บทความวิจัย

ผลของปัจจัยเดี่ยวในการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน

Effect of Single-Factor by Ultrasound-Assisted Extraction on Antioxidant Properties of Extract from Jiaogulan (*Gynostemma pentaphyllum*) Leaves

พิชานันท์ ขำขยัน[1] และ กิติพงศ์ อัศตรกุล[1]*
Pichanan Kamkayan and Kitipong Assatarakul*

Received: December 24, 2020
Revised: April 18, 2021
Accepted: April 20, 2021

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของปัจจัยเดี่ยวในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่ลาน โดยแปรระดับความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละ 50-90 (v/v)) อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (1:20-1:60 g/mL) เวลาในการสกัด (10-50 นาที) และความเข้มของแอมพลิจูด (ร้อยละ 30-70) จากผลการทดลองพบว่า ปัจจัยเดี่ยวทั้งหมดมีผลต่อการสกัดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) การเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของเอทานอล อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง เวลาในการสกัด และความเข้มของแอมพลิจูด ส่งผลให้สารสกัดมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น ซึ่งภาวะที่ดีที่สุดในการสกัด คือการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 (v/v) อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:50 g/mL เวลาสกัด 20 นาที และความเข้มของแอมพลิจูด ร้อยละ 40 สารสกัดที่ได้จากภาวะดังกล่าวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และ ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) เท่ากับ 405.17 mg gallic acid equivalent (GAE)/100 g dry wt., 2.59 mg quercetin equivalent (QCE)/100 g dry wt., 1881.07 μM trolox/100 g dry wt. และ 2838.15 μM trolox/100 g dry wt. ตามลำดับ

คำสำคัญ: เจียวกู่หลาน สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ คลื่นอัลตราซาวด์

ABSTRACT

This study aimed to investigate the effect of single-factor by ultrasound-assisted extraction on the antioxidant properties of the extract from jiaogulan leaves. Four single-factors namely ethanol concentration (50-90% (v/v)), liquid to solid ratio (1:20-1:60 g/mL), extraction time (10-50 min) and amplitude (30-70%) were varied. It was found that all single-factors significantly affected antioxidant properties of the extract ($p \leq 0.05$). An increasing in antioxidant properties resulted from an increase in ethanol concentration, solid to liquid ratio, extraction time and amplitude. In addition, the best condition for jiaogulan leaves extraction were ethanol concentration of 70% v/v, solid to liquid ratio of 1:50 g/mL, extraction time of 20 min and amplitude of 40%. The extract obtained from such condition had total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant activity with 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) methods of 405.17 mg GAE/100 g dry wt., 2.59 mg QCE/100 g dry wt., 1881.07 μM trolox/100 g dry wt., and 2838.15 μM trolox/100 g dry wt., respectively.

Keywords: jiaogulan, antioxidant property, ultrasound assisted extraction

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

บทนำ

เจียวกู่หลาน (jaogulan) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino เป็นพืชนำเข้าจากประเทศจีน และมีการเพาะปลูกมากทางตอนเหนือของประเทศไทย นิยมนำมาบริโภคหลากหลายรูปแบบทั้งการบริโภคใบสดหรือพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ผสมกับพืชสมุนไพรอื่นๆ เป็นเครื่องดื่ม การทำเป็นผลิตภัณฑ์ชาตากแห้ง หรือชาผงบรรจุซอง เป็นต้น [1] เนื่องจากสารเคมีที่พบในเจียวกู่หลานมีรายงานมากกว่า 230 ชนิด ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มตามกลุ่มโครงสร้างทางเคมี ได้แก่ ซาโปนิน สเตอรอล ฟลาโวนอยด์ พอลิแซคคาไรด์และกลุ่มองค์ประกอบอื่น เช่น ธาตุอาหาร กรดอะมิโน วิตามิน และโปรตีน ซึ่งสารเหล่านี้มีสรรพคุณทางยาหลายประการ เช่น ช่วยลดการอักเสบ ตับอักเสบ และเบาหวาน นอกจากนี้ยังมีส่วนช่วยลดระดับไขมันในเลือด และโรคหลอดเลือดหัวใจ [2, 3]

สารสกัดเจียวกู่หลานเป็นผลิตภัณฑ์อีกทางเลือกหนึ่งที่มีความน่าสนใจ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปของสารสกัดสามารถนำไปผสมร่วมกับผลิตภัณฑ์อื่นๆ หรือสามารถนำไปผลิตเป็นแคปซูล การอัดเม็ด เพื่อเพิ่มความสะดวกสบายต่อการบริโภคของผู้บริโภคในปัจจุบันได้ นอกจากนี้ จากการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในน้ำชาใบเจียวกู่หลานและสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน ซึ่งน้ำชาใบเจียวกู่หลาน เตรียมจากเจียวกู่หลาน 1.5 กรัม แช่ในน้ำอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 8 นาที และสารสกัดจากใบเจียวกู่หลานเตรียมจากเจียวกู่หลาน 60 มิลลิกรัม ในเมทานอล ร้อยละ 80 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และทำการเขย่าเป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดจากใบเจียวกู่หลานมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าน้ำชาใบเจียวกู่หลานอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสารฟลาโวนอยด์โดยเฉพาะรูติน (rutin) เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญของใบเจียวกู่หลาน [4] ซึ่งโดยทั่วไปแล้วในธรรมชาติจะพบฟลาโวนอยด์มากกว่า 4,000 ชนิด สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มหลักๆ คือ แอนโทไซยานินส์ (anthocyanins) และแอนโทแซนทินส์ (anthoxanthins) จากงานวิจัยการแยกสารฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากเจียวกู่หลานด้วยเทคนิค MPLC (medium-pressure liquid chromatography) พบว่าฟลาโวนอยด์ที่สกัดได้จากเจียวกู่หลานจัดอยู่ในกลุ่มของแอนโทแซนทินส์ทั้งหมด ประกอบด้วย rutin, 4′-O-methylkaempferol-3-O-rutinoside, ombuoside, kaempferol-3 - β-D-O-rutinoside, isorhamnetin-3 - O- β-D-rutinoside, quercetin- 3 – O - β- D - glucoside, isorhamnetin, kaempferol และ quercetin [5, 6] ซึ่งมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และมีส่วนช่วยในการป้องกัน ยับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน รวมถึงช่วยต้านความชรา การแข็งตัวของหลอดเลือด และลดความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็ง สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่มีโมเลกุลเสถียรที่สามารถให้อิเล็กตรอน เพื่อทำลายและลดปริมาณอนุมูลอิสระไม่ให้ไปทำลายหรือสร้างความเสียหายต่อองค์ประกอบของเซลล์สิ่งมีชีวิต และหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ก่อนที่โมเลกุลที่สำคัญจะถูกทำลาย [7, 8]

