รายงานการปฏิบัติงานสหกิจ

การสกัดเมล็ดลำไยโดยการใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัด

Extraction of longan seed (*Dimocarpus longan* Lour.) using enzymatic

โดย

นางสาวขนิษฐา วังหิน รหัสนักศึกษา 5940202105

นางสาวเสาวลักษณ์ สุขหนา รหัสนักศึกษา 5940202136

หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

รายงานการปฏิบัติงานสหกิจ

การสกัดเมล็ดลำไยโดยการใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัด

Extraction of longan seed (*Dimocarpus longan* Lour.) using enzymatic

โดย

นางสาวขนิษฐา วังหิน รหัสนักศึกษา 5940202105

นางสาวเสาวลักษณ์ สุขหนา รหัสนักศึกษา 5940202136

หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

การสกัดเมล็ดลำไยโดยการใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัด

Extraction of longan seed (*Dimocarpus longan* Lour.) using enzymatic

รายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษาฉบับนี้ได้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

.....

(ดร.อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ)

.....

(นางสาวทิพาพร ทองคำ)

พนักงานที่ปรึกษา

.....

(ดร.ปิยสุดา เทพนอก)

อาจารย์นิเทศสหกิจศึกษา

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตร
และอุตสากหกรรมเกษตร
เลขที่ 50 ถนนงามวงศ์วาน แขวงลาดยาว
เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10903 ตู้ ปณ.1109
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6 มีนาคม 2563

เรื่อง ขอส่งรายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

เรียน อาจารย์ ที่ปรึกษาสหกิจศึกษา

ตามที่ข้าพเจ้า นางสาวขนิษฐา วังหิน และนางสาวเสาวลักษณ์ สุขหนา นักศึกษาสาขาวิชาชีววิทยา หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ได้ปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ระหว่างวันที่ 18 พฤศจิกายน พ.ศ. 2562 ถึงวันที่ 6 มีนาคม พ.ศ. 2563 ในตำแหน่งนักศึกษาฝึกงาน ณ หน่วยปฏิบัติการสมุนไพรและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และได้รับมอบหมายจากพนักงานที่ปรึกษาให้ปฏิบัติงาน ดังนี้

- ทำโครงการวิจัย เรื่อง การสกัดเมล็ดลำไยโดยการใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัด
- ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ หาประมาณฟีนอลิกทั้งหมด และหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด
- ช่วยเจ้าหน้าที่วิจัยบริการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
- ช่วยเจ้าหน้าที่วิจัยเตรียมวัตถุดิบ/ส่วนประกอบในการทำผลิตภัณฑ์ต่างๆ

บัดนี้ การปฏิบัติงานสหกิจได้สิ้นสุดลงแล้ว ข้าพเจ้าขอส่งรายงานดังกล่าวมาพร้อมกันนี้ จำนวน 1 แผ่น เพื่อขอรับคำปรึกษาต่อไป จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

ขอแสดงความนับถือ
นางสาวขนิษฐา วังหิน
นางสาวเสาวลักษณ์ สุขหนา

บทคัดย่อ

เมล็ดลำไยเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงเป็นองค์ประกอบ วัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้เพื่อต้องการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเมล็ดลำไย โดยศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นเอทานอล ที่ระดับ 0% 30% 50% 70% และ 99% และศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้น (0% 1% 3% และ 5%) และระยะเวลาในการบ่มของเอนไซม์เพกทิเนสที่ใช้ร่วมการสกัด (120 150 และ 180 นาที) จากนั้นสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยเครื่อง Ultrasonic Bath ผลการทดลองพบว่า ตัวทำละลายเอทานอล 50% มีประสิทธิภาพในการสกัดเมล็ดลำไยมากที่สุด ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method และวิธี Ferric reducing ability power (FRAP) assay ผลการทดสอบพบว่า ตัวอย่างที่ถูกย่อยด้วย เอนไซม์เพคติเนสความเข้มข้น 5% บ่มที่ 150 นาที มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุดที่ 49.61±2.10% ทดสอบที่ความเข้มข้น 0.01 mg/ml ตัวอย่างที่ถูกย่อยด้วย เอนไซม์เพคติเนสความเข้มข้น 3% บ่มที่ 150 นาที พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเฉลี่ยสูงสุดที่ 397.02±39.45 µg GAE /mg sample เมื่อทดสอบความสามารถของสารสกัดในการให้อิเล็กตรอนอิสระ (FRAP) พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้เอนไซม์เข้ามาช่วยในการสกัดในเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมสามารถสกัดสารสำคัญออกจากเมล็ดลำไยได้ ซึ่งงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการศึกษาต่อไปได้

คำสำคัญ สารสกัด เอนไซม์ สารประกอบฟีนอลิก อนุมูลอิสระ

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษาฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากบุคลากรหลายท่านที่ได้ถ่ายทอดความรู้ประสบการณ์ให้คำปรึกษาในด้านวิชาการรวมทั้งให้ความช่วยเหลือด้านต่างๆซึ่งผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วยโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ดร.อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ และคุณทิพาพร ทองคำ พนักงานที่ปรึกษาที่ได้ให้คำปรึกษาคำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานเป็นอย่างดีตลอดระยะเวลาการปฏิบัติงาน

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านและสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร หน่วยสมุนไพรและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต บางเขน ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสถานที่ในการปฏิบัติงาน

ขอขอบพระคุณ ดร.ปิยสุดา เทพนอก อาจารย์ที่ปรึกษาและคณาจารย์ที่สาขาชีววิทยาทุกท่านที่คำปรึกษา คำแนะนำและข้อเสนอแนะรวมทั้งให้ความช่วยเหลือด้านต่างๆและเป็นกำลังที่ดีเสมอมา

ขอขอบพระคุณคุณพ่อคุณแม่ที่สนับสนุนให้โอกาสทางการศึกษาและ เป็นกำลังใจที่ดีเสมอมาจนทำให้รายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษาสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

มีนาคม 2563

นางสาวขนิษฐา วังหิน

นางสาวเสาวลักษณ์ สุขหนา

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	**ก**
กิตติกรรมประกาศ	**ข**
สารบัญ	**ค**
สารบัญตาราง	**จ**
สารบัญรูปภาพ	**ฉ**
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ชื่อและที่ตั้งของสถานประกอบการ	1
1.2 ประวัติความเป็นมาของสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร	1
1.3 ลักษณะการประกอบการ ผลิตภัณฑ์/ผลิตผล และการให้บริการหลักขององค์การ	3
1.4 ตำแหน่งและลักษณะงานที่ได้รับมอบหมายในการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา	4
1.5 ผลงานทางสถาบัน	4
1.6 รูปแบบการจัดตั้งองค์กรและการบริหารงานองค์กร	6
1.7 บุคลากรในหน่วยงาน	6
1.8 พนักงานที่ปรึกษา	8
บทที่ 2 โครงการที่ได้รับมอบหมาย	
2.1 แผนงานการปฏิบัติงาน	9
2.2 งานที่ปฏิบัติ	10
2.3 ที่มาและความสำคัญของปัญหา	10
2.4 วัตถุประสงค์	11
2.5 ขอบเขตของงานวิจัย	11
2.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	11
2.7 นิยามศัพท์เฉพาะ	11
2.8 ทบทวนวรรณกรรม	12
2.9 รายงานที่เกี่ยวข้อง	25

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
2.10 ขั้นตอนการทดลอง	29
2.11 ผลการทดลอง	33
2.12 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง	41
บทที่ 3 สรุปผลการปฏิบัติงาน	
3.1 ด้านทฤษฎี	43
3.2 ด้านสังคม	43
3.5 ด้านการปฏิบัติ	43
บทที่ 4 วิจารณ์ ข้อเสนอแนะ	44
ภาคผนวก	

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลลิก	34
2	ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์	35
3	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging	36
4	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS	37
5	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP	38
6	ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดเมล็ดลำไยที่ได้หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์เพกติเนส	39
7	ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดเมล็ดลำไยที่ได้หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์เพกติเนส	40
8	ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกของสารสกัดเมล็ดลำไยโดยใช้เอนไซม์เพกติเนสช่วยในการสกัด	41

สารบัญรูป

ภาพ	หน้า
ภาพที่ 1 แผนที่สถานที่ตั้งสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร	9
ภาพที่ 2 บุคลากรภายในหน่วยงาน	6
ภาพที่ 3 ลักษณะเมล็ดลำไย	12
ภาพที่ 4 โครงสร้างพื้นฐานของวิตามินซี	17
ภาพที่ 5 โครงสร้างของวิตามินอี	18
ภาพที่ 6 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก	18
ภาพที่ 7 โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟลาโวนอยด์	19

บทที่ 1

บทนำ

1.1.ชื่อและที่ตั้งของสถานประกอบการ

1.1.1. ชื่อหน่วยงาน

สถาบันสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute (KAPI) หน่วยปฏิบัติการสมุนไพรและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

1.1.2. ที่ตั้งสถานประกอบการ

อาคารปฏิบัติการวิจัยกลาง และอาคารอุตสาหกรรมเกษตร 3 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 50 ถนนงามวงศ์วาน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10903 ตู้ ปณ.1109

โทรศัพท์ 0-2942-8600-3 ภายใน 1610-17

แฟกซ์ 0-2562-0338

โฮมเพจ : http://www.kapi.ku.ac.th

อีเมล์ : aap@ku.ac.th

ภาพที่ 1 แผนที่สถานที่ตั้งสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร

1.2. ประวัติความเป็นมาของสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร

เป็นที่ทราบกันดีว่าประเทศไทยของเรานั้นเป็น 1 ในไม่ถึง 10 ประเทศในโลก ที่สามารถผลิตสินค้าเกษตรออกจำหน่ายยังตลาดโลก แต่มูลค่าเชิงเศรษฐกิจที่ประเทศไทยได้รับจากการขายผลิตผลเกษตรในรูปของวัตถุดิบหรือสินค้าแปรรูปเบื้องต้นยังอยู่ในระดับต่ำกว่าที่ควร ฉะนั้นเพื่อเป็นการแก้ไขปัญหาดังกล่าว รัฐบาลจึงได้มีนโยบายสนับสนุนหน่วยงานต่างๆ ให้ดำเนินงานวิจัยและสร้างบุคลากรที่จะช่วยพัฒนาเทคโนโลยีด้านการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตรของประเทศให้เจริญก้าวหน้า ในส่วนของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งเป็นศูนย์รวบรวมบุคลากร และนักวิจัยที่มีความรู้ความสามารถในด้านการเกษตร อุตสาหกรรมเกษตร และสาขาวิชาอื่นที่เกี่ยวข้องกับการเกษตร มีหน่วยงานต่างๆ ซึ่งทำการศึกษา และวิจัยด้านการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตสินค้าเกษตรและการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารประเภทต่างๆ จากวัตถุดิบทางการเกษตร ยังไม่มีหน่วยงานใดที่มุ่งเน้นด้านการเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ที่ไม่ใช่อาหาร (Non-Food Product) ดังนั้นเมื่อประมาณปี พ.ศ.2529 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จึงได้เริ่มดำเนินการที่จะของบประมาณและจัดตั้งหน่วยงานตามที่ได้ตั้งใจไว้ และในที่สุด "สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร" ก็ได้รับการจัดตั้งและแบ่งส่วนราชการเป็นหน่วยงานใหม่ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เพื่อทำหน้าที่ค้นคว้าวิจัยด้านการพัฒนาเทคโนโลยีในการแปรรูปผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร ให้เน้นผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่ม เมื่อวันที่ 29 กรกฎาคม พ.ศ.2534 ตามประกาศของทบวงมหาวิทยาลัย เรื่อง "การแบ่งส่วนราชการในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์" ซึ่งประกาศในราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 108 ตอนที่ 137 เมื่อวันที่ 8 สิงหาคม พ.ศ.2534 สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มีชื่อเรียกอย่างย่อๆ ว่า "สถาบันผลิตผลเกษตรฯ" และชื่อภาษาอังกฤษว่า "Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute" หรือ KAPI โดยมีศาสตราจารย์ ดร.ธีระ สูตะบุตร ซึ่งเป็นผู้ก่อตั้งสถาบันฯ และดำรงตำแหน่งผู้อำนวยการสถาบันฯ เป็นคนแรก ในระหว่างปี พ.ศ. 2534-2540 ในลำดับต่อมา รองศาสตราจารย์ วิชัย หฤทัยธนาสันติ์ ได้รับแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งผู้อำนวยการสถาบันฯ ในระหว่างปี พ.ศ.2540-2552 และต่อจากนั้น นางยุพา ปานแก้ว ได้รับแต่งตั้งเป็นผู้อำนวยการสถาบันผลิตผลเกษตรฯ สืบต่อมา ตั้งแต่ปี พ.ศ.2552 จนถึงปัจจุบัน

1.3. ลักษณะการประกอบการ ผลิตภัณฑ์/ผลิตผล และการให้บริการหลักขององค์การ

1.3.1. พันธกิจของสถานประกอบการ

ทำการวิจัยและพัฒนาการใช้ประโยชน์ชีวมวล (Biomass) และวัสดุเหลือใช้จากผลิตผลเกษตรสู่ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตรที่ไม่ใช่อาหาร เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มที่ยั่งยืน รักษาสิ่งแวดล้อมสู่การสร้างเสริมความเข้มแข็งทางเทคโนโลยี ลดการนำเข้า และสนับสนุนการส่งออก ตลอดจนการสร้างความสามารถในการแข่งขันของประเทศ

1.3.2. วิสัยทัศน์ (VISION)

เป็นหน่วยงานที่มีความเป็นเลิศ ในการสร้างสรรค์เทคโนโลยี เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ชีวมวลทางการเกษตร (Agriculture Biomass) จากผลิตผลเกษตรสู่ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตรที่ไม่ใช่อาหาร (Non-Food)

1.3.3. วัตถุประสงค์ (OBJECTIVE)

พัฒนาคุณภาพและสร้างมาตรฐานงานวิจัยอย่างต่อเนื่องและเป็นสากล ดำรงความเป็นเลิศทางวิชาการด้านอุตสาหกรรมเกษตรที่ไม่ใช่อาหาร (Non-Food) เพื่อให้เกิดการยอมรับในผลงานวิจัยวิชาการของสถาบันฯ และมีการนำไปใช้ให้เกิดความคุ้มค่าและเป็นประโยชน์อย่างแท้จริง

1.3.4 ภารกิจหลักของสถาบัน

1.3.4.1. วิจัยและพัฒนาด้านการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตรที่ไม่ใช่อาหาร (Non-Food)

1.3.4.2. ให้บริการทางวิชาการและถ่ายทอดเทคโนโลยีเพื่อขยายผลงานวิจัยและเทคโนโลยีสู่สังคม

1.3.6. การให้บริการหลักขององค์กร

1.3.6.1. วิจัยและพัฒนาการใช้ประโยชน์จากสารสกัดธรรมชาติจากพืชสมุนไพร รวมทั้งวัสดุเหลือใช้จากธรรมชาติ เพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มาตรฐานเป็นที่ยอมรับทั้งในและต่างประเทศ

1.3.6.2. การพัฒนามาตรฐานงานวิจัยด้านสมุนไพรอย่างต่อเนื่องเพื่อความเป็นเลิศทางวิชาการ

1.3.6.3. ให้บริการทางวิชาการและถ่ายทอดเทคโนโลยี เพื่อขยายงานวิจัยสู่สังคม เกี่ยวกับเคมีเบื้องต้นของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหย ขั้นตอนการผลิตสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากพืช ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากพืช การตรวจสอบคุณภาพ การพัฒนาผลิตภัณฑ์ และการใช้ประโยชน์

1.4. ตำแหน่งและลักษณะงานที่ได้รับมอบหมายในการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

