รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุลส้ม

โดยเทคนิค DPPH assay

Study of Antioxidant Activity in Citrus Peel by DPPH assay

กนิษฐา สุขเกิด

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ได้รับการสนับสนุนจากกองทุนส่งเสริมงานวิจัย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ประจำปี 2563

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุลส้ม

โดยเทคนิค DPPH assay

Study of Antioxidant Activity in Citrus Peel by DPPH assay

กนิษฐา สุขเกิด

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ได้รับการสนับสนุนจากกองทุนส่งเสริมงานวิจัย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ประจำปี 2563

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุลส้มโดยเทคนิค DPPH assay ได้แก่ มะนาว มะกรูด ส้มโอ ส้มเขียวหวาน และส้มซ่า โดยใช้ตัวทำละลายได้แก่ น้ำ อะซิโตน และเอทานอล ในสัดส่วน 1 ต่อ 4 สกัดด้วยแบบแช่หมัก ให้ได้น้ำมันหอมระเหยออกมา จากผลการทดลองพบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลให้ร้อยละการสกัดสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตามด้วยอะซิโตนและน้ำกลั่น จากนั้นทำการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุลส้มโดยเทคนิค DPPH assay น้ำมันหอมระเหยที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดคือมะกรูด (91.34 ± 0.64 %) ตามด้วยส้มเขียวหวาน (91.24 ± 0.31 %) ส้มซ่า (90.25 ± 0.05 %) มะนาว (90.25 ± 0.05 %) และส้มโอ (87.29 ± 0.01 %) จากผลการทดลองพบว่าปริมาณสารสกัดเปลือกพืชเมื่อใช้ตัวทำละลายต่างกัน ส่วนใหญ่มีค่าแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นปริมาณสารสกัดเปลือกพืชเมื่อใช้ตัวทำละลายอะซิโตนที่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชทั้งหมดมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

คำสำคัญ: อนุมูลอิสระ พืชสกุลส้ม เทคนิค DPPH assay สกัดแบบแช่หมัก

Abstract

The objective of this research was to study antioxidant activity in citrus peels using DPPH assay. The samples in this research were lime, kaffir lime, pomelo, orange and citron. Solvent extractions were distill water, ethanol and acetone in a ratio of citrus peel to solvent of 1 : 4. The extraction was used maceration method to obtain essential oils. The results showed that extraction provided a significantly highest extraction percentage ($p \leq 0.05$) followed by acetone and distill water. Then, analysis of antioxidant activity of citrus peels was carried out by DPPH assay. It was found that essential oils from citrus peel extracted with ethanol had the highest percentage of antioxidants activity. It was also found that kaffir lime had highest of antioxidants activity (91.34 ± 0.64 %) followed by orange (91.24 ± 0.31 %), citron (90.36 ± 0.04 %), lime (90.25 ± 0.05%) and pomelo (87.29 ± 0.01 %). According to the experiment results, the amount of plant bark extract when using solvents differs. Most of them have statistically significant statistically significant differences. ($p \leq 0.05$), except for the amount of plant bark extract when using acetone solvents, there was no statistically significant difference. While the antioxidant content in all plant shells varies statistically significantly ($p \leq 0.05$)

Keywords: Antioxidant activity Citrus DPPH assay Maceration method

กิตติกรรมประกาศ

การทำงานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี สำหรับสถานที่ทำวิจัย และเงินสนับสนุนจากงบประมาณกองทุนส่งเสริมงานวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ประจำปี 2563 อาจารย์ประจำสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยในครั้งนี้ จึงขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้

กนิษฐา สุขเกิด

กันยายน 2564

สารบัญ

เรื่อง **หน้า**

บทคัดย่อภาษาไทย (ก)

บทคัดย่ออังกฤษ (ข)

กิตติกรรมประกาศ (ค)

สารบัญ ง

สารบัญตาราง จ

สารบัญตารางภาคผนวก ฉ

สารบัญภาพ ช

บทที่ 1 บทนำ 1

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5

บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง 16

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล 23

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 26

ภาคผนวก 29

ประวัตินักวิจัย 37

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ผลของตัวทำละลายต่อปริมาณสารสกัดที่ได้จากเปลือกพืชสกุลส้ม 23
ตารางที่ 2 ผลของร้อยละสารต้านอนุมูลอิสระของเปลือกพืชสกุลส้ม 24

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

สารบัญตารางภาคผนวก

หน้า

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารสกัดของส้มโอ.....31
ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารสกัดของส้มซ่า 31
ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารสกัดของมะนาว 31
ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารสกัดของมะกรูด 31
ตารางภาคผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารสกัดของส้มเขียวหวาน32
ตารางภาคผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารสกัดจากน้ำกลั่น 32
ตารางภาคผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารสกัดจากเอทานอล.....32
ตารางภาคผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารสกัดจากอะซิโตน 32
ตารางภาคผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสารต้านอนุมูลอิสระของส้มโอ ..32
ตารางภาคผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสารต้านอนุมูลอิสระของส้มซ่า33
ตารางภาคผนวกที่ 11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสารต้านอนุมูลอิสระมะนาว 33
ตารางภาคผนวกที่ 12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสารต้านอนุมูลอิสระมะกรูด....33
ตารางภาคผนวกที่ 13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสารต้านอนุมูลอิสรส้มเขียวหวาน ...33
ตารางภาคผนวกที่ 14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสารต้านอนุมูลอิสระน้ำกลั่น ...34
ตารางภาคผนวกที่ 15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสารต้านอนุมูลอิสระเอทานอล 34
ตารางภาคผนวกที่ 16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสารต้านอนุมูลอิสระอะซิโตน ..34
ตารางภาคผนวกที่ 17 ค่าปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัดของเปลือกพืชสกุลส้ม 35
ตารางภาคผนวกที่ 18 ค่าร้อยละสารต้านอนุมูลอิสระของเปลือกพืชสกุลส้ม.....36

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH ปฏิกิริยาทางเคมีและช่วงสีค่าการดูดกลืนแสง 8
ภาพที่ 2 แสดงเครื่องมือ Spectrophotometer สำหรับวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ 13
ภาพที่ 3 แสดงเครื่องมือการวิเคราะห์โดยเทคนิค DPPH assay 16
ภาพที่ 4 แสดง Flowchart การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค DPPH assay..... 17
ภาพที่ 5 สารละลายมาตรฐาน 2,2 ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล 19
ภาพที่ 6 แสดงขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเปลือกพืชสกุลส้มสำหรับอบในตู้อบลมร้อน..... 19
ภาพที่ 7 แสดงขั้นตอนการเตรียมตัววิธีสกัดตัวอย่างโดยแช่หมัก (maceration)..... 20
ภาพที่ 8 แสดงขั้นตอนวิเคราะห์ตัวอย่างฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค DPPH assay..... 20

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการทำวิจัย

เนื่องจากหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร สาขาวิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มีการจัดการเรียนการในรายวิชาที่เกี่ยวข้องกับผู้วิจัยซึ่งมีหน้าที่ในการควบคุมการเรียนการสอนในภาคปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องกับความรู้ด้านวิทยาศาตร์เคมี และเคมีอาหาร ในรายวิชาดังต่อไปนี้ ได้แก่ ทักษะวิชาชีพทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร หลักวิเคราะห์อาหาร เคมีอาหาร วัตถุเจือปนในการแปรรูปอาหาร การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร ปัญหาพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร เป็นต้น ซึ่งรายวิชาดังกล่าวได้มีการนำการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุลส้มโดยเทคนิค DPPH assay มาใช้เป็นการเรียนการสอนในการฝึกปฏิบัติของนักศึกษา อีกทั้งทางคณะเทคโนโลยีการเกษตรได้มีการบริการวิชาการเพื่อจัดหารายได้ผ่านศูนย์ปฏิบัติการทางการเกษตรเพื่อสุขภาพ (COE) โดยการรับวิเคราะห์ตัวอย่างทางการเกษตรและอาหาร โดยผู้วิจัยเป็นผู้รับผิดชอบในส่วนงานวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีในอาหาร เพื่อประโยชน์ทางด้านการเรียนการสอนและวิจัยทำให้ผู้วิจัยสนใจที่ศึกษาการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุลส้มโดยเทคนิค DPPH assay ในปัจจุบัน

เปลือกพืชสกุลส้ม (Citrus) ถือเป็นวัสดุที่ย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ แต่ใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายนาน นอกจากนี้ถือเป็นขยะจากเศษอาหาร (Food Waste) ที่พบปริมาณมากในประเทศไทย เนื่องจากพืชสกุลส้ม เป็นพืชเศรษฐกิจและเป็นผลไม้ที่สามารถปลูกได้ในเกือบทุกภูมิภาคของประเทศ ผู้บริโภคมักจะรับประทานเฉพาะส่วนเนื้อ ส่วนเปลือกจะถูกทิ้งเป็นขยะจากเศษอาหาร (Food waste) ซึ่งจะใช้ระยะเวลาในการเน่าเปื่อยย่อยสลายนาน ส่งผลให้เป็นพิษกับสิ่งแวดล้อม จึงเหมาะที่จะนำเปลือกพืชสกุลส้มมาเป็นวัตถุดิบในการสร้างผลิตภัณฑ์และเพิ่มช่องทางการเพิ่มมูลค่า มีงานวิจัยต่างๆ ทั้งในประเทศและต่างประเทศทำการศึกษาเปลือกพืชสกุลส้ม เช่น มะนาว ส้ม ส้มโอ เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ เช่นสารประกอบโพลีฟีนอล และสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ โดยมีสารสำคัญที่น่าสนใจมักพบคือกลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระเป็นอะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวไม่เสถียรส่งผลให้พยายามจับคู่กันเพื่อความเสถียร ทำให้เกิดความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ ส่งผลให้มีผลทำให้คุณสมบัติสารชีวโมเลกุลเปลี่ยนไป เกิดการบกพร่องหรือเซลล์ถูกทำลาย ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรค เช่น โรคความจำเสื่อม โรคมะเร็ง โรคหัวใจขาดเลือด โรคระบบประสาท เป็นต้น ธรรมชาติหรือร่างกายของสิ่งมีชีวิตจึงมีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาเพื่อทำหน้าที่ในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งในอาหารที่เรารับประทานในชีวิตประจำวันมีสารต้านอนุมูลอิสระเป็น

สารสำคัญ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) เบตาแคโรทีน (Bata-carotene) และกรดฟีนอลิก (Phenolic acid) เป็นต้น โดยปัจจุบันมีวิธีการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพและปริมาณหลายวิธีด้วยกัน แต่ละวิธีมีความจำเพาะเจาะจงแตกต่างกันไปซึ่งมักใช้หลากหลายวิธีเพื่อยืนยันผลการวิเคราะห์ให้ถูกต้องและแม่นยำ วิธีการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพที่นิยม ได้แก่ เทคนิคโครมาโทกราฟี แบบเยื่อบาง (Thin Layer Chromatography ,TLC) เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography ,HPLC) เป็นต้น ส่วนวิธีการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณที่นิยมที่นิยม ได้แก่ การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีทำลายอนุมูลอิสระ (Diphenyl Picryl Hydrazyl Radical Scavenging Assay) วิธีการฟอกสีอนุมูลอิสระ (ABTS Radical Cation Decolorization Assay) และการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีรีดิวซ์เฟอริก (Ferric Reducing Antioxidant Power Assay) เป็นต้น (ชลดา จัดประกอบ พรพรรณ เหล่าวิชระสุวรรณ และเมธิน ผดุงกิจ , 2556)

