



ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2559

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์และสงวนสิทธิ์ในเนื้อหาและข้อมูลโดยผู้จัดทำไว้เพื่อใช้ในการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาเทคโนโลยีอัลตราโซนิคในกระบวนการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่น  
Development of ultrasonic technology in grape seed oil  
extraction process

นายกิตติชัย บรรจง

600268509

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2559

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ชื่อโครงการ การพัฒนาเทคโนโลยีอัลตราโซนิกในกระบวนการสกัดน้ำมันเมล็ดดองุ่น

แหล่งเงิน งบประมาณ

ประจำปีงบประมาณ 2559 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 55,000 บาท

ระยะเวลาในการทำวิจัย 1 ปี ตุลาคม 2558 – กันยายน 2559

หัวหน้าโครงการ นายกิตติชัย บรรจง คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### บทคัดย่อ

เมล็ดดองุ่นแดงตัวอย่าง มีปริมาณน้ำมันทั้งหมดร้อยละ 13.61 โดยน้ำหนักแห้ง นำมาสกัดเป็นน้ำมันเมล็ดดองุ่นด้วยตัวทำละลายเฮกเซน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันเมล็ดดองุ่น ได้แก่ อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดดองุ่น และระยะเวลา ในการสกัด เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราโซนิก (Ultrasound-Assisted Extraction; UAE) ตลอดจนผลของวิธีการสกัดต่อปริมาณผลผลิตและคุณภาพของน้ำมันเมล็ดดองุ่น พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีแบบดั้งเดิม คือ อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดดองุ่น 6 ต่อ 1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ใช้เวลาในการสกัด 30 นาที ให้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 11.13 โดยน้ำหนักแห้ง และวิธีอัลตราโซนิกช่วยสกัด UAE ที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ กำลังไฟฟ้า 750 วัตต์ ค่าแอมพลิจูดร้อยละ 80 โดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดดองุ่น 2 ต่อ 1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ระยะเวลา 15 นาที ให้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 11.42 โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพโดยช่วยลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายได้ถึง 3 เท่า และลดระยะเวลาในการสกัดเป็น 2 เท่าของวิธีดั้งเดิม ในเรื่ององค์ประกอบของกรดไขมันพบกรดไลโนเลอิก (C18:2) กรดโอเลอิก (C18:1) และกรดปาล์มิติก (C16:0) เป็นกรดไขมันหลัก และพบว่าน้ำมันเมล็ดดองุ่นเป็นแหล่งที่ดีของกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (PUFA) สำหรับการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันที่ได้ซึ่งเป็นน้ำมันดิบ ได้แก่ ความหนืด ค่าเพอร์ออกไซด์ ค่าไอโอดีน และค่าสaponification มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานน้ำมันบริโภค และในการวิเคราะห์วิตามินอีพบในรูปแอลฟา-โทโคฟีรอล ปริมาณสูงที่สุด

**คำสำคัญ :** น้ำมันเมล็ดดองุ่น ปริมาณผลผลิตน้ำมัน วิธีการสกัดโดยการแช่ วิธีการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดสมบัติทางเคมีกายภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Development of ultrasonic technology in grape seed oil extraction process

Researcher: Kittichai Banjong

Faculty: Agro-industry

## ABSTRACT

Shiraz grape seeds containing the total oil content of 13.61% (w/w on dry weight) were used by commercial hexane. The objectives of this research were to study the effect of solvent to solid ratio and extraction time of the extraction of grape seed oil and to evaluate the optimal condition for ultrasound-assisted extraction (UAE). It was found that the optimal condition for conventional method was obtained at solvent to solid ratio of 6:1 (v/w) and maceration time of 30 min gave 11.13% (w/w on dry basis) oil yield. The optimal condition for UAE was achieved at 20 kHz 750 W power and 80% amplitude level using solvent to solid ratio of 2:1 (v/w) and sonication time of 15 min provided 11.42% (w/w on dry basis) oil yield. Increasing the amplitude level and sonication time had benefit to improve the oil yield. Thus UAE was efficient extraction process of grape seed oil. In addition, it had been found that the application of ultrasound enables reduction of solvent consumption and extraction time by 3 and 2 times of ME respectively. Concerning fatty acid profile, linoleic (C18:2), oleic acid (C18:1) and palmitic acid (C16:0) were predominant. Grape seed oil found to be a good source of polyunsaturated fatty acid constituting over 85%. For the physicochemical properties of unrefined grape seed oil were determined as viscosity, peroxide value, iodine value and saponification value, which were complied with the standard edible oil value. Vitamin E was analyzed and  $\alpha$ -tocopherol was presented the highest amount.

**Keyword** : grape seed oil, oil yield, maceration extraction, ultrasound-assisted extraction, physicochemical properties

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับเงินทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง แหล่งเงินทุนงบประมาณประจำปี 2559 ผู้วิจัยขอขอบคุณบุคลากรและนักศึกษาระดับปริญญาตรี และนักศึกษาระดับปริญญาโท คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่านที่เกี่ยวข้อง ที่ได้ให้ความช่วยเหลือด้วยดี

นายกิตติชัย บรรจง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญภาพ.....	VII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 กากองุ่น.....	3
2.2 เมล็ดองุ่น.....	3
2.3 น้ำมันเมล็ดองุ่น.....	4
2.4 การสกัด.....	5
2.5 คลื่นเสียงความถี่สูง.....	6
2.6 การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง.....	7
2.7 การสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลาย.....	9
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	10
บทที่ 3 วิธีดำเนินการ.....	13
3.1 วัตถุประสงค์.....	13
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	13
3.3 สารเคมี.....	14
3.4 สถานที่ทำการทดลอง.....	15
3.5 วิธีการทดลอง.....	15
3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	19
4.1 องค์ประกอบของเมล็ดดองุ่น.....	19
4.2 สภาพที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันเมล็ดดองุ่นด้วยวิธีการแช่.....	19
4.3 สภาพที่เหมาะสมของคลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัดน้ำมันเมล็ดดองุ่น.....	22
4.4 ปริมาณผลผลิตของน้ำมันเมล็ดดองุ่นที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีที่แตกต่างกัน.....	25
4.5 องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันเมล็ดดองุ่น.....	25
4.6 สมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันเมล็ดดองุ่น.....	28
4.7 สมบัติความคงตัวของน้ำมันของน้ำมันเมล็ดดองุ่น.....	32
4.8 สมบัติทางความร้อนของน้ำมันเมล็ดดองุ่น.....	33
4.9 ปริมาณวิตามินอี (โทโคฟีรอลและโทโคไตรอีนอล) ในน้ำมันเมล็ดดองุ่น.....	35
4.10 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันเมล็ดดองุ่น.....	37
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	39
บทที่ 6 สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย.....	41
บรรณานุกรม.....	42
ภาคผนวก.....	46
ภาคผนวก ก.....	47
ภาคผนวก ข.....	72
ภาคผนวก ค.....	74
ภาคผนวก ง.....	76
ประวัติผู้เขียน.....	78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบโดยประมาณของเมล็ดองุ่นแห้ง ( <i>Vitis vinifera</i> cv Shiraz).....	19
ตารางที่ 4.2 ผลของอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่นและระยะเวลาในการสกัดโดยวิธีการแช่ที่มีต่อปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดองุ่น	21
ตารางที่ 4.3 ผลของอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่นและระยะเวลาในการสกัดโดยวิธีการแช่ที่มีต่อความสามารถในการสกัดได้ (recovery)	22
ตารางที่ 4.4 ผลของค่าแอมพลิจูดที่มีต่อปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดองุ่น	23
ตารางที่ 4.5 ปริมาณผลผลิตที่เพิ่มขึ้นของน้ำมันเมล็ดองุ่นที่ได้จากวิธีใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดเปรียบเทียบกับวิธีการแช่เพียงอย่างเดียวตลอดระยะเวลาสกัด 15 นาที	24
ตารางที่ 4.6 เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดองุ่นและปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดของวิธีสกัดที่แตกต่างกัน	25
ตารางที่ 4.7 องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธีที่แตกต่างกัน	27
ตารางที่ 4.8 องค์ประกอบของกรดไขมันอิ่มตัว, กรดไขมันไม่อิ่มตัวตำแหน่งเดียว (เชิงเดี่ยว) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (เชิงซ้อน) และสัดส่วนของกรดไขมันในน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธีที่แตกต่างกัน	28
ตารางที่ 4.9 สมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธีต่าง ๆ	32
ตารางที่ 4.10 ความคงตัวของน้ำมันเมล็ดองุ่น	33
ตารางที่ 4.11 สมบัติทางความร้อนการเกิดจุดหลอมเหลว (melting) และการตกผลึก (crystalization) ของน้ำมันเมล็ดองุ่น	34
ตารางที่ 4.12 ปริมาณวิตามินอี (โทโคฟีรอลและโทโคไตรอีนอล) ในน้ำมันเมล็ดองุ่น	37
ตารางที่ 4.13 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของในน้ำมันเมล็ดองุ่น	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2.1	คลื่นความถี่ของคลื่นอัลตราซาวด์ในช่วงต่าง ๆ.....	7
ภาพที่ 2.2	การสกัดทางอ้อมโดยอาศัยตัวกลาง หรือเครื่องล้างระบบอัลตราโซนิก.....	8
ภาพที่ 2.3	การสกัดโดยตรงแบบใช้ ultrasound horn หรือ probe เป็นแหล่งกำเนิดคลื่นเสียง....	8
ภาพที่ 2.4	การสกัดโดยตรงแบบให้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงติดกับถังสกัด.....	9
ภาพที่ 3.1	การทดลองด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด โดยใช้เวลาสกัดทั้งหมด.....	17
	15 นาที	
ภาพที่ 4.1	ผลของอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่นและระยะเวลาในการสกัด.....	21
	โดยวิธีการแช่ที่มีต่อปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดองุ่น	
ภาพที่ 4.2	ผลของเวลาที่ใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดที่มีต่อปริมาณผลผลิตน้ำมัน.....	24
	เมล็ดองุ่น	
ภาพที่ 4.3	ลักษณะสีของน้ำมันเมล็ดองุ่นที่ได้จากการสกัดที่แตกต่างกัน.....	29
ภาพที่ 4.4	เทอร์โมแกรมสมบัติทางความร้อนการเกิดจุดหลอมเหลวของน้ำมันเมล็ดองุ่น.....	35
ภาพที่ 4.5	เทอร์โมแกรมสมบัติทางความร้อนการตกผลึกของน้ำมันเมล็ดองุ่น.....	35
ภาพที่ ก.1	กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกในการวิเคราะห์ TPC.....	62
ภาพที่ ก.2	กราฟมาตรฐานโทรลอกซ์ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH.....	66
ภาพที่ ก.3	กราฟมาตรฐานโทรลอกซ์ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS.....	70
ภาพที่ ข.1	เทอร์โมแกรมของสมบัติทางความร้อนของอุณหภูมิการเกิดจุดหลอมเหลว.....	72
	ของน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี ME	
ภาพที่ ข.2	เทอร์โมแกรมของสมบัติทางความร้อนของอุณหภูมิการตกผลึกของน้ำมัน.....	72
	ที่สกัดด้วยวิธี ME	
ภาพที่ ข.3	เทอร์โมแกรมของสมบัติทางความร้อนของอุณหภูมิการเกิดจุดหลอมเหลว.....	73
	ของน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี UAE	
ภาพที่ ข.4	เทอร์โมแกรมของสมบัติทางความร้อนของอุณหภูมิการตกผลึกของน้ำมัน.....	73
	ที่สกัดด้วยวิธี UAE	
ภาพที่ ค.1	โครมาโตแกรมของชนิดกรดไขมันที่สกัดด้วยวิธี ME.....	74
ภาพที่ ค.2	โครมาโตแกรมของชนิดกรดไขมันที่สกัดด้วยวิธี UAE.....	74
ภาพที่ ค.3	โครมาโตแกรมของชนิดโทคอลส์ที่สกัดด้วยวิธี ME.....	75
ภาพที่ ค.4	โครมาโตแกรมของชนิดโทคอลส์ที่สกัดด้วยวิธี UAE.....	75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ ง.1	กากองุ่นและเมล็ดองุ่น	76
ภาพที่ ง.2	การสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่นด้วยวิธี ME	76
ภาพที่ ง.3	การสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่นด้วยวิธี UAE	77
ภาพที่ ง.4	น้ำมันเมล็ดองุ่นและเฮกเซน (miscella) ที่ได้จากการกรองก่อนระเหยตัวทำละลาย	77
ภาพที่ ง.5	น้ำมันเมล็ดองุ่นที่ได้หลังระเหยตัวทำละลาย	77



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

เมล็ดถั่วเป็นส่วนใหญ่ประกอบหลักในกากถั่ว ซึ่งเป็นส่วนที่เหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตไวน์ กากถั่วประกอบด้วยเปลือก เมล็ด และก้าน โดยมีประมาณร้อยละ 20-25 ของน้ำหนักของถั่วที่ใช้ผลิตไวน์ ในส่วนของเมล็ดถั่วมีปริมาณสูงถึงร้อยละ 40-60 ของกากถั่ว องค์ประกอบภายในของเมล็ดถั่วมีน้ำมัน ประมาณร้อยละ 7-20 เยื่อใยร้อยละ 35 โปรตีนร้อยละ 11 แร่ธาตุร้อยละ 3 น้ำร้อยละ 7 และยังมีอุดมไปด้วยสารประกอบฟีนอลิกร้อยละ 29 (Matthäs, 2008) จึงสามารถนำเมล็ดถั่วไปสกัดเป็นน้ำมันหรือ สารช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับอาหารและยาได้ อีกทั้งยังเป็นการช่วยลดปัญหาในการกำจัด ของเสียอีกด้วย เมล็ดถั่วจึงเป็นวัตถุดิบสำคัญที่สามารถเพิ่มมูลค่าให้กับผู้ผลิตได้

น้ำมันเมล็ดถั่วเป็นผลิตภัณฑ์อีกหนึ่งทางเลือกที่ดีต่อสุขภาพเนื่องจากภายในเมล็ดถั่วอุดมไปด้วย กรดไขมันไม่อิ่มตัวในปริมาณสูงถึงร้อยละ 90 โดยเฉพาะกรดไลโนเลอิกมีมากกว่าร้อยละ 70 และกรด โอลีอิกร้อยละ 15 (Matthäs, 2008) ซึ่งสามารถป้องกันการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดได้ และมีสารต้าน อนุมูลอิสระจากธรรมชาติ คือ วิตามินอี (tocopherol) ปริมาณ 5-52 มิลลิกรัมต่อน้ำมัน 100 กรัม ซึ่งมี คุณสมบัติ ในการป้องกันเซลล์ประสาทและต่อต้านเนื้องอกลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด และมีฤทธิ์ใน การต้านอนุมูลอิสระ (Bail และคณะ, 2008) น้ำมันเมล็ดถั่วจึงได้รับความสนใจจากผู้บริโภคและนักวิจัย ทำให้มีผู้ศึกษาและทำการวิจัยเกี่ยวกับสารสกัดและน้ำมันเมล็ดถั่วเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ยา อาหารเพื่อสุขภาพ รวมทั้งเครื่องสำอางด้วย

การสกัดน้ำมันเพื่อต้องการให้ได้ปริมาณผลผลิตน้ำมันสูงเพียงพอ ส่วนใหญ่นิยมสกัดด้วยตัวทำ ละลาย ซึ่งมีวิธีการสกัดที่หลากหลาย ทั้งสกัดโดยใช้ความร้อนและไม่ใช้ความร้อน ปัจจุบันได้มีการใช้ คลื่นอัลตราซาวนด์ (ultrasound) หรือคลื่นอัลตราโซนิค (ultrasonic wave) ซึ่งเป็นคลื่นเสียงความถี่สูงมา ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการสกัด เนื่องจากการใช้คลื่นอัลตราซาวนด์กำลังสูงและความถี่ต่ำ (high power and low frequencies) หรือที่เรียกว่า พาวเวอร์อัลตราซาวนด์ (power ultrasound) ความถี่ที่ ใช้อยู่ในช่วง 20-100 กิโลเฮิร์ตซ์ มาประยุกต์ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร (Baumann และคณะ, 2005) ส่งผลต่อคุณสมบัติทางกลและทางเคมีของอาหาร โดยเกิดปรากฏการณ์แควิเทชัน (cavitation) ทำให้ตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าไปในวัตถุดิบที่นำมาสกัดได้ดียิ่งขึ้น และมีประสิทธิภาพในการถ่ายเท มวลสาร (mass transfer) เพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้คลื่นอัลตราซาวนด์ยังไปทำลายพื้นผิวที่บริเวณผนังเซลล์ และภายในเซลล์ทำให้สารที่ต้องการสกัดสามารถออกมาได้ง่ายขึ้น (Mason, 1998)

ในกระบวนการผลิตไวน์จะใช้อุ่นประมาณ 2,500 ตัน ซึ่งในทุก ๆ ปีจะต้องทิ้งเมล็ดที่เหลือจาก การผลิต 125 ตัน (ข้อมูลจากโรงงานสยาม ไวน์เออร์รี่) ทางโรงงานจึงประสบปัญหาในการจัดการของเสีย โดย ปกติแล้วเมล็ดถั่วเหล่านี้จะถูกนำไปกองทิ้งไว้รวมกัน ทำให้เกิดปัญหาพื้นที่ ไม่เพียงพอและเกิดการเน่าเสีย ในโรงงาน (Vayupharp และ Laksanalamai, 2012) ถึงแม้ว่าจะมีการพัฒนาวิธีการสกัดขั้นมากมายที่ได้ ปริมาณผลผลิตสูงและราคาต่ำ แต่มีการศึกษาอยู่ไม่มากนักที่สนใจในการสกัดน้ำมันจากเมล็ดถั่วที่ได้จาก ไร่ ไม่ว่าจะเป็นวิธีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรงงานผลิตไวน์ในประเทศไทย ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำเมล็ดองุ่นพันธุ์ Shiraz ซึ่งเป็นสายพันธุ์องุ่นสำหรับทำไวน์แดงที่ปลูกมากที่สุดในประเทศไทยจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตไวน์มาใช้ประโยชน์เพื่อเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์น้ำมันเมล็ดองุ่น โดยการพัฒนากระบวนการสกัดน้ำมันจากเมล็ดองุ่นเพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยมีการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีคลื่นเสียงความถี่สูงในกระบวนการสกัด และศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสกัดเพื่อให้สามารถนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ต่อยอดในระดับต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่น ได้แก่ ระยะเวลาในการสกัดและอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดด้วยวิธีการแช่ (maceration extraction, ME) และวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด (ultrasound-assisted extraction, UAE)

1.2.2 เพื่อเปรียบเทียบวิธีการแช่ (ME) และวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด (UAE) ที่มีต่อปริมาณผลผลิตและคุณภาพของน้ำมัน

## 1.3 ขอบเขตงานวิจัย

การวิจัยนี้มีขอบเขตของการวิจัยคือ การประยุกต์เทคโนโลยีคลื่นเสียงความถี่สูง (อัลตราโซนิก) ในกระบวนการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่น เพื่อเปรียบเทียบผลของน้ำมันที่สกัดด้วยวิธีการแช่ และวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดทั้งด้านปริมาณผลผลิตและคุณภาพของน้ำมัน โดยวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน และสมบัติทางเคมีกายภาพ ได้แก่ สี ความหนืด ค่าความเป็นกรด ค่ากรดไขมันอิสระ ค่าเปอร์ออกไซด์ ค่าพาราแอนนิซิดิน ค่าไอโอดีน ค่าสปอนนิฟิเคชัน ปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมด ความคงตัวของน้ำมัน สมบัติทางความร้อน ปริมาณวิตามินอี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมัน เมล็ดองุ่นที่ใช้ในการสกัดน้ำมันได้จากโรงงานผลิตไวน์ อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร.

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถนำเมล็ดองุ่นซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตรมาสกัดเป็นน้ำมันเมล็ดองุ่นที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ และเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้ง

1.4.2 ทำให้ทราบถึงวิธีการและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่นด้วยวิธีต่าง ๆ เพื่อให้ได้ผลผลิตในปริมาณเพียงพอ และศึกษาผลของกระบวนการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่นที่มีต่อปริมาณและคุณภาพของน้ำมัน

1.4.3 สามารถประยุกต์ใช้เทคโนโลยีอัลตราโซนิกมาช่วยในการสกัดน้ำมันได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งอาจจะช่วยลดระยะเวลาในการสกัด หรือให้ผลผลิตที่สูงขึ้น และนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ออกแบบกระบวนการและเครื่องสกัดน้ำมันด้วยอัลตราโซนิกต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

### ทฤษฎี และผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 กากองุ่น

กากองุ่นเป็นผลิตภัณฑ์เหลือทิ้งที่ได้จากกระบวนการผลิตน้ำองุ่นและไวน์ โดยประมาณร้อยละ 20 ของน้ำหนักองุ่นที่ใช้ในกระบวนการผลิตน้ำผลไม้และไวน์ จะเหลือเป็นกากองุ่น ซึ่งประกอบด้วย เปลือก เมล็ด และก้าน ทั้งนี้เปลือกและเมล็ดองุ่นจะประกอบไปด้วยสารประกอบฟีนอลิก ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ได้แก่ แอนโทไซยานิน (anthocyanin) โพรไซยานิดิน (procyanidins) คาเทชิน (catechin) และ อีพิคาเทชิน (epicatechin) สารกลุ่มกรดฟีนอลิก ได้แก่ กรดแกลลิก (gallic acid) และสารในกลุ่ม stilbenes ได้แก่ เรสเวอราทรอล (resveratrol) โพรไซยานิดิน (procyanidins) ที่สกัดได้จากเมล็ดองุ่น มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในเซลล์เนื้อเยื่อ และมีประสิทธิภาพในการป้องกันเซลล์เนื้อเยื่อถูกทำลายจากอนุมูลอิสระได้เทียบเท่ากับวิตามินอี สารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากองุ่นยังช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา oxidation ของ low-density lipoprotein ทำให้ช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจได้

สารประกอบฟีนอลิกในกากองุ่นมีประโยชน์ต่อสุขภาพ จึงได้รับความสนใจอย่างมากในกลุ่มนักวิจัย อุตสาหกรรมอาหาร และอุตสาหกรรมยา นอกจากนี้กากองุ่นจะมีสารต้านอนุมูลอิสระแล้ว ยังมีปริมาณไขมัน โปรตีน คากใย และแร่ธาตุที่มีความสำคัญด้วย (Jianmei และ Mohamed, 2013)

#### 2.2 เมล็ดองุ่น

เมล็ดองุ่น มีอยู่ในกากองุ่นร้อยละ 38-52 โดยคิดเป็นน้ำหนักแห้ง ประกอบด้วยน้ำมันร้อยละ 13-19 ซึ่งอุดมไปด้วยกรดไขมันจำเป็น โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัว ได้แก่ กรดไลโนเลอิกมีประมาณร้อยละ 72-76 ซึ่งสูงกว่าน้ำมันจากเมล็ดพืชชนิดอื่น เช่น เมล็ดดอกคำฝอย เมล็ดทานตะวัน และเมล็ดข้าวโพด ส่วนประกอบดังกล่าวทำให้น้ำมันเมล็ดองุ่นมีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีโปรตีนร้อยละ 11 และสารอื่น ๆ ร้อยละ 60-70 ได้แก่ คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยไม่ได้ และสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ โทโคฟีรอล และเบตาแคโรทีน (Jianmei และ Mohamed, 2013)

เมล็ดองุ่นประกอบด้วยวิตามินหลายชนิด เช่น วิตามินเอ วิตามินซี วิตามินอี และกรดไขมันอิสระ เช่น กรดไลโนเลอิก กรดโอเลอิก กรดพาราไมติก และกรดสเตียริก เป็นต้น นอกจากนี้เมล็ดองุ่นยังประกอบด้วยสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) คือ โพรแอนโทไซยานินส์ (proanthocyanins) เป็นจำนวนมาก สารนี้เมื่อรวมตัวกันจะอยู่ในรูปโอลิโกเมอร์ริค โพรแอนโทไซยานินส์ (oligomeric proanthocyanidins) หรือเรียกย่อ ๆ ว่า สาร “OPCs” มีสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีฤทธิ์สูงกว่าวิตามินอีถึง 50 เท่า โดยเข้าไปช่วยเสริมสร้างระบบต่อต้านอนุมูลอิสระในร่างกายให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น และลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง จากคุณสมบัตินี้สารโพรแอนโทไซยานินส์ (proanthocyanins) จึงช่วยบำรุงผิวพรรณให้เต่งตึง ไม่เหี่ยวย่นช่วยรักษาฝ้า กระ รักษาความผิดปกติของหลอดเลือด และเส้นเลือดฝอย (สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.3 น้ำมันเมล็ดองุ่น

น้ำมันเมล็ดองุ่นประกอบด้วย วิตามินอี (80-120 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) วิตามินซี เบตา-แคโรทีน สารที่ไม่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยด่างร้อยละ 0.8-1.5 ที่อุดมไปด้วยโทโคฟีรอล สเตอรอล (แคมเปสเตอร์อล, เบตา-ไฮโตสเตอร์อล และสติกมาสเตอร์อล) และกรดไขมันหลายชนิด

น้ำมันเมล็ดองุ่นที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์จะประกอบด้วยสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ รวมถึงโทโคฟีรอล (5-52 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) และสารประกอบฟีนอลิกจากพืชจำนวนมากทั้งที่มีโมเลกุลต่ำและโมเลกุลสูง ซึ่งเป็นผลให้น้ำมันพืชมีประโยชน์ต่อสุขภาพ นอกจากนี้ น้ำมันเมล็ดองุ่น ยังมีจุดเกิดควันสูงมาก (ประมาณ 190-230 องศาเซลเซียส) ซึ่งเหมาะสมกับการปรุงอาหารที่ใช้ความร้อนสูง มีการศึกษาจำนวนมากพบว่าน้ำมันมะกอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเทียบเท่ากับน้ำมันองุ่น จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric และวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระวิธี Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) เพื่อประเมินศักยภาพในการใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพ (Bail และคณะ, 2008)

### 2.3.1 องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันเมล็ดองุ่น

น้ำมันเมล็ดองุ่น เป็นน้ำมันพืชที่มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงประมาณร้อยละ 90 ของกรดไขมันทั้งหมด มีกรดไลโนเลอิกเป็นองค์ประกอบหลักมากกว่าร้อยละ 70 กรดโอเลอิกประมาณร้อยละ 15 และมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัว (ร้อยละ 10) เพียงเล็กน้อยสูงกว่าน้ำมันเรพซิด แต่ใกล้เคียงกับน้ำมันพืชอื่น ๆ ที่ใช้กันทั่วไป และมีกรดไขมันอื่น ๆ ปริมาณน้อย มีกรดไลโนเลนิกต่ำกว่าร้อยละ 1 จากการศึกษาพบว่าน้ำมันเมล็ดองุ่นมีกรดไลโอเลอิกและโอเลอิกเป็นองค์ประกอบหลักด้วยองค์ประกอบเหล่านี้ น้ำมันเมล็ดองุ่นจึงมีลักษณะคล้ายกับน้ำมันเมล็ดทานตะวัน ซึ่งประกอบด้วยกรดไลโนเลอิกประมาณร้อยละ 60-70 และกรดโอเลอิกร้อยละ 15-20 และมีกรดไลโนเลนิกเล็กน้อยเช่นเดียวกัน นอกจากนี้จะมีองค์ประกอบของกรดไขมันคล้ายกันแล้ว ยังมีองค์ประกอบของ triacylglycerol - คล้ายกันด้วย ได้แก่ trilinolein, oleodilinolein และ palmito-dilinolein เป็นส่วนประกอบหลักในน้ำมันเมล็ดองุ่นรวมเป็นร้อยละ 80 ของทั้งหมด และร้อยละ 35, 23 และ 12 ตามลำดับในน้ำมันเมล็ดทานตะวัน (Matthäs, 2008)

Fernandes และคณะ (2013) ศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันเมล็ดองุ่นสายพันธุ์ต่าง ๆ พบว่า กรดไลโนเลอิกเป็นกรดไขมันที่มีมากที่สุดในน้ำมันเมล็ดองุ่น ซึ่งเป็นที่น่าสนใจโดยเฉพาะอย่างยิ่งการบริโภคอาหารที่มีกรดไลโนเลอิกเป็นองค์ประกอบหลักจะช่วยยับยั้งการสร้าง LDL-cholesterol และเพิ่มการเผาผลาญให้ดีขึ้น เมื่อพิจารณาตามประเภทของกรดไขมันพบว่าปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFA) > กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA) > กรดไขมันอิ่มตัว (SFA)

น้ำมันเมล็ดองุ่นอุดมไปด้วยกรดไลโนเลอิก เป็นแหล่งที่ดีของไขมัน และมีกรดไลโนเลนิกต่ำมาก ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีของน้ำมันบริโภค เพราะหากมีกรดไลโนเลนิกสูงจะสามารถก่อให้เกิดกลิ่นและรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ในน้ำมัน นอกจากนี้กรดไลโนเลนิก ประกอบด้วยพันธะคู่ 3 ตำแหน่งบนสายไฮโดรคาร์บอน ถ้าน้ำมันมีกรดไลโนเลนิกปริมาณมากจะมีความคงตัวต่ำ หรือมีอายุการเก็บรักษาสั้น น้ำมันเมล็ดองุ่นมีปริมาณกรดไลโนเลนิกต่ำ จึงมีประโยชน์ในด้านสุขภาพและอายุการเก็บรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.3.2 องค์ประกอบของวิตามินอีในน้ำมันเมล็ดองุ่น

โทโคฟีรอลจัดอยู่ในกลุ่มของสารประกอบวิตามินอี ซึ่งสามารถพบได้ในน้ำมันพืชทุกชนิด ในปริมาณและองค์ประกอบที่แตกต่างกัน โทโคฟีรอลมีไอโซเมอร์ที่แตกต่างกัน 4 แบบ คือ แอลฟา-, เบตา-, แกมมา- และเดลตา-โทโคฟีรอล นอกจากนี้กลุ่มของสารประกอบวิตามินอียังมีโทโคไตรอีนอล และ plastochromanol-8 สารประกอบเหล่านี้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งช่วยป้องกันการเสื่อมสภาพของน้ำมันที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน และมีฤทธิ์ทางชีวภาพในการช่วยปกป้องเซลล์ที่เกิดจากสภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ความรุนแรงของฤทธิ์ทั้งสองนี้จะเกิดตรงกันข้ามในแต่ละโทโคฟีรอล ภายใต้สภาวะอุณหภูมิปกติ ในขณะที่แอลฟา-โทโคฟีรอลเป็นสารประกอบที่ใช้ในการต้านสภาวะความเครียดออกซิเดชันในเซลล์มากที่สุด แต่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพของน้ำมันที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เพียงเล็กน้อย ดังนั้นน้ำมันที่มีแอลฟา-โทโคฟีรอลสูง เช่น น้ำมันจมูกข้าวสาลีเป็นน้ำมันที่ดีต่อสุขภาพ แต่ป้องกันการเสื่อมสภาพจากการเกิดออกซิเดชันในระหว่างการเก็บรักษาได้ต่ำ (Matthäs, 2008)

น้ำมันเมล็ดองุ่นที่ขายทั่วไปจะมีวิตามินอี 399-785 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ และสภาพแวดล้อมในการเจริญเติบโตขององุ่น (Choi และ Lee, 2009) จากงานวิจัยของ Fernandes และคณะ (2013) พบว่าในน้ำมันเมล็ดองุ่นขององุ่น 10 สายพันธุ์ มีปริมาณโทโคฟีรอล แตกต่างกันไป โดยมีค่าประมาณ 328-578 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณโทโคฟีรอลทั้งหมดที่พบในน้ำมันเมล็ดองุ่นน้อยกว่าที่พบในน้ำมันถั่วเหลือง (860 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และน้ำมันเมล็ดทานตะวัน (880 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แต่ใกล้เคียงกับน้ำมันเมล็ดฝ้าย (560 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และสูงกว่าน้ำมันงา (387 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (Baydar และ Akkurt, 2001)

