

ผลของอุณหภูมิและชนิดของตัวทำละลายต่อปริมาณแทนนินที่สกัดได้จาก

เปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบชา และใบกระถินณรงค์

Effect of Temperature and Solvent Type on Tannin Content Extracted from

Mangosteen Peels, Rambutan Peels, Tea Leaves and Earleaf acacia Leaves

จิตรพร อาษาจิตร และ สุนันทา เลาวณศิริ*

Jittraporn Asajit and Sunantha Laowansiri*

สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อมอย่างยั่งยืน คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาสารคาม 44150 ประเทศไทย

Department of Sustainable Environmental Management, Faculty of Environment and Resource Studies,

Maharakham University, Maha Sarakham 44150, Thailand

*E-mail: sunantha.l@msu.ac.th

Received: Aug 17, 2024

Revised: Oct 01, 2024

Accepted: Oct 09, 2024

บทคัดย่อ

การสกัดแทนนินจากเปลือกผลไม้และใบของพืชเป็นทางเลือกหนึ่งในการใช้ประโยชน์จากส่วนต่าง ๆ ของพืช โดยแทนนินที่สกัดได้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมย้อมผ้า งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและชนิดของตัวทำละลายต่อปริมาณแทนนินที่สกัดได้จากเปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบชา และใบกระถินณรงค์ ในการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อปริมาณแทนนินที่สกัดได้ ทำโดยนำชิ้นส่วนของพืชที่ต้องการศึกษา ตัวอย่างละ 0.10 กรัม มาละลายด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปสกัดโดยให้ความร้อนเป็นเวลา 180 นาที ที่อุณหภูมิ 30, 40, 50, 60 หรือ 70 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่าปริมาณแทนนินที่สกัดได้จากพืชทุกชนิดที่ใช้ในการศึกษาเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเพิ่มขึ้น ในการศึกษาผลของชนิดตัวทำละลายต่อปริมาณแทนนินที่สกัดได้ ทำโดยนำชิ้นส่วนของพืชที่ต้องการศึกษา ตัวอย่างละ 0.10 กรัม มาละลายด้วยน้ำกลั่นหรือเอทานอล 95% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปสกัดโดยให้ความร้อนเป็นเวลา 180 นาที ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่าการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดพืชทุกชนิดที่ใช้ในการศึกษาทำให้ได้ปริมาณแทนนินมากกว่าการใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายในการสกัด โดยการสกัดใบชาด้วยเอทานอลที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 180 นาที เป็นการสกัดที่ให้ปริมาณแทนนินมากที่สุด เท่ากับ 453.43 กรัมแทนนินต่อกิโลกรัมใบชาแห้ง การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิและชนิดของตัวทำละลายมีผลต่อปริมาณแทนนินที่สกัดได้จากชิ้นส่วนของพืช

คำสำคัญ: ปริมาณแทนนิน เปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบชา ใบกระถินณรงค์

Abstract

Tannin extraction from fruit peels and leaves of plants is an alternative way to utilize plant parts. The extracted tannins can be used in industries such as pharmaceutical, food, cosmetic and fabric dyeing industries. This research aimed to study the effect of temperature and solvent type on tannin content extracted from mangosteen peels, rambutan peels, tea leaves and earleaf acacia leaves. For the study of the effect of temperature on the extracted tannin content, the plant materials of the study, 0.10 g each, were dissolved in 20 mL of distilled water and extracted by heating for 180 min at 30, 40, 50, 60 or 70°C. From the experiment, it was found that the tannin content extracted from all studied plant materials increased depending on the extraction temperature. For the study of the effect of solvent type on the extracted tannin content, the plant materials of the study, 0.10 g each, were dissolved in 20 mL of distilled water or 95% ethanol and then extracted by heating

for 180 min at 70°C. From the experiment, it was found that using ethanol as an extraction solvent for extracting all plants used in the study resulted in higher tannin content than using distilled water as an extraction solvent. The extraction of tea leaves with ethanol at 70°C for 180 min yielded the highest tannin content of 453.43 g tannin per kg of dry tea leaves. This study demonstrated that temperature and solvent type affected tannin content extracted from plant materials.

Keywords: Tannin content, Mangosteen peels, Rambutan peels, Tea leaves, Earleaf acacia leaves

