Yong- และคณะ (2006) ศึกษาการสกัด สารระเหยเอทราเทอร์อลจากอชุน โดยใช้คลื่นอัลตราโซนิค ที่ความถี่ 47 kHz เวลา 1, 3, 5, 10 และ 15 นาที พบว่า เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นปริมาณสารระเหยเอทราเทอร์อลที่ได้เพิ่ม จาก 279 – 438 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง

ธีรพงษ์ และคณะ (2554) ได้รายงานปริมาณสารระเหยเอทราเทอร์อลในอชุน ใช้วิธีการสกัดโดยตัวทำละลายได้แก่ น้ำเอทานอล และปิโตเลียมอีเทอร์ เวลาในการสกัดคือ 1, 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณสารระเหยเอทราเทอร์อลสูงสุดเมื่อสกัดด้วยเอทานอล ผลของเวลาในการสกัด เมื่อสกัดเป็นระยะเวลาสั้น มีแนวโน้มปริมาณสารระเหยเอทราเทอร์อลลดลงปริมาณสารระเหยเอทราเทอร์อลที่ได้เท่ากับ 198.29, 187.20

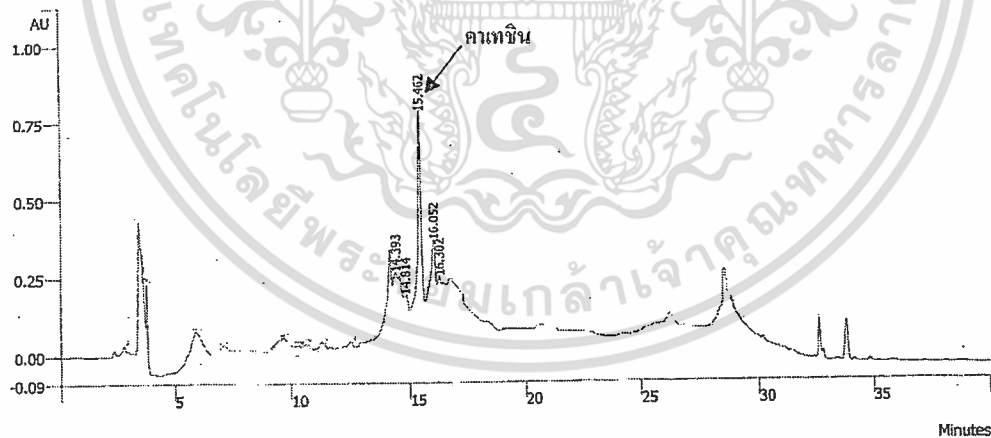
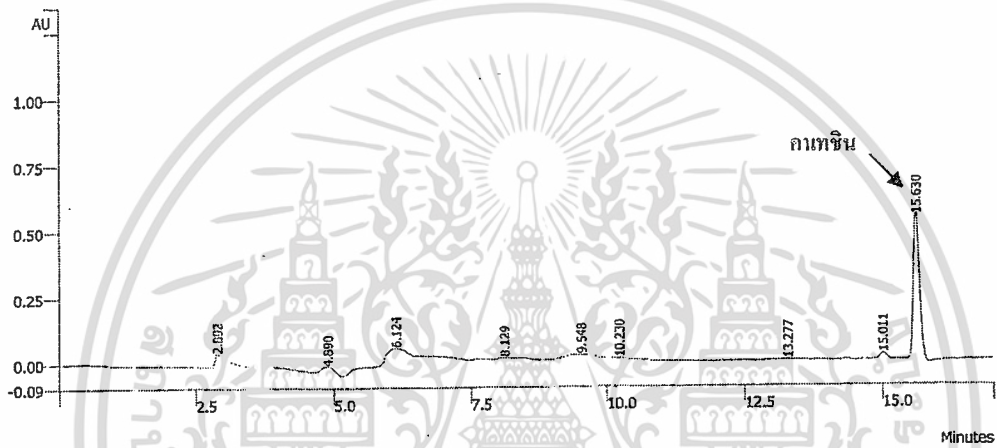
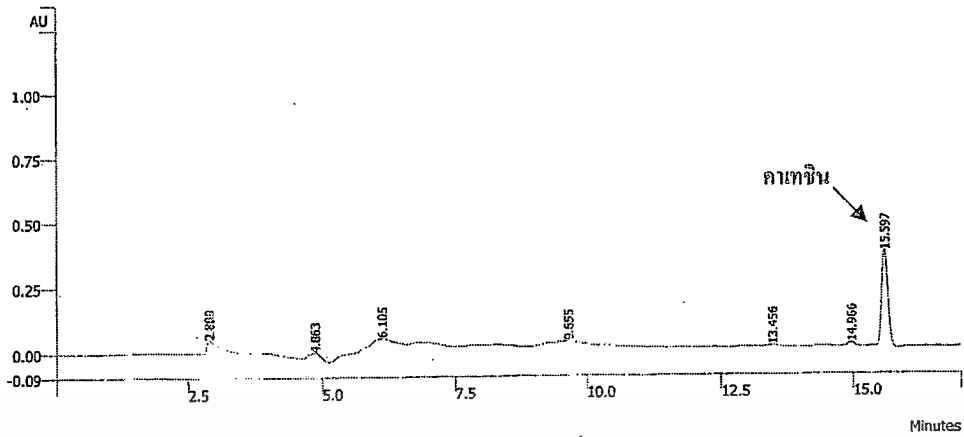
และ 156.56 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง การสกัด 1 ชั่วโมงให้ปริมาณเรสเวราทรอลสูงที่สุด ลองลงมาคือที่ 12 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ จากการศึกษาพบว่าการใช้เวลาในการสกัดที่นานส่งผลต่อปริมาณสารที่ต้องการ เวลาในการสกัดที่เหมาะสม ควรอยู่ที่ประมาณ 60 นาที

#### 4.4.5 การวิเคราะห์ปริมาณคาเทชิน (Catechin)

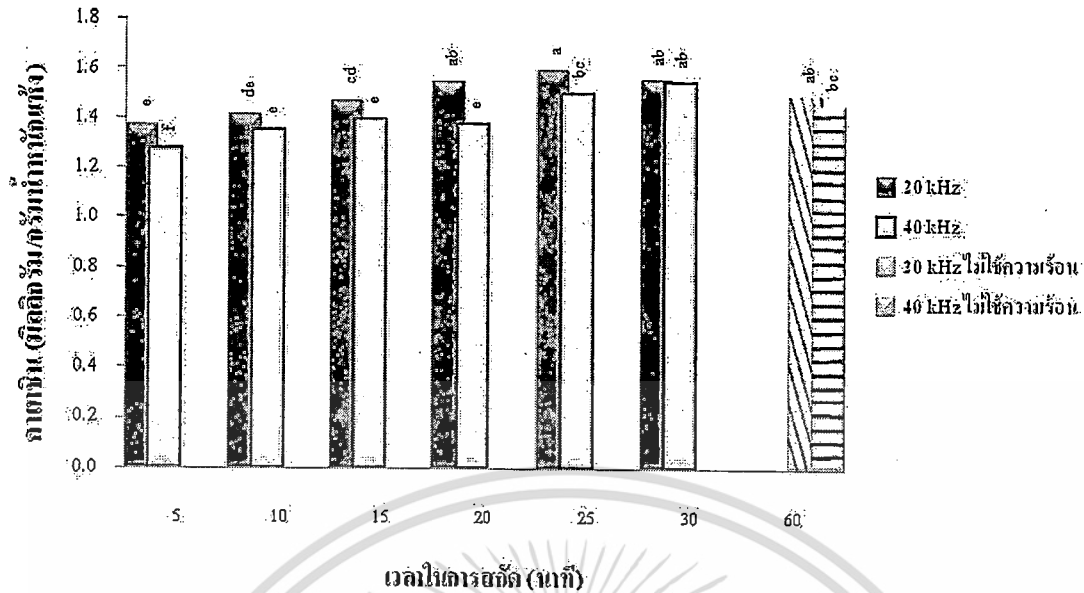
จากการวิเคราะห์ปริมาณคาเทชิน ด้วย HPLC โดยมีสารมาตรฐานเปรียบเทียบกับคาเทชิน พบว่าเวลาของสารมาตรฐานเท่ากับ 15.51 นาที สำหรับรูป 4.21 แสดงตัวอย่างโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณคาเทชินในการสกัดจากองุ่น ได้ปริมาณคาเทชินแตกต่างกันไปดังแสดงในภาพที่ 4.8



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.8 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานคาเทชินและตัวอย่างโครมาโตแกรมของสารสกัดเปลือก  
องุ่น ซึ่งได้จากการตรวจวิเคราะห์โดยวิธี HPLC เมื่อใช้ตัวตรวจวัดยูวี (UV detector) ที่ความ  
ยาวคลื่น 231 นาโนเมตร



