รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการ

# การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเมล็ดองุ่นและการประยุกต์ใช้ในอาหารทอด

# RECOVERY OF ANTIOXIDANTS FROM GRAPE SEEDS AND ITS APPLICATION IN FRIED FOOD

โดย

เบ็ญจรัก วายุภาพ

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สนับสนุนทุนวิจัยโดย

สถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิต

# กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิตที่ให้ความอนุเคราะห์เงินทุนวิจัย และคณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิตที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัยและนักศึกษาที่ทำหน้าที่เป็นผู้ช่วยวิจัย

ขอขอบคุณ ผศ.ดร.วราพร ลักษณลม้าย คณบดีคณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิตที่กรุณาให้คำแนะนำ และช่วยแก้ไข งานวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.วรรณา ตุลยธัญ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยนี้ซึ่งให้คำแนะนำและตรวจแก้ไข ตลอดจนให้กำลังอย่างมากทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์เบ็ญจรัก วายุภาพ
ผู้ดำเนินการวิจัย

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

**ชื่อผู้วิจัย:** **ผศ.เบ็ญจรัก วายุภาพ**

**ชื่อโครงงาน:** **การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเมล็ดองุ่นและการประยุกต์ใช้ในอาหารทอด**

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของตัวทำละลายอินทรีย์และสภาวะในการสกัดสารโพลิฟีนอลจากเมล็ดองุ่น ตัวทำละลาย 2 ชนิดที่เลือกในวิจัยนี้ได้แก่ เอทานอล และ อะซีโตน ความเข้มข้นระหว่าง 0 – 100% ภายใต้การสกัดที่อุณหภูมิห้อง และ 50°C เป็นเวลา 3 – 12 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้ตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 50%(v/v) ให้ร้อยละผลได้ดีที่สุด 14.86 ภายใต้การสกัดที่ 50°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง สารสกัดที่ได้มีปริมาณโพลิฟีนอล 0.33 กรัม/กรัมเมล็ดองุ่น ค่า $EC_{50}$ วัดโดยวิธี DPPH และ ค่า Reducing power เท่ากับ 214.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 2.38 ตามลำดับ ค่าที่ได้นี้แสดงถึงคุณสมบัติที่ดีในการเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้ เมื่อพิจารณาค่าใช้จ่ายในการผลิต และ ความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ที่จะต้องไม่มีตัวทำละลายที่เป็นพิษตกค้างอยู่ ผู้วิจัยเลือกใช้สารละลายเอทานอลซึ่งมีคุณสมบัติเหมาะสมมากกว่าสารละลายอะซีโตน ถึงแม้ว่าร้อยละผลได้จะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อนำสารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่ได้มาทดสอบการชะลอการเกิดกลิ่นเหม็นหืนในผลิตภัณฑ์หมูทอดเปรียบเทียบกับสารกันหืน 2 ชนิดได้แก่ BHT และ กรดแกลลิค พบว่าเมื่อใช้สารสกัดความเข้มข้น 1.6 กรัม/กรัมผลิตภัณฑ์ สามารถชะลอการเหม็นหืนในผลิตภัณฑ์หมูทอดได้โดยมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับเมื่อใช้ BHT แต่ด้อยกว่ากรดแกลลิค

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

Name: Assitant Professor Benjaruk Vayupharp

Project title: Recovery of Antioxidants from Grape Seeds and Its Application in Fried Food


## Abstract

The efficiency of organic solvent and conditions for extractint phenolics from grape seeds was investigated. Two selected organic solvents; aqueous ethanol and acetone were studied at various concentrations between 0-100% and the extraction was performed under room temperature and 50°C for 3-12 hours. Results showed that under 50°C for 6 hours, the best recovery yield of 14.9 % was obtained with 50% (v/v) ethanol. Under this condition, the extract consisted of 0.33 (g/g grape seed) total phenol. The $EC_{50}$ measured by DPPH method and reducing power were 214.6 μg/mL and 2.38, respectively, This implied a high antioxidant activity of the extract. When considering the cost of operation and the safety concerns associated with solvent residue in the product, aqueous ethanol was a more appropriate solvent than aqueous acetone despite no significant difference in the recovery yield.The effect of the extract on retarding oxidative rancidity of fried pork products was compared with 2 commercial additives; BHT and gallic acid. At the concentration of 1.6 g/g product, efficiency of the extract was similar in retarding rancidity was comparable to BHT but lower than gallic acid.


Keywords: Antioxidant, Grape Seed Extractive, Total Phenol, Antiradical

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| บทคัดย่อภาษาไทย | ก |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | ข |
| กิตติกรรมประกาศ | ค |
| สารบัญ | ง |
| สารบัญตาราง | ฉ |
| สารบัญรูป | ช |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ | 2 |
| 1.3 ระเบียบวิธีวิจัย | 2 |
| 1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ | 2 |
| บทที่ 2 ตรวจเอกสาร | |
| 2.1 องุ่น | 3 |
| 2.1.1 ลักษณะทางพฤษศาสตร์ | 3 |
| 2.1.2 สรรพคุณและประโยชน์ในด้านต่างๆ | 3 |
| 2.2 สารสกัดจากเมล็ดองุ่น | 6 |
| 2.3 การเสื่อมเสียของอาหารประเภทไขมัน น้ำมันและอาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ | 9 |
| 2.3.1 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส | 9 |
| 2.3.2 ปฏิกิริยาการเกิดรีเวอร์ชัน | 10 |
| 2.3.3 การเกิดพอลิเมอไรเซชัน | 10 |
| 2.3.4 ปฏิกิริยาออกซิเดชัน | 11 |
| 2.3.5 วิธีการชะลอปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน | 14 |
| 2.4 ตัวทำละลาย | 14 |
| 2.4.1 น้ำ | 14 |
| 2.4.2 แอลกอฮอล์ | 15 |
| 2.4.3 น้ำผสมแอลกอฮอล์ | 15 |
| 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง | 16 |

บทที่ 3 ขั้นตอนการวิจัย 21
3.1 การเตรียมวัตถุดิบ 21
3.2 ศึกษาตัวทำละลายและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิฟีนอล 21
3.2.1 ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิฟีนอลจากเมล็ดองุ่น 21
3.2.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด 21
3.3 ศึกษาการใช้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นในการยับยั้งการเหม็นหืนในผลิตภัณฑ์อาหารทอดเปรียบเทียบกับสารกันหืนสังเคราะห์ 21
3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ 22
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผล 23
4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิฟีนอลจากเมล็ดองุ่น 23
4.1.1. ศึกษาชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิฟีนอล 23
4.1.2. ศึกษาปริมาณเมล็ดองุ่น เวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัด 25
4.2 ศึกษาการใช้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นในการยับยั้งการเหม็นหืนในผลิตภัณฑ์หมูทอดเปรียบเทียบกับสารกันหืนสังเคราะห์ โดยเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 29
4.2.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า Peroxide value (PV) ที่อุณหภูมิต่างๆ 29
4.2.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า Thiobarbituric acid (TBA) ที่อุณหภูมิต่างๆ 31
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ
5.1 สรุปผลการทดลอง 33
5.2 ข้อเสนอแนะ 33
บรรณานุกรม 34
ภาคผนวก 38
ข้อมูลนักวิจัย 50

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

# สารบัญตาราง


| | | หน้า |
|---|---|---|
| ตารางที่ 2.1 | คุณค่าทางโภชนาการขององุ่นหนัก 100 กรัม | 5 |
| ตารางที่ 2.2 | ปริมาณน้ำและสารประกอบฟีนอลที่พบในแต่ละส่วนของผลองุ่นโดยประมาณ | 5 |
| ตารางที่ 2.3 | ค่าคงที่ไดอิเล็กทริกของตัวทำละลายที่ 25 องศาเซลเซียส | 16 |
| ตารางที่ 4.1 | ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัดสารโพลิฟีนอลจากเมล็ดองุ่น | 23 |
| ตารางที่ 4.2 | ปริมาณเมล็ดองุ่น เวลาที่ใช้ในการสกัดที่อุณหภูมิห้อง ในการสกัดโพลิฟีนอลจากเมล็ดองุ่นต่อตัวทำละลายที่ผสมระหว่างน้ำกับเอทานอล 50:50 (v/v) | 27 |
| ตารางที่ 4.3 | ปริมาณเมล็ดองุ่น เวลาที่ใช้ในการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ในการสกัดสารโพลิฟีนอลจากเมล็ดองุ่นต่อตัวทำละลายที่ผสมระหว่างน้ำกับเอทานอล 50:50 (v/v) | 28 |
| ตารางที่ 4.4 | ปริมาณเมล็ดองุ่น เวลาที่ใช้ในการสกัดและอุณหภูมิ ที่ใช้ในการสกัดสารโพลิฟีนอลจากเมล็ดองุ่นต่อตัวทำละลายที่ผสมระหว่างน้ำกับเอทานอล 50:50 (v/v) | 28 |


มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

# สารบัญรูป


| | หน้า |
|---|---|
| รูปที่ 2.1 พันธุ์องุ่น Pok Dum | 3 |
| รูปที่ 2.2 โครงสร้างโมโนเมอร์ที่พบในสารสกัดจากเมล็ดองุ่น | 7 |
| รูปที่ 2.3 โครงสร้างทั่วไปของโปรแอนโธไซยานิดินส์จากเมล็ดองุ่น | 7 |
| รูปที่ 2.4 ลักษณะโครงสร้างของสารโปรแอนโธไซยานิดินส์ BHT และ BHA | 9 |
| รูปที่ 2.5 ปฏิกิริยาการเกิดไฮโดรไลซิสของกลีเซอไรด์ | 10 |
| รูปที่ 2.6 ปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของกลีเซอไรด์ | 11 |
| รูปที่ 2.7 ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันทั้ง 3 ขั้นตอน | 13 |
| รูปที่ 2.8 ขั้นตอนการเสื่อมคุณภาพของไขมัน | 14 |
| รูปที่ 4.2.1 ค่า PV ในเนื้อหมูทอดที่มีสารสกัดจากเมล็ดองุ่นและสารกันหืนสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส | 29 |
| รูปที่ 4.2.2 ค่า PV ในเนื้อหมูทอดที่มีสารสกัดจากเมล็ดองุ่นและสารกันหืนสังเคราะห์ที่อุณหภูมิห้อง | 29 |
| รูปที่ 4.2.3 ค่า PV ในเนื้อหมูทอดที่มีสารสกัดจากเมล็ดองุ่นและสารกันหืนสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส | 30 |
| รูปที่ 4.2.4 ค่า TBA ในเนื้อหมูทอดที่มีสารสกัดจากเมล็ดองุ่นและสารกันหืนสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส | 31 |
| รูปที่ 4.2.5 ค่า TBA ในเนื้อหมูทอดที่มีสารสกัดจากเมล็ดองุ่นและสารกันหืนสังเคราะห์ที่อุณหภูมิห้อง | 31 |
| รูปที่ 4.2.6 ค่า TBA ในเนื้อหมูทอดที่มีสารสกัดจากเมล็ดองุ่นและสารกันหืนสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส | 32 |

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

การใช้ประโยชน์จากของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมเป็นเรื่องที่โรงงานต่างๆกำลังให้ความสนใจและเห็นความสำคัญมากขึ้น เพราะช่วยลดต้นทุนการผลิต และยังช่วยเพิ่มรายได้ให้กับโรงงาน โรงงานผลิตไวน์เป็นโรงงานหนึ่งที่มีเมล็ดองุ่นเหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก และเป็นภาระของโรงงานในการกำจัด จากข้อมูลของโรงงานไวน์บริษัทสยามไวเนอรี จำกัด พบว่าในกระบวนการผลิตไวน์จะใช้องุ่นพันธ์ Pok Dum และ Whit Malaga ปริมาณ 2,500 ตันต่อปี และมีเมล็ดองุ่นเหลือทิ้งถึง 125 ตันต่อปี ซึ่งทางโรงงานต้องหาวิธีกำจัดเมล็ดองุ่นเหล่านี้ด้วยการนำไปทิ้งหรือกองทิ้งไว้ที่โรงงาน

มีงานวิจัยจำนวนมากจากต่างประเทศได้รายงานผลงานวิจัยว่า ในเมล็ดองุ่นมีสาร Proanthocyanidins หรือเรียกว่าสารสกัดจากเมล็ดองุ่นโดยพบมากถึง 60-70% ในขณะที่เนื้อองุ่นพบเพียง 10% และ ผิวเปลือกพบ 28- 35 % และยังได้ศึกษาการนำสารสกัดนี้ไปใช้ประโยชน์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระใช้ในทางการแพทย์ (Nawaz, *et al*., 2006)

นอกจากนั้นยังมีรายงานการศึกษาพบว่า สารสกัดจากเมล็ดองุ่นยังทำหน้าที่เป็นสารกันหืนในอุตสาหกรรมอาหาร (Mielnik, *et al*, 2006) โดยเฉพาะอาหารปรุงสุกที่ทำจากผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ขึ้นซึ่งอาหารที่ประกอบด้วยผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์จะมีส่วนประกอบของไขมันปะปนอยู่ จึงทำให้อาหารเหล่านี้มีอายุการเก็บรักษาไม่นานเนื่องจากจะเกิดการเหม็นหืนของไขมัน โดยทั่วไปในอุตสาหกรรมอาหารจะนิยมใส่สารกันหืนสังเคราะห์ลงในอาหารเหล่านั้นเพื่อให้อาหารเหล่านั้นมีอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น

อย่างไรก็ตามสำหรับในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดองุ่นทั้งๆที่มีโรงงานผลิตไวน์เกิดขึ้นจำนวนมาก อีกทั้งปัจจุบันแนวโน้มความต้องการของผู้บริโภคเรื่องอาหารสุขภาพ หรือ อาหารเสริมมีมากขึ้น สะท้อนได้จากการปริมาณการนำเข้าอาหารเสริมจากต่างประเทศมากขึ้นทุกปี ดังนั้นหากใช้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและเป็นสารธรรมชาติจะตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคที่คำนึงถึงสุขภาพและต้องการอาหารที่ปลอดภัย

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเรื่องการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเมล็ดองุ่นที่เหลือทิ้งจากโรงงานผลิตไวน์ และ ศึกษาการนำไปใช้ประโยชน์เป็นสารกันหืนในอาหารทอด ประโยชน์ที่ได้จากงานวิจัยนี้จะช่วยเพิ่มรายได้ให้กับโรงงานไวน์ และลดภาระในการกำจัดเมล็ดองุ่นที่เหลือทิ้งจำนวนมากต่อปี อีกทั้งยังเป็นแนวทางการศึกษาการใช้ประโยชน์จากสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในการทำเป็นอาหารเสริมสุขภาพเพื่อลดการนำเข้าอาหารเสริมสุขภาพจากต่างประเทศ และลดการใช้สารกันหืนสังเคราะห์ในอุตสาหกรรรมอาหาร

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

## 1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเมล็ดองุ่นและทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antiradical activity)

1.2.2 ศึกษาการใช้ประโยชน์จากสารสกัดจากเมล็ดองุ่นเป็นสารกันหืนในผลิตภัณฑ์อาหารทอดเปรียบเทียบกับสารกันหืนสังเคราะห์ที่ใช้ในทางการค้า

## 1.3 ระเบียบวิธีวิจัย

1.3.1 ศึกษาตัวทำละลายที่เหมะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเมล็ดองุ่น

1.3.2 ศึกษาระยะเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัด

1.3.3 ศึกษาคุณสมบัติ Antiradical activity โดยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay

1.3.4 เปรียบเทียบคุณสมบัติการป้องกันการเหม็นหืนในผลิตภัณฑ์อาหารทอดจากสารสกัดที่ได้จากเมล็ดองุ่นกับสารกันหืนสังเคราะห์ Butylated hydroxytoluene (BHT)

## 1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบวิธีการสกัด ชนิดของตัวทำละลาย และ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากเมล็ดองุ่นให้ได้ปริมาณมากที่สุด และคุณสมบัติในการป้องกันการเหม็นหืนในอาหารทอด และสามารถนำมาใช้ทดแทนสารกันหืนสังเคราะห์ทางการค้าได้

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

# บทที่ 2
# ตรวจเอกสาร

## 2.1 องุ่น

องุ่นได้ถูกนำมาศึกษาถึงองค์ประกอบและคุณสมบัติทางเคมีตั้งแต่ยุคต้น ๆ ของศตวรรษที่ 20 จนกระทั่งมาถึงปัจจุบันซึ่งทำให้พบว่า องุ่นในสายพันธุ์ที่ต่างกันก็จะมีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันไปด้วย จากการศึกษาทำให้รู้จักว่าสารประกอบทางเคมีจำนวนมากที่สกัดแยกได้จากส่วนต่าง ๆ ขององุ่นไม่ว่าเป็น ใบ ผล ราก หรือว่าส่วนอื่น ๆ ของต้นองุ่นมีเป็นจำนวนมาก แต่ในจำนวนสารประกอบทั้งหลายเหล่านี้ มีสารประกอบที่น่าสนใจที่สุดที่สกัดได้จากเมล็ดองุ่นก็คือ โปรแอนโธไซยานิดินส์ซึ่งพบว่ามีฤทธิ์โดดเด่นในเชิงการรักษาโรค

2.2.1 ลักษณะทางพฤษศาสตร์

องุ่นมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vitis vinifera* Linn. เป็นพืชที่อยู่ในสกุล *Vitis* ซึ่งมีอยู่ประมาณ 11 สกุลและ 600 ชนิด สกุล *Vitis* เป็นสกุลเดียวที่เป็นผลไม้รับประทานได้ องุ่นเป็นไม้ยืนต้นชนิดเถาเลื้อยหรือไม้เลื้อย มีขนปกคลุมลำต้น ผลมีเนื้อมากนุ่ม มีรสชาติดี ทั้งรสหวานและหวามอมเปรี้ยว ผลองุ่นมีการเรียงตัวเป็นพวงยาวขนาดใหญ่ (น้ำผลไม้และผัก เครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพ) เป็นไม้เลื้อยที่เกิดในอากาศอบอุ่น แต่ก็สามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตหนาว เขตกึ่งร้อนกึ่งหนาว และเขตร้อน สำหรับองุ่นที่นำมาทำไวน์ในประเทศไทยคือพันธุ์ Pok Dum ซึ่งมีลักษณะเป็นช่อใหญ่ ผลดกและกลมค่อนข้างใหญ่ มีสีแดงหรือม่วงดำ รสหวาน กรอบ เปลือกบาง จึงทำให้ผลแตกง่ายเมื่อผลแก่ในช่วงฝนตกชุก ในผลหนึ่ง ๆ มีเมล็ด 1 - 2 เมล็ด