แม้มีการศึกษาสมบัติเชิงเภสัชวิทยาของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลานอย่างกว้างขวาง แต่การศึกษาผลของวิธีในการสกัดต่อสมบัติต่าง ๆ ของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลานยังมีค่อนข้างน้อย ซึ่งโดยทั่วไปการสกัดมีด้วยกันหลากหลายวิธี เช่น การต้ม (decoction) การหมัก (maceration) เพอร์โคเลชัน (percolation) และซอกซ์เลตเอกแทรกเตอร์ (soxhlet extracter) การสกัดด้วยวิธีที่กล่าวมาข้างต้นนี้มีข้อจำกัดในการสกัดสารสำคัญจากพืช ดังนั้นการเลือกวิธีในการสกัดจึงเป็นสิ่งสำคัญเบื้องต้นในการสกัด และขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่ต้องการสกัด คุณสมบัติของสารในการทนต่อความร้อน ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ เป็นต้น ส่งผลให้ในปัจจุบันจึงมีการพัฒนาเทคโนโลยีในการสกัด โดยนำวิธีการสกัดที่ได้กล่าวข้างต้นนั้นมาเป็นขั้นตอนพื้นฐานของเทคนิคการสกัดขั้นสูง [9] การใช้คลื่นอัลตราซาวด์ในการสกัดร่วมกับตัวทำละลายอินทรีย์หรือน้ำในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากวัตถุดิบ เป็นเทคโนโลยีที่นำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีข้อดี คือ ลดระยะเวลาในการสกัด ลดการใช้เครื่องมือ ลดค่าใช้จ่าย ลดขั้นตอนการทำงาน ลดการใช้อุณหภูมิและพลังงาน เป็นต้น [10] จากการศึกษาผลของการสกัดน้ำมัน

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

เมล็ดองุ่นด้วยวิธีการแช่และการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ต่อปริมาณผลผลิต พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีการแช่ คือ อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น 6:1 v/w ใช้เวลาในการสกัด 30 นาที ให้ปริมาณผลผลิต ร้อยละ 11.13 ของน้ำหนักแห้ง และวิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ที่ความถี่ 20 กิโลเฮิรตซ์ กำลังไฟฟ้า 750 วัตต์ และความเข้มของแอมพลิจูด ร้อยละ 80 ใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น 2:1 v/w ทำการสกัดเป็นเวลา 15 นาที ได้ปริมาณผลผลิต ร้อยละ 11.42 ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งจะเห็นได้ว่าการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ในการสกัดเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากกว่าการสกัดด้วยวิธีแช่ เนื่องจากการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ในการสกัดจะช่วยลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายได้มากถึง 3 เท่า และลดระยะเวลาในการสกัดลง 2 เท่าของวิธีการแช่ [11] โดยปรากฏการณ์ที่สำคัญที่เกิดจากการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ คือปรากฏการณ์คาวิเตชัน เมื่อปล่อยคลื่นอัลตราซาวด์หรือคลื่นเสียงความถี่สูงออกมาในตัวพา ได้แก่ น้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์ ส่งผลให้เกิดฟองซึ่งถูกสร้างขึ้นจากนิวเคลียสของก๊าซที่มีอยู่ภายในของไหล ซึ่งฟองแก๊สจะหดและขยายตัวเป็นวัฏจักร ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและทางกายภาพจากแรงกล เมื่อฟองแก๊สขยายตัวจะดึงสารที่อยู่ภายในวัตถุดิบให้ละลายออกมาในตัวทำละลาย และในขณะที่ฟองแก๊สแตกออกจะเกิดความดันและความร้อนปริมาณมากในบริเวณดังกล่าว พื้นที่ผิวบริเวณผนังเซลล์จึงถูกทำลาย ทำให้สารที่ต้องการสกัดออกมาได้ง่ายขึ้น โดยประสิทธิภาพของการสกัดขึ้นกับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ความถี่ของคลื่นเสียง สมบัติของตัวทำละลาย และความเข้มของคลื่นเสียงที่ใช้ [12]

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ (ความเข้มข้นของเอทานอล อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว เวลาในการสกัด และความเข้มของแอมพลิจูด) ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP) จากใบเจียวกู่หลาน

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การเตรียมตัวอย่างใบเจียวกู่หลาน

ตัวอย่างใบเจียวกู่หลานแห้งความชื้นไม่เกินร้อยละ 5 จากมณฑลฝูเจี้ยน ประเทศจีน จากบริษัทเดอะ กีฟวิ่ง ที จำกัด จำนวน 1 กิโลกรัม บดและผ่านตะแกรงร่อนขนาด 50 mesh จะได้ผงเจียวกู่หลานแห้ง เก็บในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนตภายใต้ภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

2. การศึกษาปัจจัยเดี่ยวในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน

ศึกษาปัจจัยเดี่ยวในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน ออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) กำหนดจำนวนการทดลอง 3 ซ้ำของแต่ละการทดลอง ศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัด 4 ปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้นของเอทานอล อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว เวลาในการสกัด และความเข้มของแอมพลิจูด ดังนี้

2.1 ปัจจัยของความเข้มข้นของเอทานอลในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน

สกัดผงเจียวกู่หลาน ด้วยเครื่องผลิตคลื่นอัลตราซาวด์ (กำลังไฟฟ้า 400 วัตต์ ความถี่ 24 กิโลเฮิรตซ์ ผ่าน โพรบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 22 mm) (Hielscher, รุ่น UP400S, Germany) โดยแปรระดับของความเข้มข้นของเอทานอล 5 ระดับ คือ ร้อยละ 50, 60, 70, 80 และ 90 v/v กำหนดน้ำหนักผงใบเจียวกู่หลาน 2 กรัม ต่อตัวทำละลาย 120 มิลลิลิตร (อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:60 g/mL) เป็นเวลา 20 นาที ที่ความเข้มของแอมพลิจูด ร้อยละ 40 จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาปั่นเหวี่ยง (Kubota, รุ่น 6000, Japan) ที่ 4500 rpm เป็นเวลา 10 นาที กรองส่วนใสผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 และระเหยเอทานอลภายใต้ภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในเครื่องกลั่นระเหย

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

สุญญากาศ (Buchi Rotavapor R-114, Buchi, Switzerland) และวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน เพื่อหาความเข้มข้นของเอทานอลที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

2.2 ปัจจัยของอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน

สกัดผงเจียวกู่หลานด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.1 ด้วยเครื่องผลิตคลื่นอัลตราซาวด์ โดยแปรระดับของอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 5 ระดับ คือ 1:20, 1:30, 1:40, 1:50 และ 1:60 g/mL กำหนดปริมาตรตัวทำละลายทุกตัวอย่างเท่ากัน คือ 120 มิลลิลิตร เวลาในการสกัดเป็น 20 นาที ที่ความเข้มของแอมพลิจูด ร้อยละ 40 จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาปั่นเหวี่ยงที่ 4,500 rpm เป็นเวลา 10 นาที กรองส่วนใสผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 และระเหยเอทานอลภายใต้ภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ และวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน เพื่อหาอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวที่เหมาะสมสำหรับใช้ในใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

2.3 ปัจจัยของเวลาในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน

สกัดผงเจียวกู่หลานด้วยตัวทำละลายเอทานอลและอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.1 และ 2.2 ด้วยเครื่องผลิตคลื่นอัลตราซาวด์ โดยแปรระดับของเวลาในการสกัด 5 ระดับ คือ 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที กำหนดความเข้มของแอมพลิจูด ร้อยละ 40 จากนั้นปั่นเหวี่ยงสารละลายที่ได้ที่ 4,500 rpm เป็นเวลา 10 นาที กรองส่วนใสผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 และระเหยเอทานอลภายใต้ภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ และวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน เพื่อหาเวลาในการสกัดที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

2.4 ปัจจัยของความเข้มของแอมพลิจูดในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน

สกัดผงเจียวกู่หลานด้วยตัวทำละลายเอทานอลอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว และเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.1, 2.2 และ 2.3 ด้วยเครื่องผลิตคลื่นอัลตราซาวด์ โดยแปรระดับของความเข้มของแอมพลิจูด 5 ระดับ คือ ร้อยละ 30, 40, 50, 60 และ 70 จากนั้นปั่นเหวี่ยงสารละลายที่ได้ที่ 4,500 rpm เป็นเวลา 10 นาที กรองส่วนใสผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 และระเหยเอทานอลภายใต้ภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ และวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน เพื่อหาความเข้มของแอมพลิจูดที่เหมาะสม

3. การวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) ของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน โดยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetry [13] สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลาย gallic acid (Sigma Aldrich, USA) โดยปิเปตสารละลาย gallic acid (ความเข้มข้น 0-500 mg/L) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร น้ำกลั่นปริมาตร 7 มิลลิลิตร และสาร Folin-Ciocateau reagent ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ในขวดปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และพักไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม sodium carbonate (Daejung, Korea) อิ่มตัวปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมงในที่มืด วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer (Thermo Spectronic, Genesys 10 uv, USA) และวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของตัวอย่างโดยทำการทดลองเช่นเดียวกับสารละลายมาตรฐาน gallic acid แล้วคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานของสารละลาย

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

gallic acid โดยรายงานค่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วย mg gallic acid equivalent/100 g dry wt. (mg GAE/100 g dry wt.)

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (total flavonoid content) ของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลานด้วยวิธี aluminium chloride colorimetry [14] ใช้ quercetin (Sigma Aldrich, Germany) เป็นสารมาตรฐาน (ความเข้มข้น 0-0.4 mg/mL) โดยปิเปตสารละลายมาตรฐาน 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร และสารละลาย sodium nitrite (KemAus, Australia) เข้มข้นร้อยละ 5 w/v ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วจึงเติมสารละลาย aluminium chloride (Ajax Finechem, New Zealand) เข้มข้นร้อยละ 10 w/v ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันอีกครั้งและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของตัวอย่างเช่นเดียวกับสารละลายมาตรฐาน quercetin และคำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยดทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานของสารละลาย quercetin ในหน่วย mg quercetin equivalent/100 g dry wt. (mg QCE/100 g dry wt.)

3.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลานด้วยวิธี DPPH [15] โดยเตรียม DPPH radical (Sigma Aldrich, USA) ในเมทานอล (ความเข้มข้นของ DPPH เท่ากับ 1.2×10^{-4} M) สารละลาย DPPH ที่ใช้ในการวิเคราะห์ควรมีค่าดูดกลืนแสง ($A_{innitial}$) ประมาณ 1.1 และเตรียมสารละลายมาตรฐาน trolox (Sigma Aldrich, USA) ความเข้มข้นในช่วง 82-625 μM จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐาน trolox ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH 950 ไมโครลิตร และตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer และวิเคราะห์ตัวอย่างเช่นเดียวกับสารละลายมาตรฐาน trolox คำนวณหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยหักลบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ($A_{initial}$) ด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่าง (A_{final}) ซึ่งมีค่าเท่ากับผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง ($A_{difference}$) และเทียบกับ $A_{difference}$ ของกราฟมาตรฐานของ trolox รายงานค่าในหน่วย μM trolox/100 g dry wt.