ภาพที่ 4.9 กราฟความสัมพันธ์ปริมาณคาเทชินกับเวลาการสกัด

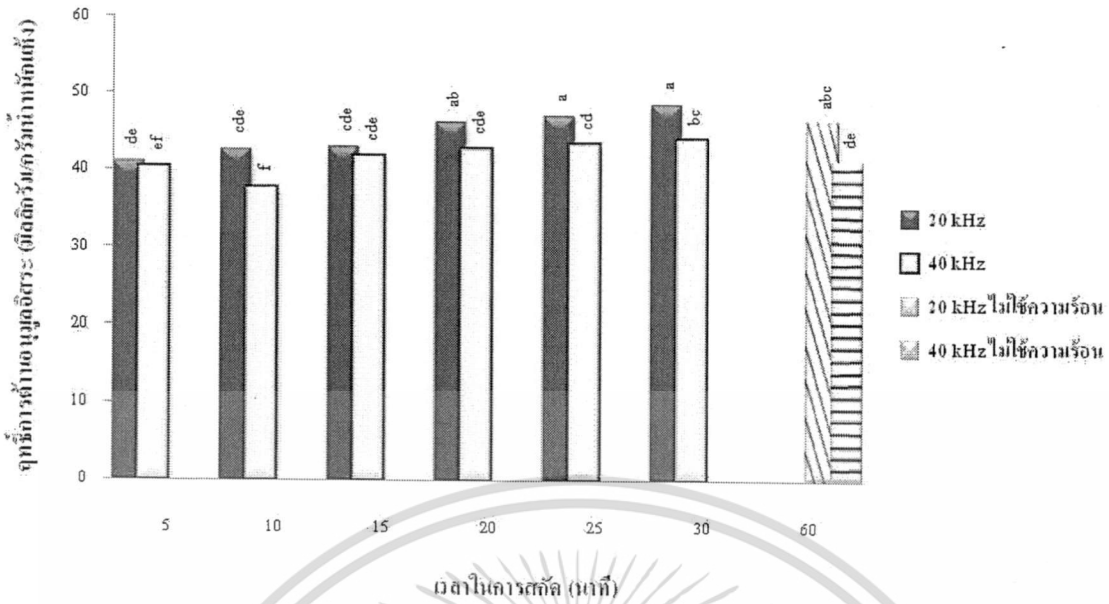
จากภาพ 4.9 พบว่าความถี่ในการสกัดมีผลต่อปริมาณคาเทชิน โดยพบคาเทชินสกัดด้วยความถี่ 20 กิโลเฮิร์ต เวลา 25 นาที สูงสุดเมื่อเทียบกับการสกัดที่ความถี่และเวลาอื่นๆ ผลของความถี่ในการสกัดที่ 20 กิโลเฮิร์ต มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 5 นาทีแรก และมีปริมาณสูงสุดที่การสกัด 25 นาที ปริมาณคาเทชินที่ได้อยู่ในช่วง 1.37 – 1.60 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง จะเห็นได้ว่าการสกัดที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ต กับ 40 กิโลเฮิร์ต ปริมาณคาเทชินที่ได้มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เป็นที่น่าสังเกตว่านอกจากความถี่จะมีผลต่อปริมาณคาเทชินแล้วจากภาพ 4.9 เวลาที่ใช้ในการสกัดก็มีผลต่อปริมาณคาเทชินเช่นเดียวกัน เมื่อใช้เวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น ปริมาณคาเทชินที่ได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับ Daniella และคณะ (2012) ได้ศึกษาการสกัดคาเทชินจากเปลือกแอปเปิ้ล จากคลื่นอัลตราโซนิกในการสกัด โดยใช้ความถี่ที่ 25 kHz กำลังไฟฟ้า 150 W ตัวแปรเวลาคือ 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 และ 60 นาที พบว่าการสกัดด้วยวิธีนี้สามารถเพิ่มปริมาณคาเทชินได้ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการสกัดแบบวิธีเดิม ปริมาณคาเทชินที่ได้เท่ากับ 555 มิลลิกรัม/100กรัมน้ำหนักแห้งโดยการสกัดปริมาณคาเทชินที่ได้จะเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 10 นาทีแรกค่าสัมประสิทธิ์ความเร็วได้เท่ากับ 0.162 นาที<sup>-1</sup> ช่วง 10 – 40 นาที มีแนวโน้มสูงขึ้นเล็กน้อยและเริ่มคงที่ในช่วง 40 – 60 นาที

#### 4.4.6 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากองุ่น

จากการศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยรายงานความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันดังกล่าวในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลย์ของ Trolox ต่อกรัมตัวอย่างสด โดยใช้กราฟมาตรฐานของ Trolox จากการตรวจวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดังแสดงในภาพที่ 4.10 พบว่าความถี่ที่มีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ที่ความถี่ 20 kHz มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง 41.04 - 48.79 มิลลิกรัมสมมูลย์ของ Trolox/กรัมตัวอย่าง ความถี่ 40 kHz ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง 37.79 - 44.25 มิลลิกรัมสมมูลย์ของ Trolox/กรัมตัวอย่าง จะเห็นได้ว่าการใช้ความถี่ที่ต่ำกว่าในการสกัดสามารถให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าการใช้ความถี่ที่สูง เพราะช่วงคลื่นความถี่ที่ต่ำจะสามารถแทรกทะลุทะลวงได้ดีกว่า จึงสามารถทำให้สารต้านอนุมูลอิสระสามารถสกัดออกมาได้สูง

นอกจากนี้ยังศึกษาเวลาในการสกัดต่อฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าเวลาส่งผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ การสกัดที่ 5 นาทีแรก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มลดลงที่ 60 นาที ซึ่งคล้ายคลึงกับ Morelli และ Marcelo (2012) ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพสารสกัดและการต้านอนุมูลอิสระในแยมองุ่นแดงโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการสกัดองุ่นที่ความถี่ 40 kHz กำลังไฟฟ้า 80 วัตต์ โดยตัวแปรเวลาคือ 15, 20, 25 และ 30 นาที พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มสูงขึ้นถึงช่วงการสกัดที่ 20 นาที คงที่จนถึงการสกัดที่ 25 นาที และมีแนวโน้มลดลงในช่วง 30 นาที



ภาพที่ 4.10 กราฟความสัมพันธ์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH กับเวลาการสกัด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากองุ่น

Frequency	Extract	Polyphenol (mg/g sample)	Anthocyanin (mg/g sample)	Resveratrol (mg/g sample)	Catechin (mg/g sample)	Antioxidant Activity (mg TE/g sample)
20 khz	5	61.51±0.04	34.23±2.11	0.338±0.34	1.37±0.41	41.04±1.87
	10	62.01±0.03	34.62±1.45	0.361±0.36	1.41±1.20	42.77±1.91
	15	62.40±0.90	35.07±1.79	0.351±0.35	1.47±2.93	43.12±2.59
	20	63.42±0.04	36.37±1.93	0.351±0.35	1.55±2.21	46.37±0.23
	25	63.51±0.07	37.40±2.19	0.375±0.38	1.56±2.13	47.21±1.92
	30	63.58±0.04	37.57±1.77	0.374±0.37	1.49±2.15	48.79±0.77
40 khz	60	63.49±0.03	38.78±3.00	0.380±0.23	1.54±1.20	46.57±2.42
	5	45.88±0.05	16.85±2.34	0.383±0.34	1.27±0.05	43.98±1.34
	10	46.23±0.06	18.26±1.13	0.401±0.40	1.35±2.80	37.79±1.05
	15	46.84±0.11	19.45±0.58	0.406±0.41	1.40±1.44	41.83±1.50
	20	46.87±0.04	19.40±0.76	0.379±0.38	1.38±6.37	42.87±0.78
	25	47.36±0.11	19.54±1.08	0.431±0.43	1.50±4.99	43.56±2.16
30	30	47.32±0.08	20.31±1.13	0.423±0.42	1.55±2.46	44.25±1.50
	60	47.29±0.11	19.50±0.21	0.416±0.06	1.49±1.44	41.39±2.37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองที่กล่าวมาข้างต้น เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยหาความแตกต่างโดยใช้แผนการทดลองแบบ Factorial RCBD และวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังแสดงตารางที่ 4.6 โดยจะเห็นได้ว่า ในการวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระในกากองุ่น โดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการสกัด พบว่าความถี่ มีผลต่อประสิทธิภาพ ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งส่งผลต่อการสูญเสียและความบริสุทธิ์ของสารที่ได้ พบว่าการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิก ช่วยลดเวลาในการชะสารต้านอนุมูลอิสระได้ดี เนื่องจากการใช้คลื่นอัลตราโซนิกจะทำให้เกิดปรากฏการณ์ cavitation ซึ่งเกิดจากกระบวนการที่เกิดขึ้นในตัวกลาง หรือสารละลายที่ได้รับคลื่นเสียงอัลตราโซนิก โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและทางกายภาพ เนื่องมาจากฟองอากาศที่เกิดขึ้น และฟองอากาศที่เกิดขึ้นภายในของเหลวนี้จะสัมผัสกับแรงดันที่เกิดจากคลื่นอัลตราโซนิกเป็นระยะและเกิดการแลกเปลี่ยนแก๊สระหว่างกัน เป็นผลให้ฟองอากาศมีขนาดใหญ่ขึ้นไปเรื่อยๆ จนกระทั่งแตกออกในที่สุดอย่างฉับพลันที่ผิวของแข็ง ทำให้เกิดการกระแทกของของเหลว ก่อให้เกิดการสั่นสะเทือน และเกิดการกัดกร่อนของผิว (Lianfu และ Zelong, 2008) โดยการเกิด cavitation จะทำให้เกิดผลกระทบทางกายภาพส่งผลให้อัตราการถ่ายเทมวลสารเพิ่มมากขึ้น เนื่องจาก cavitation ทำให้เซลล์พืชเกิดการฉีกขาด

โดยส่วนใหญ่การสกัดจะใช้ความถี่ที่ 20 -100 kHz กำลังไฟฟ้า 100 – 800 W Shirasath และคณะ (2012) ได้รายงานว่า การสกัดที่ความถี่ 20 kHz จะมีประสิทธิภาพสูงสุดในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืช โดยความถี่ที่ต่ำ เช่น 20 kHz จะเกิด cavitation อย่างเด่นชัด

นอกจากการเลือกความถี่ที่เหมาะสมในการสกัดแล้ว เวลาที่เป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งที่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด โดยเวลาที่ใช้จะขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่างที่ใช้สกัด Yaqin และคณะ (2008) รายงานการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกส้ม ที่ความถี่ 60 kHz ตัวแปรเวลาคือ 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 และ 160 นาที พบว่าในช่วง 20 – 60 นาทีแรกปริมาณสารที่สกัดได้มีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว และเริ่มคงที่ในช่วง 60-100 นาที และมีแนวโน้มลดลงในช่วง 100 - 160 นาที สังเกตได้ว่า ช่วงแรกของการสกัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จะเพิ่มขึ้นสูงเนื่องจากเกิดการปรับสมดุลของสารของสารที่เข้าออกจากเซลล์ ตัวทำละลายจะต้องแพร่เข้าไปในของแข็งที่อิมมัตด้วยตัวทำละลาย สารสกัดที่ต้องการก็จะสามารถละลายออกมาได้สูงในช่วงแรก และเมื่อเกิดสมดุลระหว่างเฟสสองเฟส สารสกัดจะไม่สามารถเพิ่มขึ้นอีกหลังจากเกิดความสมดุลภายในเซลล์ (Tang-Bin et al., 2011) แต่เมื่อสกัดสารต่ออาจส่งผลให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้มีปริมาณลดลงเนื่องจากการสกัดด้วยน้ำเป็นเวลานานทำให้โพลีฟีนอลไปจับกับโปรตีนและตกตะกอน หรือสารโพลีฟีนอลบางชนิดอาจจับกัน ทำให้ไม่ละลายน้ำ (Huang et al., 2005)

การสกัดด้วยอัลตราโซนิกอาจจะกระทำร่วมกับความร้อนด้วยก็ได้ ในการทดลองส่วนนี้ได้ ทำการศึกษาการใช้คลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากกากองุ่น พบว่าความร้อนมีส่วนช่วยให้การละลายของสารหรือกระตุ้นการชะล้างสาร