จากข้อมูลข้างต้นทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุลส้มโดยเทคนิค DPPH assay เพื่อเป็นประโยชน์สำหรับการจัดการเรียนการในรายวิชาที่เกี่ยวในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร สาขาวิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร รวมถึงการบริการวิชาการเพื่อจัดหารายได้ผ่านศูนย์ปฏิบัติการทางการเกษตรเพื่อสุขภาพ (COE) โดยการรับวิเคราะห์ตัวอย่างทางการเกษตรและอาหาร โดยศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุลส้มโดยเทคนิค DPPH assay โดยใช้เปลือกพืชสกุลส้มมา 5 ชนิด คือ 1) มะนาว 2) มะกรูด 3) ส้มโอ 4) ส้มเขียวหวาน 5) ส้มซ่า และชนิดตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ 1) น้ำ 2) อะซิโตน 3) เอทานอล เพื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่างชนิดพืชสกุลส้มและชนิดตัวทำละลาย เพื่อนำผลการทดลองที่ได้มาใช้ให้เกิดประโยชน์สำหรับการจัดการเรียนในภารกิจของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของตัวทำละลายในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุลส้ม

1.2.2 เพื่อศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุลส้มโดยเทคนิค DPPH assay

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1.3.1 ศึกษาผลของตัวทำละลายในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุลส้ม

1.3.2 ศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุลส้มโดยเทคนิค DPPH assay

1.3.3 เปลือกพืชสกุลส้ม 5 ชนิด (ระหว่าง สิงหาคม - กันยายน 2563) ได้แก่ 1) มะนาว 2) มะกรูด 3) ส้มโอ 4) ส้มเขียวหวาน และ 5) ส้มซ่า

1.3.4 ชนิดตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ 1) น้ำ 2) อะซิโตน และ 3) เอทานอล

1.3.5 สถานที่การทำวิจัย : ห้องปฏิบัติการเคมี สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ศูนย์รังสิต

1.3.6 ระยะเวลาทำการวิจัย : ตั้งแต่ 1 กรกฎาคม 2563 – 31 สิงหาคม 2564

1.4 สมมติฐานการวิจัย

1.4.1 สารสกัดสารต้านอนุมูลอิสรจะมีปริมาณที่แตกต่างกัน เมื่อใช้ตัวทำละลายแตกต่างกัน

1.4.2 สารต้านอนุมูลอิสระจะมีปริมาณแตกต่างกัน เมื่อชนิดเปลือกพืชสกุลส้มที่แตกต่างกัน

1.5 กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

1.5.1 การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุลส้มโดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิดได้แก่ 1) น้ำ 2) อะซิโตน และ 3) เอทานอล

1.5.2 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุลส้ม 5 ชนิด ได้แก่ 1) มะนาว 2) มะกรูด 3) ส้มโอ 4) ส้มเขียวหวาน และ 5) ส้มซ่า

1.5.3 เทคนิคที่ใช้วิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุล คือ เทคนิค DPPH assay

1.5.4 ใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one-way analysis of variance, ANOVA)

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ได้ทราบผลการสกัดและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุลส้ม โดยเทคนิค DPPH assay

1.6.2 สามารถนำผลการทดลองที่ได้มาถ่ายทอดให้กับนักศึกษาในชั่วโมงเรียนในรายวิชาที่เกี่ยวข้องกับภาระงาน เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการเรียนการสอนต่อไป

1.6.3 เป็นการพัฒนาทักษะการวิเคราะห์ให้กับนักวิจัยซึ่งเป็นผู้รับผิดชอบในรายวิชาที่จัดการเรียนการสอน

1.6.4 สามารถนำทักษะการวิเคราะห์ที่ได้มาใช้ในการบริการจัดหารายได้ ในการรับวิเคราะห์ตัวอย่างเกษตรและอาหารให้แก่คณะเทคโนโลยีการเกษตร

1.7 นิยามคำศัพท์เฉพาะ

1.7.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ หรือสารต้านอนุมูลอิสระ หมายถึง สารที่สามารถยับยั้ง หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ (Free Radical) เช่น การเกิดออกซิเดชันของลิพิด (Lipid Oxidation) เป็นต้น โดยมีประโยชน์ต่อร่างกายได้แก่ ชะลอความแก่ของเซลล์ต่าง ๆ รวมถึงช่วยลดภาวะ ป้องกันและลดความเสี่ยงต่อโรคที่พบในร่างกาย

1.7.2 เทคนิค DPPH assay หมายถึง วิธีการหนึ่งที่สามารถวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้สารเคมี คือ 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์ ให้ความถูกต้องและแม่นยำสูง

1.7.3 พืชสกุลส้ม หมายถึง พืชที่มีกลิ่นรสเฉพาะตัว ส่วนมากมาจากน้ำมันหอมระเหยที่มักพบในบริเวณเปลือก ปัจจุบันนิยมนำน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดนี้ไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง (ในครั้งนี้จะกล่าวถึง 5 ชนิดนี้เท่านั้น คือ มะนาว มะกรูด ส้มโอ ส้มเขียวหวาน และส้มซ่า)

1.7.4 เทคนิคสกัดแบบแช่หมัก หมายถึง เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชธรรมชาติโดยวิธีการหมักตัวอย่างกับตัวทำละลายในภาชนะปิด ทิ้งไว้เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เนื้อหาในบทนี้จะได้กล่าวถึงรายละเอียดของพืชสกุลส้ม มีประโยชน์ของพืชสกุลส้ม ถิ่นกำเนิด การวัดสารต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค DPPH assay น้ำมันหอมระเหยตั้งแต่การสกัดน้ำมันหอมระเหย องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย รวมถึงการนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ ตลอดจนงานวิจัยที่เกี่ยวข้อในอดีตที่ผ่านมาดังต่อไปนี้

2.1 พืชสกุลส้ม

กาญจน์ จันทร์ลอย สามารถ เศรษฐวิทยา มณฑา วงศ์มณีโรจน์ และ รวี เสรฐภักดี (2555) กล่าวว่าพืชสกุลส้ม (Citrus) อยู่ในวงศ์ Rutaceae มีต้นกำเนิดในเขตร้อนและเขตร้อนชื้นเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นไม้พุ่มขนาดใหญ่หรือไม้ยืนต้นขนาดเล็กสูง 5-15 เมตร มีหนามที่ต้น มีใบแบบสลับและเป็นไม้ไม่ผลัดใบ ออกดอกเดี่ยวหรือเป็นช่อดอกขนาดเล็ก แต่ละดอกมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-4 ซม. มีกลีบดอกสีขาว 5 กลีบ (น้อยชนิดมี 4 กลีบ) และมีเกสรตัวผู้จำนวนมาก ปกติดอกมีกลิ่นหอม ผลกลมจนถึงยาว ขนาดยาว 4–30 ซม. เส้นผ่านศูนย์กลาง 4–20 ซม. พืชสกุลนี้มีความสำคัญทางการค้า โดยหลายชนิดมีการปลูกเพื่อนำผลไปรับประทานสด ๆ หรือคั้นเป็นน้ำผลไม้ผลมีกลิ่นหอม เนื่องจากมีสารฟลาโวนอยด์ และ ลิโมนอยด์ (ซึ่งจะเปลี่ยนเป็นสารเทอร์พีน) ในเปลือกและน้ำนอกจากนี้มีกรดซิตริกจำนวนมากจึงทำให้มีรสเปรี้ยว เป็นแหล่งวิตามินซี และฟลาโวนอยด์ หลายชนิดที่รู้จักเป็นพันธุ์ผสม พืชในสกุลส้มที่นำมาปลูกกันอาจได้มาจาก 4 ชนิดที่เป็นชนิดดั้งเดิม พันธุ์ผสมหลายชนิดที่พบมากในธรรมชาติ และที่นิยมนำมาปลูกมีความสำคัญทางการค้า เช่น ส้มเช้ง ส้มซ่า,ส้มเกรพฟรุท เลมอน มะนาว และส้มเขียวหวาน พืชในสกุลส้มที่ปลูกเป็นการค้าทั้งหมดใช้กิ่งตอน ของ สายพันธุ์ที่ต้องการ มาปลูกบนต้นตอที่ต้านทานโรค และทนทาน สีของผลไม้สกุลส้มจะมีสีสดเฉพาะในเขตภูมิอากาศที่หนาวเย็น ส่วนในเขตภูมิอากาศร้อน ผลของต้นไม้สกุลส้มจะยังมีสีเขียวอยู่แม้ว่าจะโตเต็มที่ จึงมักถูกเรียกว่า "ส้มสีเขียว" ต้นมะนาวเป็นตัวอย่างหนึ่งซึ่งมีไวต่อสภาพอากาศเย็นมากดังนั้นจึงไม่เคยถูกทิ้งในสภาพอากาศที่เย็นเหมาะสมพอจะสร้างสีสดได้ ถ้าผลมะนาวถูกทิ้งไว้ที่ต้นให้อยู่ข้ามฤดูหนาว ผลจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ไม้ในสกุลส้มหลายชนิดจะถูกเก็บตั้งแต่ยังมีสีเขียวและไปสุกขณะที่ขนส่งไปยังร้านค้า ต้นไม้ในสกุลส้มปกติจะไม่ทนทานต่อความเย็นกว่าจุดเยือกแข็ง ส้มบางพันธุ์ในชนิด *Citrus reticulata* มีแนวโน้มเป็นชนิดทั่วไปที่ทนทานต่อความเย็นที่ต่ำกว่าจุดเยือกแข็งได้มากที่และสามารถอยู่รอดได้ระยะเวลาสั้นๆในอุณหภูมิ −10 องศาเซลเซียส แต่ในความเป็นจริงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเพาะปลูกต้องไม่ต่ำกว่า −2 องศาเซลเซียส พันธุ์ผสมบางชนิดทนทานต่ออุณหภูมิที่ต่ำกว่าจุดเยือกแข็งแต่ไม่สามารถให้ผลที่มีคุณภาพดีได้ ส่วนพืชที่ใกล้เคียงคือ ส้มสามใบ สามารถอยู่รอดได้ในอุณหภูมิที่ต่ำกว่า−20 องศาเซลเซียส ผลมีรสชาติฝาดและไม่สามารถรับประทานผลสดได้นั้นถึงต้องนำไปประกอบอาหารต้นไม้ในสกุลส้มเจริญ

เติบโตดีที่สุดในที่มีแสงแดดแรง มีความชื้นพร้อมกับดินอุดมสมบูรณ์ และปริมาณน้ำฝนหรือการชลประทานที่เพียงพอ

สกุลส้มเพียงสกุลเดียวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ สามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ดังนี้

2.1.1 กลุ่มส้มเกลี้ยง และส้มตรา (Orange group)

เป็นกลุ่มที่ใหญ่ที่สุด และมีความสำคัญมากที่สุดในโลก โดยมีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชียทางทิศตะวันออกเฉียงเหนือของอินเดียแถบธิเบตไปจนถึงจีนพม่า แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อยคือ

1) ส้มที่มีรสหวาน

ได้แก่ ส้มเกลี้ยงพันธุ์ซามูดิ คาลาบรีสเบลาดอนนา วานเลนเซีย ส้มตรา ส้มกา และส้มเช้ง เป็นต้น

2) ส้มที่มีรสเปรี้ยว

ลักษณะของส้มชนิดนี้คล้ายกลุ่มแรก แต่มีลักษณะย่อยแตกต่างกันไป เช่น เปลือกมีผิวขรุขระมากเนื่องจากมีต่อมไขมันขนาดใหญ่ มีรสชาติเปรี้ยวออกขมปนอยู่ กลุ่มนี้ไม่นิยมรับประทานเป็นผลไม้สด มักจะนำไปทำแยมผิวส้ม และสกัดน้ำมันไปใช้ในอุตสาหกรรมผลิตหัวน้ำหอม