รูปที่ 2.1 องุ่นพันธุ์ Pok Dum (ที่มา www.wangnamkheo.com, วันที่ 20 สิงหาคม 2549)

2.2.2 สรรพคุณและประโยชน์ในด้านต่าง ๆ

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

องุ่นมีสารที่สามารถทำลายเชื้อไวรัส ต่อต้านมะเร็ง แต่ยังไม่มีใครสามารถนำออกมาใช้อย่างจริงจังในทางการแพทย์ได้ ดร.แจ็ก โคโนวัลชัค และโจน สเพียร์ ชาวแคนนาดา ได้ประกาศการค้นพบฤทธิ์ฆ่าเชื้อไวรัสในหลอดทดลองของน้ำคั้นจากองุ่น นักวิจัยทั้งสองได้ทดลองกับองุ่นสด น้ำองุ่นและลูกเกด (ผลองุ่นตากแห้ง) ไวน์ขาว ไวน์แดง และโรเซ่ซึ่งซื้อจากร้านค้าทั่วไป เมื่อหยดเชื้อไวรัสหลายชนิดลงไปในน้ำสกัดจากผลิตภัณฑ์องุ่นพบว่า ผลิตภัณฑ์จากองุ่นทุกชนิดทำลายเชื้อไวรัสโปลิโอ (Poliovirus) และโรคเริม (Herpes simplex) ได้อย่างน่าภูมิใจ (สรจักร ศิริบริรักษ์, 2547)

2.2.2.1 ผล

ภายในผลองุ่นประกอบด้วยสารอาหารที่สำคัญ คือ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลซูโครส ฟอสฟอรัส ธาตุเหล็ก แคลเซียม วิตามินเอ วิตามินซี และกรดอินทรีย์ประมาณ 7 - 8 ชนิด ผลแก่ใช้รับประทานเป็นผลไม้ ทำผลไม้ดองและทำลูกเกดซึ่งพบว่าในลูกเกดจะมีน้ำตาลสูง มีฟอสฟอรัสและแคลเซียมสูงกว่าองุ่นถึง 7 เท่า นอกจากนี้ยังใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไวน์องุ่นอีกด้วย สรรพคุณทางยาของผลองุ่นคือ ช่วยในการบำรุงสมอง บำรุงหัวใจ บรรเทาอาการกระหายน้ำ รักษาโรคหนองในปัสสาวะขัด บำรุงกำลัง บำรุงโลหิต ทำให้กระดูกแข็งแรง และรักษาอาการปวดหัว คนที่ร่างกายผอมแห้งแรงน้อย แก่ก่อนวัย ไม่มีเรี่ยวแรง ถ้ารับประทานองุ่นเป็นประจำจะช่วยเสริมทำให้ร่างกายค่อย ๆ แข็งแรงขึ้นได้

2.2.2.2 เมล็ด

เมล็ดองุ่นประกอบด้วย ธาตุเหล็ก แคลเซียม ฟอสฟอรัส วิตามินเอ วิตามินซี วิตามินอีและกรดไขมันอิสระ เช่น กรดไลโนเลอิก กรดโอเลอิก กรดพัลมิติก และกรดสเตียริก เป็นต้น นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารประกอบพวกโพลีฟีนอล (Polyphenols) และฟลาโวนอยด์หลายชนิดที่มีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง สารที่สำคัญที่พบคือสารโปรแอนโธไซยานิดินส์

2.2.2.3 เถาใบ

สรรพคุณทางยา คือ รักษาอาการบวมน้ำ ตาแดง ปัสสาวะขัด และแผลเป็นหนอง

2.2.2.4 เครือและราก

ใช้เป็นยา ขับลม ขับปัสสาวะ รักษาโรคไขข้ออักเสบ ปวดเอ็น ปวดกระดูก รักษาอาการกระดูกหัก อาการ ฟกช้ำ มีฤทธิ์ระงับประสาท และแก้อาเจียนเป็นเลือด

ทุกส่วนขององุ่นสามารถนำมาทำเป็นยาได้ ซึ่งมีสารโปรแอนโธไซยานิดินส์และยังมีแร่ธาตุและสารอื่น ๆ อีกมากมาย ดังตารางที่ 2.1

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางโภชนาการขององุ่นหนัก 100 กรัม (ระพีพรรณ ใจภักดี, 2544)

| | |
|---|---|
| พลังงาน | 50 Calories |
| คาร์โบไฮเดรต | 12.8 กรัม |
| ไขมัน | 0.3 กรัม |
| เส้นใย | 0.9 กรัม |
| โปรตีน | 0.5 กรัม |
| แคลเซียม | 9 มิลลิกรัม (มก.) |
| ฟอสฟอรัส | 20 มก. |
| เหล็ก | 0.6 มก. |
| ไนอะซิน | 0.2 มก. |
| วิตามินบี 1 | 0.10 มก. |
| วิตามินบี 2 | 0.06 มก. |
| วิตามินซี | 4 มก. |

องุ่นมีส่วนประกอบหลักคือ น้ำ และมีส่วนประกอบทางเคมีคือ สารประกอบฟีนอลอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของผลองุ่นแตกต่างกัน ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ปริมาณน้ำและสารประกอบฟีนอลที่พบในแต่ละส่วนของผลองุ่นโดยประมาณ (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2546)

| ส่วนของผลองุ่น | % โดยน้ำหนัก | % น้ำ | % สารประกอบฟีนอล |
|---|---|---|---|
| ก้าน | 2 – 6 | 60 – 81 | 1 – 4 |
| ผล | 95 – 97 | - | - |
| เปลือก | 5 – 12 | 70 – 80 | 1 – 2 |
| เนื้อ | 85 – 87 | 60 – 85 | - |
| เมล็ด | 0 – 5 | 30 – 40 | 5 – 8 |
| ไวน์แดง | - | - | 0.1 – 0.4 (1,000 – 4,000 มก./ล) |
| ไวน์ขาว | - | - | 0.001 – 0.03 (100 – 300 มก./ล) |

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

## 2.2 สารสกัดจากเมล็ดองุ่น(Grape seed extract)

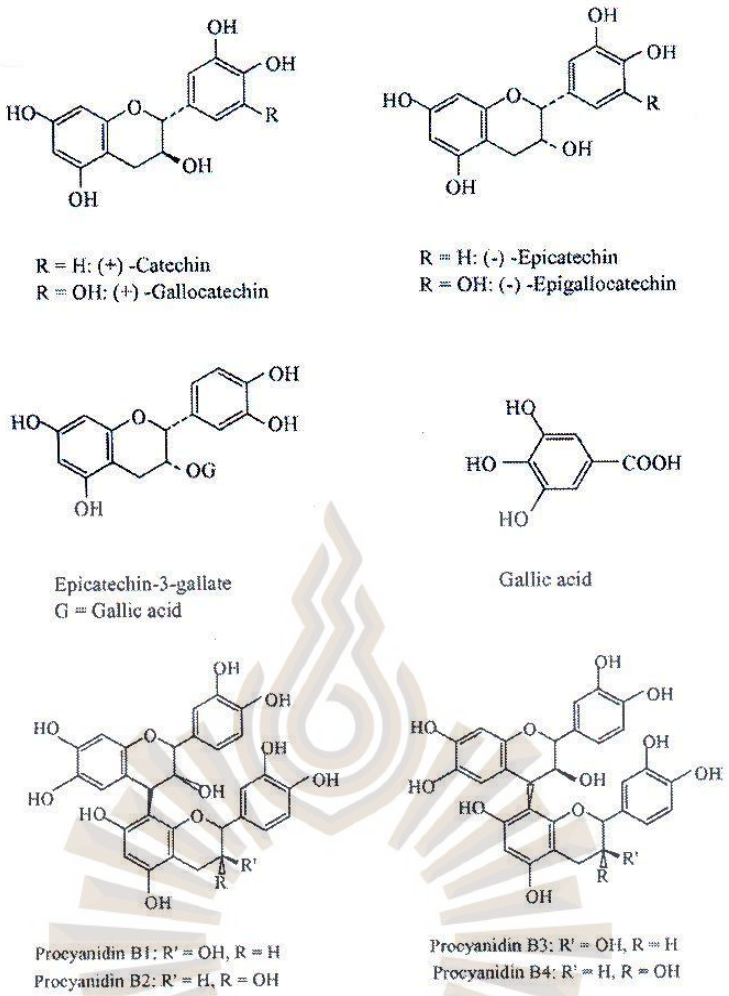
สารสกัดจากเมล็ดองุ่นประกอบไปด้วยโพลิฟีนอล (รวมทั้ง โปรแอนโธไซยานิดินส์) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Lau and King, 2003) จากผลการวิจัยทางคลินิคแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเมล็ดองุ่นมีศักยภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าวิตามินอี 20 เท่า และวิตามินซี 50 เท่า (Shi, *et al*, 2003) เกิดจากการเพิ่มระดับโพลิฟีนอล โปรแอนโธไซยานิดินส์ และหน่วยโอลิโกเมอร์ของ ฟลาโวน-3-ออล (Oligomers of flavan-3-ol) ที่มี catechin และ epicatechin ในสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (Yilmaz & Toledo, 2004) กิจกรรมของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นได้มีผู้รายไว้มากมายรวมทั้งนำไปใช้กับเนื้อวัวปรุงสุกและเนื้อไก่งวง (Ahn, *et al,* 2002, Lau ad King, 2003, Mielink, *et al*, 2006)

โปรแอนโธไซยานิดินส์ หรือมีชื่อเต็ม ๆ ว่า สารประกอบโอลิโกเมอริก โปรแอนโธไซยานิดินส์ (Oligomeric proanthocyanidin complexes – OPC) พีซีโอ (Procyanidolic oligomer - PCO) พิกโนจินอล (Pycnogenol) ลิวโคแอนโธไซยานินส์ (Leucoanthocyanins) โปรไซยานิดินส์ (Procyanidins) หรือสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (Grape seed extract) ทั้งหมดนี้คือสารตัวเดียวกัน

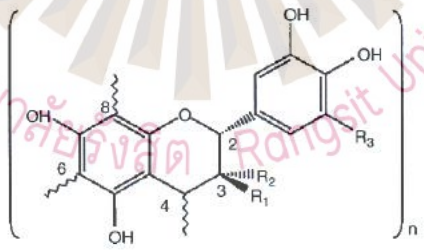
โปรแอนโธไซยานิดินส์เป็นสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ ประกอบไปด้วยสาร Catechin และ Epicatechin สารนี้เมื่อรวมตัวกันจะอยู่ในรูป OPCs มักพบในเปลือกมะนาว ต้นสนขาว ต้นสนมารีน ไทม์ แครนเบอร์รี เปลือกถั่วลิสง เปลือกส้ม อัลมอนด์ เครื่องดื่มประเภทไวน์ น้ำผลไม้และชา แต่แหล่งสำคัญที่ได้รับความนิยมในการสกัดสารโปรแอนโธไซยานิดินส์ก็คือ เมล็ดองุ่นและเปลือกสน สารโปรแอนโธไซยานิดินส์ส่วนมากจะประกอบด้วยสาร Catechin และ Epicatechin โดยจะมีโครงสร้างแบบ Dimers Trimers และ Tetramers ซึ่งจะพบสารนี้อยู่ประมาณ 60-70 % ของสารประกอบพวกโพลีฟีนอลในเมล็ดองุ่น

สารโปรแอนโธไซยานิดินส์จะกระจายอยู่ในองุ่นในปริมาณต่าง ๆ ดังนี้คือ ส่วนเนื้อจะมีอยู่ 10% หรือน้อยกว่า เมล็ด 60-70% และผิวเปลือกประมาณ 28-35 % (Nawaz, *et al*, 2006)

โครงสร้างของโปรแอนโธไซยานิดินส์ที่พบในเมล็ดองุ่น เกิดจากการรวมตัวของ 2 โมโนเมอร์หรือมากกว่า ด้วยพันธะทางเคมี โมโนเมอร์หลักที่พบในเมล็ดองุ่นได้แก่ Catachin(Cat), Epicatechin (Ec) และ Epicatechin-3-gallate (3-o-gallate) โดยเชื่อมต่อกันที่ตำแหน่ง 4, 6 และ 8 ดังรูป 2.2 และ 2.3 ตัวอย่างเช่น โปรไซยานิดินส์ (Procyanidins) 2 โมเลกุลมารวมกันจะเป็น B-series ซึ่งมีอยู่ 5 แบบคือ B1 B2 B3 B4 และ B5 ส่วนโปรไซยานิดินส์ 3 โมเลกุลรวมกันจะเป็น C-series มีอยู่ 2 แบบคือ C1 และC2 เช่น Ec-(4$\beta\rightarrow$8)-Ec-(4$\beta\rightarrow$8)-Ec, Cat-(4$\beta\rightarrow$8)-Cat-(4$\beta\rightarrow$8)-Cat, Cat-(4$\beta\rightarrow$8)-Cat-(4$\beta\rightarrow$8)-Ec, Ec-(4$\beta\rightarrow$8)-Ec-(4$\beta\rightarrow$8)-Cat หรือโปรไซยานิดินส์ 4 โมเลกุลรวมกันเช่น Ec-4$\beta\rightarrow$8)-Ec-(4$\beta\rightarrow$8)-Ec-(4$\beta\rightarrow$8)-Ec เป็นต้น (Fuleki and Ricardo,1997; Nawaz, *et al*, 2006; Yilmaz, *et al*, 2006; Garcia-Marino, *et al*, 2006; Pekic, *et al*, 1998. และ Ricardo da Silva, *et al*, 1991)




รูปที่ 2.2 โครงสร้างโมโนเมอร์ที่พบในสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (Nawaz, *et al*, 2006)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างทั่วไปของโปรแอนโธไซยานิดินส์จากเมล็ดองุ่น: n, degree of polymerization ตำแหน่งที่ C4 C6 และ C8 จะเชื่อมต่อกับโมเลกุลอื่น: {(Catechin: $R_1$=OH, $R_2$=H, $R_3$=H) (Epicatechin:R1=H, R2=OH, R3=H)} (Garcia-Marino, *et al*, 2006)

สารโปรแอนโธไซยานิดินส์มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระช่วยป้องกันการสะสมของไขมันในหลอดเลือด สามารถลดความเสี่ยงต่อโรคหัวใจ ป้องกันการทำลายของผนังเซลล์และไลโพโปรตีนชนิด LDL ที่มีความหนาแน่นต่ำ ที่เป็นอันตราย ช่วยเพิ่มระดับของวิตามินซีและวิตามินอีใน

ร่างกาย ช่วยในการไหลเวียนของเลือด ช่วยป้องกันเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (collagen) ไม่ให้ถูกทำลาย ช่วยเสริมความแข็งแรงแก่เส้นเอ็นและกระดูกอ่อน ลดอาการอักเสบในโรคข้อ ลดอาการบาดเจ็บ และอาการอักเสบของเนื้อเยื่อ ช่วยกระตุ้นภูมิต้านทานของร่างกาย ช่วยสมานแผล ช่วยต่อต้านมะเร็ง ชะลอความชรา เพิ่มความยืดหยุ่นของร่างกาย ทำให้ผิวพรรณดี ป้องกันโรคตาเสื่อมและต้อกระจก ลดอาการของฮอร์โมนเปลี่ยนแปลงในช่วงก่อน - หลังมีประจำเดือน เพิ่มความกระฉับกระเฉง รักษาโรคเกี่ยวกับความจำ บรรเทาอาการภูมิแพ้และปัญหาสุขภาพเรื้อรัง

สารโปรแอนโธไซยานิดินส์นอกจากมีประโยชน์ทางด้านสุขภาพแล้วยังมีรายงานการนำสารโปรแอนโธไซยานิดินส์ที่สกัดจากเมล็ดองุ่นไปใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อป้องกันการเกิดไลปิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation) ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหารระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา สารต้านอนุมุลอิสระสังเคราะห์หรือสารกันหืนสังเคราะห์ เช่น Butylated hydroxytoluene (BHT) Butylated hydroxyanisole (BHA) Propyl gallate (PG) และ Tert-Butylhydroquinone (TBHQ) ได้มีการนำมาใช้เป็นสารเติมแต่งในอาหารเพื่อป้องกันการเกิดไลปิดเปอร์ออกซิเดชัน แต่อย่างไรก็ตาม BHT และ BHA ไม่เป็นพิษและไม่ก็ให้เกิดมะเร็งต่อมนุษย์ แต่ทำให้เกิดความผิดปกติต่อระบบของเอนไซม์ในร่างกาย (Ito, *et al*, 1986 และ Wichi, 1988) ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติโดยเฉพาะมาจากพืชเป็นแหล่งที่น่าสนใจหนึ่งในนั้นคือสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (Baydar, *et al*, 2007)