$$A_{difference} = A_{innitial} - A_{final}$$

3.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP)

วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลานด้วยวิธี FRAP [16] เตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยผสมสารละลาย acetate buffer 25 มิลลิลิตร (เตรียมจาก sodium acetate trihydrate (Ajax Finechem, Australia) 0.3 กรัม และ glacial acetic acid (J.T. Baker Neutrasorb, USA) ปริมาตร 1.6 มิลลิลิตร แล้วปรับให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น) สารละลาย ferric chloride (POCH S.A., Poland) 2.5 มิลลิลิตร (ชั่ง ferric chloride 0.27 กรัม ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น) และสารละลาย TPTZ (Himedia, India) 2.5 มิลลิลิตร (ชั่ง TPTZ 31.2 มิลลิกรัม ลงใน 0.1 M hydrochloric acid (QReC, New Zealand) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร) ตามลำดับ และให้ความร้อนสารละลาย FRAP ที่ 37 องศาเซลเซียส ในอ่างให้ความร้อน (จะได้สารละลายสีน้ำตาลอมแดง) จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐาน trolox (ความเข้มข้นในช่วง 82-625 μM) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย FRAP 950 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 4 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer และวิเคราะห์ตัวอย่างเช่นเดียวกับสารละลายมาตรฐาน trolox คำนวณหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยหักลบค่าการดูดกลืนแสงจากตัวอย่าง (A_{final}) ด้วยค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย FRAP ($A_{initial}$) ซึ่งมีค่า

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

เท่ากับผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง ($A_{difference}$) เทียบกับ $A_{difference}$ ของกราฟมาตรฐานของ trolox รายงานค่าในหน่วย μM trolox/100 g dry wt.

$$A_{difference} = A_{final} - A_{innitial}$$

4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance; ANOVA) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 22 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's (HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ปัจจัยของความเข้มข้นของเอทานอลในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของเอทานอลที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 50, 60, 70, 80 และ 90 v/v ในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยกำหนดอัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:60 g/mL เป็นเวลา 20 นาที ที่ความเข้มของแอมพลิจูด ร้อยละ 40 แสดงใน Table 1 พบว่า เมื่อเปรียบเทียบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน การสกัดด้วยตัวทำละลายผสม (ระหว่างเอทานอลร่วมกับน้ำ ความเข้มข้นของเอทานอล ร้อยละ 50-90 v/v) กับตัวทำละลายน้ำ (ความเข้มข้นของเอทานอล ร้อยละ 0 v/v) พบว่าการใช้ตัวทำละลายผสมสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากใบเจียวกู่หลานได้มากกว่าการใช้ตัวทำละลายน้ำอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) และส่งผลให้สารสกัดที่ได้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ด้วยวิธี DPPH และ FRAP) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) โดยสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ในช่วง 127.39-398.78 mg GAE/100 g dry wt., 0.90-2.87 mg QCE/100 g dry wt., 1252.53-1731.87 μM trolox/100 g dry wt. และ 749.26-2658.52 μM trolox/100 g dry wt. ตามลำดับ นอกจากนี้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเอทานอลที่เพิ่มขึ้น แต่หลังจากความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มจนถึงระดับสมดุลปริมาณสารดังกล่าวจะลดลง

การสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วไม่เท่ากันส่งผลให้มีความสามารถในการละลายสารชนิดเดียวกันได้ไม่เท่ากัน ซึ่งน้ำมีสภาพขั้วสูงสุดเมื่อนำน้ำมาผสมกับตัวทำละลายชนิดอื่น เช่น เอทานอล จะส่งผลให้ขั้วของตัวทำละลายลดลง เมื่อตัวทำละลายและตัวถูกละลายมีขั้วที่ใกล้เคียงกัน ตัวถูกละลายจะสามารถละลายในตัวทำละลายได้ดีและสามารถสกัดสารออกมาจากเซลล์ได้ง่ายขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มสูงขึ้นอีกจะส่งผลให้ขั้วของตัวทำละลายลดลงมากกว่าเดิม สารที่สกัดได้จากใบเจียวกู่หลานจึงมีปริมาณลดลง [17] โดยการสกัดใบเจียวกู่หลานด้วยตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 v/v ส่งผลให้สารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP มากที่สุด (398.78 mg GAE/100 g dry wt., 1731.87 μM trolox/100 g dry wt. และ 2658.52 μM trolox/100 g dry wt. ตามลำดับ) และการสกัดใบเจียวกู่หลานด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60 v/v ส่งผลให้สารสกัดมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด (2.87 mg QCE/100 g dry wt.) ขณะที่ [18] ได้ศึกษาการสกัดดอก *Citrus aurantium* ด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ และพบว่าเมื่อกำหนดปัจจัยในการสกัดอื่น ๆ ให้คงที่ และแปรระดับของความเข้มข้นของเอทานอลในช่วงร้อยละ 40-80 v/v สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 v/v มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงที่สุด อาจกล่าวได้ว่าองค์ประกอบของสารฟลาโวนอยด์ในพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันจึงทำให้ความมีขั้วของสารต่างกัน โดยสารที่อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารสำคัญของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน เช่น รูทิน (rutin) เควอซิติน (quercetin) สามารถละลายได้ดีในสภาพที่มีขั้วสูง และสามารถอธิบายได้จากการใช้ตัวทำละลายที่มีความ

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

เข้มข้นของเอทานอลต่ำจะมีปริมาณน้ำในตัวทำละลายมาก ทำให้ตัวทำละลายมีความมีขั้วสูงขึ้นด้วย จึงสามารถสกัดสารที่มีขั้วสูงได้เพิ่มขึ้น [19] ทั้งนี้สามารถอธิบายได้ว่าตัวอย่างที่ใช้ในการสกัดที่ต่างกันส่งผลให้องค์ประกอบซึ่งในที่นี้หมายถึงชนิดของสารประกอบฟีนอลิกมีความแตกต่างกัน จึงมีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายที่ความเข้มข้นต่างกันได้ [20]