1. บทนำ

สารแทนนิน (Tannins) เป็นสารที่ไม่มีโมเลกุลใหญ่ และมีโครงสร้างซับซ้อน มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อนมีรสฝาด จึงเป็นสารให้ความฝาดในพืช พบได้ในพืชหลายชนิด และพบส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น เปลือก ใบ และเมล็ด ลักษณะของแทนนินเป็นสารประกอบจำพวกฟีนอลิก (Phenolic compound) ที่มีความสามารถในการละลายน้ำได้ ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group) เป็นจำนวนมาก มีโครงสร้างขนาดใหญ่ ซับซ้อน นอกจากนี้สารแทนนินยังมีคุณสมบัติทำให้เกิดปฏิกิริยาเฉพาะของฟีนอล เช่น สามารถตกตะกอนกับโปรตีนประเภทต่าง ๆ และยังสามารถจับไอออนโลหะบางชนิดได้ด้วย [1], [2] แทนนินพบได้ในธรรมชาติ โดยสามารถพบแทนนินในปริมาณมากได้ในแก่นไม้และเปลือกไม้ของพืชที่มีอายุมากกว่า 1 ปี โดยพบว่าใบพืชที่มีอายุมากกว่า 1 ปี มีปริมาณแทนนินสูงกว่าใบพืชที่อายุเพียงปีเดียว [3] และยังพบแทนนินในพืชใบเลี้ยงคู่ แต่มันพืชชั้นต่ำ เช่น สาหร่าย หรือ มอสส์ รวมไปถึงหญ้ามียแทนนินอยู่น้อย ลักษณะเฉพาะของแทนนินจะพบในพืชที่มีรสฝาดที่เกิดจากส่วนโพลิเมอร์ (Polymeric) ของสารประกอบที่มีในกลุ่มฟีนอลและแคเทชิน (Catechins) หรือฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ซึ่งมีมวลโมเลกุลสูง เนื่องจากสามารถเกิดปฏิกิริยาเชื่อมพันธะข้าม (Cross linking) ระหว่างไกลโคโปรตีนกับน้ำตาลตกตะกอนแทนนินจะทำให้เกิดการหลอกล่อนในปากกลดลง การเกิดรสฝาดส่วนมากจะพบในแทนนินโอลิโกเมอร์ (Oligomers) เท่านั้น [4] ชนิดของพืชและแหล่งที่ปลูก ภูมิอากาศ ธาตุอาหารในดิน และอายุของต้นพืชมีส่วนทำให้ปริมาณและชนิดของแทนนินทำให้เกิดรสฝาด ถึงแม้จะอยู่ลักษณะภูมิอากาศที่คล้ายกันหรืออยู่ในต้นเดียวกันแทนนินที่มีอยู่ก็แตกต่างกัน [5] แทนนินเป็นหนึ่งในสารที่พบได้ในส่วนประกอบพืชหลายชนิด เช่น ใบชา ใบฝรั่ง ใบพลู ผลไม้ดิบ เช่น ก้วยดิบ เปลือกมังคุด เปลือกมะพร้าว และเมล็ดมะขาม [6] แทนนินหรือกรดแทนนิก (Tannic acid) เป็นสารโพลีฟีนอล (Polyphenol) โมเลกุลใหญ่ที่สามารถละลายน้ำ แอลกอฮอล์ อะซิโตน (Acetone) และไพริดีน (Pyridine) ได้ มีสูตรโมเลกุล

คือ $C_{75}H_{52}O_{46}$ มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส (Glucose) 1 โมเลกุล และกรดแกลลิก (Gallic acid) 9 โมเลกุล โดยปริมาณแทนนินจากส่วนต่าง ๆ ของพืช จะสามารถสกัดได้ในปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ระยะเวลา และตัวทำละลายที่แตกต่างกัน เป็นต้น [7]

ประโยชน์จากสารแทนนิน ได้แก่ สารแทนนินมีคุณสมบัติตกตะกอนโปรตีน ทำให้หนังสือตัวไม่เน่าเปื่อย จึงมีการใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง และจากฤทธิ์ฝาดของแทนนินจึงมีการนำไปใช้ประโยชน์ในทางด้านเภสัชกรรม เช่น รักษาอาการพุพอง อาการท้องเสีย เป็นต้น นอกจากนี้แทนนินยังนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่น ๆ เช่น การย้อมผ้า การบำบัดน้ำเสีย กาว ปุ๋ย ธุรกิจปลาสวยงาม ผลิตภัณฑ์สำอาง น้ำหมักยารักษาโรค และสีย้อมผ้าต่าง ๆ เป็นต้น [8]

มังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.) มีชื่อสามัญคือ Mangosteen เป็นไม้ผลยืนต้นไม่ผลัดใบ สำหรับประเทศไทยมีแหล่งที่ปลูกมังคุดกันมากในภาคใต้และภาคตะวันออก จากหลายรายงานวิจัยยกให้มังคุดเป็นซูเปอร์ฟรุต (Super fruit) เนื่องจากเป็นผลไม้ที่มีประโยชน์และมีคุณค่าทางอาหารที่สูง [9] นอกจากการแปรรูปมังคุดเพื่อการบริโภคแล้ว ยังมีการใช้ประโยชน์จากมังคุดอีกหลายอย่าง เช่น สบู่เปลือกมังคุด ลิปมันเปลือกมังคุด และโทนเนอร์เปลือกมังคุด โดยแทนนินในเปลือกมังคุดช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เป็นต้น [10] เงาะ (Rambutan) เป็นผลไม้ยืนต้นเมืองร้อน สามารถเจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่ที่มีความชุ่มชื้นสูง เช่น ภาคตะวันออกของไทย เป็นต้น เปลือกเงาะส่วนใหญ่จะถูกทิ้ง แต่ในเปลือกเงาะมีสารที่สำคัญ คือ กรดแทนนิก และสารต้านอนุมูลอิสระสามารถนำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสีย ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ใช้ฟอกหนัง ย้อมผ้า ทำปุ๋ย เป็นต้น [11] ชา (Tea) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศจีนและอินเดีย ชากลายเป็นเครื่องดื่มที่นิยมทั่วไป ในทางการแพทย์ ใบชามีคุณสมบัติต่อต้านการอักเสบและการติดเชื้อ เนื่องจากมีกรดแทนนิก ร้อยละ 20-30 นอกจากนี้ยังมีสารอัลคาลอยด์ (Alkaloids) ร้อยละ 5 โดยส่วนใหญ่จะเป็นคาเฟอีน (Caffeine) ซึ่งมีคุณสมบัติกระตุ้น