เนื่องจากสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (Proanthocyanidins) และสารกันหืนสังเคราะห์มีลักษณะโครงสร้างที่คล้ายกัน (รูปที่ 2.4) สารสกัดจากเมล็ดองุ่นจึงมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีกลไกการเป็นสารกันหืนในอาหารที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ อาจชะลอหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาไลปิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันหรือการหืน (rancidity) เพื่อช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงต่างๆของอาหาร เช่น การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ การเกิดสีน้ำตาลขึ้นในผักและผลไม้เป็นต้น มักมีผลต่อเนื่องทำให้มีการสูญเสียแคโรทีนและไวตามินชนิดละลายได้ในไขมัน การเกิดออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหย ในน้ำผลไม้ประเภทส้ม เป็นสาเหตุให้เกิดกลิ่นและรสที่ไม่ดี การที่สารกันหืนสามารถที่จะยับยั้งการเกิดออกซิเดชันได้นั้น เนื่องจากสารกันหืนที่เติมลงไปจะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นแบบลูกโซ่หยุดชะงักไปดังสมการ

$$ROO\bullet + AH\,(\text{antioxidant}) \longrightarrow ROOH + A\bullet \quad \text{หรือ}$$

$$RO\bullet + AH \longrightarrow ROH + A\bullet \quad \text{หรือ}$$

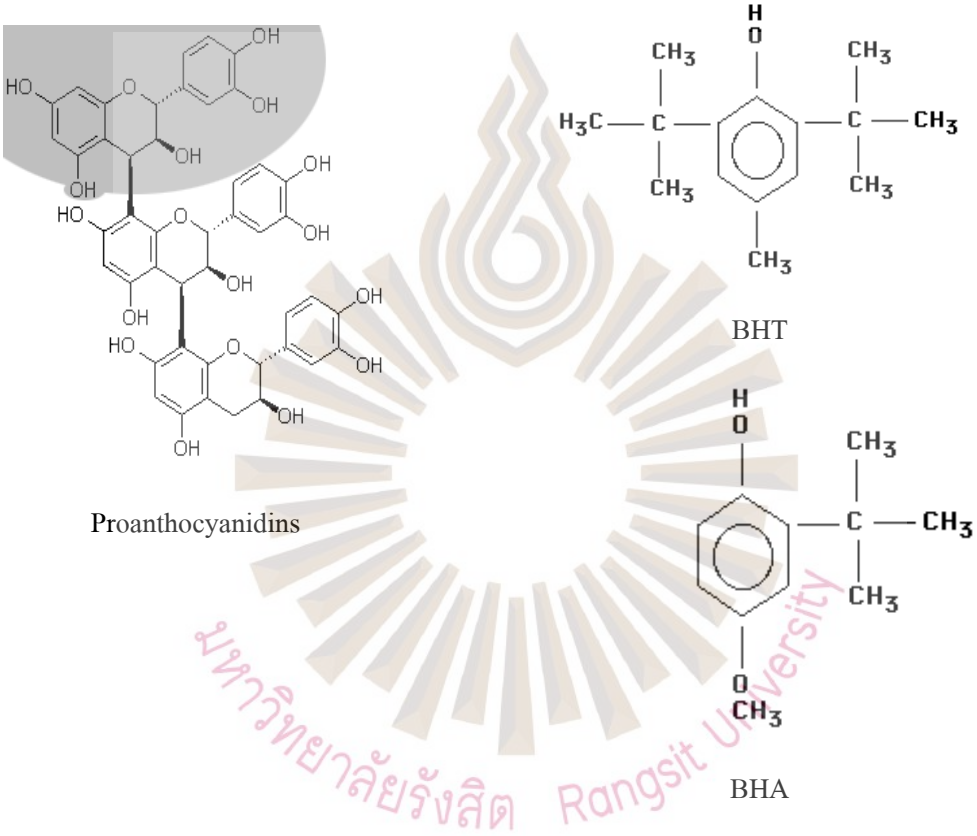
$$R\bullet + AH \longrightarrow RH + A\bullet$$

เมื่อสารกันหืนที่เติมลงไปทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเหลืออนุมูลอิสระของสารกันหืน ซึ่งเกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่าอนุมูลอิสระมากและจะเปลี่ยนเป็นสารประกอบที่คงตัวด้วยปฏิกิริยาดังต่อไปนี้

$$A\bullet + A\bullet \longrightarrow A_2$$

$$ROO\bullet + A\bullet \longrightarrow ROOA$$

ทำให้สารกันหืนสามารถช่วยยับยั้งปฏิกิริยาอกซิเดชันที่เกิดขึ้นในน้ำมันและไขมันได้ นอกจากนี้จากการศึกษาทดลอง ยังพบว่าสารกันหืนบางชนิดสามารถถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายกว่าน้ำมัน จึงอาศัยคุณสมบัติข้อนี้ของสารกันหืนช่วยชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมันและน้ำมัน (Fennema, 1985. และ Miller, 1998.)




รูปที่ 2.4 ลักษณะโครงสร้างของสารโปรแอนโธไซยานิดินส์ BHT และ BHA

ที่มา: Bowers,J. 1992. และ Nakamura. etal. 2003.

## 2.3 การเสื่อมเสียของอาหารประเภทไขมัน น้ำมัน และอาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ

การเสื่อมเสียของอาหารประเภทไขมัน น้ำมัน และอาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ จะเกิดปฏิกิริยาต่างๆดังนี้

### 2.3.1 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

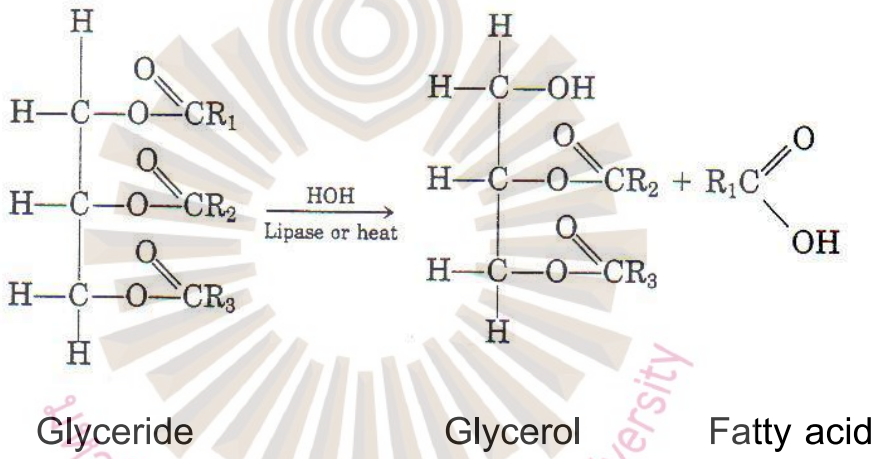
ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเป็นปฏิกิริยาการย่อยสลายของน้ำมันหรือไขมัน ทำให้เกิดกลีเซอรอลโมโน หรือ ไดกลีเซอไรด์ และกรดไขมันอิสระ โดยปฏิกิริยาจะเกิดเร็วขึ้นถ้ามีน้ำหรือเอนไซม์อยู่ด้วย

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

หรืออยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงหรือความชื้นสูง เช่น การทอดอาหารที่มีความชื้นสูง การเกิดไฮโดรไลซิสของน้ำมันหรือไขมันเป็นสาเหตุทำให้

- เกิดฟองระหว่างการทอด
- เกิดการกัดกร่อนของอุปกรณ์เครื่องมือที่ใช้ในการแปรรูปอาหาร เนื่องจากมีกรดไขมันอิสระเกิดขึ้น
- เกิดรสขมหรือกลิ่นคล้ายสบู่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าน้ำมันที่ใช้เป็นน้ำมันมะพร้าวหรือน้ำมันปาล์ม
- จุดเกิดควันของน้ำมันต่ำลง

สำหรับปัญหาการเสื่อมเสียเนื่องจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสนี้ ไม่สามารถแก้ไขได้ด้วยการใช้วัตถุกันหืน แต่อาจแก้ไขได้ด้วยการใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพดี และกระบวนการแปรรูปที่เหมาะสม




รูปที่ 2.5 ปฏิกิริยาการเกิดไฮโดรไลซิสของกลีเซอไรด์ (Miller, 1998.)

2.3.2 ปฏิกิริยาการเกิดรีเวอร์ชัน (Reversion)

ปฏิกิริยาการเกิดรีเวอร์ชัน เป็นปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดกลิ่นคล้ายสี (painty odor) หรือกลิ่นคล้ายหญ้า (grassy odor) โดยมากมักเกิดกับน้ำมันถั่วเหลือง สำหรับกลไกในการเกิดปฏิกิริยานี้ยังไม่พบสาเหตุแน่ชัด แต่สันนิษฐานว่าอาจเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลนิกที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันนั้น

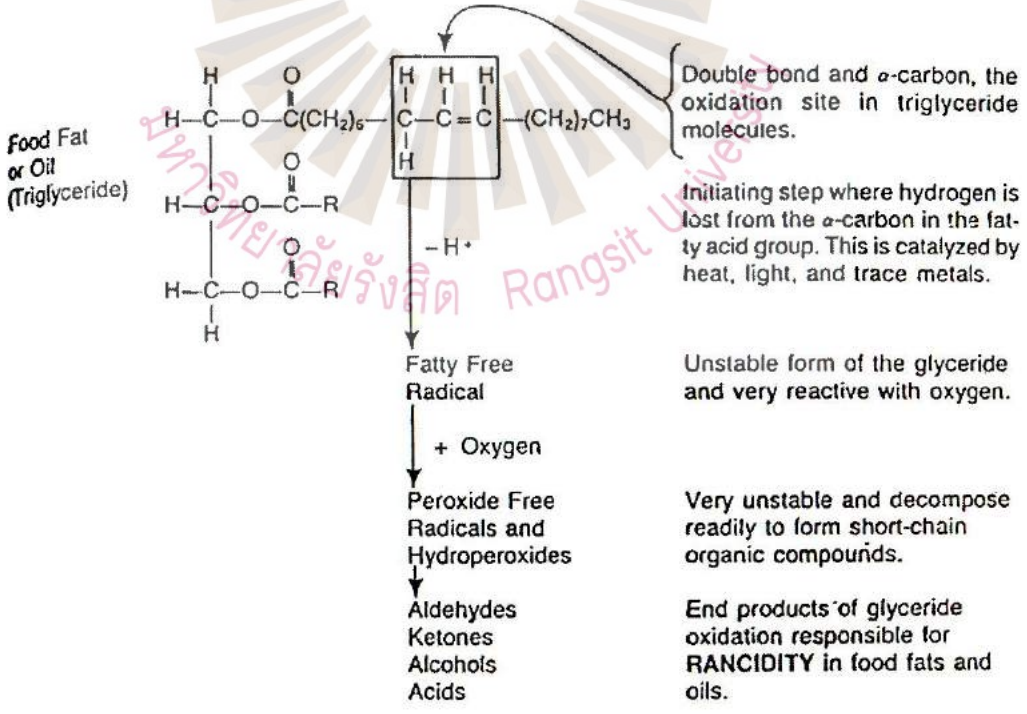
2.3.3 การเกิดพอลิเมอไรเซชัน (Polymerization)

การเกิดพอลิเมอไรเซชัน เป็นปฏิกิริยาที่ทำให้มีการจับตัวกันระหว่างกรดไขมันไม่อิ่มตัวโดยจะเกิดขึ้นเมื่อไขมันหรือน้ำมันได้รับความร้อนที่อุณหภูมิสูงๆ เป็นเวลานานๆเช่นในน้ำมันที่ใช้ในการทอด ส่งผลให้น้ำมันที่ผ่านการทอดเป็นเวลานานจะมีความหนืดเพิ่มขึ้น

2.3.4 ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation)

ปฏิกิริยาออกซิเดชัน เป็นการเสื่อมเสียจากปฏิกิริยาทางเคมีที่สำคัญและพบบ่อยที่สุดในอาหารประเภทน้ำมันและไขมัน และอาหารที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ เป็นข้อจำกัดที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีอายุการเก็บที่สั้นลง การเกิดออกซิเดชันขึ้นในกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ปัจจัยที่มีส่วนในการทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดเร็วขึ้นหรือช้าลง ได้แก่ชนิดของกรดไขมัน แสง อุณหภูมิ ออกซิเจน โลหะ เอนไซม์ และรังสี

ถ้าหากน้ำมันหรือไขมันที่นำมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร มีองค์ประกอบเป็นกรดที่มีความไม่อิ่มตัวสูง โอกาสที่น้ำมันหรือไขมันนั้น จะถูกออกซิไดซ์จะมีมากกว่า และถ้าหากมีการเก็บไขมันหรือน้ำมันดังกล่าว ในสภาวะที่มีโอกาสสัมผัสกับแสงหรือรังสี หรือในที่ๆ มีอุณหภูมิสูง หรือมีออกซิเจนอยู่ด้วย หรือมีโลหะปนเปื้อนมาด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งทองแดงและเหล็กหรือมีเอนไซม์อยู่ด้วย การเกิดออกซิเดชันจะเกิดขึ้นกับน้ำมันดังกล่าวจะมีโอกาสเกิดได้มากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลีเซอไรด์แสดงไว้ดังรูป 2.6




รูปที่ 2.6 ปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของกลีเซอร์ไรด์ (Fennema,1985.)

2.3.5 กลไกการเกิดออกซิเดชันในน้ำมันและไขมัน

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันและไขมัน มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหารมาก เนื่องจากเป็นสาเหตุให้เกิดกลิ่นหืนขึ้น และเป็นปฏิกิริยาที่สามารถเกิดขึ้นได้เอง หรือออโตออกซิเดชัน โดยปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นที่พันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ยิ่งถ้ามีพันธะคู่มากปฏิกิริยาออกซิเดชันก็จะยิ่งเกิดขึ้นเร็วมากขึ้นด้วย ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาแบบลูกโซ่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกับออกซิเจน และอนุมูลอิสระเกิดเป็นสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ สารที่เกิดขึ้นนี้จะสลายตัวเป็นสารที่มีโมเลกุลเล็กๆ ที่ทำให้มีกลิ่นหืน และเกิดเป็นอนุมูลอิสระที่เริ่มต้นของปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไปอีก ดังรูปที่ 2.7 โดยกลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันและไขมันในอาหาร สามารถแบ่งเป็นขั้นต่างๆ ได้ 3 ขั้นตอน โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. ขั้นเริ่มต้น (initiation)
2. ขั้นต่อเนื่อง (propagation)
3. ขั้นสุดท้าย (termination)

ปกติโมเลกุลของไขมันหรือน้ำมันจะประกอบด้วยกลีเซอรอลจับกับกรดไขมัน 3 โมเลกุล และชนิดของกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบจะเป็นปัจจัยสำคัญ ในการกำหนดคุณสมบัติหรือคุณภาพของไขมันนั้นๆ กรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัวจะถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายกว่า

1. ปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น

ปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น เป็นขั้นที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างกรดไขมันไม่อิ่มตัวและออกซิเจน โดยมีความร้อน แสง รังสี อิออนของโลหะหรือฮีม (heme) เป็นตัวเร่ง ดังสมการ

$$RH \longrightarrow R^{\cdot} + H^{\cdot}$$

ปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้นที่กล่าว อาจเกิดขึ้นโดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจน เพียงแค่มีตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น แสง หรือ อุณหภูมิ หรือ อนุมูลโลหะ เป็นต้น ก็เพียงพอที่จะทำให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้

2. ปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่อง

ปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่อง เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระเกิดขึ้นในปฏิกิริยาขั้นต้นทำปฏิกิริยากับออกซิเจน เกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกไซด์ (ROO•) และอนุมูลเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นนี้ จะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัวอื่น ทำให้เกิดสารเปอร์ออกไซด์ (ROOH) และอนุมูลอิสระ (R•) ขึ้น ซึ่งสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์นี้ สามารถเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้ ถ้าหากมีแสงหรือความร้อน หรือโลหะเป็นตัวเร่ง และอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นก็จะไปทำปฏิกิริยากับออกซิเจนใหม่ เกิดอนุมูลเปอร์ออกไซด์ขึ้นอีก และปฏิกิริยานี้จะเกิดต่อเนื่องแบบเดิมไปเรื่อยๆแบบลูกโซ่ ดังสมการ

$$R^{\cdot} + O_2 \longrightarrow ROO^{\cdot}$$

$$ROO^{\cdot} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\cdot}$$

3. ปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย

ปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น เกิดการรวมตัวกันในรูปต่างๆ ทำให้เกิดสารที่มีความคงตัวและทำให้ปฏิกิริยาสิ้นสุดลง ไม่เกิดปฏิกิริยาต่อไป ดังแสดงในสมการต่อไปนี้

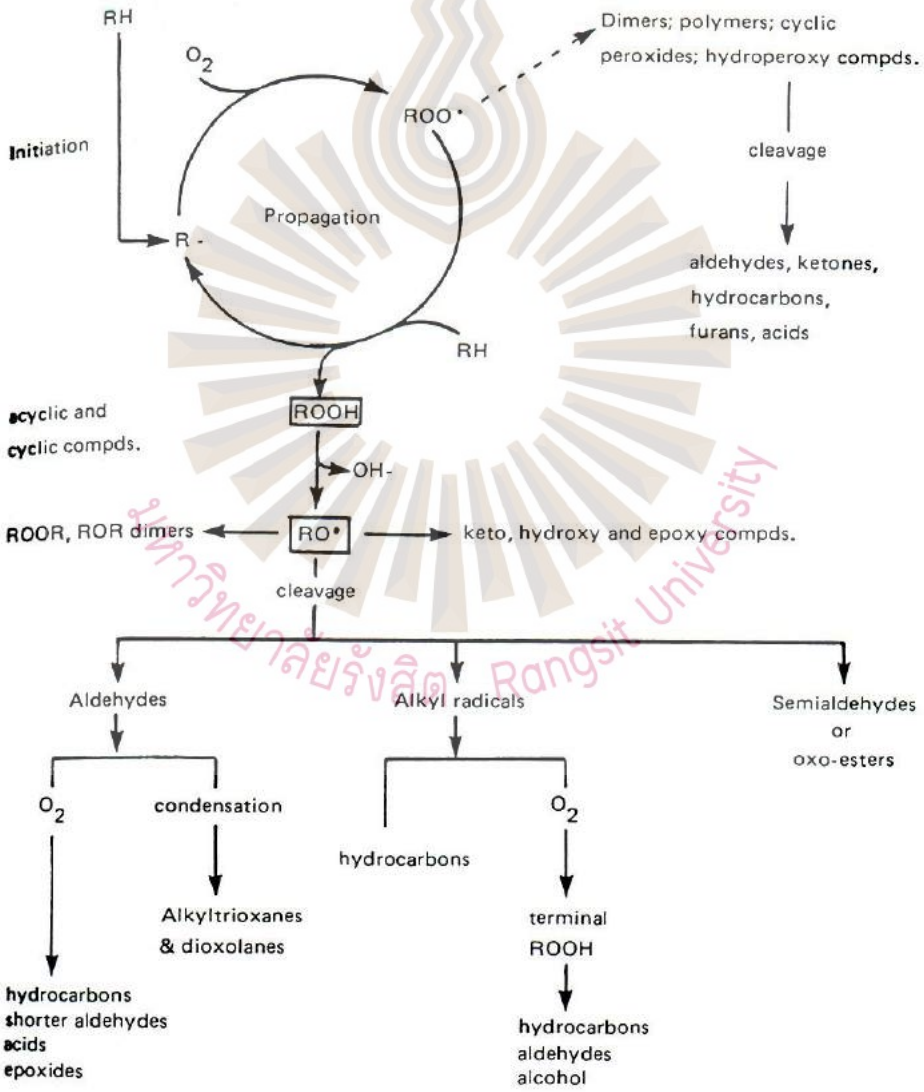
$$R\bullet + R\bullet \longrightarrow RR$$

$$RO\bullet + R\bullet \longrightarrow ROR$$

$$RO\bullet + RO\bullet \longrightarrow ROOR$$

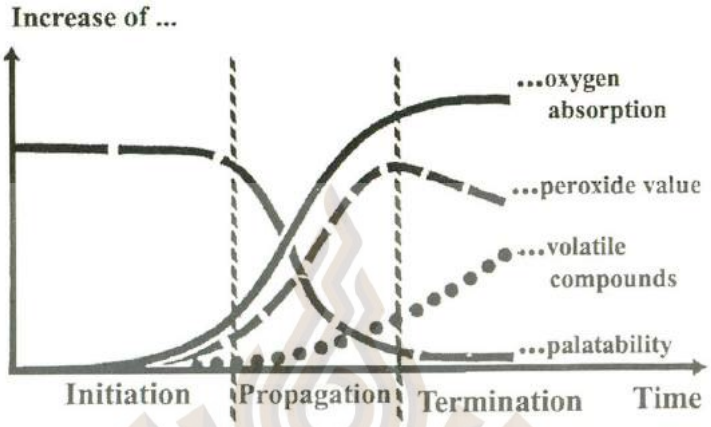
$$ROO\bullet + R\bullet \longrightarrow ROOR$$

$$ROO\bullet + ROO\bullet \longrightarrow \text{Various product}$$




รูปที่ 2.7 ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน 3 ขั้นตอน (Fennema, 1985)