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ [21] ที่ศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลร่วมกับน้ำต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากกากผลอุ่น โดยผลการศึกษาพบว่าการใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลร่วมกับน้ำ ร้อยละ 66 v/v สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้มากที่สุด ดังนั้นจึงเลือกตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลและน้ำความเข้มข้นร้อยละ 70 v/v เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

Table 1 Antioxidant properties of jiaogulan leaves extract in different ethanol concentrations

Ethanol concentration % (v/v)	Total phenolic content (mg GAE/100 g dry wt.)	Total flavonoid content (mg QCE/100 g dry wt.)	Antioxidant activity (μM trolox/100 g dry wt.)	
			DPPH	FRAP
0	127.39±4.88^{d}	0.90±0.03^{f}	1252.53±17.24^{c}	749.26±40.19^{f}
50	307.39±9.29^{c}	1.73±0.03^{e}	1652.53±14.05^{b}	1278.89±44.44^{e}
60	376.83±5.47^{b}	2.87±0.03^{a}	1699.20±15.87^{ab}	2027.04±33.95^{c}
70	398.78±5.55^{a}	2.67±0.03^{b}	1731.87±15.53^{a}	2658.52±55.65^{a}
80	377.11±5.91^{b}	2.53±0.03^{c}	1720.73±18.42^{a}	2225.19±47.25^{b}
90	312.11±4.27^{c}	2.26±0.01^{d}	1709.87±21.01^{a}	1827.04±36.99^{d}

Remark: mean ± SD (from 3 replicates)

$^{a-f}$ different letters (within the same column) indicate significant differences ($p \leq 0.05$)

2. ปัจจัยของอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน

จากการศึกษาผลของอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวที่ระดับ 1:20, 1:30, 1:40, 1:50 และ 1:60 g/mL ในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (กำหนดปริมาตรของของเหลวในการสกัด 120 มิลลิลิตร) โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 v/v (ความเข้มข้นของเอทานอลที่เหมาะสมจากผลการศึกษาในข้อที่ 1) เป็นเวลา 20 นาที ที่ความเข้มของแอมพลิจูดร้อยละ 40 พบว่าสารสกัดของใบเจียวกู่หลานมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP อยู่ในช่วง 213.22-399.06 mg GAE/100 g dry wt., 1.52-2.52 mg QCE/100 g dry wt., 1391.87-1781.87 μM trolox/100 g dry wt. และ 627.04-2808.52 μM trolox/100 g dry wt. (Table 2) เมื่อตัวทำละลายมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จะเพิ่มสูงขึ้นด้วย เนื่องจากตัวทำละลายสามารถแพร่เข้าไปในของแข็งได้ง่ายขึ้น แม้ว่าตัวถูกละลายสามารถแพร่ออกมาจากของแข็งที่อิ่มตัวไปยังเฟสของตัวทำละลายได้ง่าย แต่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อของแข็งต้องมีปริมาณมากพอที่จะทำให้ระดับของตัวถูกละลายที่ต้องการละลายออกมา ดังนั้นสมดุลที่เกิดขึ้นจะต้องเป็นภาวะที่ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในเฟสของของแข็งและเฟสของตัวทำละลายเท่ากัน [11] ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ [22] ที่ศึกษาอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากลูกใต้ใบ

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

(*Phyllanthus niruri* L.) และพบว่าอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวในการสกัดที่เหมาะสมคือ 2:100 g/mL ซึ่งสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงสุด โดยอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวมีผลต่อผลผลิตของการสกัดอย่างมาก ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีปริมาณเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 60 เมื่ออัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวเพิ่มขึ้นจาก 0.5:100 g/mL เป็น 2:100 g/mL และมีปริมาณลดลงอย่างมากเมื่ออัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวเพิ่มขึ้นเป็น 10:100 g/mL

ขณะที่การใช้อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวเท่ากับ 1:50 g/mL ในการสกัดสารสกัดของใบเจียวกู่หลานมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP สูงที่สุด แม้ว่าอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวที่ลดลงจาก 1:50 g/mL เป็น 1:60 g/mL จะส่งผลให้สารสกัดของใบเจียวกู่หลานมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระลดลง แต่จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เมื่อใช้อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:50 และ 1:60 g/mL ในการสกัด โดยสารสกัดของใบเจียวกู่หลานมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 399.06 และ 387.39 mg GAE/100 g dry wt. และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 2.52 และ 2.48 mg QCE/100 g dry wt. ตามลำดับ จากการศึกษาผลของอัตราส่วนของเหลวต่อของแข็งต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากดอก *Limonium sinuatum* [23] โดยแปรอัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง 7 ระดับ คือ 10:1-70:1 mL/g และกำหนดปัจจัยอื่นๆ ในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ คือ ความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 40 v/v เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง (จาก 10:1-40:1 mL/g) ขณะที่เมื่ออัตราส่วนของเหลวต่อของแข็งมากกว่า 40:1 mL/g ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีการเปลี่ยนแปลงที่น้อยมาก เมื่อปริมาณของเหลวหรือตัวทำละลายในการสกัดเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้น (concentration gradient) ที่สูงขึ้น เป็นเหตุให้การสกัดมีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้ปริมาณของเหลวหรือตัวทำละลายน้อยกว่า จึงช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายของสารสำคัญภายในเซลล์พืช แต่เมื่ออัตราส่วนของเหลวต่อของแข็งมีค่าถึง 40:1 mL/g กระบวนการละลายของตัวถูกละลายในส่วนที่เป็นของแข็งจะถึงจุดสมดุล

ดังนั้นจากการศึกษานี้จึงเลือกอัตราส่วนของแข็งต่อแข็งเหลว 1:50 g/mL ในการสกัดไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป เนื่องจากใช้ปริมาณตัวทำละลายที่น้อยกว่าจึงช่วยลดปริมาณตัวทำละลายในการสกัด

Table 2 Antioxidant properties of jiaogulan leaves extract in different solid-liquid ratios

Solid-liquid ratio (g/mL)	Total phenolic content (mg GAE/100 g dry wt.)	Total flavonoid content (mg QCE/100 g dry wt.)	Antioxidant activity (μM trolox/100 g dry wt.)	
			DPPH	FRAP
1:20	213.22±7.28^{d}	1.52±0.03^{d}	1391.87±24.03^{d}	627.04±41.70^{d}
1:30	272.94±3.76^{c}	1.91±0.03^{c}	1589.87±12.06^{c}	1030.74±30.60^{c}
1:40	297.94±3.76^{b}	2.12±0.03^{b}	1626.53±11.37^{c}	2388.15±33.95^{b}
1:50	399.06±9.22^{a}	2.52±0.02^{a}	1781.87±15.14^{a}	2808.52±36.99^{a}
1:60	387.39±6.47^{a}	2.48±0.02^{a}	1727.20±13.11^{b}	2391.85±36.15^{b}

Remark: mean ± SD (from 3 replicates)

$^{a-f}$ different letters (within the same column) indicate significant differences ($p\leq0.05$)

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

3. ปัจจัยของเวลาที่ใช้ในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน

การทดสอบผลของเวลาที่ใช้ในการสกัด 10 20, 30, 40 และ 50 นาที ด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 v/v และอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:50 g/mL (สภาวะที่ดีที่สุดจากผลการศึกษาในข้อที่ 1 และ 2) ที่ความเข้มของแอมพลิจูดร้อยละ 40 (Table 3) พบว่าเวลาที่ใช้ในการสกัดที่แตกต่างกันส่งผลต่อการสัมผัสกันระหว่างตัวทำละลายและของแข็ง โดยเมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดเพิ่มขึ้น สารสกัดของใบเจียวกู่หลานมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ของสารสกัดมีค่าเพิ่มขึ้นถึงค่าสูงสุดที่เวลาในการสกัด 20 นาที (392.11 mg GAE/100 g dry wt., 2.51 mg QCE/100 g dry wt., 1815.87 μM trolox/100 g dry wt. และ 2860.37 μM trolox/100 g dry wt. ตามลำดับ)

เนื่องจากเวลาในการสกัดที่เพิ่มขึ้นสามารถเอื้อต่อการเกิดปรากฏการณ์คาวิเตชันได้ดีกว่าที่ระยะเวลาสั้น รวมถึงช่วยเพิ่มเวลาให้สารละลายสัมผัสกับเซลล์พืชได้นานกว่า ทำให้สารภายในเซลล์สามารถละลายและแพร่ออกมาได้มากกว่าการใช้เวลาสั้น [24] และเมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มสูงขึ้นจนเกินจุดสมดุล (20 นาที) จะเกิดการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลานส่งผลให้ปริมาณสารสำคัญลดลง ซึ่งอาจเป็นผลมาจากพลังงานของคลื่นเสียงความถี่สูงสามารถสร้างความร้อนในกระบวนการสกัดได้ เนื่องจากในกระบวนการสกัดอุณหภูมิของตัวอย่างมีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยการทดลองได้มีการควบคุมอุณหภูมิสุดท้ายของตัวอย่างอยู่ให้อยู่ในช่วง 83.00±3.00 องศาเซลเซียส ดังนั้นผลของปริมาณความร้อนที่เพิ่มขึ้นจึงมีผลต่อความเสถียรต่อโครงสร้างของสารประกอบทำให้โครงสร้างเกิดการเปลี่ยนแปลงจากปฏิกิริยาต่างๆ เช่น การเกิดออกซิเดชันของพอลิฟีนอล [18, 25] ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ [26] ที่พบว่าการสกัดรำข้าวด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ที่เวลาแตกต่างกัน (10 นาที ถึง 50 นาที) ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยการเพิ่มเวลาในการสกัดจนถึง 30 นาที ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน และหลังจากนั้นสารสกัดจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงจนถึงเวลา 50 นาที ในการสกัด

Table 3 Antioxidant properties of jiaogulan leaves extract in different extraction times

Extraction time (min)	Total phenolic content (mg GAE/100 g dry wt.)	Total flavonoid content (mg QCE/100 g dry wt.)	Antioxidant activity (μM trolox/100 g dry wt.)	
			DPPH	FRAP
10	373.22±4.59^{b}	2.37±0.03^{b}	1714.53±11.37^{c}	2177.04±31.59^{e}
20	392.11±5.55^{a}	2.51±0.02^{a}	1815.87±14.19^{a}	2860.37±36.99^{a}
30	361.28±4.88^{bc}	2.30±0.02^{b}	1781.20±13.11^{b}	2690.00±49.38^{b}
40	348.50±4.64^{c}	2.02±0.03^{c}	1762.53±11.02^{b}	2473.33±34.69^{c}
50	274.06±5.09^{d}	1.89±0.04^{d}	1663.20±12.49^{d}	2290.00±38.89^{d}

Remark: mean ± SD (from 3 replicates)

$^{a-f}$ different letters (within the same column) indicate significant differences ($p \leq 0.05$)

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

4. ปัจจัยของความเข้มของแอมพลิจูดในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน

ความเข้มของแอมพลิจูดเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ เนื่องจากความเข้มของแอมพลิจูดแสดงถึงพลังงานของคลื่นเสียง โดยการเพิ่มความเข้มของแอมพลิจูดจะส่งผลให้พลังงานของคลื่นมีค่าเพิ่มขึ้น และส่งผลต่อความรุนแรงในการเกิดปรากฏการณ์คาวิเตชัน [27] จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของแอมพลิจูดในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 v/v อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:50 g/mL และเวลาในการสกัด 20 นาที (สภาวะที่ดีที่สุดจากผลการศึกษาในข้อที่ 1, 2 และ 3) ดังแสดงใน Table 4 พบว่าการสกัดด้วยความเข้มของแอมพลิจูด ร้อยละ 40 ส่งผลให้ได้สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP สูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 405.17 mg GAE/100 g dry wt., 2.59 mg QCE/100 g dry wt., 1881.07 μM trolox/100 g dry wt. และ 2838.15 μM trolox/100 g dry wt. ตามลำดับ และการสกัดที่ความเข้มของแอมพลิจูดร้อยละ 70 ส่งผลให้สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมีค่าต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 350.72 mg GAE/100 g dry wt. ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 1.98 mg QCE/100 g dry wt. และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP เท่ากับ 1659.73 และ 1925.19 μM trolox/100 g dry wt. ตามลำดับ) นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าการสกัดที่ความเข้มของแอมพลิจูดร้อยละ 30, 40 และ 50 ส่งผลให้สารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าอยู่ในช่วง 387.39-405.17 mg GAE/100 g dry wt. ขณะที่การใช้ความเข้มของแอมพลิจูดร้อยละ 40 และ 50 ส่งผลให้สารสกัดมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยสารสกัดมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP อยู่ในช่วง 2.48-2.59 mg QCE/100 g dry wt., 1867.73-1881.07 μM trolox/100 g dry wt. และ 2727.04-2838.15 μM trolox/100 g dry wt. ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองนี้มีความใกล้เคียงกับงานวิจัยของ [28] ที่ศึกษาการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากซังแห้งข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยพื้นผิวตอบสนอง โดยแปรระดับความเข้มข้นของแอมพลิจูดที่ใช้ในการสกัดเป็นร้อยละ 25, 50, 100 (กำลังไฟฟ้า 250 วัตต์ ความถี่ 24 กิโลเฮิรตซ์) ที่อัตราส่วนตัวทำละลายตัวอย่าง 1:20 เป็นเวลา 30 นาที พบว่า เมื่อระดับความเข้มของแอมพลิจูดเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 25 เป็นร้อยละ 46.21 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้น และจะมีปริมาณลดลงเมื่อระดับความเข้มของแอมพลิจูดมากกว่าร้อยละ 46.21 ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการย่อยสลายของสารประกอบฟีนอลิก

การเพิ่มความเข้มของแอมพลิจูดส่งผลให้เกิดฟองอากาศที่มีพลังงานสูงมาสัมผัสที่บริเวณพื้นผิวของเนื้อเยื่อ ส่งผลให้เนื้อเยื่อเกิดความเสียหายหรือเกิดการฉีกขาด จึงเพิ่มการซึมผ่านของเนื้อเยื่อพืช ทำให้สารภายในเนื้อเยื่อสามารถละลายออกมายังตัวทำละลายได้มากขึ้น ขณะที่การเพิ่มขึ้นของความเข้มของแอมพลิจูดอาจมีผลเสียต่อสารพฤกษเคมีบางชนิดที่สกัดได้ เนื่องจากโครงสร้างของสารเกิดความเสียหายจากการเพิ่มความเข้มของแอมพลิจูด ส่งผลให้พลังงานของคลื่นเพิ่มสูงขึ้นและทำให้เกิดความร้อนขึ้น และประสิทธิภาพในการสกัดจึงลดลง [24, 29] ดังนั้นระดับความเข้มของแอมพลิจูดที่เหมาะสมที่สุดในการศึกษานี้คือความเข้มของแอมพลิจูดร้อยละ 40 เนื่องจากการสกัดที่ภาวะนี้ส่งผลให้สารสกัดมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 405.17 mg GAE/100 g dry wt. ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 2.59 mg QCE/100 g dry wt. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เท่ากับ 1867.73 μM trolox/100 g dry wt. และฤทธิ์

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เท่ากับ 2838.15 μM trolox/100 g dry wt.)

สรุปผล

จากการศึกษาปัจจัยเดี่ยวในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเจียวกู่หลาน พบว่าปัจจัยในการสกัดซึ่งประกอบไปด้วย ความเข้มข้นของเอทานอล อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว เวลาที่ใช้ในการสกัด และความเข้มของแอมพลิจูด มีผลต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดคือ ความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 70 v/v อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:50 g/mL เวลาที่ใช้ในการสกัด 20 นาที และความเข้มของแอมพลิจูดร้อยละ 40 สารสกัดที่ได้จากภาวะนี้ส่งผลให้สารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP สูงที่สุด ซึ่งงานวิจัยนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนการทดลองแบบ central composite design (CCD) หรือแบบ Box-Behnken design (BBD) ในการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยพื้นผิวตอบสนองเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดต่อไป

Table 4 Antioxidant properties of jiaogulan leaves extract in different amplitudes

Amplitude (%)	Total phenolic content (mg GAE/100 g dry wt.)	Total flavonoid content (mg QCE/100 g dry wt.)	Antioxidant activity (μM trolox/100 g dry wt.)	
			DPPH assay	FRAP assay
30	387.39±5.91^{a}	2.33±0.03^{b}	1759.73±18.90^{b}	2036.30±63.18^{c}
40	405.17±6.29^{a}	2.59±0.05^{a}	1881.07±14.05^{a}	2838.15±53.38^{a}
50	393.22±8.35^{a}	2.48±0.03^{a}	1867.73±16.65^{a}	2727.04±39.02^{a}
60	363.50±7.64^{b}	2.13±0.05^{c}	1667.73±15.14^{c}	2440.00±33.33^{b}
70	350.72±8.35^{b}	1.98±0.04^{d}	1659.73±18.04^{c}	1925.19±39.02^{c}

Remark: mean ± SD (from 3 replicates)

$^{a-f}$ different letters (within the same column) indicate significant differences ($p \leq 0.05$)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) รหัสโครงการ MSD62I0088 (ปัจจุบันเปลี่ยนชื่อหน่วยงานเป็น สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม หรือ สกสว) ที่สนับสนุนทุนในการวิจัย และได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก บริษัท เดอะ กีฟวิ่ง ที จำกัด ซึ่งเป็นผู้ร่วมให้ทุนผู้ช่วยวิจัยระดับปริญญาโทเพื่ออุตสาหกรรม รวมถึงวัตถุดิบในการทำวิจัย (ใบเจียวกู่หลาน)

เอกสารอ้างอิง

[1] Joomwong, A. and Katedee, W. (2020). Effects of brewing time period on physical and chemical quality, antioxidant activity and sensory quality of *Gynostemma pentaphyllum* tea. Agriculture and technology Journal. 1(1): 26-36. (In Thai).