ด้านอนุโมติสระออกมาได้ดี จากผลการทดลองดังตารางที่ 4.6 พบว่า การสกัดกากองุ่นใช้คลื่นอัลตราโซนิก ร่วมกับความร้อน สารด้านอนุโมติสระที่ได้ไม่แตกต่างจากการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกเพียงอย่างเดียว ดังนั้นการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก ร่วมกับความร้อนสามารถลดเวลาในการสกัดได้ ในการใช้ความร้อนที่สูงในการสกัด อาจเกิดความเสียหายหรือคุณภาพของสารสกัดได้ (Porto and Decorti, 2009) การใช้ความร้อนร่วมในการสกัดต้องคำนึงถึงสารสกัดที่ต้องการ ว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดส่งผลต่อสารที่ต้องการหรือไม่ จึงเป็นเหตุผลที่จะใช้ในการเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดสารที่ต้องการ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

จากการออกแบบและสร้างเครื่องสกัดอัลตราโซนิคซึ่งประกอบด้วยเครื่องกำเนิดอัลตราโซนิค ขนาด 200 วัตต์ ถึงสกัดอัลตราโซนิค ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12.5 เซนติเมตร สูง 16 เซนติเมตร ติดกับ อุปกรณ์อัลตราโซนิคทรานซิวเซอร์แบบพีโซอิเล็กทริก ความถี่ 20, 40 และ 60 kHz เมื่อนำเครื่องนี้ มาทดสอบการสกัดกากองุ่นแดงพันธุ์ปักดำ โดยพิจารณาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบ โพลีฟีนอล ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค และการทดลองใช้เครื่อง สกัดร่วมกับการสกัดด้วยความร้อน คลื่นอัลตราโซนิคและการสกัดด้วยความร้อน ที่มีต่อการสกัด สาร แอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอล และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ สารคาเทชิน สารเรสเวอราทอล สรุป ดังนี้

กากองุ่นเมื่อแยกส่วนที่เป็นเปลือกและเมล็ดออกจากกันแล้ว มีปริมาณของเมล็ดองุ่นอยู่สูงถึง 78.2% และส่วนของเปลือกองุ่นอยู่ 12.8% จะสังเกตได้ว่าพบเมล็ดองุ่นในปริมาณที่สูงเนื่องจากองุ่นพันธุ์ ปักดำจะเป็นองุ่นที่มีเมล็ดอยู่ในผลมากถึง 2- 4 เมล็ด จึงให้มีเมล็ดที่เหลือจากกระบวนการผลิตไว้น้อย สูง ความชื้นของกากองุ่นหลังผ่านการอบให้แห้งที่ 60 °ซ นาน 10 ชั่วโมง พบว่ามีความชื้นอยู่ร้อยละ 9.34

เมื่อใช้คลื่นอัลตราโซนิคความถี่ 40 kHz ใช้อัตราส่วนผงกากองุ่นต่อตัวทำละลายเอทานอล (47.5%) 1:9 น้ำหนักต่อปริมาตรใช้เวลาสกัด 60 นาที เปรียบเทียบการสกัดที่ปริมาตรครั้งละ 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิลิตร กำลังไฟฟ้าที่ใช้สำหรับกำเนิดคลื่นอัลตราโซนิคเท่ากับ 200 วัตต์ ซึ่ง เทียบเท่ากับอัตราส่วนกำลังไฟฟ้า 1.00, 0.50, 0.33, 0.25 และ 0.20 วัตต์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ การสกัด ที่ปริมาตร 200 มิลลิลิตร มีปริมาณสูงที่สุด แต่เมื่อพิจารณาจากอุณหภูมิที่เกิดขึ้น จะเห็นว่าที่ปริมาตร 200 มิลลิลิตรมีอุณหภูมิสูงถึง 79.7 °ซ ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่สูง จึงพิจารณาการสกัดที่ปริมาตร 400-1000 มิลลิลิตร พบว่าปริมาณสารแอนโทไซยานินที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความ เชื่อมั่น 95% แต่ปริมาณโดยเฉลี่ยของสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้จากปริมาตร 400 และ 600 มิลลิลิตร มากกว่าการสกัดตัวอย่างที่ปริมาตร 800 และ 1000 มิลลิลิตร และเมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของฤทธิ์การต้าน อนุมูลอิสระที่ได้จากการสกัดตัวอย่างที่ปริมาตร 400 และ 600 มิลลิลิตรไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เช่นเดียวกับปริมาณของแข็งทั้งหมดเฉลี่ย เมื่อพิจารณาถึง อุณหภูมิที่เกิดขึ้นระหว่างการสกัด พบว่าที่ปริมาตร 400 มิลลิลิตร มีอุณหภูมิสูง 68.8 °ซ เมื่อสกัดครบ 1 ชั่วโมง ขณะที่การสกัดที่ปริมาตร 600 มิลลิลิตร มีอุณหภูมิ 61 °ซ ใกล้เคียงกับอุณหภูมิการสกัดกากองุ่น รายงาน โดย (Romero-Perez et al., 2001; Lafka et al., 2007; Spigno et al., 2007) สรุปได้ว่าการสกัดที่ ปริมาตร 600 มิลลิลิตร ทำให้ได้สารสกัดที่มีผลการวิเคราะห์ทางเคมีโดยเฉลี่ยสูง โดยมีอุณหภูมิที่เกิดขึ้น

ใกล้เคียงกับการสกัดด้วยความร้อน ปริมาตร 600 มิลลิลิตร จึงเป็นตัวเลือกที่เหมาะสมในการสกัดด้วยอัลตราโซนิก 40 kHz กำลังไฟฟ้า 200 วัตต์

การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกจะมีปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้มากกว่าการสกัดโดยไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิก โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบผลระหว่างการสกัดโดยไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกด้วยกัน พบว่าการสกัดด้วยความร้อนอุณหภูมิเทียบเท่าความถี่ 60 kHz (W(60)) ได้ปริมาณโดยเฉลี่ยของสารสูงที่สุด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับการสกัดด้วยความร้อนอุณหภูมิเทียบเท่าความถี่ 20 (W(20)) และ 40 (W(40)) kHz เมื่อเปรียบเทียบผลการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกด้วยกัน พบว่าปริมาณโดยเฉลี่ยของสารแอนโทไซยานินที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับการที่ความถี่ 40 และ 60 kHz ปริมาณโดยเฉลี่ยของสารประกอบฟีนอลที่ความถี่ 20 kHz มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับการที่ความถี่ 40 และ 60 kHz ค่าเฉลี่ยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากความถี่ 40 kHz มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับการที่ความถี่ 20 และ 60 กิโลเฮิร์ตซ์

การหาปริมาณสารสกัดที่ระยะเวลาสกัด 0 – 90 นาที เปรียบเทียบระหว่างการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 40 kHz กับการสกัดด้วยความร้อน (Water bath) ในสถานะเดียวกัน พบว่าปริมาณสารแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอล และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการใช้คลื่นอัลตราโซนิกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะเวลา 45 นาทีแรก หลังจากนั้นมีการเพิ่มขึ้นน้อยมาก ในขณะที่การสกัดด้วยความร้อน ปริมาณสารแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอล และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่สกัดได้มีค่าเพิ่มขึ้นตลอดจนถึงเวลา 90 นาที เมื่อเปรียบเทียบการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกด้วยกันพบว่าปริมาณสารแอนโทไซยานินและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสกัดที่ 45 นาทีกับการสกัดที่ 60 และ 90 นาที ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังนั้นจึงระยะเวลาสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 45 นาที อาจสรุปได้ว่าเป็นช่วงระยะเวลาที่เหมาะสม เนื่องจากหลังจาก 45 นาทีแล้ว ปริมาณสารที่สกัดได้เพิ่มขึ้นน้อยมาก

การทดลองเพื่อใช้อัลตราโซนิกร่วมกับความร้อนในการสกัดกากองุ่นแดง การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี และกายภาพ ของสารสกัดองุ่น สกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิก 2 ความถี่ คือ 20 kHz และ 40 kHz เวลาในการสกัด 5, 10, 15, 20, 25, 30 และ 60 นาที พบว่าการสกัดที่ความถี่ 20 kHz ให้ความสว่าง และค่าสีเหลืองที่มีแนวโน้มต่ำลงเมื่อสกัดด้วยเวลาที่นานขึ้น ส่วนค่าสีแดงมีแนวโน้มสูงขึ้น ค่าความเป็นกรด-ด่างไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่การสกัดความถี่และเวลาต่างกัน

การทดลองเพื่อใช้อัลตราโซนิกร่วมกับความร้อนในการสกัดกากองุ่นแดง ในการวิเคราะห์ ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดพบว่าการสกัดที่ความถี่ 20 kHz ให้ปริมาณฟีนอลสูงสุดตั้งแต่การสกัดที่ 15 นาที ให้ปริมาณฟีนอลมากกว่าการสกัดที่ 40 kHz การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัดองุ่น พบว่าการสกัดที่ความถี่ 20 kHz ให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุดตั้งการสกัดที่ 10 นาที สูงกว่าการสกัดที่

40 kHz ผลการวิเคราะห์ปริมาณเรสเวอราทรอลพบว่าการสกัดกากองุ่นที่ 40 kHz ให้ปริมาณเรสเวอราทรอลสูงสุดเท่ากับ 0.431 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ที่ 25 นาที การวิเคราะห์ปริมาณคาเทชินในสารสกัดกากองุ่น พบว่าการสกัดที่ความถี่ 20 kHz พบปริมาณคาเทชินสูงกว่าการสกัดที่ 40 kHz ได้ปริมาณสารคาเทชินสูงสุดที่ 25 นาที เท่ากับ 1.60 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าการสกัดที่ความถี่ 20 kHz มีแนวโน้มสมบัติการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าการสกัดที่ 40 kHz ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับ 48.79 มิลลิกรัมสมมูลย์ของโทรลอคซ์/กรัมตัวอย่าง ที่ 25 นาที จากผลการทดลองสรุปได้ว่าความถี่ และเวลาที่ใช้มีผลต่อปริมาณโพลีฟีนอล แอนโทไซยานิน เรสเวอราทรอล คาเทชิน และความสามารถต้านอนุมูลอิสระ ในการสกัดสารสกัดจากกากองุ่น ที่ความถี่ 20 kHz พบปริมาณโพลีฟีนอล แอนโทไซยานิน คาเทชิน และความสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าการใช้ความถี่ 40 kHz และพบว่า สารเรสเวอราทรอลในสารสกัดกากองุ่นสามารถสกัดได้ดีที่ความถี่ 40 kHz เวลาที่ใช้ในกาสกัดดีที่สุดคือ 5 นาที ร่วมกับการสกัดด้วยความร้อน