ในระหว่างที่มีการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นนั้น คุณภาพของไขมันหรือน้ำมันจะค่อยๆเสื่อมลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ดังแสดงไว้ในรูป 2.8 ซึ่งจะเห็นได้ว่าในปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่องนั้น คุณภาพของไขมันจะมีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด มีการทำปฏิกิริยากับออกซิเจนและมีเปอร์ออกไซด์เกิดขึ้นมากที่สุด และมีสารประกอบที่ระเหยได้ เช่น แอลดีไฮด์ คีโตน อัลเคนและแอลกอฮอล์ เป็นต้น (Choe and Min, 2006)




รูปที่ 2.8 ขั้นตอนการเสื่อมคุณภาพของไขมัน(ศิวาพร ศิวเวช,2546)

2.3.5 วิธีการชะลอปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน

ปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาแบบผันกลับได้ เราไม่สามารถจะป้องกันไม่ให้เกิดได้ แต่สามารถชะลอให้เกิดช้าลงได้โดยวิธีต่างๆดังนี้

ลดปริมาณความร้อนและแสงลง โดยการเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ในที่เย็นและมืด

1. อย่าให้มีการปนเปื้อนของโลหะหนักต่างๆ เนื่องจากการมีโลหะปนเปื้อนมา แม้ในปริมาณที่ต่ำมาก เพียงแค่ 0.1 – 1 ppm ก็สามารถเร่งให้มีการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เร็วขึ้น
2. ป้องกันมิให้สัมผัสกับออกซิเจน โดยการเก็บในภาชนะที่ปิดสนิท
3. ใช้สาร (วัตถุกันหืน) ทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ เพื่อหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่จะเกิดขึ้นแบบลูกโซ่

## 2.4 ตัวทำละลาย

ตัวทำละลายที่นิยมใช้กันมาก ได้แก่

2.4.1 น้ำ

น้ำจัดเป็นตัวทำละลายที่ดี หาง่ายและราคาถูก แต่การใช้น้ำอย่างเดียวเป็นตัวทำละลายในการสกัดมีข้อเสียหลายประการ คือ สามารถละลายองค์ประกอบที่ไม่ต้องการออกมาได้มาก เช่นเดียวกับสารสำคัญที่ต้องการสกัด นอกจากนี้น้ำระเหยได้ที่อุณหภูมิสูง ถ้าต้องการทำให้สารสกัดใน

น้ำเข้มข้นจะต้องใช้อุณหภูมิสูงในการระเหยไล่น้ำออกไปซึ่งอาจเกิดความเสียหายกับสารสำคัญได้ ดังนั้นจึงไม่ค่อยนิยมใช้น้ำเพียงอย่างเดียวในการสกัดสาร แต่ใช่ร่วมกับตัวทำละลายอื่น ๆ เช่น แอลกอฮอล์หรือกรด

2.4.2 แอลกอฮอล์

แอลกอฮอล์จัดเป็นตัวทำละลายที่ดีมากเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำ แอลกอฮอล์มีข้อดีกว่าดังนี้

- มีความจำเพาะในการละลายมากกว่าน้ำ
- มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
- หากต้องการทำให้สารสกัดเข้มข้นจะระเหยได้ง่าย
- แต่ราคาของแอลกอฮอล์แพงกว่าน้ำ

2.4.3 น้ำผสมแอลกอฮอล์ (Hydroalcoholic mixture)

น้ำผสมแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายผสมที่ใช้ในการสกัดอย่างกว้างขวาง เนื่องจากสามารถละลายสารสำคัญได้ใกล้เคียงกับแอลกอฮอล์ แต่ราคาถูกกว่าและยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้อีกด้วย นอกจากนี้การใช้ตัวทำละลายผสมน้ำกับแอลกอฮอล์ ยังช่วยป้องกันการแยกตัวของสารต่าง ๆ ในสารสกัดเมื่อตั้งทิ้งไว้ ซึ่งมักเกิดขึ้นในกรณีที่ใช้น้ำอย่างเดียว

ในการสกัดตัวทำละลายสามารถจัดเรียงตามลำดับของสภาพของขั้ว (Polarity) จากน้อยไปมากได้ ดังนี้ ไซโคลเฮกเซน (Cyclohexane) คาร์บอนเตตระคลอไรด์ (Carbontetrachloride) เบนซีน (Benzene) อีเทอร์ (Ether) คลอโรฟอร์ม (Chloroform) อะซีโตน (Acetone) เอทธิลอะซิเตต (Ethyl acetate) เอทานอล (Ethanol) เมทานอล (Methanol) น้ำ กรดและเบส (Acids & Bases) ดังตารางที่ 2.3 (Stanbury and Whitaker,1984)

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ตารางที่ 2.3 ค่าคงที่ไดอิเล็กทริกของตัวทำละลายที่ 25°C

| ชนิดของตัวทำละลาย | Dielectric constant |
|---|---|
| เฮกเซน | 1.9(ไม่มีขั้ว) |
| ไซโคลเฮกเซน | 2.02 |
| คาร์บอนเตตระคลอไรด์ | 2.24 |
| เบนซีน | 2.28 |
| ไดเอทิลอีเธอร์ | 4.34 |
| คลอโรฟอร์ม | 4.87 |
| เอทิล อะซิเตต | 6.02 |
| 2-บิวทานอล | 15.28 |
| บิวทานอล | 17.8 |
| โพรพานอล | 20.1 |
| อะซิโตน | 20.7 |
| เอทานอล | 24.3 |
| เมทานอล | 32.6 |
| น้ำ | 78.54 (มีขั้ว) |

ที่มา: Stanbury and Whitaker,1984.

## 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการสกัดสารจากเมล็ดองุ่นนิยมใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ เมทานอล เอทธานอล อะซิโตน และเอทธิลอะซิเตต วิธีที่จะเลือกใช้ในการสกัดสารจากเมล็ดองุ่นจึงต้องเป็นวิธีที่มีต้นทุนต่ำและให้ปริมาณผลผลิตสูง นอกจากนี้ยังมีวิธีอื่นอีก ได้แก่ Supercritical Carbondioxide หรือการใช้ Superheated water (ภายใต้ความดันที่เหนืออุณหภูมิ 100 °C แต่ต่ำกว่าอุณหภูมิวิกฤติที่ 374 °C) (Kallithraka, *et al.,* 1995, Pekic, *et al.,* 1998, Garcia-Marino, *et al.,* 2006, Nawaz, *et al.,* 2006 และ Yilmaz, *et al.,* 2006)

Jayaprakasha, *et al.,* (2001) ศึกษาการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น โดยสารสกัดจากเมล็ดองุ่นสามารถสกัดได้โดยการใช้ตัวทำละลายหลายชนิด เช่น อะซิโตน เอทธิลอะซิเตต เมทธานอล และสารที่ผสมกันระหว่างตัวทำละลายหลาย ๆ ชนิด เช่น เอทธิลอะซิเตตและน้ำในอัตราส่วน 9:1 17:3 และ 4:1 วิเคราะห์หาประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดได้โดยใช้วิธี เบต้าแคโรทีน-ไลโนเลท (β-Carotene – linoleate) และ Linoleic acid peroxidation สารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่ได้ที่ความเข้มข้น100 ppm จะมีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระถึง 65 - 90% ตัวทำละลายผสมระหว่างเอทธิลอะซิเตตกับน้ำที่ความเข้มข้นต่างกัน

สามารถที่จะไปยับยั้งอนุมูลอิสระมากกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่น และให้ค่า Reducing power ที่ความเข้มข้น 500 µg/ml โดยวิธี Potassium ferricyanide reduction ดีกว่าตัวทำละลายอื่น ๆ สารที่สกัดจากเมล็ดองุ่นจะถูกเก็บอยู่ในรูปของอาหารเสริมสุขภาพ

Pekic, *et al.,* (1998) ศึกษาการสกัดโปรแอนโธไซยานิดินส์จากเมล็ดองุ่น โดยใช้เอทธิลอะซิเตตในน้ำที่สกัดออกมาได้ยังไม่สามารถเป็นโปรแอนโธไซยานิดินส์ที่บริสุทธิ์ ถ้าใช้เอทธิลอะซิเตตต่อน้ำ (90:10) สารสกัดที่ได้จะอยู่ในระดับที่น่าพอใจ ซึ่งก่อนหน้านี้สารสกัดที่ได้มีโปรแอนโธไซยานิดินส์ น้อยมาก

Lu and Yeap Foo (1999) นักเคมีและนักประดิษฐ์ชาวฝรั่งเศสศึกษาหาปริมาณของโพลีฟีนอล ของกากองุ่น โดยสามารถแยกโพลีฟีนอลในกากองุ่นได้ 17 ชนิดด้วยกัน โดยใช้เทคนิค NMR Spectroscopy โดยใช้ Gallic acid เป็นสารมาตรฐาน ซึ่งพบสารดังนี้ 3- และ 4 β-glucopyranosides, trans-caftaric acid, cis และ trans-coutaric acid, 2-hydroxy-5-(hydroxyethyl) phenyl-β-glucopyranosides, catechin, epicatechin, procyanidin B1, quercetin 3-glucoside, 3-glucuronide, kaempferol 3-glucoside, kaempferol 3-galactoside, eucryphin, astilbin และ engeletin. สารธรรมชาติที่ได้จากองุ่นในการสกัดเพียง 1 ครั้งได้แก่ Gallic acid 3-β-glucopyranoside, gallic acid β-glucopyranoside และ 2-hydroxy-5-(2-hydroxyethyl) phenyl-β-glucopyranoisd.

Cacace and Mazza (2002) ในการศึกษาการสกัดสารฟีนอลิคจากผลไม้แห้งที่ใช้ประกอบอาหาร (black currants) โดยใช้ $SO_2$ ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ระดับ (28, 300, 700, 1,100 และ 1,372 ppm) ที่อุณหภูมิ (6, 20, 40, 60 และ 74 °C) และอัตราส่วนของตัวทำละลายกับเมล็ดองุ่นที่จะสกัด (6, 20, 40, 60 และ 74 มก./ก) ตามลำดับ จากการทดลองเบื้องต้นได้ผลของ แอนโธไซยานิน และฟีนอลิค เป็นที่น่าพอใจ พบว่าปริมาณสูงสุดของฟีนอลิคทั้งหมด และแอนโธไซยานิน ได้จากการสกัดด้วย $SO_2$ ที่ความเข้มข้น 1,000 - 1,200 ppm และการเพิ่มอุณหภูมิจะเป็นการเพิ่มอัตราการสกัด

Bonilla, *et al.,* (1999) ได้ศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิคจากกากองุ่นแดง โดยการนำกากองุ่นจากการผลิตไวน์มาสกัด โดยผสม เอทธิลอะซิเตต และน้ำในปริมาณที่เหมาะสม นำกากองุ่นที่บดและไม่ได้บดมาสกัดโดยใช้เวลาที่ 5, 10, 20 และ 30 นาที ตามลำดับ กำหนดเวลาน้อยที่สุดและมากที่สุดของการสกัดสารประกอบฟีนอลิค ผลที่ได้คือสารสกัดที่ได้จากกากองุ่นบดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคสูงกว่ากากองุ่นที่ไม่ได้บด แต่มีข้อเสียคือใช้เวลาในการสกัดมากกว่า ซึ่งสารประกอบฟีนอลิคจะใช้ในอาหารเพื่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประเภทไขมัน

Saito Makoto, *et al.,* (1998) ศึกษาสารสกัดจากเมล็ดองุ่น และโปรไซยานิดินส์ซึ่งป้องกันการเกิดแผลเรื้อรัง ซึ่งโปรไซยานิดินส์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และมีประสิทธิภาพดี โดยศึกษาอัตราการใช้ปริมาณสารต้านการเกิดแผลเรื้อรังของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (GSE-I และ GSE-II) และโปรไซ

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ยานิดินส์ ซึ่ง GES-I (มีสารฟลาโวนอยด์ต่ำ) และGSE-II (มีสารฟลาโวนอยด์สูง) และโปรไซยานิดินส์ ที่ประมาณ 200 มก. /กก. ซึ่งจะทำให้สมานแผลที่เป็นหนอง

Garcia-Marino, *et al.,* (2006) ได้ศึกษาการแยก Catechin และโปรแอนโธไซยานิดินส์จากผลผลิตที่ได้จากการผลิตไวน์ โดยการใช้น้ำที่มีความร้อนสูงในการสกัด จุดประสงค์คือเพื่อศึกษาว่าอุณหภูมิมีผลต่อกระบวนการสกัดหรือไม่ โดยทำการทดสอบ 5 ครั้ง กล่าวคือใน 3 ครั้งแรกนำตัวอย่างมาสกัดกับน้ำที่อุณหภูมิ 50, 100 และ 150 °C ตามลำดับ ที่ความดัน 1,500 psi และเก็บน้ำไว้ในรูปของเหลว ครั้งที่ 4 ทำที่ 2 อุณหภูมิติดต่อกันคือ 50 และ 100 °C และครั้งที่ 5 ทำที่ 3 อุณหภูมิติดต่อกันคือ 50, 100 และ 150 °C นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC-DAD-MS แล้วนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับผลที่ได้จากการวิเคราะห์การสกัดด้วยเมทานอลต่อน้ำ (75:25) ที่ความดันปกติ ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าน้ำเป็นตัวสกัดสารฟลาโวนอยด์ออกมาได้ดีเมื่อเทียบกับเมทานอลต่อน้ำ (75:25) ปกติการแยกที่เกิดขึ้นจะเกิดระหว่างการสกัดทั้ง 3 อุณหภูมิติดต่อกันคือ 50, 100 และ 150 °C แต่สารประกอบของโพลิเมอร์ไรด์เซชัน สามารถใช้การสกัดขั้นตอนเดียวได้ การแยกสารฟลาโวนอยด์แสดงให้เห็นว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระสูง และได้จากการใช้อุณหภูมิ 150 °C เพียงอย่างเดียว กรดแกลลิคจะมีลักษณะเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเหมือนกันกับ Catechin และ Epicatechin ที่ได้จากการสกัดที่ 150 °C อย่างเดียว ซึ่งจะได้สารสกัดโพลีฟีนอลประมาณ 70%

Bonilla, *et al.,* (1998) ศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลจากกากองุ่นซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการทำไวน์แดง โดยใช้ ethyl acetate และน้ำ สารประกอบ phenolic สามารถนำไปใช้ในอาหารเพื่อป้องกันการเกิดกลิ่นเหม็นหืนที่เกิดจากไขมัน ( lipid antioxidant ) สามารถวัดประสิทธิภาพการยับยั้งการเหม็นหืนของไขมันได้โดยวิธี Rancimat โดยนำน้ำมันมะกอกบริสุทธิ์ผสมสารกันหืนสังเคราะห์ได้แก่ BHT, BHA, Propyl gallate และสารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่มีสาร phenol เป็นส่วนประกอบจากการทดลองพบว่าประสิทธิภาพในการใช้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นในการยับยั้งการเหม็นหืนในน้ำมันมะกอกใกล้เคียงกับการใช้สารกันหืนสังเคราะห์ (BHT)

Shaker (2006) ศึกษาผลของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดและเปลือกขององุ่นแดงโดยใช้ ethanol ในการสกัด เพื่อใช้ในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในขั้นแรกและขั้นที่ 2 ของน้ำมันดอกทานตะวัน โดยใช้การประเมินผลการเกิดไลปิดออกซิเดชันของไขมันหรือน้ำมัน 3 วิธีคือ หาปริมาณของคอนจูเกตไดอีน (Conjugated diene) สำหรับการเกิดไลปิดออกซิเดชันขั้นตอนแรก โดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟีและวิธี Proton transfer reaction-mass spectrometry (PTR-MS) สำหรับหาผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันขั้นตอนที่สองได้แก่ Propanol, 1-penten-3-one, Hexanaol และ Octanal

จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากเมล็ดองุ่นและเปลือกองุ่นไม่สามารถยับยั้งการเกิดคอนจูเกตไดอีน ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นการเกิดไลปิดออกซิเดชันในขั้นตอนแรกได้ แต่สามารถยับยั้งการเกิดไลปิดออกซิเดชันในขั้นตอนที่สองจากการประเมินโดยใช้ GC และ PTR-MS

Mielnik, *et al.,* (2006) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่ความเข้มข้น 4 ระดับ (0.0,0.4,0.8 และ 1.6 g/kg) ช่วยยับยั้งกลิ่นเหม็นหืน โดยทำการทดสอบกับเนื้อส่วนอกของไก่งวงที่ปรุงสุก แล้วเก็บแช่เย็นในระยะเวลา 13 วัน พบว่าปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันจะค่อยๆปรากฏขึ้นจากการวิเคราะห์โดยวิธี Thiobarbituric acid reactive (TBARS) และจะมีการสร้างสารประกอบที่ระเหยได้คือ Hexanal, Pentanal, Octanal, 2-octanal, 1-octenal-3-ol, 2-octen-1-ol และ 1-penten-3-ol เป็นสารที่แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์กับปริมาณ TBARs และยังเป็นตัวบ่งชี้ว่า สารเหล่านี้เกิดจากปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชันในเนื้อส่วนอกของไก่งวง การใส่สารสกัดจากเมล็ดองุ่น เป็นส่วนผสมในเนื้อไก่งวง

Yilmaz and Toledo (2006) ศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเมล็ดองุ่นที่เป็นผลพลอยได้จากขั้นตอนการผลิตไวน์ จากองุ่นพันธุ์ Vitis vinifera ( Merlot และ Chardonnay ) และ Vitis rotudifolia ( Muscadine ) โดยใช้ตัวทำละลายสี่ชนิดได้แก่ น้ำ เมทานอล อะซิโตน และเอทธานอล วัดประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) และ Total Phenol พบว่า ในการสกัดด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างน้ำกับตัวทำละลายอินทรีย์ (เมทธานอล เอทธานอลและอะซิโตน) จะให้ผลดีกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเดียว

Kim, *et al.,* (2006) ศึกษาผลของความร้อนและคุณสมบัติทางกายภาพในการสกัดสารจากเมล็ดองุ่นมีผลต่อประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยแปรผันอุณหภูมิที่50 , 100 , 150 และ 200 องศาเซลเซียส หลังจากให้ความร้อนแล้ว เติม 70% เอทธานอล ( 0.1 กรัมเมล็ดองุ่น/ 10 มิลลิลิตร ของ 10% เอทานอล ) วัดปริมาณ Total Phenol (TPC), Radical scavenging activity (RSA) และ Reducing power พบว่าในการให้ความร้อนเมล็ดองุ่นจะส่งผลให้ประสิทธิภาพของสารสกัดดีขึ้น ค่า TPC และ RSA ของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น สูงสุดเมื่อให้ความร้อนเมล็ดองุ่นที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 40 นาที

Jayaprakasha, *et al.,* (2001) ศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสกัดเมล็ดองุ่นพันธุ์ Vitis vinifera โดยใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกัน เช่น Acetone , Ethyl acetate และ Methanol และสารละลายผสมเช่น Ethyl acetate (EtOAc) ผสมกับน้ำ ในอัตราส่วน 9:1 , 17:3 และ 4:1 การประเมินประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ß – carotene – linoleate และ Linoleic â peroxidation พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น 100 ppm จะมีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชัน ประมาณ 65 – 90 %

สารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่สกัดได้จากตัวทำละลายของ Ethyl acetate : water ที่ความเข้มข้นต่างๆจะมีกิจกรรมในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่น สารสกัดนี้จะแสดงคุณสมบัติ Reduction power ได้ดีที่ความเข้มข้น 500 µg/ml โดยวิธี Potassium ferricyanide reduction. สารสกัดจากเมล็ดองุ่นมีความสามารถในการเป็นสารที่ช่วยด้านการรักษาสุขภาพ และยังมีความสามารถในการเก็บถนอมอาหารได้เหมือนดังธรรมชาติอีกด้วย

Sanchez-Moreno, *et al.,* (1999) ศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำองุ่นและ ไวน์ โดยการวัดปริมาณการยับยั้งการเกิดไลปิดออกซิเดชัน (ด้วยวิธี ferric-thiocyanate) และ Free radical scavenging (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) โดยใช้ DL-α-tocopherol และ 3-teryiary-butyl-4-hydroxyanisole (BHA) ใช้เป็นสารมาตรฐาน ความสามารถในการยับยั้งการเหม็นหืนที่เกิดจากไลปิดออกซิเดชันของสารมาตรฐานเรียงลำดับดังนี้ rutin = ferulic acid > tannic acid = gallic acid = resveratrol > BHA = quereetin > DL- α-tocopherol > caffeic acid คุณสมบัติในการเป็น Free radical scavenging ของ gallic acid สูงที่สุด ส่วน tannic acid, caffeic acid, quereetin, BHA และ rutin จะมีคุณสมบัติปานกลาง และ ferulic acid, DL- α-tocopherol และ resveratrol ต่ำที่สุด สำหรับไวน์จะมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าน้ำองุ่น และไวน์แดงมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าไวน์ขาว

Caillet, *et al.,* (2004) ศึกษาสารสกัดจากองุ่นในทางการค้า 3 ชนิด (เมล็ด เปลือกและเนื้อ) นำมาใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันโดยใช้วิธีการตรวจวัด 2 วิธีคือ Radical scavenging activities และ Total Phenol พบว่าทั้งสองวิธีสัมพันธ์กัน และสารสกัดจากเมล็ดองุ่นจะให้คุณสมบัติในการจับอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดจากเนื้อองุ่น สารสกัดจากเมล็ดองุ่นให้ค่า Radical scavenging capacity = 138 USP/mg extract ส่วนสารสกัดจากเนื้อองุ่นให้ค่า Radical scavenging capacity = 80.5 USP/mg extract.

Baydar, *et al.,* (2007) ศึกษาการใช้ตัวทำละลายหลายชนิดในการสกัดสารสกัดจากเมล็ดองุ่นจากองุ่นพันธุ์ Narince grape cultivar และทำการทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยหาปริมาณฟีนอลทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และวิธี 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging. วิธี Hydrogen peroxide scavenging และวิธี Phosphomolybdenum. พบว่าเมล็ดองุ่น 100 กรัม (สกัดน้ำมันออกแล้ว) ใช้ตัวทำละลาย Acetone:water:Acetic acid ในอัตราส่วน 90:9.5:0.5 ปริมาตร 200 ml. โดยใช้เครื่อง Soxhlet extractor เป็นเวลา 8 ชั่วโมงจะให้ประสิทธิภาพในการสกัดดีที่สุด และทดสอบประสิทธิภาพโดยเติมลงในน้ำมัน Poppy บริสุทธิเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 วัน ใช้ค่า Peroxide value ประเมินประสิทธิภาพในการใช้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นสามารถยับยั้งการเหม็นหืนของน้ำมันได้

# บทที่ 3 ขั้นตอนการวิจัย

## 3.1 การเตรียมวัตถุดิบ

นำเมล็ดองุ่นพันธ์ Pok Dum มาล้างทำความสะอาด นำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 °C นานประมาณ 12 ชั่วโมง จนเมล็ดองุ่นมีความชื้นคงที่ (ความชื้นร้อยละ 2.54 ± 0.06 โดยน้ำหนักแห้ง) จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องบดให้ละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 850 mesh เก็บส่วนที่ร่อนผ่านตะแกรงในภาชนะที่ปิดสนิท

## 3.2 ศึกษาตัวทำละลายและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิฟีนอลทั้งหมด

3.2.1 ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิฟีนอลทั้งหมดจากเมล็ดองุ่น

ชั่งเมล็ดองุ่นบดละเอียด 10 กรัม เติมตัวทำละลาย โดยใช้ตัวทำละลาย เอทานอลและอะซิโตนผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนต่างๆ (แปรผันอัตราส่วนของน้ำกลั่นต่อตัวทำละลาย 100:0, 80:20, 50:50, 20:80 และ 0:100) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ ขนาด 250 มิลลิลิตร นำมาวางบนเครื่องเขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 24 ชม. ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาเซนตริฟิวจ์ที่อุณหภูมิ 4 °C ที่ความเร็ว 8,000 g เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำสารละลายที่สกัดได้มาทำให้แห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) (อุณหภูมิ -58 °C ความดัน 0.005 psi) เมื่อได้สารสกัดที่แห้งนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโพลิฟีนอลทั้งหมด (Total Polyphenol) (Katsube, *et al.*,2004) และทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay (Katsube, *et al.*, 2004) และ Reducing Power (Jayaprakasha, *et al.*, 2001) เพื่อใช้เป็นดัชนีในการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม

3.2.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด

จากการคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม (การทดลองที่ 2.1) ศึกษาสภาวะในการสกัดได้แก่ อุณหภูมิ (อุณหภูมิห้องและ 50 องศาเซลเซียส) และเวลาที่ใช้ในการสกัด (3 -12 ชั่วโมง)

## 3.3 ศึกษาการใช้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นในการยับยั้งการเหม็นหืนในผลิตภัณฑ์หมูทอดเปรียบเทียบกับสารกันหืนสังเคราะห์

เตรียมผลิตภัณฑ์อาหารทอดผสมสารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.1-1.6 กรัมต่อกิโลกรัม) และสารกันหืนสังเคราะห์ ได้แก่ BHT (Butylated Hydroxytoluene) 0.1 กรัมต่อกิโลกรัม และกรดแกลลิค (Gallic acid) 0.1 กรัมต่อกิโลกรัมบรรจุในถุงพลาสติก (Polypropylene) ที่สภาวะที่อากาศสามารถผ่านเข้าออกได้ เก็บไว้ที่ 10 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน นำตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์หาค่าการเหม็นหืนด้วยวิธี Thiobarbituric acid (TBA) (Miller, 1998 and Allen and Hamilton, 1999.) และ Peroxide value (PV) (A.O.A.C., 1995)

- **การวิเคราะห์ค่า Thiobarbituric acid (TBA)** (Miller, 1998 และ Allen and Hamilton, 1999.)

นำเนื้อหมูทอดบดละเอียดจำนวน 10 กรัม มาเติม 7.5% ของกรดไตรคลอโรอะซิติค (TCA) 30 มล. ทำการ Homogenized ที่ความเร็วรอบ 15000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 30 วินาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส กรองเศษเนื้อหมูทิ้ง นำส่วนของสารละลาย 5.0 มล. ที่ได้จากการกรองผสมกับ 5.0 มล. ของ 0.02 โมลต่อลิตร (mol/l) ของสารละลายกรดไธโอบาบิทูริค (TBA) ใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาปิด บ่มที่ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 นาที ใน Water bath ทำให้เย็นใน ice bath 10 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร (Blank 5 ml (น้ำกลั่น) + 5 ml TBA)

**การคำนวณ** : TBA mg malonaldehyde/kg meat = 7.8 x ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

- **การวิเคราะห์ค่าเพอร์ออกไซด์ (PV)** (A.O.A.C., 1995)

ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน( 5 กรัม) ใส่ในขวดขนาด 250 มล. เติมสารละลายผสมแอซีติกกับคลอโรฟอร์ม 25 มล. เขย่าให้ตัวอย่างละลายเติมสารละลายอิ่มตัวโพแทสซียมไอโอไดด์ 1 มล.ปิดจุกพร้อมเขย่านาน 1 นาที ทิ้งไว้ในที่มืด 5 นาที เติมน้ำกลั่น 5 มล. ไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตพร้อมเขย่าแรง ๆจนได้สารละลายสีเหลืองอ่อนเติมน้ำแป้ง 0.5 มล.ไตเตรทต่อจนสีน้ำเงินหมด

**คำนวณค่าเพอร์ออกไซด์จากสูตร**

ค่าเพอร์ออกไซด์ $= \frac{(a-b)\times N\times 1000}{w}$

a = ปริมาตร(มล.)ของสารโซเดียมไทโอซัลเฟต ที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

b = ปริมาตร(มล.)ของสารโซเดียมไทโอซัลเฟต ที่ใช้ไตเตรทแบลงก์

N = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต (นอร์มอล)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

**3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ**

งานวิจัยนี้วางแผนการทดลองแบบ CRD ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ชนิด และ ความเข้มข้นของตัวทำละลาย 2 ชนิดได้แก่ สารละลายเอทานอล และ อะซีโตนที่ความเข้มข้น 5 ระดับคือ 0%, 20%, 50%, 80% และ 100% อุณหภูมิในการสกัด 2 ระดับ คือ อุณหภูมิห้อง และ 50°C และ เวลาในการสกัด ระหว่าง 3 – 12 ชั่วโมง วางแผนการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Anova) และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

# บทที่ 4
# ผลการทดลองและวิเคราะห์

## ตอนที่ 4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิฟีนอลทั้งหมดจากเมล็ดองุ่น

### 4.1.1. ศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิฟีนอลทั้งหมด

การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิฟีนอลทั้งหมดจากเมล็ดองุ่น โดยใช้อัตราส่วนเมล็ดองุ่น 10 กรัมต่อตัวทำละลายชนิดต่างๆ 100 มิลลิลิตร. จากตารางที่ 4.1 พบว่าการใช้ตัวทำละลายชนิดเดียว เช่น น้ำ อะซิโตน และเอทานอลจะให้ร้อยละผลได้ (Extracted yield; % กรัม/100 กรัมเมล็ดองุ่นแห้ง) เท่ากับ 7.51% 4.65% และ 10.55% ตามลำดับ ซึ่งได้ร้อยละผลได้ต่ำกว่าการใช้สารละลายผสมระหว่างน้ำกับเอทานอลหรือน้ำกับอะซิโตน ซึ่งได้ร้อยละผลได้อยู่ระหว่าง 10 -16%

ถึงแม้ว่าน้ำเป็นตัวทำละลายโพลาร์ที่มีค่า dielectric constant เท่ากับ 80 (ซึ่งสารโพลิฟีนอลเป็นสารประกอบโพลาร์ที่มีหมู่ OH จำนวนมาก) (Shi, *et al.*,2003) แต่ไม่เหมาะที่ใช้ในการสกัดสาร เพราะน้ำจะละลายโปรตีนและโพลิแซคคาไรด์ รวมทั้งสารชนิดอื่นที่เป็นสารโพลาร์ปะปนออกมาด้วยทำให้สารที่ได้มีสิ่งเจือปนมาก (Shi, *et al.*,2003 และ Xu, *et al.*,2006) และปริมาณสารโพลิฟีนอลทั้งหมดที่สกัดได้มีปริมาณต่ำ และเมื่อนำสารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยน้ำมาทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ Reducing power พบว่าให้ค่า DPPH สูงและ Reducing power ต่ำ แสดงว่าสารสกัดที่ได้มีคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระต่ำ เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่นดังตารางที่ 4.1

**ตารางที่ 4.1** ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัดสารโพลิฟีนอลจากเมล็ดองุ่น

| ชนิดตัวทำละลาย (%v/v) | น้ำหนัก (g) | DPPH ($EC_{50}$) | Reducing power ($OD_{700}$) | Total phenol (g/g grape seed extracts) | Yield (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| น้ำ,100 | $0.7505^{e}$ ±0.0069* | $520.00^{h}$ ± 2.33 | $0.6737^{g}$ ± 0.0020 | $0.1054^{h}$ ± 0.0030 | $7.51^{e}$ ± 0.07 |
| น้ำ : เอทานอล, 80:20 | $1.0949^{cd}$ ±0.0337 | $353.33^{e}$ ± 1.81 | $1.0813^{c}$ ± 0.0251 | $0.2126^{d}$ ± 0.0039 | $10.95^{cd}$ ± 0.33 |
| น้ำ : เอทานอล, 50:50 | $1.1248^{c}$ ±0.0208 | $255.33^{c}$ ± 5.02 | $1.1917^{a}$ ± 0.0155 | $0.2200^{c}$ ± 0.0038 | $11.25^{c}$ ± 0.21 |
| น้ำ : เอทานอล, 20:80 | $1.1177^{cd}$ ±0.0189 | $251.33^{c}$ ± 3.07 | $1.1650^{b}$ ± 0.0169 | $0.2186^{c}$ ± 0.0040 | $11.18^{c}$ ± 0.19 |
| เอทานอล,100 | $1.0547^{cd}$ ±0.0010 | $303.33^{d}$ ± 5.35 | $0.8000^{e}$ ±0.0074 | $0.1566^{f}$ ± 0.0032 | $10.55^{cd}$ ± 0.01 |
| น้ำ : อะซิโตน, 80:20 | $1.0277^{d}$ ±0.0159 | $394.33^{g}$ ± 2.64 | $1.0643^{c}$ ± 0.0089 | $0.2060^{e}$ ± 0.0018 | $10.28^{d}$ ± 0.16 |
| น้ำ :อะซิโตน, 50:50 | $1.5368^{b}$ ±0.0751 | $242.67^{b}$ ± 3.28 | $1.1697^{b}$ ± 0.0180 | $0.2280^{b}$ ± 0.0012 | $15.37^{b}$ ± 0.75 |
| น้ำ : อะซิโตน, 20:80 | $1.6506^{a}$ ±0.0553 | $210.67^{a}$ ± 1.42 | $1.2043^{a}$ ± 0.0193 | $0.2380^{a}$ ± 0.0007 | $16.51^{a}$ ± 0.55 |
| อะซิโตน, 100 | $0.4645^{f}$ ±0.0728 | $374.67^{f}$ ± 4.79 | $0.7057^{f}$ ± 0.0152 | $0.1526^{g}$ ± 0.0043 | $4.65^{f}$ ± 0.73 |

* ค่าเฉลี่ย ± SD; ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

สำหรับการสกัดด้วยสารละลายเอทานอลและอะซิโตน 100%(ตารางที่ 4.1) พบว่าสกัดสารโพลิฟีนอลทั้งหมดจากเมล็ดองุ่นได้ต่ำกว่าเมื่อเติมน้ำลงในสารละลายทั้ง 2 ชนิด ทั้งนี้เนื่องจากค่าความมีขั้วของสารละลายทั้งสองต่ำกว่าสารโพลิฟีนอล (ค่า dielectric constant ของเอทานอลและอะซิโตนเท่ากับ 24 และ 22 ตามลำดับ (Krijgsman, 1992.)) ทำให้ได้ละลายสารโพลิฟีนอลทั้งหมดจากเมล็ดองุ่นในปริมาณที่ต่ำ แต่เมื่อเติมน้ำลงไปในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดทั้ง 2 ชนิด พบว่า ปริมาณสารโพลิฟีนอลทั้งหมดเพิ่มขึ้นแสดงว่าการสกัดดีขึ้นด้วย การเติมน้ำลงไปในเอทานอลและอะซิโตนเป็นการเพิ่มค่าโพลาร์ของสารละลายที่ใช้สกัดทั้งสองชนิด ทำให้การสกัดสารโพลิฟีนอลทั้งหมดได้เพิ่มขึ้น และจากการทดลองพบว่าสารละลายผสมระหว่างน้ำกับอะซิโตนที่อัตราส่วน 50:50 (v/v) และ 20:80 (v/v) ให้ร้อยละผลได้ประมาณ 15-16% ซึ่งสูงที่สุด และให้ปริมาณสารโพลิฟีนอลทั้งหมดทั้งหมดสูงเช่นกัน การทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระพบว่าให้ค่า Reducing power สูง ส่วนค่า DPPH ต่ำ ซึ่งแสดงว่าสารละลายผสมดังกล่าวให้ประสิทธิภาพดีที่สุดในการสกัดสารโพลิฟีนอลทั้งหมดซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Pekic, *et al.,* (1998.) ที่พบว่าสารละลายผสมระหว่างอะซิโตนกับน้ำเป็นตัวทำละลายที่ดีที่ใช้ในการสกัดสารโพลิฟีนอลทั้งหมด

ส่วนการสกัดด้วยสารละลายผสมระหว่างน้ำกับเอทานอล ในอัตราส่วน 50:50 (v/v) และ 20:80(v/v) จะให้ร้อยละผลได้ประมาณ 11% ซึ่งต่ำกว่าการสกัดด้วยสารละลายผสมระหว่างน้ำกับอะซิโตนเพียงเล็กน้อย และเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระพบว่าให้ค่า Reducing power สูง และ DPPH ต่ำ แสดงว่าสารละลายผสมดังกล่าวมีประสิทธิภาพดีในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ แต่ร้อยละผลได้ที่ได้ต่ำกว่าสารละลายผสมระหว่างน้ำกับอะซิโตน