ตำแหน่งงานที่ได้รับมอบหมายคือผู้ช่วยนักวิจัย ลักษณะงาน คือ รับผิดชอบการวิจัยในฐานะผู้ช่วยนักวิจัย เตรียมเอกสารที่เกี่ยวข้องในการทำวิจัย ทำการทดลองการวิจัย บันทึกข้อมูลต่างๆในการทำวิจัย ร่วมทำโครงการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากดักแด้ไหมอีรี่เพื่อพัฒนาเป็นอาหารเสริมสุขภาพ ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหย รวมทั้งปฏิบัติงานอื่นๆที่ได้รับมอบหมาย

1.5. ผลงานทางสถาบัน

- เจลแต้มสิว คาพีโอกุ ผลิตภัณฑ์เจลแต้มสิว
- ผงข้าวแดงลดคลอเลสเตอรอลบรรจุแคปซูล
- การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดสุคนธบำบัดจากน้ำมันหอมระเหยกฤษณา
- การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชาเสริมสุขภาพและลดน้ำตาลในเลือดจากกล้วยไม้สกุลหวาย

1.6. รูปแบบการจัดตั้งองค์กรและการบริหารงานองค์กร

ประกอบไปด้วย 4 ฝ่าย ดังนี้

1.6.1. ฝ่ายสำนักงานเลขานุการ

- งานสารบรรณ
- งานการเงินและบัญชี
- งานนโยบายและแผน
- งานการเจ้าหน้าที่
- งานพัสดุ

- งานอาคารสถานที่และยานพาหนะ
- งานบริการวิชาการและวิเทศสัมพันธ์

1.6.2. ฝ่ายพัฒนาเชิงธุรกิจ

ประกอบด้วย 3 หน่วยงาน ดังนี้

- หน่วยพัฒนาธุรกิจและการตลาด
- หน่วยเทคโนโลยีสารสนเทศ
- หน่วยบ่มเพาะและถ่ายทอดเทคโนโลยี

1.6.3. ฝ่ายนาโนเทคโนโลยีและเทคโนโลยีชีวภาพ

ประกอบด้วย 4 หน่วยงาน ดังนี้

- หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพเพื่ออุตสาหกรรม
- หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและเครื่องสำอาง
- หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีเทคโนโลยีเอ็นไซม์ และการจัดการของเสีย
- หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีการตรวจสอบสินค้าโดยวิธีไม่ทำลาย

1.6.4. ฝ่ายเทคโนโลยีชีวมวลและพลังงานชีวภาพ

ประกอบด้วย 8 หน่วยงาน ดังนี้

- หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีแป้ง น้ำตาลและยางพารา
- หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีสิ่งทอ
- หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีเยื่อและกระดาษ
- หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีกระดาษและผลิตภัณฑ์พื้นบ้าน
- หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีข้าว
- หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีสมุนไพรและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ
- หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีโพลีเมอร์และเส้นใยย่อยสลายได้จากธรรมชาติ
- หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีไม้โตเร็วเพื่อพลังงานทดแทน

1.7. บุคลากรในหน่วยงาน

ชื่อ-สกุล: ดร.อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ

ตำแหน่ง: หัวหน้าหน่วย

นักวิจัยชำนาญการ

อีเมล์: aapuls@ku.ac.th

โทร: 02-9428600-3 ต่อ 406

ชื่อ-สกุล: นางสาวประภัสสร รักถาวร

ตำแหน่ง: รองหัวหน้าหน่วย

นักวิจัยชำนาญการ

อีเมล์: aappsr@ku.ac.th

โทร: 02-9428600-3 ต่อ 407

ชื่อ-สกุล: นางสาวเกสรี กลิ่นสุคนธ์

ตำแหน่ง: เจ้าหน้าที่วิจัย

อีเมล์: aapkrk@ku.ac.th

โทร: 02-9428600-3 ต่อ 402

ชื่อ-สกุล: นางสาวลลิตา คชารัตน์

ตำแหน่ง: เจ้าหน้าที่วิจัย

อีเมล์: aapltk@ku.ac.th

โทร: 02-9428600-3 ต่อ 402

ชื่อ-สกุล: นางสาวทิพาพร ทองคำ
ตำแหน่ง: เจ้าหน้าที่วิจัย
อีเมล์: thipapon.thongkum@gmail.com
โทร: 02-9428600-3 ต่อ 402

ชื่อ-สกุล: นางสาวสุริสา สากยโรจน์
ตำแหน่ง: เจ้าหน้าที่วิจัย
อีเมล์: surisakayaroj@gmail.com
โทร: 02-9428600-3 ต่อ 402

ชื่อ-สกุล: นางสาวณัฐภรณ์ เปรสันเทียะ
ตำแหน่ง: เจ้าหน้าที่วิจัย
อีเมล์: aiy.knn@hotmail.com
โทร: 02-9428600-3 ต่อ 402

ชื่อ-สกุล: นางนารีนาถ ค้ำชู
ตำแหน่ง: พนักงานประจำห้องทดลอง
อีเมล์: -
โทร: 02-9428600-3 ต่อ 402

1.8. พนักงานที่ปรึกษา

ดร.อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ

ตำแหน่ง: หัวหน้าหน่วย และนักวิจัยชำนาญการ

เชี่ยวชาญด้านเชี่ยวชาญทางด้านการสกัดและการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

ผลงาน : ผลิตภัณฑ์แผ่นสติ๊กเกอร์ต้านเชื้อจุลินทรีย์และระงับกลิ่นเท้า ผลิตภัณฑ์สารลดคลอเลสเตอรอลและสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ ฟิล์มแปะต้านสิวผสมสารสกัดจากเปลือกผลไม้ เป็นต้น

นางสาวทิพพาพร ทองคำ

ตำแหน่ง เจ้าหน้าที่วิจัย

เชี่ยวชาญทางด้านการสกัด และการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด

ผลงาน : คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดจากเปลือกเงาะเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง Antioxidant and Tyrosinase Inhibition Properties of Extract from Rambutan Peels (*Nephelium lappaceum* L.) for Cosmetic Products

บทที่ 2

โครงการที่ได้รับมอบหมาย

2.1. แผนงานการปฏิบัติงาน

การปฏิบัติงาน	ระยะเวลาการดำเนินงาน				
	พฤศจิกายน	ธันวาคม	มกราคม	กุมภาพันธ์	มีนาคม
ศึกษาค้นคว้าข้อมูล	←	—	—	—	→
ศึกษาวิจัย					
• ทำการสกัดไขมันออกจากเมล็ดลำไยด้วยวิธี Soxhlet Extration		↔			
• บดตัวอย่างลำไย		↔			
• เตรียมตัวอย่างเมล็ดลำไยในการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ		↔	↔		
• นำเมล็ดลำไยที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างมาสกัดด้วยเอทานอล			↔		
• สกัดสารด้วยใช้วิธี Soxhlet Extration และวิธี Ultrasonic Extration			↔		
• ทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ			↔		
• ทดสอบฟีนอลิกทั้งหมด			↔		
• วิเคราะห์ผลและเขียนรายงาน			←	—	→

2.2.งานที่ได้ปฏิบัติ

การสกัดเมล็ดลำไยโดยการใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัด

Extraction of longan seed (*Dimocarpus longan* Lour.) using enzymatic

2.3. ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ลำไย ชื่อวิทยาศาสร์ *Dimocarpus longan* Lour. (ชื่อพ้องวิทยาศาสตร์ *Euphoria longan* (Lour.) Steud.) (ลองแกน) จัดอยู่ในวงศ์เงาะ (SAPINDACEAE) ชื่อสามัญ Longan ลำไยเป็นสินค้าเพื่อการส่งออกที่สำคัญ ทั้งที่อยู่ในรูปของลำไยสด ลำไยอบแห้ง ลำไยแช่แข็ง และลำไยกระป๋อง โดยใช้ส่วนของเนื้อลำไยเป็นหลัก จึงทำให้เมล็ดเหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก ประโยชน์ทางยาของลำไยตามสรรพคุณแผนโบราณของไทยใช้เมล็ดแก้บาดแผลมีเลือดออก ห้ามเลือด แก้ปวด สมานแผล แก้แผลมีหนอง และแก้กลากเกลื้อน ใบแก้ไข้หวัด แก้มาลาเรีย แก้ฝีหัวขาด แก้ริดสีดวงทวาร ดอกแก้โรคเกี่ยวกับหนองทั้งหลาย รากใช้แก้เสมหะและลม ถ่ายโลหิตออกทางทวารหนัก แก้ระดูขาวมากผิดปกติ ขับพยาธิเส้นด้าย เปลือกต้นแก้เสมหะ ขับลมในลำไส้ แก้จุกเสียด สมานแผล แก้น้ำลายเหนียว และนอกนี้ผู้วิจัยทั้งต่างประเทศและในประเทศได้ศึกษาประโยชน์ทางเภสัชวิทยาของเมล็ดลำไย พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนับเป็นคุณสมบัติเด่นของลำไย สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของลำไย ได้แก่ ใบ ดอก เนื้อผล เปลือกผล ลำต้น กิ่ง และเมล็ด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ และยังมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ xanthine oxidase ลดระดับของกรดยูริกในเซลล์ตับ (clone-9 cells)โดยเฉพาะสารสกัดจากเมล็ดซึ่งจะมีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดจากส่วนอื่นๆ สารสำคัญในออกฤทธิ์จะเป็นสารในกลุ่มโพลีฟีนอล ได้แก่ gallic acid, ellagic acid, corilagin, 4-O-methylgallic acid, epi-catechin และสารโพลีแซคคาไรด์มาก (อรัญญา ศรีบุศราคัม 2018) นอกเหนือจากที่กล่าวมาแล้ว เมล็ดลำไยยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอื่นๆ ที่น่าสนใจ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และเชื้อยีสต์ ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ฤทธิ์เพิ่มความจำ ต้านการเป็นพิษต่อตับ ลดความวิตกกังวล ปกป้องเซลล์ประสาท ปกป้องสมอง ต้านการก่อกลายพันธุ์ ต้านความเหนื่อยล้า ต้านเชื้อไวรัสตับอักเสบซี และปรับระบบภูมิคุ้มกัน เป็นต้น (สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2017) ผู้วิจัยจึงตระหนักถึงคุณประโยชน์และคุณค่าของเมล็ดลำไย ซึ่งเป็นส่วนเหลือทิ้งจากภาคเกษตรกรรมแต่ยังมีคุณประโยชน์ในทางยา จากคุณสมบัติเด่นในการต้านอนุมูลอิสระ ลำไยจึงมีศักยภาพที่จะนำไปพัฒนาเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ และประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น เครื่องสำอาง และยาได้ โดยเฉพาะสารสกัดจากเมล็ดลำไยที่พบว่ามีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและสารสำคัญหลายชนิดที่น่าสนใจ ซึ่งควรจะนำมาศึกษาเพิ่มเติมเพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าของวัสดุทางการเกษตร

2.4. วัตถุประสงค์

2.4.1. เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

2.4.2. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดสารจากเมล็ดลำไยโดยใช้เอนไซม์

2.4.3. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมล็ดลำไย

2.5. ขอบเขตของงานวิจัย

2.5.1. วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอิสระด้วยวิธีการ DPPH,FRAP,ABTS

2.5.2. วิเคราะห์ฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-cicocateau reagant assey

2.5.3. วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Colorimetric metthod

2.5.4. ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดลำไย คือ เอทานอล

2.6. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

2.6.1. ทราบถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเมล็ดลำไย

2.6.2. ทราบถึงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสารสกัดเมล็ดลำไย

2.6.3. ได้ข้อมูลเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.7. นิยามศัพท์เฉพาะ

2.7.1. สารสกัดจากเมล็ดลำไย หมายถึง การเอาเมล็ดลำไยมาอบให้แห้งและบดให้เป็นผง แล้วนำไปสกัดด้วยวิธี Ultrasonic Bath

2.7.2. สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) หมายถึงสารที่ช่วยต่อต้านหรือกำจัดอนุมูลอิสระ (Free Radicals) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันภายในร่างกาย

2.7.3. สารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) หรือสารประกอบฟีนอล หมายถึง สารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลิสระ (antioxidant) สามารถละลายได้ในน้ำ

2.7.4. ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) ประเภทพอลิฟีนอล (polyphenol) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนแอโรมาติก (aromatic ring) ที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) รวมอยู่ในโมเลกุล ตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป สามารถละลายในน้ำได้ ส่วนใหญ่มักพบอยู่รวมกับน้ำตาล ในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside)

2.7.5. 50% Inhibitory concentration (IC_{50}) หมายถึง ความเข้มข้นที่สารนั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่ร้อยละ 50

2.8. ทบทวนวรรณกรรม

2.8.1. ลำไย

ลำไย ชื่อวิทยาศาสร์ Dimocarpus longan Lour. (ชื่อพ้องวิทยาศาสตร์ Euphoria longan (Lour.) Steud.) (ลองแกน) จัดอยู่ในวงศ์เงาะ (SAPINDACEAE) ชื่อสามัญ Longan ในปัจจุบันพบว่าลำไยมีการเพาะปลูกอย่างแพร่หลายและจัดเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย สามารถทำรายได้จากการส่งออกปีละไม่ต่ำกว่า 5,000 ล้านบาท แหล่งผลิตลำไยที่สำคัญอยู่ในภาคเหนือตอนบน ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน เป็นต้น และทางภาคตะวันออก เช่น จังหวัดจันทบุรี ระยอง เป็นต้น ทุกส่วนของลำไย เช่น ใบ ดอก เนื้อผล เปลือกผล ลำต้น กิ่ง และเมล็ด มีสรรพคุณทางยา เช่น แก้บาดแผลมีเลือดออก ห้ามเลือด แก้ปวด สมานแผล แก้แผลมีหนอง และทางเภสัชวิทยายังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ xanthine oxidase ลดระดับของกรดยูริกในเซลล์ตับ (clone-9 cells)โดยเฉพาะสารสกัดจากเมล็ดซึ่งจะมีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดจากส่วนอื่นๆ สาระสำคัญในออกฤทธิ์จะเป็นสารในกลุ่มโพลีฟีนอล (สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2017)

ภาพที่ 3 ลักษณะเมล็ดลำไย

ที่มา (thongnumnueng , 2019)

2.8.2. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

1. ลำต้น ไม้ต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ สูง 10-20 ม. ขนาดทรงพุ่ม 5-8 ม. ไม่ผลัดใบ ทรงพุ่มกลม แน่นทึบ เปลือกต้น สีน้ำตาลหรือน้ำตาลเข้ม แตกสะเก็ดและหลุดล่อนเป็นแผ่นบาง

2. ใบ ใบประกอบแบบขนนกปลายคู่ เรียงเวียนสลับ แกนกลางใบ ประกอบยาว 20-50 ซม. มีใบย่อย 2-4 คู่ เรียงตรงข้าม รูปไข่แกมรูป ขอบขนาน กว้าง 3-5 ซม. ยาว 7-12 ซม. ปลายใบแหลม โคนใบสอบ และเบี้ยวแผ่นใบบางแต่เหนียวสีเขียวเข้มเป็นมันผิวใบด้านล่างมีต่อม แบนๆ สีเข้มในซอกของเส้นแขนงใบ ผิวเรียบหรือมีกลุ่มขนกระจาย บนเส้นแขนงใบ

3. ช่อดอก ลำไยออกดอกที่ปลายยอดที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้ว โดยเปลี่ยนจากตาใบเป็นตาดอก แต่บางครั้งช่อดอกก็อาจเกิดจากตาด้านข้างของกิ่งก็ได้ ตั้งแต่เริ่มเห็นช่อดอกด้วยตาเปล่าจนก้านช่อดอกพัฒนาจนยาวเต็มที่ใช้เวลาประมาณ 45-50 วัน ขึ้นกับพันธุ์และสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอุณหภูมิ โดยช่วงที่มีอากาศหนาวเย็นช่อดอกจะพัฒนาช้ากว่าช่วงที่มีอุณหภูมิอุ่นหรือสูงขึ้น ช่อดอกของลำไยเป็นแบบ compound dichasia ที่จัดเรียงดอกแบบ panicle กล่าวคือ แตกก้านดอกแขนงออกไปจากก้านที่หนึ่งและแต่ละก้านย่อยนั้นแตกแขนงต่ออีกครั้ง ช่อดอกยาว 15 –50 เซนติเมตร ในแต่ละช่อดอกมีทั้งดอกสมบูรณ์เพศและดอกไม่สมบูรณ์เพศ แต่ละช่อดอกมีดอกประมาณ 3,000