2.1.2. กลุ่มส้มจีน ส้มเขียวหวาน หรือกลุ่มแมนดาริน

มีถิ่นกำเนิดในอินเดียทางตะวันออกเฉียงเหนือ บางสายพันธุ์มีถิ่นกำเนิดจากแถประเทศอินโดจีนและญี่ปุ่น จัดเป็นส้มที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในภูมิภาคเขตร้อน มีผลขนาดใกล้เคียงกับส้มเกลี้ยงแต่สีแตกต่างกันไป ส้มที่มีเปลือกสีส้มหรือแดง เรียกว่า แทนเจอรีน ส่วนส้มที่มีเปลือกเหลืองอ่อนเรียกว่า แมนดาริน ซึ่งกลุ่มนี้จะแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มย่อย คือ

1) ซัซซูม่าแมนดาริน

มีถิ่นกำเนิดในประเทศญี่ปุ่น ผลค่อนข้างเล็ก กลม แกนกลางผลกลวง ไม่มีเมล็ด ต่อมน้ำมันบนผิวมีขนาดใหญ่ และนูนเห็นชัดเจน

2) คิงแมนดาริน

มีถิ่นกำเนิดในประเทศจีน ผลมีขนาดใหญ่ในบรรดาส้มกลุ่มแมนดาริน เปลือกมีลักษณะติดเนื้อ ปอกออกง่ายแกนกลางผลไม่ใหญ่ และกลวงเนื้อผลไม้มีลักษณะอ่อนนุ่ม สีส้มจัด มีกลิ่นแรง และมีเมล็ดน้อย

3) เมดิเตอเรเนียนแมนดาริน

เป็นส้มที่ใช้ปลูกเป็นไม้ประดับมีความสำคัญทางเศรษฐกิจน้อย

4) คอมมอนแมนดาริน

ได้แก่ ส้มเขียวหวาน ส้มจีน ขนาดผลปานกลางหรือค่อนข้างใหญ่ เปลือกของส้มมีลักษณะหนา ผิวขรุขระ ต่อมน้ำมันจมลึก เปลือกมีกลิ่น

2.1.3. กลุ่มส้มโอ และเกรฟฟรุท แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย

1) ส้มโอ

มีผลขนาดใหญ่ที่สุดในพืชตระกูลส้มมีหลากหลายพันธุ์ เช่น ขาวแป้น ทองดี ขาวใหญ่ ขาวแตงกวา และขาวน้ำผึ้ง เป็นต้น

2) เกรฟฟรุท

มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกามีการติดผลคล้ายองุ่น

2.1.4. กลุ่มมะนาว แบ่งเป็นกลุ่มย่อยดังนี้

1) ซิตรอน

มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย แล้วแพร่กระจายไปยังกรีซ และอิตาลี ผลมีขนาดใหญ่จนถึงใหญ่มาก รสชาติของผลไม้เปรี้ยว มีเมล็ดมาก ในไทยเรียกส้มมะละกอหรือส้มมะนาว

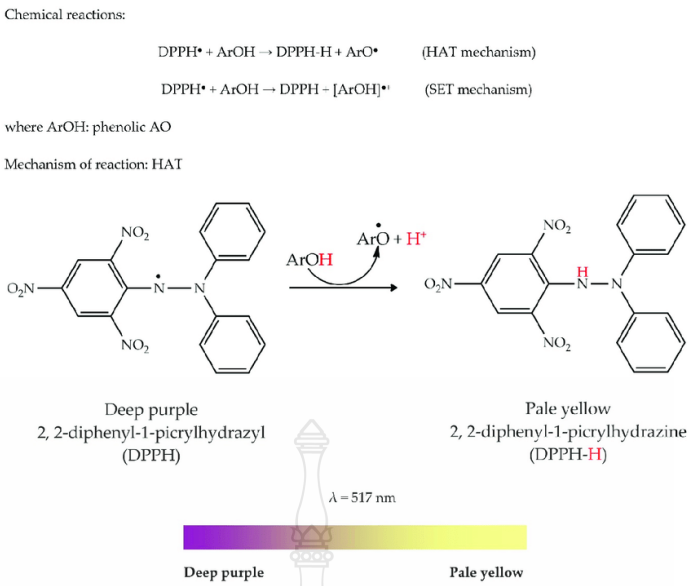
2) มะนาวฝรั่ง

มี 3 พันธุ์ คือ ลิสบอน วิลลาฟรานก้า และยูเรก้า ผลมีสีเหลืองอมเขียวปลายผลมีลักษณะนูน

2.2 การวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค DPPH assay

บุหรัน พันธุ์สวรรค์ (2556) กล่าวว่าวิธีการนี้จะวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาการรับของตัวรับอิเล็กตรอน ปฏิกิริยานี้จะมีการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อเกิดการเปลี่ยนอิเล็กตรอน โดยการเปลี่ยนสีจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชัน คือหากสารต้านออกซิเดชันมีความเข้มข้นมาก สีของสารละลายจะลดลงเร็วขึ้น วิธีการในกลุ่มนี้ ได้แก่ Total Phenol Assay by Folin-Ciocaulteu Reagent (FCR), 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl Radical Scavenging Capacity (DPPH) Assay, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) Assay และ Ferric Ion Reducing Antioxidant Power (FREP) Assay

วิธีการ 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl Radical Scavenging Capacity (DPPH) Assay วิธีนี้วัดความสามารถในการยับยั้ง 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl Radical (DPPH) ดังภาพที่ 1 โดย DPPH เป็นสารอนุมูลไนโตรเจนที่ค่อนข้างคงตัว โดยขณะเริ่มต้นการทดลองจะให้สารสีเข้ม เมื่อเกิดปฏิกิริยามากขึ้นสารจะมีสีซีดจางลง ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ตามระยะเวลาที่กำหนด หากปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมากสีของสารละลายจะลดลงอย่างรวดเร็วมีกลไกดังแสดงในสมการโดยที่ค่าที่ได้จะแสดงได้หลายรูปแบบ ได้แก่ เปอร์เซนต์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging Activity) ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 จากปริมาณอนุมูลอิสระเริ่มต้น (IC50) หรือค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (Antiradical Efficiency, AE)



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH ปฏิกิริยาทางเคมีและช่วงสีค่าการดูดกลืนแสง

ที่มา : (Nabeelah B.S. et. Al , 2020)

วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย มีความแม่นยำใช้เวลาน้อย และใช้เครื่องมือแค่วัดค่าการดูดกลืนแสงเท่านั้น เป็นวิธีการที่นิยมวัดการต้านการเกิดออกซิเดชันในน้ำผักและผลไม้ หรือในสารสกัดผักและผลไม้ แต่ไม่เหมาะสำหรับในการวัดพลาสมาหรืออาหารที่มีส่วนประกอบที่มีโปรตีน ค่าความแม่นยำในการวิเคราะห์สูงมากส่งผลให้ระดับความเชื่อมั่นของตัวอย่างสูงไปด้วย

2.3 เทคนิคสเปกโตรโฟโตรเมตรี

ศูนย์นวัตกรรมวัสดุ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (2561) กล่าวว่าหลักการทำงาน UV-VIS Spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่ใช้ในวิเคราะห์สารโดยอาศัยหลักการดูดกลืนรังสีของสารที่อยู่ในช่วง Ultra Violet (UV) และ Visible (VIS) ความยาวคลื่นประมาณ 190-1000 nm โดยที่ความยาวคลื่นแสงจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณและชนิดของสารที่อยู่ใน ตัวอย่าง เมื่อทำการวัดปริมาณของแสงที่ผ่านหรือสะท้อนมาจากตัวอย่างเทียบกับแสงจากแหล่งกำเนิดที่ความยาวคลื่นค่าต่างๆ ตามกฎของ Beer-Lambert ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของสารจะแปรผันกับจำนวนโมเลกุลที่มีการดูดกลืนแสง ดังนั้นจึงสามารถใช้เทคนิคนี้ในระบุชนิดและปริมาณของสารต่าง ๆ ที่มีอยู่ในตัวอย่างได้

2.3.1 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer

1) แหล่งกำเนิดแสง

แหล่งกำเนิดแสงในเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะต้องให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการอย่างต่อเนื่องและคงที่ตลอดเวลา รวมทั้งมีความเข้มแสงที่มากพอด้วย หลอดกำเนิดแสง มีหลายชนิดตามความยาวคลื่นแสงที่เปล่งออกมา ซึ่งต้องเลือกใช้ให้ถูกต้องเหมาะสมกับของเหลวที่นำมาวัดค่าดูดกลืนแสง ตัวอย่างแหล่งกำเนิดแสง ช่วง UV ใช้หลอด H2 and D2 lamp ให้ความยาวคลื่นอยู่ในย่าน 160-380 nm ชนิดของสเปกโทรสโกปี UV Molecular Absorption และช่วง Visible ใช้หลอด Tungsten / Halogen ให้ความยาวคลื่นในช่วง 240-2,500 nm ชนิดของสเปกโทรสโกปีเป็นแบบ UV / visible / Near-IR Molecular Absorption

2) Monochromator

ส่วนประกอบนี้เป็นส่วนที่ใช้ควบคุมแสงโดยจะทำให้แสงที่ออกมาจากต้นกำเนิดแสง ซึ่งเป็นพอลิโครเมติก ให้เป็นแสงโมโนโครเมติก ซึ่งเป็นแถบแสงแคบๆ หรือมีความยาวคลื่นเดียว ใช้ฟิลเตอร์ (กระจกสี) ปริซึม (Prism) หรือ เกรตติ้ง (Grating)

3) เซลล์ที่ใช้บรรจุสารละลายตัวอย่าง

เซลล์ที่ใส่สารตัวอย่าง (Cell Sample) บางครั้งอาจเรียกว่า คิวเวทท์ (Cuvettes) รูปแบบที่ใช้กันทั่วไปได้แก่เซลล์ที่ทำด้วยแก้วธรรมดา จะใช้ได้เฉพาะช่วงวิสิเบิล เพราะเนื้อแก้วธรรมดาถูกดูดกลืนแสงในช่วงยูวีได้ และเซลล์ที่ทำด้วยซิลิกา และควอร์ตซ์ (Quartz) ใช้ได้ทั้งช่วงยูวีและวิสิเบิล

4) Detector

ทำหน้าที่ในการวัดความเข้มของรังสีที่ถูกดูดกลืนโดยการแปลงพลังงานคลื่นรังสีเป็นพลังงานไฟฟ้าเครื่องตรวจจับสัญญาณที่ดีต้องมีสภาพไวสูง คือแม้ปริมาณแสงจะเปลี่ยนไปเล็กน้อย ก็สามารถตรวจจับสัญญาณความแตกต่างได้ เครื่องวัดแสงที่ยังนิยมกันอยู่ในปัจจุบัน คือ หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (Photomultiplier Tube, PMT) และเครื่องวัดแสงชนิดซิลิกอนไดโอด (Silicon Diode Detector) ลักษณะของผลที่ได้: ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้จะแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูด กลืนแสง (Absorbance) และค่าความยาวคลื่น (Wavelength) ซึ่งเรียกว่า Spectrum

2.4 น้ำมันหอมระเหย

2.4.1 การสกัดน้ำมันหอมระเหย

กาญจน์ จันทร์ลอย สามารถ เศรษฐวิทยา มณฑา วงศ์มณีโรจน์ และ รวี เสรฐภักดี (2555) กล่าวว่า สามารถทำได้ 5 วิธีดังนี้