ในขณะที่สารละลายผสมน้ำกับอะซิโตน และน้ำกับเอทานอล ที่อัตราส่วน 80: 20 (v/v) ได้ร้อยละผลได้ระหว่าง 10-11% เนื่องจากเมื่อปริมาณน้ำเพิ่มมากขึ้นจะทำให้สารละลายผสมมีความเป็นโพลาร์มากขึ้นและจะสกัดสารชนิดอื่นๆ เพิ่มขึ้นด้วยทำให้ปริมาณสารโพลิฟีนอลทั้งหมดทั้งหมดต่อร้อยละผลได้เมล็ดองุ่นน้อยลง

ดังนั้นในการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดระหว่างสารละลายผสมน้ำกับอะซิโตนและน้ำกับเอทานอล จึงเลือกที่ความเข้มข้น 50:50 (v/v) และ 20:80 (v/v) ตามลำดับ จากการทดลองนี้สรุปได้ว่า สารละลายผสมน้ำกับเอทานอล มีคุณสมบัติเหมาะสมในการสกัดสารโพลิฟีนอลทั้งหมดและไม่แนะนำให้เลือกอะซิโตนเพราะว่า อะซิโตนเป็นตัวทำละลายที่มีพิษถ้าเหลือตกค้างในผลิตภัณฑ์จะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม (Shi, *et al.,* 2003)

สารละลายผสมระหว่างน้ำกับเอทานอล ที่อัตราส่วน 50:50 (v/v) และ 20:80 (v/v) ให้ร้อยละผลได้ 11% ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P \geq 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิฟีนอลทั้งหมดที่อัตราส่วน 50:50(v/v) เพราะที่ความเข้มข้นของเอทานอลยิ่งสูงจะทำให้ต้นทุนการสกัดเพิ่มมากขึ้น

### 4.1.2 ศึกษาปริมาณเมล็ดองุ่น เวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัด

ศึกษาปริมาณเมล็ดองุ่นที่ใช้ในการสกัด 5, 7.5 และ 10 กรัมต่อตัวทำละลายผสมน้ำกับเอทานอล อัตราส่วน 50:50(v/v) เวลาที่ใช้ในการสกัดที่ 3, 6, 9 และ 12 ชม. สกัดที่อุณหภูมิห้องและที่50 °C ในการทดลองนี้เลือกใช้ตัวทำละลายระหว่างน้ำต่อเอทานอลที่อัตราส่วน 50:50 (v/v) ในการสกัดสำหรับอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดไม่เกิน 50 °C เนื่องจากอุณหภูมิสูงมากกว่านี้เอทานอลจะระเหยและจุดเดือดของเอทานอลเท่ากับ 78.5 °C ถ้าเอทานอลระเหยจะทำให้อัตราส่วนระหว่างน้ำกับเอทานอลเปลี่ยน แปลง ส่วนอัตราส่วนระหว่างเมล็ดองุ่นบดกับตัวทำละลายมีผลต่อร้อยละผลได้ (%Extracted yield) และต้นทุนการสกัด ในการดำเนินการระดับอุตสาหกรรมเวลาที่ใช้ในการสกัดนานจะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการใช้เครื่องมือในการสกัด และการสกัดที่นานเกินไปจะส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและการสลายตัวของสารโพลิฟีนอล นอกจากนั้นสารประกอบที่ไม่ต้องการ เช่น โปรตีนและโพลิแซคคาไรด์จะถูกสกัดเข้ามาในตัวทำละลายด้วยเป็นสาเหตุให้เกิดปัญหาต่อความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์ (Shi, *et al.*, 2003)

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.2 สกัดเมล็ดองุ่นที่อุณหภูมิห้อง(ประมาณ 30-35องศาเซลเซียส) พบว่าเมื่อใช้เมล็ดองุ่นบด 10 กรัมต่อตัวทำละลาย 100 มล. เวลาที่ใช้ในการสกัด 3, 6 และ 9 ชั่วโมง ให้ร้อยละผลได้ 11% ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P \geq 0.05$) และเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยพิจารณาจากค่า $EC_{50}$ และ Reducing power พบว่าค่า $EC_{50}$ อยู่ระหว่าง 259-261 และค่า Reducing power อยู่ระหว่าง 2.13-2.22 และที่เวลาสกัด 12 ชั่วโมง ให้ร้อยละผลได้ 10% และค่า $EC_{50}$ 275 และค่า Reducing power 2.08 ซึ่งมีประสิทธิภาพต่ำกว่า ทั้งนี้เนื่องจากการสกัดที่ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลาที่มากเกินไป ทำให้เกิดการออกซิเดชันและการสลายของสารโพลิฟีนอลจึงทำให้ปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด และการทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระต่ำ

สำหรับปริมาณร้อยละผลได้พบว่าที่ปริมาณเมล็ดองุ่น 10 กรัม ที่เวลาสกัด 3 ชั่วโมงให้ปริมาณร้อยละผลได้ 11% แต่ปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดต่อปริมาณสารสกัดจากเมล็ดองุ่น 0.23 แสดงว่าสารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่ได้มีสิ่งเจือปนอยู่ปริมาณน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเมล็ดองุ่น 5 และ 7.5 กรัม มีปริมาณร้อยละผลได้ 10-13% แต่ปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดต่อปริมาณสารสกัดจากเมล็ดองุ่น 0.19 ซึ่งต่ำกว่า ทั้งนี้เนื่องจากการละลายของสารประกอบโพลิฟีนอลในตัวทำละลายน้ำต่อเอทานอลได้ในปริมาณจำกัด เมื่อสัดส่วนระหว่างสารสกัดกับตัวทำละลายน้อยไปทำให้การถ่ายเทของสารโพลิฟีนอลมายังตัวทำละลายได้น้อย ดังนั้นจะเห็นได้ว่าที่ปริมาณเมล็ดองุ่น 10 กรัมจะมีปริมาณผลได้ต่ำกว่าที่ปริมาณเมล็ดองุ่น 5 และ 7.5 กรัม ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณเมล็ดองุ่นน้อย และตัวทำละลายมากนอกจากสารโพลิฟีนอลถ่ายเทมายังตัวทำละลายแล้ว ยังละลายสารเจือปนอื่นเข้ามาได้ด้วย ทำให้ร้อยละผลได้สูง ดังนั้นในการทดลองนี้จะเลือกสภาวะการสกัดที่ใช้เมล็ดองุ่น 10 กรัม เวลาในการสกัด 3 ชั่วโมง เป็นการประหยัดเวลาและพลังงาน

จากการทดลองในตารางที่ 4.3 สกัดเมล็ดองุ่นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อใช้เมล็ดองุ่นบด 7.5 กรัม เวลาที่ใช้ในการสกัด 6 ชั่วโมง เป็นสภาวะในการสกัดที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด เนื่องจากให้ปริมาณสารโพลิฟีนอลทั้งหมด 0.3286 สูงสุด และมีประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระค่า $EC_{50}$ 214 ซึ่งต่ำสุดและค่า Reducing power 2.38 สูงสุด และมีปริมาณร้อยละของผลได้ 14.86% สูงสุด

เมื่อนำสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสมาเปรียบเทียบปริมาณร้อยละผลได้ ปริมาณสารโพลิฟีนอลทั้งหมดและประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ค่า $EC_{50}$ และค่า Reducing power ดังตารางที่ 4.4 พบว่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ปริมาณเมล็ดองุ่น 7.5 กรัม เวลาในการสกัด 6 ชั่วโมงจะมีประสิทธิภาพในการสกัดสารโพลิฟีนอลทั้งหมดดีกว่า โดยพิจารณาจากปริมาณสารโพลิฟีนอลทั้งหมด ปริมาณร้อยละผลได้ และประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ค่า $EC_{50}$ และค่า Reducing power ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะช่วยให้เนื้อเยื่อของเมล็ดองุ่นอ่อนตัวลง และทำลายพันธะระหว่างสารฟีนอลกับโปรตีนและสารฟีนอลกับโพลิแซคคาไรด์ ดังนั้นสารโพลิฟีนอลทั้งหมดจึงสามารถเคลื่อนที่เข้าสู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น (Shi, *et al.,* 2003)

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

**ตารางที่ 4.2** ปริมาณเมล็ดองุ่น และ เวลาที่ใช้ในการสกัด ที่อุณหภูมิห้องต่อค่า $EC_{50}$, Reducing power, Total phenol และ ร้อยละผลได้ (%Yield)

| สภาวะการสกัด** | น้ำหนัก (g.) | $EC_{50}$ (µg/ml) | Reducing power ($OD_{700}$) | Total phenol (g/g grape seed extracts) | Yield (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 5 กรัม เมล็ดองุ่น, 3 ชั่วโมง | $0.6537^{e}$±0.0672* | $290.67^{g}$±3.30 | $1.8776^{d}$±0.0446 | $0.1980^{e}$±0.0012 | $13.07^{ab}$±1.34 |
| 7.5 กรัม เมล็ดองุ่น, 3 ชั่วโมง | $0.8144^{d}$±0.0100 | $270.47^{b}$±2.95 | $2.0193^{cd}$±0.0252 | $0.2226^{d}$±0.0011 | $10.86^{cd}$±0.13 |
| 10 กรัม เมล็ดองุ่น, 3 ชั่วโมง | $1.1784^{a}$±0.0157 | $261.33^{a}$±4.86 | $2.1306^{bc}$±0.0303 | $0.2360^{cd}$±0.0010 | $11.78^{bcd}$±0.16 |
| 5 กรัม เมล็ดองุ่น, 6 ชั่วโมง | $0.6860^{e}$±0.0120 | $276.67^{c}$±2.29 | $1.9023^{d}$±0.0216 | $0.2013^{e}$±0.0024 | $13.72^{a}$±0.24 |
| 7.5 กรัม เมล็ดองุ่น, 6 ชั่วโมง | $0.9653^{bc}$±0.0233 | $282.00^{de}$±2.31 | $2.0360^{cd}$±0.0674 | $0.2246^{d}$±0.0084 | $12.87^{ab}$±0.31 |
| 10 กรัม เมล็ดองุ่น, 6 ชั่วโมง | $1.1725^{a}$±0.0071 | $260.00^{a}$±3.86 | $2.2283^{a}$±0.0325 | $0.2633^{a}$±0.0014 | $11.73^{bcd}$±0.07 |
| 5 กรัม เมล็ดองุ่น, 9 ชั่วโมง | $0.6773^{e}$±0.0178 | $287.33^{fg}$ ± 4.20 | $2.0297^{cd}$±0.0234 | $0.2013^{e}$±0.0007 | $13.55^{a}$±0.36 |
| 7.5 กรัม เมล็ดองุ่น, 9 ชั่วโมง | $0.9207^{c}$±0.1134 | $278.00^{c}$±2.75 | $2.0043^{e}$±0.0315 | $0.2487^{ab}$±0.0046 | $12.28^{abc}$±1.51 |
| 10 กรัม เมล็ดองุ่น, 9 ชั่วโมง | $1.1891^{a}$±0.0157 | $259.33^{a}$±4.56 | $2.2248^{a}$±0.0040 | $0.2621^{a}$±0.0133 | $11.89^{bcd}$±0.16 |
| 5 กรัม เมล็ดองุ่น,12 ชั่วโมง | $0.6618^{e}$±0.0046 | $285.33^{ef}$±3.87 | $2.0127^{cd}$±0.0415 | $0.2040^{e}$±0.0027 | $13.24^{ab}$±0.09 |
| 7.5 กรัม เมล็ดองุ่น,12 ชั่วโมง | $0.8242^{d}$±0.0148 | $278.67^{cd}$±1.95 | $2.1983^{ab}$±0.0136 | $0.2460^{ab}$±0.0043 | $10.99^{cd}$±0.20 |
| 10 กรัม เมล็ดองุ่น,12 ชั่วโมง | $1.0386^{b}$±0.0100 | $275.33^{c}$±0.61 | $2.0893^{c}$ ± 0.0275 | $0.2580^{ab}$±0.0047 | $10.39^{d}$±0.10 |

* ค่าเฉลี่ย ± SD; ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

** น้ำ : เอทานอล, 50:50 (v/v)

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ตารางที่ 4.3 ปริมาณเมล็ดองุ่น และ เวลาที่ใช้ในการสกัด ที่อุณหภูมิ 50°C ต่อค่า $EC_{50}$, Reducing power, Total phenol และ ร้อยละผลได้ (%Yield)

| สภาวะการสกัด** | Weight (g.) | $EC_{50}$ (µg/ml) | Reducing ($OD_{700}$) | Total phenol (g/g grape seed extracts) | Yield (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 5 กรัม เมล็ดองุ่น, 3 ชั่วโมง | $0.7219^{e}$±0.0017* | $286.67^{g}$ ±3.07 | $1.6057^{e}$±0.0381 | $0.2607^{i}$±0.0016 | $14.44^{ab}$±0.03 |
| 7.5 กรัม เมล็ดองุ่น, 3 ชั่วโมง | $1.0014^{d}$±0.0173 | $271.33^{e}$±1.76 | $1.8877^{cd}$±0.0174 | $0.2660^{g}$±0.0003 | $13.35^{de}$±0.23 |
| 10 กรัม เมล็ดองุ่น, 3 ชั่วโมง | $1.2981^{a}$±0.0299 | $260.67^{cd}$ ±4.21 | $2.0307^{b}$±0.0043 | $0.2680^{f}$±0.0006 | $12.98^{ef}$±0.30 |
| 5 กรัม เมล็ดองุ่น, 6 ชั่วโมง | $0.7202^{e}$±0.0066 | $274.67^{e}$±4.44 | $1.8450^{d}$±0.1621 | $0.2633^{h}$±0.0001 | $14.40^{abc}$±0.13 |
| 7.5 กรัม เมล็ดองุ่น, 6 ชั่วโมง | $1.1146^{c}$±0.0010 | $214.60^{a}$±1.64 | $2.3847^{a}$±0.0229 | $0.3286^{a}$±0.0004 | $14.86^{a}$±0.03 |
| 10 กรัม เมล็ดองุ่น, 6 ชั่วโมง | $1.2672^{ab}$±0.0249 | $252.67^{b}$±1.56 | $2.3027^{a}$±0.0572 | $0.2993^{b}$±0.0004 | $12.67^{fg}$±0.25 |
| 5 กรัม เมล็ดองุ่น, 9 ชั่วโมง | $0.7080^{e}$±0.0085 | $285.33^{fg}$±4.84 | $1.7780^{d}$±0.0144 | $0.2673^{fg}$±0.0007 | $14.16^{bc}$±0.17 |
| 7.5 กรัม เมล็ดองุ่น, 9 ชั่วโมง | $1.0903^{e}$±0.0594 | $274.00^{e}$±3.01 | $1.8437^{d}$±0.0230 | $0.2626^{h}$±0.0010 | $14.54^{ab}$±0.79 |
| 10 กรัม เมล็ดองุ่น, 9 ชั่วโมง | $1.2983^{a}$±0.0288 | $258.67^{c}$±3.01 | $2.3573^{a}$±0.0218 | $0.2813^{c}$±0.0013 | $12.98^{ef}$±0.29 |
| 5 กรัม เมล็ดองุ่น,12 ชั่วโมง | $0.7407^{e}$±0.0031 | $282.00^{f}$±4.34 | $2.0178^{b}$±0.0317 | $0.2586^{i}$±0.0002 | $14.81^{ab}$±0.06 |
| 7.5 กรัม เมล็ดองุ่น,12 ชั่วโมง | $1.0315^{d}$±0.0058 | $274.67^{e}$ ±4.82 | $1.9917^{bc}$±0.0304 | $0.2726^{e}$±0.0007 | $13.75^{cd}$±0.08 |
| 10 กรัม เมล็ดองุ่น,12 ชั่วโมง | $1.2203^{b}$± 0.0057 | $263.00^{d}$±1.51 | $2.1220^{b}$±0.0395 | $0.2754^{d}$±0.0007 | $12.20^{g}$±0.05 |

* ค่าเฉลี่ย ± SD; ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$)

** น้ำ : เอทานอล, 50:50 (v/v)

**ตารางที่ 4.4** ปริมาณเมล็ดองุ่น เวลา และอุณหภูมิ ที่ใช้ในการสกัดสาร โพลิฟีนอลจากเมล็ดองุ่น

| สภาวะการสกัด** | น้ำหนัก (g.) | $EC_{50}$ (µg/ml) | Reducing power ($OD_{700}$) | Total phenol (g/g grape seed extracts) | Yield (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 10 กรัม เมล็ดองุ่น , 3 ชั่วโมง, อุณหภูมิห้อง | $1.1784^{a}$±0.0157* | $261.33^{b}$±4.86 | $2.1306^{b}$± 0.0303 | $0.2360^{b}$±0.0010 | $11.78^{b}$±0.16 |
| 7.5 กรัม เมล็ดองุ่น , 6 ชั่วโมง , 50 °C | $1.1146^{b}$±0.0010 | $214.60^{a}$±1.64 | $2.3847^{a}$± 0.0229 | $0.3286^{a}$±0.0004 | $14.86^{a}$±0.03 |

* ค่าเฉลี่ย ± SD; ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$)

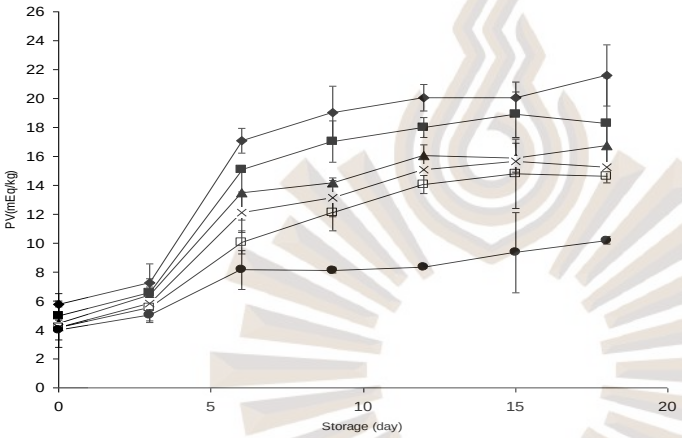
** น้ำ : เอทานอล, 50:50 (v/v)