4. ดอก ดอกมีสีครีมและเส้นผ่าศูนย์กลาง 6-8 มิลลิเมตร ก้านดอกยาว 1-2 มิลลิเมตร กลีบดอกมี 5 กลีบบางเรียวเล็ก สีขาวหม่นและเรียงตัวเยื้องกัน กลีบรองดอกมี 5 กลีบเช่นกัน สีเขียวปนน้ำตาล หนาและแข็ง ขนาดกว้างกว่ากลีบดอก 3-5 เท่า ที่ฐานของกลีบรองดอกมีต่อมน้ำหวาน ดอกลำไยแบ่งออกได้ 3 ชนิดคือ

1. ดอกตัวผู้ (staminate flower) มีเกสรตัวผู้ 6-8 อัน เรียงเป็นชั้นเดียวอยู่บนจานรองดอกที่มีสีน้ำตาลอ่อนและมีลักษณะอุ้มน้ำ ก้านเกสรตัวผู้ (filament) มีขน สีขาวขุ่น ยาวประมาณ 3 มิลลิเมตร อับเกสรตัวผู้ (anther) มีสีเหลืองอ่อน กว้างประมาณ 1 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 1.5 มิลลิเมตร มี 2 หยักและปริแตกตามยาวปลดปล่อยละอองเกสรตัวผู้ (pollen grain)

2. ดอกตัวเมีย (pistillate flower) เป็นดอกที่เกสรตัวเมียพัฒนาจนสมบูรณ์และเห็นได้ชัด ประกอบด้วยรังไข่ที่มีขนปกคลุม มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-2.5 มิลลิเมตรตั้งอยู่ตรงกลางของจานรองดอก รังไข่มี 2 พู (bicarpellate) และแต่ละพูมีไข่ (ovule) จำนวน 1 ใบ แต่เพียงพูเดียวเท่านั้นที่พัฒนาต่อไปเป็นผลลำไย ส่วนอีกพูหนึ่งจะค่อยๆแห้งฝ่อและร่วงหล่นไป แต่บางครั้งอาจพบไข่ในทั้ง 2 พูพัฒนาเป็นผลได้ ก้านเกสรตัวเมีย (style) ยาว 4-5 มิลลิเมตร

3. ผล ผลสดมีเนื้อ ทรงกลมหรือเบี้ยวเล็กน้อย เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5-2 ซม. สีเขียวอมน้ำตาล เมื่อสุกน้ำตาลอมเหลือง เปลือกผลบาง แต่ค่อนข้างเหนียว มีเนื้อใสๆ สีขาวอมชมพูห่อหุ้ม

เมล็ด เมล็ดสีน้ำตาล เข้มเรียบเป็นมัน 1 เมล็ดต่อผล ติดผลเดือน เม.ย.-พ.ค. ขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด ตอนหรือทาบกิ่ง (วัลลิ์รุกขบุปผชาติ ตามรอยพระบาทบรมราชกุมารี 2008)

2.8.3. อนุมูลอิสระ (free radicals)

อนุมูลอิสระ หมายถึง สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอม หรือโมเลกุล พบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อม ในสิ่งมีชีวิต และในเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กระบวนการ ผลิตพลังงานภายในเซลล์หรือจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจน ทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุล กลายเป็นอนุมูลอิสระและว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามากและสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา ดังสมการ 1 และ 2

$$R\bullet + O_2 \longrightarrow ROO\bullet \quad (1)$$

$$ROO\bullet + RH \longrightarrow ROOH + R\bullet \quad (2)$$

R• คือ อนุมูลอิสระไฮโดรคาร์บอน (alkyl radical)

ROO• คือ อนุมูลอิสระเพอร์ออกซิล (peroxyl radical)

RH คือ สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

ROOH คือ ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide)

2.8.4. สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) หมายถึง สารที่สามารถชะลอหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระ (free radicals หรือ oxidants) สารต้านอนุมูลอิสระมีบทบาทในการป้องกันการทำลายสารชีวโมเลกุลในร่างกายจากอนุมูลอิสระซึ่งทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้สารต้านอนุมูลอิสระเกิดจากการสังเคราะห์หรือพบในธรรมชาติ สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในธรรมชาติได้แก่ สารประกอบในกลุ่ม โพลิฟีนอลซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิคประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลที่เกาะบนวงเบนซีนตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) กรดฟีนอลิค (phenolic acids) แทนนิน (tannins) เป็นต้น

สารประกอบโพลิฟีนอลสามารถพบในพืช ผัก ผลไม้และสมุนไพรหลายชนิด (ชมพูนุท สินธุพิบูลยกิจ 2015)

2.8.5. แหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งตามแหล่งที่มาได้ 2 ประเภท ได้แก่

1. สารต้านอนุมูลอิสระจากร่างกาย (antioxidant enzymes) ซึ่งเป็นสารประเภทเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ มี 3 ชนิด ได้แก่

1.1) superoxide dismutases (SODs) เป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของ superoxide ให้เปลี่ยนเป็น H_2O_2 ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้จะพบในเซลล์ทุกเซลล์และพบใน extracellular fluid SODs นั้นจะมี cofactor เป็นโลหะหนักได้แก่ Cu, Zn และ Mn ในมนุษย์ Cu/Zn-SODs จะพบใน cytoplasm ส่วน Mn-SODs จะพบใน mitochondria

1.2) catalases เป็นเอนไซม์ที่ใช้เร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของ H_2O_2 ให้กลายเป็นน้ำและ O_2 โดยใช้ substrate เป็น H_2O_2 จำนวน 2 โมเลกุล เอนไซม์ชนิดนี้มี Mn หรือ Fe เป็น cofactor ซึ่งจะพบเอนไซม์ชนิดนี้ได้ในเซลล์ยูคาริโอต (eukaryotic cell) ทั่วไป (Nimse & Pal, 2015)

1.3) glutathione peroxidases ซึ่งจะช่วยเร่งปฏิกิริยา reduction ของ hydrogen peroxide ซึ่งจะเปลี่ยน H_2O_2 ให้กลายเป็นน้ำ (Nimse & Pal, 2015)

2. สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants) สารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจและมีการค้นคว้าอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้พบได้มากในพืช ซึ่งมีทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และสารที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (non-nutrient) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิก โดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล เช่น แซนโธน (xanthone) และฟลาโวนอยด์ ซึ่งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลที่เกาะบนวงเบนซีน (aromatic hydroxyl) ตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป หมู่ฟังก์ชั่น (functional group) เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้น หรือก่อให้เกิด ปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยการให้อนุมูล H• แก่อนุมูลอิสระเหล่านั้น นอกจากนี้สารประกอบโพลีฟีนอลที่มีโครงสร้างของ ortho-dihydroxyl phenol อยู่ในโมเลกุลยังสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูล OH• ในปฏิกิริยาที่มีอนุมูลโลหะทรานซิชั่น คือ Fe2+ และ Cu2+ เป็นตัวเหนี่ยวนำได้โดยการเข้าจับกับโลหะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (complex) (Sanchez-Moreno et. al., 2000) สารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอลซึ่งพบในพืชพรรณธรรมชาติหลายชนิดสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีทั้งในห้องปฏิบัติการ (in vitro) และในสิ่งมีชีวิต (in vivo)

2.8.6. กลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชันทำลายอนุมูลอิสระได้โดยการให้หรือรับอิเล็กตรอนจากอนุมูลอิสระโดยตัวมันเองไม่กลายเป็นอนุมูลอิสระเนื่องจากสารต้านออกซิเดชันมีความคงตัวทั้งในรูปที่มีจ านวนอิเล็กตรอนครบและมีอิเล็กตรอนขาดหรือเกิน กลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารต้านออกซิเดชันแบ่งตามลักษณะการออกฤทธิ์ 2 แบบ ได้แก่

1. ฤทธิ์ป้องกันอนุมูลอิสระ สารต้านออกซิเดชันที่มีกลไกแบบนี้จะมีฤทธิ์ป้องกันไม่ให้เกิดอนุมูลอิสระตั้งแต่เริ่มต้น โดยยับยั้งไม่ให้เกิดอนุมูลอิสระที่จะไปเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น เช่น ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) หรือคีเลต (chelate) กับโลหะทรานซิชันและการระงับ (quenching) ไม่ให้เกิด reactive oxygen species หรือ ROS สารต้านออกซิเดชันในกลุ่มนี้ได้แก่ เอนไซม์และโปรตีนในร่างกายที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเช่น เอนไซม์ CAT, GPx และกลูตาไธโอน (glutathione) รวมทั้งวิตามินอีและสารกลุ่มแคโรทีนอยด์

2. ฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ สารต้านออกซิเดชันในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระโดยการไปยับยั้งขั้นเริ่มต้นของปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain intiation step) และไปทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่ขั้นดำเนินการเพิ่มจำนวนอนุมูลอิสระ (chain propagation step) สารต้านออกซิเดชันที่มีกลไกแบบนี้ได้แก่ วิตามินอี วิตามินซี บิลิรูบิน (bilirubin) ยูบิควิโนน (ubiquinone) แคโรทีนอยด์ และฟลาโวนอยด์ (เจนจิรา และประสงค์, 2554)

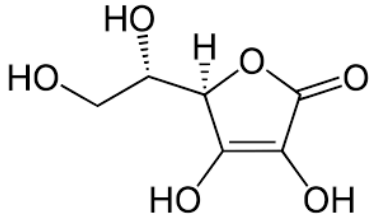
2.8.7. วิตามิน (vitamin)

เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ร่างกายต้องการเพื่อช่วยการทำงานของปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในร่างกายปริมาณวิตามินที่ร่างกายต้องการนั้นน้อยมาก แต่ขาดไม่ได้วิตามินมีหน้าที่ทางชีวเคมีมากมาย เช่น วิตามินดีมีหน้าที่คล้ายฮอร์โมนเป็นตัวควบคุมเมแทบอลิซึมของแร่ธาตุบางชนิดควบคุมการเจริญและการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะของเซลล์และเนื้อเยื่อ เช่น วิตามินเอบางรูป วิตามินบีคอมเพลกซ์ทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นของโคแฟกเตอร์เอนไซม์ช่วยเอนไซม์ทำงานเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการเมแทบอลิซึม วิตามินอีและวิตามินซีเป็นสารต้านอนุมูลอิส ระช่วยชะลอความเสื่อมกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และช่วยป้องกันการติดเชื้อและการเกิดโรคต่าง ๆ ได้มากมาย ได้แก่

1. วิตามินซี หรือ กรดแอสคอร์บิก หรือ กรดแอล-แอสคอร์บิก (l-ascorbic acid) หรือ แอสคอร์เบต (ascorbate เป็นแอนไอออน [anion] ของกรดแอสคอร์บิก) เป็นวิตามินที่พบใน

อาหารและอาหารเสริมต่าง ๆ ใช้ป้องกันและรักษาโรคลักปิดลักเปิด เป็นสารอาหารจำเป็นที่ใช้ซ่อมแซมเนื้อเยื่อและผลิตสารสื่อประสาทบางอย่างโดยอาศัยเอนไซม์ จำเป็นในการทำงานของเอนไซม์หลายอย่างและสำคัญต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วย เป็นสารอาหารจำเป็นสำหรับมนุษย์และสัตว์อื่นบางชนิด เป็นวิตามินที่ละลายน้ำได้ แอสคอร์เบตจำเป็นในเมแทบอลิซึมของสัตว์และพืชทุกชนิด สิ่งมีชีวิตแทบทุกชนิดสามารถสังเคราะห์ได้ ที่สังเคราะห์ไม่ได้ต้องได้จากอาหาร (เอิร์ล มินเดลล์ , 2018)

1.1. ประโยชน์ของวิตามินซี วิตามินซี มีประโยชน์หลายอย่าง ไม่ว่าจะช่วยปกป้องเซล เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน สุขภาพและความแข็งแรงของเนื้อเยื่อในร่างกายที่เกี่ยวข้องกับ เส้นเอ็น และคอลลาเจน ก็มีผลมาจากปริมาณ วิตามินซี ในร่างกาย และ วิตามินซี ยังมีฤทธิ์ในการเป็นสารแอนตี้ออกซิแดนท์ที่ดี จึงสามารถป้องกันการทำลายเซลล์จากอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี และช่วยให้ร่างกายสามารถรีไซเคิลสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่นๆ ดังนั้นเพื่อประโยชน์สูงสุดจึงควรที่จะรับประทาน วิตามินซี ร่วมกับสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่นๆ เช่น วิตามินอี แคโรทีน ฟลาโวนอย เป็นต้น



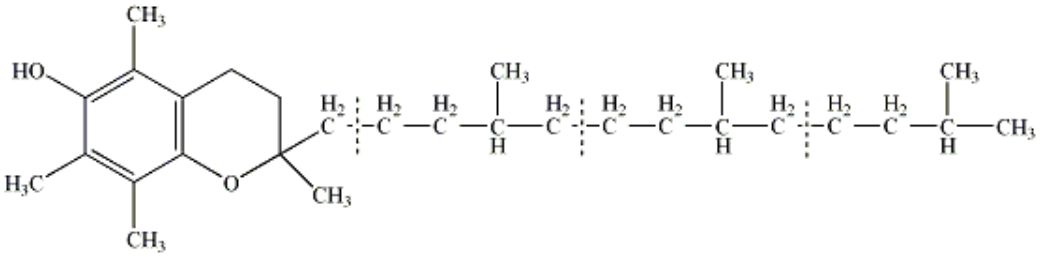
ภาพที่ 4 โครงสร้างพื้นฐานของวิตามินซี

ที่มา (siamchemi , 2015)

2. วิตามินอี เป็นวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน ช่วยในการทำงานของระบบต่างๆ ในร่างกายหลายระบบ มีบทบาทในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายเป็นวิตามินที่มีการสังเคราะห์ในพืชเท่านั้น พบมากในน้ำมันจากธัญพืช เช่น น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว ถั่วประเภทเปลือกแข็ง ถั่วลิสง เมล็ดทานตะวัน และน้ำมันดอกคำฝอย

2.1. ประโยชน์ของวิตามินอี ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจากการใช้ออกซิเจนในกระบวนการเมแทบอลิซึม และกำจัดสารอนุมูลอิสระ เช่นอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออนที่ได้จากการขนส่งอิเล็กตรอน และสารที่ก่อให้เกิดความเสียหายของเซลล์ เช่นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ได้จากการสลายของซุปเปอร์ออกไซด์ด้วยเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส และถ้า

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำปฏิกิริยากับซุปเปอร์ออกไซด์จะได้สารอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลเป็นอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์ร้ายแรง ในอาหารทอดหรือที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ (ศรมน สุทิน , 2018)

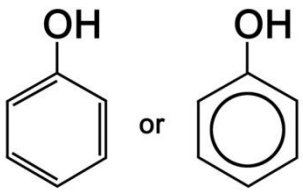


ภาพที่ 5 โครงสร้างพื้นฐานของวิตามินอี

ที่มา (ศรมน สุทิน , 2018)

2.8.8. สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) หรือสารประกอบฟีนอล เป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผักผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่วเมล็ดแห้ง เมล็ดธัญพืช ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต สารประกอบฟีนอลมีโภชนเภสัช ซึ่งสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพคือ มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลิสระ (antioxidant) สามารถละลายได้ในน้ำ