## 2.4 การสกัด

การสกัด (extraction) หมายถึง การแยกสิ่งที่ต้องการออกจากสิ่งที่ไม่ต้องการ ในการสกัดของแข็ง-ของเหลว ตัวทำละลายจะต้องแพร่เข้าไปในของแข็งที่อิมมิดด้วยตัวทำละลายไปยังเฟสของตัวทำละลาย อัตราการแพร่หาจากระยะเวลาที่ต้องการให้สมดุลเกิดขึ้นระหว่างเฟสทั้งสอง ซึ่งเวลาสำหรับกระบวนการแพร่เพื่อให้ถึงสมดุลเป็นสัดส่วนกลับกับกำลังสองของระยะทางการแพร่ ดังนั้นในการสกัดด้วยตัวทำละลาย ยิ่งอนุภาคมีขนาดเล็ก ระยะเวลา (residence time) ที่ของแข็งต้องอยู่ในชั้นของการสกัดยิ่งสั้น อย่างไรก็ตามแม้ว่าขนาดของอนุภาคของของแข็งจะมีผลต่ออัตราการสกัด คือ ยิ่งอนุภาคมีขนาดเล็ก พื้นที่ผิวสัมผัส (interfacial area) ระหว่างของแข็งและของเหลวยิ่งมาก ทำให้อัตราการถ่ายเทขององค์ประกอบที่ละลายได้เพิ่มมากขึ้นก็ตาม แต่ในกรณีที่สารเป็นอนุภาคละเอียดมาก อาจก่อให้เกิดความต้านทานหรือยับยั้งการหมุนเวียนของตัวทำละลายที่จะผ่านชั้นของของแข็ง ทำให้พื้นที่ผิวของการสัมผัสที่มากขึ้นก็ไม่ได้ช่วยในเรื่องอัตราการถ่ายเทมวล (ปิ่นนคร ภัทรสถาพรกุล, 2551) วิธีที่ใช้ในการสกัดอาจแบ่งเป็น

### 2.4.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย

การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นการให้ของเหลวไปชะสารเคมีที่อยู่ในเนื้อเยื่อพืชเพื่อที่จะนำสารสำคัญที่ต้องการนั้นออกมา ดังนั้นชนิดของตัวทำละลายจึงมีผลต่อสารสกัด ถึงแม้ว่าพืชที่ทำการสกัดนั้นเอ็กสตรัคชันเป็นเอ็กสตรัคชันในเวลาหนึ่งเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ยาที่เพิ่มไอโซบะเอียมให้การค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะเป็นพืชชนิดเดียวกันก็ตาม การสกัดด้วยตัวทำละลายจะใช้หลักการที่ว่าสารแต่ละชนิดมีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายต่างชนิดกันได้ไม่เท่ากัน เช่น มีสารสองชนิดคือ สาร a และสาร b ปนกันอยู่ แต่สาร a ละลายได้ดีในเฮกเซน และสาร b ไม่ละลายในเฮกเซน ดังนั้น เมื่อเทเฮกเซนลงไปสาร a ก็จะละลาย แต่สาร b จะไม่ละลาย ซึ่งถ้าเป็นของแข็งกับของเหลวก็ให้ทำการกรองต่อ แต่ถ้าเป็นของเหลวกับของเหลวก็ให้ใช้กรวยแยกในการแยกต่อไป หรือถ้าตัวทำละลายระเหยได้ง่ายก็ให้ประเหยตัวทำละลายออกไป

สำหรับการสกัดด้วยตัวทำละลายมี 5 วิธี ได้แก่

- การสกัดแบบให้ของเหลวไหลผ่าน (percolation)
- การสกัดแบบแช่อยู่ (maceration with solvent)
- การสกัดด้วยน้ำร้อน (boiling with water หรือ infusion)
- การสกัดด้วยไขมันเย็น (extraction with cold fat หรือ enfleurage)
- การสกัดด้วยไขมันร้อน (extraction with hot fat)

2.4.2 การกลั่น หรือการสกัดด้วยไอน้ำ จะใช้หลักการให้ไอน้ำพาสารที่เราต้องการออกมา โดยสารนั้นควรมีจุดเดือดต่ำ ระเหยง่าย และไม่ละลายน้ำ แต่ถ้าเป็นสารที่มีจุดเดือดสูงจะอาศัยการเปลี่ยนแปลงความดันเข้าช่วยเพื่อให้สารนั้นกลายเป็นไอได้โดยยังไม่ถึงจุดเดือดปกติของสารโดยมากจะใช้ในการสกัดพวกน้ำมันหอมระเหยจากพืช

2.4.3 การใช้เทคนิคสมัยใหม่เข้าช่วย ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีการสกัดสารด้วยตัวทำละลายร่วมกับวิธีการต่าง ๆ เพื่อให้ได้สารสำคัญออกมาจากตัวพืชมากขึ้นและมีคุณภาพดี หรือช่วยลดระยะเวลาในการสกัดให้เร็ว เช่น การสกัดด้วยของเหลวยิ่งยวด (supercritical fluid extraction) การสกัดโดยใช้พลังงานไฟฟ้าช่วย (extraction by electrical energy) การสกัดโดยใช้คลื่นอัลตรา โซนิก (ultrasonically assisted extraction)

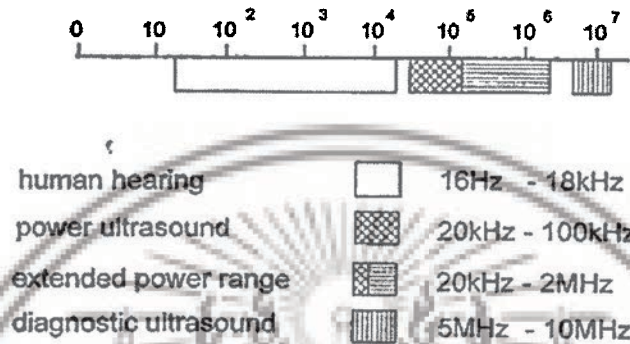
## 2.5 คลื่นเสียงความถี่สูง

คลื่นเสียงความถี่สูง เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า คลื่นอัลตราโซนิก (ultrasonic waves) หรือคลื่นอัลตราซาวนด์ (ultrasound wave) หมายถึง พลังงานที่เกิดจากคลื่นเสียงที่มีการสั่นของคลื่นประมาณ 20,000 ครั้งต่อวินาที หรือสูงกว่า (Hoover, 2000) หรือหมายถึง คลื่นความดัน (pressure waves) ที่มีความถี่ (frequency) สูงกว่าคลื่นเสียงปกติ (สูงกว่า 20,000 กิโลเฮิร์ตซ์) ส่วนคำว่าอัลตราโซนิก (ultrasonic) หรือ โซนิเคชันส์ (sonications) หมายถึง การศึกษาเกี่ยวกับคลื่นเสียงหรืออัลตราซาวนด์ในช่วงความถี่ดังกล่าว ซึ่งมนุษย์ไม่สามารถได้ยิน โดยทั่วไปแล้วคลื่นเสียง (sound) ที่มนุษย์ได้ยินนั้น เกิดจากการสั่นสะเทือนของตัวกลางที่ยืดหยุ่น (elastic medium) ที่มีความถี่อยู่ในช่วง 20-20,000 กิโลเฮิร์ตซ์ คลื่นเสียงผ่านเข้าสู่ตัวกลางที่ยืดหยุ่นในลักษณะที่เป็นคลื่นตามยาว (longitudinal waves) แต่คลื่นเสียงที่ผ่านเข้าไปภายในวัตถุ ที่เป็นของแข็งอาจอยู่ในลักษณะที่เป็นคลื่นตามยาวหรือคลื่นตามขวาง (transverse waves)

ในการศึกษาการใช้ประโยชน์จากอัลตราซาวนด์ตั้งแต่ต้นจนถึงปัจจุบัน พบว่ามีการนำอัลตราซาวนด์ มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมหรือในกระบวนการแปรรูปอาหาร โดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ การใช้อัลตราซาวนด์กำลังต่ำและความถี่สูง (low power and high frequencies)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความถี่ที่ใช้อยู่ในช่วง 5-10 เมกะเฮิร์ตซ์ และให้พลังงานเสียงอยู่ในระดับ 100 มิลลิวัตต์ต่อตารางเซนติเมตร ถึง 1 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร ซึ่งใช้ในด้านการวินิจฉัย (diagnostic ultrasound) เป็นส่วนใหญ่ และการใช้อัลตราซาวนด์กำลังสูงและความถี่ต่ำ (high power and low frequencies) หรือที่เรียกว่าพาวเวอร์อัลตราซาวนด์ (power ultrasound) ความถี่ที่ใช้อยู่ในช่วง 20-100 กิโลเฮิร์ตซ์ และให้พลังงานเสียงอยู่ในระดับ 10-1000 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร ลักษณะเครื่องผลิต อัลตราซาวนด์ชนิดดังกล่าวนี้เป็นแบบโพรบ (probe) (Baumann และคณะ, 2005) มักนำมาประยุกต์ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร



ภาพที่ 2.1 คลื่นความถี่ของคลื่นอัลตราซาวนด์ในช่วงต่าง ๆ

ที่มา: Mason (1998)

การใช้พาวเวอร์อัลตราโซนิกในกระบวนการแปรรูปอาหาร ทำให้เกิดผลต่อคุณสมบัติทางกลและทางเคมีของอาหาร เนื่องจากคลื่นดังกล่าวทำให้เกิดปรากฏการณ์แควิเทชัน (cavitation) และส่วนมากใช้คลื่นในช่วงความถี่ 20-40 กิโลเฮิร์ตซ์ ซึ่งเป็นความถี่ที่สร้างขึ้นจากอุปกรณ์ อัลตราโซนิกทั่วไปที่ใช้ในการทำความสะดวก การทำให้เซลล์แตกและในการขึ้นรูปพลาสติก เป็นต้น

## 2.6 การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasound-assisted extraction; UAE)

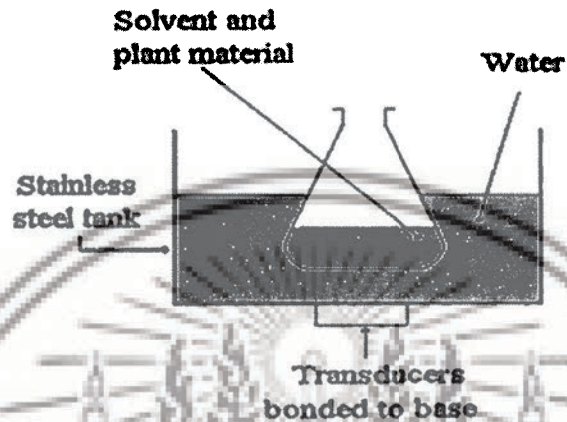
การประยุกต์ใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ หรือคลื่นเสียงความถี่สูงในการสกัดพืช เนื่องจากเนื้อเยื่อของพืชที่ประกอบเป็นเซลล์นั้นมีผนังเซลล์อยู่ชั้นนอกสุดซึ่งจะเป็นตัวต้านทานการสกัดได้ การใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ความถี่ต่ำ (low frequency ultrasound) 20-100 กิโลเฮิร์ตซ์ ช่วยในการสกัดซึ่งการสกัดจะประกอบด้วยสองขั้นตอน คือ กระบวนการแพร่ผ่านผนังเซลล์ของตัวทำละลาย และการชะสารสำคัญออกจากเซลล์ เมื่อผนังเซลล์ถูกทำลายลง ส่วนการสกัดพืชแห่งนี้จะเพิ่มอีกหนึ่งกระบวนการคือ กระบวนการดูดน้ำกลับ (Hydration and swelling) ซึ่งอัลตราซาวนด์ทำให้ Swelling index สูงขึ้นดีกว่าการใช้การกวนทางกลธรรมดา และอัลตราซาวนด์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการดังกล่าวได้โดยการเกิดปรากฏการณ์แควิเทชัน (cavitation) เนื่องจากมาจากคลื่นประกอบด้วยช่วงอัดและช่วงขยาย ในช่วงขยายเมื่อคลื่นเคลื่อนที่ผ่านตัวทำละลายจะทำให้เกิดฟอง (bubble) ของตัวทำละลายขนาดเล็กจำนวนมาก เมื่อฟองเหล่านี้ได้รับแรงจากคลื่นในช่วงอัด จะทำให้ฟองแตกออกและเกิดเป็น microjet ที่มีความแรงมาก ทำให้ผนังเซลล์ของพืชถูกทำลาย เมื่อผนังเซลล์ของพืชแตกออกจะทำให้อัตราการถ่ายเทมวลสารเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดการชะสารสำคัญออกจากเซลล์พืชที่ถูกทำลายได้มากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

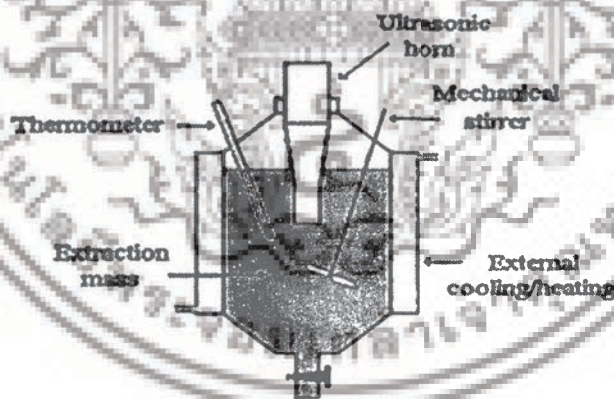
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสกัดโดยวิธี UAE มี 3 รูปแบบ ได้แก่

1. การสกัดทางอ้อมโดยอาศัยตัวกลาง เช่น น้ำในการส่งผ่านคลื่นเสียง
2. การสกัดโดยตรงแบบใช้ ultrasound horn หรือ probe เป็นแหล่งกำเนิดคลื่นเสียง
3. การสกัดโดยตรงแบบให้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงติดกับถังสกัด (สุเมธ บุญเกิด, 2555)

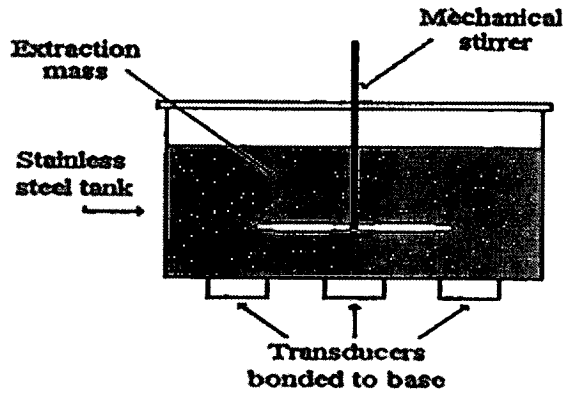


ภาพที่ 2.2 การสกัดทางอ้อมโดยอาศัยตัวกลาง หรือเครื่องล้างระบบอัลตราโซนิก  
ที่มา: <https://www.gpo.or.th/rdi/html/Ultrasonic.html>



ภาพที่ 2.3 การสกัดโดยตรงแบบใช้ ultrasound horn หรือ probe เป็นแหล่งกำเนิดคลื่นเสียง  
ที่มา: <https://www.gpo.or.th/rdi/html/Ultrasonic.html>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.4 การสกัดโดยตรงแบบให้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงติดกับถังสกัด  
ที่มา: <https://www.gpo.or.th/rdi/html/Ultrasound.html>

## 2.7 การสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลาย

การสกัดไขมันหรือน้ำมันออกจากวัตถุดิบด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมาก และใช้สกัดน้ำมันออกจากเมล็ดพืชที่มีปริมาณน้ำมันต่ำ หรือสกัดน้ำมันออกจากกากที่เหลือจากการบีบด้วยเครื่องอัดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดจะต้องไม่เป็นพิษต่อร่างกาย ได้แก่ เฮกเซน (n-hexane) คาร์บอนไดซัลไฟด์ และไดเอทิลอีเทอร์ เป็นต้น ตัวทำละลายที่นิยมใช้มากที่สุด คือ เฮกเซน

วิธีการสกัดทำได้โดยให้ตัวทำละลายซึมผ่านเมล็ดที่บดละเอียด น้ำมันที่อยู่ในเมล็ดจะละลายออกมาในตัวทำละลาย เมื่อน้ำมันละลายออกมาหมดแล้ว นำไปกลั่นแยกเอาตัวทำละลายออก สารละลายของน้ำมันในตัวทำละลาย เรียกว่า miscella ซึ่งประกอบด้วย ตัวทำละลาย น้ำหรือความชื้น น้ำมัน และกาก ซึ่งกากจะแยกออกจากน้ำมันโดยการกรอง ส่วนเฮกเซนและน้ำ แยกออกโดยการระเหย (evaporation) ที่ความดันต่ำ และได้น้ำมันออกมาประมาณร้อยละ 98 และมีความชื้นเหลืออยู่น้อยกว่าร้อยละ 0.15 โดยน้ำหนัก ขั้นตอนการระเหยเอาตัวทำละลายออกต้องใช้ความร้อนอุณหภูมิต่ำที่สุด เพราะหากใช้อุณหภูมิสูงเกินไปจะเร่งให้เกิดออกซิเดชัน ทำลายสารต้านออกซิเดชัน และทำให้น้ำมันที่ได้มีสีเข้มขึ้น

การใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายจะได้ปริมาณสูงกว่าวิธีอื่น เมล็ดพืชบางชนิดใช้วิธีการบีบร่วมกับการสกัดด้วยตัวทำละลาย อย่างไรก็ตามการสกัดด้วยตัวทำละลายจะเสียค่าใช้จ่ายสูงกว่าวิธีอื่น ๆ เพราะตัวทำละลายมีราคาแพง ถึงแม้จะกลั่นแยกเอาตัวทำละลายกลับมาใช้ได้ก็ก็ตาม แต่ก็มีบางส่วนที่ระเหยหายไปด้วย น้ำมันที่ได้ออกมาเป็นน้ำมันที่ไม่บริสุทธิ์ เรียกว่า crude oil มักมีสารประกอบต่าง ๆ ปนอยู่มากมาย ต้องนำไปผ่านกระบวนการทำให้น้ำมันบริสุทธิ์ต่อไป

น้ำมันที่มีกลิ่นหอมตามธรรมชาติบางชนิด เช่น น้ำมันมะกอก ไม่สามารถใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายได้ เพราะจะทำให้กลิ่นหายไปขณะที่กลั่นแยกเอาตัวทำละลายออก นอกจากนั้นพวกไขมันสัตว์ก็ไม่สามารถใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายได้ จะใช้วิธีการเจียวและบีบเท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.7.1 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดไขมันและน้ำมัน

2.7.1.1 ปริมาณของตัวทำละลาย ถ้าใช้ปริมาณตัวทำละลายในการสกัดมากจะทำให้สกัดน้ำมันออกมาได้มากและมีน้ำมันเหลืออยู่ในกากน้อย แต่ถ้าใช้ตัวทำละลายมากก็ต้องใช้เวลานานในการระเหย เอาตัวทำละลายออก ทำให้สูญเสียตัวทำละลายที่ระเหยออกไปมากขึ้นด้วย ดังนั้น ตัวทำละลายที่ใช้ควรมีปริมาณที่เหมาะสม โดยปกติการสกัดน้ำมันจากเมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดนุ่น และเมล็ดฝ้าย จะใช้ตัวทำละลายต่อน้ำหนักของเมล็ดพืชที่สกัดในอัตราส่วนหนึ่งต่อหนึ่ง

2.7.1.2 ชนิดของตัวทำละลาย ตัวทำละลายหลายชนิดใช้สกัดน้ำมันได้ และตัวทำละลายแต่ละชนิดจะมีสมบัติเฉพาะแตกต่างกันออกไป ต้องเลือกใช้ให้เหมาะสมกับชนิดของเมล็ดพืช และไม่เป็นที่ต่อร่างกาย ตัวทำละลายที่นิยมใช้มากที่สุด คือ เฮกเซน

2.7.1.3 อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด การสกัดด้วยตัวทำละลายต้องใช้อุณหภูมิสูงประมาณ 60 องศาเซลเซียส เพื่อช่วยทำให้น้ำมันละลายออกจากเมล็ดพืชได้ง่าย

2.7.1.4 ความหนาของแผ่นเมล็ดพืชอัด เมล็ดพืชก่อนนำมาสกัด จะถูกบดให้แตกเป็นชิ้นเล็ก ๆ และอัดเป็นแผ่น แล้วปล่อยให้ตัวทำละลายไหลซึมเข้าไปสัมผัสกับแผ่นเมล็ดพืชอัด ถ้าเมล็ดพืชถูกบดให้ละเอียดเกินไปจะอัดกันแน่น ตัวทำละลายจะซึมผ่านเข้าไปได้ยาก ความหนาของแผ่นเมล็ดถั่วเหลืองที่เหมาะสมประมาณ 0.014 นิ้ว

2.7.1.5 ความชื้นของเมล็ดพืช เมล็ดพืชที่นำมาสกัดควรมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 และตัวทำละลายจะต้องไม่มีน้ำหรือความชื้นปนอยู่ เพราะจะทำให้สกัดน้ำมันออกได้ยาก

2.7.1.6 เวลาที่ใช้ในการสกัด การสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลาย ต้องใช้เวลานานพอสมควร เพื่อให้ตัวทำละลายสามารถสกัดเอาน้ำมันออกมาให้ได้มากที่สุด โดยทั่ว ๆ ไปจะใช้เวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมง (นิธิยา รัตนานนท์, 2548)

## 2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Luque-García และ Luque de Castro (2004) ได้พัฒนาและดัดแปลงเครื่องมือสำหรับการสกัดไขมันทั้งหมดจากเมล็ดพืชน้ำมัน เรียกการสกัดแบบนี้ว่า Ultrasonic-assisted soxhlet extraction (UASE) โดยให้ soxhlet chamber อยู่ใน thermostated water bath ที่มีน้ำเป็นตัวกลางอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส และให้ ultrasonic probe (ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์, กำลัง 100 วัตต์) จุ่มลงไปใต้น้ำเหนือผิว soxhlet chamber 1 มิลลิเมตร วางเอียง 45 องศา สูงจากก้น water bath 9 เซนติเมตร ผ่านลงไปเพื่อให้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยในการสกัด จากผลการเปรียบเทียบวิธีการสกัดแบบซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) พบว่า ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากวิธี UASE ให้ผลเท่ากับหรือมากกว่าวิธี soxhlet ซึ่งต้องใช้เวลาอย่างน้อย 2 เท่าของวิธี UASE และเมื่อศึกษาอิทธิพลของคลื่นอัลตราซาวด์ต่อองค์ประกอบของน้ำมันโดยการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatography เปรียบเทียบการสกัดทั้ง 2 วิธี โดยใช้เมล็ด 3 ชนิด คือ เมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดดอกทานตะวัน และเมล็ดเรพ (rape seed) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในวิธีการสกัด แสดงว่าคลื่นอัลตราซาวด์ไม่มีผลต่อองค์ประกอบของน้ำมัน

จากรายงานของ Hemwimol และคณะ (2006) ได้อธิบายว่า คลื่นอัลตราโซนิกที่มี amplitude สูงจะผ่านไปยังของเหลวได้ดี ฟองอากาศจะแตกอย่างรุนแรงกว่า ซึ่งช่วยในการทำลายเนื้อเยื่อเซลล์ และช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพในการสกัดด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zhang และคณะ (2008) ได้สกัดน้ำมันจากเมล็ดแฟลก (flaxseed) ด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบใช้ flat tip probe ขนาด 2 เซนติเมตร เป็นคลื่นกำเนิดเสียงโดยตรง โดยใช้ผงเมล็ดแฟลกผสมกับตัวทำละลาย n-hexane 100 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์พลาสติกขนาด 200 มิลลิลิตร สกัดอย่างต่อเนื่อง ใช้อัลตราโซนิกความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ พบว่าเมื่อเพิ่มกำลังจาก 20 วัตต์ เป็น 50 วัตต์ ปริมาณน้ำมันเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 66.77 เป็นร้อยละ 84.9 (เพิ่มขึ้นร้อยละ 12) ผลของเวลาในการสกัดพบว่า ในช่วง 15 นาทีแรก ปริมาณน้ำมันที่สกัดด้วยอัลตราโซนิกกับวิธีการแช่ (maceration extraction) แตกต่างกันประมาณร้อยละ 12 และเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ หลังจาก 30 นาที แตกต่างกันประมาณร้อยละ 18 แสดงให้เห็นว่าคลื่นอัลตราโซนิกมีประสิทธิภาพสูงในช่วง 30 นาทีแรก ผลของอุณหภูมิพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดแบบแช่ปริมาณของน้ำมันไม่เปลี่ยนแปลง โดยปริมาณน้ำมันจะเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 0.1 จากการเพิ่มอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็น 50 องศาเซลเซียส แต่ในการสกัดโดยอัลตราโซนิกปริมาณน้ำมันจะลดลงเมื่อเพิ่มอุณหภูมิ โดยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะได้ปริมาณน้ำมันร้อยละ 83 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จะได้ปริมาณน้ำมันร้อยละ 77 โดยจะลดลงจากเดิมประมาณร้อยละ 6 ผลของอัตราส่วนตัวทำละลายต่อของแข็งโดยใช้อัตราส่วน 4:1, 6:1, 10:1 และ 20:1 ปริมาตรโดยน้ำหนัก พบว่า การสกัดด้วยอัลตราโซนิกให้ผลดีกว่าแบบแช่ในทุกอัตราส่วน โดยการใช้อัลตราโซนิกและอัตราส่วนตัวทำละลายต่อของแข็งมีผลต่อปริมาณน้ำมันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนในเรื่องขององค์ประกอบของกรดไขมัน พบว่า กรดสกัดทั้ง 2 วิธีให้ผลไม่แตกต่างกัน สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันเมล็ดแฟลกด้วยอัลตราโซนิก คือ ที่กำลัง 50 วัตต์ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที และอัตราส่วน 6:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก

Fernandes และคณะ (2013) ได้ศึกษาลักษณะของน้ำมันเมล็ดองุ่นจากองุ่น 10 สายพันธุ์ โดยการสกัดด้วยวิธี soxhlet และใช้ petroleum เป็นตัวทำละลาย สกัดนาน 24 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณน้ำมันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ขององุ่น โดยมีปริมาณอยู่ในช่วงร้อยละ 6-13 เมื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน และสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ แสดงให้เห็นว่า น้ำมันเมล็ดองุ่นเป็นแหล่งที่ดีของ  $\gamma$ -tocotrienol,  $\alpha$ -tocopherol และ  $\alpha$ -tocotrienol และอุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวโดยเฉพาะกรดไลโนเลอิก อีกทั้งยังมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ด้วย

Da Porto และคณะ (2013) ได้ศึกษาถึงวิธีการสกัดน้ำมันและสารโพลีฟีนอลในเมล็ดองุ่น โดยการเปรียบเทียบปริมาณผลผลิต องค์ประกอบของกรดไขมัน และค่า UV indices ในน้ำมันที่ได้จากวิธีการสกัดแบบธรรมดา (Soxhlet extraction) กับวิธีใช้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยในการสกัด (Ultrasound-assisted extraction) การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบใช้ probe เป็นแหล่งกำเนิดเสียงโดยตรง ให้ probe จุ่มลงในสารละลาย 4 เซนติเมตร โดยใช้ผงเมล็ดองุ่น 25 กรัม และ n-hexane ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลายในบีกเกอร์ขนาด 250 mL ใช้คลื่นอัลตราโซนิก ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ และกำลังแตกต่างกัน คือ 50, 100 และ 150 วัตต์ เวลาสกัด 30 นาที ควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 30 องศาเซลเซียส ส่วนวิธีการสกัดแบบธรรมดา ใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลาสกัด 6 ชั่วโมง ผลของน้ำมันที่ได้จากการสกัด พบว่าเมื่อเพิ่มกำลังอัลตราโซนิกจาก 50 วัตต์ เป็น 150 วัตต์ ปริมาณน้ำมันเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 11.42 เป็นร้อยละ 14.08 โดยน้ำหนัก ปริมาณน้ำมันที่สกัดด้วย soxhlet มีปริมาณสูงถึงร้อยละ 14.64 โดยน้ำหนัก แต่การสกัดด้วย อัลตราโซนิกที่กำลัง 150 วัตต์ เวลา 30 นาที สามารถช่วยเพิ่มปริมาณน้ำมันได้สูงถึงประมาณร้อยละ 14 เทียบได้กับการใช้ soxhlet ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 6 ชั่วโมง ส่วนในเรื่ององค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมัน พบว่า การใช้อัลตราโซนิกไม่มีผลต่อองค์ประกอบของไขมันอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันที่สกัดด้วย soxhlet มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 232 และ 268 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูงกว่าน้ำมันที่สกัดด้วย อัลตราโซนิก กล่าวคือ น้ำมันที่สกัดด้วยอัลตราโซนิกถูกออกซิไดซ์ได้น้อยกว่าวิธี soxhlet และค่า  $K_{232}$  และ  $K_{268}$  จะลดลงเมื่อเพิ่มกำลังจาก 50 วัตต์ เป็น 150 วัตต์

Samaram และคณะ (2014) ได้ประเมินความเป็นไปได้ของการใช้วิธีการสกัดด้วยอัลตราโซนิกในการสกัดน้ำมันเมล็ดมะละกอด้วยเครื่อง ultrasonic bath extractor โดยให้น้ำเป็นตัวกลางในการส่งผ่านคลื่นเสียง โดยใช้อัตราผงเมล็ดมะละกอดต่อ n-hexane 1:8 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบธรรมดา 2 วิธี คือ สกัดโดยใช้ soxhlet และสกัดโดยเขย่าด้วย water bath shaker ซึ่งใช้ผงเมล็ดมะละกอ 1 กรัมต่อ n-hexane 10 มิลลิลิตรได้ศึกษาในเรื่องการตกผลึกและสมบัติด้านความร้อน, สมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมัน และความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชัน พบว่า น้ำมันที่สกัดด้วยอัลตราโซนิกมีความคงตัวมากที่สุด โดยให้สีอ่อนที่สุด และมีสารที่สaponify ไม่ได้ต่ำที่สุด และมีความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชันสูงกว่าวิธีอื่น ๆ โดยใช้สภาวะสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:8 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร คลื่นอัลตราซาวด์ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์และกำลัง 700 วัตต์ ส่วนวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายโดยการเขย่าใช้เวลาจนถึง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ให้น้ำมันที่มีความคงตัวน้อยที่สุด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### การดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 กากองุ่นแดงสดพันธุ์ชiraz (*Vitis vinifera* L. cv. Shiraz) ที่เหลือหลังจากบีบน้ำสำหรับผลิตไวน์ วันที่ 7 มีนาคม พ.ศ. 2558 จากบริษัท สยาม ไวน์เออรี่ จำกัด อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร ซึ่งประกอบด้วยส่วนของเปลือก เนื้อ ก้าน และเมล็ด นำมาอบแห้งทันทีก่อนนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

#### 3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.2.1 เครื่องบดหยาบ (Hammer mill)	
3.2.2 ตู้อบลมร้อนแบบถาด (Tray dryer)	
3.2.3 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	Memmert (UM 400), Germany
3.2.4 เครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum pump)	Sahaburapa (SP-1A), Thailand
3.2.5 เครื่องอัลตราโซนิก	Sonics & Materials (Vibra cell VC-750), USA
3.2.6 เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator)	Buchi (R-215), Switzerland
3.2.7 เครื่องย่อยไนโตรเจน (Kjeldatherm)	Gerhardt (KB 8S), Germany
3.2.8 เครื่องกลั่นไนโตรเจน (Vapodest)	Gerhardt (VAP 30S), Germany
3.2.9 เครื่องสกัดไขมัน (Soxtherm)	Gerhardt (S306AK), Germany
3.2.10 เครื่องวิเคราะห์เยื่อใย	Foss (Fibertec™ M6-1020), Denmark
3.2.11 เตาเผา (Muffle furnace)	Nabertherm LT40, Germany
3.2.12 เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง	Ohaus (ARC 120), USA
3.2.13 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง	Denver (SI-324), Germany
3.2.14 กระดาษกรองเบอร์ 1	Whatman, England
3.2.15 กระดาษกรองเบอร์ 113	Whatman, England
3.2.16 เครื่องวัดสี	Hunter Lab (Color Quest XE), USA
3.2.17 เครื่องวัดความหนืด	Brookfield (DV-III), USA
3.2.18 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์	Shimadzu (UV-1601), Japan
3.2.19 เครื่อง Gas Chromatography (GC)	Agilent (6890N), USA
3.2.20 เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	Hitachi (L-2130), Japan
3.2.21 เครื่องวิเคราะห์ความคงตัวของไขมัน	Metrohm (743 Rancimat), Switzerland
3.2.22 เครื่อง Differential Scanning Calorimetry (DSC)	METTLER TOLEDO (DSC 2), Switzerland

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.23 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)	Beckman Coulter, USA
3.2.24 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)	Hettich zentrifugen, Germany
3.2.25 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)	Memmert-WNB 7-45, Germany
3.2.26 โถสำหรับดูดความชื้น (Desiccator)	
3.2.27 Vortex mixer	
3.2.29 เตาหลอม	
3.2.30 Micropipettes และ Tips	
3.2.31 Hot plate stirrer	
3.2.32 Thermometer	
3.2.33 อุปกรณ์เครื่องแก้ว	

### 3.3 สารเคมี

3.3.1 Hexane (Commercial grade)	Etalmar, Thailand
3.3.2 Potassium hydroxide	Ajax Finechem, Australia
3.3.3 Acetic acid	RCI Labscan, Thailand
3.3.4 Chloroform	RCI Labscan, Thailand
3.3.5 Hydrochloric acid	RCI Labscan, Thailand
3.3.6 Acetone	Carlo Erba, Italy
3.3.7 Cyclohexane	RCI Labscan, Thailand
3.3.8 Wij's reagent	Panreac, USA
3.3.9 DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)	Sigma, USA
3.3.10 Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid)	Sigma, USA
3.3.11 Folin-Ciocalteu's	Carlo Erba, Italy
3.3.12 <i>p</i> -Anisidine	Acros, Belgium
3.3.13 Isooctane	Merck, Germany
3.3.14 Gallic acid monohydrate	Sigma, USA
3.3.15 Sodium carbonate	Merck, Germany
3.3.16 Sulfuric acid	RCI Labscan, Thailand
3.3.17 Ethyl alcohol 95%	Etalmar, Thailand
3.3.18 Potassium iodide	Carlo Erba, Italy
3.3.19 Sodium hydroxide	Carlo Erba, Italy
3.3.20 Sodium thiosulfate	Carlo Erba, Italy
3.3.21 Starch	Fluka, Germany
3.3.22 Phenolphthaleine	Carlo Erba, Italy