## บรรณานุกรม

- กลุ่มเกษตรสัญจร. 2553. อุ่น. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์ฐานเกษตรกรรม. 63 หน้า.
- ณัฐวรรณ ยศวัฒน์ และ สุรจิต ฮวดสาขา. 2550. การสกัดสารเคอร์คิวมิน ฟิโนสโตรบิน คาเฟอีน จาก ทรายดำด้วยคลื่นอัลตราโซนิค. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- ธีรพงษ์ ชันเจริญ, อรพิน เกิดชูชื่น และ ณัฏฐา เกาหูกิจจิตต์. 2554. สาร resveratrol, catechin, epicatechin และประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดองุ่นพันธุ์ปักดำ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร : ปีที่ 42(2), พฤษภาคม – สิงหาคม..
- นวลศรี รักอริยะธรรม และ อัญญา เจนวิถีสุข. 2545. แอนติออกซิแดนซ์: สารต้านมะเร็งในผัก-สมุนไพรไทย. เชียงใหม่: นพบุรีการพิมพ์. 201 หน้า.
- ปิ่นฉัตร ภัทรสถาพรกุล. 2551. หลักการโดยทั่วไปของการสกัด. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <http://203.158.184.2/elearning/AgriProEn2/unit1304.htm>.
- พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล. 2547. ศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระและการตรวจประเมินกิจกรรมการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารจากพืช. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยหอการค้าไทย. 24(2): 18-35.
- ยศพนธ์ ฉัตรจรัสแสง. 2551. การสกัดสารสำคัญจากผลส้มแขกด้วยคลื่นอัลตราโซนิค. ปริญญาโท สาขาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 129 น.
- รัฐพล ฉัตรบรรยงค์, สุรศักดิ์ นิลนนท์ และ อุมาจุ บัญประกอบ. 2551. การตรวจสอบพันธุ์องุ่นรับประทานสดพันธุ์ปักดำและเรอเรียร์ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิคเอเอฟแอลพี. วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร : ปีที่ 39(3), กันยายน – ธันวาคม.
- รัฐพล ฉัตรบรรยงค์. 2552. อุ่นในเมืองไทย. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รัตนา อินทรานุกรณ์. 2547. การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วันดี แสงสุวรรณ. 2547. ชนิดและประสิทธิภาพของยีสต์แยกได้จากผล องุ่นพันธุ์ปักดำเพื่อเพิ่มคุณภาพไวน์. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง.
- วิวัฒน์ หวังเจริญ. 2545. บทบาทของสารประกอบฟีนอลต่อสุขภาพ. อาหาร. 32(4): 245-253.
- สถาบันคีนันแห่งเอเชีย. 2549. โครงการจัดทำแผนที่เครือข่ายวิสาหกิจ (Cluster Mapping) เพื่อยกระดับความสามารถในการแข่งขันของภาคการผลิตและบริการ. กรุงเทพฯ : หจก. อุดมรัตน์การพิมพ์ และดีไซน์. หน้า 33-35.

โอบา วัชรรูปต์ ปรีชา บุญจง จันทนา บุญยรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดดีสินทอง. 2551. สารต้านอนุมูลอิสระ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: นิวไทยมิตรการพิมพ์. 200 หน้า.

Adje, F., Lozano, Y.F., Lozano, P., Adima, A., Chemat, F. and Gaydou, E.M. 2010. Optimization of anthocyanin, flavonol and phenolic acid extractions from *Delonix regia* tree flowers using ultrasound-assisted water extraction. *Industrial Crops and Products*. 32(3): 439-444.

Akaha, P.A., Ezike, A.C., Nwafor, S.V., Okoli, C.O. and Enwerem, N.M. 2003. Evaluation of the anti-asthmatic property *Asystasia gangetica* leaf extracts. *J. Ethnopharmacology*. 89(1): 25-36.

Atchley, A. A. and L. A. Crum. 1998. Ultrasounds, its chemical, physical and biological effects. Suslick. K. S. VCH Publishers, New York.

Barbero, G.F., Liazid, A., Palma, M. and Barroso, C.G. 2008. Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from peppers. *Talanta*. 75(5): 1332-1337.

Basu, T.K., Temple, N.J. and Gars, M.L. 1999. Antioxidants in human health and disease. CABI publishing: London.

Benzie, I.F.F. and Strain, J.J. 1999. Ferric reducing/antioxidative power assay : Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version of simultaneous measurement of antioxidant power and ascorbic acid concentration. In *Methods in enzymology*, New York : Academic Press. 299 : 15-27.

Boonkird, S., Phisalaphong, C. and Phisalaphong, M. 2008. Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from *Capsicum frutescens* on a lab- and pilot-plant scale, *Ultrason. Ultrason Sonochemistry*. 15(6): 1075-1079.

Bravo, L. 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*. 56(11) : 317-333.

Carla Da, P., Erica, P. and Deborha, D. 2012. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*. 20(4) : 1076 – 1080.

Chen, F., Sun, Y., Zhao, G., Liao, X., Hu, X., Wu, J. and Wang, Z. 2007. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Ultrasonic Sonochemistry*. 14 : 767-778.

Cho, Y.J., Hong, J.Y., Chun, H.S., Lee, S.K., and Min, H.Y. 2006. Ultrasonication-assisted extraction of resveratrol from grapes. *Food Engineering*. 77 : 725–730.

- Chunyan, L., Lijun, W., Junfang, W., Benhong, W., Wen, L., Peige, F., Zhenchang, L. and Shaohua, L. 2012. Resveratrols in Vitis berry skins and leaves: Their extraction and analysis by HPLC. Food Chemistry. 136 : 643–649.
- Clark, J. 2009. Chemguide. [online]. Available : <http://www.chemguide.co.uk/physical/phaseeqia/nonideal.html>.
- Daniella, P., Anne, S.F., Carine, L.B., Catherine, M.G.C.R. and Farid, C. 2012. Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace. Food Engineering. 111 : 73-81.
- Dong, J., Liu, Y., Liang, Z. and Wang, W. 2010. Investigation on ultrasound-assisted extraction of salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* root. Ultrason Sonochemistry. 17(1): 61-65.
- Gao, Y., Nagy, B., Liu, X., Simandi, B. and Wang, Q. 2009. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of lutein esters from marigold (*Tagetes erecta* L.) enhanced by ultrasound. J. Supercritical Fluids. 49(3): 345-350.
- Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by uv-visible spectroscopy. Current protocols in food analytical chemistry. Current protocols in food analytical chemistry. F1.2.1 – F1.2.13
- Haizhou, L., Lester, P. and Jochen, W. 2004. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. Food Research International. 37 : 731-738.
- Hromadkova, Z., Ebringerova, A. and Valachovic, P. 2002. Ultrasound assisted extraction of water-soluble polysaccharides from the roots of valerian (*Valeriana officinalis* L.). Ultrason Sonochemistry. 9(1): 37-44.
- Huang, X.M., Huang, H.B. and Wang, H.C., 2005, Cell Walls of Loosening Skin in Post-Veraison Grape Berries Lose Structural Polysaccharides and Calcium While Accumulate Structural Proteins. Scientia Horticulturae. 104(3) : 249-263.
- Jadhav, D., Rekha, B.N., Gogate, P.R. and Rathod, V.K. 2009. Extraction of vanillin from vanilla pods: a comparison study of conventional soxhlet and ultrasound assisted extraction, Food Engineering. 93(4): 421-426.
- Khan, M.K., Vian, M.A., Tixier, A.S.F., Dangles, O. and Chemat, F. 2010. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. Food Chemistry. 119(2): 851-858.
- Lafka, T.I., Sinanoglou, V. and Lazos, E.S. 2007. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. Food Chemistry. 104 : 1206-1214.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Li, H., Pordesimo, L. and Weiss, J. 2004. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. *Food Research International*. 37(7): 731-738.
- Li, T., Qu, X.Y., Zhang, Q.U., and Wang, Z.Z. 2012. Ultrasound-assisted extraction and profile characteristics of seed oil from *Isatis indigotica* Fort. *Industrial Crops and Products*. 35(1) : 98-104.
- Laura, A.R., Emilio, A.P. and Gustavo, A.G. 2010. Fruit and Vegetable Phytochemicals. Chemistry, Nutritional Value, and Stability. John Wiley and Sons : 380 pp.
- Lianfu, Z. and Zelong, L. 2008. Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes. *Ultrasonic Sonochemistry*. 15(5) : 731-737.
- Liang, Z., Wu, B., Fan, P., Yang, C., Duan, W., Zheng, X., Liu, C. and Li, S. 2008. Anthocyanin composition and content in grape berry skin in *Vitis* germplasm. *Food Chem*. 111: 837-844.
- Linear technology corporation. 1994. Absolute Maximum Rating, 1630 Mccarthy Blvd., Milpitas, USA : 1-24.
- Lujan, R.J., Rodriguez, J.M.L. and Luque de Castro, M.D. 2006. Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Journal of Chromatography A*. 1108(1): 76-82.
- Ma, Y., Ye, X., Hao, Y., Xu and Liu, D. 2008. Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from *Capsicum frutescens* on a lab and pilot-plant scale. *Ultrasonics Sonochemistry*. 15 : 1075-1079.
- Macias-Sancheza, M.D., Mantell, C., Rodriguez, M., de la Ossa, E.M., Lubianb, L.M. and Monterob, O. 2009. Comparison of supercritical fluid and ultrasound-assisted extraction of carotenoids and chlorophyll a from *Dunaliella salina*. *Talanta*. 77(3): 948-952.
- Mason, T. J. 1998. *Ultrasound in Food Processing; Power ultrasound in food processing – the way forward*. Blackie Academic and Professional. London. pp. 105-126.
- Molyneux, D. 2004. “Neglected” disease but unrecognised successes: challenges and opportunities for infectious disease control. U.S. National Library of Medicine National Institutes of Health. 364: 380-383.
- Morelli, L.L.L. and Marcelo, A.P. 2012. Extraction optimization for antioxidant phenolic compounds in red grape jam using ultrasound with a response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*. 19: 1144-1149.