ภาพที่ 6 โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิก

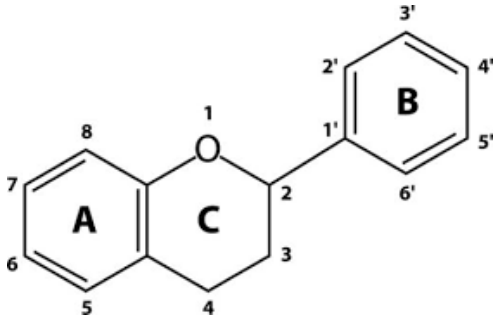
ที่มา (Vemerris , 2018)

โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล สารประกอบฟีนอล มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซิน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่ สารประกอบฟีนอลพื้นฐาน คือ สารฟีนอล (phenol) ในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignin)กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ

สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoid) สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) และพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น

2.8.9. สารประกอบฟลาโวนอยด์

สารประกอบฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติประเภทหนึ่งที่พบได้ทั่วไปในอาหารที่เป็น พืช เช่น ผักและผลไม้ โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นฟีนอลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrones) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 ตัว (C6 - C3 - C6) จัดเรียงเป็น 3 ring เรียก เป็น ring A, B, และ C ดังภาพที่ 2 โดย ring A และ B เป็นวงเบนซีน (benzene ring) ส่วน ring C เป็น heterocyclic pyran ring ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง (วิภพ, 2005) ในธรรมชาติ สารประกอบฟลาโวนอยด์มีมากกว่า 4,000 ชนิด ส่วนใหญ่อยู่ในรูปฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ซึ่งมีหมู่ ไฮดรอกซิลหนึ่งหมู่ หรือมากกว่าในโมเลกุลของสารประกอบฟลาโวนอยด์จะเกิดพันธะกับโมเลกุล ของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส (glucose) แรมโนส (rhamnose) อะราบิโนส (arabinose) และไซโลส (xylose) (Narikawa et. al. 2000)



ภาพที่ 7 โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟลาโวนอยด์

ที่มา (Vemerris , 2018)

สารประกอบฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์สามารถพบได้ในส่วนของใบ ดอก ผล และเกสรดอกไม้ของ พืช เป็นสารสี (soluble pigments) ที่พบในส่วนต่าง ๆ ของพืช โดยเฉพาะในดอกทำให้มีสีสวยงาม ส่วนใหญ่จะออกไปทางสีแดง สีเหลือง สีม่วง และสีน้ำเงิน ส่วนใหญ่มักจะพบสารประกอบฟลาโวนอยด์ไกลโคไซค์ในส่วนที่เป็นของเหลวภายในเซลล์ของดอกไม้ และผลไม้ บางครั้งสามารถพบสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่เป็นอะไกลโคน (aglycone) ในเนื้อไม้ (Larson, 1988) สารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิในพืช สร้างจากกรดอะมิโนที่มีวงแหวน (aromatic amino acids) ได้แก่ ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ไทโรซีน (tyrosine) และมาโลเนท (malonate) โดยทำหน้าที่เป็นสารให้สีที่สำคัญในพืช ช่วยในการกรองรังสีอัลตราไวเลต และการช่วยตรึงไนโตรเจน (วิภพ, 2556) นอกจากนี้ สารประกอบฟลาโวนอยด์ยังมีความสำคัญต่อ การสร้างรงควัตถุในพืช ทำหน้าที่เป็นไฟโตอเล็กซิน (phytoalexin) เพื่อช่วยป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ (Jez et. al., 2000) ช่วยป้องกันแสงอัลตร้าไวโอเลต ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ช่วยต้านอนุมูลอิสระ และป้องกันการถูกคุกคามจากไวรัส (Pielta, 2000)

2.8.10 เอนไซม์ (Enzyme)

เอนไซม์(Enzyme) คือ กลุ่มของโปรตีนที่มีหน้าที่พิเศษแตกต่างจากโปรตีนอื่นๆ ทั่วไป กล่าวคือ มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง เพื่อใช้ในการสังเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์ และระบบการย่อยอาหาร เป็นต้น โดยเอนไซม์จะมีความจำเพาะต่อสารที่ทำปฏิกิริยาที่เรียกว่า “ซับสเตรต” (Substrate) และสามารถเร่งปฏิกิริยาโดยไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่น ตลอดทั้งเอนไซม์จะเพิ่มอัตราเร็วของปฏิกิริยาโดยลดพลังงานกระตุ้นของปฏิกิริยาได้

เอนไซม์ เป็นสารประกอบอินทรีย์โปรตีน ทำหน้าที่เป็นแคทาลิสต์หรือสารเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพ ทำให้เซลล์ของสิ่งมีชีวิตทำหน้าที่ต่างๆ ได้ ปัจจุบันเอนไซม์ถูกนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการต่างๆ ทั้งภายในและภายนอกเซลล์ของสิ่งมีชีวิต เพื่อประโยชน์ในการดำรงชีวิตของมนุษย์ในด้านต่างๆ เช่น การประยุกต์ใช้ในการผลิตอาหาร เครื่องดื่ม เภสัชภัณฑ์และเครื่องนุ่งห่ม การประยุกต์ใช้เพื่อการบำบัดสารมลพิษและการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม รวมทั้งการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์เพื่อประโยชน์ด้านการรักษาโรคและการดูแลสุขภาพ ด้วยเหตุนี้เอนไซม์จึง

เป็นสารชีวเคมีที่ได้รับความสนใจในแง่ของการศึกษาวิจัยเพื่อค้นหาแหล่งของเอนไซม์ และการนำเทคโนโลยีมาปรับปรุงพัฒนาให้เอนไซม์มีลักษณะและสมบัติตรงกับวัตถุประสงค์การใช้งานมากขึ้น

เพกทิเนส (pectinase) เป็นกลุ่มของเอนไซม์ (enzyme) ประกอบด้วยเอนไซม์ 3 ชนิด คือ เพกทินเอสเทอเรส (pectinesterase, PE) พอลิกาแล็กทูโรเนส (polygalacturonase, PG) และเพกเทตไลเอส (pectate lyases, PL) เอนไซม์เพกทิเนส สามารถย่อยเพกทิน (pectin) ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่และละลายในน้ำได้น้อย ให้มีโมเลกุลสายสั้นลงส่งผลให้ละลายในน้ำได้ดีขึ้น เพกทิน (pectin) เป็นส่วนประกอบที่สำคัญที่ให้ความแข็งแรงแก่ผนังเซลล์ของพืช พบในเนื้อเยื่อพืช ผัก ผลไม้ ระหว่างการสุกของผลไม้ เอนไซม์เพกทิเนสจะย่อยเพกทิน ทำให้น้ำผลไม้มีเนื้อนุ่ม และทำให้น้ำผลไม้คั้นสดแยกชั้น ในระหว่างกระบวนการผลิตน้ำผลไม้ น้ำผลไม้เข้มข้น ซอสมะเขือเทศเข้มข้น จะมีการใช้ความร้อนเพื่อทำลายเอนไซม์เพกทิเนส ทำให้น้ำผลไม้มีความคงตัว ไม่แยกชั้น และมีผลต่อความหนืดของผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะซอสมะเขือเทศเข้มข้น จุลินทรีย์ ได้แก่ รา และ แบคทีเรีย เช่น Erwinia หรือ Pseudomonas สร้างเอนไซม์เพกทิเนสได้ สามารถย่อยเพกทิน (pectin) ในผนังเซลล์ของผัก ผลไม้ เกิดการเน่าที่เรียกว่า เน่าเละ (soft rot) ผักที่เกิดโรคนี้จะเน่า มีเมือกเยิ้ม นิ่มเละ และมีกลิ่นเหม็น เอนไซม์เพกทิเนสถูกนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม (beverage) น้ำผลไม้ เพื่อช่วยทำให้การสกัดน้ำผลไม้ง่ายขึ้น ได้ผลผลิตมากขึ้น หรือใช้เพื่อทำให้น้ำผลไม้ใส (clarification) เช่น น้ำแอปเปิล น้ำองุ่น

2.8.11 การสกัดสารจากพืช

1. ขั้นตอนการสกัดสารสำคัญจากพืช ในการที่จะคัดเลือกพืชชนิดใดมาใช้ควรคำนึงถึงคุณสมบัติของพืชที่สามารถป้องกันและกำจัดศัตรูพืชได้และมีจำนวนมากพอ หาง่ายในทุกฤดู เมื่อคัดเลือกพืชได้แล้ว นำมาแยกเป็นส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ราก ลำต้น ใบ ดอก และเมล็ด ทดลองสกัดสารอย่างหยาบ การสกัดใช้หลายวิธีด้วยกัน แล้วทดสอบประสิทธิภาพของแต่ละวิธีการในห้องปฏิบัติ เมื่อผลเป็นที่พอใจ นำสารสกัดที่ใช้ได้ผลนี้ไปทดสอบความเป็นพิษกับสัตว์เลือดอุ่นเพื่อให้แน่ใจในความปลอดภัยต่อผู้ใช้สารนี้(กรมวิชาการเกษตร, 2535)

2. การเตรียมตัวอย่างพืช การเตรียมตัวอย่างพืชนับเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญซึ่งต้องคำนึงถึงสิ่งที่มีผลต่อความ แตกต่างของสารสำคัญในพืช ได้แก่ การตรวจเอกลักษณ์ที่ถูกต้อง ไม่มีพืชอื่นปน เพราะจะทำให้ได้สารแปลกปลอมซึ่งอาจเป็นอันตรายได้ ไม่มีโรคพืช ถ้าตัวอย่างที่เก็บมามี

จุลินทรีย์อันเป็นสาเหตุของโรคพืช จุลินทรีย์อาจให้สารซึ่งอาจถูกสกัดออกมาพร้อมกับสารที่เราต้องการ ความแตกต่างของสารสำคัญในพืช (Variation of plant constituents) ในการเก็บพืชแต่ละครั้งเพื่อนำมาสกัดสารสำคัญในพืชซึ่งอาจแตกต่างกันทั้งปริมาณและชนิด ผลของการเก็บรักษาและการเตรียมการพืช อายุของพืช และการเก็บรักษาของพืช (Effect of preserving and processing process) ในการทำให้พืชแห้งบางครั้ง อาจทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพืชสมุนไพรเสียไป เช่น thyme สดมีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ แต่ถ้าตัวอย่างแห้งฤทธิ์ทางเภสัชวิทยานี้จะหมดไป (ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย มหาวิทยาลัยมหิดล, 2546)

3. การเตรียมสารสกัด เนื่องจากสารประกอบในพืชมีมากมายหลายชนิด และมีคุณสมบัติแตกต่างกันมาก การเลือกตัวทำละลายที่จะได้สารทุกกลุ่มที่ต้องการจึงทำได้ยาก นอกจากนี้ยังมีปัญหาที่สารหลายชนิดอยู่ปนกัน อาจเกิดการจับกันอย่างหลวมๆ ทำให้การละลายของสารแตกต่างออกไปจากคุณสมบัติในการละลายของสารแต่ละชนิด จะพบบ่อยๆ ว่าสารที่แยกจากตัวทำละลายชนิดหนึ่ง เช่น น้ำ เมื่อแยกเป็นสารบริสุทธิแล้วกลับไม่ละลายในน้ำ อย่างซาโปนินหรือสารที่มีคุณสมบัติเป็น wetting agent จะช่วยทำให้เกิด micelle ทำให้การละลายของสารที่ไม่มีขั้ว สามารถผสมกับน้ำได้มากขึ้น ดังนั้นจึงเป็นการยากที่จะหาตัวทำละลายที่สมบูรณ์สามารถสกัดสารได้ทุกชนิด ดังนั้นเพื่อไม่ให้เกิดผลการทดลองผิดพลาดจึงมีผู้แนะนำให้สกัดสารโดยใช้ตัวทำละลายหลายๆ ชนิด แต่การที่ใช้ตัวทำละลายหลายๆ ชนิด อาจทำให้เสียเวลา บางคนจึงนิยมใช้ตัวทำละลายชนิดเดียว คือ แอลกอฮอล์หรือส่วนผสมแอลกอฮอล์และน้ำ เนื่องจากละลายได้ทั้งสารมีขั้วและไม่มีขั้ว อัตราส่วนที่ได้ผลดีคือแอลกอฮอล์ 80% อาจเป็นเมทานอล หรือเอทานอลก็ได้ แม้ว่าจะไม่ใช่ตัวทำละลายที่ดีที่สุดในกลุ่มแต่ก็สามารถสกัดได้มากกลุ่มและจำนวนมากพอที่จะตรวจสอบเบื้องต้น (ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย มหาวิทยาลัยมหิดล, 2546)

4. การเลือกใช้ตัวทำละลาย ในการสกัดจะได้ผลดีหรือไม่อยู่ที่การคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวทำละลายที่ดีควร มีคุณสมบัติ ดังนี้ เป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่เราต้องการสกัดได้ดี ไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด ไม่เป็นพิษ ราคาพอสมควร ในการเลือกใช้ตัวทำละลายเราอาศัยหลักเกณฑ์ต่อไปนี้ คือสารละลายและตัวทำละลายมีคุณสมบัติความมีขั้วคล้ายกันละลายสารที่ต้องการออกมามากที่สุด ในขณะที่ละลายสารที่ไม่ต้องการออกมาน้อยที่สุด แรง (Force) แรงที่เกี่ยวข้องในการละลายตัวทำละลายที่ใช้บ่อย คือ

1. คลอโรฟอร์ม เป็นตัวทำละลายที่ดีแต่มี selectivity น้อยเกิด emulsion ง่ายถ้าใช้สารสกัดซึ่งเป็นด่างแก่อาจจะสลายตัวให้กรดเกลือ

2. อีเธอร์ มีอำ นาจในการละลายน้อยกว่า คลอโรฟอร์ม แต่มี selectivity ดีกว่าคลอโรฟอร์ม ข้อเสียคือ ระเหยง่ายระเบิดง่ายเกิด oxide ได้ง่ายและดูดน้ำได้ดีมาก

3. เฮกเซน เหมาะสำหรับพวกสารที่ไม่มีขั้ว มักใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับขจัดไขมันจากสมุนไพร ข้อดี คือ ราคาถูก

4. แอลกอฮอล์ ที่ใช้มากคือ เมทานอลและเอทานอล เป็น all purpose solvent เนื่องจากมีอำนาจในการทำลายกว้างมากและยังใช้ทำลายเอนไซม์ในพืชด้วย

2.8.12. วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืช

การสกัดสารสำคัญจากพืชอาจทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดของสารสกัด คุณสมบัติของสารในการทนต่อความร้อน ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ ดังนี้

1. มาเซอเรชัน (maceration หรือ immersion) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยวิธีหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น ปากขวดกว้าง หรือถังสเตนเลส เป็นต้น ทิ้งไว้ประมาณ 5-7 วัน หมั่นเขย่าหรือคนบ่อย ๆ เมื่อครบกำหนดเวลาจึงค่อย ๆ รินเอาสารสกัดออก พยายามบีบเอาสารละลายออกจากกาก (marc) ให้มากที่สุด รวมสารสกัดที่ได้นำไปกรองการสกัด ถ้าจะสกัดให้หมดจด (exhausted) อาจจำเป็นต้องสกัดซ้ำหลาย ๆ ครั้ง

2.เพอร์โคเลชัน (percolation) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญแบบต่อเนื่องโดยใช้ เครื่องมือที่เรียกว่า เพอร์โคเลเตอร์ (percolator) นำสมุนไพรมาหมักกับตัวทำละลายพอชื้น ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่แล้วค่อย ๆ บรรจุผงยาที่ละน้อยเป็นชั้นในเพอร์โคเลเตอร์เติมตัวทำละลายลงไปให้ระดับตัวทำละลายสูงเหนือสมุนไพร (solvent head) ประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงเริ่มไขเอาสารสกัดออกมาโดยค่อย ๆ เติมตัวทำละลายเหนือสมุนไพรอย่าให้แห้ง เก็บสารสกัดจนการสกัดสมบูรณ์ บีบกากเอาสารสกัดออกให้ได้มากที่สุด นำสารสกัดที่เก็บได้ทั้งหมดรวมกันนำไปกรอง วิธีนี้อาจพบปัญหาผลยาอาจจับตัวเป็นก้อนทำให้ตัวทำละลายไม่สามารถแทรกซึมเข้าไปสกัดได้ การพองตัวมาก ๆ ทำให้ต้องใช้ความดัน และอาจทำให้อุดตัน การบรรจุไม่สม่ำเสมอจะเกิดร่องซึ่ง ตัวทำละลายจะไหลผ่านร่องแทนการแทรกซึมไปตามผงยาทำให้สกัดไม่สมบูรณ์