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.8.23 ABTS (2,2'-Azino-bis  
(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)) Sigma, USA
- 3.8.24 Potassium persulphate Carlo Erba, Italy
- 3.8.25 Methanol Sigma, USA

### 3.4 สถานที่ทำการทดลอง คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### 3.5 วิธีการทดลอง

#### 3.5.1 การเตรียมวัตถุดิบและศึกษาองค์ประกอบของเมล็ดองุ่น

นำกากองุ่นสดไปอบไล่ความชื้นด้วยเครื่องอบลมร้อน (tray dryer) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แยกเมล็ดองุ่นออกจากเปลือก และก้าน จากนั้นนำเมล็ดองุ่นที่ได้มาบดด้วยเครื่องบดหยาบ (hammer mill) ผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร เก็บตัวอย่างเมล็ดองุ่นที่ผ่านการบดแล้วในถุง บรรจุแบบสุญญากาศเก็บในที่แห้ง และเย็นที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้ในการทดลอง

วิเคราะห์องค์ประกอบของเมล็ดองุ่นแห้ง ได้แก่ ปริมาณความชื้น (moisture) ไขมัน (crude fat) โปรตีน (crude protein) เถ้า (ash) เยื่อใย (crude fiber) และคาร์โบไฮเดรต (crude carbohydrate) ตามวิธี AOAC (2011)

#### 3.5.2 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่นด้วยวิธีการแช่ (maceration extraction; ME)

ชั่งตัวอย่างผงเมล็ดองุ่น 10 กรัมลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายเฮกเซน ตามอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่นที่กำหนด ปิดฝา ตั้งที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบเวลาที่ควบคุมแล้วนำมากรองสุญญากาศผ่านกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 เพื่อกรองเอาส่วนที่เป็นของแข็งออก จากนั้นนำไปแยกตัวทำละลายออกจากน้ำมันด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระเหยจนกว่าตัวทำละลายจะหมด กรองสุญญากาศด้วยกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 113 (สำหรับงานกรองน้ำมันโดยเฉพาะ) คำนวณหาปริมาณผลผลิต (% yield) ตามสมการ (1)

$$\text{Oil yield (\%)} = \frac{\text{weigh of oil (g)}}{\text{weigh of dry matter (g)}} \times 100 \quad (1)$$

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสำหรับวิธีการแช่เพื่อให้ได้ผลผลิตสูงเพียงพอ โดยศึกษา 2 ปัจจัย ได้แก่ อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น กำหนดเป็น 3 ระดับ คือ 2:1, 4:1 และ 6:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก และระยะเวลา ในการสกัด กำหนดเป็น 7 ระดับ คือ 1, 3, 5, 10, 15, 30 และ 60 นาที เพื่อเลือกอัตราส่วนการสกัดที่ลดการสิ้นเปลืองตัวทำละลายและยังคงให้ปริมาณผลผลิตสูงเพียงพอ และเลือกอัตราส่วนที่ให้ปริมาณผลผลิตต่ำกว่าหรือประมาณร้อยละ 70 ของปริมาณน้ำมันทั้งหมด เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเมล็ดองุ่น เพื่อนำไปปรับปรุงโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด และดูความเป็นไปได้ในการเพิ่มปริมาณผลผลิตของน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธีการแช่

นำน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดได้จากสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับวิธีการแช่ เก็บในขวดสีชา ปิดสนิท ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์คุณภาพของน้ำมันเมล็ดองุ่นต่อไป

วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลในบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (3×7 Factorial in RCBD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ กำหนดระดับความเชื่อมั่นทางสถิติที่ร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตของน้ำมันเมล็ดองุ่นที่ได้

3.5.3 สภาวะที่เหมาะสมของคลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่น (ultrasound-assisted extraction; UAE)

ซึ่งตัวอย่างผงเมล็ดองุ่น 10 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 300 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลาย เฮกเซน ตามอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น และระยะเวลาในการสกัดที่ได้ทำการศึกษา ในหัวข้อ 3.5.2 คือ อัตราส่วนตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น 2:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก และระยะเวลาในการสกัด 15 นาที โดยใช้เครื่องอัลตราโซนิกรุ่น Vibra Cell VC-750 ซึ่งให้คลื่นเสียงความถี่สูง 20 กิโลเฮิร์ตซ์ กำลังไฟฟ้า 750 วัตต์ ผ่านโพรบโลหะ (ultrasonic probe) ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร สามารถปรับค่าพลังงานของคลื่นได้ในช่วงร้อยละ 1-100 ของค่าแอมพลิจูด (amplitude) สูงสุด เปิดเครื่องอัลตราโซนิกให้สกัดตามเวลาที่กำหนดในแผนการทดลอง จากนั้นนำไปสกัดต่อโดยการแช่ ตั้งทิ้งไว้จนครบเวลาสกัดทั้งหมด เมื่อครบเวลาที่ควบคุมแล้วนำมากรองสุญญากาศ ระเหยตัวทำละลาย และคำนวณหาปริมาณผลผลิต (% yield) เช่นเดียวกับวิธี 3.5.2

3.5.3.1 ค่าแอมพลิจูด (amplitude) ของคลื่นเสียงความถี่สูงที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่น

โดยการทดลองใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดด้วยเฮกเซนที่อุณหภูมิห้อง ใช้เวลาในการสกัด 15 นาที ปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ ค่าแอมพลิจูด 5 ระดับ คือ ร้อยละ 20, 40, 60, 80, และ 100 (ชุดิมา วันเพ็ญ และคณะ, 2556)

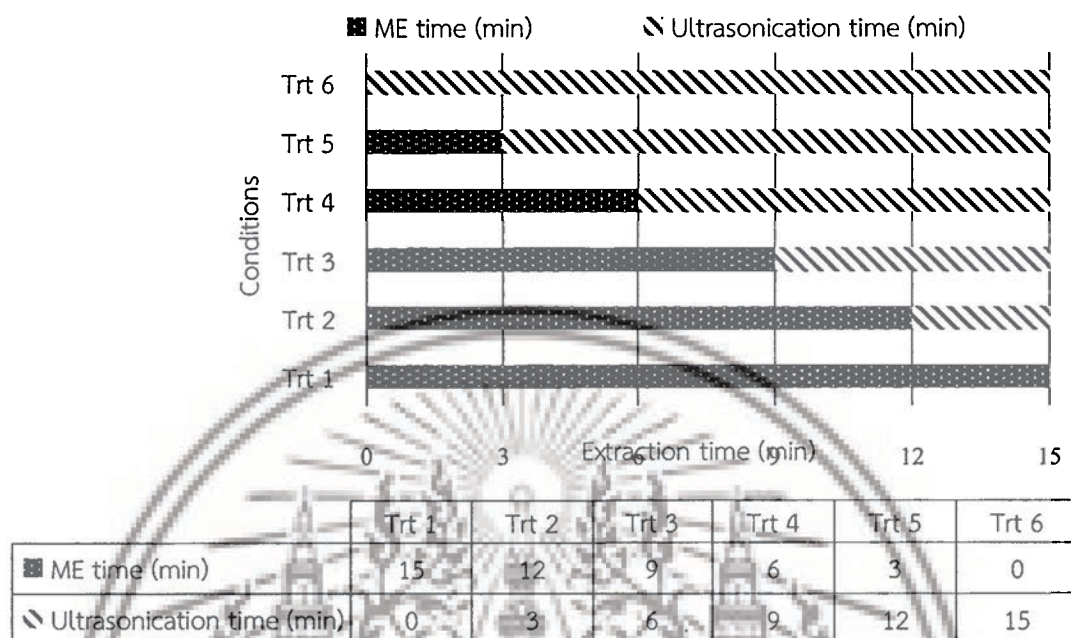
วางแผนการทดลองเป็นแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (RCBD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ (บล็อก) กำหนดระดับความเชื่อมั่นทางสถิติที่ร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตของน้ำมันเมล็ดองุ่นที่ได้

3.5.3.2 ระยะเวลาที่ใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดก่อนแล้วแช่ในตัวทำละลาย

โดยนำสภาวะที่ได้เลือกได้จากการทดลองในหัวข้อ 3.5.2 คือ อัตราส่วนตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น 2:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก และระยะเวลาในการสกัด 15 นาที ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับปรุงการสกัดเพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตด้วยการใช้อัลตราโซนิก ปรับค่าแอมพลิจูดตามที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.5.3.1 โดยการทดลองใช้คลื่นอัลตราโซนิกช่วยสกัดก่อนนำไปสกัดต่อด้วยการแช่ ตั้งทิ้งไว้ ที่อุณหภูมิห้อง ปัจจัยในการศึกษา ได้แก่ ระยะเวลาที่ใช้คลื่นเสียงความถี่สูงสกัดก่อนแช่ ซึ่งกำหนดเป็น 6 ระดับ คือ 0, 3, 6, 9, 12, และ 15 นาที จากนั้นนำไปแช่ตั้งทิ้งไว้จนครบเวลาในการสกัดทั้งหมด ดังภาพที่ 3.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วางแผนการทดลองเป็นแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (RCBD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ (บล็อก) กำหนดระดับความเชื่อมั่นทางสถิติที่ร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตของน้ำมันเมล็ดองุ่นที่ได้



ภาพที่ 3.1 การทดลองด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด โดยใช้เวลาสกัดทั้งหมด 15 นาที

นำน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดได้จากสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด เก็บในขวดสีชาปิดสนิท ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์คุณภาพของน้ำมันเมล็ดองุ่นต่อไป

#### 3.5.4 ผลของวิธีการสกัดที่แตกต่างกันที่มีต่อปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดองุ่น

วิธีสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่น 2 วิธี คือ วิธีการแช่ (maceration extraction, ME) โดยสกัดตามสภาวะที่เหมาะสมที่สุด ที่ได้จากการทดลองในหัวข้อ 3.5.2 และวิธีใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด (ultrasound-assisted extraction, UAE) โดยสกัดตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลอง ในหัวข้อ 3.5.3

วิเคราะห์ปริมาณของน้ำมันเมล็ดองุ่น โดยนำน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดได้จากวิธีสกัดทั้ง 2 วิธี คือ ME และ UAE มาเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมัน (% yield) และความสามารถในการสกัดน้ำมันได้ (recovery) นอกจากนี้ยังเปรียบเทียบปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อวิธีการสกัด ได้แก่ อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น เวลาในการสกัด และอุณหภูมิที่ใช้

วางแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ กำหนดระดับความเชื่อมั่นทางสถิติที่ร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบน้ำมันที่ได้จากวิธีการสกัดทั้ง 2 วิธี

#### 3.5.5 ผลของวิธีการสกัดที่แตกต่างกันที่มีต่อคุณภาพของน้ำมันเมล็ดองุ่น

นำน้ำมันเมล็ดองุ่นที่ได้จากการสกัดทั้ง 2 วิธี วิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันเมล็ดองุ่น ได้แก่ สารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.5.1 วิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน (Fatty acid compositions) ตามวิธี AOAC (2005) ด้วยเครื่อง Gas chromatography (GC)

3.5.5.2 วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของน้ำมันเมล็ดองุ่น

3.5.5.2.1 วิเคราะห์ค่าสี โดยใช้เครื่อง Hunter Lab (Color Quest XE)

3.5.5.2.2 วิเคราะห์ความหนืด โดยใช้เครื่อง Brookfield viscometer วัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส, 100 rpm

3.5.5.3 วิเคราะห์สมบัติทางเคมีของน้ำมันเมล็ดองุ่น

3.5.5.3.1 วิเคราะห์ค่ากรดและกรดไขมันอิสระ (Acid value; AV หรือ Free fatty acid) ตามวิธี AOCS (1997)

3.5.5.3.2 วิเคราะห์ค่าไอโอดีน (Iodine value; IV) วิธีการ Wijs ตามวิธี AOCS (2009)

3.5.5.3.3 วิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value; PV) ตามวิธี AOCS (1997)

3.5.5.3.4 วิเคราะห์ค่าพาราแอนนิซิน (p-Anisidine value; p-AV) ตามวิธี AOCS (1997)

3.5.5.3.5 วิเคราะห์ค่าสบอนนิฟิเคชัน (Saponification value; SV) ตามวิธี AOCS (2009)

3.5.5.3.6 วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total polyphenol content) ตามวิธีของ Singleton และ Rossi (1965)

3.5.5.4 วิเคราะห์ความคงตัวของน้ำมัน (Rancimat method)

3.5.5.5 วิเคราะห์สมบัติทางความร้อน (Thermal behavior) โดยใช้เครื่อง Differential scanning calorimetry (DSC)

3.5.5.6 วิเคราะห์ปริมาณวิตามินอี (Tocopherols และ Tocotrienol) ดัดแปลงจากวิธีของ Huang และ Ng (2011) ด้วยเครื่อง High-performance liquid chromatography (HPLC)

3.5.5.7 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.5.5.7.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging activity) โดยดัดแปลงจาก Lavelli (2002) และ Jiang และคณะ (2005)

3.5.5.6.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS radical scavenging activity) โดยดัดแปลงจาก Sevim และคณะ (2013)

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ยกเว้นข้อ 3.5.4.1 และ 3.5.4.6 ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติที่ร้อยละ 95

### 3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้อาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติสำเร็จรูป โดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยผลการทดลองด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ยกเว้นหัวข้อ 3.5.4 และ 3.5.5 ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของผลการทดลองด้วย T-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### 4.1 องค์ประกอบของเมล็ดองุ่น

การวิเคราะห์องค์ประกอบของเมล็ดองุ่นพันธุ์ชirazที่ใช้ในงานวิจัยนี้ พบว่า มีปริมาณของน้ำมัน ร้อยละ 13.61 และปริมาณความชื้น โปรตีน เยื่อใย เถ้า และคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 4.93, 11.94, 37.32, 2.79 และ 34.35 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Kamel และคณะ (1985) ที่ทำการศึกษาน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์มต่อเมทานอล (2:1, โดยปริมาตร) มีปริมาณของน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดได้ร้อยละ 14 และมีปริมาณความชื้น โปรตีน เยื่อใย เถ้า และคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 30.1, 8.2, 38.6, 2.2 และ 37 (โดยน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ นอกจากนี้ Fernandes และคณะ (2013) ได้ศึกษาลักษณะของน้ำมันเมล็ดองุ่นจากองุ่น 10 สายพันธุ์ของประเทศโปรตุเกส สกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ พบว่ามีปริมาณน้ำมันอยู่ในช่วงร้อยละ 6-13 โดยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ขององุ่น และสภาพแวดล้อมของแหล่งที่ปลูกองุ่น

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบโดยประมาณของเมล็ดองุ่นแห้ง (*Vitis vinifera* cv Shiraz)

องค์ประกอบ	ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก (%wb)	ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง (%db)
ความชื้น	4.70 ± 0.04	4.93 ± 0.04
โปรตีน	11.38 ± 0.17	11.94 ± 0.18
ไขมัน	12.96 ± 0.12	13.61 ± 0.13
เยื่อใย	35.56 ± 0.65	37.32 ± 0.68
เถ้า	2.66 ± 0.03	2.79 ± 0.03
คาร์โบไฮเดรต	32.74 ± 0.00	34.35 ± 0.00

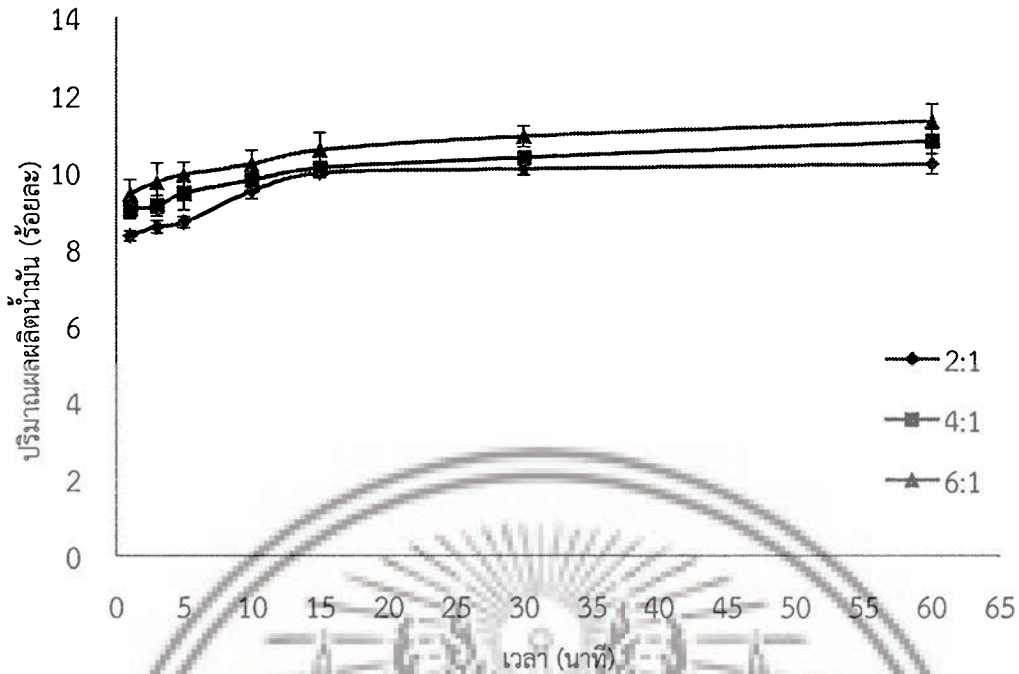
#### 4.2 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่นด้วยวิธีการแช่ (maceration extraction; ME)

จากภาพที่ 4.1 แสดงผลของอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่นและระยะเวลาในการสกัดด้วยวิธีการแช่ที่มีต่อปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดองุ่น พบว่าทั้ง 2 ปัจจัย คือ อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น และเวลาที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อปริมาณผลผลิตน้ำมัน โดยที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่นมากหรือปริมาณตัวทำละลายในการสกัดมากจะทำให้สามารถสกัดน้ำมันออกมาได้มากกว่า เพราะตัวทำละลายจะสามารถแพร่เข้าไปในของแข็งได้ง่ายขึ้น เพื่อละลายเอาตัวถูกละลายออกมา (Zhang และคณะ, 2008; Goula, 2013) ซึ่งในที่นี้ คือ น้ำมัน และตัวถูกละลายจะแพร่ออกมาจากของแข็งที่อิมมัตด้วยตัวทำละลายไปยังเฟสของตัวทำละลาย ทั้งนี้อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อของแข็งต้องมากพอที่จะทำให้ระดับของตัวถูกละลายที่ต้องการละลายออกมา สมดุลที่เกิดขึ้นจะเป็นสภาวะที่ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในเฟสของของแข็งและเฟสของตัวทำละลายเท่ากัน ดังนั้นความเข้มข้นของตัวถูกละลายในสารละลายที่อยู่ในของแข็งจะเท่ากับในเฟสของของเหลวหรือตัวทำละลาย แต่เมื่อปริมาณของตัวทำละลายไม่เพียงพอต่อการละลายตัวถูกละลายทั้งหมดที่มีอยู่ สมดุลจะพิจารณาว่าเป็นสภาวะที่เรียกว่าภาวะอิ่มตัว ซึ่งสิ่งนี้อาจทำให้ต้องปรับเปลี่ยนเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นของตัวถูกละลาย ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอีกต่อไปในทั้งสองเฟส ไม่ว่าจะมีการสัมผัสที่นานขึ้นก็ตาม แต่เพื่อให้สมดุลเกิดขึ้นจำเป็นต้องให้เฟสของแข็งและตัวทำละลายได้สัมผัสกันเป็นเวลาที่นานพอ (Jadhav และคณะ, 2009) ดังนั้นอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อของแข็งถือเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพในกระบวนการสกัด (Pinelo และคณะ, 2005) ดังภาพที่ 4.1 จะเห็นว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดจะทำให้ปริมาณผลผลิตมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งเวลาที่ใช้ในการสกัดจะต้องใช้เวลาที่เหมาะสม เพื่อให้ตัวทำละลายสามารถสกัดน้ำมันออกมาให้ได้มากที่สุด หรือในปริมาณที่เพียงพอ นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณตัวทำละลาย จะทำให้ปริมาณผลผลิตเพิ่มสูงขึ้นโดยที่อัตราส่วนตัวทำละลายต่อผงเมล็ดคองุ่น 4:1 และ 6:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่าอัตราส่วน 2:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ในทุกระยะเวลาการสกัด แต่ผลการวิเคราะห์ปัจจัยร่วมพบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างอัตราส่วนตัวทำละลายต่อผงเมล็ดคองุ่นและระยะเวลาในการสกัดต่อปริมาณผลผลิตน้ำมัน ( $p > 0.05$ )

ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.2 พบว่าปริมาณผลผลิตน้ำมันที่ได้จากวิธีการแช่ อยู่ในช่วงร้อยละ 8.34-11.31 โดยน้ำหนักแห้ง และพบว่าปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดคองุ่นที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดคองุ่น 6:1, 4:1 และ 2:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยการสกัดที่อัตราส่วน 6:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก และเวลาสกัด 60 นาที ให้ปริมาณผลผลิตสูงสุด คือ ร้อยละ 11.31 โดยน้ำหนักแห้ง และจากตารางที่ 4.3 พบว่ามีความสามารถในการสกัดได้ (recovery) คิดเป็นร้อยละ 83.10 เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยวิธีซอกซ์เลต (ร้อยละ 13.61) ที่เป็นการวิเคราะห์ปริมาณไขมันทั้งหมดซึ่งคิดเป็น ร้อยละ 100 แต่เลือกใช้สภาวะที่เหมาะสมที่อัตราส่วน 6:1 และเวลาสกัด 30 นาที เพราะให้ผลผลิตไม่แตกต่างจาก 60 นาที และถือว่าเป็นการให้ผลผลิตเพียงพอต่อความต้องการ คือ มีความสามารถในการสกัดได้มากกว่าร้อยละ 80 ส่วนที่อัตราส่วน 2:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก พบว่ายังไม่สามารถสกัดได้ผลผลิตสูงเท่ากับที่อัตราส่วน 6:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก และมีความสามารถในการสกัดได้อยู่ในช่วงร้อยละ 64-78 ซึ่งยังไม่เพียงพอต่อความต้องการ จึงตั้งสมมติฐานว่าที่อัตราส่วน 2:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก สามารถนำไปปรับปรุงปริมาณผลผลิตได้โดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดร่วมกับวิธีการแช่ และคาดว่า การใช้อัลตราโซนิกจะสามารถช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตให้สูงขึ้นได้อีกทั้งสาเหตุที่เลือกอัตราส่วน 2:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก และที่ระยะเวลาในการสกัดทั้งหมด 15 นาที เพราะสามารถลดการใช้ตัวทำละลายและเวลาในการสกัดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ผลของอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดตงุ่นและระยะเวลาในการสกัดโดยวิธีการแช่ที่มีต่อปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดตงุ่น

ตารางที่ 4.2 ผลของอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดตงุ่นและระยะเวลาในการสกัดโดยวิธีการแช่ที่มีต่อปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดตงุ่น

เวลา (นาท)	ปริมาณผลผลิตน้ำมัน (ร้อยละ)		
	อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดตงุ่น (โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก)		
	2:1	4:1	6:1
1	<sup>A</sup> 8.34 ± 0.13 <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 9.04 ± 0.25 <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 9.43 ± 0.37 <sup>a</sup>
3	<sup>A</sup> 8.59 ± 0.16 <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 9.12 ± 0.26 <sup>a</sup>	<sup>C</sup> 9.74 ± 0.51 <sup>a</sup>
5	<sup>A</sup> 8.70 ± 0.15 <sup>a</sup>	<sup>B</sup> 9.45 ± 0.43 <sup>ab</sup>	<sup>B</sup> 9.93 ± 0.33 <sup>ab</sup>
10	<sup>A</sup> 9.50 ± 0.19 <sup>b</sup>	<sup>AB</sup> 9.78 ± 0.29 <sup>bc</sup>	<sup>B</sup> 10.20 ± 0.36 <sup>bc</sup>
15	<sup>A</sup> 9.97 ± 0.13 <sup>bc</sup>	<sup>AB</sup> 10.10 ± 0.15 <sup>cd</sup>	<sup>B</sup> 10.56 ± 0.45 <sup>cd</sup>
30	<sup>A</sup> 10.07 ± 0.16 <sup>c</sup>	<sup>A</sup> 10.37 ± 0.04 <sup>de</sup>	<sup>B</sup> 10.92 ± 0.27 <sup>de</sup>
60	<sup>A</sup> 10.19 ± 0.27 <sup>c</sup>	<sup>B</sup> 10.78 ± 0.32 <sup>e</sup>	<sup>C</sup> 11.31 ± 0.44 <sup>e</sup>

<sup>a, b, c, ...</sup> คือ อักษรกำกับในแนวตั้ง ต่างกันหมายความว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>A, B, C, ...</sup> คือ อักษรกำกับในแนวนอน ต่างกันหมายความว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลของอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่นและระยะเวลาในการสกัดโดยวิธีการแช่ที่มีต่อความสามารถในการสกัดได้ (recovery)

เวลา (นาที)	Recovery* (ร้อยละของน้ำมันทั้งหมด)		
	อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น (โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก)		
	2:1	4:1	6:1
1	61.28	66.45	69.30
3	63.09	67.03	71.54
5	63.91	69.40	72.97
10	69.77	71.89	74.98
15	73.24	74.18	77.62
30	74.01	76.19	80.22
60	74.89	79.21	83.10

\* คือ พิจารณาจากการสกัดด้วยวิธีซอกท์เลตซึ่งเป็นวิธีการที่เอksenสามารถสกัดน้ำมันออกมาได้ทั้งหมดคิดเป็นร้อยละ 100

#### 4.3 สภาวะที่เหมาะสมของคลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่น (ultrasound-assisted extraction; UAE)

##### 4.3.1 ค่าแอมพลิจูด (amplitude) ของคลื่นเสียงความถี่สูงที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่น

จากตารางที่ 4.4 เป็นการศึกษาค่าแอมพลิจูด (amplitude) ของคลื่นเสียงความถี่สูงที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่น พบว่า การใช้ระดับแอมพลิจูดต่างกันมีผลต่อปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดองุ่นอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยปริมาณผลผลิตน้ำมันเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระดับแอมพลิจูด สามารถอธิบายได้ว่าคลื่นเสียงความถี่สูง หรือคลื่นอัลตราโซนิกที่มีแอมพลิจูดสูงกว่าจะผ่านไปยังของเหลวได้ดีและฟองอากาศที่เกิดจากปรากฏการณ์แควิเทชัน (cavitation) จะแตกอย่างรุนแรงกว่าซึ่งช่วยในการทำลายเนื้อเยื่อเซลล์และทำให้สารที่อยู่ภายในเซลล์ออกมายังตัวทำละลายได้ง่ายขึ้น เนื่องจากผนังเซลล์ถูกทำลาย นอกจากนี้ยังช่วยให้โมเลกุลของสารผสมเข้ากันได้ดีขึ้นทำให้เพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลสาร ดังนั้นจึงเป็นการช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพในการสกัดด้วย (Hemwimol และคณะ, 2006; Zhang และคณะ, 2008) นอกจากนี้ จากตารางที่ 4.4 ยังทำให้ทราบว่า การใช้ระดับแอมพลิจูดร้อยละ 20-60 ให้ผลไม่แตกต่างกัน แต่ระดับแอมพลิจูดร้อยละ 80-100 ให้ปริมาณน้ำมันสูงสุด และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ดังนั้นจึงเลือกค่าแอมพลิจูดที่เหมาะสมสำหรับใช้ในสกัดคือ ร้อยละ 80 เพราะให้ปริมาณผลผลิตสูงเพียงพอ และเนื่องจากการใช้แอมพลิจูดสูงเกินไปทำให้เกิดความร้อนสูงมาก ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสารประกอบต่าง ๆ ในน้ำมันที่ไม่คงทนต่อความร้อนเกิดการสลายตัวได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของชุดิมา วันเท็ญ และคณะ (2556) ซึ่งทำการพรีทรีตเมนต์ด้วยอัลตราซาวนด์ก่อนการสกัดอินนูลิน จากหัวแค้นตะวันด้วยน้ำร้อน พบว่าขณะเพิ่มเวลาในการพรีทรีตเมนต์ด้วยคลื่นอัลตราซาวนด์ที่มีกำลังสูงเพียงพอเป็นระยะเวลาสั้น ๆ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดคาร์โบไฮเดรตจากผงแค้นตะวันได้ เนื่องจากเกิดการแควิเทชัน (cavitation) ส่งผลให้เกิดการทำลายโครงสร้างที่ทำหน้าที่เก็บกักอินนูลินไว้ โดยการพรีทรีตเมนต์ด้วยอัลตราซาวนด์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ด้วยระดับแอมพลิจูดร้อยละ 80-100 เป็นระยะเวลา 10 นาที ให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดสูงที่สุด และพบว่า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การพรีทรีตเมนต์ด้วยอัลตราซาวด์ทุกสภาวะทำให้ปริมาณร้อยละการสกัด อินนูลินเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้พรีทรีตเมนต์

ตารางที่ 4.4 ผลของค่าแอมพลิจูดที่มีต่อปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดองุ่น

ค่าแอมพลิจูด (ร้อยละ)	ปริมาณผลผลิตน้ำมัน (ร้อยละ)
20	9.10 ± 0.07 <sup>a</sup>
40	9.35 ± 0.25 <sup>ab</sup>
60	9.70 ± 0.33 <sup>b</sup>
80	10.80 ± 0.13 <sup>c</sup>
100	11.03 ± 0.33 <sup>c</sup>

a, b, c, ... คือ อักษรกำกับในแนวตั้งต่างกันหมายความว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.3.2 ระยะเวลาที่ใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดร่วมกับวิธีการแช่

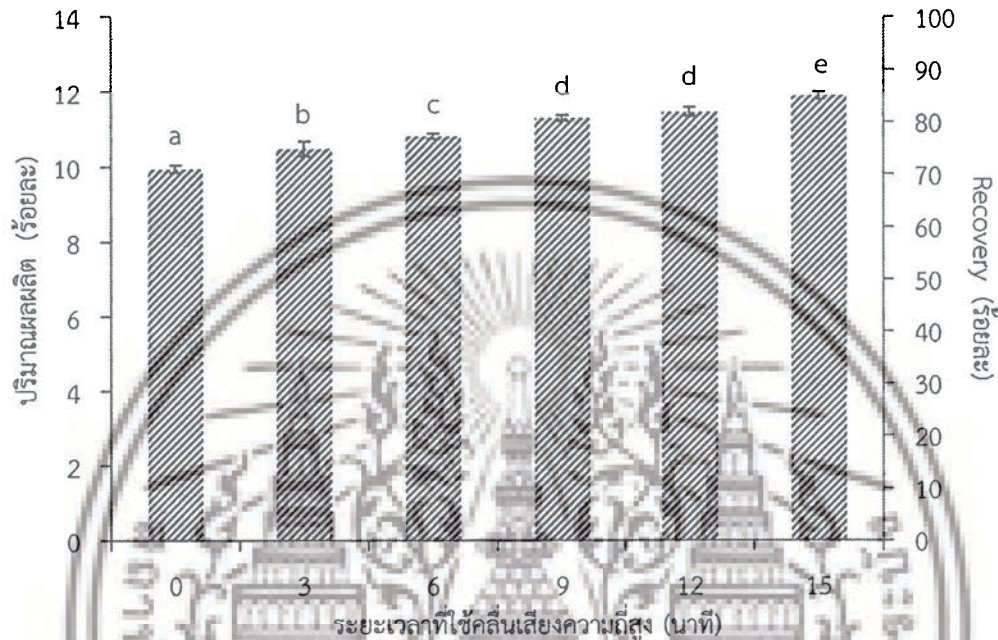
จากผลการทดลองที่ 4.2 ทำให้ทราบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด คือ ที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น 2:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก และใช้ระยะเวลาในการสกัดทั้งหมด 15 นาที เช่นเดียวกับ Malicanin และคณะ (2014) ที่ศึกษาผลของการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่น โดยต้องการลดปริมาณตัวทำละลายให้น้อยที่สุด เพราะตัวทำละลายอินทรีย์ไม่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จึงเลือกใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น 2:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก

ผลของเวลาที่ใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดที่มีต่อปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดองุ่น โดยเวลาในการสกัดทั้งหมด 15 นาที แสดงดังภาพที่ 4.2 พบว่าเวลาที่ใช้อัลตราโซนิคมีผลต่อปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดองุ่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยปริมาณผลผลิตน้ำมันเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง เนื่องจากคลื่นเสียงความถี่สูงทำให้เกิดปรากฏการณ์แคปพิเทชัน ในตัวทำละลาย ส่งผลให้ตัวทำละลายแทรกซึมเข้าไปในวัสดุที่นำมาสกัดได้ดียิ่งขึ้น และยังทำให้การผสมได้ผลดีขึ้น โดยจะไปเร่งทำให้ประสิทธิภาพการถ่ายเทมวลสาร (mass transfer) เพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้คลื่นยังไปทำลายพื้นผิวที่บริเวณผนังเซลล์และภายในเซลล์ทำให้สารที่ต้องการสกัดสามารถออกมาได้ง่ายขึ้น ซึ่งแตกต่างกับการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบธรรมดา (Hemwimol และคณะ, 2006) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang และคณะ (2008) ได้สกัดน้ำมันจากเมล็ดแฟลก (flaxseed) พบว่าระยะเวลาในการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงมีอิทธิพลในเชิงบวกต่อปริมาณผลผลิตน้ำมัน เพราะคลื่นเสียงความถี่สูงจะช่วยทำลายเนื้อเยื่อเซลล์ ทำให้เพิ่มพื้นที่ผิว ในการสัมผัสกับตัวทำละลายมากขึ้น สามารถเห็นภาพได้ชัดเจนผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscopy; SEM) จึงทำให้เพิ่มอัตราการแพร่จากของแข็งมายังของเหลว ซึ่งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด

ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5 พบว่า ปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดองุ่นอยู่ในช่วงร้อยละ 9.66-11.57 โดยน้ำหนักแห้ง และการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตได้เพิ่มขึ้นจากการไม่ใช้อัลตราโซนิกร้อยละ 5.49, 8.90, 13.66, 15.42 และ 19.77 สำหรับเวลาในการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด 3, 6, 9, 12 และ 15 นาที ตามลำดับ โดยที่การใช้คลื่นเสียงความถี่สูงตลอดระยะเวลาสกัด 15 นาทีให้ปริมาณผลผลิตสูงสุด คือ ร้อยละ 11.57 โดยน้ำหนักแห้ง และให้ปริมาณ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจากการไม่ใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (วิธีการแช่เพียงอย่างเดียวตลอดระยะเวลาสกัด 15 นาที) สูงถึงร้อยละ 19.77 และมีความสามารถในการสกัดได้ (recovery) ร้อยละ 85.01 ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีนี้ คือ การสกัดด้วยอัลตราโซนิก ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ ค่าแอมพลิจูด ร้อยละ 80 ที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น 2:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก และใช้คลื่นเสียงความถี่สูงสกัดตลอดระยะเวลา 15 นาที



ภาพที่ 4.2 ผลของเวลาที่ใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดที่มีต่อปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดองุ่น

ตารางที่ 4.5 ปริมาณผลผลิตที่เพิ่มขึ้นของน้ำมันเมล็ดองุ่นที่ได้จากวิธีใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดเปรียบเทียบกับวิธีการแช่เพียงอย่างเดียวตลอดระยะเวลาสกัด 15 นาที

เวลาในการสกัด (นาที)		ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ)	ปริมาณผลผลิตที่เพิ่มขึ้น (ร้อยละ)	Recovery* (ร้อยละของน้ำมันทั้งหมด)
ME	UAE			
15	0	9.66 ± 0.10 <sup>a</sup>	-	70.99
12	3	10.19 ± 0.18 <sup>b</sup>	5.49	74.88
9	6	10.52 ± 0.07 <sup>c</sup>	8.90	77.31
6	9	10.98 ± 0.08 <sup>d</sup>	13.66	80.69
3	12	11.15 ± 0.11 <sup>d</sup>	15.42	81.91
0	15	11.57 ± 0.10 <sup>e</sup>	19.77	85.01

a, b, c, ... คือ อักษรกำกับในแนวตั้งต่างกันหมายความว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

\* คือ พิจารณาจากการสกัดด้วยวิธีซอกซ์เลตซึ่งเป็นวิธีการที่เฮกเซนสามารถสกัดน้ำมันออกมาได้ทั้งหมดคิดเป็นร้อยละ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.4 ปริมาณผลผลิตของน้ำมันเมล็ดองุ่นที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีที่แตกต่างกัน

การเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดองุ่นจากวิธีการสกัด 2 วิธี ได้แก่ วิธีการแช่ (ME) และวิธีใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด (UAE) แสดงดังตารางที่ 4.6 พบว่าวิธีการแช่เป็นวิธีการสกัดโดยให้ตัวทำละลายละลายน้ำมันออกมาจากของแข็งในภาชนะปิดโดยตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ตามระยะเวลาที่ต้องการ ซึ่งปกติแล้วจะใช้เวลาสกัดนานหลายชั่วโมง แต่ในการทดลองนี้ พบว่า การสกัดที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น 6:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก และใช้เวลาในการสกัด 30 นาที ก็ให้ผลเพียงพอต่อความต้องการ คือ มีความสามารถในการสกัดได้มากกว่าร้อยละ 80 เนื่องจากวิธีการนี้ไม่ใช้ความร้อน จึงไม่มีพลังงานไฟฟ้าเข้ามาเกี่ยวข้อง ส่วนวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด พบว่ามีความสามารถในการสกัดได้ร้อยละ 83.91 เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ทั้งสองวิธีให้ปริมาณผลผลิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการนี้สามารถลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายได้ถึง 3 เท่า และสามารถลดระยะเวลาในการสกัดได้ถึง 2 เท่าของวิธีการแช่ถึงแม้ว่าวิธีการนี้จะทำที่อุณหภูมิห้อง แต่ในระหว่างที่คลื่นเสียงความถี่สูงทำงานจะเกิดความร้อนขึ้น โดยในการสกัดอุณหภูมิจะค่อย ๆ สูงขึ้นถึงประมาณ 60 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิสดท้ายที่วัดได้) และเนื่องจากวิธีการนี้มีการใช้เครื่องอัลตราโซนิกเป็นแหล่งกำเนิดคลื่น จึงมีการใช้พลังงานไฟฟ้าร่วมด้วย

ตารางที่ 4.6 เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดองุ่นและปัจจัยที่มีผลต่อวิธีการสกัด

	วิธีการสกัด	
	ME	UAE
อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น (โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก)	6:1	2:1
เวลาในการสกัด (นาที)	30	15
อุณหภูมิเริ่มต้นในการสกัด (องศาเซลเซียส)	30	30
ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ) <sup>ns</sup>	11.13 ± 0.13	11.42 ± 0.13
Recovery* (ร้อยละของน้ำมันทั้งหมด)	81.78	83.91

<sup>ns</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ )

\* คือ พิจารณาจากการสกัดด้วยวิธีซอกซ์เลตซึ่งเป็นวิธีการที่เอ็กเซนสามารถสกัดน้ำมันออกมาได้ทั้งหมดคิดเป็นร้อยละ

100

#### 4.5 องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันเมล็ดองุ่น

ผลการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมัน (fatty acid composition) ในน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธีที่แตกต่างกัน พบว่า องค์ประกอบของกรดไขมันน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดได้จากวิธีการสกัดที่แตกต่างกันโดยรวมไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) (ตารางที่ 4.6) ยกเว้นกรดปาล์มิติก (C16:0) มีความแตกต่างกันทางสถิติ กล่าวได้ว่าวิธีการสกัดไม่ส่งผลต่อความชัดเจนมากนักของกรดไขมันที่ได้

จากตารางที่ 4.7 กรดไขมันชนิดอิ่มตัวที่พบมากที่สุดคือน้ำมันเมล็ดองุ่น ได้แก่ กรดปาล์มิติก (palmitic acid; C16:0) รองลงมา คือ กรดสเตียริก (stearic acid; C18:0) ส่วนกรดไขมันชนิดอื่น ๆ พบเพียงปริมาณเล็กน้อยเท่านั้น กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ประเภทกรดไขมันไม่อิ่มตัวตำแหน่งเดียว (MUFA) พบปริมาณกรดโอเลอิกสูงที่สุด (oleic acid; C18:1) และพบกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (PUFA) ปริมาณสูงที่สุดโดยเฉพาะกรดไลโนเลอิก (linoleic acid; C18:2) สูงถึงร้อยละ 66.76 การวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันเมล็ดองุ่นนี้สามารถบ่งบอกได้ว่า เอ็กเซนเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานี้เท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำมันเมล็ดองุ่นนั้นมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งหมดมากที่สุด โดยที่การสกัดทั้งวิธี ME และ UAE ให้ปริมาณที่ไม่แตกต่างกัน อาจเป็นเพราะใช้ตัวทำละลายในการสกัดทั้งสองวิธี อีกทั้งวิธี UAE ยังใช้ระยะเวลาในการใช้อัลตราโซนิกสกัดในระยะเวลาสั้น ๆ เพียง 15 นาที ซึ่งอาจจะยังไม่เห็นผลความแตกต่างชัดเจนเมื่อเทียบกับวิธีการแช่เพียงอย่างเดียว สอดคล้องกับงานวิจัยของ Malicanin และคณะ (2014) ได้ศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนติออกซิแดนซ์และความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันเมล็ดองุ่นสายพันธุ์ Cabernet Sauvignon ที่สกัดโดยใช้อัลตราซาวนด์ (UAE) และวิธี Soxhlet ในการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันพบว่า ระยะเวลาในการใช้อัลตราโซนิกตั้งแต่ 15-135 นาที และวิธีการสกัด (วิธี UAE และ Soxhlet) ไม่มีผลต่อองค์ประกอบของน้ำมันเมล็ดองุ่น และมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว (linoleic acid; C18:2) สูงที่สุด ร้อยละ 74 และกรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งหมด ร้อยละ 87 เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Fernandes และคณะ (2013) ที่ได้เปรียบเทียบผลของวิธีการสกัดน้ำมัน ด้วยวิธี UAE และวิธีมาตรฐาน (Soxhlet) จากเมล็ดองุ่นสายพันธุ์ Raboso Piave พบว่าน้ำมันเมล็ดองุ่นอุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (PUFA) โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัวไม่อิ่มตัวทั้งหมด ร้อยละ 72) ซึ่งใกล้เคียงกับผลของการวิจัยนี้ และวิธีการสกัดน้ำมันไม่อิ่มตัวประกอบของกรดไขมันหลักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Luque-Garcia และ Luque de Castro ที่ว่าการใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วยในการสกัดน้ำมันในวิธี Soxhlet (Ultrasound-assisted soxhlet extraction; UASE) ไม่มีอิทธิพลต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันเมล็ดองุ่นอื่น ๆ เช่นกัน (ได้แก่ ถั่วเหลือง, ทานตะวัน, เรพซิด)

จากตารางที่ 4.8 แสดงให้เห็นว่าน้ำมันเมล็ดองุ่นมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งหมด (total unsaturated fatty acid) สูงถึงร้อยละ 87 เมื่อพิจารณาถึงสัดส่วนของกรดไขมันของน้ำมันเมล็ดองุ่น SFA: MUFA: PUFA มีค่าเท่ากับ 1: 1.5: 5 เป็นน้ำมันที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (PUFA) สูงเป็น 5 เท่าของปริมาณกรดไขมันชนิดอิ่มตัว โดยสัดส่วนของกรดไขมันที่องค์การอนามัยโลก (WHO) องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) และสมาคมหัวใจแห่งสหรัฐอเมริกา (AHA) แนะนำว่าเป็นน้ำมันที่เหมาะสมสำหรับการบริโภค คือ SFA: MUFA: PUFA เท่ากับ 1: 1.5: < 1 ซึ่งสัดส่วนกรดไขมันที่เหมาะสมนี้จะช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคเบาหวาน น้ำมันเมล็ดองุ่นมีสัดส่วนของ PUFA มาก และ MUFA ปานกลาง ซึ่งน้ำมันที่อยู่ในกลุ่มนี้ คือ น้ำมันเมล็ดทานตะวัน น้ำมันดอกคำฝอย น้ำมันเมล็ดข้าวโพด และน้ำมันเมล็ดฝ้าย หากรับประทานน้ำมันกลุ่มนี้ในปริมาณที่ไม่มากเกินไปจะช่วยลดระดับ LDL-cholesterol ได้ แต่การรับประทานมากเกินไป ก็พบว่า HDL-cholesterol หรือคอเลสเตอรอลตัวดี ก็ลดลงไปด้วยเช่นกัน และเนื่องจากน้ำมันในกลุ่มนี้มี PUFA ค่อนข้างสูง โอกาสแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระเมื่อได้รับความร้อนจึงมีมากขึ้น ทำให้ความเสี่ยงการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดจากการที่มีอนุมูลอิสระสูงเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน ดังนั้นจึงไม่ควรใช้น้ำมันกลุ่มนี้ปรุงประกอบอาหารที่อุณหภูมิสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธีที่แตกต่างกัน

กรดไขมัน	ปริมาณกรดไขมัน (ร้อยละของไขมันทั้งหมด)	
	วิธีการสกัด	
	ME	UAE
<b>Saturated fatty acid (SFA)</b>		
C12:0	0.02 ± 0.01	nd
C13:0	nd	nd
C14:0 <sup>ns</sup>	0.08 ± 0.00	0.07 ± 0.00
C15:0 <sup>ns</sup>	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
C16:0	8.57 ± 0.01 <sup>a</sup>	8.51 ± 0.01 <sup>b</sup>
C17:0 <sup>ns</sup>	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.00
C18:0 <sup>ns</sup>	4.37 ± 0.08	4.53 ± 0.04
C20:0 <sup>ns</sup>	0.18 ± 0.01	0.24 ± 0.07
C21:0	nd	nd
C22:0 <sup>ns</sup>	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.00
C23:0	nd	nd
C24:0 <sup>ns</sup>	0.13 ± 0.02	0.16 ± 0.02
<b>Monounsaturated fatty acid (MUFA)</b>		
C16:1 <sup>ns</sup>	0.24 ± 0.00	0.24 ± 0.00
C18:1 <sup>ns</sup>	23.94 ± 6.90	19.13 ± 0.13
C20:1 <sup>ns</sup>	0.19 ± 0.01	0.20 ± 0.01
<b>Polyunsaturated fatty acid (PUFA)</b>		
C18:2 <sup>ns</sup>	66.76 ± 0.28	66.44 ± 0.20
C18:3 <sup>ns</sup>	0.38 ± 0.00	0.37 ± 0.01
C20:2 <sup>ns</sup>	0.05 ± 0.00	0.06 ± 0.00

<sup>a, b</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันในแนวนอนเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างไม่มีความนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

nd หมายถึง ตรวจไม่พบ (not detected)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 องค์ประกอบของกรดไขมันอิ่มตัว, กรดไขมันไม่อิ่มตัวตำแหน่งเดียว (เชิงเดี่ยว) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (เชิงซ้อน) และสัดส่วนของกรดไขมันในน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธีที่แตกต่างกัน

ชนิดของกรดไขมัน	ปริมาณกรดไขมัน (ร้อยละของไขมันทั้งหมด)	
	วิธีการสกัด	
	ME	UAE
Saturated fatty acid (SFA) <sup>ns</sup>	13.45 ± 0.11	13.58 ± 0.06
Monounsaturated fatty acid (MUFA) <sup>ns</sup>	19.37 ± 0.18	19.57 ± 0.13
Polyunsaturated fatty acid (PUFA) <sup>ns</sup>		
Total unsaturated fatty acid <sup>ns</sup>	67.19 ± 0.28	66.87 ± 0.21
SFA:MUFA:PUFA	86.56 ± 1.52	86.43 ± 0.07
	13.45: 19.37: 67.19	13.58: 19.57: 66.87
	1: 1.5: 5	1: 1.5: 5

<sup>ns</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

#### 4.6 สมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันเมล็ดองุ่น

ผลของสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธีการแช่ (ME) และวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด (UAE) แสดงในตารางที่ 4.9

สีของน้ำมันแสดงถึงการมีรงควัตถุ ได้แก่ แคโรทีนอยด์ (carotenoid) ซึ่งเป็นสารสีเหลือง ส้ม และคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) ซึ่งเป็นสารสีเขียว สีของน้ำมันเป็นปัจจัยสำคัญที่สามารถบ่งบอกสีที่ไม่พึงประสงค์ของน้ำมันพืช หรือส่งเสริมให้เกิดออกซิเดชันในที่ที่มีแสง และยับยั้งตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้สำหรับปฏิกิริยา hydrogenation ได้

ผลของค่าสีของน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธีการแช่และวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดแสดงดังตารางที่ 4.9 โดยน้ำมันมีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) อยู่ในช่วง 27.04 ถึง 28.02 น้ำมันที่มีค่าความสว่างสูงที่สุด คือ น้ำมันที่สกัดด้วยวิธี ME แต่จากผลการทดลองพบว่าน้ำมันที่สกัดได้จากทั้งสองวิธีให้ผลไม่แตกต่างกันมากนัก ค่าความสว่าง ( $L^*$ ) เป็นตัวชี้วัดคุณภาพของน้ำมันดิบ (crude oil) (Shahidi, 2006) จากผลการทดลองพบว่า น้ำมันที่สกัดด้วยวิธี ME โดยการแช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องมีค่าความสว่างสูงกว่าน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี UAE ซึ่งมีความร้อนที่เกิดจากเครื่องอัลตราโซนิคเข้ามาเกี่ยวข้องในการทดลอง ให้อุณหภูมิสูงถึง 60 องศาเซลเซียส โดยอาจจะส่งผลให้น้ำมันมีสีเข้มมากกว่า หรือสามารถอธิบายได้ว่า อุณหภูมิในการสกัดมีผลต่อค่าสีน้ำมันค่อนข้างมาก ข้อสังเกตนี้สามารถอธิบายได้ว่า การสกัดที่อุณหภูมิสูงขึ้น อาจจะช่วยให้การถ่ายเทมวลสารของ สารสี หรือรงควัตถุ (pigment) และสารไม่บริสุทธิ์อื่น ๆ จากตัววัตถุดิบไปเป็นน้ำมันได้ง่ายขึ้น ค่าสีน้ำมันอาจจะแตกต่างกันไปทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของวัตถุดิบและ/หรือสภาวะที่ใช้ในการสกัดด้วย (Samaram และคณะ, 2014) ค่าความเป็นสีแดง-เขียว ( $a^*$ ) อยู่ในช่วง 8.12 ถึง 8.42 ลักษณะสีของน้ำมันที่สังเกตได้ คือ สีเขียวมะกอก เป็นผลจากความสามารถของตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดสารประกอบเม็ดสีคลอโรฟิลล์จากเมล็ดองุ่น ซึ่งคลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุสีเขียวที่ไม่ละลายน้ำ ละลายได้ดีในน้ำมันหรือไขมัน (นิธิยา รัตนานนท์, 2553) คลอโรฟิลล์และสารประกอบคลอโรฟิลล์ในเมล็ดองุ่น

แยกสารเป็นเอกลักษณ์สูงจนวิเคราะห์เชิงเคมีเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะเปลี่ยนไปเป็นฟีโอฟิตินในระหว่างขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ คือ การบดเมล็ดก่อนที่จะสกัดน้ำมัน ทำให้โครงสร้างภายในถูกทำลาย ร่วมด้วยกับความร้อนที่เกิดขึ้นจากการบดจะส่งผลให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มมากขึ้น ฟีโอฟิตินเป็นคลอโรฟิลล์ชนิดหลักที่มีในน้ำมันดิบ (crude oil) และน้ำมันที่ผ่านการกำจัดยางเหนียวแล้ว (degumming oil) (Muralidhara และคณะ, 2002) เพราะสารประกอบคลอโรฟิลล์ละลายได้ในน้ำมัน เมื่อน้ำมันถูกสกัด ทำให้ยังคงมีสีเขียวอยู่ ความเข้มของสีจึงขึ้นอยู่กับปริมาณของคลอโรฟิลล์ที่มีในเมล็ดพืชนั้น ๆ ในกระบวนการสกัดน้ำมันจากเมล็ดพืช คลอโรฟิลล์จะถูกสกัดออกมาได้ง่ายโดยเฮกเซน ซึ่งจะปนอยู่ในน้ำมันดิบ ถ้ามีความเข้มข้นมากพอจะทำให้น้ำมันดิบมีสีเขียว คลอโรฟิลล์จะสลายตัวได้ง่ายด้วยความร้อนเปลี่ยนไปเป็นฟีโอฟิติน (pheophytin) ทำให้น้ำมันมีสีคล้ำหรือเข้มขึ้น นอกจากนี้ถ้ามีปริมาณมากเกินไปจะทำให้เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์ และอาจจะก่อให้เกิดออกซิเดชันในน้ำมันด้วย ซึ่งจะส่งผลให้อายุการเก็บรักษาน้ำมันสั้นลง (Diosady, 2015) ค่าความเป็นสีเหลือง-น้ำเงิน ( $b^*$ ) อยู่ในช่วง 46.62 ถึง 48.30 โดยน้ำมันที่มีค่าความเป็นสีเหลืองสูงกว่า คือ น้ำมันที่สกัดด้วยวิธี ME อาจจะมีปริมาณของแคโรทีนอยด์ ซึ่งเป็นรงควัตถุจากธรรมชาติที่ให้สีส้ม-เหลืองมากกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าค่า Chroma หรือความเข้มของสี และค่า Hue ที่บ่งบอกถึงเฉดสีมีค่าใกล้เคียงกัน ทำให้ทราบว่าน้ำมันทั้งสองวิธีมีสีใกล้เคียงกันเดียวกัน หรืออยู่ในช่วงของสีเดียวกัน



ภาพที่ 4.3 ลักษณะสีของน้ำมันเมล็ดดองที่ได้จากการสกัดที่แตกต่างกัน

นอกจากนี้อาจจะเกี่ยวข้องกับอุณหภูมิในการสกัดด้วย โดยวิธี ME เป็นการสกัดแบบแช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง แต่วิธี UAE มีความร้อนเกิดจากเครื่องอัลตราโซนิก อุณหภูมิจะอยู่ประมาณ 60-70 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจจะมีผลต่อค่าสีของน้ำมัน ทำให้น้ำมัน ME มีค่าความสว่าง และค่าความเป็นสีเขียว และค่าความเป็นสีเหลืองสูงกว่าน้ำมัน UAE แต่พบว่าค่าต่าง ๆ ที่วัดได้มีค่าแตกต่างกันไม่มากนัก อาจเป็นเพราะใช้ระยะเวลาในการสกัดไม่นานมาก คือ วิธี ME ใช้เวลาในการแช่ในตัวทำละลาย 30 นาที ส่วนวิธี UAE ใช้เวลาในการสกัด 15 นาที

ความหนืดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (วัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส) โดยที่ความหนืดจากการสกัดด้วยวิธี UAE มีค่าสูงสุด (29.67 เซนติพอยส์) ตามด้วยวิธี ME (26.13 เซนติพอยส์) การใช้ตัวทำละลายในการสกัดจะทำให้สารอินทรีย์ชนิดไม่มีขี้สามารถละลายในสารสกัดทั้งหมด น้ำมันที่สกัดออกมาด้วยตัวทำละลายไม่ได้ประกอบด้วยไตรเอซิลกลีเซอรอลเพียงอย่างเดียว แต่จะมีสารประกอบอื่น ๆ เช่น ฟอสโฟลิพิด และโพลาร์ลิพิดอื่น ๆ ซึ่งละลายได้ในน้ำปนอยู่ด้วย รวมเรียกว่า กัม (gums) จะทำให้ได้น้ำมันที่มีลักษณะข้นหนืด (gummy) สารนี้อยู่ในน้ำมันประมาณ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้อยละ 0.03-3.0 เนื่องจากอัลตราโซนิคมีประสิทธิภาพในการถ่ายเทมวลสารที่ต้องการสกัดออกมาจากวัตถุดิบได้มากกว่า ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่ามีปริมาณกัมที่ปนอยู่ในน้ำมันมากกว่า จึงทำให้ลักษณะน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี UAE จึงมีความหนืดสูงกว่าวิธี ME

ค่าความเป็นกรดของน้ำมันที่สกัดได้จากทั้งวิธี ME และ UAE มีค่า 1.34 และ 1.19 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อน้ำมัน 1 กรัม ตามลำดับ ถึงแม้ว่าจะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างกันเชิงคุณภาพมากนัก ซึ่งพบว่าค่าสูงเกินเกณฑ์มาตรฐาน Codex Alimentarius (1918) มาตรฐานสำนักงานอุตสาหกรรม (2533) และประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2543) ซึ่งใช้เกณฑ์เดียวกัน คือ กำหนดให้ไม่เกิน 0.6 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อน้ำมัน 1 กรัม ประมาณ 2 เท่า อาจเป็นเพราะยังไม่ได้ผ่านการทำให้บริสุทธิ์โดยการทำให้เป็นกลางด้วยด่างก่อน สอดคล้องกับรายงานของพงษ์ศิริ วิจิฉัย และวรุณี ณะแพสย์. (2550) ที่พบว่าน้ำมันเมล็ดเสาวรสที่สกัดด้วยเฮกเซน ปีโตรเลียมอีเทอร์ และการบีบอัด มีค่าความเป็นกรด 0.75, 1.02, และ 1.22 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อน้ำมัน 1 กรัม ตามลำดับ มีค่าสูงเกินเกณฑ์มาตรฐานเช่นเดียวกัน แต่ทั้งนี้ น้ำมันที่ได้มีค่าเป็นกลางที่เหมาะสมสำหรับเป็นน้ำมันเพื่อการบริโภคได้ หรือนำไปใช้ในงานเครื่องสำอางได้ ส่วนค่ากรดไขมันอิสระมีค่าสูงเล็กน้อย (ร้อยละ 0.60-0.67) ซึ่งน้ำมันที่มีปริมาณกรดไขมันอิสระประมาณร้อยละ 0.5-15 ในรูปกรดโอเลอิกจะเริ่มสังเกตการณ์เห็นได้ (นิธิยา รัตนานนท์, 2548)

ค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันที่สกัดได้จากทั้ง 2 วิธี (2.66 มิลลิสมมูลเปอร์ออกไซด์ออกซิเจนต่อ น้ำมัน 1 กิโลกรัม) ไม่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ซึ่งค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน คือ น้ำมันใหม่ (fresh oil) จะมีค่าต่ำกว่า 10 มิลลิสมมูลเปอร์ออกไซด์ออกซิเจนต่อ น้ำมัน 1 กิโลกรัม (มอก.47-2533) ส่วนน้ำมันที่มีกลิ่นหืน จะมีค่าเปอร์ออกไซด์ประมาณ 20-40 มิลลิสมมูลเปอร์ออกไซด์ออกซิเจนต่อ น้ำมัน 1 กิโลกรัม ซึ่งค่าเปอร์ออกไซด์ เป็นการวัด degree of lipid oxidation โดยการหาปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการออกซิเดชัน นั่นคือ สารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) ซึ่งจะเกิดขึ้นในน้ำมันอย่างช้า ๆ ในระหว่างที่น้ำมันถูกเก็บไว้ให้สัมผัสอากาศ เรียกว่า oxidative rancidity เป็นการเกิดออกซิเดชันขึ้นที่พันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ดังนั้นน้ำมันที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลมาก หรือมีค่าไอโอดีนสูง จะเกิด oxidative rancidity ได้ง่าย จึงนิยมวัดค่าเปอร์ออกไซด์ เพื่อใช้ชี้บ่งการเกิดออกซิเดชันของน้ำมัน เพราะเปอร์ออกไซด์เป็นผลิตภัณฑ์แรก (primary oxidation product) ของปฏิกิริยาออกซิเดชัน (นิธิยา รัตนานนท์, 2548) และสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์เป็นสารประกอบที่ไม่มีสีและกลิ่นรส เป็นสารที่ไม่มีควมคงตัว สามารถแตกตัวได้เป็นสารแอลดีไฮด์ ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นและรสชาติไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เป็นกลิ่นหืนที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidative rancidity) ค่าเปอร์ออกไซด์ไม่ได้เป็นค่าที่บอกถึงสภาพของน้ำมันได้ เนื่องจากสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์จะเริ่มสลายตัว หรือเกิด polymerization ทำให้ค่าที่วัดได้มีค่าลดลง ทั้งที่กระบวนการออกซิเดชันยังเกิดอยู่ และน้ำมันเสื่อมเสียไปแล้ว ด้วยเหตุนี้จึงต้องติดตามการสลายตัวของทั้ง primary product และ secondary product ของการเกิดออกซิเดชัน จึงจะสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพของน้ำมันได้ (นิธิยา รัตนานนท์, 2548)

ค่าพาราแอนนิซิติน ของน้ำมันทั้ง 2 วิธี มีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย ซึ่งค่าพาราแอนนิซิติน เป็นการวัดผลิตภัณฑ์ขั้นที่สอง (secondary product) ของการเกิดออกซิเดชัน โดยที่สารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่ไม่เสถียรเกิดการแตกตัวและเปลี่ยนโครงสร้างเป็นสารโมเลกุลเล็ก ได้แก่ แอลดีไฮด์ คีโตน แอลกอฮอล์ กรด และไฮโดรคาร์บอน สารเหล่านี้จะไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ซึ่งจะอันตรายต่อสุขภาพทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้ โดยร้อยละ 50 ของสารประกอบ แอลดีไฮด์เป็นสารที่ระเหยได้ (volatile. เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่นอญ่าตเ็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

compounds) จึงส่งผลให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ (off-flavoured oil) หรือเกิดการหืนแบบ oxidative rancidity ในการวัดค่าพาราแอนนิซิดีนจะเป็นการหาปริมาณสารแอลดีไฮด์ในส่วนที่เป็น non volatile โดยการให้แอลดีไฮด์ทำปฏิกิริยากับสาร *p*-anisidine แอลดีไฮด์หลักที่ตรวจวัด คือ 2-alkenals โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ 350 นาโนเมตร ซึ่งน้ำมันที่มี กรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลมาก จะมีแนวโน้มในการเกิดออกซิเดชันได้มากกว่า ส่งผลให้มีค่าพาราแอนนิซิดีนสูง (สุนิสา วิชาเชิดชู, 2553) นอกจากนี้ ยังสามารถหาค่าการเกิดออกซิเดชันทั้งหมด (Total oxidation (TOTOX value); TV) ได้จากสมการ  $TV = 2PV + p-AV$  โดย  $PV =$  peroxide value และ  $p-AV =$  para-anisidine value จากสมการพบว่าค่า TV จะขึ้นอยู่กับค่าเพอร์ออกไซด์และค่าพาราแอนนิซิดีน เมื่อนำมาคำนวณแล้วพบว่าการสกัดทั้งสองวิธีให้ค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

ค่าไอโอดีนของน้ำมันทั้ง 2 วิธี (114.17-114.76 กรัมของไอโอดีนต่อน้ำมัน 100 กรัม) แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) สอดคล้องกับรายงานของจิระวัฒน์ เอี่ยมวัฒน์ และคณะ (2557) ซึ่งค่าไอโอดีนของน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ( $SC-CO_2$ ) เท่ากับ 112.41 กรัมของไอโอดีนต่อน้ำมัน 100 กรัม ค่าไอโอดีนเป็นตัวบ่งชี้ว่าน้ำมันมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวหรือจำนวนพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของไตรเอซิลกลีเซอรอลที่ผสมรวมกันอยู่ในน้ำมัน ถ้าค่าไอโอดีนสูงแสดงว่ามีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบมากและจะเกิดการหืนเนื่องจาก oxidative stability ได้ง่าย

ส่วนค่าสaponification พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี ME และ UAE เท่ากับ 202.62 และ 212.73 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อน้ำมัน 1 กรัม ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างกันในเชิงคุณภาพมากนัก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Akhter และคณะ (2006) น้ำมันจากเมล็ดองุ่น 6 สายพันธุ์ ได้จากการสกัดโดยการเขย่าที่อุณหภูมิห้อง ค่าสaponification อยู่ในช่วง 188.24-210.00 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อน้ำมัน 1 กรัม แสดงให้เห็นว่ากรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันเมล็ดองุ่นมีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกัน ซึ่งค่าสaponification เป็นตัวบ่งชี้ขนาดของโมเลกุลหรือน้ำหนักโมเลกุลของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในไตรเอซิลกลีเซอรอลในน้ำมัน ซึ่งงานวิจัยของ Abdulkarim และคณะ (2005) รายงานว่า วิธีการสกัดน้ำมันเมล็ดมะยมด้วยเอนไซม์และการสกัดด้วยวิธีการใช้ ตัวทำละลายอินทรีย์ไม่มีความแตกต่างกัน หรืออาจกล่าวได้ว่าวิธีการสกัดที่แตกต่างกันไม่มีผลต่อค่าสaponification