1) การกลั่น (Distillation)

เป็นวิธีที่ง่ายที่สุดและนิยมใช้อย่างแพร่หลายเนื่องจากเป็นวิธีที่ประหยัด โดยการใช้น้ำร้อนหรือไอน้ำผ่านพืชสมุนไพรที่ต้องการจะสกัดน้ำมันหอมระเหยในหม้อกลั่น น้ำมันหอมระเหยจะถูกสกัดมาพร้อมกับไอน้ำซึ่งจะผ่านไปตามท่อ ถูกทำให้เย็นเป็นของเหลวเก็บไว้ในขวด โดยจะแยกตัวออกจากชั้นน้ำ น้ำมันระเหยที่สกัดได้โดยวิธีนี้ได้แก่ น้ำมันไพล น้ำมันตะไคร้ เป็นต้น แต่ข้อสียของวิธีนี้คือ ความร้อนอาจจะทำให้เกิดปฏิกิริยาสลายตัว ทำให้กลิ่นเกิดการเปลี่ยนแปลงไปจากธรรมชาติ และสารประกอบบางตัวในน้ำมันหอมระเหยที่มีจุดเดือดสูงจะไม่ถูกพาออกมาโดยไอน้ำ

2) การสกัดด้วยไขมัน (Enfleurage)

วิธีนี้จะใช้กับน้ำมันหอมระเหยที่ระเหยได้เมื่อกลั่นด้วยไอน้ำ โดยนำน้ำมันที่ไม่ระเหยหรือไขมันชนิดไม่มีกลิ่น นำมาแผ่นฟิล์มบางๆบนกระจก นำกลีบด้วยไม้มาโรยไว้ที่ฟิล์มทิ้งไว้ประมาณ 2-3 ชั่วโมง เก็บกลีบดอกไม้ออกโปรยดอกไม้ชุดใหม่เข้าไปแทนที่เพื่อให้เกิดการดูดซับน้ำมันหอมระเหยจากกลีบดอกไม้ไว้ จากนั้นนำน้ำมันที่ได้มาสกัดต่อด้วยแอลกอฮอล์เพื่อแยกน้ำมันหอมระเหยออกมา น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้โดยวิธีนี้ ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยดอกมะลิและกุหลาบ เป็นต้น

3) การสกัดด้วยสารเคมี (Solvent Extraction)

วิธีนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้นสูง แต่คุณภาพไม่ดีเนื่องจากมีสิ่งปนเปื้อนอื่น ๆ เข้ามา นอกจากนี้วิธีการนี้ยังใช้ต้นทุนสูง การสกัดน้ำมันแบบนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยที่เรียกว่า Absolute Oil ซึ่งจะใช้กับพืชสมุนไพรที่ทนความร้อนสูงไม่ได้ เช่น ดอกมะลิ และหลังจากการสกัดต้องระเหยสารละลายที่ใช้เป็นตัวสกัดออกให้หมด ซึ่งสารละลายนิยมใช้เป็นตัวสกัด คือ แอลกอฮอล์

4) การคั้นหรือบีบ (Hydraulic and Screw Press)

วิธีนี้เหมาะกับการผลิตน้ำมันหอมระเหยที่สลายตัวหรือแปรสภาพง่ายเมื่อโดนความร้อน กลุ่มพืชตระกูลส้มพวกที่ให้น้ำมันหอมระเหยเช่น น้ำมันส้ม น้ำมันเลมอน น้ำมันมะกรูด วิธีการนี้จะนำพืชมาเข้าเครื่อง จากนั้นกรองน้ำมันที่ได้นำไปกลั่นใต้สูญญากาศ แต่วิธีนี้มีข้อเสียที่ได้ปริมาณหอมระเหยน้อยและไม่บริสุทธิ์

5) สารสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลว

เป็นวิธีที่ทันสมัยที่สุดในปัจจุบันโดยใช้เทคโนโลยีขั้นสูง โดยการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์เหลวที่ความดันสูงผ่านพืชสมุนไพร วิธีนี้จะมีต้นทุนการผลิตที่สูงแต่จะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพดี มีความบริสุทธิ์สูงอีกทั้งปลอดภัยต่อผู้บริโภคและไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม

2.4.2 องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย

กาญจน์ จันทร์ลอย สามารถ เศรษฐวิทยา มณฑา วงศ์มณีโรจน์ และ รวี เสรฐภักดี (2555) กล่าวว่าองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยเป็นสิ่งที่มีความซับซ้อนและแปรผันตามระยะเวลาในการปลูก ฤดูกาล และช่วงเวลาที่เก็บเกี่ยวพืช ส่วนของพืชที่นำมาใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ ราก ใบ ต้น ดอก ผล เมล็ด เปลือก เนื้อไม้ เป็นต้น ชนิดดินตลอดจนภูมิอากาศและภูมิประเทศ ส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมีมันเป็นกลุ่มสาร Terpenes, Sesquiterpenes, Esters Alcohols, Phenols, Aldehydes, Ketone และ Organic Acid นอกจากนี้ยังประกอบสารสำคัญอื่นอีกด้วย Vitamins Hormones Antibiotics หรือ Antiseptics ร่วมด้วย น้ำมันหอมระเหยที่กลั่นหรือสกัดได้จากพืชมีปริมาณตั้งแต่ 0.005 %-10 % แล้วแต่ชนิดของพืช นอกจากนี้วิธีที่นำมาใช้สกัดยังมีผล

น้ำมันหอมระเหยเป็นกลุ่ม Aromatic Compounds ซึ่งสามารถแบ่งได้ 2 ประเภทใหญ่ ๆ ตามองค์ประกอบที่เป็นโครงสร้างในโมเลกุล ดังนี้

1) Hydrocarbons โดยมีองค์ประกอบในโมเลกุล Aromatic Ring เป็นสาร Carbon และ Hydrogen ได้แก่ Terpenes และ Sesquiterpenes ซึ่งอาจจะเรียกว่า Terpenoid Essential Oil ซึ่งอาจจะเป็นสารประกอบอินทรีย์ประเภท Ketones เช่น Thujone Camphor เป็นต้น สารประกอบ Aldehydes เช่น Citral Citronellal เป็นต้น Alcohols เช่น Linalol Alpha-Terpineol เป็นต้น

2) Phenylpropenes โดยมีองค์ประกอบในโมเลกุลสาร Aromatic ring เป็นสาร Carbon Hydrogen และ Oxygen อาจจะเรียกว่า Phenylpropane Derived Essential Oil เช่น Eugenol Anethol Safrol Cinnamic Methylchavicol เป็นต้น

เนื่องจากน้ำมันหอยระเหยทั้งหมดประกอบไปด้วย Aromatic Compounds หลายชนิดดังกล่าวมาแล้วซึ่งสลายตัวได้ง่ายเมื่อถูก อากาศ ความร้อนหรือแสง ดังนั้นควรเก็บน้ำมันหอมระเหยในภาชนะปิดสนิท ภายใต้อุณหภูมิที่ต่ำกว่า 25 องศา

2.4.3 การใช้ประโยชน์ของน้ำมันหอมระเหย

กาญจน์ จันทร์ลอย สามารถ เศรษฐวิทยา มณฑา วงศ์มณีโรจน์ และ รวี เสรฐภักดี (2555) กล่าวว่ามีการนำมาใช้ประโยชน์หลายหลายด้าน ได้แก่ เป็นสารให้ความหอม สารปรุงแต่ง รสชาติ ปรุงแต่งกลิ่นหรือเป็นยา นิยมนำมาใช้บำบัดด้วยกลิ่น โดย Lilnalool และ Citral นำมาเป็นองค์ประกอบสำคัญในน้ำมันหอมหลายชนิด มีประโยชน์ในการผลิตวิตามินเอ ความแตกต่างระหว่างเครื่องเทศและสารที่ให้ความหอม คือ เครื่องเทศมีการนำไปใช้ในประโยชน์หลักในการปรับปรุงแต่งรสชาติอาหาร เช่น น้ำมันที่สกัดจากกานพลู ขิงและกระวาน ในขณะที่สารให้ความหอมมีผลโดยตรงต่อประสาทสัมผัสทางกลิ่น ในการผลิตเครื่องหอมราคาแพง เครื่องสำอางและใช้ประโยชน์ปรุงแต่งกลิ่นผลิตภัณฑ์ น้ำมันตะไคร้จัดเป็นผลิตภัณฑ์ทางยา น้ำมันจากเปลือกส้มมีความสำคัญในการผลิตเครื่องดื่มน้ำอัดลม น้ำมันหอมที่ผลิตจากกลีบกุหลาบมีความสำคัญและราคาแพงที่สุดชนิดหนึ่ง มีทั้งกลิ่นและรสชาติหอมหวาน มีการนำไปใช้ในการผลิตขนมหวานต่าง ๆ

น้ำมันหอมระเหยจากมะนาว (Lime Oils) มะนาวถือว่าเป็นพืชที่ได้รับความนิยมในการนำมาทำเครื่องดื่มทั้งในรูปแบบมีแอลกลอฮอล์และไม่มีส่วนผสมของแอลกลอฮอล์ รวมถึงในอาหารทั่วไปกลุ่มแมกซิกัน อินเดียน เวียดนามและในครัวไทย มีการนำมาใช้ประโยชน์ในการทำชาและน้ำมันหอมระเหยช่วยบรรเทาความเย็นจากอาการไข้หวัดใหญ่ เป็นแหล่งวิตามินซีสูง มีสมบัติฤทธิ์ทางชีวภาพมีกลิ่นเฉพาะมีสาร Terpanes ในน้ำมันหอมระเหย กระบวนการในการผลิตน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวใช้วิธีการกลั่นด้วยไอน้ำเมื่อทำการกลั่นแล้วพบว่ามีกลิ่นซิตรัสสีเหลืองผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการกลั่นประกอบไปด้วยสาร Terpanes 75% สารประกอบออกซิเจน 12% และ sesquiterpenes 3% น้ำมันหอมระเหยจากมะนาวสำคัญที่สุดคือกลิ่นจากน้ำมันใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ เครื่องดื่ม เบอเกอรี่ ลูกอม ไอศกรีม เป็นต้น รวมถึงการเติมน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวนี้นอกจากจะช่วยเรื่องกลิ่นอาหารแล้วยังไปช่วยในเรื่องของสมบัติ Antimicrobial และ Atioxidant โดยสมบัติทั้ง2ชนิดนี้จะช่วยลดการเสียสภาพของอาหารในอุตสาหกรรมส่งผลให้อาหารมีคุณภาพและปลอดภัย น้ำมันหอมระเหยจากมะนาวจึงนำมาใช้เป็นสารเติมแต่งในอุตสาหกรรมอาหาร

สำหรับในประเทศไทย มีการใช้น้ำมันหอมระเหยในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ทั้งอุตสาหกรรมเครื่องหอมและเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมอาหารที่ใช้เพื่อการแต่งกลิ่น และอุตสาหกรรมยา ซึ่งปัจจุบันนิยมในการบำบัดรักษาด้วยกลิ่นและการนวด ส่งผลให้มีปริมาณการใช้น้ำมันหอมระเหยสูงขึ้นด้วยเช่นกัน

2.5 เครื่องมือทดสอบ

2.5.1 วัตถุดิบ

1) มะนาว (Lime)

2) มะกรูด (Kaffir lime)

3) ส้มโอ (Citron)

4) ส้มเขียวหวาน (Orange)