3. ซอกซ์เลตเอกแทรกเตอร์ (Soxhlet Extracter) เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง โดยใช้ตัวทำละลายซึ่งมีจุดเดือดต่ำ การสกัดทำได้โดยใช้ความร้อนทำให้ตัวทำละลายในภาชนะระเหย ขึ้นไป แล้วกลั่นตัวลงมาในทิมเบอร์ (thimble) ซึ่งบรรจุสมุนไพรไว้ เมื่อตัวทำละลายในเอกซ์แทรก-ติงแชมเบอร์ (extracting chamber) สูงถึงระดับ สารสกัดจะไหลกลับลงไปในภาชนะด้วยวิธีกาลัก-น้ำภาชนะนี้ได้รับความร้อนจากฮีทติงแมนเทิล (heating mantle) หรือหม้ออังไอน้ำ ตัวทำละลายจึงระเหยขึ้นไป

ทิ้งสารสกัดไว้ในภาชนะ ตัวทำละลายเมื่อกระทบคอนเดนเซอร์ (condenser) จะกลั่นตัวกลับลงมาสกัดสารใหม่วนเวียนเช่นนี้จนกระทั่งการสกัดสมบูรณ์ การสกัดด้วยวิธีนี้ใช้ความร้อนด้วย จึงอาจทำให้สารเคมีบางชนิดสลายตัว

2.8.13. ปัจจัยในการเลือกวิธีการสกัด

การสกัดสารสำคัญในพืชสมุนไพรมีหลายวิธี ซึ่งวิธีการสกัดที่ เหมาะสมขึ้นกับปัจจัยหลาย ๆ อย่าง เช่น คุณค่าของสารสกัดและค่าใช้จ่ายในการสกัด หากต้องการสกัดที่ไม่ใช่สารสำคัญ และคุณค่าทางการรักษาน้อย เช่น สารที่ใช้แต่งสี กลิ่น รส ก็อาจใช้วิธีง่าย ๆ ที่ไม่ยุ่งยาก ปสำหรับความต้องการที่จะให้ได้สารสกัดที่สมบูรณ์ (exhausted extraction) หรือเกือบ สมบูรณ์หากต้องการสารสกัดเจือจาง การใช้วิธีมาเซอร์เรชัน ก็เพียงพอแล้ว แต่ถ้าต้องการสารสกัด เข้มข้น ก็ควรใช้วิธีเพอร์โคเลชัน หรือการสกัดแบบต่อเนื่อง ธรรมชาติของพืชสมุนไพรพิจารณาจาก ลักษณะและโครงสร้างของเนื้อเยื่อ ถ้าสมุนไพรที่มีลักษณะอ่อนนุ่ม เช่น ดอกใบ อาจสกัดด้วยวิธี มาเซอเรชัน หากเป็นพืชสมุนไพรที่มีเนื้อเยื่อแข็งและเหนียว เช่น เปลือก รากเนื้อไม้ ควรใช้วิธี เพอร์โคเลชัน หรือสารสกัดแบบต่อเนื่อง ความสามารถในการละลายของสารสำคัญ ถ้าละลายได้ดี นิยมใช้วิธีดูดซับ แต่ถ้าละลายได้น้อยก็จำเป็นต้องใช้วิธีการสกัดแบบต่อเนื่องในความคงตัวของสารสำคัญในสมุนไพรต่อความร้อน ถ้าเป็นสารที่ไม่ทนต่อความร้อน ควรใช้วิธีมาเซอร์เรชันหรือเพอร์โคเลชัน

2.6.14. การทำให้สารสกัดเข้มข้น เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้มามักจะมีปริมาตรสูงและเจือจาง ทำให้นำไปแยกส่วนได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อน ซึ่งอาจทำได้หลายวิธีคือ

1. การระเหย (free evaporation) คือ การนำทำละลายออกจากน้ำยาสกัดโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (water bath) หรือ แผ่นความร้อน (hot plate) วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้เนื่องจากอุณหภูมิสูงเกินไป และหากใช้สารละลายอินทรีย์ (organic solvent) ในการสกัด การระเหยโดยให้ความร้อนโดยตรง (direct heat) บนแผ่นความร้อนอาจเกิดอันตรายได้ง่ายนอกจากนี้ควรคำนึงถึงอุณหภูมิที่จะทำให้เกิดการสลายตัวของสารสำคัญ เมื่อใช้ความร้อน (รัตนา,2547)

2. การกลั่นในภาวะสุญญากาศ (distillation in vacuum) เป็นวิธีการระเหยโดยกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำ และลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ vacuum pump เครื่องมือนี้เรียกว่า rotary evaporator ซึ่งจะประกอบด้วย 3 ส่วน คือ ภาชนะบรรจุสารสกัด

อย่างหยาบที่จะกลั่น (distillation flask) ส่วนคอนเดนเซอร์หรือส่วนควบแน่นไอสารละลาย (condenser) และภาชนะรองรับสารละลายหลังจากการกลั่น (receiving flask) โดยสารสกัดอย่างหยาบซึ่งบรรจุในภาชนะจะแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิได้และจะหมุน (rotate) ตลอดเวลาที่ทำงานเพื่อที่จะได้กระจากความร้อนได้ทั่วถึงและสม่ำเสมอ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบนี้จะต่อเข้ากับส่วนควบแน่น ซึ่งมีระบบทำความเย็นหล่ออยู่ตลอกเวลา ปลายของส่วนควบแน่นจะมีภาชนะรองรับ โดยทั้งระบบจะต่อเข้ากับระบบสุญญากาศ สารละลายที่ระเหยออกจากภาชนะบรรจุจะควบแน่นที่บริเวณคอนเดนเซอร์และหยดลงมาในภาชนะรองรับสารละลายหลังการกลั่นซึ่งสารละลายดังกล่าวสามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์และนำกลับมาใช้ใหม่ได้ (รัตนา, 2547)

3. การทำให้แห้ง (drying) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดจนแห้งได้สารสกัดออกมาในสภาพของแข็งหรือกึ่งของแข็ง มีหลายวิธี เช่น การใช้ความเย็น (lyophilizer หรือfreeze dryer) หรือการใช้ความร้อน (spary dryer) (รัตนา, 2547)

4. อัลตราฟิลเทรชั่น (ultrafiltration) เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (membrane) ใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) สูงกว่า 5,000 (รัตนา, 2547)

2.9. รายงานที่เกี่ยวข้อง

จากการวิจัยของ อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้ทดลองวิจัยจนพบสารสกัดเมล็ดลำไยที่มีคุณสมบัติทางการแพทย์ในการยับยั้งเอนไซม์สลายกระดูกอ่อน และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับผู้ที่มีปัญหาข้อเสื่อมหรือมีอาการปวดจากกล้ามเนื้ออักเสบเรื้อรัง จากผลการวิจัยได้ค้นพบว่าในเมล็ดลำไยมีสารสำคัญ ได้แก่ Gallic acid, Ellagic acid และสารฟลาโวนอยด์หลาย ๆ ชนิด ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเอนไซม์ที่จะไปทำลายกระดูกอ่อนและกล้ามเนื้อ ซึ่งสารสำคัญทุกตัวที่พบมีงานวิจัยในต่างประเทศยืนยันว่าสามารถนำมาแก้ปัญหาการปวดจากข้อเข่าเสื่อมได้ดี จึงคิดที่จะพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มาจากธรรมชาติให้เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ เพราะปัจจุบันสารสังเคราะห์ Gallic acid, Ellagic acid มีต่างประเทศนำไปจดสิทธิบัตรและสร้างเป็นสารยับยั้งการเกิดข้อเสื่อมอักเสบ แต่สารสกัดเมล็ดลำไยจัดเป็นสารจากธรรมชาติที่มีสรรพคุณทางการแพทย์ ควรจะต้องได้รับการพัฒนาอย่างจริงจัง เพื่อให้แพร่หลายไปทั่วโลกและใช้

ทดแทนตัวยาสังเคราะห์ เนื่องจากตัวยาสังเคราะห์ต่าง ๆ ที่ใช้กันแพร่หลายมีผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ต่อสุขภาพเมื่อใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน ๆ

จากการวิจัยของยุทธนา สุดเจริญ คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล กล่าวว่า หลังจากค้นพบว่าเมล็ดลำไย มีสารต้านอนุมูลอิสระ ทางทีมวิจัยจึงพยายามศึกษาเจาะลึกลงไปว่า สารสกัดที่ได้จากเมล็ดลำไย นั้นมีอะไรบ้าง โดยเริ่มทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย hexane และ methanol แล้วนำส่วนที่ละลายในตัวทำละลาย มีขั้วมาวิเคราะห์ โดยใช้เครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ตามด้วย LC -MS (Liquid Chromatography - Mass Spactromety) เพื่อให้ได้ข้อมูลเบื้องต้นของสารแต่ละตัว แล้วจึงแยกสารแต่ละชนิดด้วยวิธี Semi - Prepartive HPLC ต่อไป เพื่อทำการยืนยันผลโดยใช้ NMR (Nuclear Magnetic) จากผลการวิจัยครั้งนี้ พบว่า หนึ่งในสารสำคัญที่ได้จากการสกัดแยกของเมล็ดลำไย คือ อีลาจิก แอซิค (ellagic acid) ซึ่งเป็นสารป้องกันการก่อมะเร็ง (anticarcinogenic agent) และเป็นสารที่ป้องกันการก่อกลายพันธุ์ (antimutagenic compound) อีกทั้งยังพบในปริมาณสูงจากการวิจัยของ สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อราและยีสต์ของสารสกัดจากลำไย 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สารสกัดจากเมล็ดลำไยพันธุ์ใบดำ และสารสกัดจากเมล็ด เนื้อ และลำไยทั้งผลพันธุ์อีดอ เปรียบเทียบกับสารโพลีฟีนอลิกที่พบในลำไย ได้แก่ กรด gallic กรด ellagic และ corilagin พบว่าสารสกัดจากเมล็ดลำไยทั้ง 2 พันธุ์ มีฤทธิ์ต้านยีสต์ Candida หลายชนิด และเชื้อรา Cryptococcus neoformans ขณะที่สารสกัดจากเนื้อและลำไยทั้งผลไม่มีฤทธิ์ กรด ellagic จะมีฤทธิ์แรงที่สุดในการต้านเชื้อราตามด้วย corilagin และกรด gallic ตามลำดับ กรด ellagic สามารถต้านเชื้อ Candida parapsilosis และ Cryptococcus neoformans ได้ดีกว่าเชื้อ C. krusei และ C. albicans บางสายพันธุ์ สารสกัดจากเมล็ดลำไยพันธุ์ใบดำ มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราแรงกว่า และมีปริมาณของกรด ellagic และกรด gallic สูงกว่าพันธุ์อีดอ นอกจากนี้ยังพบว่าสาร corilagin และกรด gallic มีฤทธิ์อ่อนจนถึงปานกลางในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus mutans* เมื่อนำสารสกัดจากเมล็ดลำไยมาใช้ในผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวกับการดูแลช่องปาก พบว่าผงฟูซึ่งมีสารสกัดจากเมล็ดลำไย 5% จะช่วยลดการยึดติดของเชื้อ C. albicans กับแผ่นแปะฟัน (acrylic strips) ได้ น้ำยาบ้วนปากที่มีสารสกัดจากเมล็ดลำไย 0.5% มีผลต้านเชื้อราได้ดีกว่าผลิตภัณฑ์ตามท้องตลาดอื่นๆ แสดงว่า สารสกัดจากเมล็ดลำไยและสารโพลีฟีนอลิกที่พบ สามารถใช้

เป็นสารต้านเชื้อราในผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากสำหรับรักษาโรคติดเชื้อราฉวยโอกาสมากเมื่อเทียบกับพืชจำพวกราสเบอรี่ ในผลการวิจัยจากต่างประเทศ

จากการวิจัยของ อรัญญา ศรีบุศราคัม ได้ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของลำไย จะพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนับเป็นคุณสมบัติเด่นของลำไย สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของลำไย ได้แก่ ใบ ดอก เนื้อผล เปลือกผล ลำต้น กิ่ง และเมล็ด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ โดยเฉพาะสารสกัดจากเมล็ด ซึ่งจะมีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดจากส่วนอื่นๆ สารสำคัญในออกฤทธิ์จะเป็นสารในกลุ่มโพลีฟีนอล ได้แก่ gallic acid, ellagic acid, corilagin, 4-O-methylgallic acid, epi-catechin และสารโพลีแซคคาไรด์ ฤทธิ์ในการต้านมะเร็งเป็นอีกฤทธิ์หนึ่งของลำไยที่มีผู้สนใจศึกษา โดยพบว่าสารสกัดแยกส่วน (fraction) จากเมล็ดแห้งหรือเนื้อลำไยแห้ง มีฤทธิ์เหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบ apoptosis ของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ RKO-2, DLD-1, HT-15, SW-48 และ HCG สารสกัดแยกส่วน (fraction) จากเมล็ด มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ ยับยั้งการเจริญเติบโต และยับยั้งการลุกลามของเซลล์มะเร็งไปยังเซลล์ข้างเคียง เมื่อทดสอบกับเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ SW480 สารสกัดยังมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ matrix metallo-proteinases-2 และ -9 ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการบุกรุกและการแพร่กระจายของมะเร็ง การทดลองในหนูที่เหนี่ยวนำให้เป็นมะเร็งลำไส้ด้วยสาร dimethylhydrazine พบว่าสารสกัดแยกส่วนจากเนื้อลำไยและเมล็ด มีฤทธิ์ป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้

จากการวิจัยของ วิริยา นิตย์ธีรานนท์ ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วย 95% เอทานอลและน้ำ รวมถึงการเสริมผงเมล็ดลำไยเถาในผลิตภัณฑ์ แยมลำไยเถา และทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์จากการศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกโดยรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ในสารสกัดเมล็ดลำไยเถา พบว่าสารสกัดจากเอทานอลและน้ำของเมล็ดลำไยเถามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมเท่ากับ 93.12±58.88 และ 554.16±42.83 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเมล็ดลำไยเถาตามลำดับ ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และFerric reducing ability power (FRAP) พบว่าสารสกัดเมล็ดลำไยเถาด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารสกัดเมล็ดลำไยเถาด้วยน้ำ ($p \leq 0.05$) จากนั้นศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตแยมลำไยเถาและแยมลำไยเถาเพิ่มเมล็ดลำไยเถาร้อยละ 1, 3 และ 5 เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่าแยมลำไยเถาเพิ่มเมล็ดทุกสูตรมีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเยื่อใยเพิ่มสูงขึ้น ($p \leq 0.05$)นอกจากนี้ปริมา

สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของแยมลำไยเถาเพิ่มเมล็ดลำไยเถาสูงกว่าสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยแยมลำไยเถาที่เพิ่มเมล็ดลำไยเถาร้อยละ 5 มีค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดผลการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคจำนวน 100 คน โดยวิธีทดสอบ 9-point hedonic scale พบว่าผู้บริโภคร้อยละ 90 ยอมรับผลิตภัณฑ์แยมลำไยเถาเพิ่มเมล็ดร้อยละ 1 ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงถึงความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์จากเมล็ดลำไยเถาเพื่อเสริมคุณค่าทางโภชนาการในอาหาร หรือใช้เป็นอาหารเสริมต่อไป