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) กล่าวคือ สารประกอบฟีนอลิกอาจจะรวมถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด (antioxidant activity) สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติซึ่งพบในน้ำมันที่สกัดจากเมล็ดองุ่น สารเหล่านี้จะเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ เพราะจะช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชัน (autoxidation) ของน้ำมันที่ระดับเซลล์ และต้านระดับออกซิเจนได้ (Aguilera และคณะ, 2005) พบว่า การสกัดด้วยวิธี ME พบสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าวิธี UAE เนื่องจากการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่สามารถชะล้างสารสำคัญออกมาได้มากขึ้น และความได้เปรียบของอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดด้วยวิธีการสกัด UAE มีความร้อนจากเครื่องอัลตราโซนิกเข้ามาเกี่ยวข้องในการสกัด อุณหภูมิประมาณ 60-70 องศาเซลเซียส ในการสกัดซึ่งสารประกอบดังกล่าวอาจจะถูกทำลายโดยความร้อน สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบตามธรรมชาติมีหลายประเภท มีลักษณะและสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันไป สมบัติทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิก คือ ละลายในน้ำได้เล็กน้อย สามารถละลายได้ดีในสารละลายอินทรีย์ โดยทั่วไปสารประกอบฟีนอลิกถูกแบ่งกว้าง ๆ ได้ 5 ประเภท ได้แก่ กรดฟีนอลิก (phenolic acids) สารประกอบจำพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoid) สติลเบนส์ (stilbens)

แยกสารเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวสำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คูมารินส์ (coumarins) แทนนินส์ (tannins) สารประกอบฟีนอลิกมีสูตรโครงสร้างทางเคมี เป็นวงแหวนที่เป็นอนุพันธ์ของเบนซีน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่อสารฟีนอลิกพื้นฐาน คือ สารฟีนอล (phenol) ประกอบด้วยวงแหวนเบนซีน 1 วง และหมู่ ไฮดรอกซิล 1 หมู่ อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดนี้ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นสารประกอบกลุ่มใด พบว่าน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธี ME และ UAE มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 107.57 และ 94.35 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิลิตรของน้ำมัน ตามลำดับ

ดังนั้นจากการวิเคราะห์น้ำมัน พบว่าวิธีการสกัดน้ำมันทั้งสองวิธี ให้ผลของสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมัน ไม่แตกต่างกันเชิงคุณภาพมากนัก หรืออาจกล่าวได้ว่าวิธีการสกัด ไม่มีผลต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันเมล็ดองุ่น

ตารางที่ 4.9 สมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธีต่าง ๆ

สมบัติทางเคมีกายภาพ	วิธีการสกัด	
	ME	UAE
สี: ค่าความสว่าง (L)	28.02 ± 0.01 <sup>a</sup>	27.04 ± 0.02 <sup>b</sup>
ค่าสีแดง (a*)	8.12 ± 0.01 <sup>a</sup>	8.42 ± 0.03 <sup>b</sup>
ค่าสีเหลือง (b*)	48.30 ± 0.02 <sup>a</sup>	46.62 ± 0.04 <sup>b</sup>
ค่า Chroma (C°)	48.98 ± 0.02 <sup>a</sup>	47.38 ± 0.02 <sup>b</sup>
ค่า Hue (°h)	80.46 ± 0.00 <sup>a</sup>	79.53 ± 0.36 <sup>b</sup>
ความหนืด (cP)	26.13 ± 0.29 <sup>a</sup>	29.67 ± 0.06 <sup>b</sup>
ค่าความเป็นกรด (mg KOH/ g oil)	1.34 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.19 ± 0.00 <sup>b</sup>
ค่ากรดไขมันอิสระ (as % oleic acid)	0.67 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.60 ± 0.00 <sup>b</sup>
ค่าเปอร์ออกไซด์ (meq O <sub>2</sub> / kg oil) <sup>ns</sup>	2.66 ± 1.15	2.66 ± 1.15
ค่าพาราแอนนิซิดิน	1.64 ± 0.12 <sup>a</sup>	1.39 ± 0.04 <sup>b</sup>
ค่าการเกิดออกซิเดชันทั้งหมด (ค่า TOTOX) <sup>ns</sup>	6.96 ± 2.25	6.71 ± 2.29
ค่าไอโอดีน (g I <sub>2</sub> / 100 g oil) <sup>ns</sup>	114.17 ± 0.71	114.76 ± 0.63
ค่าสaponifiเคชัน (mg KOH/ g oil)	202.62 ± 0.19 <sup>a</sup>	212.73 ± 0.62 <sup>b</sup>
ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (µg GAE/ ml oil)	108.00 ± 4.08 <sup>a</sup>	94.35 ± 3.03 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันในแนวอนเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

#### 4.7 สมบัติความคงตัวของน้ำมันของน้ำมันเมล็ดองุ่น

สมบัติความคงตัวของน้ำมัน เป็นการวิเคราะห์ค่าระยะเวลาความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชันโดยเครื่อง Rancimat method จะใช้หลักการพ่นอากาศในตัวอย่งน้ำมันอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส วัดค่าดัชนีความเสถียร (Oil stability index : OSI) เป็นค่า induction time มีหน่วยเป็นชั่วโมง

หลักการทำงานของเครื่อง Rancimat เริ่มจากน้ำมันได้รับความร้อนและออกซิเจนที่เพียงพอ ในระยะเวลาหนึ่งจะเกิดการออกซิเดชันที่ระเหยได้ที่สำคัญ คือ กรดฟอร์มิก ซึ่งเป็นอนุพันธ์ตัวที่สองที่ได้จากเอกลสารนี้เป็นเอกลสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสลายตัวของแอลดีไฮด์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมัน อากาศจะเป็นตัวพาสารระเหยเหล่านี้ผ่านไปในน้ำปราศจากไอออน (deionized water) โดยที่ค่าการนำไฟฟ้าของน้ำ deionized จะถูกวัดด้วยมาตรวัด electrode ตลอดช่วงระยะเวลาการวิเคราะห์ และบันทึกค่าที่ได้ออกมาเป็นกราฟ ในช่วงแรกกราฟจะมีลักษณะเป็นเส้นขนานกับแนวแกนระนาบซึ่งเป็นแกนของเวลา เมื่อสารระเหยละลายอยู่ในน้ำมากขึ้น ค่าการนำไฟฟ้าก็จะเพิ่มขึ้น จากนั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงเส้นกราฟที่ชันขึ้น โดยจุดที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสูงสุดของอัตราการเกิดออกซิเดชัน วัดได้จากการเปลี่ยนแปลงความชันของกราฟได้ค่าระยะเวลา (ชั่วโมง) ในการเหนี่ยวนำให้เกิดการหืนของน้ำมัน (induction time) ซึ่งประโยชน์ของการวิเคราะห์ความคงตัวของน้ำมัน คือ ใช้ในการประเมินอายุการเก็บรักษาของน้ำมัน และสามารถประยุกต์ใช้เครื่อง Rancimat ในการหาค่าดัชนี การป้องกันการหืนของสารต้านออกซิเดชันได้จากอัตราส่วนระหว่าง Induction time ของน้ำมันที่เติมสารต้านออกซิเดชันและ Induction time ของน้ำมันชนิดเดียวกันที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชัน

ผลของน้ำมันเมล็ดองุ่นในการวิเคราะห์ค่าระยะเวลาความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชันด้วยวิธี Rancimat method พบว่า มีความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) โดยมีระยะเวลาในการเกิดการหืนของน้ำมัน (oxidative stability index (OSI) value) 2.31 และ 2.55 ชั่วโมง สำหรับน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี ME และ UAE ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากน้ำมันเมล็ดองุ่นอุดมไปด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงถึงร้อยละ 87 ซึ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดออกซิเดชัน โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (Polyunsaturated fatty acid) จึงส่งผลให้ระยะเวลาในการเกิดออกซิเดชันค่อนข้างเร็ว สอดคล้องกับงานวิจัยของ Assumpção และคณะ (2014) ที่ได้ศึกษาความคงตัวของน้ำมันเมล็ดองุ่นบริสุทธิ์ (virgin grape seed oil) และน้ำมันเมล็ดองุ่นที่ผ่านกรรมวิธี (refined grape seed oil) โดยเลือกใช้สภาวะในการควบคุมต่างกัน และสภาวะที่ใช้ใกล้เคียงกับงานวิจัยนี้ คือ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส และอัตราการให้อากาศ 20 ลิตรต่อชั่วโมง และ 8 ลิตรต่อชั่วโมง พบว่าการทดลองทั้งสองสภาวะของน้ำมันเมล็ดองุ่นทั้ง 2 ชนิด ให้ค่า OSI ไม่แตกต่างกัน โดยมีค่า OSI อยู่ในช่วง 2.28-2.94 ชั่วโมง

#### ตารางที่ 4.10 ความคงตัวของน้ำมันเมล็ดองุ่น

วิธีการสกัด	ความคงตัวของน้ำมัน (ชั่วโมง) <sup>ns</sup>
ME	2.31 ± 0.09
UAE	2.55 ± 0.16

<sup>ns</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

#### 4.8 สมบัติทางความร้อนของน้ำมันเมล็ดองุ่น

DSC เป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในการวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนสำหรับน้ำมันและไขมัน เทคนิคนี้ใช้ในการศึกษาปรากฏการณ์ที่เกี่ยวข้องกับความร้อนในวัตถุ โดยการวัดการเปลี่ยนแปลงของค่าเอนทัลปี (enthalpy) ปัจจุบัน DSC ได้ถูกนำมาใช้วัดค่าพลังงานร่วมกับการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของสาร ซึ่งข้อมูลจาก DSC ของน้ำมันและไขมันจะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์สำหรับอุณหภูมิของการหลอมเหลวและการตกผลึก (O'Brien, 2008)

ผลของสมบัติทางความร้อนของน้ำมันเมล็ดองุ่น ตรวจสอบด้วยวิธี Differential calorimetry scanning (DSC) ศึกษาในช่วงอุณหภูมิ -85 ถึง 85 องศาเซลเซียส (5 องศาเซลเซียสต่อนาที)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเทคนิคการวิเคราะห์เชิงความร้อนที่สะดวกและรวดเร็ว ซึ่งนำมาใช้ในการกำหนดหาลักษณะอุณหภูมิของน้ำมันในขณะเกิดการเปลี่ยนสถานะ การเปลี่ยนสถานะที่อุณหภูมิสูงสุด คือ การเปลี่ยนสถานะจากของแข็งเป็นของเหลว ซึ่งสัมพันธ์กับการหลอมเหลวโดยสมบูรณ์ การเปลี่ยนสถานะนี้ช่วยเป็นแนวทางในการเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมในการใช้งานและการเก็บรักษา การเปลี่ยนสถานะจากของแข็งเป็นของเหลว ผลการศึกษาสมบัติทางความร้อนของน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธีที่แตกต่าง ดังตารางที่ 4.11 พบว่าการเกิดจุดหลอมเหลว ซึ่งเป็นลักษณะของการดูดพลังงาน (endothermic) โดยจุดเริ่มต้นการเกิดจุดหลอมเหลว (onset temperature;  $T_{OM}$ ) มีค่า  $-36.52$  และ  $-35.77$  องศาเซลเซียส ของวิธีการสกัด ME และ UAE ตามลำดับ ขณะที่ค่าอุณหภูมิที่เกิดการหลอมเหลวสูงสุด (peak temperature;  $T_{PM}$ ) พบในวิธี ME ที่อุณหภูมิ  $-30.64$  องศาเซลเซียส และวิธี UAE  $-30.15$  องศาเซลเซียส ค่าอุณหภูมิสุดท้ายที่เกิดจุดหลอมเหลว (offset temperature;  $T_{OM}$ ) ของวิธี ME อยู่ที่อุณหภูมิ  $-24.14$  องศาเซลเซียส และวิธี UAE ที่อุณหภูมิ  $-23.90$  องศาเซลเซียส (ภาพที่ 4.3) ส่วนจุดเริ่มต้นของการเกิดผลึก ( $T_{OC}$ ) ที่อุณหภูมิ  $-54.81$  และ  $-52.09$  องศาเซลเซียส ของวิธีการสกัด ME และ UAE ตามลำดับ และลักษณะการคายพลังงาน (exothermic) ของการตกผลึก (ภาพที่ 4.3) ของน้ำมันที่สกัดได้จากวิธีการที่แตกต่างกัน โดยที่การตกผลึกของน้ำมันเมล็ดองุ่นเกิดผลึกสุดท้ายสูงที่สุด ( $T_{PC}$ ) ที่อุณหภูมิ  $-65.28$  และ  $-64.89$  องศาเซลเซียส ของวิธีการสกัด ME และ UAE ตามลำดับ (ภาพที่ 4.3) ซึ่งค่าอุณหภูมิต่าง ๆ ในการวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วย DSC ทั้งการเกิดจุดหลอมเหลวและการตกผลึก พบว่ากราฟที่ได้ของน้ำมันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) และมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันทั้งของวิธี ME และ UAE

Tan และ Che Man (2002) รายงานว่าน้ำมันที่มีกรดไขมันอิ่มตัวสูง (high degree of saturated) หรือน้ำมันที่มีค่าไอโอดีนมากกว่า 65 จะแสดงลักษณะของการหลอมเหลว และการตกผลึกที่อุณหภูมิสูงกว่าน้ำมันที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (high degree of unsaturation) หรือมีค่าไอโอดีนมากกว่า 65 โดยใน 1 กราฟจะสามารถเกิด peak ได้มากกว่า 1 peak ซึ่งจำนวนของ peak จะแสดงถึงชนิดของไตรเอซิลกลีเซอรอล (TGA) ที่เป็นส่วนประกอบในน้ำมันชนิดนั้น เช่น น้ำมันเมล็ดองุ่น การตกผลึกจะมี 3 peak เกิดขึ้น สอดคล้องกับภาพที่ 4.3 และ peak คายพลังงานที่ต่ำที่สุด (เกิดผลึกสุดท้าย) จะแหลมและสูงกว่าอีก 2 peak แรก ซึ่งในการศึกษานี้ได้เปรียบเทียบน้ำมันบริโภคหลายชนิด พบว่ากราฟและอุณหภูมิใน DSC สามารถบ่งบอกชนิดของน้ำมันได้

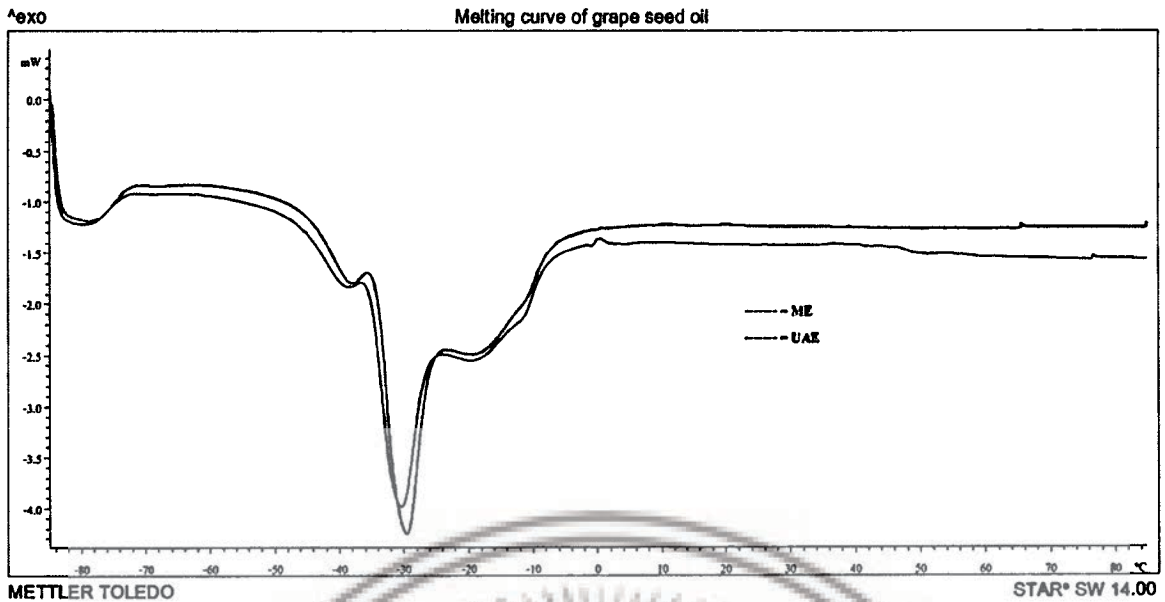
ตารางที่ 4.11 สมบัติทางความร้อนการเกิดจุดหลอมเหลว (melting) และการตกผลึก (crystalization) ของน้ำมันเมล็ดองุ่น

กราฟ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	วิธีการสกัด	
		ME	UAE
Melting (M)	$T_{OM}^{ns}$	$-36.52 \pm 0.60$	$-35.77 \pm 1.08$
	$T_{PM}^{ns}$	$-30.64 \pm 0.22$	$-30.15 \pm 0.64$
	$T_{FM}^{ns}$	$-24.14 \pm 0.50$	$-23.90 \pm 0.75$
Crystalization (C)	$T_{OC}^{ns}$	$-54.81 \pm 0.66$	$-54.09 \pm 0.21$
	$T_{PC}^{ns}$	$-65.28 \pm 0.42$	$-64.89 \pm 0.39$
	$T_{FC}^{ns}$	$-73.50 \pm 0.25$	$-73.41 \pm 0.29$

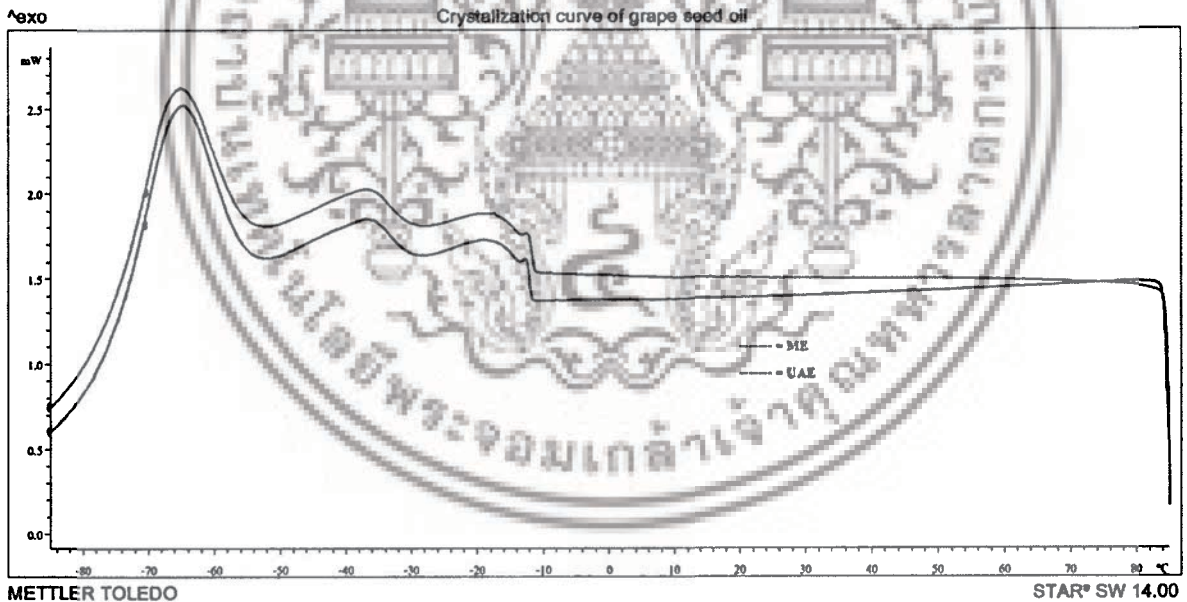
หมายเหตุ  $T_O$  = onset temp.,  $T_P$  = peak temp.,  $T_F$  = offset temp

<sup>ns</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 เทอร์โมแกรมสมบัติทางความร้อนการเกิดจุดหลอมเหลวของน้ำมันเมล็ดองุ่น



ภาพที่ 4.5 เทอร์โมแกรมสมบัติทางความร้อนการตกผลึกของน้ำมันเมล็ดองุ่น

#### 4.9 ปริมาณวิตามินอี (โทโคฟีรอลและโทโคไตรอีนอล) ในน้ำมันเมล็ดองุ่น

โทโคฟีรอล (tocopherol) และ โทโคไตรอีนอล (tocotrienol) เป็นไวดาเมอร์ของวิตามินอี ดังนั้นสารทั้งสองกลุ่มนี้ถูกเรียกรวม ๆ ว่า “วิตามินอี” หรือ “โทคอลส์ (Tocols)” ซึ่งเป็นวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน คุณสมบัติเป็นสารสีเหลืองอ่อน ข้นหนืด เหนียวเหมือนน้ำมัน ไม่ละลายน้ำ แต่จะละลายในไขมันและเอกซาร์นเป็นเอกซาร์นที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวทำละลายไขมัน ค่อนข้างทนต่อความร้อน สามารถทนต่อความร้อน ได้สูงถึง 200 องศาเซลเซียส ทนต่อกรด ไม่ทนต่อด่าง แสงแดด และออกซิเจน จึงถูกออกซิไดส์ได้ง่ายถ้าสัมผัสกับอากาศ และจะถูกออกซิไดซ์อย่างรวดเร็วถ้าวิตามินละลายในไขมันที่เหม็นหืน (rancidity) หรือมีโลหะ เช่น เหล็ก ทองแดงอยู่ด้วย ทั้งโทโคฟีรอลและโทโคไตรอินอล แบ่งเป็น 4 รูป (ไอโซเมอร์) ได้แก่ แอลฟา ( $\alpha$ ) เบตา ( $\beta$ ) แกมมา ( $\gamma$ ) และ เดลตา ( $\delta$ ) ซึ่งแอลฟา-โทโคฟีรอลมีกิจกรรมวิตามินอี และมีบทบาทสำคัญในขบวนการเมตาบอลิซึมในร่างกายของมนุษย์มากที่สุด (อนุชิตา มุ่งงาม, 2555) โดยโทโคฟีรอลเหล่านี้มี vitamin E activity ลดลงจากแอลฟา  $\rightarrow$  เดลตา แต่มี antioxidant activity เพิ่มขึ้นจาก แอลฟา  $\rightarrow$  เดลตา โทโคฟีรอลทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชันตามธรรมชาติให้กับสิ่งมีชีวิตในเซลล์และเนื้อเยื่อของพืชและสัตว์ ปริมาณโทโคฟีรอลที่เหลืออยู่ในน้ำมันพืชภายหลังที่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ จะทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชันให้แก่ น้ำมัน (นิธิยา รัตนานนท์, 2548)

โทโคไตรอินอลบางไอโซเมอร์สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันและมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าโทโคฟีรอล เพราะนอกจากจะสามารถให้ไฮโดรเจนแก่หมู่ไฮดรอกซิลได้ดีกว่าแล้ว ยังมีความสามารถในการจับอนุมูลอิสระได้มากกว่าแอลฟา-โทโคฟีรอลถึงสามเท่า (Packer, 1995) และมีความคงตัวในอุณหภูมิสูงได้ดีกว่าโทโคฟีรอล นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในร่างกายได้

Feng และคณะ (1996) ทำการทดลองในน้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ พบว่า แกมมา-โทโคไตรอินอล มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ตามด้วย แกมมา-โทโคฟีรอล, แอลฟา-โทโคฟีรอล และแอลฟา-โทโคไตรอินอล

ผลของโทโคฟีรอลและโทโคไตรอินอลในน้ำมันเมล็ดถั่ว แสดงในตารางที่ 4.12 โดยการศึกษาพบกลุ่มโทโคฟีรอลมากกว่ากลุ่มโทโคไตรอินอล ซึ่งกลุ่มโทโคไตรอินอลนี้พบรูปเดลตา ( $\delta$ -tocotrienol) มากที่สุด คือ 21.65-25.80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำมัน รองลงมา คือ รูปแอลฟา ( $\alpha$ ) (12.90-9.12 มิลลิกรัมต่อน้ำมัน 1 กิโลกรัม) ไม่พบรูปเบตา ( $\beta$ ) และแกมมา ( $\gamma$ ) ส่วนปริมาณโทโคฟีรอลที่พบมีทั้งหมด 3 รูป คือ  $\alpha$ ,  $\beta$  และ  $\delta$  โดยพบรูปแอลฟา ( $\alpha$ -tocopherol) มากที่สุด มีปริมาณสูงถึง 102.50-105.95 มิลลิกรัมต่อน้ำมัน 1 กิโลกรัม ไม่พบรูป  $\gamma$  ปริมาณ วิตามินอีหรือโทคอลล์ของน้ำมันที่ได้จากการสกัดทั้ง 2 วิธีให้ปริมาณแตกต่างกันเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเป็นการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและเป็นน้ำมันที่ไม่ผ่านกระบวนการกำจัดกัมเช่นเดียวกัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gliszczynska-Swigio (2007) ที่ศึกษาปริมาณโทโคฟีรอล ในน้ำมันพืช พบว่าน้ำมันเมล็ดถั่วที่ผ่านกรรมวิธี (refined) มีปริมาณโทโคฟีรอลทั้งหมด 121 มิลลิกรัมต่อน้ำมัน 1 กิโลกรัม โดยพบในรูป  $\alpha$  มากที่สุด คือ 103 มิลลิกรัมต่อน้ำมัน 1 กิโลกรัม นอกจากนี้ยังเปรียบเทียบกับน้ำมันชนิดอื่น ๆ เช่น น้ำมันเมล็ดทานตะวันที่สกัดโดยการบีบเย็นเปรียบเทียบกับน้ำมันที่ผ่านกรรมวิธี พบว่าให้ค่าไม่แตกต่างกันมากนัก กล่าวคือ โทโคฟีรอลจากธรรมชาติในน้ำมันผ่านกรรมวิธียังคงอยู่ในระดับที่เห็นได้ชัด เนื่องจากโทโคฟีรอลมีความคงทนต่อความร้อนสูงซึ่งโดยทั่วไปแล้วโทโคฟีรอลมักจะสูญเสียในระหว่างขั้นตอนกำจัดกลิ่น (deodorization) และขั้นตอนการกลั่น (distillation) ในกระบวนการผลิตน้ำมัน และจากงานวิจัยของประทุมพร ชาตไทย (2557) ซึ่งเปรียบเทียบปริมาณโทโคฟีรอลและโทโคไตรอินอลของน้ำมันเมล็ดมะรุมที่สกัดด้วยวิธีการแตกต่างกันได้ รายงานว่า การสกัดด้วยวิธีการบีบเย็นด้วยเครื่องบีบอัดแบบสกรู (CSP) มีค่าสูงที่สุด สูงกว่าวิธี Soxhlet (SE) และวิธีแช่ (CSE) ซึ่งทั้งสองวิธีนี้ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดและผ่านการกำจัดกัม จึงสามารถละลายสารกลุ่มโทคอลล์ออกไปด้วย และพบว่ากระบวนการกำจัดกัมของน้ำมันมีส่วนทำให้ปริมาณโทคอลล์ลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 ปริมาณวิตามินอี (โทโคฟีรอลและโทโคไตรอีนอล) ในน้ำมันเมล็ดองุ่น

รูปของวิตามินอี (ไอโซเมอร์)	ปริมาณวิตามินอี (มิลลิกรัมต่อน้ำมัน 1 กิโลกรัม)	
	วิธีการสกัด	
	ME	UAE
กลุ่ม Tocopherols		
- แอลฟา ( $\alpha$ ) <sup>ns</sup>	105.95 ± 8.98	102.50 ± 2.26
- เบตา ( $\beta$ ) <sup>ns</sup>	20.60 ± 6.79	21.00 ± 2.97
- แกมมา ( $\gamma$ )	nd	nd
- เดลตา ( $\delta$ )	4.80 ± 0.14 <sup>a</sup>	7.65 ± 4.03 <sup>b</sup>
กลุ่ม Tocotrienols		
- แอลฟา ( $\alpha$ )	12.90 ± 9.12 <sup>a</sup>	13.50 ± 1.27 <sup>b</sup>
- เบตา ( $\beta$ )	nd	nd
- แกมมา ( $\gamma$ )	nd	nd
- เดลตา ( $\delta$ ) <sup>ns</sup>	21.65 ± 0.35	25.80 ± 3.82
รวม (Tocols)	165.95 ± 2.76 <sup>a</sup>	170.45 ± 9.83 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันในแนวนอนเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างไม่เป็นนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

nd หมายถึง ตรวจไม่พบ (not detected)

#### 4.10 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันเมล็ดองุ่น

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) ของน้ำมันเมล็ดองุ่น (ตารางที่ 4.13) พบว่าการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่นด้วยวิธี ME และ UAE มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ทั้งการวิเคราะห์โดยวิธี DPPH radical scavenging assay และวิธี ABTS radical cation decolorization assay โดยน้ำมันเมล็ดองุ่นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ในช่วง 25.97-27.49 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอคซ์ต่อน้ำมัน 100 กรัม และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS อยู่ในช่วง 284.17-296.80 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอคซ์ต่อ 100-กรัมน้ำมัน พบว่าน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี ME มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี UAE เล็กน้อย แต่ให้ผลแตกต่างกันอย่างไม่เป็นนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เนื่องจากการสกัดด้วยวิธี UAE มีความร้อนที่เกิดจากเครื่องอัลตราโซนิกพร้อมด้วย อุณหภูมิในการสกัดประมาณ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจจะส่งผลกระทบต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ทำให้มีการสูญเสียปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ หรือสารประกอบฟีนอลิก และส่งผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ ทั้งนี้ผลของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS เป็นไปในทิศทางเดียวกัน และสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันเมล็ดองุ่น

วิธีวิเคราะห์	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ไมโครโมลสมมูลของโทรลอกซ์ต่อน้ำมัน 100 กรัม)	
	วิธีการสกัด	
	ME	UAE
DPPH <sup>ns</sup>	27.49 ± 1.04	25.98 ± 0.44
ABTS <sup>ns</sup>	296.80 ± 1.23	284.17 ± 6.11

<sup>ns</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

5.1 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่น ได้แก่ ระยะเวลาในการสกัด และอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดด้วยวิธีการแช่ (ME) และการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด (UAE) พบว่า

5.1.1 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดด้วยวิธี ME คือ ที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่นเท่ากับ 6 ต่อ 1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ใช้เวลาในการสกัด 30 นาที ให้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 11.13 โดยน้ำหนักแห้ง

5.1.2 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธี UAE คือ ที่ความถี่ 20 กิโลเฮิรตซ์ กำลังไฟฟ้า 750 วัตต์ ค่าแอมพลิจูดร้อยละ 80 โดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่นเท่ากับ 2 ต่อ 1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก และใช้คลื่นเสียงความถี่สูงสกัดตลอดระยะเวลา 15 นาที ให้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 11.42 โดยน้ำหนักแห้ง

โดยการสกัดทั้งสองวิธีมีความสามารถในการสกัดได้ประมาณร้อยละ 80 ของปริมาณน้ำมันทั้งหมด

5.2 การเปรียบเทียบผลของวิธีการสกัดที่มีต่อคุณภาพของน้ำมันเมล็ดองุ่น พบว่า

5.2.1 องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันเมล็ดองุ่นที่ได้จากการสกัดทั้งสองวิธี มีชนิดของกรดไขมันและปริมาณใกล้เคียงกัน มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งหมดสูงถึงร้อยละ 87 โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (PUFA) และมีกรดไลโนเลอิก (C18:2) เป็นกรดไขมันหลักที่โดดเด่น มีปริมาณสูงถึงร้อยละ 67

5.2.2 น้ำมันที่ได้จากการสกัดทั้งสองวิธี มีค่าสี ค่าความหนืด ค่าเพอร์ออกไซด์ ค่าไอโอดีน และค่าสปอนนิฟิเคชัน อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานน้ำมันบริโภค แต่ยังมีค่าความเป็นกรดและค่ากรดไขมันอิสระสูงเกินมาตรฐาน เนื่องจากน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดในการศึกษานี้เป็นน้ำมันดิบ (crude oil หรือ unrefined oil) จึงต้องผ่านการทำให้บริสุทธิ์โดยการทำให้เป็นกลางด้วยด่างก่อนจะนำไปบริโภค และพบว่าน้ำมันที่สกัดทั้งสองวิธีมีค่าเหล่านี้แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย

5.2.3 การศึกษาสมบัติทางความร้อน พบจุดหลอมเหลวและอุณหภูมิในการตกผลึกของน้ำมันทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีจุดหลอมเหลวประมาณ -30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิเริ่มต้นการตกผลึกประมาณ -54 องศาเซลเซียส

5.2.4 ปริมาณวิตามินอีของน้ำมันที่ได้จากการสกัดทั้งสองวิธี ให้ค่าไม่แตกต่างกันมาก โดยพบรูปแอลฟา-โทโคฟีรอลมากที่สุด

5.2.5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS เป็นไปในทิศทางเดียวกัน และสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัดเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่น โดยจะช่วยลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายได้ถึง 3 เท่า และลดระยะเวลาในการสกัดได้ถึง 2 เท่าของวิธีการ แช่ และให้ผลทางสมบัติเคมีและกายภาพของน้ำมันไม่แตกต่างจากวิธีการแช่ ดังนั้นการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง หรือคลื่นอัลตราโซนิกจึงเป็นอีกหนึ่งเทคโนโลยีทางเลือกสำหรับกระบวนการสกัดน้ำมัน แต่ทั้งนี้การเลือกใช้วิธีการสกัดยังต้องคำนึงปัจจัยอื่น ๆ อีกด้วย เช่น ต้นทุนการผลิต และความเหมาะสมต่อการใช้งาน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 6

### สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย

#### 6.1 ผลผลิตประเภทกระบวนการใหม่ ระดับห้องปฏิบัติการ จำนวน 1 กระบวนการ

ในด้านกระบวนการผลิตน้ำมันเมล็ดองุ่นด้วยคลื่นเสียงอัลตราโซนิก ได้สถานะที่เหมาะสมของกระบวนการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่นวิธี UAE คือ ที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ กำลังไฟฟ้า 750 วัตต์ ค่าแอมพลิจูดร้อยละ 80 โดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่นเท่ากับ 2 ต่อ 1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก และใช้คลื่นเสียงความถี่สูงสกัดตลอดระยะเวลา 15 นาที ให้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 11.42 โดยน้ำหนักแห้ง โดยการสกัดสามารถในการสกัดได้ประมาณร้อยละ 80 ของปริมาณน้ำมันทั้งหมด ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพกว่าการสกัดแบบดั้งเดิมคือการแช่ โดยจะช่วยลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายได้ถึง 3 เท่า และลดระยะเวลาในการสกัดได้ถึง 2 เท่าของวิธีการแช่ และให้ผลทางสมบัติเคมีและกายภาพของน้ำมันไม่แตกต่างจากวิธีการแช่

#### 6.2 ผลผลิตประเภทบทความทางวิชาการ วารสารระดับชาติ TCI (เฉพาะกลุ่ม 1) จำนวน 1 เรื่อง

วรัญญา วงศ์วานิช และ กิตติชัย บรรจง, 2559. ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่นด้วยวิธีการแช่และการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 34(3): 9-21.