- Murakami, M., Yamaguchi, T., Takamura, H. and Matoba, T. 2004. Effect of thermal treatment on radical scavenging activity of single and mixed polyphenolic compounds. *Food Science*. 69(1): FCT7-FCT10.
- Pena, R.M., Barciel, J., Herrero, C. and Martin, S.G. 2005. Comparison of ultrasound-assisted extraction and direct immersion solid-phase microextraction methods for the analysis of monoterpenoids in wine. *Talanta*. 67(1): 129-135.
- Porto, C.D. and Decorti, D. 2009. Ultrasound-assisted extraction coupled with under vacuum distillation of flavour compounds from spearmint (carvone-rich) plants: comparison with conventional hydrodistillation. *Ultrason Sonochemistry*. 16 : 795 - 799.
- Prior, R.L., Wu, X. and Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplement. . *Agricultural and Food Chemistry*. 53: 4290-4302.
- Romdhane, M and Gourdon, C. 2002. Investigation in solid-liquid extraction: influence of ultrasound. *Chemical Engineering*. 87 : 11-19.
- Romero-Perez, A. I., Lamuela-Raventos, R. M., Andres-Lacueva, C. and de la Torre - Boronat, M.C. 2001. Method for the quantitative extraction of resveratrol and piceid isomers in grapeberry skins: effect of powdery mildew on the stilbene content. *Agricultural and Food Chemistry*, 49(1) : 210-215.
- Rostagno, M.A., Palma, M. and Barroso, C.G. 2003. Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. *Journal of Chromatography A*. 1012(2): 119-120.
- Rouhani, S., Alizadeh, N., Salimi, S. and Haji-Ghasemi, T. 2009. Ultrasound assisted extraction of natural pigments from rhizomes of *Curcuma Longa L.* *Color Colorants Coat*. 2(2): 103-113.
- Shirsatha, S.R., Sonawanea, S.H. and Gogateb, P.R. 2012. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations-Areview of current status. *Chemical Engineering and Processing*. 53: 10 – 23.
- Singleton, V.L. and Lamuela, R.M. 1999. Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299 : 152-178.
- Spigno, G., Tramelli, L. and Faveri, D.D.M. 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Food Engineering*. 81(1) : 200-208.

- Sun, R.C. and Tomkinson, J. 2003. Characterization of hemicelluloses isolated with tetraacetythylenediamine activated peroxide from ultrasound irradiated and alkali pre-treated wheat straw. *European Polymer Journal*. 39(4): 751-759.
- Suslick, K. S. 1988. *Homogeneous sonochemistry; Ultrasounds, its chemical, physical and biological effects*. VCH Publishers. New York. pp. 121 – 164.
- Ismael, I.R., Luciano, V.G., Viviane, M.R., Any, E.S.SG., Maria, I.G. and Roseane F. 2011. Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking. *Food Research International*. 44(4) : 897–901.
- Tang-Bin, Z., Min, W., Ren-You, G. and Wenhua, L. 2011. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Anthocyanins from Mulberry, Using Response Surface Methodology. *Molecular Sciences*. 12(5) : 3006-3017.
- USDA Nutrient Database. 2001. Grape, red or green (European type varieties, such as, Thompson seedless), raw. Nutrient data Laboratory.
- Virost, M., Tomao, V., Bourvellec, C.L., Renard, M.C.G., and Chemet, F. 2009. Towards the industrial production of antioxidants from food processing by-products with ultrasound-assisted extraction. *Molecular Sciences Ultrasonics Sonochemistry*. 17(6) : 1066–1074.
- Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y. and Li, X. 2008. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*. 106(2): 804-810.
- Williams, B.W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*. 20: 25-30.
- Wu, J., Lin, L. and Chau, F. 2001. Ultrasound assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells. *Ultrason Sonochemistry*. 8(4): 347-352.
- Yaqin, M., Xingqian, Y., Yunbin, H., Guoneng, X., Guihua, X. and Donghong, L.. 2008. Ultrasound-assisted extraction of hesperidin from Penggan (*Citrus reticulata*) peel. *Ultrasonics Sonochemistry*. 15 : 227–232.
- Yvonne, C., Chukwumah, Lloyd, T., Walker, Martha, V. and Simon, O. 2008. Effect of frequency and duration of ultrasonication on the extraction efficiency of selected isoflavones and trans-resveratrol from peanuts (*Arachis hypogaea*). *Ultrasonics Sonochemistry*. 16 : 293 - 299.
- Yong-Jin, C., Ji-Young, H. and Hyang S.C.. 2006. Ultrasonication-assisted extraction of resveratrol from grapes. *Food Engineering*. 77(3) : 725–730.

- Ying, Z., Han, X., and Li, J. 2011. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves. *Food Chemistry*. 127(3) : 1273–1279.
- Zhao, S., and Baik, O.D. 2012. Application of ultrasound as pretreatment for extraction of podophyllotoxin from rhizomes of *Podophyllum peltatum*. *Ultrasonics Sonochemistry*. 19(1): 22 - 31.
- Zhao, S., Kwok, K. and Liang, H. 2007. Investigation on ultrasound assisted extraction of saikosaponins from *Radix Bupleuri*. *Separation and Purification Technology*. 55(3): 307-312.
- Zhang, H.F., Yang, X.H., Zhao, L.D. and Wang, Y. 2009. Ultrasonic-assisted extraction of epimedin C from fresh leaves of *Epimedium* and extraction mechanism. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 10(1): 54 - 60.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

## การวิเคราะห์องค์ประกอบทางกายภาพ

## 1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นในตัวอย่างสารสกัดจากกากองุ่น (AOAC, 2000)

## อุปกรณ์

1. ถ้วยอลูมิเนียม (Aluminium can)
2. โถดูดความชื้น (Disiccator)
3. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
4. Tong
5. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
6. ซ้อนตักสาร

## วิธีวิเคราะห์

1. นำถ้วยอลูมิเนียมอบที่อุณหภูมิ  $130 \pm 3$  องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่
2. ชั่งตัวอย่างมะม่วงที่สับละเอียด ตัวอย่างละ 5 กรัม ด้วยเครื่องชั่งละเอียดใส่ในถ้วยอลูมิเนียม
3. นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงจนน้ำหนักคงที่
4. ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
5. ชั่งน้ำหนัก แล้วคำนวณหาปริมาณความชื้น โดยใช้สูตร

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ})}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

## 2. การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด

การหาปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solids) ทำได้โดยวิธี Gravimetric (AOAC, 1990)  
อุปกรณ์

1. ถ้วยอลูมิเนียม (Aluminium can)
2. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
3. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
4. โถดูดความชื้น (Disiccator)
5. Tong
6. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

### วิธีวิเคราะห์

1. อบอลูมิเนียมแคนพร้อมฝาที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
2. ปิดฝาแคน นำใส่ในโถดูดความชื้น ปิดฝาโถ ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
3. ชั่งน้ำหนักอลูมิเนียมแคนพร้อมฝา
4. ชั่งตัวอย่างชั่งตัวอย่างสารสกัดของเนื้อตัวอย่างละ 3 กรัม ด้วยเครื่องชั่งละเอียดใส่ในถ้วยอลูมิเนียม
5. นำไปให้ความร้อนใน water bath เป็นเวลา 30 นาที
6. นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่
7. ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
8. ชั่งน้ำหนัก แล้วคำนวณหาปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solids)

$$\% \text{Total solids} = \frac{(100 - (\text{น้ำหนักที่ชั่งหลังอบ} - \text{น้ำหนักที่ชั่งก่อนอบ})) \times 100}{\text{น้ำหนักที่ชั่งก่อนอบ}}$$

### 3. การวัดค่าความเป็นกรดต่าง

#### อุปกรณ์

1. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

#### วิธีวิเคราะห์

1. กด cal ที่เครื่องจนกระทั่งขึ้น Ct1
2. จุ่ม probe ลงใน pH 7 กด Enter รอจนกระทั่ง Ct2 ปรากฏ
3. ล้างหัว probe ด้วยน้ำกลั่น ซับด้วยกระดาษทิชชู
4. จุ่ม probe ลงใน pH4 กด Enter รอจนปรากฏค่า slope ในช่วง 56-62 (ค่าติดลบ)
5. ล้างหัว probe ด้วยน้ำกลั่น ซับด้วยกระดาษทิชชู
6. จุ่ม probe ลงในตัวอย่าง กด Enter 2 ครั้ง จะปรากฏค่า pH ของตัวอย่าง

#### หมายเหตุ

- pH buffer ต้องมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง
- ในขั้นตอนที่ 2 ใช้เวลาไม่เกิน 10-15 นาที ถ้าเกินให้ปิดเครื่องและทำการ Calibrate ใหม่
- ถ้าไม่ขึ้น Ct2 แต่ขึ้น E3 ให้ปิดเครื่องและทำการ Calibrate ใหม่ ถ้ายังไม่ได้ให้เปลี่ยน pH buffer

#### ที่ใช้

## ภาคผนวก ข

### วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด (Total polyphenol contents)

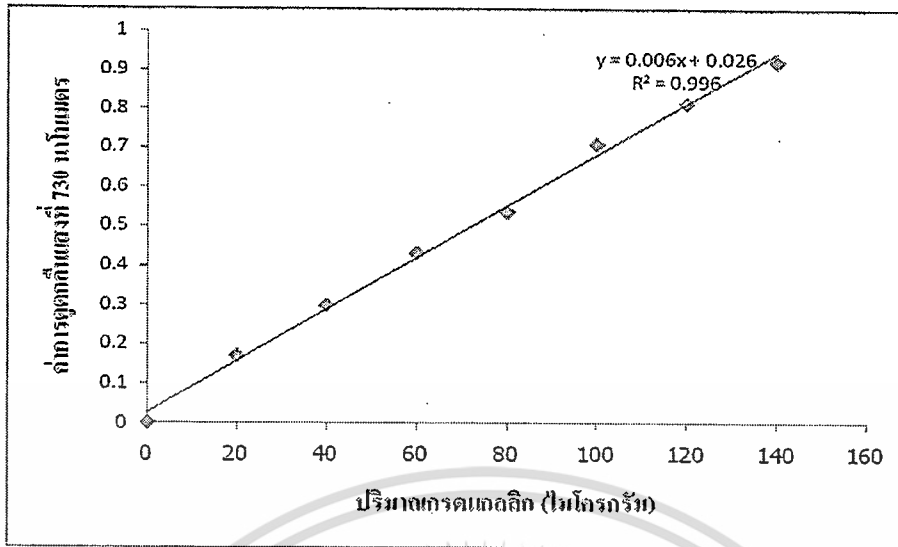
การตรวจวัดปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดจะใช้วิธีที่รายงานโดย Singleton & Rossi (1999) มีหลักการคือ วัดปริมาณความเข้มข้นของสารประกอบทั้งหมดที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ในโมเลกุล และไม่คำนึงถึงน้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลนั้นๆ ดังนั้นการวิเคราะห์ในรูปแบบนี้ จึงไม่มีการระบุชนิดของสารประกอบโพลีฟีนอลที่มีอยู่ในตัวอย่าง ซึ่งวิธีการวิเคราะห์เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยารีดักชัน-ออกซิเดชัน (reduction – oxidation) โดยที่สารประกอบโพลีฟีนอลถูกออกซอไดซ์ในสภาวะที่เป็นต่าง จากนั้นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะไปรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนทั้งสติกฟอสโฟโมลิบดีนิก (Phosphotungstic-phosphomolybdic complex) ได้ผลิตภัณฑ์เชิงซ้อนที่มีสีน้ำเงิน และสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร

#### สารเคมี

1. Folin-Ciocalteu
2. โซเดียมคาร์บอเนต (NaCO<sub>3</sub>) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
3. สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

#### การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
2. บีบสารละลายมาตรฐานดังกล่าวใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30 และ 0.35 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที
4. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
5. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็น blank
6. เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิกในหน่วย ไมโครกรัม



ภาพที่ ข.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดเกลือและค่าการดูดกลืนแสง  
ที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากกากองุ่น

1. เปิดตัวอย่าง ปริมาตร 0.25 มิลลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 5 มิลลิตร
2. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.25 มิลลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vertex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที
3. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vertex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank

การคำนวณ

การคำนวณปริมาณสาร โพลีฟีนอลทั้งหมด

สมการจากกราฟมาตรฐานของกรดเกลือ

$$y = 0.006x + 0.026; R^2 = 0.996$$

เมื่อ  $y$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร

$x$  = ปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งหมด (ไมโครกรัม/ 0.5 มิลลิตรสารสกัดตัวอย่าง)

$c$  = จุดตัดแกน  $y$

ตัวอย่างการคำนวณ

สารสกัดจากตัวอย่างกากองุ่น

ปริมาณสารสกัดตัวอย่างสารสกัดองุ่น 0.25 มิลลิลิตร

ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร เท่ากับ 0.46

แทนค่าในสูตรจะได้  $0.46 = 0.006x + 0.031$

$x = 71.67$  ไมโครกรัม / 0.25 มิลลิลิตรของสารสกัดตัวอย่าง

สารสกัดตัวอย่างมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด =  $71.67$  ไมโครกรัม / 0.25 มิลลิลิตรของสาร

สกัด

สารสกัดตัวอย่างมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด =  $154800$  ไมโครกรัม / 540 มิลลิลิตรของสาร

สกัด

ในสารสกัดตัวอย่างสารสกัดกากองุ่น 540 มิลลิลิตร มีปริมาณตัวอย่างกากองุ่น 60 กรัม

$154800/60 = 25800$  ไมโครกรัม/กรัมตัวอย่าง

ดังนั้นสารสกัดกากองุ่นมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด =  $2.58$  มิลลิกรัม/กรัมตัวอย่าง

ในการนำสารสกัดมาวัดค่าการดูดกลืนแสงนั้น เราได้เจือจางตัวอย่าง 20 เท่า ก่อนนำไปวัดค่า

เพราะฉะนั้น เราจึงคูณ 200 กลับเข้าไปในค่าสุดท้ายที่ได้ เท่ากับ  $51.60$  มิลลิกรัม / กรัมน้ำหนักแห้ง

## ภาคผนวก ก

### วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (Total anthocyanin contents)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมด ในรูปของ Cyadinin-3-glucoside จะใช้วิธี pH-different ที่รายงานโดย Guisti & Wrolsta, (2001) โดยแอนโทไซยานินมีการเปลี่ยนฟอร์มของโครงสร้างเมื่อ pH เปลี่ยนแปลง ซึ่งฟอร์มของออกโซเนียม (oxonium) จะให้สีที่ pH 1.0 และจะไม่มีสีเมื่ออยู่ในฟอร์มของเฮมิเคทอล (hemiketa) ที่ pH 4.5

#### สารเคมี

1. โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)
2. โซเดียมอะซิเตต ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )
3. กรดไฮโดรคลอริก (HCl)

#### วิธีวิเคราะห์แอนโทไซยานินในตัวอย่างสารสกัดกากองุ่น

1. สแกนหาความยาวคลื่นสูงสุด ( $\lambda_{\text{max}}$ ) ของตัวอย่างสารละลายของสารสกัดกากองุ่น โดยเจือจางสารสกัดด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์บัฟเฟอร์ (KCl), pH 1.0 ที่เจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมในระดับปริมาณของสารสกัดไม่เกิน 20 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรรวมของสารละลายเจือจาง และสามารถคำนวณค่า dilution factor (DF) ได้ เพื่อรักษาสถานะของ buffer capacity และมีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.1-0.9A
2. เตรียมสารละลายตัวอย่าง 2 ชุดและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที ดังนี้  
ชุดที่ 1 เจือจางสารสกัดจากกากองุ่นโดยใช้โพแทสเซียมคลอไรด์บัฟเฟอร์, pH 1.0  
ชุดที่ 2 เจือจางสารสกัดจากกากองุ่นโดยใช้โซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์, pH 4.5
3. วัดการดูดกลืนแสงของแต่ละชุดตัวอย่างสารสกัดที่มีความยาวคลื่นสูงสุดที่ 700 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ blank ซึ่งใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง

#### การคำนวณ

ปิเปตสารสกัดจากกากองุ่นมา 0.8 มิลลิลิตร ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์บัฟเฟอร์ (KCl), pH 1.0 จะได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดเท่ากับ 520 นาโนเมตร จากนั้นนำไปคำนวณค่าการดูดกลืนแสง (absorbance, A) ดังนี้

$$\begin{aligned} A &= (A_{\lambda_{\text{max}}} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{\lambda_{\text{max}}} - A_{700})_{\text{pH}4.5} \\ &= (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}4.5} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสง (A) ไปคำนวณหาความเข้มข้นของแอนโรไซยานินในตัวอย่างดังนี้  
 ปริมาณแอนโรไซยานิน =  $(A \times MW \times DF \times 100) / (\epsilon \times l)$

โดยที่ MW = น้ำหนักโมเลกุล 449.2 (ไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์)

DF = dilution factor

$\epsilon$  = molar absorptivity ของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์

l = ความกว้างของคิวเวต

### ตัวอย่างการคำนวณ

ปริมาตรสารสกัดตัวอย่างกากองุ่น 0.8 มิลลิลิตร ที่ pH1.0 ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดคือ 520 นาโนเมตร เท่ากับ 0.47 และค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรเท่ากับ 0.16 และที่ pH4.0 ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดคือ 517 นาโนเมตร เท่ากับ 0.022 และค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรเท่ากับ 0.019 แทนค่าในสมการคำนวณค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดกากองุ่น (absorbance, A) จะได้

$$\begin{aligned} A &= (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4.5} \\ &= (0.47 - 0.16) - (0.022 - 0.019) \\ &= 0.307 \end{aligned}$$

นำค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ไปคำนวณความเข้มข้นของแอนโรไซยานินในสารสกัดกากองุ่นโดยคำนวณตามสมการ ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณแอนโรไซยานิน} &= (A \times MW \times DF \times 100) / (\epsilon \times l) \\ &= (0.307 \times 449.2 \times 5 \times 100) / (26900 \times 1) \\ &= 2.563 \text{ มิลลิกรัม} \end{aligned}$$

ปริมาณสารสกัดตัวอย่างกากองุ่นใช้ 0.8 มิลลิลิตร (เจือจาง 10 เท่า) เท่ากับ 25.63

สารสกัดตัวอย่างมีปริมาณแอนโรไซยานินทั้งหมด = 25.63 ไมโครกรัม / 0.8 มิลลิลิตรของสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีปริมาณแอนโรไซยานินทั้งหมด = 17302.13 ไมโครกรัม / 540 มิลลิลิตรของสารสกัด

ในสารสกัดตัวอย่างกากองุ่น 540 มิลลิลิตร เตรียมได้จากการสกัดตัวอย่างกากองุ่น 60 กรัม

ดังนั้นสารสกัดกากองุ่นมีปริมาณแอนโรไซยานินทั้งหมด = 32.04 มิลลิกรัม/กรัมตัวอย่าง

## ภาคผนวก ง

## การวิเคราะห์ปริมาณเรสเวอราทรอล

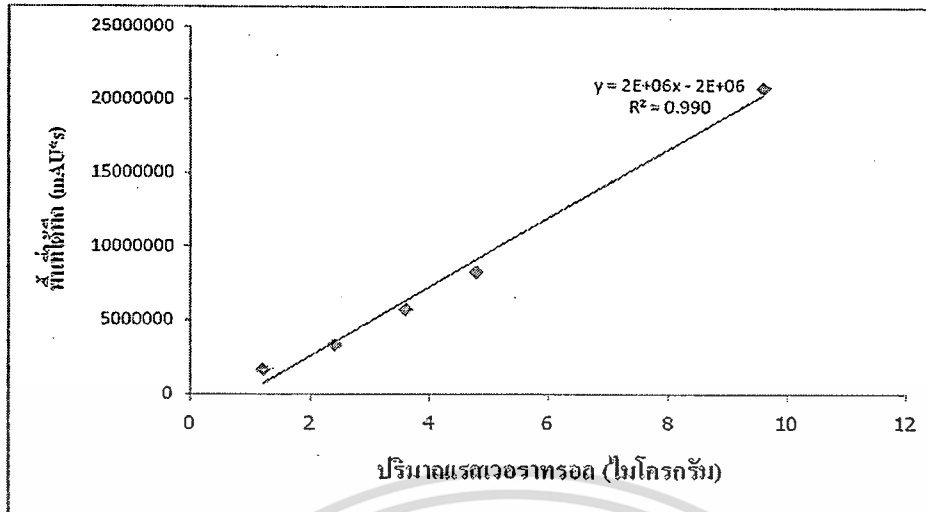
วิเคราะห์ปริมาณเรสเวอราทรอล ในสารสกัดจากองุ่น ด้วยเครื่อง HPLC (Agilent 1100) โดยใช้คอลัมน์ SynerSi 4 C-18 Phenomenex เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร ยาว 250 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาคที่บรรจุในคอลัมน์ (particle size) 4 ไมครอน ใช้สารสกัดปริมาตร 50 ไมโครลิตร เฟสเคลื่อนที่ใช้สารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร และอะซิโตไนไตรสำหรับการทำ HPLC (HPLC grade) ที่กรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน อัตราส่วนตามตารางที่ ง.1 อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 1.2 มิลลิิตรต่อนาที โดยใช้ตัวตรวจวัดยูวี (UV detector) ที่ความยาวคลื่น 306 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณเรสเวอราทรอล จะต้องสร้างกราฟมาตรฐานของเรสเวอราทรอล