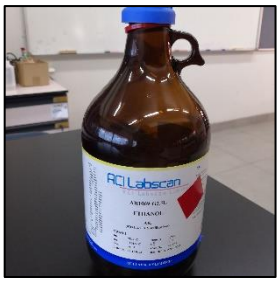
5) ส้มซ่า (Citron)

ที่มา : ส้มซ่า จาก https://www.hongthongrice.com/life/food-healthy/meegrob/

2.5.2 ตัวทำละลาย

1) น้ำ

2) อะซิโตน



3) เอทานอล

2.5.3 เครื่องมือวัด

ภาพที่ 2 แสดงเครื่องมือ Spectrophotometer สำหรับวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชลดา จัดประกอบ พรพรรณ เหล่าวิชระสุวรรณ และเมธิน ผดุงกิจ (2556) ได้ทำการศึกษาวิจัยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดเห็ดหิ้งเกือกม้าเป็นเห็ดที่มีฤทธิ์ทางยาที่พบในเขตภาคอีสาน นิยมนำมาเป็นส่วนผสมในตำรับยารักษามะเร็ง รักษาโรคเริม อาการปวดหู และอาการผื่นคันปวดแสบปวดร้อน โดยการศึกษาจะเริ่มตั้งแต่การสกัดด้วยสาร 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล น้ำ และสารละลาย แอลคาลอยด์ จากนั้นมาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เปรียบเทียบระหว่างวิธี DPPH Assayและ FRAP Assay จากผลการทดลองพบว่าการสกัดเห็ดหิ้งเกือกม้าด้วยสารละลายแอลคาลอยด์ได้ปริมาณสารสกัดสูงที่สุด (20.82 %) รองลงมาคือเอทานอล (18.5 %) และน้ำ (14.5 %) ตามลำดับ ซึ่งการสกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ Ascorbic Acid ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน

ดวงพร ภู่ผะกา (2558) ได้ทำการศึกษาวิจัยการประเมินสารพฤกษเคมีบางประการ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารกลุ่มฟีนอลลิกของมะม่วงพื้นเมืองจังหวัดฉะเชิงเทรา งานวิจัยชิ้นนี้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณเบต้าแคโรทีนและไลโคปีน รวมทั้งปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในมะม่วงดิบและสุกของพันธุ์พื้นบ้านของจังหวัดฉะเชิงเทรา ได้แก่ มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ พันธุ์ขายตึก และพันธุ์มหาชนก โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณเบต้าแคโรทีนและไลโคปีน โดยวิธี HPLC และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH Assay และ

FRAP Assay จากผลการทดลองพบว่ามะม่วงทั้ง 3 สายพันธุ์มีค่าปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดระหว่าง 2.78 - 4.12 mg gallic acid / 100 g FW พบว่าพันธุ์น้ำดอกไม้มีค่ามากที่สุด ถัดมาเป็นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และ FRAP รองลงมาเป็นอันดับ 2 จากพันธุ์มหาชนกซึ่งเป็นมะม่วงสุกที่มีปริมาณแคโรทีนสูงที่สุด ส่วนปริมาณไลโคปีนคือพันธุ์น้ำดอกไม้มากที่สุด

วลัยภรณ์ โท้นพราห์ม (2559) ได้ทำการศึกษาวิจัยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในผลของส้มโอสด ส้มโอตัดแต่ง และน้ำส้มโอพันธุ์ท่าข่อย จังหวัดพิจิตร โดยทำการศึกษาและตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ที่สำคัญในส้มโอพันธุ์ท่าข่อย และพัฒนาผลิตภัณฑ์แปรรูปจากส้มโอพันธุ์ ท่าข่อย โดยศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ ปริมาณวิตามินซี นารินจิน ฟีนอลิคทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ และสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี คือ DPPH FRAP และ ABST assay ในส่วนประกอบผลส้มโอสด 4 ส่วน ได้แก่ เปลือกนอก เปลือกในเยื่อและเนื้อส้มโอ และส้มโอแปรรูป ได้แก่ ส้มโอตัดแต่ง น้ำส้มโอ และส้มโอผง การศึกษาผลส้มโอสัดส่วนต่าง ๆ ทั้ง 4 ส่วน พบว่าในส่วนเยื่อมีปริมาณฟีนอลิคทั้งหมด (350.60 mg gallic acid / 100 g) ปริมาณฟลาโวนอยด์ (293.60 mg quercetin /100 g) และสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABST assay (33.91 mg Trolox / 100 g)มากที่สุด ปริมาณนารินจินในส่วนเยื้อมากที่สุด (6.97 mg / g) และลดลงตามลำดับเปลือกใน เปลือกนอก และเนื้อส้มโอ เนื้อส้มโอพันธุ์ท่าข่อยมีปริมาณวิตามินซีเท่ากับ 71.5 g / 100 g และในเนื้อส้มโอพันธุ์ท่าข่อยมีสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (83.42%) และ FRAP (36.93% mg trolox / 100 g) มากที่สุด

วนิสา รุ่งพาณิชย์ (2560) ได้ทำการศึกษาวิจัยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกมะนาวโดยงานวิจัยชิ้นนี้ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกมะนาว สกัดโดยวิธีการแช่ยุ่ย (maceration) ด้วยเอทานอล95% ที่ 30 องศาเซลเซียสในอัตราส่วนของตัวถูกละลายได้แก่ เปลือกส้มเขียวหวานหรือเปลือกมะนาวต่อตัวทำละลายในสัดส่วน 1:1 แล ะ1:3 ระยะเวลาที่ใช้สกัดคือ 0 30 60 และ 90 นาที พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือสัดส่วน 1:1 ระยะเวลา 60 นาที ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 20.47± 0.05 µg GAE / ml ความสามารถในการต้านทานอนุมูลอิสระจากวิธี DPPH, ABST, FRAP เท่ากับ 89.30 ± 0.05 %, 2.63± 0.11 µg GAE / ml และ 0.95 ± 0.07 µg Fe(II) / ml ตามลำดับ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเปลือกมะนาวคืออัตราส่วน 1:1ระยะเวลา 90 นาที ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 17.41 ± 0.06 µg GAE / ml ความสามารถในการต้านทานอนุมูลอิสระจากวิธี DPPH, ABST, FRAP เท่ากับ 82.75 ± 0.061 %, 3.14± 0.02 µg GAE / ml และ 0.73 ± 0.01 µg Fe(II) / ml ตามลำดับ

พนิดา รัตนปิติภรณ์ (2561) ได้ทำการศึกษาวิจัยน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชและการประยุกต์ใช้เป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหาร เนื่องจากน้ำมันหอมระเหย (Essential Oils) ที่สกัดได้จากพืช สมุนไพรและเครื่องเทศหลายชนิดมีสมบัติและส่วนประกอบทางเคมีที่ออกฤทธิ์ทาง

ชีวภาพในการต่อต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial Agent) ได้รับความสนใจนำมาใช้เป็นวัตถุกันเสียที่สกัดได้จากวัตถุดิบธรรมชาติ (Natural Preservative) ในผลิตภัณฑ์อาหาร มีหลากหลายงานวิจัยที่เสนอผลการศึกษาค้นคว้าประสิทธิภาพของน้ำมันระเหยในการออกฤทธิ์ต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่จะทำให้อาหารเกิดการเสื่อมเสีย จุลินทรีย์ที่ก่อโรคในอาหารและราทำให้เกิดความเน่าเสียและการสูญเสียทางเศรษฐกิจให้กับผลิตผลทางการเกษตร และจากขีดจำกัดการใช้งานน้ำมันหอมระเหยที่มักออกฤทธิ์ได้ไม่นาน เนื่องจากเกิดความเข้มข้นของสารออกไประเหยเป็นไอและขีดจำกัดด้านการมีกลิ่นรสเฉพาะแรงของน้ำมันหอมระเหย ทำให้มีการพัฒนาวิธีและเทคโนโลยีต่าง ๆ เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้งาน ทำให้น้ำมันหอมระเหยมีศักยภาพเพิ่มมากขึ้นที่เป็นทางเลือกหนึ่งในการใช้ประโยชน์ได้ในระดับอุตสาหกรรมกับผลิตภัณฑ์อาหารที่เน้นความปลอดภัยของผู้บริโภคเป็นสำคัญ

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

เนื้อหาในบทนี้จะกล่าวถึงส่วนที่เกี่ยวข้องกับวิธีดำเนินการวิจัยทั้งหมด โดยเริ่มจากกระบวนการวางแผนการวิเคราะห์ และกระบวนการดำเนินการวิเคราะห์ ได้แก่ การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ให้อยู่ในรูปที่เหมาะสมที่สุด การนำตัวอย่างเข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์ การคำนวณผลการวิเคราะห์ และการวิเคราะห์ผลโดยการใช้สถิติดังต่อไปนี้

3.1 การวางแผนการวิเคราะห์

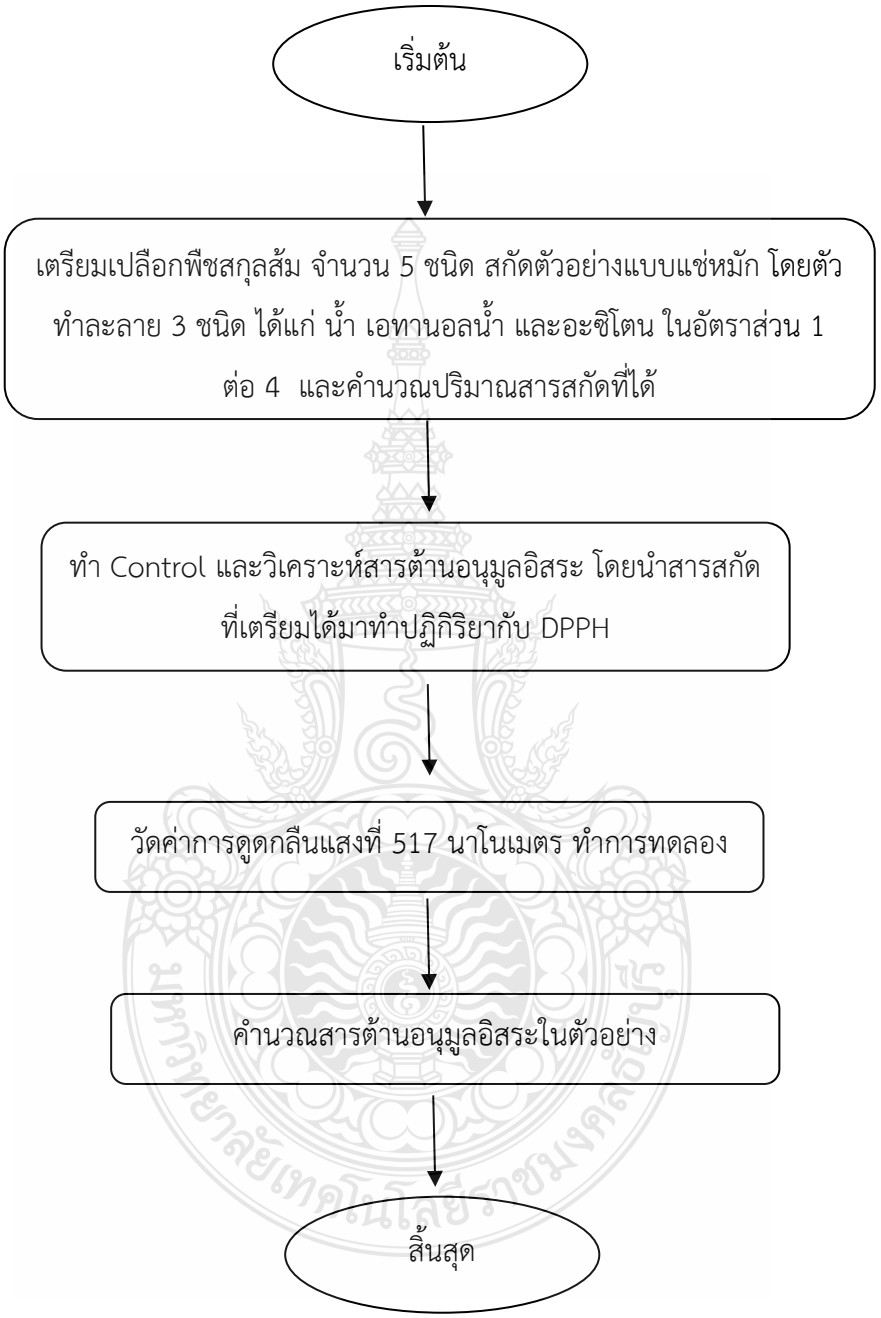
การวางแผนการวิเคราะห์จะแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนใหญ่ คือ 1) การสกัดสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากปลือกพืชสกุลส้มวิธีการสกัดแบบแช่หมัก (Maceration) เริ่มจากการเตรียมตัวอย่างเปลือกพืชสกุลส้มอบแห้ง ผสมกับตัวทำละลาย ทิ้งไว้ 72 ชั่วโมง ระเหยตัวทำละลาย และคำนวนปริมาณสารสกัดที่ได้ 2) วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค DPPH assay นำตัวอย่างที่สกัดมาได้จากขั้นตอนที่ 1 มาทำปฏิกิริยากับสาร 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปโตโฟโตรมิเตอร์ และคำนวณผลปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระออกมา

ก. Maceration ข. DPPH

ภาพที่ 3 แสดงเครื่องมือการวิเคราะห์โดยเทคนิค DPPH assay

Flowchart การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชสกุลส้ม

โดยเทคนิค DPPH assay



ภาพที่ 4 แสดง Flowchart การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค DPPH assay

3.2 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1 วัตถุดิบ จากตลาดสี่มุมเมือง (ระหว่าง สิงหาคม -กันยายน 2563)

1. มะกรูด (Kaffir Lime)
2. มะนาวแป้น (Lime)
3. ส้มเขียวหวาน (Orange)
4. ส้มโอ (Pomelo)
5. ส้มซ่า (Citron)

3.2.2 เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์

1. กระดาษกรอง เบอร์ 4 (Whatman Filter Paper No 4)
2. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ขนาด 250 ml
3. ออโต้ปิเปต (Automatic Pipette)
4. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric Flask) ขนาด 50 ml
5. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric Flask) ขนาด 100 ml
6. บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50 ml
7. บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 100 ml
8. กรวยแก้ว (Glass Funnel)
9. แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)
10. หลอดทดลอง (Test Tube) ขนาด 25 ml
11. แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)
12. ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (Test Tube Rack)
13. คิวเวท (Cuvette Glass)
14. เครื่องบดไฟฟ้า (Electric Grinder Machine)
15. โกร่งบดสาร (Pastel and Mortar)
16 .เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
17. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง (Electronic Balance)
18. ขวดดูแรน (Laboratory Bottle) ขนาด 100 ml
19. เครื่องกลั่นระเหยสารแบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator)
20. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)

3.2.3 สารเคมี

1. เอทานอล (Ethanol) เข้มข้น 98 %

2. อะซิโตน (Acetone) เข้มข้น 99.5 %

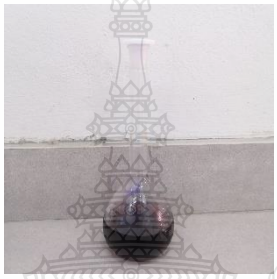
3. 2,2 ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH))

4. กรดแอสคอร์บิก (L-Ascorbic Acid)

3.3 วิธีการทดลอง ดัดแปลงวิธีมาจาก วลัยภรณ์ โท้นพราห์ม (2559) กล่าวว่า

3.3.1 การเตรียมสารเคมี

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน 2,2 ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH)) เข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ เตรียมโดยละลาย 2,2 ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล 0.0039 กรัมในเอทานอล เขย่าให้เข้ากันแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร (เก็บใส่ขวดสีชา) เตรียมใหม่ทุกครั้ง



ภาพที่ 5 สารละลายมาตรฐาน 2,2 ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล

3.3.2 การเตรียมตัวอย่างเปลือกพืชสกุลส้ม

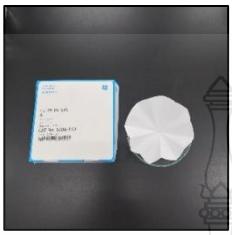
เปลือกพืชสกุลส้ม จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ มะนาว มะกรูด ส้มโอ ส้มเขียวหวาน ส้มซ่า การเตรียมตัวอย่างเริ่มจากการนำเอาเปลือกพืชสกุลส้มเฉพาะบริเวณผิวด้านนอกสุดที่มีในส่วนของน้ำมันหอมระเหย นำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดเท่า ๆ กัน นำไปอบที่อุณหภูมิ 50±5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (จนน้ำหนักคงที่ และมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 10) จากนั้นนำไปบดหยาบด้วยเครื่องบดอาหารไฟฟ้า บรรจุในสภาวะสุญญากาศ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±5 องศาเซลเซียส

ภาพที่ 6 แสดงขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเปลือกพืชสกุลส้มสำหรับอบในตู้อบลมร้อน

ที่มา : ตู้อบลมร้อน จาก https://www.labvalley.com/product/163/ตู้อบลมร้อน-hot-air-oven-ยี่ห้อ-memmert-germany

3.3.3 วิธีสกัดตัวอย่างโดยแช่หมัก (Maceration)

นำเปลือกพืชสกุลส้มอบแห้ง 100 กรัม เติมเอทานอล, น้ำ, อะซิโตน ในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 หมักที่ขวดสีชาเป็นเวลา 3 วัน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ยี่ห้อ Whatman เก็บสารละลายไว้ นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยภายใต้สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความดัน 178 มิลลิบาร์ และทำการเก็บในขวดฝาเกลียวสีชาที่อุณหภูมิ -20±5 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป



ภาพที่ 7 แสดงขั้นตอนการเตรียมตัววิธีสกัดตัวอย่างโดยแช่หมัก (Maceration)

ที่มา : เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน จาก https://www.spscience.com/product/เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนIKA-RV8

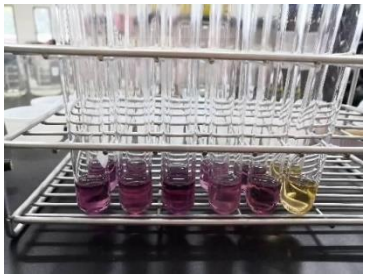
3.3.4 วิธีวิเคราะห์ตัวอย่าง

1) ตัวควบคุม (Control)

ปิเปตเอทานอล 0.30 มิลลิลิตร ตามด้วยสารละลาย DPPH 1.50 มิลลิลิตรตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปโตโฟโตรมิเตอร์ (Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร 3 ครั้ง บันทึกผล (ค่า Absorpbance Control)

2) ตัวอย่าง (Sample)

ปิเปตตัวอย่าง 0.30 มิลลิลิตร ตามด้วยสารละลาย DPPH 1.50 มิลลิลิตรตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปโตโฟโตรมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร บันทึก3 ครั้ง บันทึกผล (ค่า Absorpbance Sample)



ภาพที่ 8 แสดงขั้นตอนวิเคราะห์ตัวอย่างฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค DPPH assay

3.3.5 การบันทึกผลการทดลอง

1) ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร

2) คำนวณผลการทดลองจากสูตร

3.3.6 การคำนวณผลการทดลอง

1) การคำนวณหาปริมาณสารสกัด (%Yield Crude Extract)

ตัวอย่าง สารสกัดเปลือกมะกรูดจากตัวทำละลายเอทานอล ในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 (3ซ้ำ)

วิธีการคำนวณ

จากสูตร Yield Crude Extract = (A/B) x 100%

A = น้ำหนักสารที่สกัดได้ (กรัม)

B = ปริมาณเปลือกมะกรูดที่ใช้ในการสกัด (กรัม)

Yield Crude Extract = (2.35/100) x 100%

= 2.35%

ปริมาณสารสกัดเปลือกมะกรูดจากตัวทำละลายเอทานอล ในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 (3ซ้ำ) เท่ากับ 2.35%

2) การคำนวณปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (%Radical scavenging) ของเปลือกพืชสกุลส้ม

ตัวอย่าง สารสกัดเปลือกมะกรูดจากตัวทำละลายเอทานอล ในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 (3ซ้ำ)

วิธีการคำนวณ

จากสูตร % Radical scavenging = $\frac{\text{(Acontrol Asample)}}{\text{Acontrol}} \times 100$

Acontrol = Ethanol 0.30 ml + DPPH 1.50 ml

Asample = Sample 0.30 ml + DPPH 1.50 ml

% radical scavenging = $\frac{3.230 - 0.284}{3.230} \times 100$

= 91.22

สารต้านอนุมูลอิสระ (%Radical scavenging) สารสกัดเปลือกมะกรูดจากตัวทำละลายเอทานอล ในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 (3ซ้ำ) เท่ากับ 91.22%

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

งานวิจัยนี้ทำการทดลอง 3 ครั้ง ข้อมูลแสดงในรูปแบบของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ ความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ข้อมูลถูกเปรียบเทียบ ระหว่างกลุ่ม ใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one-way analysis of variance, ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของ แต่ละกลุ่ม ที่ค่า$p \leq 0.05$ แสดงความแตกต่างอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ

3.5 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเคมี สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ศูนย์รังสิต

3.6 ระยะเวลาทำการวิจัย

ตั้งแต่ 1 กรกฎาคม 2563 – 31 สิงหาคม 2564

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

4.1 การศึกษาผลของตัวทำละลายต่อปริมาณสารสกัดของเปลือกพืชสกุลส้ม

ผลของตัวทำละลายต่อปริมาณสารสกัดที่ได้จากเปลือกพืชสกุลส้มแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลของตัวทำละลายต่อปริมาณสารสกัดที่ได้จากเปลือกพืชสกุลส้ม

พืช	ปริมาณสารสกัดเมื่อตัวทำละลายต่างกัน		
	น้ำกลั่น	เอทานอล	อะซิโตน
ส้มโอ	0.54 ± 0.03 ^{c}	2.21 ± 0.01 ^{a}	1.46 ± 0.00 ^{b}
ส้มซ่า	0.43 ± 0.01 ^{c}	2.15 ± 0.05 ^{a}	1.34 ± 0.01 ^{b}
มะนาว	0.32 ± 0.02 ^{c}	2.35 ± 0.01 ^{a}	1.25 ± .020 ^{b}
มะกรูด	0.25 ± 0.04 ^{c}	2.46 ± 0.14 ^{a}	1.43 ± 0.21 ^{b}
ส้มเขียวหวาน	0.23 ± 0.01 ^{c}	2.15 ± 0.04 ^{a}	1.45 ± 0.02 ^{b}

หมายเหตุ :

- แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- อักษร a, b, c แสดงถึงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในแนวนอน
- อักษร a - c แสดงถึงค่ามากไปน้อย