#### 6.3 ผลผลิตประเภทการพัฒนากำลังคน น.ศ. ระดับปริญญาโท จำนวน 1 คน

วรัญญา วงศ์วานิช สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บรรณานุกรม

- กระทรวงสาธารณสุข. 2543. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับ 205 พ.ศ.2543 เรื่อง น้ำมันและไขมัน.  
จิระวัฒน์ เอี่ยมวัฒน์, ปารมี เพ็งปรีชา, ภัทรนันท์ กมลนันท์ และกนกวรรณ ไพรพนาพงศ์. 2557.  
การสกัดและลักษณะน้ำมันจากเมล็ดองุ่นไทยที่สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือสภาวะวิกฤต.  
วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 45(2)(พิเศษ) : 157-160.
- ชุตินา วันเพ็ญ, บุชราภรณ์ งามปัญญา, พิมพ์ชนก จตุรพิริย์ และปราโมทย์ คูวิจิตรจากรุ. 2556.  
ผลของการพรีทรีตเมนต์ด้วยอัลตราซาวด์ต่อการสกัดอินนูลินจากหัวแก่นตะวัน. วารสารวิจัยและ  
พัฒนา มจร. 36 : 249-258.
- นิธิยา รัตนาปนนท์. 2548. วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- นิธิยา รัตนาปนนท์. 2553. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- ประทุมพร ชาตไทย. 2557. “ลักษณะของน้ำมันเมล็ดมะรุมสกัดด้วยวิธีแตกต่าง.” วิทยานิพนธ์วิทยา  
ศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร, สถาบันเทคโนโลยี  
พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ปิ่นฉัตร ภัทรสถาพรกุล. 2551. หลักการโดยทั่วไปของการสกัด [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก :  
<http://203.158.184.2/elearning/AgriProEn2/unit1304.htm>. (เข้าถึงเมื่อ 2 พฤษภาคม  
2557).
- พงษ์ศิริ วินิจฉัย และวารุณี ธนะแพสย์. 2550. “การศึกษาวิธีการสกัดและการวิเคราะห์หาองค์ประกอบ  
ทางเคมีในน้ำมันเมล็ดเสาวรส.” หน้า 664-672. ใน การประชุมทางวิชาการของ  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม. 2549. การสกัดสารโพแอนโธไซยานินสีจากเมล็ดองุ่นด้วยคาร์บอนไดออกไซด์  
วิกฤตยิ่งยวด. วิศวกรรมสาร มช. 33 : 431-442.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2533. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันและไขมัน  
สำหรับบริโภค. มอก.47-2533.
- สุนิสา วิษาเชิดชู. 2553. ปัจจัยบางประการที่มีผลต่อคุณภาพน้ำมันทอดไก่. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร  
มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์,  
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สุเมธ บุญเกิด. 2555. การใช้อัลตราซาวด์ในการช่วยสกัดพืชสมุนไพร [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก :  
<https://www.gpo.or.th/rdi/html/Ultrasound.html>. (เข้าถึงเมื่อ 4 พฤษภาคม 2557).
- อนุชิต มุ่งงาม. 2555. แอนติออกซิแดนท์ในธัญพืช. มหาสารคาม : มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Abdullah, M., and A.B. Koc. 2013. Kinetic of ultrasound-assisted oil extraction from black seed (*Nigella Sativa*). *J Food Process Preserv.* 37 : 814-823.
- Akhter, H., Hamid, S. and Bashir, R., 2006, Variation in lipid composition and physico-chemical constituent among six cultivars of grape seeds. *J Chem Soc Pakistan.* 28(1) : 97-100.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists' Society 17<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington, Virginia.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists' Society 18<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington, Virginia.
- AOAC. 2011. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists' Society 19<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington, Virginia.
- AOCS. 1997. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society 5<sup>th</sup> ed. Champaign Illinois, USA.
- AOCS. 2009. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society 6<sup>th</sup> ed. Champaign Illinois, USA.
- Assumpção, C.F., I.L. Nunes, T.A. Mendonça, A. Jablonski, S.H. Flôres, and d.A.O. Rios. 2014. The Quality, Stability, and Bioactive Compound Composition of Virgin and Refined Organic Grape Seed Oil. *J Am Oil Chem Soc.* 91 : 2035-2042.
- Bail, S., G. Stuebiger, S. Krist, H. Unterweger, and G. Buchbauer. 2008. Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. *Food Chem.* 108 : 1122-1132.
- Baumann, A.R., S.E. Martin and H. Feng. 2005. Power ultrasound treatment of *Listeria monocytogenes* in apple cider. *J Food Prot.* 11 : 2333-2340.
- Codex alimentarius. 1981. Food standard codex. 19 -1981.
- Diosady, L.L. 2005. Chlorophyll removal from edible oils. *Int J Appl Sci Eng.* 3 : 81-88.
- Feng, H.P. 1996. Preparative techniques for isolation of vitamin E homologs and evaluation of their antioxidant activities. *Dissertation Abstracts International (Section) B.* 56 : 5243.
- Fernandes, L., S. Casal, R. Cruz, J.A. Pereira, and E. Ramalhosa. 2013. Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. *Food Res Int.* 50 : 161-166.
- Gliszczyńska-Świgło, A., Sikorska, E., Khmelinskii, I., and Sikorski, M. 2007. Tocopherol content in edible plant oils. *Pol J Polish Food Nutr Sci.* 57(4) : 157-161.
- Goula, A.M. 2013. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil - Kinetic modeling. *J Food Eng.* 117 : 492-498.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Hemwimol, S., P. Pavasant, and A. Shotipruk. 2006. Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Ultrason Sonochem.* 13 : 543-548.
- Jadhav, D., R. B.N, P.R. Gogate, and V.K. Rathod. 2009. Extraction of vanillin from vanilla pods: A comparison study of conventional soxhlet and ultrasound assisted extraction. *J Food Eng.* 93 : 421-426.
- Jiang, L., T. Yamaguchi, H. Takamura, and T. Matoba. 2005. Characteristics of Shodo Island Olive Oils in Japan : Fatty Acid Composition and Antioxidative Compounds. *Food Science and Technology Research.* 11 : 254-260.
- Jianmei, Y., and A. Mohamed. 2013. Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. *Int J Food Sci Technol.* 48 : 221-237.
- Kamel, B., H. Dawson, and Y. Kakuda. 1985. Characteristics and composition of melon and grape seed oils and cakes. *J Am Oil Chem Soc.* 62 : 881-883.
- Lavelli, V. 2002. Comparison of the Antioxidant Activities of Extra Virgin Olive Oils. *J. Agric. Food Chem.* 50 : 7704-7708.
- Malićanin, M., V. Rac, V. Antić, M. Aćnti, L.M. Palade, P. Kefalas, and V. Rakić. 2014. Content of antioxidants, antioxidant capacity and oxidative stability of grape seed oil obtained by ultrasound assisted extraction. *J Am Oil Chem Soc.* 91 : 989-999.
- Mason, T.J. 1998. "Power ultrasound in food processing—The way forward." 105-126. in Povey, M.J.W. and Mason, T.J., eds. *Ultrasound in Food Processing*. London : Blackie Academic and Professional.
- Matthäs, B. 2008. Virgin grape seed oil: Is it really a nutritional highlight? *Eur J Lipid Sci Tech.* 110 : 645-650.
- Muralidhara, H.S., G.F. Seymour, B.F. Jirjis, D.D. Otten, and X. Luo. Removal of Gum and Chlorophyll-Type Compounds from Vegetable Oils. U.S. Patent no. 6,376,689 B1, 23<sup>rd</sup> April 2002.
- O'Brien, R.D. 2008. *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications*, 3rd ed. Boca Raton, FL : CRC Press.
- Packer, L., S.U. Weber, and G. Rimbach. 2001. Molecular Aspects of  $\alpha$ -Tocotrienol Antioxidant Action and Cell Signalling. *J Nutr.* 131 : 369S-373S.
- Pinelo, M., M. Rubilar, M. Jerez, J. Sineiro, and M.J. Núñez. 2005. Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. *J Agric Food Chem.* 53 : 2111-2117.
- Samaram, S., H. Mirhosseini, C.P. Tan, and H.M. Ghazali. 2014. Ultrasound-assisted extraction and solvent extraction of papaya seed oil: Crystallization and thermal

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- behavior, saturation degree, color and oxidative stability. *Ind Crops Prod.* 52 : 702-708.
- Sevim, D., O. Tuncay, and O. Koseoglu. 2013. The Effect of Olive Leaf Addition on Antioxidant Content and Antioxidant Activity of “Memecik” Olive Oils at Two Maturity Stages. *J Am Oil Chem Soc.* 90 : 1359-1369.
- Shahidi, F., 2006. “Quality assurance of fats and oils.” 565-575. in Shahidi, F., ed. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products Edible, Oil and Fat Products: Chemistry, Properties, and Health Effects*, 6th ed. Vol. 1. Hoboken, NJ : John Wiley & Sons.
- Singleton, V.L., R. Orthofer, and R.M. Lamuela-Raventós. 1999. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. 152-178. *Methods in Enzymology.* Vol. 299. Academic Press.
- Tan, C.P., and Y.B. Che Man. 2000. Differential scanning calorimetric analysis of edible oils: Comparison of thermal properties and chemical composition. *J Am Oil Chem Soc.* 77:143-155.
- Vayupharp, B., and V. Laksanalamai. 2012. Recovery of antioxidants from grape seeds and its application in fried food. *J Food Process Technol.* 3 : 152.
- Zhang, Z.-S., L.-J. Wang, D. Li, S.-S. Jiao, X.D. Chen, and Z.-H. Mao. 2008. Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed. *Sep Purif Technol.* 62 : 192-198.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



## ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### การวิเคราะห์คุณภาพของน้ำมัน

#### การวิเคราะห์องค์ประกอบของเมล็ดองุ่น

##### การวิเคราะห์โดยประมาณ

Proximate Analysis มีประโยชน์ในการวิเคราะห์เพื่อให้ทราบถึงคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร เช่น การทำ nutrition fact ที่ติดอยู่บนฉลากอาหาร ทำให้ผู้บริโภคสามารถเลือกบริโภคอาหารและเครื่องดื่มได้อย่างเหมาะสม

##### ก.1 การวิเคราะห์ความชื้น (moisture) (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์หาความชื้น เป็นวิธีการระเหยน้ำออกจากตัวอย่าง ปริมาณน้ำในอาหารจะหาได้จากน้ำหนักของอาหารเริ่มต้นลบน้ำหนักของอาหารแห้ง เนื่องจากจุดเดือดของน้ำในอาหารมีค่าต่ำกว่าองค์ประกอบหลักต่าง ๆ ในอาหาร

##### อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. ถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด (aluminum can)
3. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
4. โถดูดความชื้น (desiccator)

##### วิธีวิเคราะห์

1. นำ aluminum can ไปอบที่ 100 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง แล้วนำไปใส่ในโถดูดความชื้น รอทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งจนได้น้ำหนักแน่นอน (4 ตำแหน่ง)
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่บดแล้ว  $3 \pm 0.1$  กรัม ไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง โดยเปิดฝาเพื่อให้ไอน้ำระเหยออกจากอาหาร
3. เมื่อครบเวลา ปิดฝา นำมาทำให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) ก่อนชั่งน้ำหนัก เพื่อไม่ให้อาหารดูดความชื้นจากอากาศซึ่งทำให้ค่าคลาดเคลื่อน อบซ้ำอีกครั้ง ครั้งละครึ่งชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่ หรือผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งได้ 2 ครั้งต้องต่างกันไม่เกิน 0.005 กรัม
4. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## การคำนวณหาปริมาณความชื้นในตัวอย่าง

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{(W1-W2)}{W1} \times 100$$

เมื่อ W1 = น้ำหนักก่อนอบ

W2 = น้ำหนักหลังอบ

## ก.2 การวิเคราะห์ไขมัน (fat) (AOAC, 2011)

ไขมันเป็นองค์ประกอบหลักตัวหนึ่งของอาหาร เป็นสารอินทรีย์ที่ส่วนใหญ่ไม่สามารถละลายในน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น บีโตรเลียมอีเทอร์ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม ไขมันในอาหารรวมถึง สารประกอบในกลุ่มไตรกลีเซอไรด์ โมโนหรือไดกลีเซอไรด์ กรดไขมันอิสระ ฟอสโฟลิปิด สเตอรอล แคโรทีนอยด์ วิตามินเอและอี ดังนั้นไขมันในอาหารจึงมีองค์ประกอบที่ซับซ้อน อย่างไรก็ตามไขมันในอาหารส่วนใหญ่ประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์มากกว่าร้อยละ 95 ของไขมันทั้งหมด

### อุปกรณ์

1. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
2. สก๊อตชอกท์เลต (soxhlet apparatus) พร้อมทิมเบล (thimble) และบีกเกอร์
3. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
4. โถดูดความชื้น (desiccator)
5. ที่คีบ (tong)
6. Boiling chip
7. กระดาษกรอง

### สารเคมี

1. เฮกเซน (hexane)

### วิธีวิเคราะห์

1. อบบีกเกอร์ไขมันพร้อมกับ boiling chip ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน

2. ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดอบไล่ความชื้นแล้ว 10 กรัม บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ห่อด้วยกระดาษกรองใส่ในทิมเบล (extraction thimble)

3. ตวงตัวทำละลายเฮกเซน 140 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ไขมัน ต่อบีกเกอร์ใส่ตัวอย่าง และบีกเกอร์ไขมันเข้ากับเครื่องสกัดไขมัน ทำการสกัดไขมันตามโปรแกรมของเครื่อง

4. เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำบีกเกอร์ไขมันออกทิ้งให้เย็นสักครู่ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 1-2 ชั่วโมง

5. นำบีกเกอร์ไขมันใส่ในโถดูดความชื้น จากนั้นนำออกมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง **จดบันทึกน้ำหนัก**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไขมันในตัวอย่าง

$$\text{ไขมัน (\%)} = \frac{(W2 - W1)}{W} \times 100$$

เมื่อ  $W$  = น้ำหนักตัวอย่าง

$W1$  = น้ำหนักก่อนอบ

$W2$  = น้ำหนักหลังอบ

### ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (ash) (AOAC, 2011)

เถ้า (ash) คือ ส่วนของสารอนินทรีย์ (inorganic) หรือส่วนที่เหลือจากการเผา ซึ่งได้แก่ แร่ธาตุต่าง ๆ เมื่อนำตัวอย่างไปเผาที่อุณหภูมิ 550-600 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ส่วนที่เป็นสารอนินทรีย์จะถูกเผาไหม้หมดไป เหลืออยู่แต่ส่วนของสารอนินทรีย์ ค่าของเถ้าที่ทำได้สามารถบอกถึงคุณภาพของอาหาร ถ้าค่าของเถ้าสูงมากกว่าปกติอาจมีการปลอมปน

#### อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เตาไฟฟ้า (hot plate)
3. เตาเผาไฟฟ้า (muffle furnace)
4. ถ้วยสำหรับเผาเถ้า (crucible)
5. โถดูดความชื้น (desiccator)

#### วิธีการ

1. เผาถ้วยกระเบื้องที่แห้งและสะอาด ที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เพื่อไม่ให้ความชื้นเหลืออยู่ในถ้วยกระเบื้องแล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น เพื่อไม่ให้ถ้วยกระเบื้องมีการดูดความชื้นจากอากาศซึ่งอาจทำให้ได้น้ำหนักที่ไม่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างใส่ในถ้วยกระเบื้อง ( $3 \pm 0.1$  กรัม)
3. เผาตัวอย่างบนเตาไฟฟ้าจนหมดควัน
4. นำไปเผาในเตาไฟฟ้าที่ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8-10 ชั่วโมง ให้เป็นเถ้าสีขาว
5. รอให้เตาเผาเย็นลง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักของถ้วยกระเบื้องหลังเผา
6. คำนวณเปอร์เซ็นต์เถ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คำนวณหาปริมาณเถ้าในตัวอย่าง

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า (\%)} = \frac{W_2 - W}{W_1 - W} \times 100$$

เมื่อ  $W$  = น้ำหนักถ้วยกระเบื้อง

$W_1$  = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องและตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์

$W_2$  = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องและเถ้าหลังเผา

### ก.4 โปรตีน (protein) (Kjeldahl method; AOAC, 2011)

โปรตีนเป็นโพลิเมอร์ของกรดอะมิโน เกิดจากกรดอะมิโนมาจับกันด้วยพันธะเปปไทด์ ดังนั้นการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนส่วนใหญ่อาศัยความเฉพาะเจาะจงของกรดอะมิโนหรือพันธะเปปไทด์ การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทำได้หลายวิธี แต่ในการทดลองนี้ใช้หลักการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนอาศัยการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในอาหาร โดยวิธีการที่นิยมเรียกว่า วิธีเจลดาลท์ (kjeldahl method) เนื่องจากโปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ

#### อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
2. หลอดย่อยโปรตีน
3. อุปกรณ์ชุดวิเคราะห์โปรตีน (kjeldahl apparatus)
4. บิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร
5. ขวดชมพูขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
6. Boiling chip

#### สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. กรดบอริก 2% เตรียมได้จากการละลายกรดบอริก 2 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
3. สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอล ปิเปต 37% กรดไฮโดรคลอริก 2.07 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 32% เตรียมจากซิงโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
5. ตัวเร่ง (catalyst) (เตรียมจาก 1:10 ของ  $\text{CuSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$ )
6. สารละลายอินดิเคเตอร์
  - เตรียม 0.1% Methylene blue ใน alcohol 95%
  - เตรียม 0.2% Methyl red ใน alcohol 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วิธีการ

### 1. การย่อย

- 1.1 ชั่งตัวอย่าง  $3 \pm 0.1$  กรัม (4 ตำแหน่ง) ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน อย่าให้ตัวอย่างเปียกข้างหลอด เติมตัวเร่ง 10 กรัม เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร ใส่ boiling chip 3 ลูก
- 1.2 นำหลอดย่อยโปรตีน วางลงใน rack ก่อนนำไปประกอบเข้ากับเครื่องย่อย ปิดที่บังความร้อน (heat shield) และสวมที่ดูดควัน ที่ต่อเข้ากับชุดกำจัดไอกรด (exhaust) ก่อนเปิดสวิตช์ (power on)
- 1.3 ตั้งอุณหภูมิที่ใช้อยู่ 370 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง
- 1.4 ทำการย่อย จนได้สารละลายสีฟ้าใส
- 1.5 ปิดสวิตช์ พร้อมยก rack ที่มีหลอดย่อยตัวอย่างขึ้นพัก รอให้สารละลายสีฟ้าเย็นลง ซึ่งช่วงนี้ยังคงเปิดชุดกำจัดไอกรดไว้จนไม่มีไอกรด ก่อนนำไปต่อเข้ากับชุดกลั่น

### 2. การกลั่น

- 2.1 นำหลอดย่อยตัวอย่างต่อเข้ากับชุดกลั่นโปรตีน ตรวจสอบเช็คความเรียบร้อยของระบบน้ำสำหรับหล่อเย็น ถังน้ำกลั่น ถังโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 32% โดยสายยางต้องจุ่มลงในถังน้ำกลั่นหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์
- 2.2 เติมกรดบอริกเข้มข้น 4% ปริมาณ 60 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร หยอดอินดิเคเตอร์ทั้งสอง อย่างละ 1 หยดจะได้สารละลายสีชมพูม่วง วางขวดรูปชมพู่ลงในชุดกลั่น เสียบท่อพลาสติกที่ต่อจากคอนเดนเซอร์ลงในกรดบอริก เพื่อดักจับแก๊สแอมโมเนีย ที่กลั่นออกมาได้
- 2.3 เปิดเครื่องเพื่อเติมน้ำกลั่นและโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในหลอดย่อยจะเปลี่ยนเป็นสีดำ
- 2.4 เปิดไอน้ำและตั้งเวลาในการกลั่น เวลาที่ใช้ในการกลั่นขึ้นอยู่กับปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่าง

### 3. การไตเตรท

- 3.1 นำขวดรูปชมพู่ที่บรรจุสารละลายที่กลั่นเสร็จแล้วซึ่งมีสีเขียว มาไตเตรทกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูม่วง บันทึกการใช้กรดไฮโดรคลอริก

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในตัวอย่าง

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในตัวอย่าง} = \frac{(A-B) \times N \times 14 \times 100}{W \times 1000} \times 100$$

เมื่อ A = ปริมาณของสารละลายไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรทกับตัวอย่าง

B = ปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับ blank

N = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ (normal)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โปรตีนในตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นภายใต้ลิขสิทธิ์ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ก.5 โยอาหาร (crude fiber) (AOAC, 2011)

โยอาหาร (crude fiber) คือ คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยไม่ได้ประกอบด้วย เซลลูโลสเป็นส่วนใหญ่ hemi-cellulose และแร่ธาตุบางชนิด ตามปกติจะใช้เป็นตัววัดคุณค่าทางอาหารหลายชนิด เพราะโยอาหารย่อยยาก นอกจากนี้โยอาหารยังใช้ในการตรวจการปลอมปนอาหาร

#### อุปกรณ์

1. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องวิเคราะห์โยอาหาร (fiber extraction apparatus)
3. ถ้วยชนิดทนไฟ (sinter glass crucible) ขนาดของตัวกรอง (fiber) ประมาณ 40-90 ไมครอน
4. เตาเผาไฟฟ้า (muffle furnace)
5. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
6. โถดูดความชื้น (desiccator)
7. ที่คีบ (tong)
8. กาทัมน้ำ
9. กาแก้ว
10. กรวยกรอง
11. กระบอกฉีดยา
12. เตาไฟฟ้า (hot plate)

#### สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก ( $H_2SO_4$ ) เข้มข้น 0.255 นอร์มอล (1.25 เปอร์เซ็นต์) ปีเปตกรดซัลฟูริก 96 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 7.10 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร 1 ลิตร ปรับปริมาณด้วยน้ำกลั่น
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.313 นอร์มอล (1.25 เปอร์เซ็นต์) เตรียมจากซิงโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.25 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
3. อะซิโตน
4. สารป้องกันการเกิดฟอง (Anti-foam)

#### วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่สกัดไขมันออกแล้ว 1 กรัม (น้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ในถ้วยชนิดทนไฟ (ในกรณีที่ตัวอย่างกรวยยาก เติมสารช่วยกรอง ซีไรท์ (celite) ประมาณ 1 กรัม ลงบนตัวอย่าง)
2. นำถ้วยชนิดทนไฟต่อเข้ากับเครื่องวิเคราะห์โยอาหาร ในส่วนของ hot extraction unit ปิดล็อกให้แน่น
3. เปิดฝาด้านบนของตัวเครื่อง เติมกรดซัลฟูริก 0.255 นอร์มอล ที่อุ่น ๆ 150 มิลลิลิตร ลงในหลอดย่อยของแต่ละตัวอย่าง
4. เติมสารป้องกันการเกิดฟอง ปริมาณ 2-3 หยด ให้ความร้อน กรองจนแห้ง
5. ลดความร้อนลง และต้มเป็นเวลา 30 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. กรองเอากรดออก โดนเลื่อนคันโยกไปที่ตำแหน่ง vacuum ถ้ากรองไม่ลงให้ใช้แรงดันที่ตำแหน่ง pressure ช่วย
7. ล้างกากด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง ครั้งละประมาณ 30 มิลลิลิตร กรองจนแห้ง
8. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.313 นอร์มอล ที่อุ่น ๆ 150 มิลลิลิตร ลงในหลอดย่อยของแต่ละตัวอย่าง เติมสารป้องกันการเกิดฟอง ปริมาณ 2-3 หยด ให้ความร้อนจนเดือด
9. ทำซ้ำ ข้อ 5 ถึงข้อ 7
10. ล้างกากที่อยู่ในถ้วยชนิดทนไฟด้วยอะซิโตน 25 มิลลิลิตร กรองให้แห้ง
11. นำถ้วยชนิดทนไฟไปอบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น นำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน
12. นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง นำออกมาใส่โถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น นำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน

#### การคำนวณเปอร์เซ็นต์เยื่อใยอาหาร

$$\text{เปอร์เซ็นต์เยื่อใยอาหาร} = \frac{(W1 - W2)}{W} \times 100$$

เมื่อ W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

W1 = น้ำหนักของถ้วย crucible และกากหลังอบแห้ง (กรัม)

W2 = น้ำหนักของถ้วย crucible และกากหลังเผา (กรัม)

#### การวิเคราะห์คุณภาพน้ำมัน

##### ก.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน (fatty acid composition) (AOAC (2005), 996.06)

การวิเคราะห์กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography) ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890N โดยใช้คอลัมน์ 100m x 0.25 mm ID, 0.20 µm film thickness ยี่ห้อ Supelco รุ่น SP-2560

#### สภาวะการทดลอง

Condition การทดสอบ

Injection prot : 250 °C

FID Detector : 250 °C

Oven Temperature profile : Initial temp. 140 °C; hold 5 min

Increase temp. 3 °C/min to 250 °C; hold 17 min

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Run time : 55 min

Capillary column : Supelco SP-2560

GC FID : Agilent Model 6890N (G1539N)

Serial No. US10406046

## การคำนวณ

$$\% \text{ Area} = \frac{PA_{fa} \times 100}{\sum \text{Area}}$$

เมื่อ  $PA_{fa}$  = Peak Area Fatty acid

$$\text{Fatty acid (g/100g)} = \left( \frac{\% \text{Area} \times \text{Total Fat}}{100} \right) \times \text{factor}$$

## ก.7 วิธีการวัดค่าสีด้วยเครื่อง Hunter Lab (Color Quest XE)

เครื่องวัดสีทำงานโดยใช้หลักการของ spectrophotometry ดังนี้ ให้แสงจากแหล่งกำเนิดแสงภายในตัวเครื่องตกกระทบบนผิวของวัตถุ อนุภาคของสีบนผิวของวัสดุจะดูดกลืนแสงบางช่วงคลื่นไว้ และสะท้อนแสงบางช่วงคลื่นออกมา และถูกบันทึกโดยชุดรับสัญญาณ (spectrometer) และนำข้อมูลมาประมวลผลตามการตอบสนองของตามนุษย์ที่ไวต่อแสงสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน คำนวณค่าสีออกมาเป็นตัวเลขระบบ CIE (Commission International de l'Eclairage)

## อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. Hunter Lab รุ่น Color Quest XE
2. ชุด calibration

## วิธีวิเคราะห์

1. เปิดเครื่องทดสอบและโปรแกรมการทดสอบในคอมพิวเตอร์ ในการตรวจสอบสีของผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง ใช้ค่าสีระบบ CIE  $L^*$   $a^*$   $b^*$  โดยการปรับมาตรฐานเครื่อง (Calibration) ด้วยการตั้งค่าต่าง ๆ ดังนี้ Mode เลือก TTRAN (Total transmission) ใช้วัดสีวัตถุโปร่งใส โดยจะรวมแสงที่ทะลุผ่านทั้งหมด และแสงที่กระเจิง และเลือก Illuminant/Observer เลือก D65/10°

2. ทำการ Calibration เครื่องก่อนการวัดครั้งแรกด้วยชุด Calibration โดยทำตามขั้นตอนที่โปรแกรมกำหนด ดังนี้

- 2.1 นำ black card วางที่ transmission port กด OK เมื่อทำการ standardize สมบูรณ์แล้วนำ black card ออก

- 2.2 นำ cell blank วางแทนที่ black card

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 นำ white calibrated tileวางที่ reflectance port (วางไว้ตลอดการวัดโดยไม่เอาออก)

2.4 ทำการกวดอ่านค่า cell blank โดยค่า  $L^*$  ที่วัดได้จะเท่ากับ 100 หรือใกล้เคียง 100 ค่า  $a^*$  และ  $b^*$  จะเท่ากับ 0 หรือใกล้เคียง 0

2.5 จากนั้นเปลี่ยนจาก cell blank เป็นตัวอย่างน้ำมัน วัดค่าสีของน้ำมันในระบบ CIE  $L^* a^* b^*$  โดยทำการวัดซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

$L^*$  หมายถึง ค่าความสว่าง มีค่าอยู่ในช่วง 0 (สีดำ) ถึง 100 (สีขาว)

$a^*$  หมายถึง ความเป็นสีแดง ถ้าเป็นบวก (+) และความเป็นสีเขียว ถ้าเป็นลบ (-)

$b^*$  หมายถึง ความเป็นสีเหลือง ถ้าเป็นบวก (+) และความเป็นสีน้ำเงิน ถ้าเป็นลบ (-)

$C^*$  หมายถึง ค่าความเข้มของสี (Chroma) คำนวณจาก  $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$

$h^\circ$  หมายถึง ค่าเฉดสี (Hue) คำนวณจาก  $h^\circ = \tan^{-1}(b^*/a^*)$  ค่าที่ได้จะเป็นค่ามุม หน่วยเป็นองศา

### ก.8 การวิเคราะห์ความหนืด Brookfield viscometer (Brookfield DV-III)

Brookfield viscometer เป็นมาตรวัดความหนืด (viscometer) ประเภท rotational viscometer ที่ใช้วัดความหนืด (viscosity) ของของเหลว มีหน่วยเป็นเซนติพอยส์ (centipoise) นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง ในอุตสาหกรรมอาหาร ตัวเครื่องประกอบด้วย แท่งโลหะทรงกระบอก (spindle) จะหมุนอยู่ในของเหลวที่ต้องการวัด โลหะทรงกระบอกนี้หมุนได้โดยต่อกับมอเตอร์ การวัดความหนืดจะวัดแรงเสียดทานของของเหลวออกมาเป็นค่า Torque และนำมาคำนวณโดยการคูณด้วยค่าคงที่ตามที่กำหนดมา กับเครื่อง หรือสามารถอ่านค่าเป็น centipoise ได้โดยตรงจากเครื่อง

#### อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. Brookfield viscometer รุ่น Brookfield DV-III
2. ชุด Small sample adapter
3. หัววัดเบอร์ 18

#### วิธีการวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่างน้ำมัน 8 มิลลิลิตร ใส่ใน chamber ซึ่งติดตั้งเข้ากับชุด small sample adapter และควบคุมการวัดที่อุณหภูมิ  $25 \pm 1$  องศาเซลเซียส
2. ใส่หัววัดเบอร์ 18 และจุ่มในตัวอย่าง
3. กด select spindle เพื่อเลือกขนาดของหัววัด และกด select spindle อีกครั้งเพื่อตอบตกลง
4. เลือกความเร็วรอบ โดยพิจารณาความเร็วรอบจากค่าทอร์ก (torque) ที่เข้าใกล้ 100 หลังจากนั้นอ่านค่าความหนืดของตัวอย่างเป็นเซนติพอยส์ (cP)

### ก.9 การวิเคราะห์ค่ากรดและกรดไขมันอิสระ (Acid value; AV หรือ Free fatty acid)

การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด ค่าของกรด (Acid value; A.V.) ค่า A.V. ของไขมัน หรือน้ำมัน คือ จำนวนมิลลิกรัมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทำให้กรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในไขมัน หรือน้ำมัน จำนวน 1 กรัมเป็นกลาง ซึ่งนิยมเทียบเป็นร้อยละของ acid value ดังนั้นค่า A.V. จะเป็นตัวชี้บ่งบอการการค่า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หีนของไขมัน และน้ำมัน ถ้าค่า A.V. สูงแสดงว่าไตรกลีเซอไรด์ถูกไฮโดรไลซ์เป็นกรดไขมันอิสระมาก แสดงว่าเกิดการหืนมาก