ตารางที่ ง.1 อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์หาปริมาณเรสเวอราทรอล

เวลา (นาที)	อัตราส่วน (ร้อยละ)	
	กรดอะซิติก 0.1 %	อะซิโตไนไตร
0 – 20	100	0
20 – 25	65	35
25 – 30	25	75
30 – 40	20	80

## การเตรียมกราฟมาตรฐานของเรสเวอราทรอล

1. การเตรียมกราฟมาตรฐานของเรสเวอราทรอล เตรียมได้โดยละลายสารมาตรฐานเรสเวอราทรอล ใช้เอทานอล 80 % เป็นตัวทำละลาย ให้ความเข้มข้นเป็น 1.2, 2.4, 3.6, 4.8 และ 9.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
2. ฉีดสารละลายมาตรฐานของเรสเวอราทรอลปริมาตร 50 ไมโครลิตร โดยกรองสารละลายมาตรฐานของเรสเวอราทรอลแต่ละความเข้มข้นผ่านเมมเบรนที่มีขนาด 0.45 ไมครอนก่อนฉีดเพื่อดูเวลาชะ (retention time; Rt) ของสารเรสเวอราทรอล
3. ฉีดสารละลายมาตรฐานของสารเรสเวอราทรอล ทุกความเข้มข้น 50 ไมโครลิตร โดยกรองสารละลายผ่านเมมเบรนที่มีขนาด 0.45 ไมครอนก่อนฉีด เขียนกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีค (mAU\*s) กับความเข้มข้นของเรสเวอราทรอลในหน่วยไมโครกรัม



ภาพที่ ง.1 กราฟมาตรฐานของเรสเวราทรอลในการวิเคราะห์หาปริมาณเรสเวราทรอล  
โดยวิธี HPLC

การวิเคราะห์ปริมาณเรสเวราทรอลในสารสกัดกากองุ่น

การวิเคราะห์กรดฟีนอลิกทำโดยฉีดสารสกัดตัวอย่าง ปริมาตร 50 ไมโครลิตรในขวดไวโอล (vial) ที่กรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน โดยกำหนดให้เครื่องหยุดการตรวจวัดหลังจากฉีดสารละลายแล้ว (stop time) เป็นเวลา 10 นาที ล้างคอลัมน์โดยใช้ เมททานอลเข้มข้น 20% ก่อนฉีดตัวอย่างต่อไป ค่าที่ได้คำนวณหาปริมาณเรสเวราทรอล โดยเทียบกราฟมาตรฐาน

ตัวอย่างการคำนวณ

คำนวณปริมาณเรสเวราทรอลจากตัวอย่างสารสกัดกากองุ่น

สมการจากกราฟมาตรฐานของกรดคาเฟอิก

$$y = 2E + 06x + 2E + 06; R2 = 0.99$$

เมื่อ  $y$  = พื้นที่ใต้พีค (mAU\*s) ที่ได้จากการเทียบเวลาชะ (Rt) ของสารละลายมาตรฐานของเรสเวราทรอล

$x$  = ปริมาณกรดคาเฟอิก (ไมโครกรัม/ 5 ไมโครลิตรสารสกัดตัวอย่าง)

$c$  = จุดตัดแกน  $y$

ตัวอย่างสารสกัดจากกากองุ่น

ครั้งที่ 1 ปริมาณสารสกัดตัวอย่าง 50 ไมโครลิตร

พื้นที่ใต้พีค เท่ากับ 1,608,534 mAU\*s

แทนค่าในสูตรจะได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$1,608,534 = 2000000x + 2000000$$

$$x = 1.804 \text{ ไมโครกรัม} / 50 \text{ ไมโครลิตรของสารสกัดตัวอย่าง}$$

$$\begin{aligned} \text{สารสกัดตัวอย่างมีปริมาณเรสเวอราทรอล} &= 1.8 \text{ ไมโครกรัม} / 50 \text{ ไมโครลิตรของสารสกัด} \\ &= 19,486 \text{ ไมโครกรัม} / 540 \text{ มิลลิลิตรของสารสกัด} \end{aligned}$$

ในสารสกัดตัวอย่าง 540 มิลลิลิตร เตรียมได้จากกากองุ่นบด 60 กรัม ดังนั้น

$$\begin{aligned} \text{สารสกัดกากองุ่นมีปริมาณเรสเวอราทรอล} &= 324.77 \text{ ไมโครกรัม} / \text{กรัมตัวอย่าง} \\ &= 0.33 \text{ มิลลิกรัม} / \text{กรัมตัวอย่าง} \end{aligned}$$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก จ

### การวิเคราะห์ปริมาณคาเทชิน

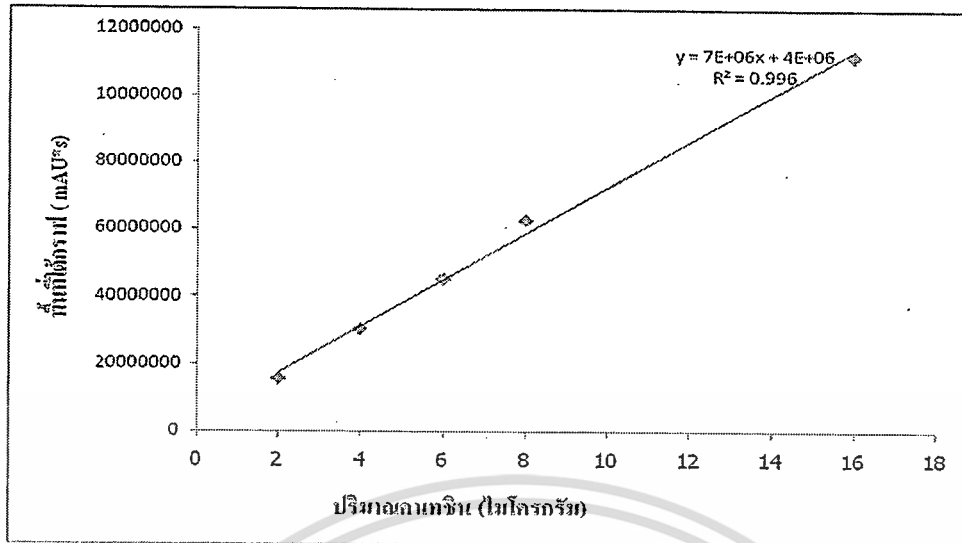
วิเคราะห์ปริมาณคาเทชิน ในสารสกัดจากองุ่น ด้วยเครื่อง HPLC (Agilent 1100) โดยใช้คอลัมน์ SynerSi 4 C-18 Phenomenex เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร ยาว 250 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาคที่บรรจุในคอลัมน์ (particle size) 4 ไมครอน ใช้สารสกัดปริมาตร 50 ไมโครลิตร เฟสเคลื่อนที่ใช้สารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร และอะซิโตไนโตรสำหรับการทำ HPLC (HPLC grade) ที่กรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน อัตราส่วนตามตารางที่ จ.1 อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้ตัวตรวจวัดยูวี (UV detector) ที่ความยาวคลื่น 231 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณคาเทชิน โดยทำพื้นที่ได้ฟิคที่ได้ นำมาคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานคาเทชิน

ตารางที่ จ.1 อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์หาปริมาณคาเทชิน

เวลา (นาที)	อัตราส่วน (ร้อยละ)	
	กรดอะซิติก 0.1 %	อะซิโตไนโตร
0 – 20	100	0
20 – 25	65	35
25 – 30	25	75
30 – 40	20	80

#### การเตรียมกราฟมาตรฐานของคาเทชิน

1. การเตรียมกราฟมาตรฐานของคาเทชิน เตรียมได้โดยละลายสารมาตรฐานคาเทชิน ใช้เมทานอล เป็นตัวทำละลาย ให้ความเข้มข้นเป็น 2, 4, 6, 8 และ 16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
2. ฉีดสารละลายมาตรฐานของคาเทชินปริมาตร 50 ไมโครลิตร โดยกรองสารละลายมาตรฐานของคาเทชินแต่ละความเข้มข้นผ่านเมมเบรนที่มีขนาด 0.45 ไมครอนก่อนฉีดเพื่อดูเวลาชะ (retention time; *Rt*) ของสารคาเทชิน
3. ฉีดสารละลายมาตรฐานคาเทชิน ทุกความเข้มข้น 50 ไมโครลิตร โดยกรองสารละลายผ่านเมมเบรนที่มีขนาด 0.45 ไมครอนก่อนฉีด เขียนกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ที่ได้ฟิค (mAU\*s) กับความเข้มข้นของคาเทชินในหน่วยไมโครกรัม



ภาพที่ จ.1 กราฟมาตรฐานของคาเฟอีนในการวิเคราะห์หาปริมาณคาเฟอีน โดยวิธี HPLC

### การวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนในสารสกัดจากถั่ว

การวิเคราะห์กรดฟีนอลิกทำโดยฉีดสารสกัดตัวอย่าง ปริมาตร 50 ไมโครลิตรในขวดไวโอล (vial) ที่กรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน โดยกำหนดให้เครื่องหยุดการตรวจวัดหลังจากฉีดสารละลายแล้ว (stop time) เป็นเวลา 10 นาที ล้างคอลัมน์โดยใช้ เมทานอลเข้มข้น 20% ก่อนฉีดตัวอย่างต่อไป ค่าที่ได้คำนวณหาปริมาณคาเฟอีน โดยเทียบกราฟมาตรฐาน

### ตัวอย่างการคำนวณ

#### คำนวณปริมาณคาเฟอีนจากตัวอย่างสารสกัดถั่ว

สมการจากกราฟมาตรฐานของคาเฟอีน

$$y = 7E + 06x + 4E + 06; R2 = 0.996$$

เมื่อ  $y =$  พื้นที่ใต้พีค (mAU\*s) ที่ได้จากการเทียบเวลาชะ (Rt) ของสารละลายมาตรฐานของเรสเวอราทรอล

$x =$  ปริมาณคาเฟอีน (ไมโครกรัม/ 50 ไมโครลิตรสารสกัดตัวอย่าง)