จากจากตารางที่ 1 อธิบายได้ว่า ผลการทดลองพบว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดของเปลือกพืชสกุลส้ม 5 ชนิด คือ มะกรูด มะนาว ส้มซ่า ส้มโอ และส้มเขียวหวาน โดยวิธีสกัดแบบแช่หมักด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ น้ำ อะซิโตน และเอทานอลในสัดส่วน 1 ต่อ 4 พบว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีปริมาณสารสกัดจากเปลือกพืชสกุลส้มออกมาสูงที่สุดเมื่อคิดจากร้อยละการสกัด รองลงมาคือ อะซิโตนและน้ำ ส่วนเปลือกพืชสกุลส้มที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละการสกัดสูงที่สุดคือ มะกรูด ตามด้วย มะนาว ส้มโอ ส่วนส้มเขียวหวานและส้มซ่ามีค่าเท่ากันมีปริมาณร้อยละการสกัดน้อยที่สุด โดยผลการทดลองเป็นไปตามสมมุติฐานการวิจัย กล่าวว่า สารสกัดสารต้านอนุมูลอิสรจะมีปริมาณที่แตกต่างกัน เมื่อใช้ตัวทำละลายแตกต่างกัน อีกทั้งผลมีความสอดคล้องกับของวลัยภรณ์ โท้นพราห์ม (2559) กล่าวว่าที่ทำการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกส้มโอท่าข่อยที่สกัดด้วยวิธีการสกัดแบบแช่หมักด้วยเอทานอลที่ผู้วิจัยได้ดัดแปลงวิธีมาใช้ในการทดลองนี้ วนิสา รุ่งพาณิชย์ (2560) กล่าวว่าที่ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มเขียวหวานและมะนาวที่สกัดด้วยวิธีการสกัดแบบแช่หมักด้วยเอทานอลเช่นเดียวกัน ส่วนเปลือกพืชสกุลส้มที่สกัดด้วยน้ำกลั่นการร้อยละสกัดสูงที่สุดคือ ส้มโอ ตามด้วยส้มซ่า มะนาว มะกรูด และส้มเขียวหวาน ในขณะที่สกัดด้วยอะซิโตนการร้อยละสกัดสูงที่สุดคือ ส้มโอ ส้มเขียวหวาน มะกรูด ส้มซ่าและมะนาว จากการ

ปริมาณสารสกัดเปลือกพืชเมื่อใช้ตัวทำละลายต่างกันไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียวโดยวิธี ANOVA ที่ ระดับความเชื่อมั่น 95 % พบว่าผลการทดลองส่วนใหญ่มีค่าแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นปริมาณสารสกัดเปลือกพืชเมื่อใช้ตัวทำละลายอะซิโตนที่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 1-8)

4.2 การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระของเปลือกพืชสกุลส้ม

ผลของร้อยละสารต้านอนุมูลอิสระของเปลือกพืชสกุลส้มแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลของร้อยละสารต้านอนุมูลอิสระของเปลือกพืชสกุลส้ม

พืช	ร้อยละสารต้านอนุมูลอิสระเมื่อใช้ตัวทำละลายต่างกัน		
	น้ำกลั่น	เอทานอล	อะซิโตน
ส้มโอ	21.30 ± 0.02 ^{c}	87.29 ± 0.01 ^{a}	46.68 ± 0.01 ^{b}
ส้มซ่า	33.59 ± 0.13 ^{c}	90.36 ± 0.04 ^{a}	54.97 ± 0.03 ^{b}
มะนาว	28.11 ± 0.03 ^{c}	90.25 ± 0.05 ^{a}	52.92 ± 0.07 ^{b}
มะกรูด	10.68 ± 0.24 ^{c}	91.34 ± 0.64 ^{a}	59.43 ± 0.64 ^{b}
ส้มเขียวหวาน	17.84 ± 0.35 ^{c}	91.24 ± 0.31 ^{c}	45.87 ± 0.08 ^{b}

หมายเหตุ :

- แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- อักษร a, b, c แสดงถึงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในแนวนอน
- อักษร a - c แสดงถึงค่ามากไปน้อย

จากตารางที่ 2 อธิบายได้ว่า ส่วนผลการทดลองการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ (%Radical scavenging) ของเปลือกพืชสกุลส้มโดยเทคนิค DPPH assay พบว่าผลการวิเคราะห์พบว่าตัวอย่างที่ทำการสกัดด้วยเอทานอลให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ตามด้วยอะซิโตนและน้ำกลั่นซึ่งสอดคล้องร้อยละการสกัดที่ได้จากเปลือกส้มแต่ละชนิด ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่สูงที่สุดคือ มะกรูดตามด้วยส้มเขียวหวาน ส้มซ่า มะนาว และส้มโอ โดยผลการทดลองเป็นไปตามสมมุติฐานการวิจัย กล่าวสารต้านอนุมูลอิสระจะมีปริมาณแตกต่างกัน เมื่อชนิดเปลือกพืชสกุลส้มที่แตกต่างกัน จากผลการทดลองพบว่าปริมาณสารสกัดเปลือกพืชเมื่อใช้ตัวทำละลายต่างกัน ส่วนใหญ่มีค่าแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นปริมาณสารสกัดเปลือกพืชเมื่อใช้ตัวทำละลายอะซิโตนที่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) อีกทั้งผลสอดคล้องกับผลการศึกษาของวลัยภรณ์ โท้นพราห์ม (2559) กล่าวว่าที่ทำการศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในเปลือกส้มโอท่าข่อยที่สกัดด้วยวิธีการสกัดแบบแช่หมักด้วยเอทานอลโดยทำการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH assay เหมือนกันรวมทั้งวนิสา รุ่งพาณิชย์ (2560) กล่าวว่าที่ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มเขียวหวานและมะนาว เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติชนิดเปลือกพืชสกุลส้มพบว่า

ร้อยละสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดด้วยน้ำกลั่นพบว่าส้มซ่ามีค่าสูงที่สุด ตามด้วยมะนาว ส้มโอ ส้มเขียวหวานและมะกรูด ส่วนร้อยละสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดอะซิโตนพบว่ามะกรูดมีค่าสูงที่สุดตามด้วย ส้มซ่า มะนาว ส้มโอและส้มเขียวหวาน โดยจากวิจัยที่ผ่านการสารต้านอนุมูลอิสระทำการตรวจถึง 3 วิธี ทั้ง DPPH FRAP และ DBTS assay ปัจจัยอื่น ๆ ที่ส่งผลในการวิเคราะห์ ได้แก่ การเตรียมเปลือกพืช การสกัด วิธีการสกัด การเตรียมตัวอย่าง วิธีวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ ความไวในการวิเคราะห์ นอกจากนี้ยังรวมไปถึงการเพาะปลูก ฤดูกาลเก็บเกี่ยวผลผลิตอีกด้วย การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกพืชสกุลส้ม มีบทบาทสำคัญในประเทศในอนาคตในการนำไปใช้ประโยชน์ด้านต่าง ๆ ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น สารต้านเชื้อแบคทีเรียในอาหาร สารเติมแต่งรสชาติกลิ่นความหวานในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม ส่วนผสมในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์สุขภาพต่าง เป็นต้น รวมถึงการนำวัสดุเหลือใช้จากทรัพยากรการเกษตร พืชสกุลส้มในประเทศไทยนั้น มีหลากหลายหากเรานำมาวิจัยและพัฒนาก็จะเสริมสร้างสนับสนุนอุตสาหกรรมรวมเศรษฐกิจของประเทศในอนาคตถัดไป งดการนำสารสกัดเข้ามาใช้ในอุตสาหกรรมในประเทศ เกษตรกรก็จะถูกพัฒนายั่งยืนต่อไป

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ผลการทดลองจากตารางที่ 1 และ 2 ในบทที่ 4 อธิบายได้ว่าจากผลการ ชนิดของตัวทำละลายและชนิดของพืช โดยสามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 ชนิดของตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารสกัดเปลือกพืชสกุลส้มสูงที่สุด ได้แก่ เอทานอล ตามมาด้วย อะซิโตน และน้ำ

5.1.2 เปลือกพืชสกุลส้มที่ให้ปริมาณสารสกัดสูงที่สุดโดยตัวทำละลายเอทานอล สูงที่สุด 3 อันดับแรก ได้แก่ มะกรูด (2.46 ± 0.14 %) มะนาว (2.35 ± 0.01 %) และส้มโอ (2.21 ± 0.01 %) ตามลำดับ

5.1.3 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของเปลือกพืชสกุลส้ม ปริมาณมากที่สุดเมื่อสกัดโดยตัวทำละลายเอทานอล ค่าสูงที่สุด 3 อันดับแรก ได้แก่ มะกรูด (91.34 ± 0.64 %) ส้มเขียวหวาน (91.24 ± 0.31 %) และส้มซ่า (90.36 ± 0.04 %) ตามลำดับ

5.1.4 เมื่อนำปริมาณสารสกัดเปลือกพืชเมื่อใช้ตัวทำละลายต่างกันไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียวโดยวิธี ANOVA ที่ ระดับความเชื่อมั่น 95 % พบว่าผลการทดลองส่วนใหญ่มีค่าแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นปริมาณสารสกัดเปลือกพืชเมื่อใช้ตัวทำละลายอะซิโตนที่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

5.1.5 เมื่อนำปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเปลือกพืชไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียวโดยวิธี ANOVAที่ ระดับความเชื่อมั่น 95 % พบว่าผลการทดลองปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกพืชทั้งหมด (ตารางภาคผนวกที่9-16) มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรศึกษาเทคนิคการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอื่นๆเพิ่มเติม ทั้ง FRAP assay ABTS assay และ HPLC เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการเรียนการสอนในรายวิชาที่เกี่ยวข้องกับภาระงานที่ได้รับมอบหมาย

5.2.2 ควรศึกษากลุ่มสารสำคัญอื่นๆเพิ่มเติม อย่างเช่น กลุ่มสารประกอบฟีนอลิกเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการเรียนการสอนในรายวิชาที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร และการตรวจสอบคุณภาพอาหาร

5.2.3 สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการบริการวิชาการแบบจัดหารายได้ รับตรวจวิเคราะห์อาหาร และพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้กับคณะเทคโนโลยีการเกษตร

บรรณานุกรม

กาญจน์ จันทร์ลอย สามารถ เศรษฐวิทยา มณฑา วงศ์มณีโรจน์ และ รวี เสรฐภักดี. 2555. **พืชสกุลส้ม**. (ออนไลน์) เข้าถึงได้จาก https://www3.rdi.ku.ac.th/exhibition/52/04-plant/kanchana/plant_00.html. 25 ตุลาคม 2563.

เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (ออนไลน์) เข้าถึงได้จากhttps://www.spscience.com/product/เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนIKA-RV8. 25 ตุลาคม 2563.

ชลดา จัดประกอบ พรพรรณ เหล่าวิชระสุวรรณ และเมธิน ผดุงกิจ. 2556. **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดเห็ดเกือกม้า**. การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานระดับชาติ ครั้งที่ 4. 16 -17 กุมภาพันธ์ 2556 ณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

ดวงพร ภู่ผะกา. 2558. **การประเมินปริมาณสารพฤกษเคมีบางประการ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกของมะม่วงพื้นเมืองจังหวัดฉะเชิงเทรา**. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีที่ 13 ฉบับที่ 2 หน้า 267-283.

ตู้อบลมร้อน. 2566. (ออนไลน์) เข้าถึงได้จาก https://www.labvalley.com/product/163/ตู้อบลมร้อน-hot-air-oven-ยี่ห้อ-memmert-germany. 25 ตุลาคม 2563.

บุหรัน พันธุ์สวรรค. 2556. **อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ**. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 21 ฉบับที่ 3 หน้า 275-286.

พนิดา รัตนปิติภรณ์. 2561. **น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชและการประยุกต์ใช้เป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหาร**. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม ปีที่13 ฉบับที่ 2 หน้า 1-7.