### อุปกรณ์

1. Erlenmeyer flasks 250 มิลลิลิตร
2. Magnetic stirrer
3. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

### สารเคมี

1. สารละลาย potassium hydroxide (KOH) 0.1 โมลาร์
2. Phenolphthalein 1.0% ใน ethyl alcohol 95%
3. Ethyl alcohol 95%

### วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมัน  $10 \pm 0.01$  กรัม จดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ในขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร
2. เติม ethyl alcohol 95% 30 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
3. หยด phenolphthalein เป็น indicator 3-4 หยด นำไปไตเตรทกับสารละลาย potassium hydroxide (KOH) เขย่าแรง ๆ จนได้สารละลายสีชมพูจากเหมือนกับสี ethyl alcohol สีต้องคงที่เป็นเวลา 30 วินาที
4. บันทึกปริมาตรสารละลาย potassium hydroxide (KOH) ที่ใช้ในการไตเตรท
5. คำนวณค่าปริมาณกรดไขมันอิสระ

### การคำนวณความเป็นกรดและกรดไขมันอิสระ

$$\text{Acid value, mg KOH/g of test portion} = \frac{\text{ml KOH} \times M \times 56.1}{\text{นน.ตัวอย่าง (กรัม)}}$$

$$\text{Free fatty acid as oleic, \%} = \frac{\text{ml KOH} \times M \times 28.2}{\text{นน.ตัวอย่าง (กรัม)}}$$

เมื่อ M = ความเข้มข้นของสารละลาย KOH ที่ใช้ในการไตเตรท (โมลาร์)

### ก.10 การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value; PV)

#### สารเคมี

1. สารละลายผสมอะซิติก : คลอโรฟอร์ม (3:2)
2. สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัว
3. สารละลายโซเดียมไรโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4. สารละลายน้ำแบ่งความเข้มข้น 1%

## วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมัน  $5 \pm 0.05$  กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายผสมอะซิติค: คลอโรฟอร์ม (3:2) 30 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัว 0.5 มิลลิลิตร
4. เขย่าสารละลายเป็นเวลา 1 นาที ในที่มืด และเติมน้ำกลั่นทันที 30 มิลลิลิตร
5. ไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนสารละลายเป็นสีเหลืองอ่อนและเติมสารละลายน้ำแบ่งความเข้มข้น 1% ปริมาณ 2 มิลลิลิตร และไตเตรทต่อจนสีน้ำเงินจางหาย
6. บันทึกปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮโอซัลเฟต ที่ใช้ในการไตเตรท
7. ทำ blank ตามวิธีเดียวกับที่กล่าวมาข้างต้น แต่ไม่ใส่ตัวอย่างน้ำมัน
8. คำนวณค่าเปอร์ออกไซด์

## การคำนวณค่าเปอร์ออกไซด์

$$\text{Peroxide value (milliequivalents peroxide/ 1000 g sample)} = \frac{(S-B) \times N \times 1000}{\text{นน.ตัวอย่าง (กรัม)}}$$

- เมื่อ
- B = ปริมาตร Sodium thiosulfate ที่ใช้ในการไตเตรท Blank (มิลลิลิตร)
  - S = ปริมาตร Sodium thiosulfate ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
  - N = ความเข้มข้นของสารละลาย Sodium thiosulfate  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (นอร์มอล)

## ก.11 วิเคราะห์ค่าพาราแอนนิซิดีน (p-Anisidine value; p-AV)

## อุปกรณ์

1. หลอดฝาเกลียว ขนาด 10 มิลลิลิตร
2. ขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร
3. ปิเปตอัตโนมัติหรือบิวเรตต์อัตโนมัติ
4. เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่สามารถวัดได้ที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร
5. เซลล์แก้วขนาด 1.00 ( $\pm 0.01$ ) เซนติเมตร

## สารเคมี

1. ไอโซออกเทน (2, 2, 4-ไตรเมทิลเพนเทน)
2. กรดอะซิติค
3. สารละลายพาราแอนนิซิดีน (ละลายในกรดอะซิติค) เตรียมโดยชั่งสารพาราแอนนิซิดีน

2.5 กรัม ละลายในกรดอะซิติค 1 ลิตร เมื่อเตรียมเสร็จเก็บในขวดสีชา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมัน  $0.5 \pm 0.1$  กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายไอโซออกเทน เขย่าให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตร
3. ทำ blank โดยใช้สารละลายไอโซออกเทน
4. นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 350 นาโนเมตร
5. ปิเปตสารละลายตัวอย่างจากขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ออกมาจำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ใน

หลอดทดลอง

6. ปิเปตสารละลาย blank จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองอีกหลอดหนึ่ง
7. เติมสารละลายพาราแอนนิซิดีน 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
8. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 350 นาโนเมตร
9. คำนวณค่าพาราแอนนิซิดีน

$$p\text{-Anisidine Value} = \frac{25 \times (1.2A_s - A_b)}{\text{น.ตัวอย่าง (กรัม)}}$$

เมื่อ  $A_s$  = ค่าการดูดกลืนแสงหลังเติมสารละลายพาราแอนนิซิดีน  
 $A_b$  = ค่าการดูดกลืนแสงก่อนเติมสารละลายพาราแอนนิซิดีน

### ก.11 การวิเคราะห์ค่าไอโอดีน (Iodine value; IV)

ค่าไอโอดีน (Iodine value) คือ จำนวนกรัมของไอโอดีนที่เข้าไปทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไขมันหรือน้ำมันจำนวน 100 กรัม ค่า IV เป็นตัวชี้บ่งว่าไขมันหรือน้ำมันมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลมากน้อยเพียงใด หรือ Degree of unsaturation ของไขมัน ถ้าค่า IV สูงแสดงว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบมาก และจะทำให้เกิดการหืน oxidative rancidity ได้ง่ายด้วย

### อุปกรณ์

1. Iodine flask ขนาด 500 มิลลิลิตร
2. ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 1000 มิลลิลิตร
3. ปิเปต ขนาด 10, 20 และ 25 มิลลิลิตร
4. บิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร
5. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
6. Magnetic stirrer
7. ปีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
8. ตู้อบลมร้อน

### สารเคมี

1. สารละลาย Wijs

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ภายในมหาวิทยาลัยเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 2. สารละลาย Potassium Iodide 10% (w/v)  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. สารละลาย Acetic acid-cyclohexane 1:1 (v/v)
4. กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)
5. สารละลายน้ำแ่่ง 1%
6. สารละลายมาตรฐาน Sodium thiosulfate 0.1 นอร์มอล

### วิธีการวิเคราะห์

1. เตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ หลอมสารละลายตัวอย่างน้ำมันที่อุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียส และกรองผ่านกระดาษกรองใส่ลงในขวดชมพู 500 มิลลิลิตร
2. ให้ความร้อนแก่ตัวอย่างน้ำมันจนตัวอย่างมีอุณหภูมิ 68-71 องศาเซลเซียส
3. ชั่งตัวอย่างน้ำมัน  $10 \pm 0.02$  กรัม ใส่ใน Iodine flask ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมสารละลาย cyclohexane จำนวน 15 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายเข้ากัน
4. เติมสารละลาย Wijs 25 มิลลิลิตร ปิดจุกแล้วเขย่าเบา ๆ จนละลายผสมกัน จับเวลา 30 นาที นำไปเก็บในที่มืด เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาและเก็บรักษาที่อุณหภูมิประมาณ  $25 \pm 5$  องศาเซลเซียส
5. จากนั้นเติมสารละลาย Potassium Iodide (KI) 10% จำนวน 20 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
6. ไตเตรทด้วยสารละลาย Sodium thiosulfate 0.1 นอร์มอล จนสารละลายสีเหลืองจางลง จากนั้นเติมน้ำแ่่งเป็นอินดิเคเตอร์ประมาณ 1-2 มิลลิลิตร ไตเตรทต่อจนสารละลายสีฟ้าเริ่มจางลง
7. ทำสารละลาย blank ควบคู่ไปด้วย โดยใช้วิธีดังกล่าวข้างต้น

### การคำนวณค่าไอโอดีน

$$\text{Iodine value} = \frac{(B-S) \times N \times 12.69}{\text{บน.ตัวอย่าง (กรัม)}}$$

- เมื่อ
- B = ปริมาตร Sodium thiosulfate ที่ใช้ในการไตเตรท Blank (มิลลิลิตร)
  - S = ปริมาตร Sodium thiosulfate ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
  - N = ความเข้มข้นของสารละลาย Sodium thiosulfate  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (นอร์มอล)

### ก.12 การวิเคราะห์ค่าสaponification value

ค่าสaponification value (Saponification value) หมายถึง จำนวนมิลลิกรัมของ KOH ที่ใช้ในการไฮโดรไลซ์ไขมันหรือน้ำมันอย่างสมบูรณ์ จำนวน 1 กรัมได้เป็นสบู่และกลีเซอรอล นิยมหาค่าสaponification value ของลิปิดที่รู้น้ำหนักแน่นอนกับสารมาตรฐาน KOH ปริมาณมากเกินไป หลังจากปฏิกิริยาเกิดขึ้นสมบูรณ์แล้วหาปริมาณ KOH ที่เหลือโดยนำไปไตเตรทกับกรด ซึ่งจะช่วยให้ทราบปริมาณ KOH ที่ใช้ไป

### อุปกรณ์

1. Erlenmeyer flask 250 มิลลิลิตร
2. Air Condensers พร้อมอุปกรณ์ติดตั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3. Water bath

## สารเคมี

1. Hydrochloric acid 0.5 M (41.60 มิลลิลิตรในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร)
2. Potassium hydroxide (KOH) (ชั่ง 34 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตรด้วยเอทานอล 1 ลิตร)
3. Phenolphthalein indicator 1.0% ใน ethyl alcohol 95%

## วิธีการวิเคราะห์

1. หลอมตัวอย่างน้ำมันและชั่งน้ำมัน  $4 \pm 0.01$  กรัม ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 50 มิลลิลิตร
3. ทำสารละลาย blank โดยทำเช่นเดียวกับวิธีดังกล่าว
4. นำขวดตัวอย่างน้ำมันต่อกับเครื่อง Air condensers แล้วต้มจนน้ำมันเกิดการ saponified อย่างสมบูรณ์ ใช้เวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง
5. นำขวดตัวอย่างน้ำมันออกมาทิ้งไว้ในที่เย็น (ไม่เย็นจนเกินไป)
6. เติมฟีนอล์ฟทาลีน 1 มิลลิลิตรและไตเตรทด้วยสารละลายไฮโดรคลอริก 0.5 โมลาร์ จนสารละลายสีชมพูจางหายไป
7. บันทึกปริมาตรที่ใช้ในการไตเตรท

## การคำนวณ

$$\text{Saponification value} = \frac{(B-S) \times M}{W} \times 56.1$$

- เมื่อ
- B = ปริมาตรของสารละลายไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรท blank (มิลลิลิตร)
  - S = ปริมาตรของสารละลายไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
  - M = ความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรคลอริก
  - W = ตัวอย่างน้ำมัน (กรัม)

ก.13 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total polyphenol content) ตามวิธีของ Singleton และ Rossi (1965)

## สารเคมี

1. สารละลาย Folin-Ciocalteu reagent
2. โซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )
3. สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
4. อะซิโตน (acetone)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

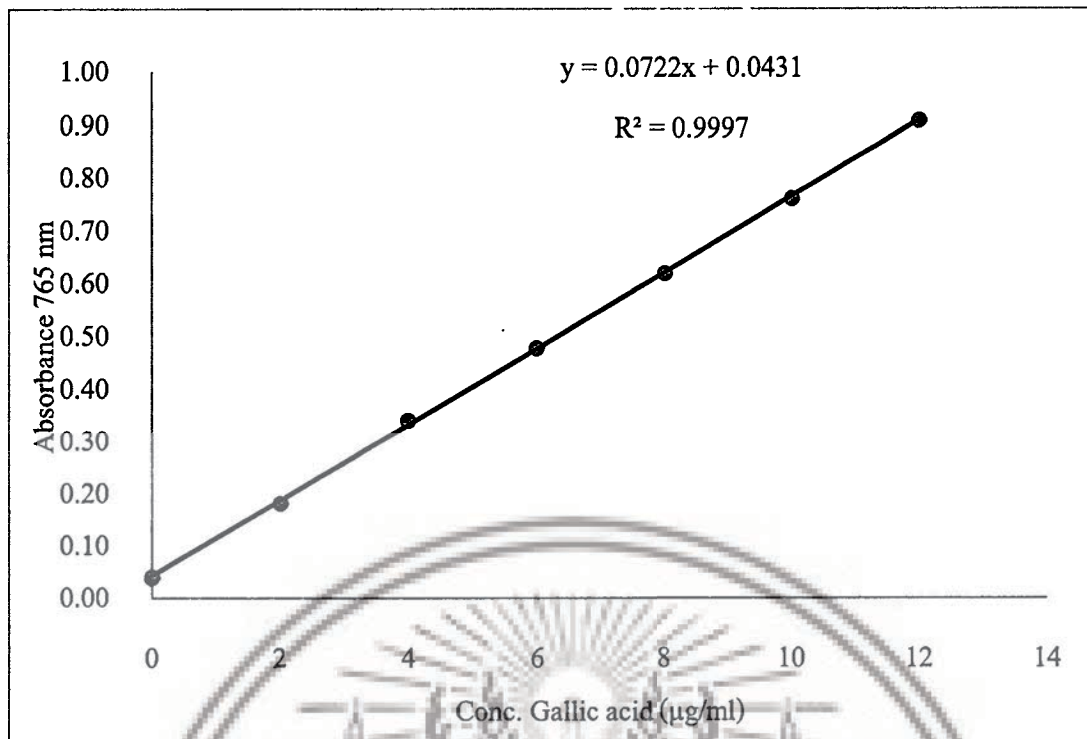
## การเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 400 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร โดยชั่งกรดแกลลิก 0.02 กรัม ละลายในอะซิโตน ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร
2. นำมาเจือจางเพื่อเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานดังกล่าวใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 และ 0.30 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มีด 5 นาที
4. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 10% ปริมาตร 2 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มีด 10 นาที
5. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-Vis spectrophotometer (Shimadzu UV-1601, Japan)
6. เขียนกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นกรดแกลลิก ในหน่วยไมโครกรัมจะได้กราฟมาตรฐาน

## การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่าง

1. ปิเปตสารสกัดน้ำมัน 0.20 มิลลิลิตร เติมอะซิโตน 1.9 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 5 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มีด 5 นาที
3. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 10% ปริมาตร 2 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มีด 10 นาที
4. นำมาปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 8000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ก.1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกในการวิเคราะห์ TPC

การคำนวณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้สมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

$$y = 0.0722x + 0.0431 \quad (R^2 = 0.9997)$$

เมื่อ  $y$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายน้ำมันตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

$x$  = ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิก (ไมโครกรัม/ สารละลายน้ำมัน 5 มิลลิลิตร)

$c$  = จุดตัดแกน  $y$

ตัวอย่างการคำนวณ

ตัวอย่างน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธี ME

ปริมาณสารละลายน้ำมันเมล็ดองุ่น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร เท่ากับ 0.352 แทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ภาพที่ ก.1) จะได้

$$0.352 = 0.0722x + 0.0431$$

$$x = 4.28 \text{ ไมโครกรัม/ สารละลายน้ำมันตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากสารละลายน้ำมันปริมาตร 5 มิลลิลิตร มีน้ำมันตัวอย่างปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดแกลลิกเท่ากับ 4.28 มิลลิกรัม เพราะฉะนั้น ตัวอย่างน้ำมัน 0.2 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดแกลลิกอยู่ =  $(5 \times 4.28) / 0.2$  เท่ากับ 106.96 มิลลิกรัมต่อน้ำมันตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

#### ตัวอย่างน้ำมันเมล็ดตองุ่นที่สกัดด้วยวิธี UAE

ปริมาณสารละลายน้ำมันเมล็ดตองุ่น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร เท่ากับ 0.337 แทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ภาพที่ ก.1) จะได้

$$0.337 = 0.0722x + 0.0431$$

$$x = 4.07 \text{ ไมโครกรัม/ สารละลายน้ำมันตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร}$$

เนื่องจากสารละลายน้ำมันปริมาตร 5 มิลลิลิตร มีน้ำมันตัวอย่างปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดแกลลิกเท่ากับ 4.07 มิลลิกรัม เพราะฉะนั้น ตัวอย่างน้ำมัน 0.2 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดแกลลิกอยู่ =  $(5 \times 4.07) / 0.2$  เท่ากับ 101.77 มิลลิกรัมต่อน้ำมันตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

#### ก.14 การวิเคราะห์ความคงตัวของน้ำมัน (Rancimat method)

##### หลักการ

เครื่อง Rancimat เป็นเครื่องวิเคราะห์ความหืนของไขมันโดยเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหรือไขมันโดยควรให้ความร้อนและอากาศเข้าไปในตัวอย่าง เพื่อทำให้เกิดการแตกตัวของไขมัน และเกิดสารประกอบในรูป volatile acids ที่เป็นผลจากการออกซิเดชัน สารประกอบดังกล่าวจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าของน้ำกลั่น เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาจะประมวลออกมาเป็นกราฟโดยอัตโนมัติ ซึ่งรายงานเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นค่า Induction time (period) หรือ Oil Stability Index (OSI)

##### อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่อง Rancimat (เครื่อง Rancimat รุ่น 743 บริษัท Metrohm Siam)
2. อุปกรณ์สำหรับเครื่อง Rancimat
3. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
4. Dropper สำหรับดูดน้ำมัน
5. Beaker
6. น้ำกลั่น

##### วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. เตรียมชั่งตัวอย่างประมาณ  $3 \pm 0.01$  กรัม ลงใน reaction vessel ประกอบอุปกรณ์ต่าง ๆ กับเครื่อง rancimat ตามคู่มือการใช้งานเครื่อง (743-rancimat) เลือกรหัสให้อากาศไหลผ่านอัตราค่าไหล ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คงที่และอุณหภูมิ โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส และอัตราการให้อากาศ 20 ลิตรต่อ ชั่วโมง

2. เมื่อเครื่องวิเคราะห์ตัวอย่างเสร็จ เครื่องจะแสดงผลอัตโนมัติ ทำการบันทึกข้อมูล แสดงค่าเป็น induction time

### ก.15 การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อน (Thermal behavior)

Differential calorimetry scanning (DSC) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์เชิงความร้อน ซึ่งใช้วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางความร้อน (thermal transition) ของสารตัวอย่างที่ใช้วัดการเปลี่ยนแปลงพลังงาน (การดูดหรือคายพลังงาน) ของสารตัวอย่าง เมื่อถูกเพิ่ม (หรือลด) อุณหภูมิ ในบรรยากาศที่ถูกควบคุม นำมาใช้ในการกำหนดหาลักษณะอุณหภูมิของน้ำมันในขณะที่เกิดการเปลี่ยนสถานะ การเปลี่ยนสถานะที่อุณหภูมิสูงสุด คือ การเปลี่ยนสถานะจากของแข็งเป็นของเหลวซึ่งสัมพันธ์กับการหลอมเหลวโดยสมบูรณ์ การเปลี่ยนสถานะนี้ช่วยให้แนวทางในการเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมในการใช้งานและการเก็บรักษา การเปลี่ยนสถานะจากของแข็งเป็นของเหลว นอกจากนี้ยังสามารถใช้จำแนกความแตกต่างของตัวอย่าง ชนิดน้ำมันแต่ละชนิด ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีต่างกันออกไปในการวิเคราะห์ตัวอย่าง ตัวอย่างจะถูกวางบนจานอะลูมิเนียมที่อยู่ภายในเตาที่ควบคุมอุณหภูมิได้ (sample pan) โดยภายในเตาจะมีสารอ้างอิงซึ่งเป็นจานอะลูมิเนียมเปล่า (reference pan) เพื่อเป็นตัวเปรียบเทียบกับตัวอย่างภายใต้สภาวะเดียวกัน

#### อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. Differential calorimetry scanning รุ่น DSC 204 F1 Phoenix®
2. Aluminium volatile pan

#### วิธีการและสถานการณ์วิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 10 มิลลิกรัม ใส่ลงใน aluminium volatile pan
2. ทำตัวอย่างให้เย็นจนถึง -85 องศาเซลเซียส 2 นาที จากนั้นทำให้ร้อนอุณหภูมิจาก 85 ถึง 85 องศาเซลเซียส ในอัตราการระยะเวลา 5 องศาเซลเซียส/ นาที และคงอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส ไว้ 2 นาที จากนั้นทำให้เย็นจาก 85 ถึง -85 องศาเซลเซียส ในอัตราการระยะเวลา 5 องศาเซลเซียส/ นาที
3. เครื่องทำการบันทึกข้อมูล จุดเริ่มต้น (onset) จุดสูงสุด (peak) และจุดสิ้นสุด (offset)

### ก.16 การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินอี (Tocopherols และ Tocotrienol) ดัดแปลงจากวิธีของ Huang และ Ng (2011)

วิเคราะห์ปริมาณของโทโคฟีรอลและโทโคไตรอีนอลด้วย High-performance liquid chromatography ยี่ห้อ Hitachi HPLC system รุ่น L-2130 โดยใช้คอลัมน์ชนิด Inertsil® CN-3, SIL-100A (5 µm; 4.6 mm × 250 mm) และ guard column: Inertsil® SIL-100A (5 µm; 4 mm × 10 mm) (GL Science Inc., Tokyo, Japan) สารละลายมาตรฐาน  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  และ  $\delta$ -tocopherols และเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายมาตรฐาน  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  และ  $\delta$ -tocotrienols ยี่ห้อ supelco สารละลายที่ใช้ hexane ทำการวิเคราะห์ด้วยระบบ Mobile phase: hexane/isopropanol/ethyl acetate/acetic acid

สภาวะการทดลอง

Condition การทดสอบ

Detector ชนิด Fluorescence (Hitachi L-2485) ที่ความยาวคลื่นการกระตุ้น ( $\lambda_{ex}$ ) 298 nm และความยาวคลื่นการคาย ( $\lambda_{em}$ ) 328 nm

HPLC mobile phase: hexane/isopropanol/ethyl acetate/acetic acid (96.7:0.8:0.8:0.8 v/v/v/v)

Flow rate 1 ml/min

Injection volume: 20  $\mu$ l

$$\text{สูตรการคำนวณ (mg/kg)} = \frac{\text{amount} \times \text{dilution}}{\text{weight}}$$

ก.17 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging activity) ตามวิธีของ Lavelle (2002) และ Jiang และคณะ (2005)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีหลักการคือ สารละลายของอนุมูลอิสระ DPPH จะมีสีม่วงแดง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ที่ 517 นาโนเมตร ในกรณีตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดี จะทำให้สีม่วงแดงของสารละลาย DPPH เจือจางลงได้มากกว่าตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้น้อย

สารเคมี

1. สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 3.9432 กรัม ละลายในเมทานอล (methanol) ปรับปริมาตรรวมให้เป็น 100 มิลลิลิตร
2. เมทานอล (methanol)

การเตรียมกราฟมาตรฐานไทรอลอกซ์

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานไทรอลอกซ์ โดยเตรียมไทรอลอกซ์ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งไทรอลอกซ์ 0.025 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล ปิเปตมา 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 และ 40 ไมโครลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 200 ไมโครลิตร จะมีความเข้มข้นโดยรวมในหลอดทดลองเป็น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14 0.16, 0.20 และ 0.30 มิลลิโมลาร์ (ไมโครโมล/มิลลิลิตร) ตามลำดับ

2. เติมสารละลาย DPPH ปริมาณ 3800 ไมโครลิตร ในแต่ละหลอดทดลอง
3. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มีด 30 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็น blank
5. เขียนกราฟมาตรฐานไทรอลอกซ์ โดยคำนวณฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging (%)) และเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของไทรอลอกซ์ (มิลลิโมลาร์สมมูลของไทรอลอกซ์ หรือ ไมโครโมล/มิลลิลิตร) กับเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วิธีวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ชั่งน้ำมัน 1 กรัม ละลายในเมทานอล 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer)
2. นำมาปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 3500 rpm เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกส่วนมีขั้วและส่วนที่ไม่มีขั้ว
3. ดูดส่วนใส (methanol phase) 200 ไมโครลิตร และสารละลาย DPPH 3800 ไมโครลิตร ผสมเข้าด้วยกันด้วยเครื่องผสม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืด 15 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็น blank
5. คำนวณฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างน้ำมันเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์

## การคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

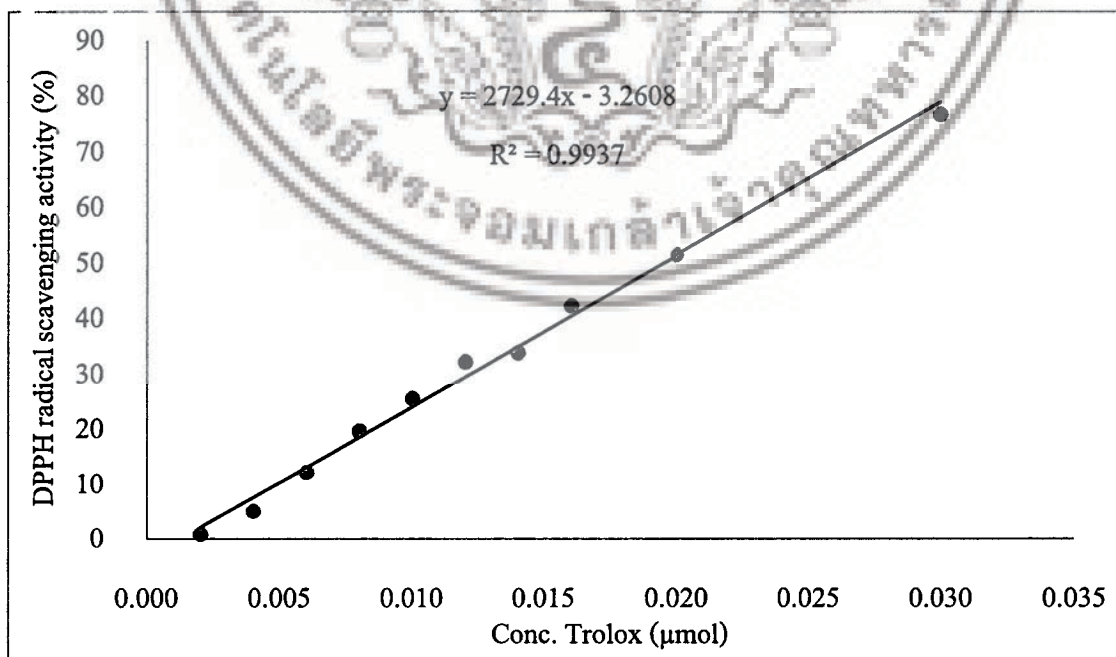
การคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารละลายมาตรฐานหรือสารตัวอย่าง โดยคำนวณเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging (%)) ตามสมการต่อไปนี้

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

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

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

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ มาแทนค่าในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานโทรลอกซ์ ดังภาพที่ ก.2



ภาพที่ ก.2 กราฟมาตรฐานโทรลอกซ์ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$y = 2729.4x - 3.2608 \quad (R^2 = 0.9937)$$

เมื่อ  $y$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายน้ำมันตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

$x$  = ความเข้มข้นของสารละลายโทรลอกซ์ (ไมโครกรัม/ สารละลายน้ำมันตัวอย่าง 0.2 มิลลิลิตร)

$c$  = จุดตัดแกน  $y$

ตัวอย่างการคำนวณ

ตัวอย่างน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธี ME

ปริมาณสารละลายน้ำมันเมล็ดองุ่น 0.2 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เท่ากับ 0.619 และค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม 0.835 แทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ (ภาพที่ ก.2) จะได้

$$\begin{aligned} \text{เปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH} &= [1 - (0.619/0.835)] \times 100 \\ &= 25.87 \end{aligned}$$

แทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์

$$25.87 = 2729.4x - 3.2608$$

$$x = 0.0107 \text{ ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์/ สารละลายน้ำมันตัวอย่าง 0.2 มิลลิลิตร}$$

เนื่องจากการนำสารละลายน้ำมันมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้เจือจางตัวอย่างโดยการละลายน้ำมัน 1 กรัม ในเมทานอล 5 มิลลิลิตร และเปิดสารละลายน้ำมันมาวัดค่าปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร จึงมีน้ำมันตัวอย่างอยู่ในสารละลายเท่ากับ  $[(1/5) \times 0.2] = 0.04$  กรัม มีปริมาณโทรลอกซ์เท่ากับ 0.0107 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ เพราะฉะนั้น ตัวอย่างน้ำมันคิดเป็น 100 กรัม จะมีฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระ DPPH =  $(0.0107/0.04) \times 100$  เท่ากับ 26.68 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อน้ำมันตัวอย่าง 100 กรัม

ตัวอย่างน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธี UAE

ปริมาณสารละลายน้ำมันเมล็ดองุ่น 0.2 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เท่ากับ 0.626 และค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม 0.835 แทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ (ภาพที่ ก.2) จะได้

$$\begin{aligned} \text{เปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH} &= [1 - (0.626/0.835)] \times 100 \\ &= 25.03 \end{aligned}$$

แทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$25.03 = 2729.4x - 3.2608$$

$$x = 0.0104 \text{ ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์/ สารละลายน้ำมันตัวอย่าง 0.2 มิลลิลิตร}$$

เนื่องจากในการนำสารละลายน้ำมันมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้เจือจางตัวอย่างโดยการละลายน้ำมัน 1 กรัม ในเมทานอล 5 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายน้ำมันมาวัดค่าปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร จึงมีน้ำมันตัวอย่างอยู่ในสารละลายเท่ากับ  $[(1/5) \times 0.2] = 0.04$  กรัม มีปริมาณโทรลอกซ์เท่ากับ 0.0104 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ เพราะฉะนั้น ตัวอย่างน้ำมันคิดเป็น 100 กรัม จะมีฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระ DPPH =  $(0.0104/0.04) \times 100$  เท่ากับ 26.00 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อน้ำมันตัวอย่าง 100 กรัม

#### ก.18 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS radical scavenging activity) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Sevim และคณะ (2013)

วิธีนี้เป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของแอนติออกซิแดนท์โดยรวม (total antioxidant activity) โดยอาศัยกลไกในการส่งผ่านอิเล็กตรอนไปรีดิวซ์สารอื่น เป็นการวัดความสามารถในการขจัดอนุมูล  $ABTS^{+}$  [2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulphonate radical cation)] ซึ่งเป็นวิธีวัดกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระทางอ้อม วิธีการทดลอง โดยใช้สาร ABTS [2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulphonic acid)] มีสูตรโมเลกุล คือ  $C_{18}N_{18}O_6S_4$  มาทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระ ด้วยการให้ถูกออกซิไดซ์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (potassium persulfate;  $K_2H_2O_8$ ) ให้กลายเป็น  $ABTS^{+}$  ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีสีฟ้า-เขียว มีค่าการดูดกลืนแสง  $\lambda_{max}$  ที่ 660, 734 และ 820 นาโนเมตร แต่ส่วนใหญ่นิยมวัดที่ 734 นาโนเมตร ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสาร ขึ้นอยู่กับความสามารถของตัวอย่างที่ทดสอบในการขจัดอนุมูล  $ABTS^{+}$  ดังนั้น เมื่อเติมสารทดสอบที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันลงไป จะทำให้สีของ  $ABTS^{+}$  จางลง

#### สารเคมี

1. สารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง ABTS 0.0384 กรัม ละลายน้ำปรับปริมาตรรวมให้เป็น 10 มิลลิลิตร
2. สารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (potassium persulfate) ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง 0.0066 กรัม ละลายน้ำ ปรับปริมาตรรวมให้เป็น 10 มิลลิลิตร
3. เอทานอล 95%
4. เฮกเซน (hexane)

#### การเตรียมกราฟมาตรฐานโทรลอกซ์

1. เตรียมสารละลาย  $ABTS^{+}$  โดยให้สารละลาย ABTS ทำปฏิกิริยากับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ในอัตราส่วน 1:1 นำสารละลายผสมเก็บในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนการใช้งาน 12-16 ชั่วโมง เมื่อนำมาใช้งานให้เจือจางด้วยเอทานอลจนวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ได้ 0.70 ( $\pm$  0.02) ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ โดยเตรียมโทรลอกซ์ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งโทรลอกซ์ 0.025 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล ปิเปตมา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48 และ 60 ไมโครลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยเอทานอลให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 300 ไมโครลิตร จะได้

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นโดยรวมในหลอดทดลองเป็น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14 0.16 และ 0.20 มิลลิโมลาร์ (ไมโครโมล/มิลลิลิตร) ตามลำดับ

3. เติมสารละลาย ABTS<sup>+</sup> 4000 ไมโครลิตร
4. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที ในที่มืด
5. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอลเป็น blank
6. เขียนกราฟมาตรฐานโทรลอกซ์ โดยคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ABTS radical scavenging (%)) และเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของโทรลอกซ์ (มิลลิโมลาร์สมมูลย์ของโทรลอกซ์ หรือ ไมโครโมล/มิลลิลิตร) กับเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

#### วิธีวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ชั่งน้ำมัน 0.5 กรัม ละลายในเฮกเซน 5 มิลลิลิตร
2. ปิเปตตัวอย่างสารละลายน้ำมัน 300 ไมโครลิตร และสารละลาย ABTS<sup>+</sup> 4000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืด 15 นาที
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอลเป็น blank
4. คำนวณฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระ ABTS ของตัวอย่างน้ำมันเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์

#### การคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS

การคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารละลายมาตรฐานหรือสารตัวอย่าง โดยคำนวณเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS radical scavenging (%)) ตามสมการต่อไปนี้

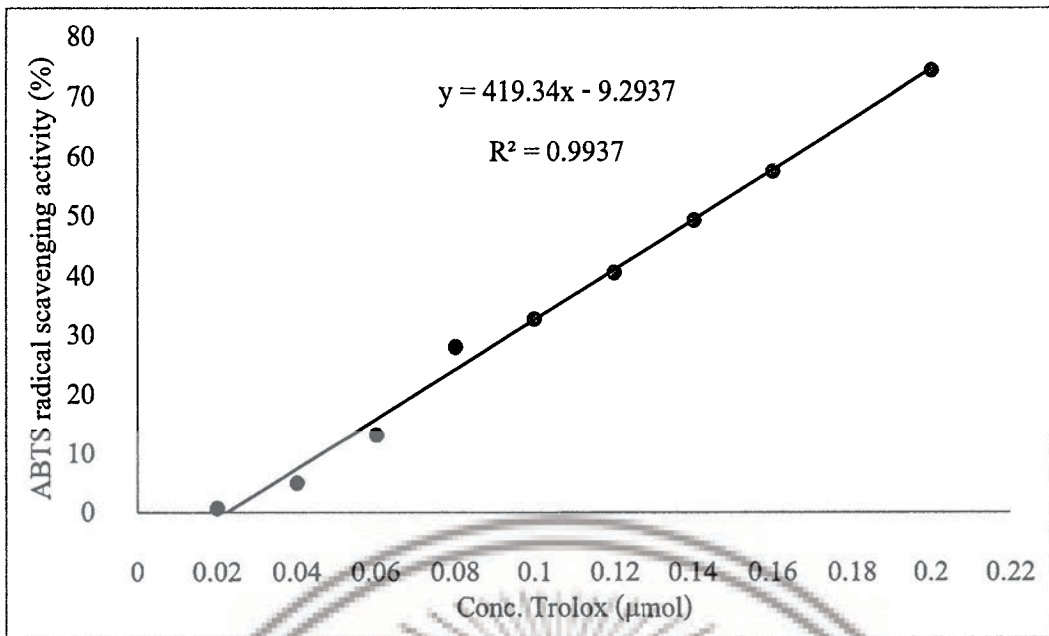
$$\text{เปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS} = \left[ 1 - \left( \frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right) \right] \times 100$$

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

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

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ มาแทนค่าในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานโทรลอกซ์ ดังภาพที่ ก.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ก.3 กราฟมาตรฐานโทรลอกซ์ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS

$$y = 419.34x - 9.2937 \quad (R^2 = 0.9937)$$

เมื่อ  $y$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายน้ำมันตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

$x$  = ความเข้มข้นของสารละลายโทรลอกซ์ (ไมโครกรัม/ สารละลายน้ำมันตัวอย่าง 0.3 มิลลิลิตร)

$c$  = จุดตัดแกน  $y$

ตัวอย่างการคำนวณ

ตัวอย่างน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธี ME

ปริมาณสารละลายน้ำมันเมล็ดองุ่น 0.3 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เท่ากับ 0.169 และค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม 0.493 แทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ (ภาพที่ ก.3) จะได้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS} = [1 - (0.169/0.493)] \times 100$$

$$= 65.72$$

แทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์

$$65.72 = 419.34x - 9.2937$$

$$x = 0.1789 \text{ ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์/ สารละลายน้ำมันตัวอย่าง 0.3 มิลลิลิตร}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารทสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากในการนำสารละลายน้ำมันมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้เจือจางตัวอย่างโดยการละลายน้ำมัน 1 กรัม ในเฮกเซน 5 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายน้ำมันมาวัดค่าปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร จึงมีน้ำมันตัวอย่างอยู่ในสารละลายเท่ากับ  $[(1/5) \times 0.3] = 0.06$  กรัม มีปริมาณโทรลอกซ์เท่ากับ 0.18 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ เพราะฉะนั้น ตัวอย่างน้ำมันคิดเป็น 100 กรัม จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ  $ABTS = (0.1789/0.06) \times 100$  เท่ากับ 298.17 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อน้ำมันตัวอย่าง 100 กรัม

ตัวอย่างน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยวิธี UAE

ปริมาณสารละลายน้ำมันเมล็ดองุ่น 0.2 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เท่ากับ 0.181 และค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม 0.493 แทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ (ภาพที่ ก.3) จะได้

$$\begin{aligned} \text{เปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS} &= [1 - (0.181/0.493)] \times 100 \\ &= 63.29 \end{aligned}$$

แทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์

$$63.29 = 419.34x - 9.2937$$

$$x = 0.1731 \text{ ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์/ สารละลายน้ำมันตัวอย่าง 0.2 มิลลิลิตร}$$

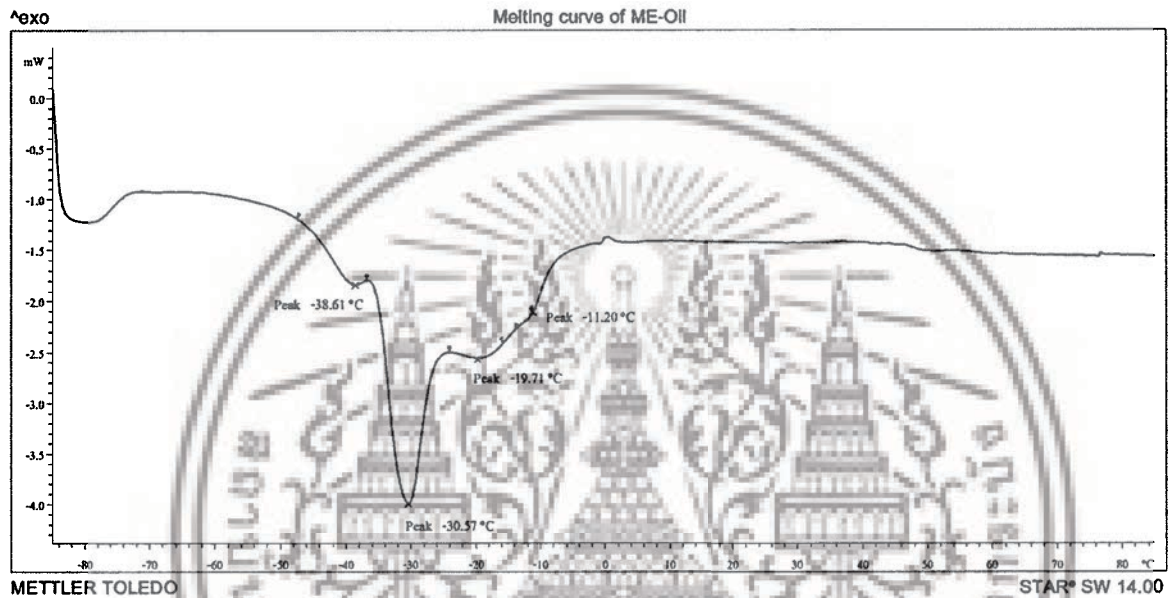
เนื่องจากในการนำสารละลายน้ำมันมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้เจือจางตัวอย่างโดยการละลายน้ำมัน 1 กรัม ในเฮกเซน 5 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายน้ำมันมาวัดค่าปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร จึงมีน้ำมันตัวอย่างอยู่ในสารละลายเท่ากับ  $[(1/5) \times 0.3] = 0.06$  กรัม มีปริมาณโทรลอกซ์เท่ากับ 0.1731 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ เพราะฉะนั้น ตัวอย่างน้ำมันคิดเป็น 100 กรัม จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ  $ABTS = (0.1731/0.06) \times 100$  เท่ากับ 288.50 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อน้ำมันตัวอย่าง 100 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

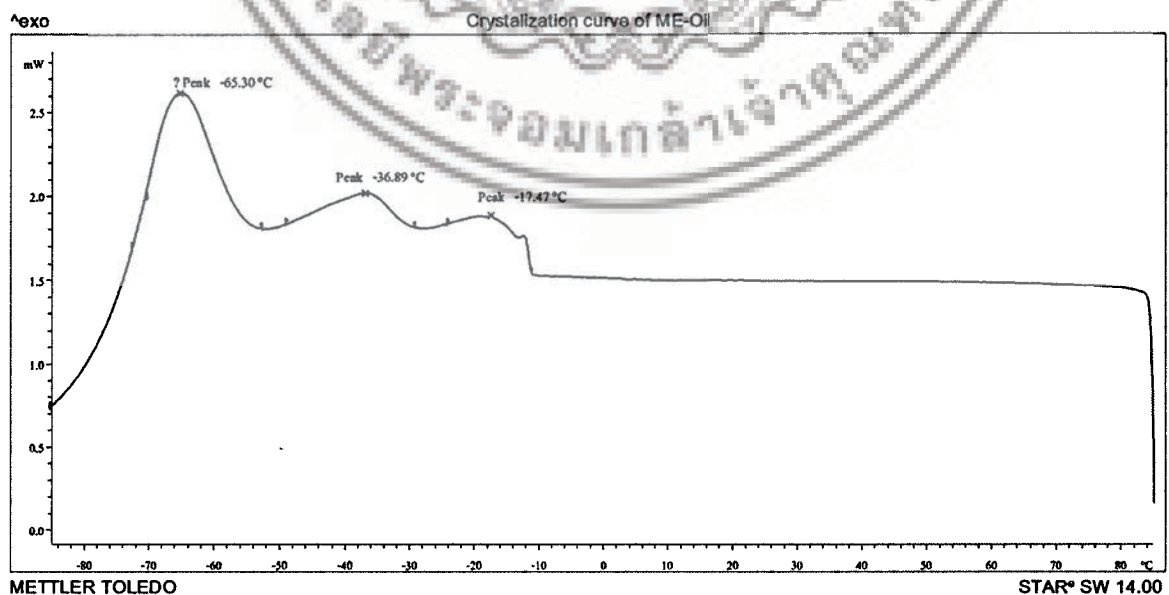
## ภาคผนวก ข

## ตัวอย่างเทอร์โมแกรมของสมบัติทางความร้อน (Thermal behavior)

## ข.1 สมบัติทางความร้อนของน้ำมันเมล็ดตองุ่นที่สกัดได้จากวิธีแช่ (Maceration extraction; ME)



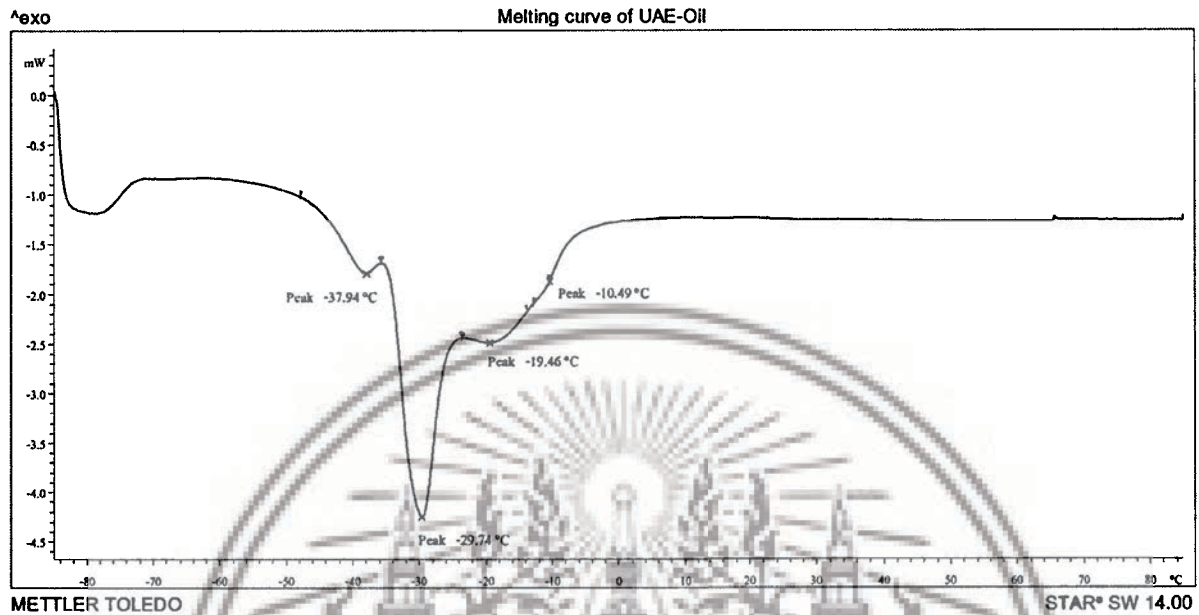
ภาพที่ ข.1 เทอร์โมแกรมของสมบัติทางความร้อนของอุณหภูมิการเกิดจุดหลอมเหลวของน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี ME



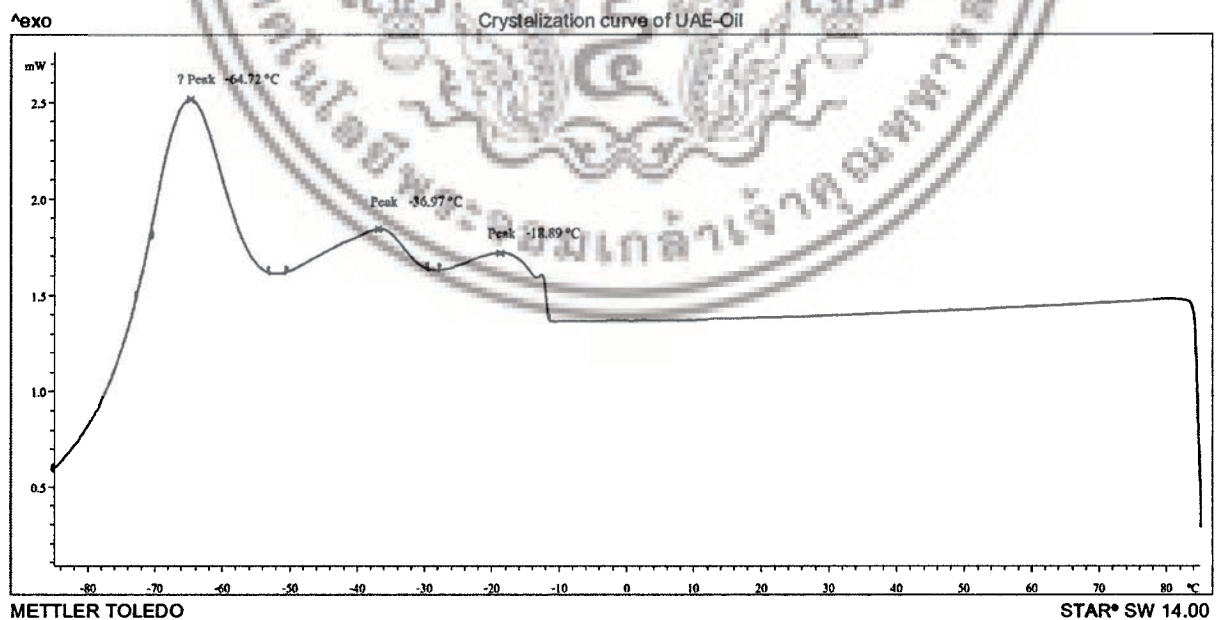
ภาพที่ ข.2 เทอร์โมแกรมของสมบัติทางความร้อนของอุณหภูมิการตกผลึกของน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี ME

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.2 สมบัติทางความร้อนของน้ำมันเมล็ดองุ่นที่สกัดได้จากวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด (Ultrasound-assisted extraction; UAE)



ภาพที่ ข.3 เทอร์โมแกรมของสมบัติทางความร้อนของอุณหภูมิการเกิดจุดหลอมเหลวของน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี UAE



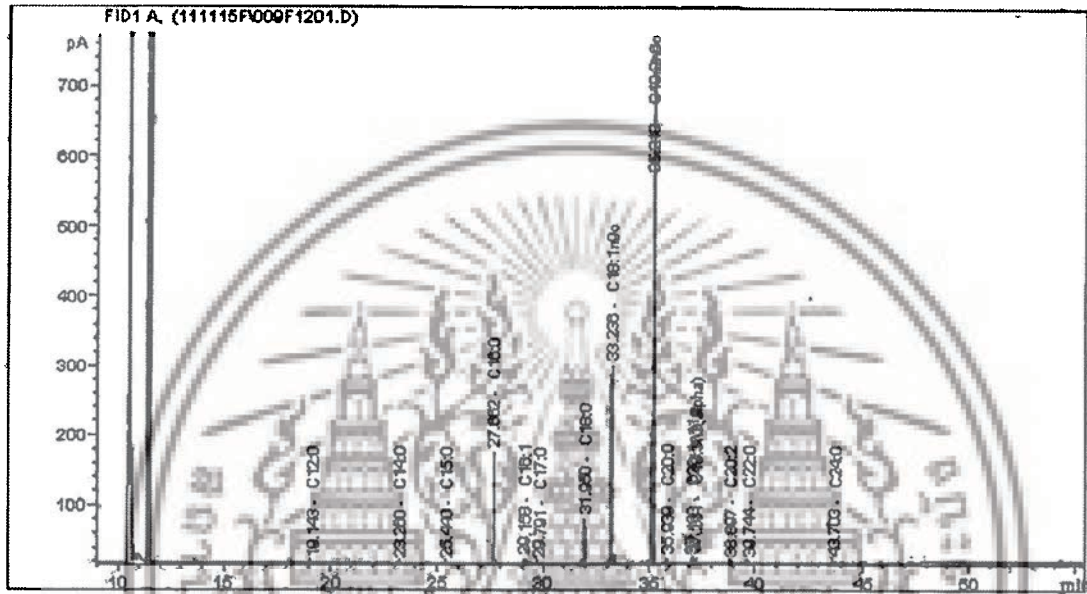
ภาพที่ ข.4 เทอร์โมแกรมของสมบัติทางความร้อนของอุณหภูมิการตกผลึกของน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี UAE

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

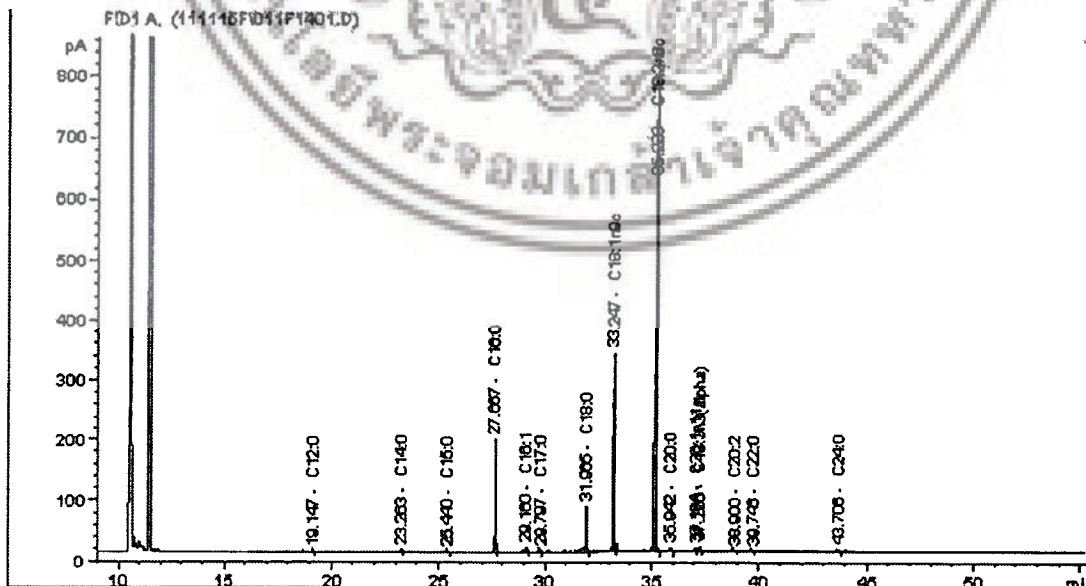
## ภาคผนวก ค

ตัวอย่างโครมาโตแกรมของการวิเคราะห์กรดไขมันด้วยวิธี GC

และการวิเคราะห์วิตามินอีด้วยวิธี HPLC

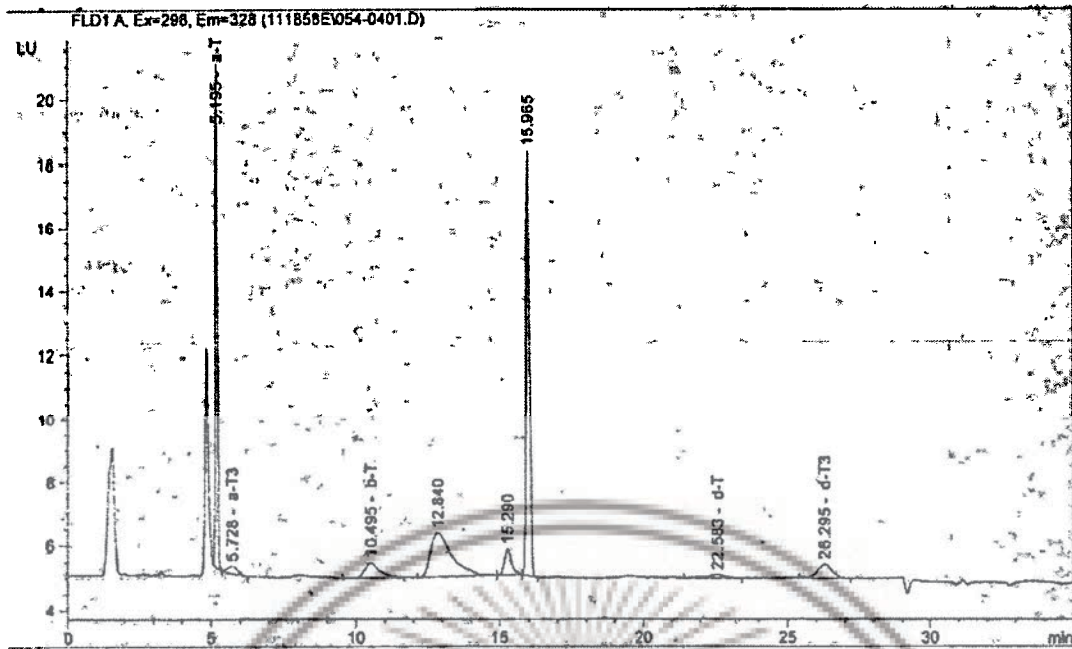


ภาพที่ ค.1 โครมาโตแกรมของชนิดกรดไขมันที่สกัดด้วยวิธี ME

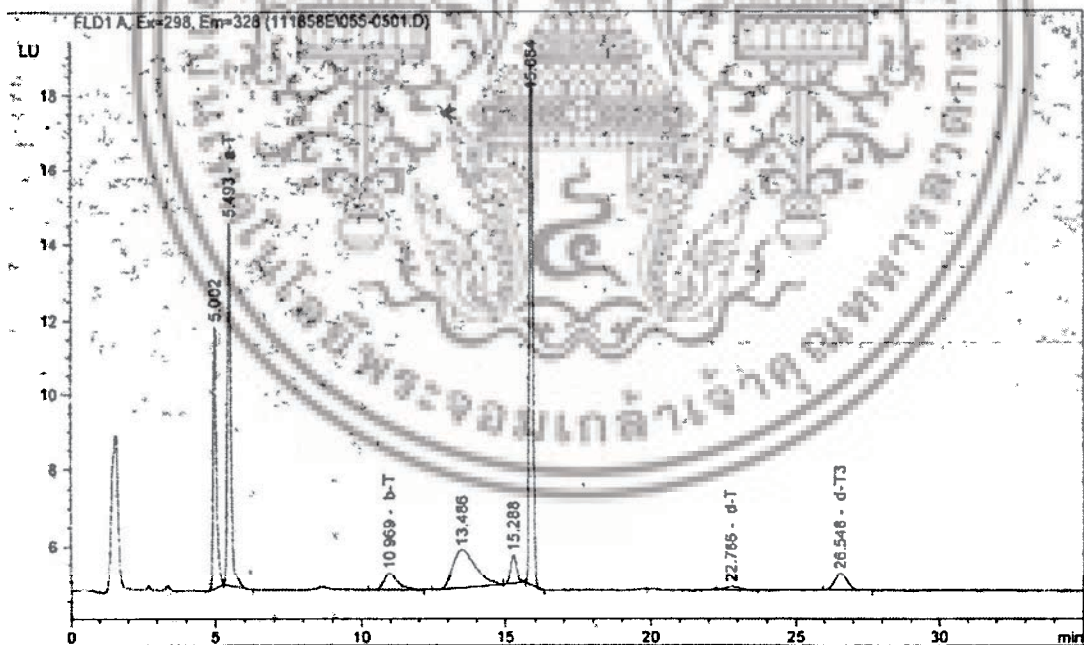


ภาพที่ ค.2 โครมาโตแกรมของชนิดกรดไขมันที่สกัดด้วยวิธี UAE

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



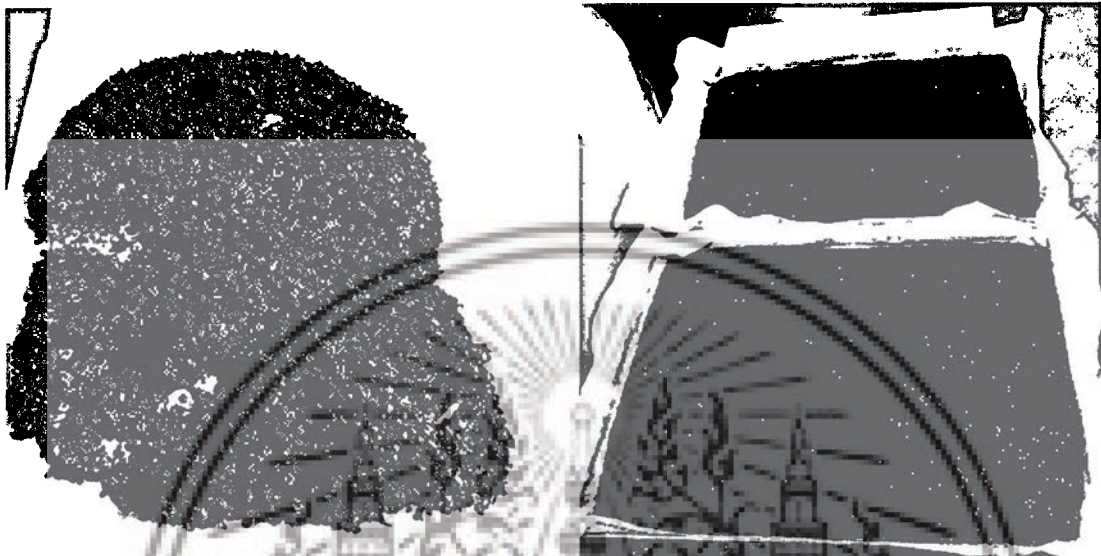
ภาพที่ ค.3 โครมาโตแกรมของชนิดโทคอลส์ที่สกัดด้วยวิธี ME



ภาพที่ ค.4 โครมาโตแกรมของชนิดโทคอลส์ที่สกัดด้วยวิธี UAE

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง  
ภาพการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่น

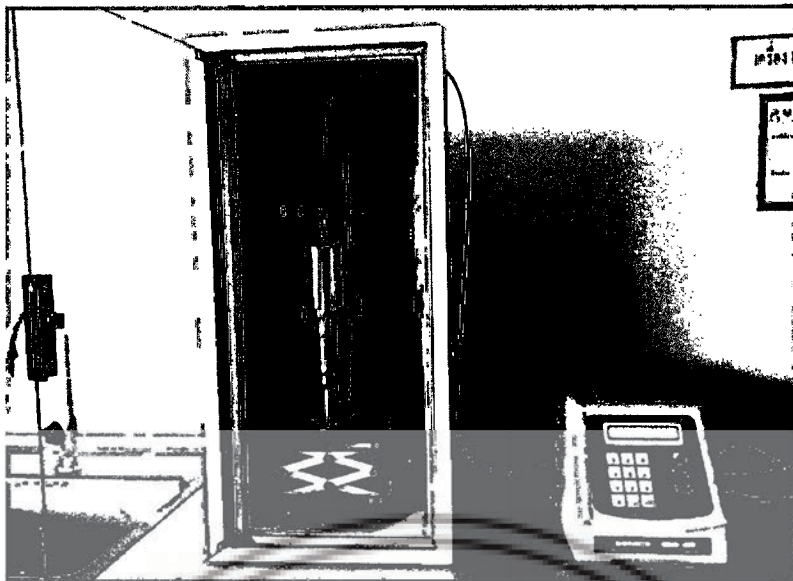


ภาพที่ ง.1 กากองุ่น และเมล็ดองุ่น



ภาพที่ ง.2 การสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่นด้วยวิธี ME

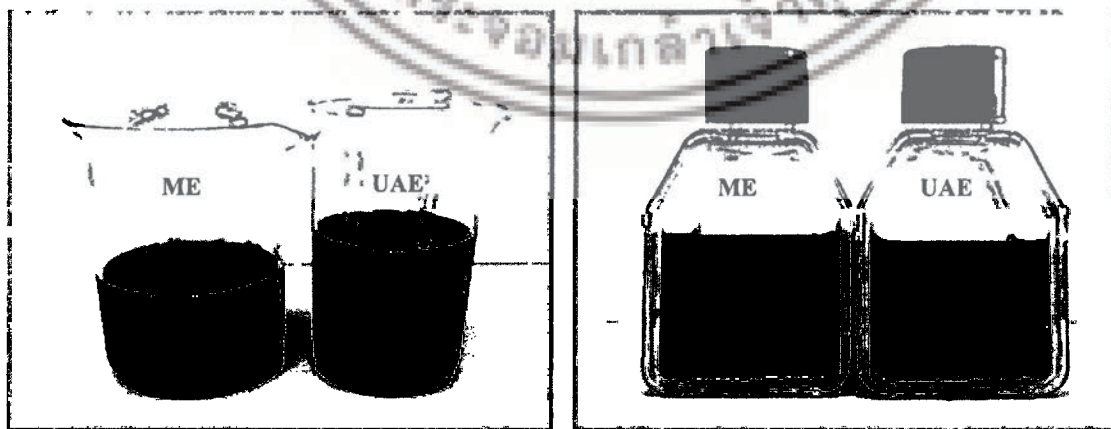
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ง.3 การสกัดน้ำมันเมล็ดงุ่นด้วยวิธี UAE



ภาพที่ ง.4 น้ำมันเมล็ดงุ่นและเฮกเซน (miscella) ที่ได้จากการกรองก่อนระเหยตัวทำละลาย



ภาพที่ ง.5 น้ำมันเมล็ดงุ่นที่ได้หลังระเหยตัวทำละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัตินักวิจัย

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

### ประวัติการศึกษา

วท.บ. (เกษตรศาสตร์) เกียรตินิยมอันดับ 1 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
 M.Sc. (Food Engineering), The Most Outstanding 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. พิศิษฐ์ศักดิ์ วิเศษกุล และ กิตติชัย บรรจง. 2556. การตัดแยกถั่วลิสงเพื่อลดปริมาณอพลาทอกซินด้วยคุณสมบัติความหนาแน่นของเมล็ด. บทความวิจัยฉบับสมบูรณ์การนำเสนอผลงานวิจัยแบบบรรยายและการจัดนิทรรศการทางวิชาการ ราชภัฏวิชาการเพื่อท้องถิ่น ครั้งที่ 6 ระหว่างวันที่ 14-16 กุมภาพันธ์ 2556 :194-199.
2. ดุษฎี ศรีเจริญ, อพัชชา จินดาประเสริฐ, อติศร เสวตวิวัฒน์ และ กิตติชัย บรรจง. 2554. การศึกษาแหล่งปนเปื้อนของเชื้อราในขั้นตอนการบรรจุนมพลาสเจอไรซ์. การประชุมวิชาการระดับชาติมหาวิทยาลัยบูรพา 2554 ระหว่าง 6-7 กรกฎาคม 2554, ณ มหาวิทยาลัยบูรพา, จังหวัดชลบุรี : 1-9.
3. มัลลิกา ไชยวุฒิ, กิตติชัย บรรจง, จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ อติศร เสวตวิวัฒน์. 2554. ผลของการหมักต่อคุณภาพและการยอมรับของไส้กรอกอีสานจากเนื้อโคพื้นเมืองไทยที่หมักในไส้หมูสดและไส้คอลลาเจน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 29(3 เล่ม 2): 18-27.
4. Thiangtham, S. and Banjong, K. 2012. Comparison of ultrasonic and ultrasonic assisted heat extraction for red grape pomace. International conference on food and applied bioscience 6-7 February 2012, Chiangmai, Thailand: P45(150)
5. 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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้