เสาวลักษณ์ รุ่งแจ้ง 2548 การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยว (Tamaridus indica L.) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ณ อุณหภูมิต่างๆ โดยใช้อ่างควบคุมอุณหภูมิและอ่างควบคุมอุณหภูมิที่มีการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค นำสารสกัดที่ได้มาทดสอบคุณสมบัติของการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) การลดทอนฤทธิ์ของอนุมูลอิสระ (Reducing power) และความสามารถจับประจุของอิออนเหล็ก (Ferrous ion chelating ability) โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบกับ Trolox พบว่า การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และการลดทอนฤทธิ์ของอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยเมทานอลให้ผลใกล้เคียงกับ Trolox สารที่สกัดโดยใช้เมทานอลและเอทานอลที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสามารถจับประจุของอิออนเหล็กร้อยละ 85.08 และ 82.03 ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดโดยใช้เอทิลอะซีเตตไม่แสดงฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH การลดทอนฤทธิ์อนุมูลอิสระและความสามารถจับประจุของอิออนเหล็ก

จุฑามาศ มณีวงศ์ และรัชพล โฮมสองชั้น เรื่องการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดและเอนไซม์ สารสกัดเมล็ดลำไย (Longan Seed Extract) ประกอบไปด้วยสาระสำคัญกลุ่มโพลีฟีนอลซึ่งสามารถช่วยบำรุงให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวอย่างอ่อนโยนโดยไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองและด้วยประสิทธิภาพของสารสกัดจึงเป็นผลิตภัณฑ์ต่อต้านริ้วรอยช่วยฟื้นฟูสภาพผิวให้เปล่งปลั่งสดใสป้องกันการเกิดริ้วรอยหมองคล้ำจากผลการวิจัยพบว่าในเมล็ดลำใยประกอบด้วยสารกลุ่มโพลีฟีนอลในปริมาณสูง ได้แก่ Galic acid 9. 18-23. 04mg. / g. Dw, Elagic acid 8. 13-12. 65 mg. / gDW โดยปริมาณสารขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของลำไยในสารสกัดลำใยสดและเนื้อลำไยแห้งการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากเมล็ดลำไยมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้เทียบเท่ากับสารสกัดจากชาเขียวญี่ปุ่นนอกจากนี้สารสกัดจากเมล็ดลำไยยังมีฤทธิ์ยับยั้งเอ็นไซม์ไทโรซิเนสซึ่งพบค่า IC 150

อยู่ในช่วง 2. 9-3. 2 ดังนั้นจากผลวิจัยที่ผ่านจึงมีการนำสารสกัดจากดมล็ดลำไยมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีฤทธิ์ช่วยต้านอนุมูลอิสระและช่วยผิวขาวนเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ

2.10. ขั้นตอนการทดลอง

2.10.1. วัสดุ-อุปกรณ์

1. เครื่องแก้วพื้นฐาน เช่น บีกเกอร์ ขวดแก้ว เป็นต้น
2. เครื่องสกัดซอกเลต (Soxhlet extraction)
3. เครื่องอัลตร้าโซนิค (Ultrasonic)
4. เครื่องชั่งวิเคราะห์ ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
5. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer)
6. กระดาษกรอง whatman เบอร์ 4
7. ไซริงค์กรองสาร (Syringe filter)
8. ไมโครปิเปต (micropipette)
9. เครื่องบดอเนกประสงค์

2.10.2 สารเคมี

1. เอทานอล (Ethanol)
2. เฮกเซน (Hexane)
3. กรดแกลลิก (Gallic acid)
4. คาเทชิน (Catechin)
5. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)
6. โซเดียมไนเตรต (Sodium nitrite)
7. โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate)
8. สารละลายฟอร์ลิน (Folin - ciocalteu reagent)
9. อะลูมิเนียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต (Aluminum chloride hexahydrate)
10. โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (Potassium persulfate)
11. เฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต (Ferrous sulfate heptahydrate)
12. เฟอร์ริกคลอไรด์ (Ferric chloride)
13. ดีพีพีเอช (DPPH : 2,2-diphenyl-1-diphenyl-1-picryhydrazyl radical)

14. 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-S-triazine (TPTZ)
15. 6-Hydroxy-2,5,7,8-Tetramethylchroman-2-2-Carboxylic acid (Trolox)
16. 2,2'-Azobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)

2.10.3. การเตรียมเมล็ดลำไย

ชั่งเมล็ดลำไยบด 500 กรัม จากนั้นนำมาสกัดไขมันออกจากเมล็ดลำไยด้วยวิธี Soxhlet Extraction โดยใช้สารละลายเฮกเซน เป็นเวลา 16 ชั่วโมง บดตัวอย่างเมล็ดลำไยให้มีขนาดเล็ก ด้วยเครื่องบดอเนกประสงค์ขนาด 500 กรัม แล้วร่อนด้วยตระแกรงขนาด 18 เมช เพื่อแยกขนาดของผงเมล็ดลำไย ให้ได้ 2 แบบ คือ ผงเมล็ดลำไยแบบหยาบ และแบบละเอียด เนื่องจากขนาดของเมล็ดลำไยมีผลต่อการย่อยของเอนไซม์

2.10.4. วิธีสกัดผงเมล็ดลำไยด้วย Ultrasonic Bath

ชั่งผงเมล็ดลำไยแบบหยาบและแบบละเอียดในหลอดขนาด 50 มิลลิลิตร อย่างละ 0.5 กรัม แล้วนำมาแช่ด้วยตัวทำละลาย เอทานอล 0% 30% 50% 70% และ 99% ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที ทำการทดสอบตัวอย่างในแต่ละตัวทำละลาย 3 ซ้ำ จากนั้นสกัดโดยใช้เครื่อง Ultrasonic Cleaner Bath ความถี่ 37 กิโลเฮิร์ท ที่อุณหภูมิ 40±2 องศาเซลเซียส กรองสารสกัดที่ได้ด้วย Syringe Filter เพื่อแยกตะกอนออกสำหรับใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

2.10.5. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ดัดแปลงมาจากวิธีของ (Singleton and Rossi,1965) นำสารสกัดแต่ละตัว ปริมาตร 125 ไมโครลิตร เติมน้ำ RO 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 125 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 6 นาที และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 7% ($Na_2 CO_3$) ปริมาตร 1,250 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน หยุดปฏิกิริยาโดยเติมน้ำ RO 1000 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร โดยใช้ UV-VIS spectrophotometer คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม เฉลี่ยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกในช่วงความเข้มข้น

0.1-1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และแสดงข้อมูลในหน่วยไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของตัวอย่างสารสกัดเมล็ดลำไย (µg GAE/mg sample)

2.10.6. การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Colorimetric method

ใช้คาเทชิน (Catechin) เป็นสารมาตรฐาน (ความเข้มข้น 30-300 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ดัดแปลงมาจากวิธีของ (Wolfe et al.,2003) นำสารสกัดแต่ละตัว ปริมาตร 250 ไมโครลิตร เติมน้ำ RO ปริมาตร 1,250 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไนไทรท์ (5% (w/w) $NaNO_2$) ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ (10% $AlCl_3$) ปริมาตร 150 ไมโครลิตร และปล่อยทิ้งไว้ 6 นาที แล้วเติมสารละลาย 4% NaOH ลงไป ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน หยุดปฏิกิริยาโดยเติมน้ำ RO ปริมาตร 275 ไมโครลิตร และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร โดยใช้ UV-VIS spectrophotometer คำนวณปริมาณของฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดจากกราฟมาตรฐานของคาเทชิน (Catechin) และแสดงข้อมูลในหน่วยไมโครกรัมสมมูลของคาเทชิน/มิลลิกรัมของตัวอย่าสารสกัดเมล็ดลำไย (µg CAE/mg sample)

2.10.7. การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

1. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2- Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2- Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ดัดแปลงมาจากวิธีของ (Zhu,K.,H.Zhou and H.Qian,2006) โดยเตรียมสารละลาย 0.1 มิลลิโมลาร์ DPPH ใน ethanol 95% จากนั้นปิเปตตัวอย่างสารสกัดเมล็ดลำไย ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร เติมสารละลาย DPPH ที่เตรียมไว้ ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 นาที ในที่มืด และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร โดยใช้ UV-VIS spectrophotometer ได้ค่าการดูดกลืนแสง ของสารตัวอย่าง (A_1) และใช้ ethanol เป็น blank (A_0) และมีสารละลายโทรลอกซ์ (Trolox) เป็นสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 1-10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับ % radical scavenging แล้วหาค่า IC_{50} คำนวณหาฤทธิ์การต้านออกซิเดชันจากสมการ

$$\% \text{ radical scavenging} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

แสดงข้อมูลในหน่วยไมโครกรัมสมมูลของโทรลอกซ์/มิลลิกรัมของตัวอย่าสารสกัดเมล็ดลำไย (µg Trolox/mg sample)

2. การทดสอบด้วยวิธี Ferric reducing ability power (FRAP) assay

การทดสอบด้วยวิธี Ferric reducing ability power (FRAP) assay ดัดแปลงมาจากวิธีของ (Benzie and Strain's protocol (1996, 1999).) เตรียมสารละลาย Frap reagent โดยผสมสารละลาย 300 มิลลิโมลาร์ Acetate buffer pH 3.6 สารละลาย 20 มิลลิโมลาร์ $FeCl_3$ และสารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ TPTZ ใน 40 มิลลิโมลาร์ HCl ในอัตราส่วน 10:1:1 ตามลำดับ จากนั้น ปิเปตตัวอย่างสารสกัดเมล็ดลำไย 60 ไมโครลิตรผสมกับ Frap reagent 1,800 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มใน Water bath อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยใช้ UV-VIS spectrophotometer คำนวณความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (FRAP value) โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของ Ferrous sulfate ($FeSO_4$) แสดงข้อมูลในหน่วยไมโครกรัมสมมูลของ Fe^{2+} ต่อมิลลิกรัมของตัวอย่าสารสกัดเมล็ดลำไย (mM Fe^{2+}/mg sample)

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ดัดแปลงมาจากวิธีของ (Re et al,1999) เตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์และสารละลาย Potassium persulfate (KPS) ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ ผสมสารละลาย ABTS กับ Potassium persulfate ในอัตราส่วน 1:0.5 ทิ้งไว้ในที่มืด ประมาณ 12-16 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้ หลังจากนั้นเจือจาง สารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ ด้วยเอทานอลให้มีค่าดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.7±0.02 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร จากนั้นเตรียมสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.1-1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในเอทานอล ปิเปตสารตัวอย่าง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ 2,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 6 นาทีในที่มืด นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้ UV-VIS spectrophotometer คำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของ Trolox แสดงข้อมูลในหน่วยไมโครกรัมสมมูลของโทรลอกซ์/มิลลิกรัมของตัวอย่างสารสกัดเมล็ดลำไย (µg Trolox/mg sample)

2.10.8. การใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัด

ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ ผสมกับสารละลายเอนไซม์ที่ความเข้มข้นต่างๆ (pectinase 0% 1% 3% และ 5%) ปริมาตร 40 มิลลิลิตร จากนั้นบ่มในตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซียลเซียส อัตราการหมุน 180 rpm เวลา (120, 150, 180 นาที) จากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วย acetate buffer : ethanol ที่อัตราส่วน 40:60 อัตราการหมุน 180 rpm เป็นเวลา 1 นาทีแล้วเหวี่ยงเพื่อแยกสารละลาย และกากตัวอย่าง ส่วนสารละลายนำไประเหยตัวทำละลายออก

2.10.9. การสกัดตัวอย่างหลังการย่อยด้วยเอนไซม์

นำกากตัวอย่าง 2 กรัม สกัดต่อด้วยเอทานอลความเข้มข้น 50% ปริมาตร 100 ml ด้วย ultrasonic bath ที่ความถี่ 37 กิโลเฮิร์ท ที่อุณหภูมิ 40±2 องศาเซียลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 และนำไประเหยตัวทำละลายออก

2.10.10. วิเคราะห์คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

นำสารที่ได้จากการใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัด และ ตัวอย่างหลังการย่อยด้วยเอนไซม์มาทดสอบและวิเคราะผลตามข้อ 2.10.7

2.10.11. การวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการทดลอง 3 ซ้ำวิเคราะห์ความแปรปรวนของ ข้อมูล (ANOVA) โดยการวางแผนการทดลองแบบ CRD สำหรับการวิเคราะห์สมบัติทุกด้านทดสอบความแตกต่าง ของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2.11. ผลการทดลอง

2.11.1. ผลการสกัดผงเมล็ดลำไย ด้วย Ultrasonic Bath

2.11.1.1. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลลิก ทดสอบกับตัวอย่างสารสกัดเมล็ดลำไยที่มีปริมาณความเข้มข้นดังตารางที่ 2 พบว่า ตัวอย่าง ขนาดใหญ่กว่า 18 เมช สามารถสกัดสารฟีนอลิกออกจากเมล็ดลำไยได้มากที่สุดที่ความเข้มข้น เอทานอล 50% 30% 70% 0% และ 99% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 65.28±4.10, 54.00±4.35, 46.84±2.98, 42.82±0.46 และ 5.13±1.15

µg GAE /mg sample ตามลำดับ ตัวอย่าง ขนาดเล็กกว่า 18 เมช สามารถสกัดสารฟีนอลิกออกจากเมล็ดลำไยได้มากที่สุดที่ความเข้มข้น เอทานอล 50% 30% 70% 0% และ 99% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 82.18±5.15, 71.52±1.68, 57.10±3.82, 53.87±0.51 และ 2.69±0.62 µg GAE /mg sample ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลลิก

	ตัวทำละลาย	**ปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมด (µg GAE /mg sample)**
ตัวอย่าง ขนาดใหญ่กว่า 18 เมช	เอทานอล 0%	42.82±0.46^{e}
	เอทานอล 30%	54.00±4.35^{b,c,d}
	เอทานอล 50%	65.28±4.10^{b,c}
	เอทนาอล 70%	46.84±2.98^{d,e}
	เอทานอล 99%	5.13±1.15^{f}
ตัวอย่าง ขนาดเล็กกว่า 18 เมช	เอทานอล 0%	53.87±0.51^{b,c,d}
	เอทานอล 30%	71.52±1.68^{a,b}
	เอทานอล 50%	82.18±5.15^{a}
	เอทนาอล 70%	57.10±3.82^{c,d}
	เอทานอล 99%	2.69±0.62^{f}

หมายเหตุ: พยัญชนะ a b c d e f แสดงความแตกต่างค่าเฉลี่ยของสารสกัดเมล็ดลำไย ขนาดใหญ่กว่า 18 เมช และขนาดเล็กกว่า 18 เมช ในตัวทำละลาย เอทานอล 0% 30% 50% 70% และ 99% ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ค่าในตารางแสดงเป็น Mean ± Std. Deviation

2.11.1.2. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ทดสอบกับตัวอย่างสารสกัดเมล็ดลำไยที่มีปริมาณความเข้มข้น ดังตารางที่ 3 พบว่า ตัวอย่าง ขนาดใหญ่กว่า 18 เมช สามารถสกัดสาร ฟลาโวนอยด์ออกจากเมล็ดลำไยได้มากที่สุดที่ความเข้มข้น เอทานอล 50% 30% 70% 0% และ 99% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 10.89±2.20, 7.86±1.30, 6.93±1.85, 5.42±0.13 และ 0.45±0.08 µg CAE /mg sample ตามลำดับ ตัวอย่าง ขนาดเล็กกว่า 18 เมช สามารถสกัดสารฟลาโวนอยด์ออกจากเมล็ดลำไยได้มากที่สุดที่ความเข้มข้น เอทานอล 50% 70% 30% 0% และ 99% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 9.61±0.85, 7.88±1.99, 7.57±0.05, 5.31±0.34, 0.94±0.34 µg CAE /mg sample ตามลำดับ

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ทดสอบที่ความเข้มข้น 20 mg/ml