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

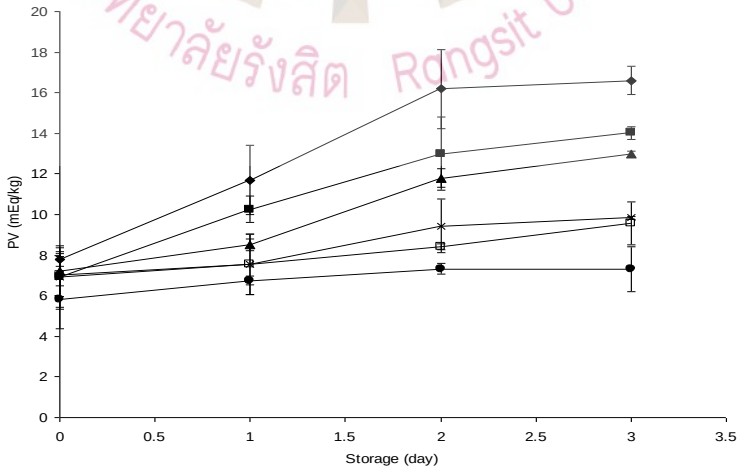
**ตอนที่ 4.2 ศึกษาการใช้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นในการยับยั้งการเหม็นหืนในผลิตภัณฑ์หมูทอดเปรียบเทียบกับสารกันหืนสังเคราะห์ โดยเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส**

4.2.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า Peroxide value (PV) ที่อุณหภูมิต่างๆ

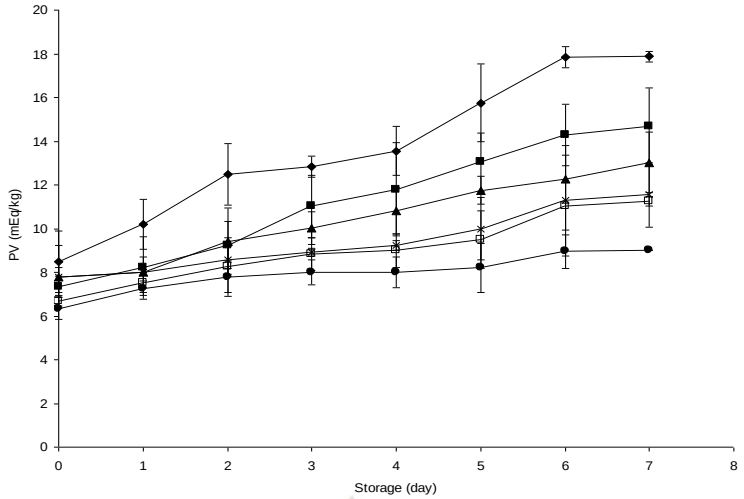
ผลจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า PV ของผลิตภัณฑ์หมูทอดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ได้ผลดังรูปที่ 4.2.1 , 4.2.2 และ 4.2.3




**รูปที่ 4.2.1** ค่า PV ในเนื้อหมูทอดที่มีสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (0 g/kg ◆; 0.4 g/kg ■; 0.8g/kg ◤; 1.6g/kg ×) และสารกันหืนสังเคราะห์ (BHT 0.1 g/kg □; Gallic acid 0.1 g/kg ●)ที่อุณหภูมิ 10 $^{o}$C




**รูปที่ 4.2.2** ค่า PV ในเนื้อหมูทอดที่มีสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (0 g/kg ◆; 0.4 g/kg ■; 0.8g/kg ◤; 1.6g/kg ×) และสารกันหืนสังเคราะห์ (BHT 0.1 g/kg □; Gallic acid 0.1 g/kg ●) ที่อุณหภูมิห้อง




**รูปที่ 4.2.3** ค่า PV ในเนื้อหมูทอดที่มีสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (0 g/kg ◆; 0.4 g/kg ■; 0.8g/kg ↖; 1.6g/kg ×) และสารกันหืนสังเคราะห์ (BHT 0.1 g/kg □; Gallic acid 0.1 g/kg ●) ที่อุณหภูมิ 60 $^{o}$C

จากการทดลองเก็บผลิตภัณฑ์หมูทอดที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เก็บเป็นระยะเวลา 18 วัน และที่อุณหภูมิห้อง เก็บได้ระยะเวลาเพียง 3 วัน โดยในวันที่ 4 หมูทอดจะขึ้นรา ส่วนหมูทอดที่เก็บที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เก็บได้ระยะเวลา 7 วัน หมูทอดจะมีลักษณะดำและมีกลิ่นเหม็นหืน เมื่อนำผลิตภัณฑ์หมูทอดที่เก็บที่สภาวะดังกล่าวมาทำการวิเคราะห์หาค่าการเหม็นหืนด้วยวิธีหาค่า PV ซึ่งค่า PV เป็นค่าดัชนีชี้วัดที่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาการเหม็นหืนขั้นต้นที่เกิดจากออกซิเจน (Oxidative rancidity) โดยจะวัดทั้งเปอร์ออกไซด์ (Peroxides) และ ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (Hydorperoxides) ที่เกิดจากไขมันและน้ำมัน ก่อนที่จะเปลี่ยนเป็นโมเลกุลขนาดเล็กของสารประกอบคาร์โบนิล (Carbonyl compounds) (Allen and Hamilton, 1999.)

พบว่าในการเก็บหมูทอดทั้ง 3 อุณหภูมิ ค่า PV จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา โดยที่หมูทอดที่ไม่ได้เติมสารกันหืน (สารสกัดจากเมล็ดองุ่นและสารกันหืนสังเคราะห์) มีอัตราการเกิดกลิ่นหืนมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับหมูทอดที่เติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่ระดับความเข้มข้นต่างๆและสารกันหืนสังเคราะห์

สำหรับหมูทอดที่เติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่นระดับความเข้มข้น 0.4, 0.8 และ 1.6 กรัมต่อกิโลกรัมของเนื้อหมู พบว่าสามารถชะลอการเหม็นหืนของผลิตภัณฑ์หมูทอดได้ และที่ความเข้มข้น 1.6 กรัมต่อกิโลกรัมของเนื้อหมู มีประสิทธิภาพในการยับยั้งกลิ่นหืนได้ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P \geq 0.05$) กับสารกันหืน BHT

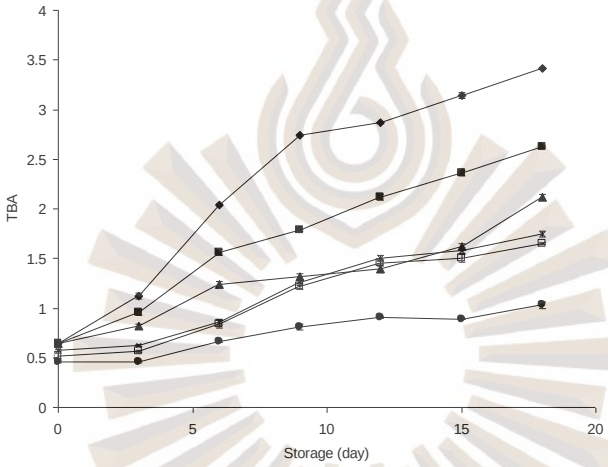
ส่วนหมูทอดที่เติมสารกันหืนกรดแกลลิค (Gallic acid) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งกลิ่นเหม็นหืนได้ดีที่สุด ในการเก็บเนื้อหมูทอดทั้ง 3 อุณหภูมิ

นอกจากนั้นการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องพบว่าเก็บได้เพียง 4 วันจะพบเชื้อราเกิดขึ้น และจากการวิเคราะห์หาค่า PV จะเห็นได้ว่ามีค่าสูงถึง 16 mEq/kg ในวันที่ 3 ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์เนื้อ (meat) นอกจากจะเกิดการเหม็นหืนจากออกซิเจนแล้วยังเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการเหม็นหืนเนื่องจากน้ำ

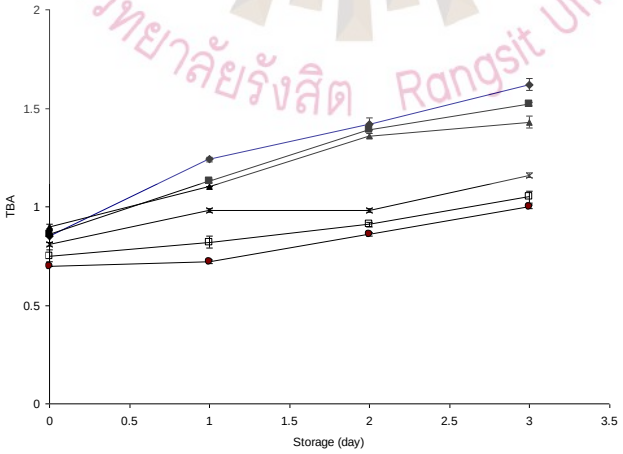
(Hydrolytic rancidity) ได้อีกด้วยซึ่งปฏิกิริยานี้จะถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อราที่เกิดขึ้นบริเวณผิวของผลิตภัณฑ์หมู (Allen and Hamilton, 1999.) ดังนั้นจึงทำให้ค่า PV ที่วัดได้เมื่อเก็บเนื้อหมูทอดที่อุณหภูมิห้องจึงมีค่าสูงมากกว่าที่เก็บที่อุณหภูมิอื่น

4.2.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า Thiobarbituric acid (TBA) ที่อุณหภูมิต่างๆ

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า TBA ของผลิตภัณฑ์หมูทอดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ได้ผลดังรูปที่ 4.2.4 , 4.2.5 และ 4.2.6

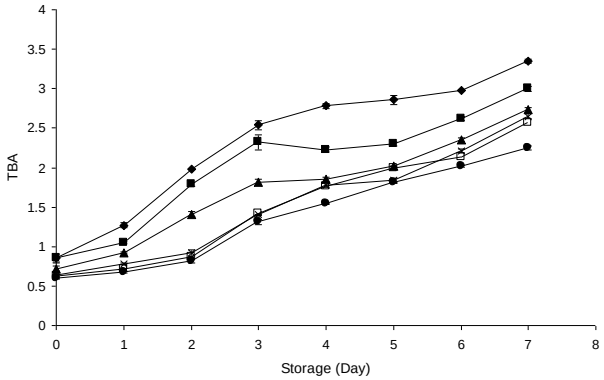



รูปที่ 4.2.4 ค่า TBA ในเนื้อหมูทอดที่มีสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (0 g/kg ◆; 0.4 g/kg ■; 0.8g/kg ↖; 1.6g/kg ×) และสารกันหืนสังเคราะห์ (BHT 0.1 g/kg □; Gallic acid 0.1 g/kg ●) ที่อุณหภูมิ 10 °C




รูปที่ 4.2.5 ค่า TBA ในเนื้อหมูทอดที่มีสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (0 g/kg ◆; 0.4 g/kg ■; 0.8g/kg ↖; 1.6g/kg ×) และสารกันหืนสังเคราะห์ (BHT 0.1 g/kg □; Gallic acid 0.1 g/kg ●) ที่อุณหภูมิห้อง

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University




รูปที่ 4.2.6 ค่า TBA ในเนื้อหมูทอดที่มีสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (0 g/kg ◆; 0.4 g/kg ■; 0.8g/kg ↖; 1.6g/kg ×) และสารกันหืนสังเคราะห์ (BHT 0.1 g/kg □; Gallic acid 0.1 g/kg ●) ที่อุณหภูมิ 60 $^{o}$C

ค่า TBA เป็นค่าที่ใช้ตรวจหาการเกิดออกซิเดชันของไลปิด โดยวัดระดับอัลดิไฮด์ (Aldehyde) ที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ โดยกรดไธโอบาร์บิทูริค (Thiobarbituric acid) ทำปฏิกิริยาเฉพาะกับมาโลนอลดีไฮด์ (Malonaldehyde) เกิดสีแดงซึ่งสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ 532 nm. (Allen and Hamilton, 1999.) ดังนั้นในการทดลองหาค่า TBA ในผลิตภัณฑ์หมูทอดที่อุณหภูมิทั้ง 3 พบว่าเป็นไปในทิศทางเดียวกับค่า PV คือผลิตภัณฑ์หมูทอดที่ไม่ได้เติมสารกันหืนสังเคราะห์และสารสกัดจากเมล็ดองุ่นจะเกิดการเหม็นหืนได้อย่างรวดเร็ว แต่เมื่อเติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่ระดับความเข้มข้น 0.4, 0.8 และ 1.6 กรัมต่อกิโลกรัมของเนื้อหมู พบว่าสามารถยับยั้งหรือชะลอการเกิดการเหม็นหืนได้ โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 1.6 กรัมต่อกิโลกรัมของเนื้อหมู จะยับยั้งการเหม็นหืนได้ใกล้เคียงกับสาร BHT แต่ต่ำกว่าการใช้กรดแกลลิค

ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส การใช้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่ระดับความเข้มข้น 1.6 g/kg ของเนื้อหมู พบว่าในวันที่ 6 ค่า TBA มีค่าต่ำกว่า 1 มิลลิกรัมของมาโลนอลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของเนื้อหมู แสดงว่าสารสกัดจากเมล็ดองุ่นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งสอดคล้องต่อการทดลองของ Mielnik, *et al.,* (2006) ที่ทำการทดลองเติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในเนื้อไก่งวงและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 13 วัน ค่า TBA ไม่เกิน 1 มิลลิกรัมของมาโลนอลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของเนื้อหมู เช่นเดียวกัน และ จากการทดลองของ Lau and King (2003) รายงานผลการเติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่นเพื่อใช้ในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในผลิตภัณฑ์ไก่ปรุงสุก พบว่าในผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้ใส่เกลือและสารกันหืนค่า TBA จะสูงถึง 13.93 มิลลิกรัมของมาโลนอลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของเนื้อหมู และเมื่อผลิตภัณฑ์เติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัมของเนื้อหมู พบว่าค่า TBA เท่ากับ 0.74 และ 0.48 มิลลิกรัมของมาโลนอลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของเนื้อหมู ตามลำดับ ดังนั้นแสดงว่าเมื่อเติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่ความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้นจะยิ่งสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้มากยิ่งขึ้น

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

# บทที่ 5
# สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

## 5.1 สรุปผลการทดลอง

การสกัดสารโพลิฟีนอลทั้งหมดจากเมล็ดองุ่นเลือกตัวทำละลายผสมระหว่างน้ำกับเอทานอลที่อัตราส่วน 50:50 โดยใช้เมล็ดองุ่นบด 7.5 กรัม เขย่าเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ให้ร้อยละผลได้ 14.86% ปริมาณโพลิฟีนอลทั้งหมด 0.3286 กรัมต่อกรัมของเมล็ดองุ่น ทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ให้ค่า $EC_{50}$ 214.60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า Reducing power 2.3847 ซึ่งมีประสิทธิภาพดีที่สุด

เมื่อนำสารสกัดจากเมล็ดองุ่นทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเหม็นหืนในผลิตภัณฑ์หมูทอดเปรียบเทียบกับสารกันหืนสังเคราะห์ BHT และกรดแกลลิค พบว่าการใช้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่ระดับความเข้มข้น 1.6 กรัมต่อกิโลกรัมของเนื้อหมูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งหรือชะลอการเหม็นหืนได้เทียบเท่ากับสารกันหืน BHT แต่ต่ำกว่าการใช้กรดแกลลิค

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการศึกษาขั้นตอนการทำให้สารฟีนอลบริสุทธิ์ต่อไป

2.ควรศึกษาหาชนิด และคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของสารฟีนอลที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในเมล็ดองุ่น เพราะสารโปรแอนโธไซยานิดินส์ที่มีฟีนอลเป็นองค์ประกอบสำคัญเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งจะเป็นประโยชน์ในทางการแพทย์

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

**บรรณานุกรม**


1) นิธิยา รัตนาปนนท์, น่ารู้เรื่องไวน์, พิมพ์ครั้งที่ 1 สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ หน้า 5 – 6, 2546. น้ำผลไม้และผัก เครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพ. สถาบันอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, หน้า 105
2) ระพีพรรณ ใจภักดี, ผลไม้ชุดที่ 1 (Fruit volume 1), สำนักพิมพ์แสงแดดเพื่อนเด็ก, หน้า 12, 2544.
3) สรจักร ศิริบริรักษ์เภสัชโภชนา, บริษัท ซีเอ็ดยูเคชั่น จำกัด (มหาชน) หน้า 160 – 161, 2547.
4) ศิวาพร ศิวเวช.วัตถุเจือปนอาหาร (เล่ม 1) ภาควิชาวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีการอาหาร ,คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546. หน้า 86-150.
5) องุ่นพันธุ์ Pok Dum ,http://www.wangnamkheo.com, วันที่ 20 สิงหาคม 2549
6) Ahn, J., Grun, I. U., and Fernando, L. N. 2002. Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. Journal of Food Science. 67. 1364-1369.
7) Allen, J.C. and Hamilton, R.J. 1999. Rancidity in meats. Rancidity in Foods. Third edition. An Aspen Publication. Maryland. 191-202.
8) A.O.A.C. 1995. Official Methods of Analysis of the Association of AOAC international 16th ed. Vol. 2.
9) Baydar, N.G., Ozkan, G and Yasar, S., 2007. Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts. Food Control. 18. 1131-1136.
10) Bowers, J. 1992. Fats and Oils in Foods. Food Theory and Applications. Second edition. Maxwell Macmillan international editions. 221-229.
11) Bonilla F., Mayen M., Merida J., Medina M. 1998. Extraction of phenolic compounds from red grape marc for use as food lipid antioxidant. Food Chemistry. 66. 209-215.
12) Cacace, J.E. and Mazza, G. 2002. Extraction of Anthocyanins and Other Phenolics from Black Currants with Sulfured Water. Journal of Agricultural Food Chemistry. 50. 5939-5946.
13) Caillet S., Salmieri S., Lacroix M. 2004. Evaluation of free radical – scavenging properties of commercial grape phenol extracts by a fast colorimetric method. Food Chemistry. 95.1-8.
14) Choe, E. and Min, D.B. 2006. Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Vol. 5. 169-186.

15) Fennema, O.R. 1985. Lipids. Food Chemistry: 2nd. New York, Marcel Dekker, Inc. 139-243.

16) Fuleki,T. and Ricardo da Silva, J.M., 1997. Catechin and Procyanidin Composition of Seeds from Grape Cultivars Grown in Ontario. Journal of Agricultural Food Chem. 45. 1156-1160.

17) Garcia-Marino, M., Rivas-Gonzalo, J.C., Ibanez, E., Garcia-Moreno, C. 2006. Recovery of catechins and proanthocyanidins from winery by-products using subcritical water extraction. Analytical Chimica Acta 563. 44-50.

18) Ito, N., Hiroze, M., Fukushima, G., tauda, H., Shira, T., and Tatematsu, M. 1986. Studies on antioxidant: their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis. Food Chmistry Toxicology, 24, 1071-1081.

19) Jayaprakasha G.K., Singh R.P., and Sakariah K.K.. 2001. Antioxidant activity of grape seed (Vitis vinifera ) extracts on peroxidation models in vitro. Food Chemistry. 73. 285-290.

20) Kallithraka, S., Garcia-Viguera, C., Bridle, P., Bakker, J., 1995. Survey of solvents for the extraction of grape seed phenolics. Phytochemical Analysis. 6. 265-267.