$c =$  จุดตัดแกน  $y$

### ตัวอย่างสารสกัดจากถั่ว

ครั้งที่ 1 ปริมาณสารสกัดตัวอย่าง 50 ไมโครลิตร

พื้นที่ใต้พีค เท่ากับ 53,576,524 mAU\*s

แทนค่าในสูตรจะได้

$$53,576,524 = 7000000x + 4000000$$

$$x = 7.08 \text{ ไมโครกรัม} / 50 \text{ มิลลิกรัมของสารสกัดตัวอย่าง}$$

สารสกัดตัวอย่างมีปริมาณคาเทชิน = 7.08 ไมโครกรัม / 50 มิลลิกรัมของสารสกัด

$$= 76489.49 \text{ ไมโครกรัม} / 540 \text{ มิลลิกรัมของสารสกัด}$$

ในสารสกัดตัวอย่าง 540 มิลลิกรัม เตรียมได้จากกากองุ่นบด 60 กรัม ดังนั้น

สารสกัดกากองุ่นมีปริมาณคาเทชิน = 1274.83 ไมโครกรัม / กรัมตัวอย่าง

$$= 1.20 \text{ มิลลิกรัม} / \text{กรัมตัวอย่าง}$$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ฉ

## การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH scavenging activity)

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH วิเคราะห์โดยใช้วิธีที่รายงานโดย Murakami และคณะ (2004) ซึ่งมีหลักการคือ สารละลายของอนุมูลอิสระ DPPH จะมีสีม่วงแดง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ที่ 517 นาโนเมตร ในกรณีตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดี จะทำให้สีม่วงแดงของสารละลาย DPPH จางลงได้มากกว่าตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้น้อย

## สารเคมี

1. สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 0.0158 กรัม ละลายในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรรวมให้เป็น 50 มิลลิลิตร
2. เอทานอล ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์

## วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ 0.12 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง
2. ปิเปตตัวอย่างสารสกัด และเอทานอล ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ โดยห้ปริมาตรของสารละลายที่ทำปฏิกิริยารวมทั้งหมดเป็น 1.2 มิลลิลิตร นั่นคือปริมาตรรวมของตัวอย่างสารสกัด และเอทานอล ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ จะต้องเท่ากับ 1.08 มิลลิลิตร
3. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอล ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์เป็น blank
5. คำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยแทนค่าในสมการดังนี้  

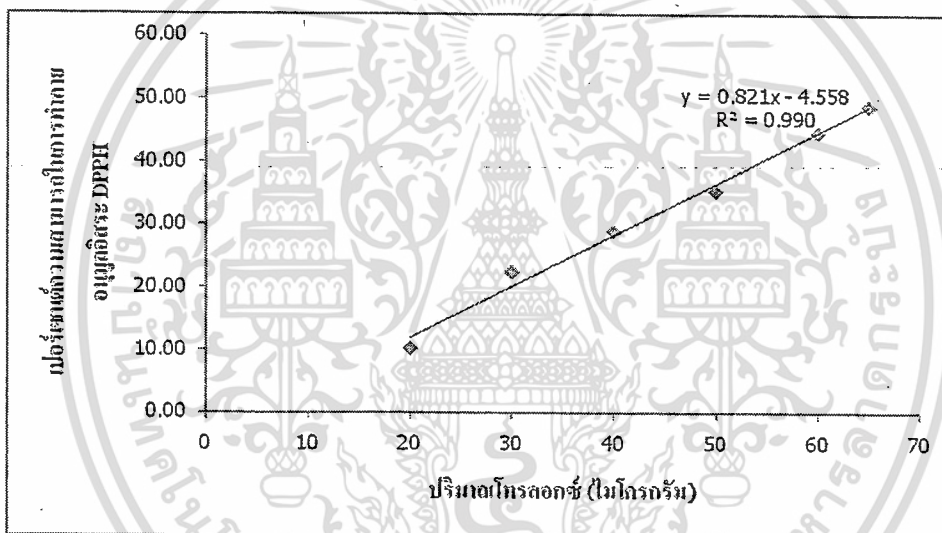
$$\{1 - (\text{ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง} / \text{ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม})\} \times 100$$

## การเตรียมกราฟมาตรฐานโทรลอกซ์

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานสารละลาย DPPH โดยให้ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 0.0158 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเอทานอลให้ปริมาตรรวมเป็น 50 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลายมาตรฐานสารละลายโทรลอกซ์ โดยให้ความเข้มข้นโดยรวมในหลอดทดลอง เป็น 20, 30, 40, 50, 60 และ 65 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยเตรียมโทรลอกซ์ที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรโดยชั่งโทรลอกซ์ 0.025 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเอทานอลให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยปิเปตมา 0.08, 0.12, 0.16, 0.2, 0.26 และ 0.20 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ปรับปริมาตรด้วยเอธานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ให้มีปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 0.2 มิลลิลิตร
- ปรับปริมาตรด้วยเอธานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ให้มีปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 5.4 มิลลิลิตร
  - เติมสารละลาย DPPH 0.6 มิลลิลิตร
  - ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที ในที่มืด
  - วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอธานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์เป็น blank
  - เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายในหน่วย ไมโครกรัม



ภาพที่ ๑.1 กราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอคซ์

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในตัวอย่างสารสกัดจากกากองุ่น

- วิธีการวิเคราะห์ทำโดยดูดสารสกัดที่เจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมมา ปรับปริมาตรด้วยเอธานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ให้มีปริมาตรรวมเป็น 1.8 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ 4.2 มิลลิลิตร
- ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาทีในที่มืด นำไปวัด
- วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณหาความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ

### การคำนวณ

การคำนวณความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

คำนวณความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างสารสกัด สมมูล Trolox โดยคำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ตามสมการต่อไปนี้เปอร์เซ็นต์

$$\text{ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH} = \left(1 - \left(\frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}}\right)\right) \times 100$$

โดยที่  $A_{\text{sample}}$  = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาของตัวอย่างสารสกัด

$A_{\text{control}}$  = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาควบคุม

ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ มาแทนค่าในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน Trolox ดังรูปที่ จ.1 สมการจากกราฟมาตรฐานของ Trolox

$$y = 0.821x - 4.558; R^2 = 0.9995$$

เมื่อ  $y$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

$x$  = ค่าความเข้มข้นของสารละลาย DPPH (ไมโครกรัม / 0.01 มิลลิลิตร สารสกัดตัวอย่าง)

$c$  = จุดตัดแกน  $y$

ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จะรายงานในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลของ Trolox ต่อกรัมตัวอย่างสด โดยใช้กราฟมาตรฐานของ Trolox

### ตัวอย่างการคำนวณ

ตัวอย่างสารสกัดจากกากองุ่น

ปริมาณสารสกัดกากองุ่น 0.01 มิลลิลิตร ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เท่ากับ 0.501 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของตัวอย่างควบคุมเท่ากับ 0.741 แทนค่าในสมการจะได้

$$\begin{aligned} \text{เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH} &= \{1 - (0.501/0.741)\} \times 100 \\ &= 32.39 \end{aligned}$$

แทนค่าในสมการจากกราฟมาตรฐานของ Trolox

$$32.39 = 1.8851x - 3.088$$

$$x = 45.002 \text{ ไมโครกรัมสมมูลของ Trolox} / 0.01 \text{ มิลลิลิตรของสารสกัดตัวอย่าง}$$

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH = 45.002 ไมโครกรัมสมมูลของ Trolox / 0.01 มิลลิลิตรของสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH = 2430109 ไมโครกรัมสมมูลของ Trolox / 540 มิลลิลิตรของสารสกัด

ในสารสกัดกากองุ่น 540 มิลลิลิตร มาจากตัวอย่างกากองุ่น 60 กรัมดังนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH = 40,501.82 ไมโครกรัม  
สมมูลย์ของโทรลอคซ์ / 1 กรัมตัวอย่าง

สารสกัดกากองุ่นมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH = 40.50 มิลลิกรัมสมมูลย์  
ของโทรลอคซ์ / 1 กรัมตัวอย่าง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ข้อมูลประวัติผู้วิจัย

ชื่อ - นามสกุล นาย กิตติชัย บรรจง  
 ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ ระดับ 7  
 หน่วยงาน สาขาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร  
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ถนนจลองกรุง  
 เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

### ประวัติการศึกษา

วท.บ. (เกษตรศาสตร์) เกียรตินิยมอันดับ 1 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
 M.Sc. (Agricultural and Food Engineering), The most outstanding prize (Hizamatsu Prize)  
 Asian Institute of Technology

D.Tech.Sc. (Agricultural and Food Engineering), Asian Institute of Technology

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ Food Process Engineering and Physical Properties of Food Materials

### การเสนอผลงานวิชาการ

1. Thuto, W. and Banjong, K. 2011. A finite element method for study of microwave heat distribution model. The 4<sup>th</sup> SUT Graduate Conference 2011: 36-46.
2. Yuthanawa, A. and Banjong, K. 2010. Computer software for GMP and HACCP audit report arrangement. King Mongkut's Agro-Industry journal 2 (2): 56-65.
3. Banjong, K. and Mongkolsamrit, W. 2010. Effect of extraction temperature and ethanol concentration on total polyphenol content and free radical scavenging activity of sea salt enhanced with grape pomace extracts. In the proceeding of the 8th Science and Technology Conference 19th March 2010 :PFD01, Faculty of Science and Technology, Thammasat University Rangsit Center, Pathumtani.
4. Wisetsunthorn, P. and Banjong, K. 2010. Application of Image Processing to Analyse Surface Characteristics of Shrimp during Drying. King Mongkuts Agricultural Journal, 28(2):29-36.

5. Banjong, K. 2008. Application of compression platen method to measure canned rice texture. In proceeding of the international symposium for the strategy on globalization of Asian foods, Mokpo National University, Republic of Korea. May,30th:43-52.(441p.)
6. Banjong, K. 1999. Study on physical properties of bacterial cellulose. In abstract of research in university in Thailand 1997-99, Bangkok, Thailand. p.400 (868p.)
7. Adulprasertsook, S., S. Boonit and K. Banjong. 1994. Water activity measuring instrument for food product. In proceeding of Thailand National Agricultural Machinery Conference on Technology for Agricultural Improvement, Bangkok, Thailand.p.249 (304p.)
8. Banjong, K., S.Chokechaisawasdee and A.Reungchirachooporn. 1994. Quality index for young coconut selection with non-destructive method. In proceeding of the 1st National Conference on Horticulture 2-5 August, Rayong, Thailand. National Research Council and Thailand Agricultural Science Association. p.39
9. Banjong, K. 1991. Hardness measurement of cooked rice using back extrusion test. King Mongkuts Agricultural Journal, 9(3):31-35.
10. Banjong, K. 1990. Thin-layer drying characteristics of rough rice. Dissertation AE-90-4, Asian Institute of Technology, Patumthani, Thailand, 115p.