การทำงานของระบบประสาทส่วนกลางและเมตาบอลิซึม (Metabolism) [12] ใบชามีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง โดยเฉพาะสารประกอบจำพวกฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ คาเทชิน ที่อยู่ในรูปเอพิคาเทชิน (Epicatechin) เอพิغالโลคาเทชิน (Epigallocatechin) แกลโลคาเทชิน (Gallocatechin) และเอพิคาเทชินแกลเลต (Epicatechin gallate) ซึ่งเป็นสารฟลาโวนอล (Flavanols) ที่จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ หรืออาจเรียกอีกอย่างว่านอนไฮโดรไลส์แทนนิน (Non-hydrolyzed tannins) หรือคอนเดนส์แทนนิน (Condensed tannins) สารในกลุ่มคาเทชิน เป็นสารสำคัญที่ส่งผลต่อ สี กลิ่น และรสชาติขมฝาดของชา สารเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ช่วยยับยั้งการเกิดโรคเรื้อรังที่เกิดจากความเสื่อมของเซลล์ ลดโอกาสการเกิดมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น [13] กระถินณรงค์ (Earleaf acacia) จัดเป็นไม้ที่โตเร็วชนิดหนึ่ง อยู่ในวงศ์ *Leguminosae* ซึ่งจัดว่าเป็นพืชตระกูลถั่ว กระถินณรงค์เป็นพันธุ์ไม้ต่างประเทศ เป็นไม้โตเร็วชนิดหนึ่งที่สามารถปลูกผสมผสานกับพืชเกษตรได้เป็นอย่างดี โดยไม่ทำให้ดินเสื่อมคุณภาพ และสามารถฟื้นฟูสภาพดินที่เสื่อมโทรมให้ดีขึ้น การใช้ประโยชน์สามารถนำเอาเนื้อไม้และส่วนต่าง ๆ ของต้นไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น ใช้เป็นเชื้อเพลิง ใช้ทำเครื่องเรือนและในงานก่อสร้าง ใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมเยื่อกระดาษ ปลูกเพื่อปรับปรุงสภาพดินแล้วใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง เป็นต้น [14]

จากเหตุผลข้างต้น ผู้วิจัยมีแนวคิดในการศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิ ชนิดของตัวทำละลาย และชนิดของพืช ได้แก่ เปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบชา และใบกระถินณรงค์ ที่ส่งผลต่อปริมาณแทนนินที่สกัดได้ ผลที่ได้จากการศึกษานี้อาจเป็นข้อมูลที่สำคัญสำหรับการสกัดแทนนินจากส่วนต่าง ๆ ของพืช เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าของส่วนต่าง ๆ ของพืชที่เหลือจากการบริโภค

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1. วัสดุ และสารเคมี

วัสดุที่ใช้ ได้แก่ เปลือกมังคุด (Mangosteen peels) เปลือกเงาะ (Rambutan peels) ใบชา (Tea leaves) ใบกระถินณรงค์ (Earleaf acacia leaves)

สารละลายที่ใช้ในการสกัดแทนนิน ได้แก่ น้ำกลั่น และเอทานอล 95%

สารเคมีที่ใช้ ได้แก่ Folin & Ciocalteu's phenol reagent และโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)

2.2. เครื่องมือ อุปกรณ์และเครื่องแก้ว

เครื่องมือที่ใช้สำหรับการทดลอง ได้แก่ เครื่องชั่งตวงวัด 4 ตำแหน่ง เครื่องวัดการดูดกลืนแสง UV-Vis Spectrophotometer ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น 1900 ตู้อบ (Hot air oven) เครื่องปั่น (Blender) เตาให้ความร้อน (Hotplate) และเครื่องดูดสุญญากาศ

อุปกรณ์และเครื่องแก้วที่ใช้ ได้แก่ บีกเกอร์ ขวดรูปชมพู่ (Flask) ปิเปตต์ (Pipette) กระบอกตวง หลอดทดลอง ตะแกรงใส่หลอดทดลอง ตะแกรงร่อน และปากคีบ (Forceps)

2.3. การเตรียมเปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบชา และใบกระถินณรงค์

นำเปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบชา และใบกระถินณรงค์ มาหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปอบที่อุณหภูมิ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง บดให้เป็นผงด้วยเครื่องปั่น แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปคัดขนาดด้วยตะแกรงร่อน ขนาด 0.0394 นิ้ว หรือ 1 มิลลิเมตร

2.4. การหาปริมาณแทนนินทั้งหมด

1) การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกเข้มข้น 1000 ppm และ 100 ppm

สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกเข้มข้น 1000 ppm เตรียมโดยชั่งกรดแทนนิก 0.025 กรัม ละลายในเอทานอล 95% และปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร จากนั้นเจือจาง 10 เท่าให้ได้สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกเข้มข้น 100 ppm โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกเข้มข้น 1000 ppm มา 2.5 มิลลิลิตร เจือจางด้วยเอทานอล 95% ให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร

2) การสร้างกราฟมาตรฐานกรดแทนนิก

นำสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกเข้มข้น 100 ppm มาเจือจางด้วยเอทานอลให้มีความเข้มข้นเป็น 0, 20, 40, 60 และ 80 ppm ตามลำดับ และปิเปตใส่หลอดทดลองปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร โดยแยกแต่ละหลอดการทดลอง จากนั้นนำทุกหลอดมาเติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย Folin & Ciocalteu's phenol reagent ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดี และเติมโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 7% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่องผสม ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 90 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร (A760) จากนั้นหาค่า A760 และความเข้มข้น

ของสารมาตรฐานกรดแทนนิกมาเขียนกราฟมาตรฐานและหาค่าความชัน (m) เพื่อใช้วิเคราะห์แทนนินในสารสกัดต่อไป

2.5. วิธีการวิจัย

การวิจัยฉบับนี้เป็นการศึกษาเชิงทดลอง เพื่อศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิ ชนิดของพืช และชนิดของตัวทำละลายที่ส่งผลต่อปริมาณแทนนินที่สกัดได้ ดังนี้

2.5.1. ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณแทนนิน

นำเปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบชา และใบกระถิน 5 กรัม ตัวอย่างละ 0.10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปสกัดโดยใช้วิธีการสกัดแบบแช่ครั้งเดียว โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 30, 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (เลือกใช้อุณหภูมิที่ไม่ถึงจุดเดือดของเอทานอลและน้ำ) ใช้เวลาในการสกัด 180 นาที

2.5.2. ผลของชนิดของตัวทำละลายต่อปริมาณแทนนิน

เลือกอุณหภูมิที่สกัดแทนนินได้มากที่สุด จากหัวข้อ 2.5.1. (อุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส สามารถสกัดแทนนินด้วยน้ำกลั่นได้แทนนินสูงสุดของวัสดุทั้งสี่ชนิด) นำเปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบชา และใบกระถิน 5 กรัม ตัวอย่างละ 0.10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วนำไปสกัดโดยใช้วิธีการสกัดแบบแช่ครั้งเดียว โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการสกัด 180 นาที

2.5.3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดเปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบชา และใบกระถิน

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดเปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบชา และใบกระถิน 5 กรัม ตัดแปลงจากวิธีการของ Leite and Dourado [15] และ Slingard and Singletton [16] ซึ่งมีขั้นตอน ดังนี้

1) นำสารสกัดที่เตรียมได้จากข้อ 2.5.1. และ 2.5.2. มาปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

2) นำสารสกัดมาเติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย Folin & Ciocalteu's phenol reagent ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดี และเติมโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 7% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

3) นำไปเขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่องผสม ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 90 นาที

4) นำไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น 1900

5) หาปริมาณสารประกอบแทนนินจากกราฟมาตรฐานกรดแทนนิก

6) คำนวณหาปริมาณแทนนินทั้งหมดในสารสกัด

2.5.4. สถิติที่ใช้ในการวิจัย

โปรแกรมคอมพิวเตอร์ IBM SPSS Statistics Editor ด้วยวิธีการวิเคราะห์ ONE-WAY ANOVA และ TWO-WAY ANOVA

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

3.1. ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณแทนนิน

Table 1 แสดงผลของอุณหภูมิต่อปริมาณแทนนินที่สกัดได้จากเปลือกมังคุดด้วยน้ำกลั่น โดยพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดให้สูงขึ้น จะทำให้ได้ปริมาณแทนนินที่มากขึ้น โดยเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สามารถสกัดแทนนินได้มากที่สุด เท่ากับ 132.57 กรัมแทนนินต่อกิโลกรัมเปลือกมังคุดแห้ง รองลงมาคือ เปลือกมังคุดที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60, 50, 40 และ 30 องศาเซลเซียส มีปริมาณแทนนิน เท่ากับ 117.62, 91.16, 87.00 และ 69.25 กรัมแทนนินต่อกิโลกรัมเปลือกมังคุดแห้ง ตามลำดับ งานวิจัยของ Roeksook and Seelakhon [17] ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารแทนนินจากเปลือกลองกองและเปลือกทับทิม ด้วยน้ำกลั่น โดยสกัดเปลือกลองกองและเปลือกทับทิม 5, 10 และ 15 กรัม ด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่นปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที พบว่า เปลือกลองกองและเปลือกทับทิมที่ 15 กรัม สามารถสกัดแทนนินได้สูงสุด เท่ากับ 1.16 และ 4.34 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Table 2 แสดงผลของอุณหภูมิต่อปริมาณแทนนินที่สกัดได้จากเปลือกเงาะด้วยน้ำกลั่น โดยพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดให้สูงขึ้น จะทำให้ได้ปริมาณแทนนินที่มากขึ้น โดยเปลือกเงาะที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สามารถสกัดแทนนินได้มากที่สุด เท่ากับ 298.15 กรัมแทนนินต่อกิโลกรัมเปลือกเงาะแห้ง รองลงมาคือ เปลือกเงาะที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60, 50, 40 และ 30 องศาเซลเซียส มี

ปริมาณแทนนิน เท่ากับ 280.44, 278.80, 249.56 และ 229.65 กรัมแทนนินต่อกิโลกรัมเปลือกเงาะแห้ง ตามลำดับ งานวิจัยของ Pojanasin et al. [18] ศึกษาสารสกัดแทนนินจากมะพร้าวอ่อน โดยแบ่งเปลือกมะพร้าวเป็น 2 ส่วน คือ เปลือกส่วนนอกและเปลือกส่วนใน และสกัดแทนนินที่อัตราส่วนเปลือกมะพร้าวต่อเอทานอล เท่ากับ 1:6 โดยใช้สารละลายเอทานอลร้อยละ 10, 25, 50, 75 และ 95 ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วสูงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมากรอง และนำสารละลายไประเหยเอทานอลที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดแทนนินที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 75 สามารถสกัดแทนนินจากเปลือกส่วนนอกของมะพร้าวได้มากที่สุด เท่ากับ 207.6 กรัมต่อกิโลกรัม และเปลือกมะพร้าวส่วนในสกัดแทนนินได้เท่ากับ 104.0 กรัมต่อกิโลกรัม งานวิจัยของ Pojanasin et al. [18] สามารถสกัดแทนนินได้น้อยกว่างานวิจัยนี้ ทั้งนี้เนื่องจากการสกัดสารแทนนินในพืชต่างชนิดกันส่งผลต่อปริมาณสารแทนนินที่สกัดได้ ดังนั้นทุกขั้นตอนการศึกษามีความสำคัญเพราะเป็นปัจจัยที่แปรผันกับปริมาณของแทนนินที่สกัดได้ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Pojanasin et al. [18] ที่มีสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันทั้งในวิธีการศึกษา ขนาดของวัสดุที่สกัด อุณหภูมิ ตัวทำละลาย และระยะเวลาในการสกัด จึงอาจส่งผลให้การสกัดสารแทนนินที่ไม่ได้เท่ากัน ซึ่งจากผลการวิจัยนี้เห็นได้ว่าการสกัดแทนนินจากเปลือกเงาะด้วยน้ำกลั่นที่มีการควบคุมอุณหภูมิ พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้น จะทำให้ได้ปริมาณแทนนินที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นการสกัดแทนนินจากเปลือกเงาะด้วยน้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายจึงมีความเหมาะสม เนื่องจากน้ำกลั่นไม่มีอันตรายในการทดลองและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างปลอดภัย โดยน้ำยังเป็นตัวทำละลายที่หาได้ง่ายและมีค่าใช้จ่ายต่ำ ช่วยลดต้นทุนการสกัดแทนนินและยังสามารถสกัดสารแทนนินได้ในปริมาณสูงด้วย

Table 3 แสดงผลของอุณหภูมิต่อปริมาณแทนนินที่สกัดได้จากใบชาด้วยน้ำกลั่น โดยพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดให้สูงขึ้น จะทำให้ได้ปริมาณแทนนินที่มากขึ้น โดยใบชาที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สามารถสกัดแทนนินได้มากที่สุด เท่ากับ 180.20 กรัมแทนนินต่อกิโลกรัม ใบชาแห้ง รองลงมาคือ ใบชาที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60, 50, 40 และ 30 องศาเซลเซียส มีปริมาณแทนนิน เท่ากับ 174.86, 171.61, 161.76 และ 150.09 กรัมแทนนินต่อกิโลกรัม ใบชาแห้ง ตามลำดับ งานวิจัยของ Chinarojbawonkul et

al. [19] ศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียชุมชนโดยใช้สารสกัดแทนนินจากเปลือกกล้วยน้ำว้าเป็นสารสร้างตะกอนชีวภาพ โดยศึกษาชนิดของตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำ เมทานอล และเอทานอล 50% ที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการสกัด 10, 30 และ 60 นาที ตามลำดับ โดยใช้ปริมาณเปลือกกล้วยน้ำว้า 1 กรัมต่อตัวทำละลาย 200 มิลลิลิตร พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดแทนนินด้วยตัวทำละลายทั้งสามชนิดพบว่าปริมาณแทนนินที่ได้ไม่มีความแตกต่างกัน ในขณะที่เมื่อศึกษาปริมาณเปลือกกล้วยน้ำว้า 1, 5, 10, 15 และ 20 กรัม ต่อ น้ำ 200 มิลลิลิตร ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณเปลือกกล้วยน้ำว้าส่งผลต่อความสามารถในการสกัดแทนนินสูงขึ้น โดยเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ 20 กรัม ต่อ น้ำ 200 มิลลิลิตร มีปริมาณแทนนินสูงสุด เท่ากับ 0.95 มิลลิกรัมต่อลิตร

Table 4 แสดงผลของอุณหภูมิต่อปริมาณแทนนินที่สกัดได้จากใบกระถินณรงค์ด้วยน้ำกลั่น โดยพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดให้สูงขึ้น จะทำให้ได้ปริมาณแทนนินที่มากขึ้น โดยใบกระถินณรงค์ที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สามารถสกัดแทนนินได้มากที่สุด เท่ากับ 66.72 กรัมแทนนินต่อกิโลกรัมใบกระถินณรงค์แห้ง รองลงมาคือ ใบกระถินณรงค์ที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60, 50, 40 และ 30 องศาเซลเซียส มีปริมาณแทนนิน เท่ากับ 65.16, 61.70, 53.07 และ 43.37 กรัมแทนนินต่อกิโลกรัมใบกระถินณรงค์แห้ง ตามลำดับ งานวิจัยของ Pimolrat et al. [8] ศึกษาการสกัดแทนนินจากใบทุกวาง สกัดแทนนิน 2 วิธี คือ การแช่ด้วยน้ำ และใช้ความร้อน โดยใช้ตัวทำละลาย คือ น้ำ ใช้ใบทุกวาง 10, 20 และ 30 กรัมแห้ง ต่อ น้ำ 1 ลิตร โดยวิธีการแช่ด้วยน้ำ ที่ระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ผลการทดลองพบว่า การสกัดใบทุกวาง 30 กรัม เป็นเวลา 14 วัน ได้ปริมาณแทนนินมากที่สุดเท่ากับ 191.03 ± 7.53 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือการสกัดใบทุกวาง 20 กรัม และใบทุกวาง 10 กรัม โดยได้ปริมาณแทนนิน เท่ากับ 136.94 ± 7.29 และ 58.52 ± 6.06 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อสกัดแทนนินจากใบทุกวางโดยวิธีการใช้ความร้อนด้วยการต้มน้ำให้ร้อน ที่ระยะเวลา 10, 20 และ 30 นาที ตามลำดับ ใช้ใบทุกวาง 10, 20 และ 30 กรัมแห้ง ต่อ น้ำ 1 ลิตร พบว่าใบทุกวาง 30 กรัมต่อ น้ำ 1 ลิตร ที่เวลาสกัด 30 นาที ได้ปริมาณแทนนินมากที่สุด เท่ากับ 825.54 มิลลิกรัมต่อลิตร

Table 1 Effect of temperature on tannin content extracted from mangosteen peels with distilled water

Temperature (°C)	Tannin content (g tannin/kg dry mangosteen peels)	S.D.
30	69.25 ^a	0.38
40	87.00 ^b	0.02
50	91.16 ^c	0.10
60	117.62 ^d	0.24
70	132.57 ^e	0.04

Values in a column with different lowercase letters are significantly different at $p < 0.05$.

Table 2 Effect of temperature on tannin content extracted from rambutan peels with distilled water

Temperature (°C)	Tannin content (g tannin/kg dry rambutan peels)	S.D.
30	229.65 ^a	2.56
40	249.56 ^b	0.55
50	278.80 ^c	0.06
60	280.44 ^d	0.52
70	298.15 ^e	9.63

Values in a column with different lowercase letters are significantly different at $p < 0.05$.

Table 3 Effect of temperature on tannin content extracted from tea leaves with distilled water

Temperature (°C)	Tannin content (g tannin/kg dry tea leaves)	S.D.
30	150.09 ^a	0.17
40	161.76 ^b	0.55
50	171.61 ^c	0.08
60	174.86 ^d	0.42
70	180.20 ^e	1.62

Values in a column with different lowercase letters are significantly different at $p < 0.05$.

Table 4 Effect of temperature on tannin content extracted from earleaf acacia leaves with distilled water

Temperature (°C)	Tannin content (g tannin/kg dry earleaf acacia leaves)	S.D.
30	43.37 ^a	0.03
40	53.07 ^b	0.04
50	61.70 ^c	0.40
60	65.16 ^d	0.06
70	66.72 ^e	0.52

Values in a column with different lowercase letters are significantly different at $p < 0.05$.

3.2. ผลของชนิดของตัวทำละลายต่อปริมาณแทนนิน

Table 5 แสดงผลของชนิดของตัวทำละลายต่อปริมาณแทนนินที่ได้จากการสกัดแทนนินจากเปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบชา และใบกระถินณรงค์ ด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่น และเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส พบว่าการสกัดแทนนินจากวัสดุทั้ง 4 ชนิด ด้วยเอทานอล 95% ได้ปริมาณแทนนินมากกว่าการสกัดด้วยน้ำกลั่น ทั้งนี้เนื่องจากเอทานอลมีจุดเดือดต่ำกว่าน้ำกลั่น โดยเอทานอลมีจุดเดือดที่ 78.32 ± 0.09 องศาเซลเซียส [20] ในขณะที่น้ำกลั่นมีจุดเดือดที่ 100 องศาเซลเซียส โดยสารสำคัญประเภทโพลีฟีนอลที่มีวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic ring) ซึ่งมีอยู่ในแทนนินที่จะมีทั้งส่วนที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำอยู่ในโมเลกุลเดียวกัน การใช้เอทานอลสกัดสามารถละลายสารกลุ่มนี้ออกมาได้มากกว่าน้ำ ดังนั้นจึงส่งผลให้เอทานอลสามารถสกัดแทนนินจากวัสดุทั้ง 4 ชนิดได้ดีกว่าน้ำกลั่น โดยใบชาที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ให้ปริมาณแทนนินมากที่สุด เท่ากับ 453.43 กรัมแทนนินต่อกิโลกรัมใบชาแห้ง รองลงมาคือ เปลือกเงาะ, เปลือกมังคุด และใบกระถินณรงค์ มีปริมาณแทนนิน เท่ากับ 394.50, 135.52 และ 78.67 กรัมแทนนินต่อกิโลกรัมวัสดุแห้ง ตามลำดับ ในขณะที่เมื่อสกัดแทนนินด้วยน้ำกลั่นพบว่าเปลือกเงาะมีปริมาณแทนนินมากที่สุด เท่ากับ 298.15 กรัมแทนนินต่อกิโลกรัมเปลือกเงาะแห้ง รองลงมาคือ ใบชา, เปลือกมังคุด และใบกระถินณรงค์ มีปริมาณแทนนิน เท่ากับ 180.20, 132.57 และ 66.72 กรัมแทนนินต่อกิโลกรัมวัสดุแห้ง ตามลำดับ งานวิจัยของ Wongsooksin and Phansamdaeng [21] ศึกษาการสกัดแทนนินจากใบมันสำปะหลัง โดยศึกษา

สภาวะที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย คือ น้ำ เอทานอล อะซิโตน เมทานอลกับน้ำ เอทานอลกับน้ำ และอะซิโตนกับน้ำ ที่ความเข้มข้นของเมทานอลกับน้ำ เอทานอลกับน้ำ และอะซิโตนกับน้ำ เท่ากับร้อยละ 30, 50, 70, 80 และ 90 โดยปริมาตร ตามลำดับ ที่อัตราส่วนใบมันสำปะหลังต่อตัวทำละลาย คือ 1:10, 1:20, 1:30 และ 1:40 กรัมต่อมิลลิลิตร อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด คือ อุณหภูมิห้อง และ 50 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัด คือ 1, 3 และ 5 ชั่วโมง โดยใช้วิธีการสกัดแบบแช่ครั้งเดียว พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแทนนินจากใบมันสำปะหลัง คืออัตราส่วนใบมันสำปะหลังต่ออะซิโตนกับน้ำ 1:20 ที่ความเข้มข้นอะซิโตนกับน้ำ ร้อยละ 80 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการสกัด 3 ชั่วโมง มีปริมาณแทนนินสูงสุด เท่ากับ 644.62 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งพบว่าการสกัดแทนนินด้วยอะซิโตนมีความเสี่ยงต่อมนุษย์จึงไม่เหมาะที่จะนำมาสกัดใช้ประโยชน์จริง เมื่อใช้เอทานอลกับน้ำในการสกัดแทนนินจากใบมันสำปะหลัง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแทนนินจากใบมันสำปะหลัง คืออัตราส่วนใบมันสำปะหลังต่อเอทานอลกับน้ำ 1:20 ที่ความเข้มข้นเอทานอลกับน้ำ ร้อยละ 80 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสกัด 1 ชั่วโมง ได้ปริมาณแทนนินสูงสุด เท่ากับ 359.82 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่ใช้น้ำในการสกัดแทนนินจากใบมันสำปะหลัง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแทนนินจากใบมันสำปะหลัง คืออัตราส่วนใบมันสำปะหลังต่อน้ำ 1:10 ที่อุณหภูมิห้อง และระยะเวลาสกัด 5 ชั่วโมง ได้ปริมาณแทนนินสูงสุด เท่ากับ 236.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Table 5 Tannin content of mangosteen peels, rambutan peels, tea leaves and earleaf acacia leaves extracted by using two different extraction solvent

Plant materials	Tannin content (g tannin/kg dry materials)			
	Distilled water extraction	S.D.	Ethanol extraction	S.D.
Mangosteen peels	132.57 ^{ba}	0.04	135.52 ^{bb}	0.49
Rambutan peels	298.15 ^{da}	9.63	394.50 ^{cb}	0.97
Tea leaves	180.20 ^{ca}	1.62	453.43 ^{db}	0.94
Earleaf acacia leaves	66.72 ^{aa}	0.52	78.67 ^{ab}	0.29

Values in a column (for each extraction solvent) with different lowercase letters are significantly different at $p < 0.05$.

Values in a row (for each plant material) with different uppercase letters are significantly different at $p < 0.05$.

4. บทสรุป

การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อปริมาณแทนนินที่สกัดได้จากเปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบชา และใบกระถินณรงค์ โดยการสกัดด้วยน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิ 30, 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส และใช้เวลาในการสกัด 180 นาที สรุปผลการศึกษา ดังนี้

1. การเพิ่มอุณหภูมิที่สูงขึ้นในการสกัดเปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบชา และใบกระถินณรงค์ ด้วยน้ำกลั่น ทำให้ได้ปริมาณแทนนินที่สกัดได้เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น

2. การสกัดแทนนินด้วยน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 180 นาที สามารถสกัดแทนนินได้มากที่สุดจากทุกวัสดุที่ถูกสกัด โดยพบว่าปริมาณแทนนินที่สกัดได้จากเปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบชา และใบกระถินณรงค์ เท่ากับ 132.57, 298.15, 180.20 และ 66.72 กรัมแทนนินต่อกิโลกรัมวัสดุแห้ง ตามลำดับ

การศึกษาผลของชนิดของตัวทำละลายต่อปริมาณแทนนินที่สกัดได้จากเปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบชา และใบกระถินณรงค์ โดยการสกัดด้วยน้ำกลั่นหรือเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และใช้เวลาในการสกัด 180 นาที สรุปผลการศึกษา ดังนี้

1. การสกัดวัสดุทั้ง 4 ชนิดด้วยเอทานอล 95% ได้แทนนินในปริมาณที่มากกว่าการสกัดด้วยน้ำกลั่น

2. การสกัดแทนนินด้วยเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 180 นาที สามารถสกัดแทนนินได้จากเปลือกมังคุด เปลือกเงาะ ใบชา และใบกระถินณรงค์ เท่ากับ 135.52, 394.50, 453.43 และ 78.67 กรัมแทนนินต่อกิโลกรัมวัสดุแห้ง ตามลำดับ

3. การนำไปใช้ประโยชน์ พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแทนนิน คือ การสกัดโดยใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 180 นาที และวัสดุที่ดีที่สุดในการสกัดแทนนิน คือ ใบชา รองลงมาคือ เปลือกเงาะ โดยแทนนินที่สกัดได้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมย้อมผ้า เป็นต้น

5. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม อย่างยั่งยืน คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม และบุคลากรห้องปฏิบัติการที่ให้ความอำนวยความสะดวกในการดำเนินการวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

6. References

- [1] Das, A.K. and et al. 2020. Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities. **South African Journal of Botany**. 135: 58-70.
- [2] Pornchaloempong, P. and Rattanapanon, N. 2012. **Tannin**. <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2376/tannin-9>. Accessed 4 August 2024. (in Thai)
- [3] Pintabut, A. 1997. **Extraction of Tannin from Toddy Palm Peel**. B.Sc. Research Report, Phetchaburi Rajabhat University. (in Thai)
- [4] Wongsiri, S. 1993. **Extraction of Tannin from Rambutan Peel**. M.Sc. Thesis, Chulalongkorn University. (in Thai)
- [5] Woramongconchai, S. 1989. **Extraction of Tannin from the Bark of *Rhizophora* spp. in Disc and Ring Pulsed Column**. M.Sc. Thesis, Chulalongkorn University. (in Thai)
- [6] Tsai, T.H. and et al. 2008. In vitro antimicrobial activities against cariogenic streptococci and their antioxidant capacities: A comparative study of green tea versus different herbs. **Food Chemistry**. 110(4): 859-864.
- [7] Bruneton, J. 1999. **Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants**, 2nd edition. Andover: Intercept.
- [8] Pimolrat, P. and et al. 2017. **Indian Almond (*Terminalia catappa* L.) Leaf Tannin Extract: A Simple Preparation Method and Application in Ornamental Fish**. Training Documents, Maejo University. (in Thai)
- [9] Gutierrez-Orozco, F. and Failla, M.L. 2013. Biological activities and bioavailability of mangosteen xanthones: A critical review of the current evidence. **Nutrients**. 5(8): 3163-3183.
- [10] Sriwiphat, P. and et al. 2009. **Miracle of Thai Mangosteen**. Rayong: Office of Agricultural Extension and Development Region 3 Press. (in Thai)
- [11] Kubala, J. 2024. **Health Benefits of Rambutan**. <https://www.health.com/rambutan-benefits-8599712>. Accessed 4 August 2024.

- [12] Siripat, D. 1993. Tea: A drink from the roots of eastern culture. **Folk Doctor**. 14(168): 41-43. (in Thai)
- [13] Srimoon, R. and Niyomwan, S. 2022. Effect of temperature, time and brewing method on phenolic compounds, tannins, flavonoids and antioxidant activity of infusion tea produced from *Ventilago denticulate* Willd. **Journal of Science and Technology Mahasarakham University**. 42(3): 97-108. (in Thai)
- [14] Khanthongkham, H., Jamwutpreecha, R. and Sangsan, S. 2004. **Biomass Energy Potential**. Bangkok: Department of Alternative Energy Development and Efficiency, Ministry of Energy. (in Thai)
- [15] Leite, L. and Dourado, L. 2013. Laboratory activities, science education and problem-solving skills. **Procedia - Social and Behavioral Sciences**. 106: 1677-1686.
- [16] Slingkard, K. and Singleton, V.L. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**. 28: 49-55.
- [17] Roeksook, S. and Seelakhot, T. 2019. **The Comparison of Tannin Extract Efficiency from Different Fruit Peels for Domestic Wastewater Treatment**. B.Sc. Research Report, Mahasarakham University. (in Thai)
- [18] Pojanasin, P. and et al. 2018. **Study on Extraction of Tannin from Young Coconut Husk**. Research Report, Horticultural Research Institute, Department of Agriculture. (in Thai)
- [19] Chinarojbawonkul, P., Thangkananurak, K. and Thangkananurak, N. 2013. Efficiency of community wastewater treatment using tannin extracted from Namwa banana peel as a biological sludge builder. In: The Chaipattana Foundation (ed.) **Complete Annual Performance Report 2013: Research Plan Volume 1: The King's Royally Initiated Laem Phak Bia Environmental Research and Development Project**. Bangkok: The Chaipattana Foundation. (in Thai)
- [20] Yosyingyong, K. 2017. **Determination of Ethanol in Alcoholic Products by the Simple Colorimetric Method**. M.Sc. Thesis, Burapha University. (in Thai)
- [21] Wongsooksin, K. and Phansamdaeng, P. 2015. Extraction of tannins from cassava leaves. In: **Proceedings of the 2nd National Conference of Phetchabun Rajabhat University**, 14 February 2015. Phetchabun, Thailand. (in Thai)