21) Katsube, T., Tabata, H., Ohta, Y., Ymamasaki, Y., Anuurad, E,. Shiwaku, K., and Yamane, Y. 2004. Screening for Antioxidant Activity in Edible Plant Products: Comparison of Low-Density Lipoprotein Oxidant Assay, DPPH Radical Scavenging Assay, and Folin-Ciocalteu Assay. J. Agric, Food Chem. 52. 2391-2396.

22) Krijgsman, J. 1992. Precipitation. Purification. Product Recovery in Bioprocess Technology. Butterworth Heinemann. United Kingdom. 159.

23) Kim So-young , Jeong Seok-Moon . Park Woo-Po , Nam K.C. , Ahn D.U. , Lee Seung-Cheol. 2006. Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. Food Chemistry. 97. 472-479.

24) Lau, D.W., and King, J. 2003. Pre- and Post-mortem use of grape seed extract in dark poultru meat to inhibit development of thiobarbituric acid reactive substances. Journal of agricultural and Food Chemistry. 51. 1602-1607.

25) Lu, Yinrong and Yeap Foo, L.1999. The polyphenol constituents of grape pomace, Food Chemistry. 65. 1-8.

26) Miller, D.D. 1998. A Laboratory Manual. Food Chemistry, John Wiley & Son. Inc. NY. 57-67.

27) Mielink M.B., Olsen E., Vogt G., Adeline D., Skrede G.. 2006. Grape seed extract as antioxidant in cook,cold store turkey meat.LWT. 39. 191-198.

28) Nakamura,Y., Tsuji,S and Tonogai, Y. 2003. Analysis of Proanthocyanidins in Grape Seed Extracts, Health Foods and Grape Seed Oils. Journal of Health Science, 49(1). 45-54.

29) Nawaz, H., Shi, J., Mittal, G.S., and Kakuda, Y. 2006. Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. Separation and Purification Technology. 48. 176-181.

30) Pratt,D.E. 1996. Antioxidant : technical and regulatory considerations, In Hui, Y.H. (ed.) Bailey's Industrial Oil and Fat Products.. Edible Oli and Fat Products : Products and Appication Technology, 5 th, John Wlicy and Sons.Inc.New York. 3-30.

31) Pekic, B., Kovac,V., Alonso,E., and Revilla, E., 1998. Study of the extraction of proanthocyanidins from grape seeds. Food Chemistry,.61. 201-206.

32) Ricardo da Silva, J. M., Darmon, N., Fernandez,Y., M.itjavilla, S., 1991. Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. Journal of Agricultural and Food Chemistry 39(9), 1549-1552.

33) Rossell. J . B. 1994. In.J.C. Allen and R.J.Hainilton (eds.), Rancidity in Food. Chapman and Hall,Suffolk Measurement of rancidity, 22-50.

34) Sanchez – Moreno C., Jose, A. Larrauri , Saura – Calixto F. 1999. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of lipid oxidation of wine, grape juices and related polyphenolic constituents. Food Research International. 32. 407-412.

35) Shaker E. S. 2006. Antioxidative effect of extracts from red grape seed and peel on Lipid oxidation in oils of sunflower. LWT. 39. pp 883-892.

36) Saito, M., Hosoyama, H., Ariga, T., Kataoka, S., and Yamaji, N. 1998. Antiulcer Activity of Grape Seed Extract and Procyanidins. Journal of Agricultural Food Chemistry. 46. 1460-1464.

37) Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology 299. 152-178.

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

38) Shi, J., Yu, J., Pohorly, J., Young, J.C., Bryan, M. and Wu, Y. 2003. Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. Food, Agriculture & Environment. 1(2): 42-47.

39) Stauffer, C.E. 1996. Fat and oil : Praetice Guides for the Food Industry. American Associatien of Cereal Chemist, Inc., Minnesota.

40) Stanbury. P.F. and Whitaker, A. 1984. The Recovery and Purification of Fermentation Products. Principles of Fermentation Technology. Pergamon Press. New York. 193-217.

41) Wichi, H.P. 1988. Enhanced tumor development by butylated hydroxyanisole (BHA) from the prospective of effect on forestomach and oesophageal squamous epithelium. Food and Chemical Toxicology, 26, 717-723.

42) Xu, X., Sie, B., Pan, S., Yang, E., W, K., Cenkowski, S., Hydamake, A.W., and Rao, S. 2006. A new technology for extraction and purification of proanthocyanidins derived from sea buckthorn bark. Journal of the Science of Food and Agriculture. 86. 486-492.

43) Yilmaz, Y., and Toledo, R.T. 2006. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. Journal of Food Composition and Analysis. 19. 41-48.

44) Yuknaz, Y, and Toledo, R.T. 2006. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. Journal of Food Composition and Analysis. 19. 41-48.

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

**ภาคผนวก**

- **การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด** (Total Phenol Content) **โดยวิธี** Folin – Ciocalteau (Katsube Takuya et al., 2004)

ชั่งสารสกัดจากเมล็ดองุ่น 0.100 กรัม เติมน้ำกลั่น 50 มล. ปิเปตสารตัวอย่าง 0.5 มล. เติมน้ำกลั่น 10 มล. และ Folin-Ciocalteau 0.5 มล. เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที เติมสารละลาย $Na_2CO_3$ (ความเข้มข้น 7.5 % w/v) 8 มล. เขย่าให้เข้ากันแล้วนำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร เปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิคที่ผ่านวิธีการเดียวกัน โดยใช้ระดับความเข้มข้นของกรดแกลลิค 20, 40, 60, 80 และ 100 ส่วนในล้านส่วน

- **วิธีการทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี** DPPH Radical Scavenging Assay (Katsube etal., 2004)

เตรียมสารละลายตัวอย่าง 4 ความเข้มข้น ( 100, 200, 300 และ 400 ไมโครกรัมต่อมล. ( µg/ml )) ละลายใน Absolute ethanol จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่าง 0.1 มล. เติม 3.9 มล. ของ $6.0 \times 10^{-5}$ M DPPH ใน absolute ethanol เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 20 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร (โดยใช้สารละลายตัวอย่าง 0.1 มล. ผสมกับ absolute ethanol 3.9 มล. เป็น blank)

วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานและ Control ที่ 520 นาโนเมตร โดยที่

1. Control ethanol ประกอบด้วยเอทานอล 0.1 มล. และ DPPH 3.9 มล. และใช้ Absolute ethanol 4 มล. เป็น blank

2. Control water ประกอบด้วยน้ำกลั่น 0.1 มล. และ DPPH 3.9 มล. และใช้น้ำกลั่น 0.1 มล. ผสมกับเอทานอล (Absolute ethanol) 3.9 มล. เป็น blank

การคำนวณหา % inhibition

$$\% \text{ inhibition} = \left( \frac{\text{Absorbance control - Absorbance sample}}{\text{Absorbance control}} \right) \times 100$$

คำนวนค่าเฉลี่ยของ % inhibition ในแต่ละความเข้มข้น แล้วนำไปทำ linear regression เพื่อหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันได้ 50 % ($EC_{50}$)

- **วิธีการทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี** Antioxidant activity (Reducing Power) (Jayaprakasha G. et al., 2001)

ชั่งสารสกัดจากเมล็ดองุ่น 0.0400 กรัม แล้วนำมาละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 50 มล. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มล. เติม 2.5 มล. ของ 0.2 M ของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer), pH 6.6 และ 2.5 มล. ของ 10 มก. ต่อ มล. ของโปรแตสเซียม เฟอริไซยาไนด์ (Potassium ferricyanide) เขย่าสารตัวอย่างให้เข้ากันและ Incubate ที่ 50 □C นาน 20 นาที เติม 2.5 มล. ของ 100 มก.ต่อมล. กรดไตรคลอโรอะซิติค (Trichloroacetic acid) แล้วนำมาเซนตริฟิวจ์ ที่ 5,000 g นาน 10 นาที ปิเปตส่วนใส 2.5 มล. เติมน้ำกลั่น 2.5 มล. และ 0.1 มล. ของ 10 มก.ต่อมล. ของเฟอริค คลอไรด์ (Ferric chloride) วัดค่าดูดกลืนแสง ที่ 700 นาโนเมตร

- **การวิเคราะห์ค่า** Thiobarbituric acid (TBA) (Miller, 1998)

นำเนื้อหมูทอดบดละเอียดจำนวน 10 กรัม มาเติม 7.5% ของกรดไตรคลอโรอะซิติค (TCA) 30 มล. ทำการ Homogenized ที่ความเร็วรอบ 15000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 30 วินาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส กรองเศษเนื้อหมูทิ้ง นำส่วนของสารละลาย 5.0 มล. ที่ได้จากการกรองผสมกับ 5.0 มล. ของ 0.02 โมลต่อลิตร (mol/l) ของสารละลายกรดไธโอบาบิทูริค (TBA) ใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาปิด บ่มที่ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 นาที ใน Water bath ทำให้เย็นใน ice bath 10 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร (Blank 5 ml (น้ำกลั่น) + 5 ml TBA)

**การคำนวณ** TBA mg molonalaldehyde/kg meat = 7.8 x ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (หน่วยของ mg ของ malonaldehyde/kg meat)

- **การวิเคราะห์ค่าเพอร์ออกไซด์** (PV) (A.O.A.C., 1995)

ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน(ปริมาณตัวอย่างที่เหมาะสมดังตาราง) ใส่ในขวดขนาด 250 มล. เติมสารละลายผสมแอซีติกกับคลอโรฟอร์ม 25 มล. เขย่าให้ตัวอย่างละลายเติมสารละลายอิ่มตัวโพแทสซียมไอโอไดด์ 1 มล.ปิดจุกพร้อมเขย่านาน 1 นาที ทิ้งไว้ในที่มืด 5 นาที เติมน้ำกลั่น 5 มล. ไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตพร้อมเขย่าแรง ๆจนได้สารละลายสีเหลืองอ่อนเติมน้ำแป้ง 0.5 มล.ไตเตรทต่อจนสีน้ำเงินหมด

**คำนวณค่าเพอร์ออกไซด์จากสูตร**

$$\text{ค่าเพอร์ออกไซด์} = \frac{(a-b) \times N \times 1000}{W}$$

a = ปริมาตร(มล.)ของสารโซเดียมไทโอซัลเฟต ที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

b = ปริมาตร(มล.)ของสารโซเดียมไทโอซัลเฟต ที่ใช้ไตเตรทแบลงก์

N = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต (นอร์มอล)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

ตาราง ปริมาณตัวอย่างที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ค่าเพอร์ออกไซด์

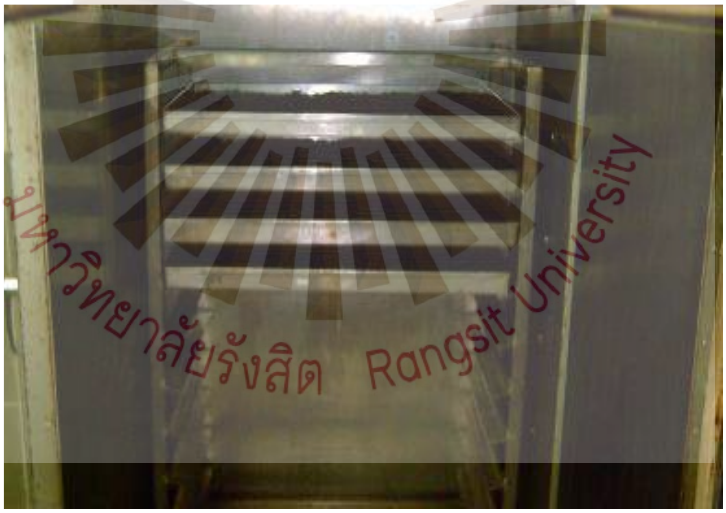
| ค่าเพอร์ออกไซด์ที่คาดคะเนไว้ (มิลลิกรัมสมมูล) | น้ำหนักตัวอย่างที่ต้องการชั่ง (กรัม) |
|---|---|
| 0-12 | 5.0-2.0 |
| 12-20 | 2.0-1.2 |
| 20-30 | 1.2-0.8 |
| 30-50 | 0.8-0.5 |
| 50-90 | 0.5-0.3 |

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

## ภาพสรุปขั้นตอนการทำงาน

**ตอนที่** 1 การเตรียมวัตถุดิบ

**รูปที่ จ.1** กากเมล็ดองุ่น



**รูปที่ จ.2** อบแห้งที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 12 ชม.

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

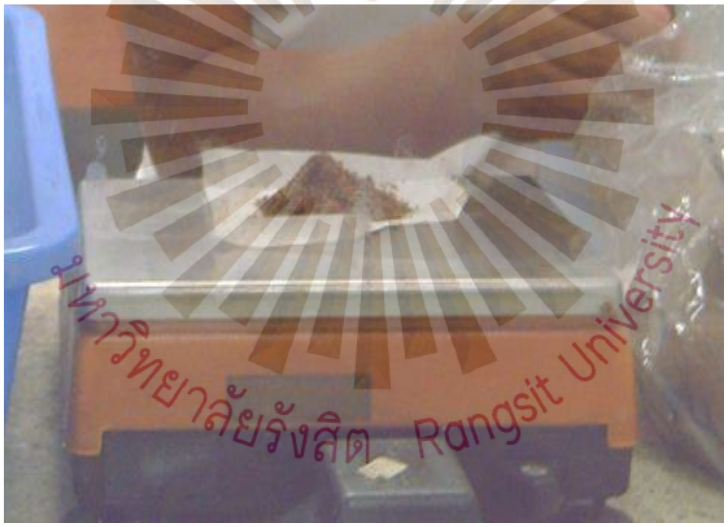
**รูปที่ จ.3** บดด้วยเครื่องบด

**รูปที่ จ.4** ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 850 mesh

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

**รูปที่ จ.5** เมล็ดองุ่นบด

**ตอนที่** 2 ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิฟีนอลทั้งหมด


มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

**รูปที่ จ.6** ชั่งเมล็ดองุ่นบดที่อบแห้ง 10 กรัม

**รูปที่ จ.7** เติมตัวทำละลายอินทรีย์

**รูปที่ จ.8** การสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด

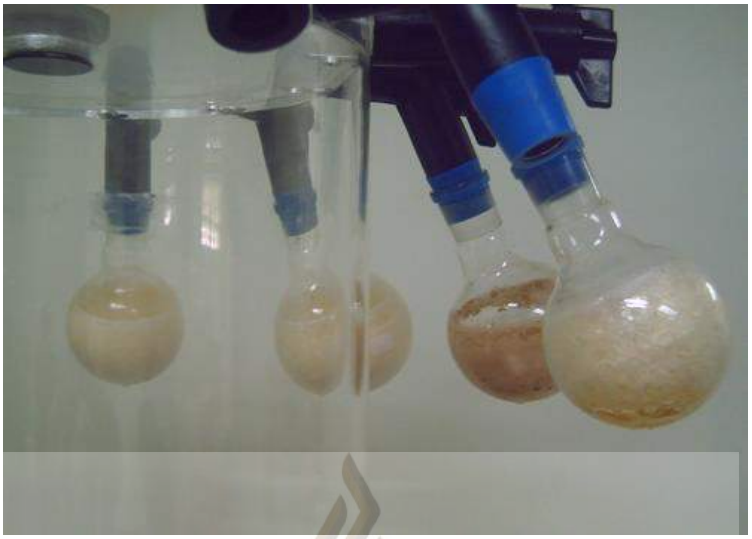
มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

**รูปที่ จ.9** เขย่าตัวอย่างเป็นเวลา 24 ชม.

**รูปที่ จ.10** เซนตริฟิวจ์ที่อุณหภูมิ 4 °C ที่ 8,000 g เป็นเวลา 15 นาที

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

**รูปที่ จ.11** Rotary Evaporation



**รูปที่ จ.12** Freeze dry

**รูปที่ จ.13** ผงสารสกัดโพลิฟีนอล

**การวิเคราะห์ผลการทดลอง**

1. **การวิเคราะห์หา** Antioxidant activity **(Reducing Power)** (Jayaprakasha et al., 2001)

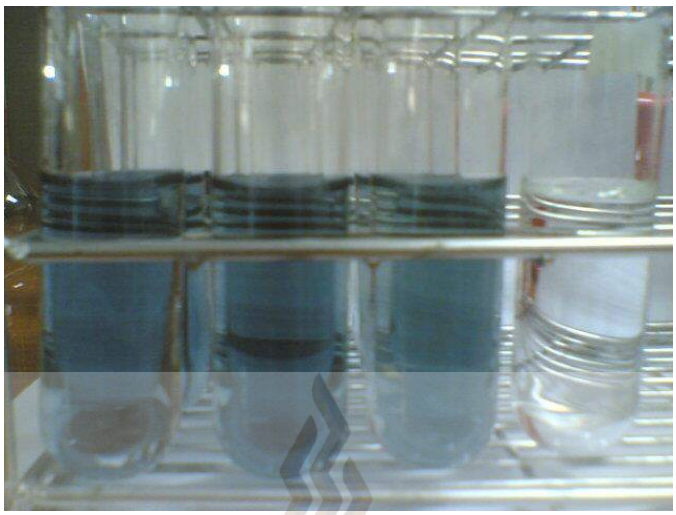
**รูปที่ จ.14 การวิเคราะห์ด้วยวิธี** Reducing Power

2. **วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี** DPPH Radical Scavenging Assay (Katsube et al., 2004)

**รูปที่ จ.15 การวิเคราะห์ด้วยวิธี** DPPH Radical Scavenging Assay

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

3. **การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด** (Total Phenol Content) **แบบ** Folin – Ciocaltea



รูปที่ จ.16 **การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด**

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

# ข้อมูลนักวิจัย


| | |
|---|---|
| ตำแหน่งทางวิชาการ | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ |
| ชื่อผู้วิจัย | เบ็ญจรัก |
| นามสกุล | วายุภาพ |
| ชื่อภาษาอังกฤษ | Benjaruk |
| นามสกุลภาษาอังกฤษ | Vayupharp |
| ที่อยู่ (บ้าน) | 53/1198 หมู่บ้านกฤษดานคร แจ้งวัฒนะ อำเภอปากเกร็ด จังหวัดนนทบุรี |
| โทรศัพท์ (บ้าน) | 02-503-1103 |
| ที่อยู่ (ที่ทำงาน) | สาขาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต ต.หลักหก อ.เมือง จ.ปทุมธานี |
| โทรศัพท์ (ที่ทำงาน) | 02-997-2222 ต่อ 3661 |
| ระดับการศึกษา | ปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมี) มหาวิทยาลัยขอนแก่น (เกียรตินิยมอันดับสอง)<br>ปริญญาโท วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย |


มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University