วนิสา รุ่งพาณิชย์. 2560. **การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกมะนาว.** การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55. 31 มกราคม – 3 กุมภาพันธ์ 2560 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วลัยภรณ์ โท้นพราห์ม. 2559. **การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในผลส้มโอสด ส้มโอตัดแต่ง และน้ำส้มโอพันธุ์ท่าข่อย**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. มหาวิทยาลัยนเรศวร.

บรรณานุกรม (ต่อ)

ศูนย์นวัตกรรมวัสดุ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. **ยูวี สเปกโตรโฟโตมิเตอร์.** (ออนไลน์) เข้าถึงได้จากhttps://www.mic.eng.ku.ac.th/facilitiesdetail.php?id_sub=41&id=46. 25 ตุลาคม 2563.

ส้มซ่า. (ออนไลน์) เข้าถึงได้จาก https://www.hongthongrice.com/life/food-healthy/meegrob/ 25 ตุลาคม 2563.

Nabeelah B.S. Beelah B.S. Domenico M. Stefania A. and Mohamad F.M. 2020. **the versatility of antioxidant assays in food science and safety chemistry applications Strengths and Limitations.** Journal of Antioxidants , 9(8) : 709. https://doi.org/10.3390/antiox9080709.

Wang Y. Liu X.J. Chen J.B. Cao J.P. and Sun X.L. 2021. **Citrus flavonoids and their antioxidant evaluation**. Journal of Food Science and Nutrition research. 62 : 3833-3854 https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1870035 .

ภาคผนวก

การคำนวณ

1.การคำนวณหาปริมาณสารสกัด (%Yield Crude Extract)

ตัวอย่าง สารสกัดเปลือกมะกรูดจากตัวทำละลายเอทานอล ในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 (3ซ้ำ)

วิธีการคำนวณ

จากสูตร Yield Crude Extract = (A/B) x 100%

A = น้ำหนักสารที่สกัดได้ (กรัม)

B = ปริมาณเปลือกมะกรูดที่ใช้ในการสกัด (กรัม)

Yield Crude Extract = (2.35/100) x 100%

= 2.35%

ปริมาณสารสกัดเปลือกมะกรูดจากตัวทำละลายเอทานอล ในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 (3ซ้ำ) เท่ากับ 2.35%

2.การคำนวณหาสารต้านอนุมูลอิสระ (%radical scavenging) ของเปลือกพืชสกุลส้ม

ตัวอย่าง สารสกัดเปลือกมะกรูดจากตัวทำละลายเอทานอล ในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 (3ซ้ำ)

วิธีการคำนวณ

จากสูตร % radical scavenging = $\frac{\text{Acontrol Asample}}{\text{Acontrol}} \times 100$

Acontrol = Ethanol 0.30 ml + DPPH 1.50 ml

Asample = Sample 0.30 ml + DPPH 1.50 ml

% radical scavenging = $\frac{3.230 - 0.284}{3.230} \times 100$

= 91.22

สารต้านอนุมูลอิสระ (%radical scavenging) สารสกัดเปลือกมะกรูดจากตัวทำละลายเอทานอล ในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 (3ซ้ำ) เท่ากับ 91.22%

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารสกัดของส้มโอ

Source	SS	df	MS	F	Sig
Treatment	4.200	2	2.100	4200.156	0.000
Error	0.003	6	0.001		
Total	4.203	8			

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารสกัดของส้มซ่า

Source	SS	df	MS	F	Sig
Treatment	4.426	2	2.213	2237.742	0.000
Error	0.006	6	0.001		
Total	4.432	8			

ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารสกัดของมะนาว

Source	SS	df	MS	F	Sig
Treatment	6.196	2	3.098	10326.333	0.000
Error	0.002	6	0.000		
Total	6.198	8			

ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารสกัดของมะกรูด

Source	SS	df	MS	F	Sig
Treatment	7.294	2	3.647	165.779	0.000
Error	0.132	6	0.022		
Total	7.426	8			

ตารางภาคผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารสกัดของส้มเขียวหวาน

Source	SS	df	MS	F	Sig
Treatment	5.682	2	2.841	1966.946	0.000
Error	0.009	6	0.001		
Total	5.691	8			

ตารางภาคผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารสกัดจากเปลือกพืชเมื่อใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น

Source	SS	df	MS	F	Sig
Treatment	0.199	4	0.050	60.663	0.000
Error	0.008	10	0.001		
Total	0.207	14			

ตารางภาคผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารสกัดจากเปลือกพืชเมื่อใช้ตัวทำละลายเอทานอล

Source	SS	df	MS	F	Sig
Treatment	0.219	4	0.055	10.742	0.001
Error	0.051	10	0.005		
Total	0.270	14			

ตารางภาคผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารสกัดจากเปลือกพืชเมื่อใช้ตัวทำละลายจากอะซิโตน

Source	SS	df	MS	F	Sig
Treatment	0.098	4	0.024	2.653	0.096
Error	0.092	10	0.009		
Total	0.190	14			

ตารางภาคผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสารต้านอนุมูลอิสระของส้มโอ

Source	SS	df	MS	F	Sig
Treatment	6647.387	2	3323.694	8546641.057	0.000
Error	0.002	6	0.000		
Total	6647.390	8			

ตารางภาคผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสารต้านอนุมูลอิสระของส้มซ่า

Source	SS	df	MS	F	Sig
Treatment	4931.962	2	2465.981	352843.059	0.000
Error	0.042	6	0.007		
Total	4932.004	8			

ตารางภาคผนวกที่ 11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสารต้านอนุมูลอิสระของมะนาว

Source	SS	df	MS	F	Sig
Treatment	5869.118	2	2934.559	1114389.574	0.000
Error	0.016	6	0.003		
Total	5869.118	8			

ตารางภาคผนวกที่ 12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสารต้านอนุมูลอิสระของมะกรูด

Source	SS	df	MS	F	Sig
Treatment	9909.363	2	4954.682	30467.433	0.000
Error	0.976	6	0.163		
Total	9910.339	8			

ตารางภาคผนวกที่ 13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสารต้านอนุมูลอิสระของส้มเขียวหวาน

Source	SS	df	MS	F	Sig
Treatment	8230.210	2	4115.105	54249.223	0.000
Error	0.455	6	0.076		
Total	8230.665	8			

ตารางภาคผนวกที่ 14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสารต้านอนุมูลอิสระของเปลือกพืชเมื่อใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นในการสกัด

Source	SS	df	MS	F	Sig
Treatment	953.989	4	238.497	5943.609	0.000
Error	0.401	10	0.040		
Total	954.390	14			

ตารางภาคผนวกที่ 15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสารต้านอนุมูลอิสระของเปลือกพืชเมื่อใช้ตัวทำละลายเอทานอลในการสกัด

Source	SS	df	MS	F	Sig
Treatment	32.500	4	8.125	330.286	0.000
Error	0.246	10	0.025		
Total	32.746	14			

ตารางภาคผนวกที่ 16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสารต้านอนุมูลอิสระของเปลือกพืชเมื่อใช้ตัวทำละลายอะซิโตนในการสกัด

Source	SS	df	MS	F	Sig
Treatment	392.160	4	98.040	1162.071	0.000
Error	0.844	10	0.084		
Total	393.004	14			

ตารางภาคผนวกที่ 17 ค่าปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัดของเปลือกพืชสกุลส้ม

ลำดับที่	เปลือกพืช	ตัวทำละลาย	ร้อยละปริมาณสารสกัดที่ได้		
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
1	ส้มโอ	น้ำกลั่น	0.50	0.55	0.56
2	ส้มโอ	เอทานอล	2.19	2.21	2.22
3	ส้มโอ	อะซิโตน	1.45	1.48	1.46
4	ส้มซ่า	น้ำกลั่น	0.42	0.43	0.45
5	ส้มซ่า	เอทานอล	2.15	2.20	2.10
6	ส้มซ่า	อะซิโตน	1.33	1.34	1.36
7	มะนาว	น้ำกลั่น	0.32	0.34	0.30
8	มะนาว	เอทานอล	2.34	2.36	2.35
9	มะนาว	อะซิโตน	1.23	1.25	1.27
10	มะกรูด	น้ำกลั่น	0.21	0.25	0.30
11	มะกรูด	เอทานอล	2.35	2.40	2.62
12	มะกรูด	อะซิโตน	1.50	1.60	1.20
13	ส้มเขียวหวาน	น้ำกลั่น	0.23	0.25	0.21
14	ส้มเขียวหวาน	เอทานอล	2.11	2.20	2.15
15	ส้มเขียวหวาน	อะซิโตน	1.43	1.50	1.42

ตารางภาคผนวกที่ 18 ค่าร้อยละสารต้านอนุมูลอิสระของเปลือกพืชสกุลส้ม

ลำดับที่	เปลือกพืช	ตัวทำละลาย	ร้อยละสารต้านอนุมูลอิสระ		
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
1	ส้มโอ	น้ำกลั่น	21.28	21.30	21.32
2	ส้มโอ	เอทานอล	87.28	87.28	87.30
3	ส้มโอ	อะซิโตน	46.68	46.70	46.65
4	ส้มซ่า	น้ำกลั่น	33.61	33.72	33.45
5	ส้มซ่า	เอทานอล	90.32	90.36	90.40
6	ส้มซ่า	อะซิโตน	54.94	55.00	54.96
7	มะนาว	น้ำกลั่น	28.09	28.10	28.15
8	มะนาว	เอทานอล	90.21	90.23	90.30
9	มะนาว	อะซิโตน	52.87	52.90	53.00
10	มะกรูด	น้ำกลั่น	10.42	10.62	10.90
11	มะกรูด	เอทานอล	91.22	91.30	91.50
12	มะกรูด	อะซิโตน	58.86	60.12	59.30
13	ส้มเขียวหวาน	น้ำกลั่น	17.83	18.20	17.50
14	ส้มเขียวหวาน	เอทานอล	90.89	91.50	91.32
15	ส้มเขียวหวาน	อะซิโตน	45.96	45.80	45.85

ประวัตินักวิจัย

1. ชื่อ-สกุล : นางสาวกนิษฐา สุขเกิด

2. ตำแหน่งปัจจุบัน : นักวิชาการศึกษา (ปฏิบัติการ)

3. หน่วยงานที่สังกัด : คณะเทคโนโลยีการเกษตร

4. ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ : สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ศูนย์รังสิต เลขที่ 2 ถนนพหลโยธิน 87 ซอย 2 ตำบลประชาธิปัตย์ อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12130

5. โทรศัพท์ที่ทำงาน : 02-592-1955

6. โทรศัพท์มือถือ : 084-5950701

7. Email: kanittha_so@rmutt.ac.th

8. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	วุฒิการศึกษา	สาขาวิชา	มหาวิทยาลัย
2557	วท.บ.	เคมี	มหาวิทยาลัยนเรศวร
2562	วท.บ.	อาชีวอนามัยและความปลอดภัย	มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช
2566	วท.ม.	นวัตกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร (food science)	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

9. ประสบการณ์ทำงาน :

ปี พ.ศ.	ชื่อหน่วยงาน	ตำแหน่ง
2561 - ปัจจุบัน	คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี	นักวิชาการศึกษา
2557 - 2560	บริษัท.ปตท.จำกัด (มหาชน)	พนักงานปฏิบัติการทดสอบ ฝ่ายวิเคราะห์คุณภาพ
2557	นักวิทยาศาสตร์	บริษัท เพรซิเดนท์ อินเตอร์ ฟาร์มา จำกัด