	ตัวทำละลาย	**ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (µg CAE /mg sample)**
ตัวอย่าง ขนาดใหญ่กว่า 18 เมช	เอทานอล 0%	$5.42\pm0.13^{d,e}$
	เอทานอล 30%	$7.86\pm1.30^{b,c}$
	เอทานอล 50%	10.89 ± 2.20^{a}
	เอทนาอล 70%	$6.93\pm1.85^{c,d,e}$
	เอทานอล 99%	0.45 ± 0.08^{f}
ตัวอย่าง ขนาดเล็กกว่า 18 เมช	เอทานอล 0%	5.31 ± 0.34^{e}
	เอทานอล 30%	$7.57\pm0.05^{b,c,d}$
	เอทานอล 50%	$9.61\pm0.85^{a,b}$
	เอทนาอล 70%	$7.88\pm1.99^{b,c}$
	เอทานอล 99%	0.94 ± 0.34^{f}

หมายเหตุ: พยัญชนะ a b c d e f แสดงความแตกต่างค่าเฉลี่ยของสารสกัดเมล็ดลำไย ขนาดใหญ่กว่า 18 เมช และขนาดเล็กกว่า 18 เมช ในตัวทำละลาย เอทานอล 0% 30% 50% 70% และ 99% ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ค่าในตารางแสดงเป็น Mean ± Std. Deviation

2.11.1.3. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging ทดสอบกับตัวอย่างสารสกัดเมล็ดลำไยที่มีปริมาณความเข้มข้น ดังตารางที่ 3 พบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเมล็ดลำไย ตัวอย่าง ขนาดใหญ่กว่า 18 เมช สามารถต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุดที่ความเข้มข้น เอทานอล 50% 0% 30% 70% และ 99% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 66.76±5.31, 58.89±2.91, 58.05±0.67, 45.37±2.99 และ 0.92±0.76 ตามลำดับ ตัวอย่าง ขนาดเล็กกว่า 18 เมช สามารถต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุดที่ความเข้มข้น เอทานอล 50% 30% 70% 0% และ 99% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 72.79±1.29, 60.51±2.92, 60.14±1.82, 50.86±1.14 และ 2.75±0.73 ตามลำดับ

ตารางที่ 4 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging ทดสอบตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.1 mg/ml

	ตัวทำละลาย	**ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (%)**
ตัวอย่างขนาดใหญ่กว่า 18 เมช	เอทานอล 0%	58.89±2.91[c]
	เอทานอล 30%	58.05±0.67[c]
	เอทานอล 50%	66.76±5.31[b]
	เอทนาอล 70%	45.37±2.99[e]
	เอทานอล 99%	0.92±0.76[f]
ตัวอย่างขนาดเล็กกว่า 18 เมช	เอทานอล 0%	50.86±1.14[d]
	เอทานอล 30%	60.51±2.92[c]
	เอทานอล 50%	72.79±1.29[a]
	เอทนาอล 70%	60.14±1.82[b]
	เอทานอล 99%	2.75±0.73[f]

หมายเหตุ: พยัญชนะ a b c d e f แสดงความแตกต่างค่าเฉลี่ยของสารสกัดเมล็ดลำไย ขนาดใหญ่กว่า 18 เมช และขนาดเล็กกว่า 18 เมช ในตัวทำละลาย เอทานอล 0% 30% 50% 70% และ 99% ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ค่าในตารางแสดงเป็น Mean ± Std. Deviation

2.11.1.4. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ทดสอบกับตัวอย่างสารสกัดเมล็ดลำไยที่มีปริมาณความเข้มข้น ดังตารางที่ 5 พบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเมล็ดลำไยตัวอย่าง ขนาดใหญ่กว่า 18 เมช สามารถต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุดที่ความเข้มข้น เอทานอล 50% 70% 30% 0% และ 99% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 42.80±2.57, 32.43±7.10, 32.02±3.96, 29.67±0.57 และ 4.96±0.35 ตามลำดับ ตัวอย่าง ขนาดเล็กกว่า 18 เมช สามารถต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุดที่ความเข้มข้น เอทานอล 50% 30% 70% 0% และ 99% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 47.08±2.39, 35.00±1.46, 32.26±0.23, 31.86±0.64 และ 8.10±0.25 ตามลำดับ

ตารางที่ 5 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ทดสอบตัวอย่างที่ความเข้มข้น 2 mg/ml

	ตัวทำละลาย	**ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (%)**
ตัวอย่างขนาดใหญ่กว่า 18 เมช	เอทานอล 0%	29.67±0.57[b]
	เอทานอล 30%	32.02±3.96[b]
	เอทานอล 50%	42.80±2.57[a]
	เอทนาอล 70%	32.43±7.10[b]
	เอทานอล 99%	4.96±0.35[c]
ตัวอย่างขนาดเล็กกว่า 18 เมช	เอทานอล 0%	31.86±0.64[b]
	เอทานอล 30%	35.00±1.46[b]
	เอทานอล 50%	47.08±2.39[a]
	เอทนาอล 70%	32.26±0.23[b]
	เอทานอล 99%	8.10±0.25[c]

หมายเหตุ: พยัญชนะ a b c แสดงความแตกต่างค่าเฉลี่ยของสารสกัดเมล็ดลำไย ขนาดใหญ่กว่า 18 เมช และขนาดเล็กกว่า 18 เมช ในตัวทำละลาย เอทานอล 0% 30% 50% 70% และ 99% ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ค่าในตารางแสดงเป็น Mean ± Std. Deviation

2.11.1.5. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ทดสอบกับตัวอย่างสารสกัดเมล็ดลำไยที่มีปริมาณความเข้มข้น ดังตารางที่ 6 พบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเมล็ดลำไย ตัวอย่าง ขนาดใหญ่กว่า 18 เมช สามารถต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุดที่ความเข้มข้น เอทานอล 50% 30% 0% 70% และ 99% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 1.30±0.20, 1.00±0.07, 0.99±0.08, 0.76±0.26 และ 0.03±0.00 ตามลำดับ ตัวอย่าง ขนาดเล็กกว่า 18 เมช สามารถต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุดที่ความเข้มข้น เอทานอล 50% 70% 30% 0% และ 99% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 1.19±0.09, 0.99±0.13, 0.93±0.03, 0.80±0.02 และ 0.12±0.01 ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ทดสอบตัวอย่างที่ความเข้มข้น 2 mg/ml

	ตัวทำละลาย	ความสามารถในการดักจับเหล็ก (mM Fe2+ /mg sample)
ตัวอย่าง ขนาดใหญ่กว่า 18 เมช	เอทานอล 0%	$0.99\pm0.08^{b,c}$
	เอทานอล 30%	$1.00\pm0.07^{b,c}$
	เอทานอล 50%	1.30 ± 0.20^{a}
	เอทนาอล 70%	0.76 ± 0.26^{d}
	เอทานอล 99%	0.03 ± 0.00^{e}
ตัวอย่าง ขนาดเล็กกว่า 18 เมช	เอทานอล 0%	$0.80\pm0.02^{c,d}$
	เอทานอล 30%	$0.93\pm0.03^{c,d}$
	เอทานอล 50%	$1.19\pm0.09^{a,b}$
	เอทนาอล 70%	$0.99\pm0.13^{b,c,d}$
	เอทานอล 99%	0.12 ± 0.01^{e}

หมายเหตุ: พยัญชนะ a b c d e แสดงความแตกต่างค่าเฉลี่ยของสารสกัดเมล็ดลำไย ขนาดใหญ่กว่า 18 เมช และขนาดเล็กกว่า 18 เมช ในตัวทำละลาย เอทานอล 0% 30% 50% 70% และ 99% ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ค่าในตารางแสดงเป็น Mean ± Std. Deviation

2.12. ผลการสกัดตัวอย่างหลังการย่อยด้วยเอนไซม์

2.12.1. ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัด ในการจับกับอนุมูล DPPH- โดยค่าที่ได้ แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน จากสารสกัดเมล็ดลำไยที่ได้หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ ที่ปริมาณเอนไซม์ 0% 1% 3% 5% ที่เวลา 120 150 และ 180 นาที สกัดต่อด้วยเอทานอลความเข้มข้น 50% ด้วย Ultrasonic bath เมื่อนำค่าเฉลี่ยของสารที่สกัดด้วยเอนไซม์ในปริมาณและเวลาดังกล่าวมาเปรียบเทียบ ดังตารางที่ 6 พบว่า เวลาที่ใช้บ่ม 120 นาที ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุดที่ 5% 0% 1% และ 3% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 38.59±8.74 36.05±4.82 35.14±4.57 และ 19.14±1.45 ตามลำดับ เวลาที่ใช้บ่ม 150 นาที ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุดที่ 5% 3% 1% และ 0% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 49.61±2.10 42.14±0.88 37.69±2.17 และ 36.25±6.22ตามลำดับ เวลาที่ใช้

บ่ม 180 นาที ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุดที่ 5% 3% 0% และ 1% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 48.57±5.40 44.67±2.08 44.35±2.92 และ 41.25±1.57 ตามลำดับ

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดเมล็ดลำไยที่ได้หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์เพคติเนส

ปริมาณเอนไซม์ (Pectinase)	เวลาที่ใช้บ่ม (นาที)/ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (%)		
	120	150	180
0%	36.05±4.82^{b,c}	36.25±6.22^{b,c}	44.35±2.92^{a,b,c}
1%	35.14±4.57^{a,b,c}	37.69±2.17^{a,b,c}	41.25±1.57^{a,b,c}
3%	19.14±1.45^{d}	42.14±0.88^{a,b,c}	44.67±2.08^{a,b,c}
5%	38.59±8.74^{a,b,c}	49.61±2.10^{a}	48.57±5.40^{a,b}

หมายเหตุ: พยัญชนะ a b c d แสดงความแตกต่างค่าเฉลี่ยของสารสกัดเมล็ดลำไยที่ได้หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ค่าในตารางแสดงเป็น Mean ± Std. Deviation

2.12.2. ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี FRAP เพื่อวิเคราะห์ความสามารถรวมในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก โดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อน จากนั้นนำค่าที่ได้จากการวัดมาคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเมล็ดลำไยที่ได้หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ ที่ปริมาณเอนไซม์ 0% 1% 3% 5% ที่เวลา 120 150 และ 180 นาที สกัดต่อด้วยเอทานอลความเข้มข้น 50% ด้วย Ultrasonic bath เมื่อนำค่าเฉลี่ยของสารที่สกัดด้วยเอนไซม์ในปริมาณและเวลาดังกล่าวมาเปรียบเทียบ ดังตารางที่ 7 พบว่า เวลาที่ใช้บ่ม 120 นาที ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุดที่ 0% 5% 1% และ 3% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 4.98±1.86 3.68±1.45 3.44±0.61 และ 3.19±0.54 ตามลำดับ เวลาที่ใช้บ่ม 150 นาที ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุดที่ 3% 5% 1% และ 0% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 4.65±1.06 3.97±0.99 3.69±0.47 และ 3.15±0.82

ตามลำดับ เวลาที่ใช้บ่ม 180 นาที ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถต้านออกซิเดชันได้มากที่สุดที่ 3% 5% 0% และ 1% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 4.35±0.09 4.29±1.26 3.99±0.37 และ 3.95±0.36 ตามลำดับ

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดเมล็ดลำไยที่ได้หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์เพคทิเนส

ปริมาณเอนไซม์ (Pectinase)	**เวลาที่ใช้บ่ม (นาที)/ความสามารถในการดักจับเหล็ก (mM Fe2+ /mg sample)**		
	120	**150**	**180**
0%	4.98±1.86[a]	3.15±0.82[a]	3.99±0.37[a]
1%	3.44±0.61[a]	3.69±0.47[a]	3.95±0.36[a]
3%	3.19±0.54[a]	4.65±1.06[a]	4.35±0.09[a]
5%	3.68±1.45[a]	3.97±0.99[a]	4.29±1.26[a]

หมายเหตุ: พยัญชนะ a แสดงความแตกต่างค่าเฉลี่ยของสารสกัดเมล็ดลำไยที่ได้หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ค่าในตารางแสดงเป็น Mean ± Std. Deviation

2.12.3. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมด จากสารสกัดเมล็ดลำไยที่ได้หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ ที่ปริมาณเอนไซม์ 0% 1% 3% 5% ที่เวลา 120 150 และ 180 นาที สกัดต่อด้วยเอทานอลความเข้มข้น 50% ด้วย Ultrasonic bath เมื่อนำค่าเฉลี่ยปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารที่สกัดด้วยเอนไซม์มาเปรียบเทียบ ดังตารางที่ 8 พบว่า เวลาที่ใช้บ่ม 120 นาที ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถสกัดสารฟีนอลิกจากเมล็ดลำไยได้มากที่สุดที่ 0% 5% 1% และ 3% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 340.90±146.69 256.83±115.46 226.36±41.52 และ 180.66±75.08 ตามลำดับ เวลาที่ใช้บ่ม 150 นาที ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถสกัดสารฟีนอลิกจากเมล็ดลำไยได้มากที่สุดที่ 3% 1% 0% และ 5% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 397.02± 39.45 294.81± 83.64 287.61±66.94 และ 275.17± 47.80 ตามลำดับ เวลาที่ใช้บ่ม 180 นาที ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถสกัดสารฟีนอลิกจากเมล็ดลำไยได้มากที่สุดที่ 3% 5% 1% และ 0% ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 344.57±25.34 323.57± 93.46 320.89± 29.66 และ 318.08±36.96 ตามลำดับ

ตารางที่ 9 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกของสารสกัดเมล็ดลำไยโดยใช้เอนไซม์เพคติเนส ช่วยในการสกัด

ปริมาณเอนไซม์ (Pectinase)	เวลาที่ใช้บ่ม (นาที)/ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (µg GAE /mg sample)		
	120	150	180
0%	340.90±146.69^{a,b}	287.61±66.94 ^{a,b}	318.08±36.96^{a,b}
1%	226.36±41.52^{a,b}	294.81± 83.64^{a,b}	320.89± 29.66^{a,b}
3%	180.66±75.08^{b}	397.02± 39.45^{a}	344.57±25.34^{a,b}
5%	256.83±115.46^{a,b}	275.17± 47.80^{a,b}	323.57± 93.46^{a,b}

หมายเหตุ: พยัญชนะ a b แสดงความแตกต่างค่าเฉลี่ยของสารสกัดเมล็ดลำไยที่ได้หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ค่าในตารางแสดงเป็น Mean ± Std. Deviation

2.12. สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

การทดลองการสกัดเมล็ดลำไยด้วยเครื่อง Ultrasonic Bath ในตัวทำละลายที่มีความเข้มข้นต่างกันเพื่อหาความเข้มข้นของตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารสำคัญออกจากเมล็ดลำไยได้มากที่สุด ตัวทำละลายที่ใช้ทดลองคือ เอทานอล 0% 30% 50% 70% 99% และวิเคราะห์ด้วยวิธีต่างๆ จากผลการทดลองตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 50% สามารถสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเมล็ดลำไยได้ดีที่สุด ทั้งในตัวอย่างที่มีขนาดใหญ่กว่า 18 เมช และ ตัวอย่างที่มีขนาดเล็กกว่า 18 เมช ผู้วิจัยจึงเลือก ตัวทำละลายที่มีความเข้มข้น 50% มาใช้ในการสกัดและใช้เอนไซม์มาช่วยในการสกัด

จากการทดลองการใช้เอนไซม์เพคติเนสช่วยในการสกัด โดยมีความเข้มข้นเอนไซม์ 0% 1% 3% และ 5% บ่มเป็นเวลา 120 150 และ 180 นาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสจากนั้นสกัดตัวอย่างหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ โดยใช้เอทานอล 50% สกัดต่อด้วยเครื่อง Ultrasonic Bath และทดสอบด้วยวิธี DPPH FRAP และ หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลการทดสอบพบว่าตัวอย่างที่ถูกย่อยด้วย เอนไซม์เพคติเนสความเข้มข้น 5% บ่มที่ 150 นาที มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุดที่ 49.61±2.10% ทดสอบที่ความเข้มข้น 0.01 mg/ml ตัวอย่างที่ถูกย่อยด้วย เอนไซม์เพคติเนสความเข้มข้น 3% บ่มที่ 150 นาที พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมี

ค่าเฉลี่ยสูงสุดที่ 397.02±39.45 µg GAE /mg sample เมื่อทดสอบความสามารถของสารสกัดในการให้อิเล็กตรอนอิสระ (FRAP) พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05

จากผลการทดลองดังกล่าวมาข้างต้น การใช้เอนไซม์เพคติเนสช่วยในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเมล็ดลำไย พบว่า เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์มากขึ้น จะสามารปลดปล่อยสารประเภทโพลีฟีนอลออกจากเมล็ดลำไยได้มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สมฤดี (2555) ที่กล่าวว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์เพคติเนสต่อการสกัดผลไม้สูงขึ้น จะทำให้ผลผลิตมากขึ้น เนื่องจากสารเริ่มต้น (sudstrate) ของเอนไซม์เพคติเนส คือสารประกอบเพคติน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช (Cell Wall) การใช้เอนไซม์เพคติเนสจะทำให้เพคตินถูกทำลาย ทำให้ของเหลวและสารประกอบต่างๆที่อยู่ภายในซลล์ถูกปลดปล่อยออกมา และยังพบว่าอุณหภูมิในการบ่มและระยะเวลาในการบ่มเป็นปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ มยุรา (2560) ที่กล่าวว่า เมื่อใช้ปริมาณเอมไซม์ 1 % ที่อุณหภูมิในการบ่ม 40 และ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 240 นาที ได้เปอร์เซ็นต์ของผลผลิตน้ำตะขบที่สกัดได้ปริมาณมากที่สุด และสอดคล้องกับงานวิจัยของ วิภาดา (2537) ที่กล่าวว่า ปริมาณเอมไซม์ร้อยละ 1.5, 1.0 และ 0.5 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักเนื้อทุเรียนบดบ่มภายใต้ภาวะปฏิกิริยาแบบต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 300 นาทีจะให้ปริมาณสารสำคัญสูงสุด

บทที่ 3

สรุปผลการปฏิบัติงาน

การปฏิบัติงาน ณ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร ส่งผลให้เกิดประโยชน์ในหลายๆด้าน ดังนี้

1. ด้านทฤษฎี
   - ได้ความรู้ในเรื่อง การสกัดเมล็ดลำไยโดยใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัด
   - ได้ความรูใหม่ในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด
   - ได้เรียนรู้การวางแผนในการทำงาน การปฏิบัติงานอย่างถูกต้อง แม่นยำในเวลาจำกัด
2. ด้านสังคม
   - ได้รู้จักลักษณะการทำงานและการใช้ชีวิตในการทำงานมากขึ้น
   - ได้รู้จักบุคคลต่าง ๆ มากขึ้น
   - ได้รู้จักการทำงานร่วมกับผู้อื่น
   - ได้ฝึกความมีวินัย การตรงต่อเวลา และฝึกความอดทน
   - ได้มิตรภาพที่ดีกับเพื่อนร่วมงาน
3. ด้านการปฏิบัติ
   - ได้ทำการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่างๆ
   - ได้ทำการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด
   - ได้ทำการทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด
   - ได้เทคนิคและทักษะต่างๆเพิ่มมากขึ้น ในระหว่างการปฏิบัติงาน

บทที่ 4
วิจารณ์ ข้อเสนอแนะ

จากการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ณ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร โดยมีระยะเวลาตั้งแต่วันที่ 18 พฤศจิกายน พ.ศ. 2562 – วันที่ 6 มีนาคม พ.ศ. 2563 สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ซึ่งการปฏิบัติงานสหกิจศึกษาครั้งนี้ได้ปฏิบัติตามลักษณะงานโดยมีเจ้าหน้าที่คอยแนะนำและให้คำปรึกษาตลอดระยะเวลาในการปฏิบัติสหกิจ และจากประสบการณ์ในการทำงานครั้งนี้ทำให้ได้เรียนรู้ทักษะการทำงาน ประสบการณ์ดีๆ และได้เรียนรู้เทคนิคในการทำงานต่าง ๆ ได้ฝึกคิด วิเคราะห์และแก้ไขสถานการณ์ในขณะที่ปฏิบัติงาน ได้รับคำแนะนำตลอดจนการช่วยเหลือในทุกๆด้านจากเจ้าหน้าที่ทุกคน ทำให้การปฏิบัติงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการประสานงานกับสถานประกอบการล่วงหน้า ในเรื่องของปัญหาที่สถานประกอบการต้องการให้นักศึกษร่วมแก้ไข โดยแจ้งหัวข้องานวิจัยให้นักศึกษาได้รับทราบเพื่อจะได้มีการศึกษาหาข้อมูลมาล่วงหน้า เพื่อไม่ให้ล่าช้าในการปฏิบัติงาน

2. สำหรับรุ่นน้องรุ่นถัดไปที่จะมาฝึก ณ สถานบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร ควรเตรียมตัวมาก่อน เช่น การเตรียมสาร เทคนิคการใช้เครื่องมือ เพื่อจะได้มีความพร้อมในการปฏิบัติงาน

3. ควรศึกษาความรู้เพิ่มเติมนอกเหนือจากวิชาเรียน เพื่อจะได้มีความเข้าในในการปฏิบัติงานมากขึ้น

บรรณานุกรม

วิริยา นิตย์ธีรานนท์ และจตุพร อรุณกมลศรี (2561). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดลำไยเถา และการนำไปใช้ ในผลิตภัณฑ์แยมลำไยเถา. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. ปีที่ 46 เล่มที่ 2. ชลบุรี: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก

อรัญญา ศรีบุศราคัม. (2561). บทความเผยแพร่ความรู้สู่ประชาชน ลำไยคุณค่าที่มากกว่าความหวาน. (สืบค้นออนไลน์). สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

อุษณีย์ วินิตเขตคำนวณ และคณะ. (2556). สารสกัดพิเศษจากเมล็ดลำไย. (สืบค้นออนไลน์). กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Elaine m. Daniel , Alexander s. Kfcjpnick , Young-hun heur (1989). Extraction Stability and Quantitation of Ellagic Acid in Various Fruits and Nuts. Journal of food composition and analysis 2,338-349

Honest N.E.Kessy. (2018). Enrichment and biotransformation of phenolic compounds from litchi pericarps with angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibition activity.Pages 301-309

Iris F. F. Benzie and J. J. Strain. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of ‘‘Antioxidant Power’’: The FRAP Assay. ANALYTICAL BIOCHEMISTRY 239, 70–76

Katherina Fernández. (2015). An enzymatic extraction of proanthocyanidins from País grape seeds and skins. Food Chemistry Pages 7-13

Kexue Zhu. (2006). Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase. Process Biochemistry Pages 1296-1302

Nuchanart Rangkadilok , Songsak Tongchusak , Rachasak Boonhok , Sansanee C. Chaiyaroj (2012). In vitro antifungal activities of longan (Dimocarpus longan Lour.) seed extract. Fitoterapia 83 (2012) 545–553

Roberta Re Nicoletta Pellegrini Anna Proteggente. (19991). Antioxidant activity applying an improved abts radical Cation decolorization assay. Free Radical Biology & Medicine, Vol. 26, Nos. 9/10, pp. 1231–1237

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American journal of Enology and Viticulture, 16(3), 144-158.

Sompong Sruamsiri and Pirote Silman. (2010). Chemical composition and in vitro digestibility of by-products from Longan Production. Chiang Mai : Maejo University

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสาร

1. การเตรียมสารเพื่อใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

1.1 การเตรียมสารละลาย DPPH

1.1.1 ชั่งสารละลาย DPPH ปริมาตร 0.0019 g ใส่ในบีกเกอร์

1.1.2 ปรับปริมาตรด้วย Ethanol 95% ให้ได้ปริมาตร 100 ml

1.1.3 นำไปทำให้ละลายด้วยเครื่อง Ultrasonic Bath

1.1.4 นำไปใส่ในขวดสีชาและเก็บไว้ในความมืดเพื่อรอทดสอบ

2. การเตรียมสารเพื่อใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS

2.1 การเตรียมสารละลาย ABTS

2.1.1 ชั่งสารละลาย ABTS ปริมาตร 0.0384 g ละลายในน้ำกลั่น 10 ml

2.1.2 ชั่งสารละลาย Potassium Persulfate ปริมาตร 0.0033 g ละลายในน้ำกลั่น 5 ml

2.1.3 จากนั้นผสมสารละลาย ABTS และ Potassium Persulfate ห่อด้วยกระดาษฟรอยด์ตั้งทิ้งไว้ 12-14 ชม.

2.1.4 นำมาเจือจางด้วย Ethanol 95% จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm วัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 0.7 ± 0.02

3. การเตรียมสารเพื่อใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน $FeSO_4$ ปริมาตร 10 ml

3.1.1 ชั่งสาร FeSO4 • 7H2O ปริมาตร 0.0278 g ละลายในน้ำ 100 ml จะได้ความเข้มข้น 1 m เตรียมสารละลายให้ได้ตามความเข้มข้นโดยใช้ไมโครปิเ 49 สารละลาย ให้ได้ความเข้มข้น ดังนี้ 0.1 , 0.2 , 0.4 , 0.6 , 0.8 , 1 mM ตามลำดับ

3.2 การเตรียมสารละลาย

3.2.1 ชั่งสาร TPTZ จำนวน 0.0312 g ละลายใน 40 mM HCl และปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 10 ml

3.2.2 ชั่ง $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ จ านวน 81 mg ละลาย และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 10 ml

3.3 การเตรียม FRAP solution

3.3.1 ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลาย 0.1 M acetate buffer 100 ml ผสมกับ 10 mM TPTZ 10 ml และ 20 mM $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 10 ml และน้ำกลั่น 12 ml

4. การเตรียมสารเพื่อใช้ในการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin Ciocaltue

4.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid

4.1.1 ชั่งสาร Gallic acid 0.01 g ใส่ในหลอดบีกเกอร์ ละลายในน้ำกลั่น 50 ml จะได้ Stock สาร Gallic acid

4.1.2 เตรียมสาร Gallic acid ในหลอดทดลองโดยใช้ไมโครปิเปตดูดสาร Gallic acid จาก Stock ให้ได้ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200 mg/ml ตามลำดับ โดยใช้สูตร C1V1 = C2V2

4.2 การเตรียมสารละลาย 2% Sodium carbonate (7% Na_2CO_3)

4.2.1 ชั่ง Sodium carbonate ใส่ในบีกเกอร์ 7 g ละลายในน้ำกลั่น และใช้ไมโครปิเปตดูดน้ำกลั่นมาให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml

5. การเตรียมสารเพื่อใช้ในการทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Colorimetric method

5.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Catechin

5.1.1 ชั่งสาร Catechin acid 0.015 g ใส่ในบีกเกอร์ ละลายในน้ำกลั่น 50 ml

5.1.2 เตรียมสาร Catechin ในหลอดทดลอง โดยใช้ไมโครปิเปตดูดสาร Catechin จาก stock ให้ได้ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 1 50 200 mg/ml ตามลำดับ โดยใช้สูตร C1V1 = C2V2

5.2 การเตรียมสารละลาย

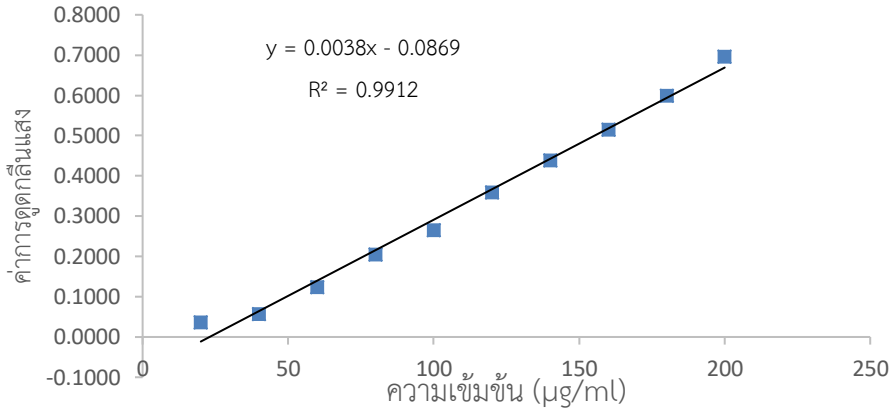
5.2.1 ชั่ง sodium nitrite 2 g ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 40 ml

5.2.2 การเตรียมสารละลาย 10% Aluminum Chloride Hexahydrate (10% $AlCl_3 \cdot 6H_2O$) ชั่ง $AlCl_3$ 1 g ละลายในน ากลั่น ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 10 ml

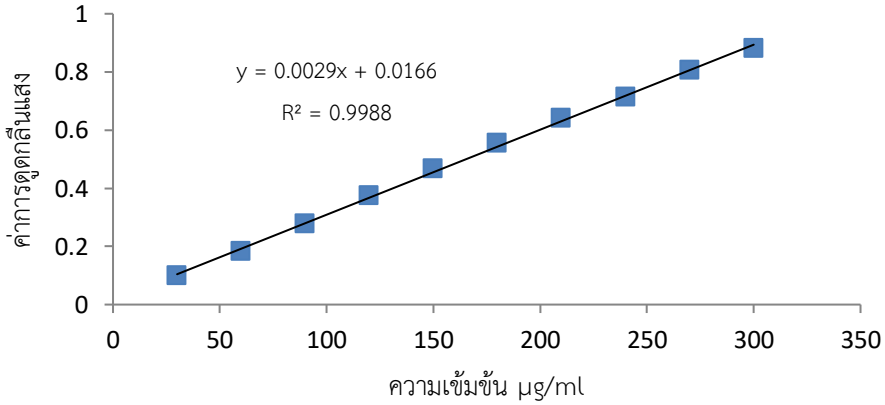
5.2.3 การเตรียมสารละลาย Sodium hydroxide (NaOH) ชั่ง NaOH 4 g ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 100 ml

ภาคผนวก ข

กราฟมาตราฐาน



ภาคผนวก ข 1 กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Gallic acid กับค่าการดูดกลืนแสง ที่ 750 นาโนเมตร ในวิธีการ Folin – Ciocalteau



ภาคผนวก ข 2 กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Catechin กับค่าการดูดกลืนแสง ที่ 510 นาโนเมตร ในวิธีการ Colorimetric method

ภาคผนวก ค

การสกัดเมล็ดลำไย

ภาคผนวก ค 1 ตัวอย่างเมล็ดลำไยขาดใหญ่กว่า 18 เมซ (ซ้าย)
และตัวอย่างเมล็ดลำไยขนาดเล็กกว่า 18 เมซ (ขวา)

ภาคผนวก ค 2 การสกัดตัวอย่างเมล็ดลำไยโดยการสกัดด้วย Ultrasonis Bath

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาวขนิษฐา วังหิน

E-mail mld-ss543@outlook.co.th

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2556 มัธยมศึกษาปีที่ 3 โรงเรียนลำปลายมาศ อำเภอลปลายมาศ จังหวัดบุรีรัมย์

พ.ศ. 2559 มัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนลำปลายมาศ อำเภอลปลายมาศ จังหวัดบุรีรัมย์

พ.ศ. 2563 กำลังศึกษาที่มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ชั้นปีที่ 4 สาขาวิชาชีววิทยา อำเภอเมืองนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา

ชื่อ-สกุล นางสาวเสาวลักษณ์ สุขหนา

E-mail saowalak08072@gmail.com

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2556 มัธยมศึกษาปีที่ 3 โรงเรียนพิมายวิทยา อำเภอพิมาย จังหวัดนครราชสีมา

พ.ศ. 2559 มัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนพิมายวิทยา อำเภอพิมาย จังหวัดนครราชสีมา

พ.ศ. 2563 กำลังศึกษาที่มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ชั้นปีที่ 4 สาขาวิชาชีววิทยา อำเภอเมืองนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา