

บทความวิจัย (Research Article)

สภาวะการสกัดที่เหมาะสมและการทำแห้งสารสกัดเมล็ดลิ้นจี่

ยุพารัตน์ โพธิ์เศษ^{1*} และ คมศักดิ์ พิณระ²

Optimum extraction condition and dehydration of lychee seeds extracts

Yuparat Potisate^{1*} and Komsak Pintha²¹ Division of Food Safety, School of Agricultural and Natural resource, University of Phayao, Phayao 56000² Division of Biochemistry, School of Medical Science, University of Phayao, Phayao 56000

*Corresponding author: yuparat.po@up.ac.th

Naresuan Phayao J. 2021;14(2):105-115.

Received: 29 October 2020; Revised: 2 November 2020; Accepted: 10 August 2021

บทคัดย่อ

ลิ้นจี่ (*Litchi chinesis* Sonn.) เป็นผลไม้เศรษฐกิจของประเทศไทยสามารถนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้ เมล็ดลิ้นจี่เป็นของเหลือทิ้งที่ยังไม่ค่อยมีการนำไปใช้ประโยชน์ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของสารละลายและวิธีการสกัดต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดลิ้นจี่เพื่อคัดเลือกสภาวะการสกัดที่ดีที่สุด เตรียมเมล็ดลิ้นจี่แบ่งเป็น 3 แบบ ได้แก่ ทั้งเมล็ด เฉพาะส่วนเนื้อเมล็ด เฉพาะส่วนเปลือกเมล็ด สกัดโดยใช้น้ำ เอทานอล กรดซิตริก และเบกกิ้งโซดาร่วมกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมโดยใช้แผ่นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และวิธีการสกัดโดยใช้ไมโครเวฟที่ 450 วัตต์ เป็นเวลา 15 นาที พบว่าการใช้กรดซิตริก 0.1% (w/v) ผสมกับเอทานอล 5% (v/v) ด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมเป็นสภาวะที่ดีที่สุด โดยมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH) และ 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) สูงที่สุด ($p < 0.05$) เมื่อนำสารสกัดเมล็ดลิ้นจี่มาแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งกับวิธีการทำแห้งโดยใช้ไมโครเวฟ ผลพบว่าการทำแห้งสารสกัดเมล็ดลิ้นจี่โดยใช้ไมโครเวฟคงปริมาณสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ใกล้เคียงกับวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ดังนั้นข้อมูลการวิจัยนี้สามารถประยุกต์ใช้สำหรับการสกัดและวิธีการทำแห้งที่เหมาะสมเพื่อคงปริมาณสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสู่การนำไปใช้ประโยชน์สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ และการเพิ่มมูลค่าเมล็ดลิ้นจี่

คำสำคัญ: เมล็ดลิ้นจี่, การสกัด, ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ, การทำแห้งโดยใช้ไมโครเวฟ

¹ สาขาความปลอดภัยทางอาหาร คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 56000² สาขาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 56000

Abstract

Lychee (*Litchi chinesis* Sonn.) is the economic fruit of Thailand that can be processed into various products. The research aims to study the influence of the solution and the extraction methods on antioxidant content of lychee seeds to determine the best extract conditions. The lychee seeds were prepared into three types such as whole seeds, pulp seed, and pericarp seed, extracted with water, ethanol, citric acid, and baking soda in combination with the conventional extraction methods (hot plate) at 90°C for 2 hours and microwave-assisted extraction methods at 450W for 15 mins. It was found that the use of 0.1% (w/v) citric acid mixed with 5 % (v/v) ethanol with conventional extraction methods was the best condition. It had the highest of the total phenolic content, total flavonoids and antioxidant activity by 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH) and 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) method ($p < 0.05$). When lychee seed extracts was dried by freeze-drying (FD) and microwave-assisted drying (MW), it was found that the MW of lychee seed extract maintains the antioxidants activity content like the FD method. Therefore, this research data can be apply for appropriated extraction and drying methods to maintain the amount of antioxidant contents to be used for healthy food products and to value-added for lychee seeds.

Keywords: Lychee seeds, Extraction, Antioxidant activity, Microwave drying

บทนำ

โดยปัจจุบันโรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ มะเร็งส่งผลต่อสุขภาพของประชากรทั่วโลกทำให้ประชากรทั่วโลกหันมาใส่ใจเรื่องสุขภาพมากขึ้นและเลือกผลิตภัณฑ์อาหาร ผัก ผลไม้เพื่อการบริโภคมากขึ้น การผลิตผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน โดยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่างๆ มักจะเป็นแหล่งรวมสารอาหารทางโภชนาการที่จำเป็นบางประการ เช่น วิตามิน กรดอะมิโนที่จำเป็น กรดไขมันที่จำเป็น โพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ เป็นต้น สารเหล่านี้เมื่อถูกเสริมหรือเป็นส่วนประกอบในอาหารเพื่อจะอยู่ในรูปที่สามารถดูดซึมง่าย ร่างกายนำไปใช้งานได้อย่างรวดเร็ว และสะดวกในการบริโภคได้ทันที ลิ้นจี่ (*Lychee*) ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Litchi chinesis* Sonn. จัดอยู่ในวงศ์ *Sapindaceae* เป็นพืชที่มีต้นกำเนิดจากประเทศจีนตอนใต้ และมีการปลูกอย่างแพร่หลายในหลายๆ ประเทศ เช่น เวียดนาม ญี่ปุ่น อินเดีย บังคลาเทศอเมริกาใต้ สหรัฐอเมริกา และประเทศไทย [1] สำหรับประเทศไทยลิ้นจี่จัดเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย มีพื้นที่ปลูกกันมากในเขตภาคเหนือโดยเฉพาะจังหวัดพะเยา เชียงใหม่ เชียงราย และน่าน พื้นที่จังหวัดพะเยาสามารถส่งออกในรูปแบบผล

สดและแปรรูป มีปริมาณผลผลิตในแต่ละปีมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น การแปรรูปลิ้นจี่เมล็ดลิ้นจี่จะเป็นส่วนเหลือทิ้งทางการเกษตรซึ่งมีรสหวาน ขมเล็กน้อย ลดการปวดท้อง ปวดบวม มีสารต้านอนุมูลอิสระและต้านเซลล์มะเร็งที่สำคัญๆ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ เคอซีทิน และเคมเฟอรอล ซึ่งช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งและช่วยต้านเซลล์มะเร็งเต้านม [2, 3] นักวิจัยชาวญี่ปุ่นค้นพบโพลิโกนอลเป็นสารโพลีฟีนอลที่มีโมเลกุลเล็กที่สุดที่พบในลิ้นจี่โดยเฉพาะส่วนเมล็ดลิ้นจี่ โดยโพลิโกนอลมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพสูงกว่าสารต้านอนุมูลอิสระอื่น ๆ สามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้มากกว่า 60% เมื่อเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระอื่น เช่น แอนโทไซยานินในชาเขียวหรือผลไม้ตระกูลเบอร์รี่สามารถดูดซึมได้เพียง 0.1% ในขณะที่เคอซีทินที่พบในแอปเปิ้ลมีอัตราดูดซึมเพียง 1-5% และฟลาโวนอลจากผลไม้ตระกูลส้มหรือโกโก้ดูดซึมได้เพียง 10-30% เท่านั้น [4] จากการศึกษาทางคลินิกและการวิจัยพบว่าโพลิโกนอลส่งผลต่อการลดปริมาณไขมันในช่องท้องของผู้มีภาวะอ้วนลงพุง [5] ลดการสะสมของไขมันในตับ [5] เร่งการเผาผลาญไขมัน ลดการดูดซึมไขมัน เพิ่มการไหลเวียนระบบหัวใจและหลอดเลือดกำจัดอนุมูลอิสระ เพิ่มความสดชื่น

กระตุ้นกระเจิง ขจัดความอ่อนล้าและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการออกกำลังกาย จากการศึกษาของ Choi et al. [6] ในสัตว์ทดลองพบว่าโอลิโกโนลยังสามารกระตุ้นความจำและลดการป่วยเป็นโรคความจำเสื่อมได้นอกจากนั้น Fuji et al. [7] ได้พิสูจน์ยืนยันความปลอดภัยของการบริโภคโอลิโกโนลและจัดโอลิโกโนลเป็น a new dietary ingredient (NDI) ซึ่งเป็นไปตามประกาศขององค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกาเมื่อพฤษภาคม ปี 2007 ดังนั้นผู้วิจัยจึงแนวคิดที่จะสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติในเมล็ดลิ้นจี่เพื่อพัฒนาเป็นอาหารเสริม การใช้ประโยชน์ในการอุตสาหกรรมอาหารและยา

การสกัดสารสำคัญต่างๆ ในพืชผัก ผลไม้ พืชสมุนไพรนั้นสามารถประยุกต์ใช้ได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่าง โดยมากมักใช้ตัวทำละลายในการสกัดและนิยมทำการสกัดในสภาวะที่เป็นกรด ปริมาณและฤทธิ์ของสารสำคัญขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ที่ใช้ในการสกัด อาทิเช่น ชนิดของตัวทำละลาย อัตราส่วนของตัวอย่างและตัวทำละลาย ชนิดของกรดและค่าความเป็นกรด-ด่างที่ใช้ในการสกัด เป็นต้น ตัวทำละลายที่นิยมใช้สกัดสารกลุ่ม phenolic compound ได้แก่ เมทานอลหรือเอทานอลโดยมีสารละลายกรดร่วมด้วย [8] อย่างไรก็ตามสภาวะดังกล่าวมักมีความเป็นกรดสูงซึ่งอาจไม่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์รวมถึงอาจก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม

การสกัดด้วยไมโครเวฟ (microwave-assisted extraction, MAE) ถือเป็นเทคโนโลยีและนวัตกรรมการสกัดสารที่เรียกว่า green extraction เนื่องจากสามารถลดระยะเวลาการสกัด ประหยัดพลังงาน มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยหลักการทำงานของการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟอาศัยพลังงานความร้อนจาก 2 แบบร่วมกัน แบบแรกเกิดจากการเคลื่อนที่ของไอออนในสารละลายตัวอย่างซึ่งจะถูกกระตุ้นและเร่งให้มีการเคลื่อนที่ ก่อให้เกิดการเสียดสีหรือการชนของโมเลกุลในสารละลายตัวอย่างจนเปลี่ยนเป็นพลังงานจลน์ในรูปความร้อน แบบที่สองเกิดจากความร้อนที่เกิดขึ้นสารละลายตัวอย่างส่งผลให้โมเลกุลน้ำมีการเรียงตัวของประจุอย่างไร้ระเบียบ เมื่อเข้าสู่สนามไฟฟ้าจะเกิดการเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วเกิด

การชนกันของโมเลกุลจนก่อให้เกิดความร้อน ส่งผลให้น้ำในสารละลายเกิดการเดือดอย่างรวดเร็วและต่อเนื่อง [9] การสกัดด้วยเทคโนโลยีไมโครเวฟจะใช้เวลาน้อย ประหยัดพลังงานเมื่อเทียบกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม จากรายงานของ Zeill-e-Huma et al. [10] สกัดสารฟีนอลิกและสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ต่างๆ ในตัวอย่างหอมหัวใหญ่ พบว่าการสกัดด้วยไมโครเวฟมีประสิทธิภาพและได้ปริมาณสารสำคัญต่างๆ มากกว่าการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม โดยใช้กำลังของไมโครเวฟที่ 500 วัตต์ นอกจากนี้ สารที่สกัดได้มักมีความคงตัวสูงกว่างานวิจัยของ Vadivambal & Jayan [11] และ Lemmens et al. [12] แสดงให้เห็นว่าสารสำคัญที่สกัดได้จากผลสตรอเบอรี่ยังคงประสิทธิภาพมากกว่าการสกัดด้วยวิธีลวกด้วยน้ำร้อนหรือไอน้ำ จากรายงานของ Routray et al. [13] การใช้คลื่นไมโครเวฟในการสกัด total phenolic compounds จากใบบลูเบอร์รี่ด้วยตัวทำละลายชนิดเอทานอล 30% ร่วมกับกรดซิกตริก 1.5 โมลาร์ พบว่าใช้กำลังของเครื่องไมโครเวฟเพียง 20% และใช้เวลาสกัดเพียง 24 นาที เมื่อศึกษาฤทธิ์ของการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP พบว่า มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการสกัดด้วยวิธีทำแห้งแบบระเหิด (freeze drying) มีรายงานการสกัดสารจากพืชต่างๆ โดยวิธีแบบไมโครเวฟร่วม เช่น สกัดจากเมล็ดมะม่วง [14] ข้าว [15] มะเขือเทศ [16] ใบพิสตาชิโอป่า (*Pistacia lentiscus*) [17] เชอร์รี่ (*Prunus cerasus* var. Marasca) [18] ดอกบัวหลวง [19] แต่อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานวิจัยการสกัดสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดลิ้นจี่โดยวิธีสกัดแบบไมโครเวฟ

การทำแห้ง (Drying) เป็นการใช้ความร้อนภายใต้สภาวะควบคุมเพื่อขจัดน้ำอิสระที่อยู่ในอาหารเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหารโดยการลดค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (Water activity, A_w) ทำให้มีผลยับยั้ง การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และการทำงานของเอนไซม์ ข้อได้เปรียบที่สำคัญของการทำแห้ง คือน้ำหนักเบา เนื่องจากมีน้ำส่วนหนึ่งมีการกำจัดออกไป ทำให้น้ำหนักอาหารลดลง สะดวกในการบรรจุหีบห่อและการขนส่ง อีกทั้งยังง่ายต่อการเก็บรักษาและมีความคงตัวต่อสภาวะการเก็บรักษา กระบวนการทำแห้งและการเลือกเครื่องทำแห้งที่เหมาะสมเพื่อให้

อาหารแต่ละชนิดแห้งมีการ สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ น้อยที่สุด [20] เครื่องทำแห้ง (Dryer) จะอาศัยหลักการ นำและการพาความร้อนเป็นสำคัญ การทำแห้งนั้น ทำได้หลายวิธี เช่น การทำแห้งโดยใช้ไมโครเวฟ ซึ่งไมโครเวฟเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า มีลักษณะเหมือน แสงที่เป็นเส้นตรงและทะลุผ่านสารซึ่งมีสมบัติโปร่งใส การเกิดความร้อนด้วยไมโครเวฟนั้นเกิดขึ้นเนื่องจาก ไมโครเวฟถูกดูดซับเข้าสู่ชั้นอาหารจะเกิดความร้อนได้ 2 แบบร่วมกันได้จากผลการเคลื่อนที่ของไอออนใน สารละลายจะถูกกระตุ้นและเร่งให้มีการเคลื่อนที่จึงทำ ให้เกิดการเสียดสีหรือการชนจนเปลี่ยนพลังงานจลน์ เป็นพลังงานความร้อน และเกิดความร้อนกับน้ำที่มี การเรียงตัวของประจุอย่างไว้ระเบียบเมื่อเข้าสู่ สนามไฟฟ้าจะเคลื่อนที่เพื่อจัดระเบียบจึงเกิดการหมุน ตัวอย่างรวดเร็วจนทำให้เกิดการเสียดสีให้ความร้อน เกิดขึ้น เนื่องจากผลของการเดือดของน้ำรวดเร็วและ ต่อเนื่อง จึงทำให้ความร้อนเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว เมื่อเทียบกับวิธีการให้ความร้อนแบบดั้งเดิม และการ ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) โดยแช่ เยือกแข็งอาหารในเครื่องแช่เยือกแข็งอย่างรวดเร็วให้ เกิดผลึกน้ำแข็งขนาดเล็กและเพื่อลดความเสียหายที่จะ เกิดกับเซลล์ของอาหาร เมื่ออาหารได้รับความร้อน น้ำแข็งจะระเหิดไปเป็นไอน้ำทันทีโดยไม่ผ่านการ ละลาย ไอน้ำจะถูกกำจัดออกจากอาหารอย่างต่อเนื่อง ด้วยปั๊มสุญญากาศและกลั่นตัวบนขดลวดทำความเย็น จนกระทั่งน้ำอิสระในอาหารเคลื่อนที่ออกไปทาง ผิวหน้าของอาหาร ดังนั้นการทำแห้งแบบระเหิดจึงมี ข้อดีคือเป็นการทำแห้งที่อุณหภูมิต่ำ อาหารที่ได้จึงมี คุณภาพทางประสาทสัมผัสและคุณค่าทางโภชนาการ สูงอย่างไรก็ตามการทำแห้งแบบระเหิดเป็นกระบวนการ ที่มีราคาแพง [21] ด้วยเหตุนี้งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาอิทธิพลของสารละลายร่วมกับวิธีการสกัด แบบดั้งเดิมโดยใช้แผ่นความร้อนเปรียบเทียบกับ วิธีการสกัดโดยใช้ไมโครเวฟต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดลิ้นจี่ ได้แก่ ปริมาณฟีนอลิก ทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณสาร ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อการคัดเลือกสภาวะการสกัดที่ เหมาะสม และการศึกษาผลของวิธีการทำแห้งสารสกัด เมล็ดลิ้นจี่ด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งกับ

วิธีการทำแห้งโดยใช้ไมโครเวฟเพื่อคัดเลือกวิธีการทำ แห้งที่สามารถคงปริมาณสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจะเป็นข้อมูลสำหรับประยุกต์ในการพัฒนาการผลิต เพื่อต่อยอดในเชิงพาณิชย์และเป็นกลไกสำคัญในการ เพิ่มมูลค่าและใช้ประโยชน์วัตถุดิบลิ้นจี่ได้กว้างขวาง ยิ่งขึ้น

วัสดุและวิธีการ

2.1 การเตรียมเมล็ดลิ้นจี่

ลิ้นจี่ (*Litchi chinesis* Sonn.) พันธุ์สงขลา เก็บเกี่ยวจากแหล่งปลูกและซื้อมาจากแหล่งปลูก เดียวกันในเขตพื้นที่อำเภอแม่ใจ จังหวัดพะเยา นำมา ล้าง ปอกเปลือกและควั่นเอาเนื้อออก ใช้เฉพาะ เมล็ดโดยนำมาล้าง และทำการแยกเป็น 3 ส่วน คือ 1) ทั้งเมล็ด 2) ผ่ากะเทาะเฉพาะส่วนที่เป็นเปลือกแข็ง สีน้ำตาล และ 3) เฉพาะส่วนเนื้อเมล็ดสีขาวน้ำตาล นำเมล็ดลิ้นจี่แต่ละส่วนบดให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไป สกัดหรือแช่เยือกแข็งที่ -18 องศาเซลเซียส เพื่อบรรณ ำไปสกัดใช้ต่อไป

2.2 การเตรียมการสกัดและการสกัด ตัวอย่าง

ประยุกต์วิธีของ Castañeda-Ovando et al. [8] โดยเตรียมการสกัด 4 วิธี ได้แก่

- 1) การสกัดโดยใช้น้ำ โดยการผสมเมล็ด ลิ้นจี่บดต่อน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 (w/v)
- 2) การสกัดโดยใช้เอทานอล (Ethanol, RCI Labscan, Ireland) ร้อยละ 5 ในอัตราส่วนเมล็ด ลิ้นจี่บดต่อสารละลายทั้งหมด 1:10 (w/v)
- 3) การสกัดด้วยสารละลาย acidified โดยใช้กรดซิตริกชนิดใช้สำหรับอาหาร ($C_6H_8O_7$, food grade, Chemical co.,ltd.) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ผสมกับเอทานอลร้อยละ 5 ในอัตราส่วนเมล็ดลิ้นจี่บด ต่อสารละลายทั้งหมด 1:10 (w/v)
- 4) การสกัดด้วยสารละลาย alkaline โดยใช้โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaH_2CO_3 , food grade, Mcgarrett, AUS) ชนิดใช้สำหรับอาหาร ความเข้มข้น ร้อยละ 0.1 ผสมกับเอทานอลร้อยละ 5 ในอัตราส่วน เมล็ดลิ้นจี่บดต่อสารละลายทั้งหมด 1:10 (w/v)

นำตัวอย่างที่เตรียมการสกัดทำการสกัดโดยประยุกต์วิธีดั้งเดิม โดยใช้แผ่นความร้อน (Hot plate extraction method, HP) (IKA, HOTPLATE MAGNETIC STIRRER, C-MAG HS7, speed range 100 - 1500 rpm, 1000W, Germany) ควบคุมอุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง [22] และการสกัดโดยประยุกต์ใช้ไมโครเวฟ (Microwave-assisted extraction method, MW) (Samsung microwave, รุ่น ME711K/XST, Thailand) ที่ 450 วัตต์ เป็นเวลา 15 นาที [10] เมื่อครบตามเวลาที่สกัด ทำการลดอุณหภูมิของตัวอย่างโดยวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องปกติ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปกรองผ่านผ้าและกรองผ่านกระดาษกรอง (Whatman No. 1) บรรจุในขวดสีชาเก็บรักษาไว้ที่ -18 องศาเซลเซียส นำไปวิเคราะห์คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ คำนวณปริมาณความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ด้วยวิธี 2, 2'-Diphenyl -1 -picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH) และ 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) โดยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยคำนวณความเข้มข้นที่ยับยั้งได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) โดยวิธี DPPH และ ABTS บ่งบอกปริมาณการต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH และ ABTS ลดลงร้อยละ 50 [23] และวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content; TPC) เทียบกับกรดแกลลิกมาตรฐาน (Gallic acid, Sigma Aldrich, USA) รายงานในหน่วย mg Gallic acid (GA)/g extract [23] และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมทั้งหมด (Total flavonoid content; TFC) เทียบกับคาเทชินมาตรฐาน (Catechin, Sigma Aldrich, USA) รายงานในหน่วย mg Catechin (CT)/g extract [24] ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoids) [24] ใช้กรดแกลลิกมาตรฐานรายงานในหน่วย mg Gallic/g extract เพื่อคัดเลือกการเตรียมการสกัด

2.3 การทำแห้งสารสกัดเมล็ดลิ้นจี่ผง

นำตัวอย่างสมภาวะที่ดีที่สุดจากการสกัดเมล็ดลิ้นจี่ในข้อ 2.2 มาทำให้อยู่ในรูปแบบผง (powder form) ด้วยวิธีการทำแห้งโดยใช้เครื่องไมโครเวฟที่ 750 วัตต์ เป็นเวลา 8 นาที และทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (ยี่ห้อ ScanVac, รุ่น CoolSafe™ 55-4,

Denmark) เป็นเวลา 18 ชั่วโมง โดยทำแห้งจนกระทั่งตัวอย่างมีความชื้นสุดท้ายไม่เกิน 10% โดยน้ำหนักแห้งหรือมีค่า water activity ($Aw < 0.6$) (Aqua Lab, model 4 TE, Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA) จากนั้นนำตัวอย่างหลังการทำแห้งไปบดเป็นผงขนาดอนุภาคไม่เกิน 50 ไมครอน โดยการร่อนผ่านตะแกรงขนาด 35 mesh วิเคราะห์คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่เพื่อเปรียบเทียบวิธีการทำแห้งโดยใช้เครื่องไมโครเวฟ และการทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งโดยพิจารณาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และ ABTS [23] ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด [24]

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

โดยวางแผนการทดลองแบบ Split-split plot model วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวอย่างแต่ละที่รีดเม้นท์ด้วยวิธี Duncan's new multiple range test ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows เวอร์ชัน 19

ผลการศึกษา

จากการทดลองเมื่อนำเมล็ดลิ้นจี่ภายหลังการล้างทำความสะอาด และทำการแยกเป็น 3 ส่วน คือ 1) ทั้งเมล็ด (Whole) 2) ผ่ากะเพาะเฉพาะส่วนที่เป็นเปลือกแข็งสีน้ำตาล (pericarp seed) และ 3) เฉพาะส่วนเนื้อเมล็ดสีขาวน้ำตาล (pulp seed) นำไปบดผสมกับสารสกัด 4 ชนิด ได้แก่ น้ำ เอทานอล กรดซิตริก และโซเดียมไบคาร์บอเนต สกัดโดยประยุกต์ใช้วิธีการสกัดแบบดั้งเดิมโดยใช้แผ่นความร้อน (hot plate extraction method, HP) เปรียบเทียบกับการสกัดโดยใช้ไมโครเวฟ (Microwave-assisted extraction method, MW) เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoids) และคำนวณปริมาณความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ด้วยวิธี 2, 2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH) และ 2, 2'-

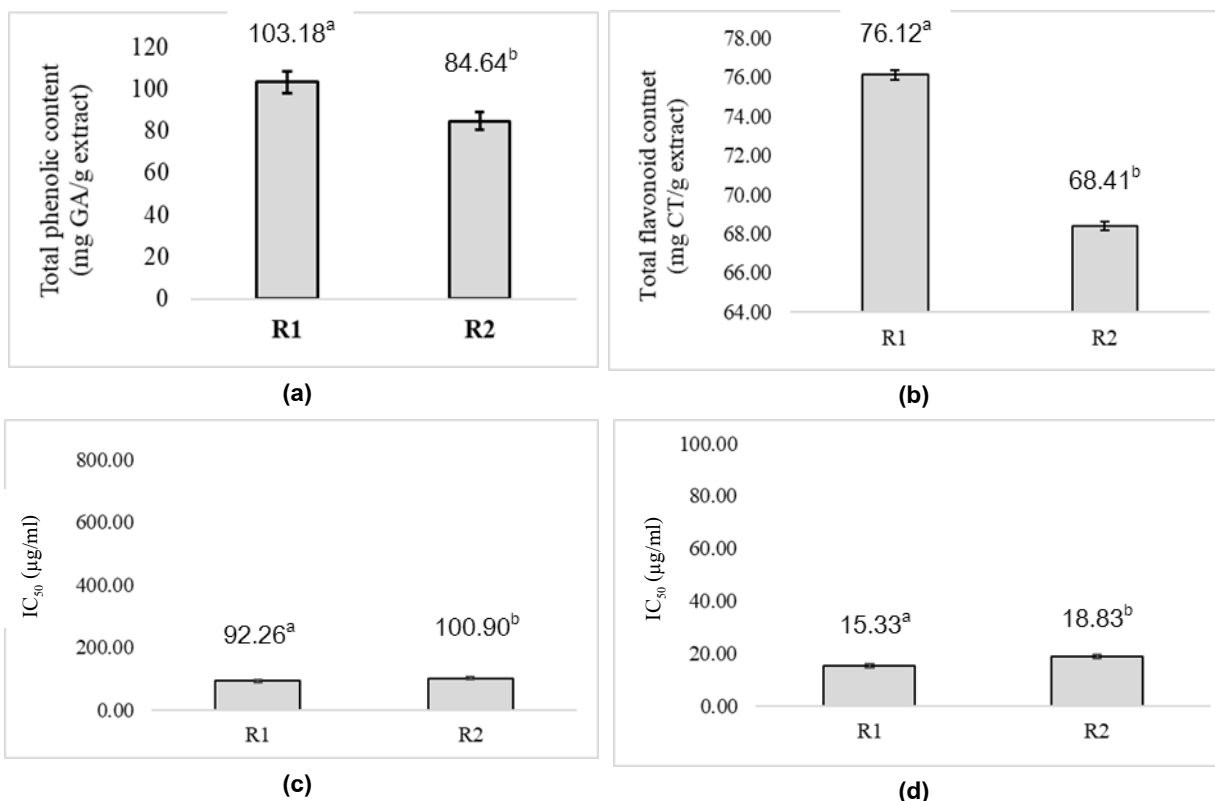
azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) ดังตาราง 1 พบว่าการสกัดโดยวิธี HP และวิธี MW ตลอดจนการส่วนต่างๆ ของเมล็ดลิ้นจี่ทั้งส่วนทั้ง เมล็ด (whole) ส่วนเปลือกเมล็ดสีน้ำตาล (pericarp seed) เฉพาะส่วนเนื้อเมล็ด (pulp seed) และการเตรียม สารสกัดโดยวิธีต่างๆ ส่งผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง

เมล็ดลิ้นจี่ทั้งเมล็ด (whole) สกัดร่วมกับกรดซิตริก และสกัดโดยวิธี HP ทำให้มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 103.10 mg GA/g extract ปริมาณฟลาโวนอยด์ ทั้งหมด 76.12 mg CT/g extract กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH 92.26 IC_{50} ($\mu g/ml$) และวิธี ABTS 15.33 IC_{50} ($\mu g/ml$) ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าทรีตเมนต์อื่นๆ ($p < 0.05$)

ตาราง 1 ผลของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ โดยเปรียบเทียบวิธีการสกัดโดยประยุกต์ใช้วิธีการดั้งเดิมโดยใช้แผ่นความร้อน (Hot plate extraction method, HP) และการสกัดโดยใช้ไมโครเวฟ (Microwave-assisted extraction method, MW) ส่วนของเมล็ดลิ้นจี่ และวิธีการเตรียมสารสกัดต่างๆ

Extraction Method	Lychee seed	Pre-treatment	TPC (mg GA/g extract)	Total flavonoids (mg CT/g extract)	Antioxidant activity (by DPPH) IC_{50} ($\mu g/ml$)	Antioxidant Activity (by ABTS) IC_{50} ($\mu g/ml$)
HP	Whole	H ₂ O	56.37 ^{fg} ±6.57	10.05 ^{ijklm} ±0.82	320.59±43.04	59.48 ⁱ ±4.47
		EtOH	50.65 ^g ±5.47	3.12 ^m ±0.32	366.56 ^k ±38.06	59.82 ⁱ ±7.45
		Citric acid	103.10^a±0.347	76.12^a±0.27	92.26^a±0.33	15.33^a±0.281
		NH ₂ CO ₃	81.92 ^c ±10.91	9.816 ^{ijklm} ±0.82	>1000.00 ^l ±0.33	19.36 ^{ab} ±11.89
	pulp seed	H ₂ O	64.11 ^{def} ±1.37	26.30 ^{defg} ±10.92	126.00 ^{bc} ±3.14	40.90 ^{de} ±0.60
		EtOH	68.96 ^{de} ±4.56	29.16 ^{de} ±13.75	136.75 ^{bc} ±5.30	39.34 ^{cd} ±0.75
		Citric acid	40.25 ^h ±3.11	18.34 ^{ghij} ±11.16	141.26±14.01	42.84 ^{def} ±1.22
		NH ₂ CO ₃	99.02 ^a ±7.10	43.70 ^b ±17.11	124.93 ^{bc} ±1.97	33.59 ^c ±0.30
	Pericarp seed	H ₂ O	42.01 ^h ±3.61	19.71 ^{efghi} ±0.90	226.54 ^g ±8.20	45.81 ^{defg} ±3.41
		EtOH	36.09 ^{hi} ±3.97	16.24 ^{ghijk} ±0.82	254.49 ^h ±17.92	54.79 ^{hi} ±3.70
		Citric acid	50.97 ^g ±5.19	5.276 ^{lm} ±1.10	237.54 ^{gh} ±7.52	45.88 ^{defg} ±2.07
		NH ₂ CO ₃	82.43 ^c ±12.93	33.17 ^{cd} ±0.96	116.08 ^b ±5.52	24.14 ^b ±0.44
MW	Whole	H ₂ O	24.14 ⁱ ±1.85	11.62 ^{ijklm} ±0.34	277.08±3.52	54.06 ^{hi} ±3.62
		EtOH	28.74 ^{ij} ±0.94	14.68 ^{ghijkl} ±0.62	241.45 ^{gh} ±4.81	47.89 ^{efgh} ±3.30
		Citric acid	88.46 ^{bc} ±6.70	7.28 ^{klm} ±3.50	191.27 ^{de} ±4.49	20.56 ^{ab} ±0.52
		NH ₂ CO ₃	40.02 ^h ±3.93	16.11 ^{ghijk} ±0.27	>1000.00 ^l ±0.33	51.40 ^{hi} ±7.19
	pulp seed	H ₂ O	89.86 ^{bc} ±2.57	39.66 ^{bc} ±0.25	114.04 ^b ±3.43	22.13 ^{ab} ±1.99
		EtOH	71.56 ^d ±3.32	30.76 ^{cd} ±1.37	129.32 ^{bc} ±2.53	26.57 ^b ±1.32
		Citric acid	80.61 ^c ±1.01	8.82 ^{klm} ±0.58	127.02 ^{bc} ±1.52	23.29 ^b ±0.67
		NH ₂ CO ₃	95.75 ^{ab} ±4.70	26.95 ^{def} ±0.74	>1000.00 ^l ±0.33	22.07 ^b ±1.70
	Pericarp seed	H ₂ O	40.05 ^h ±1.27	18.91 ^{fghi} ±0.95	201.21 ^{de} ±1.66	49.18 ^{fgh} ±4.58
		EtOH	37.15 ^{hi} ±4.01	15.75 ^{ghijkl} ±0.71	213.04 ^e ±3.60	51.91 ^{gh} ±1.76
		Citric acid	61.64 ^{ef} ±3.51	3.323 ^m ±0.94	188.06 ^d ±0.14	39.76 ^{cd} ±1.35
		NH ₂ CO ₃	65.09 ^{def} ±2.67	23.99 ^{defgh} ±1.28	>1000.0 ^l ±0.00	26.02 ^b ±0.80

a,b,... Means within the same column followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$); mean ± standard deviation



รูป 1 ผลการเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมล็ดลิ้นจี่โดยการเตรียมสารสกัดด้วยวิธี Acidified โดยใช้กรดซิตริกและประยุกต์วิธีการสกัดแบบ HP ภายหลังการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (R1) กับการทำแห้งโดยใช้ไมโครเวฟ (R2) โดยที่ (a) ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (b) ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (c) กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (d) กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS

จากรูป 1 แสดงผลการเปรียบเทียบผลของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมล็ดลิ้นจี่โดยการเตรียมสารสกัดด้วยกรดซิตริกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และประยุกต์วิธีการสกัดแบบดั้งเดิมโดยใช้แผ่นความร้อน (Hot Plate, HP) ที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ภายหลังการนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (R1) กับการทำแห้งโดยใช้ไมโครเวฟ (R2) พบว่าสารสกัดเมล็ดลิ้นจี่ที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (R1) คงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดได้มากกว่าการทำแห้งโดยใช้ไมโครเวฟ (R2) แต่หากพิจารณาค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และ ABTS จะพบว่าการทำแห้งโดยใช้ไมโครเวฟมีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงและสูงกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเล็กน้อย ($p < 0.05$)

วิจารณ์

ปริมาณ TPC ปริมาณฟลาโวนอยด์ และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และ ABTS ของสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่ในสภาวะกรดด้วยการเติมกรดซิตริกและการสกัดด้วยวิธี HP แสดงการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่เป็นน้ำ เอทานอล หรือโซเดียมไบคาร์บอเนตร่วมและวิธีสกัดด้วย MW (ตาราง 1) สอดคล้องกับการสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยเอทานอลในสภาวะกรดสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดได้ปริมาณสูงที่สุด [25] การสกัดใบหมี่เหม็นด้วยวิธีแบบดั้งเดิม ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด [26] และเช่นเดียวกับงานวิจัย Chankaew et al. [27] ทำการสกัดสาหร่ายก้ามกุ้งด้วยเอทานอลสามารถสกัดสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าการสกัดด้วยน้ำ โดยทั่วไปปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดสารออก

ฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ สารละลาย ความเข้มข้นของกรด พีเอช อุณหภูมิ และระยะเวลา เป็นต้น [28] นอกจากนั้นความสามารถในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกและอนุพันธ์ของสารฟีนอลิก เช่น ความมีขั้ว ความเป็นกรด หรือความเป็นด่างของสารตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด สารละลายเอทานอลและน้ำใช้ในการสกัดสารประกอบมีขั้ว เช่น ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ เป็นต้น [29] การสกัดด้วยวิธี HP ใช้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซึ่งใช้เวลานานกว่าการสกัดด้วย MW การใช้เวลาในการสกัดมีส่วนทำให้การแพร่หรือการถ่ายเทมวลสารเป็นเวลานานขึ้นส่งผลให้ TPC และฟลาโวนอยด์ถูกสกัดและแพร่ออกมาในสารละลายได้เพิ่มมากขึ้นซึ่งสัมพันธ์กับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูงขึ้น [30] การใช้ไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเมื่อเข้าไปในสารละลายโมเลกุลของน้ำในสารละลายมีโมเลกุลประจุบวกและประจุลบจะถูกเหนี่ยวนำและหมุนขั้วเพื่อจัดเรียงตัวในสนามไฟฟ้าของคลื่นและทำให้คลื่นเกิดการเปลี่ยนแปลงสลับไปมาส่งผลต่อโมเลกุลน้ำเกิดการหมุนไปมาเกิดความร้อนขึ้นอย่างฉับพลัน [31] แตกต่างจากการสกัดด้วยความร้อนแบบดั้งเดิมที่ต้องถ่ายเทความร้อนไปที่ภาชนะก่อนส่งผ่านความร้อนให้กับสารละลายจึงใช้เวลานานและทำให้โมเลกุลของสารละลายและตัวอย่างมีความร้อนเพียงพอในการสกัดการตัวอย่าง แต่ในขณะที่การสกัดด้วย MW ทำให้สารละลายเกิดความร้อนจากภายในโมเลกุล ด้วยเหตุนี้ในการสกัดด้วย MW จึงส่งผลให้สารสกัดมีปริมาณสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลง เนื่องจากถูกทำลายด้วยความร้อนทำให้การเสื่อมสภาพของผลผลิตและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ [13] อย่างไรก็ตามการสกัดโดยใช้ไมโครเวฟ (15 นาที) ช่วยลดเวลาในการสกัดคิดเป็น 87.5% เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมโดยใช้แผ่นความร้อน (2 ชั่วโมง)

จากการทำแห้งสารสกัดเมล็ดลิ้นจี่ด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (R1) คงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดได้มากกว่าการทำแห้งโดยใช้ไมโครเวฟ (R2) ซึ่งเป็นผลสืบเนื่องจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) ใช้อุณหภูมิต่ำ [21] จึงช่วยรักษาและคงปริมาณฟีนอลิก

และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดได้ดี การทำแห้งโดยใช้ไมโครเวฟซึ่งเกิดความร้อนภายในโมเลกุลและเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว [31] เกิดอุณหภูมิในการทำแห้งสูงกว่าส่งผลทำลายโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เกิดสารประกอบฟีนอลิกเฉพาะเจาะจงขึ้น [32, 33] เมื่อทำปฏิกิริยากับสาร DPPH และ ABTS ทำให้ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ไมโครเวฟใกล้เคียงและสูงกว่าเล็กน้อยสอดคล้องกับรายงานของ Xiang Ng et. al [34] ในการทำแห้งสารสกัดจากใบบัวบกและว่านหางจระเข้ และรายงานของ Valadez-Carmona et. al. [35] ในการทำแห้งเปลือกโกโก้ด้วยไมโครเวฟพบสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูงกว่าวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

ผลของการสกัดเมล็ดลิ้นจี่ ได้แก่ ทั้งเมล็ด เนื้อลิ้นจี่ และเฉพาะเปลือกเมล็ดจี่ด้วยสารละลายแตกต่างกัน ร่วมกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมโดยใช้ HP และ MW พบว่าการเติมกรดซิตริกร่วมกับวิธีการสกัดแบบ HP มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแสดงคุณสมบัติฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดภายหลังการทำแห้งสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่โดยใช้ไมโครเวฟหรือวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง การทำแห้งทั้ง 2 วิธี มีผลต่อความคงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน ดังนั้นข้อมูลจากการวิจัยนี้สามารถประยุกต์ใช้เป็นแนวทางสำหรับการสกัดเมล็ดลิ้นจี่ที่คงปริมาณสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี สามารถเพิ่มมูลค่าและใช้ประโยชน์เมล็ดลิ้นจี่ได้กว้างขวางยิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังอาจผลิตเป็นสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากเมล็ดลิ้นจี่ผงสำหรับนำไปเป็นส่วนประกอบอาหารหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณอย่างยิ่งสำหรับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี พ.ศ. 2562 มหาวิทยาลัยพะเยา สัญญาเลขที่ RD62025 ที่ให้การสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณคณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา สำหรับสถานที่ดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Rivera-López J, Ordorica-Falomir C, Wesche-Ebeling P. Changes in anthocyanin concentration in Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp during maturation. Food Chemistry. 1999; 65: 195–200.
2. Wang L, Lou G, Ma Z, Liu X. Chemical constituents with antioxidant activities from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) seeds. Food Chem. 2011; 126: 1081-1087.
3. Muthusamy A, Swathy PS, Kiran KR. Biotechnological interventions in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) for the improvement of fruits quality and postharvest storage. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2017.101-137p.
4. Park CH, Noh JS, Fujii H, Roh SS, Song YO, Choi JS, Chung HY, Yokazawa T. Oligonal, a low-molecular-weight polyphenol derived from lychee fruit, attenuates gluco-lipotoxicity-mediated renal disorder in type 2 diabetic ab/db mice. Drug Discov Ther. 2015; 9(1): 13-22.
5. Nishihira J, Sato-Ueshima M, Kitadate K, Wakame K, Fujii H. Amelioration of abdominal obesity by low-molecular-weight polyphenol (Oligonal) from lychee. J Functional Foods. 2009;(1): 341-348.
6. Choi YY, Maeda T, Fujii H, Yokazawa T, Hyun YK, Cho EJ, Shibamoto T. Oligonal improves memory and cognition under an amyloid β 25-35-induced Alzheimer's mouse model. Nutr Res. 2014; 34: 595-603.
7. Fuji H, Nishioka H, Wakame K, Magnuson BA, Roberts A. Acute subchronic and genotoxicity studies conducted with oligonal, an oligomized polyphenol formulated from lychee and green tea extracts. Food Chem Toxic. 2008; 46(12): 3553-3562
8. Castañeda-Ovando A, Pacheco-Hernández L, Páez-Hernández E, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA. Chemical studies of anthocyanins: a review. Food Chem. 2009; 113: 859-871.
9. Yimtoe S. (2014). Food preservation. Bangkok: Odeon store Ltd. 216 p. (in Thai)
10. Zill-e-Huma, Vian MA, Maingonnat JF, Chemat F. Clean recovery of antioxidant flavonoids from onions: Optimising solvent free microwave extraction method. J Chromatogr A. 2009; 1216: 7760-7707.
11. Vadivambal R, Jayas DS. Changes in quality of microwave-treated agricultural products-A review. Biosyst Eng. 2000; 98: 1-16.
12. Lemmens L, Tiback E, Svelander C, Smout C, Ahrne L, Langton M, Alminger M, Loey AV, Hendrickx M. Thermal pretreatments of carrot pieces using different heating techniques: Effect on quality related aspects. Innov Food Sci Emerg Technol. 2009; 10: 522-529.
13. Routray W, Orsat V, Gariepy Y. Effect of different drying methods on the microwave extraction of phenolic components and antioxidant activity of highbush blueberry leaves. Drying Technol. 2014; 32: 1888-1904.
14. Torres-León C, Rojas R, Serna-Cock L, Belmares-Cerda R, Noé Aguilar C. Extraction of antioxidants from mango seed kernel: Optimization assisted by microwave. Food Bioprod Process. (2017).105, 188-196.
15. Setyaningsih W, Saputro IE, Palma M, Barroso CG. Optimisation and validation of the microwave-assisted extraction of phenolic compounds from rice grains. Food Chem. 2015; 169: 141-149.

16. Li H, Deng Z, Wu T, Liu R, Loewen S, Tsao R. Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes. *Food Chem.* 2012; 130(4): 928-936.
17. Dahmoune F, Spigno G, Moussi K, Remini H, Cherbal A, Madani K. *Pistacia lentiscus* leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction. *Ind Crops Prod.* 2014; 61: 31-40.
18. Garofulic IE, Uzelac VD, Jambrak AR, Jukic M. The effect of microwave assisted extraction on the isolation of anthocyanins and phenolic acids from sour cherry Marasca (*Prunus cerasus* var. Marasca). *J Food Eng.* 2013; 117: 437-442.
19. Narkprasom K, Varith J, Upara U, Thanongkankit Y, Narkprasom N. Optimized Extraction of Total Phenolic Compounds from *Nelumbo nucifera* Gaertn Using Microwave Assisted Extraction (MAE). *KKU Sci J.* 2017; 45: 328-342.
20. Pongsawatmanit R. *Experiments in Process Engineering for Agro-Industry*. 2nd. Bangkok: Kasetsart University Press. 2013. 253p.
21. Rungsardthong V. *Food processing technology*. 5th. Bangkok: King Mongkut's University of Technology North Bangkok. 2009. 500p.
22. Potisate Y, Phoungchandang S, Kerr WL. The effects of predrying treatments and different drying methods on phytochemical compound retention and drying characteristics of moringa leaves (*Moringa oleifera* Lam.). *Drying Technol.* 2014; 0: 1-16.
23. Liu SC, Lin JT, Wang CK, Chen HY, Yang DJ. Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) flowers. *Food Chem.* 2009; 114: 577-581.
24. Qi S, Zhou D. Lotus seed pericarp extract as potential antioxidant and anti-obesity additive in Chinese Cantonese sausage. *Meat Sci.* 2013; 93: 257-262.
25. Chodok P, Khumkhom S. Optimization of Extraction Conditions for Improving Bioactive Compounds and Antioxidant Activities from Karonda (*Carissa carandas* Linn.) Fruits Using Response Surface Methodology. *Burapha Sci J.* 2019; 25 (2): 617-635.
26. Siramon P, Eiadthong W. Effects of extraction methods on total phenolic content and antioxidant activity of *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B. Rob. Leaves. *Sci Technol RMUTT J.* 2018; 8(2): 45-52.
27. Chankaew W, Yangthong M, Sangkaew J. Evaluation of Antioxidant Activity and Phytochemical from Kamkung (*Chara corallina* Klein ex C.L. Willenow). *Princess of Naradhiwas University J.* 2020; 12(3): 297-314.
28. Belwal T, Dhyani P, Bhatt ID, Rawal RS, Pande V. Optimization extraction conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in *Berberis asiatica* fruits using response surface methodology (RSM). *Food Chem.* 2016; 207: 115-124.
29. Prasad KN, Yang E, Yi C, Zhao M, Jiang Y. Effects of high pressure extraction on the extraction yield, total phenolic content and antioxidant activity of longan fruit pericarp. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2009; 10: 155-159.

30. Hong R, Ting L, Huijie W. Optimization of extraction condition for phytic acid from peanut meal by response surface methodology. *Res Effic Technol*. 2017; 3: 226-231.
31. Terigar BG, Balasubramanian S, Boldor D. An analysis of the microwave dielectric properties of solvent-oil feedstock mixtures at 300–3000 MHz. *Biores Technol*. 2010; 101: 6510-6516.
32. Kanadawam C, Lee L, Lee P, Hwang J, Ke F, Huang Y, Lee M. The Antitumor Activities of Flavonoids. *In Vivo*. 2005; 19(5): 895-909.
33. Ghafoora K, Juhaimia FA, Özcanb MM, Uslub N, Babikera EE, Mohamed Ahmed I. Total phenolics, total carotenoids, individual phenolics and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) rhizome as affected by drying methods. *LWT - Food Sci Technol*. 2020; 126: 109354.
34. XiangNg Z, HarYong P, YeeLim S. Customized drying treatments increased the extraction of phytochemicals and antioxidant activity from economically viable medicinal plants. *Indus Crops Products*. 2020; 155: 1-9.
35. Valadez-Carmona L, PatriciaPlazola-Jacinto C, Hernández-Ortega M, Hernández-Navarro M, Villarreal F, Necoechea-Mondragón H, Ortiz-Moreno A, Ceballos-Reyes G. Effects of microwaves, hot air and freeze-drying on the phenolic compounds, antioxidant capacity, enzyme activity and microstructure of cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.). *Innov Food Sci Emer Technol*. 2017; 41: 328-386.