[2] Li, Y., Lin, W., Huang, J., Xie, Y. and Ma W. (2016). Anti-cancer effects of *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (jiaogulan). Chinese Medicine. 11(1): 1-16.

[3] Tang, W. and Eisenbrand, G. (2011). Handbook of Chinese medicinal plants: Chemistry, pharmacology and toxicology. Wiley-VCH, Weinheim, Germany.

[4] Samec, D., Valek-Zulj, L., Martinez, S., Gruz, J., Piljac, A. and Piljac-Zegarac, J. (2016). Phenolic acids significantly contribute to antioxidant potency of *Gynostemma*

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

pentaphyllum aqueous and methanol extracts. Industrial Crops and Products. 84: 104-107.

[5] Bernhoft, A. (2010). Bioactive compounds in plants-benefits and risks for man and animals: A brief review on bioactive compounds in plants. Proceedings from a Symposium Held in Norwegian Academy of Science and Letters, pp 11-17. November 13-14, 2008. Oslo, Norway.

[6] Wang, Y.R., Xing, S.F., Lin, M., Gu, Y.L. and Piao, X.L. (2018). Determination of flavonoids from *Gynostemma pentaphyllum* using ultra-performance liquid chromatography with triple quadrupole tandem mass spectrometry and an evaluation of their antioxidant activity in vitro. Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies. 41(8): 437-444.

[7] Kebede, M. and Admassu, S. (2019). Application of antioxidants in food processing industry: Options to improve the extraction yields and market value of natural products. Advances in Food Technology and Nutritional Sciences. 5(2): 38-49.

[8] Kumar, S. (2014). The importance of antioxidant and their role in pharmaceutical science-A review. Asian Journal of Research in Chemistry and Pharmaceutical Sciences. 1(1): 27-44.

[9] Belwal, T. et al. (2018). A critical analysis of extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, industrial uses and optimization strategies. *Trends in Analytical Chemistry*, 100: 82-102.

[10] Rodrigues, S. and Pinto, G.A.S. (2007). Ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder. Journal of Food Engineering. 80: 869-872.

[11] Wongwanich, W. and Banjong, K. (2016). Factors affecting on maceration and ultrasound-assisted extraction of unrefined grape seed oil. King Mongkut's Agricultural Journal. 34(3): 9-21. (In Thai).

[12] Muthukumaran, S., Kentish, S.E., Stevens, G.W. and Ashokkumar, M. (2006). Application of ultrasound in membrane separation processes: A review. Reviews in Chemical Engineering. 22: 155-194.

[13] Slinkard, K. and Singleton, V.L. (1997). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture. 28: 49-55.

[14] Maisuthisakul, P., Suttajit, M. and Pongsawatmanit, R. (2007). Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. Food Chemistry. 100: 1409-1418.

[15] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science and Technology. 28: 25-30.

[16] Benzie, I.F.F. and Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. Analytical Biochemistry. 239: 70-76.

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

[17] Tabaraki, R. and Nateghi, A. (2011). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of natural antioxidants from rice bran using response surface methodology. Ultrasonics Sonochemistry. 18(6): 1279-1286.

[18] Yang, L., Cao, Y.L., Jiang, J.G., Lin, Q.S., Chen, J. and Zhu, L. (2010). Response surface optimization of ultrasound-assisted flavonoids extraction from the flower of *Citrus aurantium* L. var. amara Engl. Journal of Separation Science. 33(9): 1349-1355.

[19] Chan, S.W., Lee, C.Y., Yap, C. F., Wan Aida, W.M. and Ho, C.W. (2009). Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from limau purut (*Citrus hystrix*) peels. International Food Research Journal. 16: 203-213.

[20] Dzah, C.S., Duan, Y., Zhang, H., Wen, C., Zhang, J., Chen, G. and Ma, H. (2020). The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. Food Bioscience. 35: 100547. doi : https:// doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100547

[21] Rajha, H.N., Darra, N.E., Hobaika, Z., Boussetta, N., Vorobiev, E., Maroun, R.G. and Louka, N. (2014). Extraction of total phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins and tannins from grape byproducts by response surface methodology. Influence of solid-liquid ratio, particle size, time, temperature and solvent mixtures on the optimization process. Food and Nutrition Sciences. 5: 397-409.

[22] Nguang, S.L., Yeong, Y.L., Pang, S.F. and Gimbun, J. (2017). Ultrasonic assisted extraction on phenolic and flavonoid content from *Phyllanthus niruri* plant. Indian Journal of Science and Technology. 10(2): 1-5.

[23] Xu, D.P., Zheng, J., Zhou, Y., Li, Y., Li, S. and Li, H.B. (2017). Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Limonium sinuatu*: optimization and comparison with conventional methods. Food Chemistry. 217: 552-559.

[24] Santos, D., Vardanega, R. and De Almeida, M.A. (2014). Intensification of bioactive compounds extraction from medicinal plants using ultrasonic irradiation. Pharmacognosy Reviews. 8(16): 88-95.

[25] Anaya-Esparza, L.M., Ramos-Aguirre, D., Zamora-Gasga, V.M., Yahia, E. and Montalvo-González, E. (2018). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from Justicia spicigera leaves. Food Science and Biotechnology. 27(4): 1093-1102.

[26] Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y. and Li, X. (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. Food Chemistry. 106(2): 804-810.

[27] Goula, A.M. (2013). Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil-Kinetic modeling. Journal of Food Engineering. 117(4): 492-498.

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

[28] Muangrat, R., Pongsirikul, I. and Blanco, P.H. (2017). Ultrasound assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds from dried cob of purple waxy corn using response surface methodology. Journal of Food Processing and Preservation. 42(2). doi.org/10.1111/jfpp.13447

[29] Al-dhabi, N.A., Ponmurugan, K. and Maran, P. (2017). Development and validation of ultrasound-assisted solid-liquid extraction of phenolic compounds from waste spent coffee grounds. Ultrasonics Sonochemistry. 34: 206-213.

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok