

การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ

Extraction of Antioxidants

ดวงกมล เรือนงาม

Duangkamol Ruen-ngam

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เลขที่ 1 ซอยฉลองกรุง 1 แขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

บทคัดย่อ

ปัจจุบันประชาชนจำนวนมากใส่ใจสุขภาพ นอกจากอาหารหลักที่ต้องรับประทานในแต่ละวันแล้วประชาชนเริ่มหันไปบริโภคอาหารเสริมที่มีองค์ประกอบของสารมีประโยชน์ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในพืชหลายชนิด และยีสต์ แต่คงเป็นการยากที่จะบริโภคพืชในปริมาณมากเพื่อให้ได้ปริมาณที่เพียงพอตามความต้องการของร่างกาย จึงทำให้การสกัดเข้ามามีส่วนสำคัญเพื่อดึงหรือสกัดเอาสารที่มีประโยชน์ออกมาจากพืชที่ต้องการทำให้เข้มข้นแล้วบรรจุในรูปแคปซูลพร้อมบริโภค วิธีการสกัดที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญต่อการสกัดสารที่มีประโยชน์ที่มีฤทธิ์ของการต้านอนุมูลอิสระ วิธีการสกัดแบบดั้งเดิมเป็นวิธีการสกัดที่ง่ายแต่สิ้นเปลืองตัวทำละลาย ได้แก่ การสกัดโดยชุดชอกห์เลต (Soxhlet) การสกัดด้วยวิธีการแช่ (Maceration) นอกจากนี้ยังมีวิธีการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัด (Ultrasound-assisted Extraction, UAE) ใช้หลักการของคุณสมบัติสารในการเกิดฟองก๊าซที่มีแรงดันสูง และวิธีการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยในการสกัด (Microwave-assisted Extraction, MAE) ซึ่งจะใช้คุณสมบัติของตัวทำละลายในการต้านทานคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเมื่อวางอยู่ในบริเวณที่มีสนามแม่เหล็กไฟฟ้า และในปัจจุบัน ได้มีการพัฒนาการสกัดวิธีใหม่ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและเป็นที่ยอมรับเนื่องจากง่ายต่อการแยกตัวทำละลายออกเมื่อสกัดเสร็จสมบูรณ์คือ วิธีการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤติ (Subcritical Water Extraction, SWE) และวิธีการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะวิกฤติขุดยิ่ง (Supercritical Carbon Dioxide Extraction, SC-CO₂)

คำสำคัญ : สารต้านอนุมูลอิสระ ชุดชอกห์เลต, วิธีการแช่, วิธีการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงร่วมด้วยในการสกัด, วิธีการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยในการสกัด, วิธีการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤติ, วิธีการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะวิกฤติขุดยิ่ง

Abstract

Extraction (MAE) have been also investigated. The mechanisms of these two People have recently concerned and taken care of health. Other than meal which they have to take in each day, they take supplements which are composed of useful compounds such as antioxidants. Antioxidants are found in many types of plants, algae and yeasts. It's rarely possible to consume large amount of plants in the same time to achieve the suitable dose, and therefore, the extraction will be the crucial role in pulling the important substances from such plants and concentrate these substances in ready-to-eat encapsulated formulations. The extraction method must be appropriate to keep these compounds in the form with antioxidant activity. The conventional methods are extraction by using a Soxhlet apparatus and by soaking in solvent. They are convenient to use, however, they use large amount of solvent. Accompanying with solvent, the use of ultrasound in Ultrasound-assisted Extraction (UAE) and microwave in Microwave-assisted extraction methods depend on the properties of solvent in bubbling and performing as resistance in microwave field, respectively. The new developed green technology with easy to remove solvent is using water under subcritical condition (Subcritical Water Extraction, SWE) and carbon dioxide under supercritical condition (Supercritical Carbon Dioxide Extraction, SC-CO₂).

Keywords: Antioxidant, Soxhlet, Maceration, Ultrasound, -assisted extraction, Microwave-assisted extraction, Subcritical water extraction (SWE), Supercritical carbon dioxide extraction (SC-CO₂)

1. สารต้านอนุมูลอิสระ

Reactive oxygen species (ROS) เป็นกลุ่มสารที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี ทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) กับโมเลกุลต่างๆ ภายในเซลล์ร่างกาย ROS หมายความรวมถึง สารประกอบเปอร์ออกไซด์ (Peroxides) เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide) และ สารอนุมูลอิสระ (Free radicals) ซึ่งเป็น โมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอก ชนิดที่สำคัญคือ อนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (Superoxide anion) และอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (Hydroxyl radical) เมื่อมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นจะเกิดการทำลาย โมเลกุลอื่นๆ ต่อเนื่องกันเป็นลูกโซ่ ส่งผลให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อร่างกายเป็นสาเหตุของการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคหัวใจขาดเลือด ต้อกระจก ความดันโลหิตสูง อัลไซเมอร์ เบาหวาน มะเร็ง เป็นต้น ปกติภายในร่างกายของเรามี กลไกป้องกันการโจมตีจากอนุมูลอิสระโดยอาศัยการทำงานของสารหรือเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นในร่างกาย เช่น เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (Superoxide dismutase) คตาเลส (Catalase) กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (Glutathione peroxidase) เป็นต้น แต่การทำหน้าที่ของสาร

หรือเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระนั้นยังไม่เพียงพอและมีขีดจำกัด ประกอบกับเมื่ออายุมากขึ้นร่างกายสร้างสารหรือเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระได้น้อยลง ดังนั้นร่างกายจึงควรรับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกด้วยเช่นกัน ในปัจจุบันผู้รักสุขภาพจำนวนมากนิยมบริโภคสารต้านอนุมูลอิสระทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมประเภทสารต้านอนุมูลอิสระมีหลากหลายและเป็นที่ต้องการของตลาด

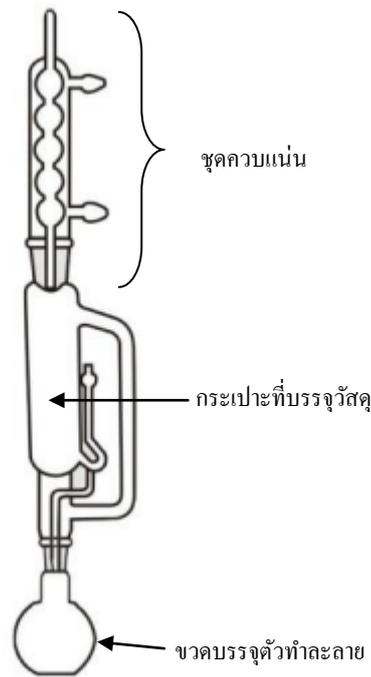
สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารแอนติออกซิแดนท์ (Antioxidants) ที่เรารู้จักกันดี ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี วิตามินเอ ลูทีน (Lutein) และพฤษเคมีต่างๆ (Phytochemical) เช่น โพลีฟีนอล (Polyphenols) ไอโซฟลาโวน (Isoflavone) เบต้าแคโรทีน (β -carotene) คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) เป็นต้น สามารถพบสารเหล่านี้ได้จากพืช ผัก และผลไม้ ที่มีอยู่ตามธรรมชาติหรืออาจพบได้ในสาหร่ายและยีสต์ เช่น สารแอสตาแซนธิน [1-2] แต่การที่จะรับประทานพืชหรือผักเหล่านี้ในปริมาณมากคงเป็นไปได้ยากจึงต้องทำการสกัดหรือดึงสารเหล่านี้ออกมาทำให้เข้มข้นและอยู่ในรูปแบบที่รับประทานได้ง่าย เช่น แคปซูล หรือเม็ด

วิธีการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในปัจจุบันมีหลายวิธี ได้แก่ การสกัดแบบดั้งเดิมด้วยการทำให้ตัวทำละลายไหลวนด้วยเครื่องซอกซ์เลต (Soxhlet) การแช่ (Maceration) การสกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัด (Ultrasound-assisted extraction, UAE) การสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยในการสกัด (Microwave-assisted extraction, MAE) การสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤติ (Subcritical water extraction, SWE) และการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะวิกฤติยวดยิ่ง (Supercritical carbon dioxide extraction, SC-CO₂) โดยทั้งหมดยกเว้นการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤติ และการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะวิกฤติยวดยิ่งจะมีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic solvent) ดังนั้นจึงถือว่าการสกัด 2 วิธีนี้ปราศจากการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เป็นเทคโนโลยีสะอาดหรือ Green technology ซึ่งเป็นที่นิยมมากในปัจจุบัน

2. วิธีการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ

2.1 การสกัดด้วยชุดซอกซ์เลต

โดยทั่วไปงานวิจัยทางการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจะใช้วิธีนี้ซึ่งเป็นวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมโดยใช้ชุดเครื่องมือซอกซ์เลตแสดงดังรูปที่ 1 หลักการคือ สารที่ต้องการสกัดจะละลายออกมาจากวัสดุด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่กลั่นและควบแน่นวนกลับมาอย่างต่อเนื่อง กระบวนการสกัดนี้จะใช้เวลานานมากกว่า 3 ชั่วโมงหรือจนกว่าไม่มีสารที่ต้องการละลายออกมาแล้วซึ่งอาจโดยสังเกตได้จากสารละลายที่สกัดได้นั้นไม่มีสีของสารที่ต้องการ



รูปที่ 1. ชุดสกัดซอกซ์เลต [3]

2.2 การสกัดด้วยวิธีการแช่

การสกัดด้วยวิธีการแช่เป็นวิธีดั้งเดิมที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณมากในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ โดยการแช่วัสดุที่ต้องการสกัดลงในตัวทำละลายอินทรีย์ที่บรรจุในภาชนะที่มีฝาปิดมิดชิดเพื่อป้องกันการระเหยของตัวทำละลายอินทรีย์ วิธีนี้จัดเป็นวิธีที่ง่ายที่สุดแต่ใช้เวลานาน ยังคงใช้วิธีนี้ในการเลือกชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสม และอัตราส่วนตัวทำละลายกับวัสดุที่ต้องการสกัด

2.3 การสกัดสารด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัด

การสกัดสารด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัดเป็นวิธีที่ใช้คลื่นเสียงความถี่สูงหรืออัลตราโซนิค (Ultrasonic) ร่วมกับตัวทำละลายอินทรีย์หรือน้ำในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากวัตถุดิบ เครื่องมือชนิดนี้มีลักษณะเป็นแท่งทรงกระบอกมีขนาดความยาวและมีคลื่นความถี่ที่แตกต่างกันไป เครื่องมือดังกล่าวจะปล่อยคลื่นเสียงความถี่สูงออกมาในตัวพาซึ่งในที่นี้คือน้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์ กระบวนการดังกล่าวจะทำให้เกิดฟองก๊าซซึ่งเกิดการหดตัวและขยายตัวเป็นวัฏจักร เมื่อฟองก๊าซขยายตัวจะดึงสารที่อยู่ภายในวัสดุออกมาละลายในตัวทำละลาย และในขณะที่ฟองก๊าซแตกออกจะเกิดความดันและความร้อนอย่างมากในบริเวณนั้นซึ่งจะมีผลทำให้เนื้อเยื่อของวัสดุแตก ด้วยอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้สารต้านอนุมูลอิสระที่ต้องการสกัดละลายในตัวทำละลายได้ดีขึ้น การสกัดด้วยวิธีนี้จะมีประสิทธิภาพดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ความถี่ของคลื่นเสียงที่ใช้ ถ้าใช้ความถี่สูงจะใช้เวลาสั้นในการสกัด สมบัติที่แตกต่างกันของตัวทำละลาย ได้แก่ ความ

ดันไอ ตัวทำละลายที่มีความดันไอสูงสามารถสกัดได้ดีกว่าตัวทำละลายที่มีความดันไอต่ำ อุณหภูมิที่ใช้ซึ่งการสกัดเกิดได้ดีเมื่อมีอุณหภูมิสูง และความเข้มข้นของคลื่นเสียงที่ใช้ โดยทั่วไปวิธีนี้จะใช้สกัดสารกลุ่มเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary Metabolites) ของพืช วิธีนี้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพทำให้สกัดสารได้ปริมาณมาก ตัวอย่างวัตถุดิบที่สกัดด้วยวิธีนี้ได้แก่ ใบชา มินท์ เครื่องเทศ (Sage) และ โสม เป็นต้น ตัวอย่างงานวิจัยในอดีตที่ใช้วิธีนี้แสดงดังตารางที่ 1 [4-13]

2.4 การสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยในการสกัด

ในอดีตและปัจจุบันเครื่องไมโครเวฟใช้มากในวงการอาหารเพื่อใช้ในการถนอมอาหารโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ความร้อนเพื่อทำให้อาหารสุก ใช้ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร และช่วยในการลดความชื้นในอาหารประเภทผักและผลไม้ หรือเครื่องไมโครเวฟที่ประดิษฐ์ขึ้นเฉพาะเพื่อย่อยวัสดุที่มีระบบควบคุมอุณหภูมิและความดันเป็นอย่างดี นอกจากการถนอมอาหารและการย่อยวัสดุแล้ว ในปัจจุบันวิธีนี้ใช้ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชที่รู้จักกันดีในรูปแบบของวิธีการสกัดที่รวดเร็ว (Accelerated Solvent Extraction, ASE) ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้วิธีนี้ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระแสดงดังตารางที่ 2 [14-31]

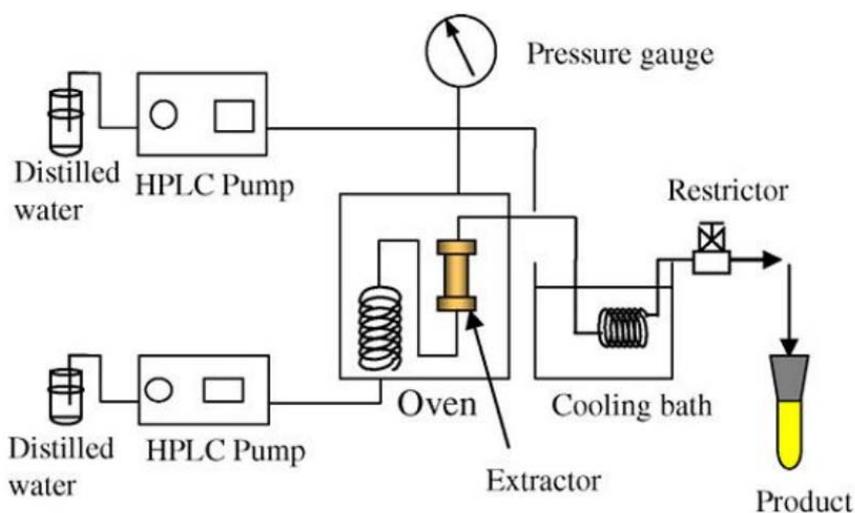
หลักการของวิธีนี้ คือ การใช้คลื่นไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าร่วมกับตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ เมื่อวัตถุดิบวางตัวอยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้าแล้วนั้นด้วยสมบัติความเป็นขั้วของโมเลกุลภายในวัตถุดิบเองที่ด้านการเคลื่อนที่ทำให้เกิดความร้อนขึ้นซึ่งมีผลต่อเนื่องของวัตถุและมีผลต่อการละลายของสารที่ต้องการและด้วยสมบัติของตัวทำละลายที่แตกต่างกันทำให้มีพฤติกรรมที่แตกต่างกันไปเมื่ออยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า เช่น การดูดซับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า การสะท้อน การส่งผ่านคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เป็นต้น ปัจจัยที่ผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด ได้แก่ เวลา อุณหภูมิ กำลังของคลื่นไมโครเวฟ คุณสมบัติของวัตถุดิบ องค์ประกอบที่เป็นความชื้น ความคงตัวของวัตถุดิบ สมบัติของตัวทำละลาย และสมบัติสารที่ต้องการสกัด

2.5 การสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤติ

ปัจจุบันวิธีนี้ใช้กันแพร่หลายเนื่องจากมีประสิทธิภาพในการสกัดดีเมื่อเทียบกับวิธีการสกัดประเภทอื่นๆ และเป็นเทคโนโลยีสะอาดไม่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ วิธีนี้เป็นวิธีใหม่ที่ใช้ตัวทำละลายที่เป็นของเหลวภายใต้ความดัน (Pressurized liquid extraction, PLE) โดยมากจะใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย เหมาะกับการสกัดสารที่มีโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน และสารที่ต้องการสกัดที่มีขั้วสูง นอกจากนี้วิธีการนี้ยังสามารถเพิ่มคุณค่าให้กับสารในรำข้าวและถั่วเหลือง [32-33] อย่างไรก็ตามระบบดังกล่าวมีข้อด้อย คือ ค่าอุปกรณ์ และการดำเนินการค่อนข้างสูง ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้วิธีนี้ในการสกัดสารแสดงดังตารางที่ 3 [34-42]

หลักการทำงานของการสกัดด้วยวิธีนี้ คือ การดำเนินการภายใต้สภาวะน้ำกึ่งวิกฤติ ($T_c = 374^{\circ}\text{C}$ และ $P_c = 221 \text{ bar}$) มีผลต่อวัตถุดิบทั้งในทางเคมีและทางกายภาพ ในทางเคมีอุณหภูมิสูงจะไปทำลายพันธะไฮโดรเจน และ/หรือพันธะไฮโดรโพลีเมอร์ระหว่างโพลีฟีนอลกับโปรตีนทำให้ได้

สารประกอบโพลีฟีนอลและโปรตีนที่แยกออกจากกัน นอกจากนี้ภายใต้สภาวะดังกล่าวโมเลกุลของน้ำจะแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออนและไฮดรอกไซด์ไอออนจำนวนมากทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ช่วยย่อยโมเลกุลขนาดใหญ่ของวัตถุดิบให้มีขนาดเล็กลง ตัวอย่างเช่นการย่อยสลายลิกนินที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืชจะถูกย่อยโดยไอออนดังกล่าวได้เป็นสารประกอบประเภทฟีนอลในทางกายภาพการดำเนินการภายใต้อุณหภูมิสูงนี้จะทำลายผนังเซลล์ของพืชทำให้สารที่อยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชหลุดออกมาสู่ตัวทำละลาย กระบวนการทดลองแสดงดังรูปที่ 2

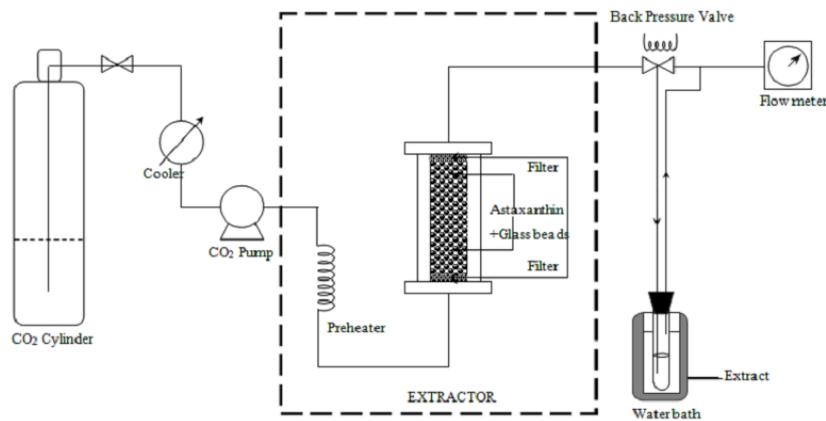


รูปที่ 2. กระบวนการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤติ [43]

2.6 การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะวิกฤติขยดยั้ง

วิธีนี้เป็นวิธีการสกัดประเภทหนึ่งที่ใช้สกัดสารเชิงยาหรือสารต้านอนุมูลอิสระที่เสื่อมสภาพได้ด้วยความร้อน และเป็นสารที่มีความมีขั้วต่ำ หรืออาจเรียกวิธีนี้ว่า การสกัดด้วยของไหลภายใต้สภาวะวิกฤติขยดยั้ง (Supercritical fluid extraction, SFE) ของไหลที่ใช้เป็นตัวทำละลายโดยมากเป็นคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลาย ซึ่งกำหนดสภาวะของคาร์บอนไดออกไซด์ให้อยู่ในสภาวะของไหลขยดยั้งหรือสภาวะที่เหนือจุดวิกฤติของคาร์บอนไดออกไซด์ ($T_c = 31.1^{\circ}\text{C}$ และ $P_c = 73.8$ bar) ด้วยสมบัติของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกบีบอัดให้เป็นของเหลวเหมือนน้ำและการไหลเหมือนอากาศทำให้สามารถแทรกเข้าไปในเนื้อวัตถุดิบที่ต้องการทำการสกัดได้ โดยทั่วไปวิธีนี้ใช้สกัดสารที่มีขั้วต่ำ อย่างไรก็ตามงานวิจัยในปัจจุบันได้มีการประยุกต์เพื่อให้สามารถสกัดสารที่มีขั้วสูงขึ้นได้โดยเติมตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมากกว่าในการสกัดด้วยหรือเรียกว่า Co-solvent ตัวอย่างเช่น เอทานอล กระบวนการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะวิกฤติขยดยั้ง แสดงเป็นตัวอย่างดังรูปที่ 3

ปัจจุบันวิธีนี้ใช้กันแพร่หลายเนื่องจากให้ประสิทธิภาพในการสกัดที่ดีเมื่อเทียบกับวิธีการสกัดประเภทอื่นๆ และสามารถสกัดสารได้หลายประเภทอีกทั้งยังสามารถแยกตัวทำละลายออกจากสารที่สกัดทันที ในปัจจุบันมีองค์กรเอกชนได้ทำการนำวิธีการสกัดนี้ไปใช้ และได้มีการขยายขนาดของระบบดังกล่าว อย่างไรก็ตามระบบดังกล่าวมีข้อด้อย คือ ค่าอุปกรณ์และค่าดำเนินการค่อนข้างสูง อีกทั้งดำเนินการภายใต้ความดันสูงต้องมีความระวังในระหว่างดำเนินการ ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้วิธีนี้ในการสกัดสารแสดงดังตารางที่ 4 [1, 44-51] นอกจากนี้วิธีนี้จะใช้ในการสกัดสารมีคุณค่าแล้วยังสามารถเปลี่ยนและย่อยสารบางชนิดให้เป็นสารที่มีคุณภาพประโยชน์มากกว่าได้อีก เช่น สาร hesperidin ไปเป็น hesperitin [52-53]



รูปที่ 3. การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะวิกฤติด้วยยั้ง [54]

ตารางที่ 1. งานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดสารมีประโยชน์จากแหล่งต่างๆ โดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัด (UAE)

Authors	Materials	Compounds	Frequency (kHz) & Power (W) *	Solvent type	Temperature (°C)	Time
Sališová <i>et al.</i> , 1997 [4]	<i>Salvia officinalis</i>	Pharmaceutical active compounds	37-42, 130	65% methanol	20, 30, 50	1, 3, 5, 12, 24 h
Rostagno <i>et al.</i> , 2003 [5]	Soybeans	Isoflavones	24, 200	Methanol, ethanol, acetonitrile, 50% ethanol	10, 60	10, 20 min
Schinor <i>et al.</i> , 2004 [6]	<i>Chresta scapigera</i>	Triterpenoids	60, 125	Dichloromethane, methanol	30	30 min
Jianyong <i>et al.</i> , 2001 [7]	Ginseng root	Saponins	38.5, 810	Pure ethanol, water, n-butanol, 10% methanol	38-39	1-2 h
Vázquez <i>et al.</i> , 2014 [8]	<i>Heterophyllaea pustulata</i> (Rubiaceae)	Anthraquinones	40, 80	Benzene, ethyl acetate	50	15, 30, 45, 60 min
Pan <i>et al.</i> , 2011 and 2012 [9, 10]	pomegranate peel	Tannic acid	20, NA	Water with water:peel ratio 50:1	25±2	2, 10, 20, 30, 60, 90 min
Tabaraki and Nateghi, 2011 [11]	Rice bran	Polyphenols/antioxidants	35, 140	65-67% Ethanol	51-54	40-45 min
Roseiro <i>et al.</i> , 2013 [12]	<i>Ceratonia siliqua L.</i>	Polyphenols	35, 320	Water and 70% acetone	30	30 min
d'Alessandro <i>et al.</i> , 2012 [13]	Black chokeberry	Polyphenols	30.8, 100	Acetone, alcoholic solvents	20-80	4 h

หมายเหตุ NA = not available หรือ ไม่ได้กล่าวไว้ในเอกสาร

* เป็นกำลังไฟฟ้าของเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง

ตารางที่ 2. งานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดสารมีประโยชน์จากแหล่งต่างๆ โดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยในการสกัด (MAE)

Authors	Materials	Compounds	Frequency (MHz) & Power (W) *	Solvent types	Solvent/solid (ml/g)	Temperature (°C)	Time (min)	Pressure (kPa)
Pan <i>et al.</i> , 2000 [14]	Licorice root	Glycyrrhizic acid (GA)	2450 MHz, 700 W	Water, ethanol, 50-60% ethanol, ammonia	10:1	85-90	0.5-10	-
Guo <i>et al.</i> , 2001 [15]	<i>Radix puerariae</i>	Puerarin	2450 MHz, 700 W	Ethanol-water with % of 0, 30, 50, 70, 95	5, 10, 20, 30, 40, 50	85, 90, 100, 115, 130, 135	2, 5, 8, 12, 30	50-100
Pan <i>et al.</i> , 2002 [16]	<i>Salvia miltiorrhiza bunge</i> of root	Tanshinones	-	n-Butylacetate, ethanol (95%), methanol, acetone, n-butanol, ethylacetate, tetrahydrofuran	10:1	80	0.5 – 5	-
Hao <i>et al.</i> , 2002 [17]	<i>Artemisia annua</i> L.	Artemisinin	NA, 650 W	Ethanol, Trichloromethane, Cyclohexane, n-hexane, Petroleum ether	>11.3	-	2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 18	-
Pan <i>et al.</i> , 2002 [18]	<i>Salvia miltiorrhiza bunge</i>	Tanshinones	2450 MHz, 700 W	-	-	80	0.5-5	-
Shu <i>et al.</i> , 2003 [19]	Ginseng root	Ginsenosides	2450 MHz, 30 and 150 W	Water-ethanol	-	Ambient	1, 2, 5, 10, 15)	-

ตารางที่ 2. (ต่อ) งานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดสารมีประโยชน์จากแหล่งต่างๆ โดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยในการสกัด (MAE)

Authors	Materials	Compounds	Frequency (MHz) & Power (W) *	Solvent types	Solvent/solid (ml/g)	Temperature (°C)	Time (min)	Pressure (kPa)
Li <i>et al.</i> , 2004 [20]	<i>Eucommia ulmodies</i>	Geniposidic Chlorogenic acid	2450 MHz, 700 W	Methanol-Water (80%) Methanol-water (20%)	20 -	- -	0.10, 0.30, 50	- -
Fulzele <i>et al.</i> , 2005 [21]	<i>Nothapodytes foetida</i>	Camptothecin (CPT)	NA, NA	Methanol, ethanol	-	80	3	-
Zhou <i>et al.</i> , 2006 [22]	Tobacco leaves	Solanesol	2450 MHz, 700 W	Hexane, ethanol, hexane:ethanol (3:1, 1:1, 1:3)	-	60	5, 10, 20, 40, 60	-
Martino <i>et al.</i> , 2006 [23]	<i>Melilotus officinalis</i>	Coumarin, o-coumaric and melilotic acids	NA, 100 W	Ethanol-water	-	50, 110	5, 10	-
Barbero <i>et al.</i> , 2006 [24]	Peppers	Capsaicinoids	NA, 500 W	Methanol, ethanol, acetone, ethyl acetate and Water	5:1	50-200	5-30	-
Hemwimon <i>et al.</i> , 2006 [25]	<i>Morinda citrifolia</i> of roots	Anthraquinones	2450 MHz, 1200 W	Acetone, methanol, ethanol, acetonitrile, ethanol:water (20:80, 50:50, 80:20)	100	60, 80, 100, 120	5, 10, 15, 20	-
Chen <i>et al.</i> , 2007 [26]	<i>Ganoderma atrum</i>	Total triterpenoid	2450 MHz, 800 W	95% Ethanol,	25	60, 70, 78, 100,	20	-

ตารางที่ 2. (ต่อ) งานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดสารมีประโยชน์จากแหล่งต่างๆ โดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยในการสกัด (MAE)

Authors	Materials	Compounds	Frequency (MHz) & Power (W) *	Solvent types	Solvent/solid (ml/g)	Temperature (°C)	Time (min)	Pressure (kPa)
		saponins		chloroform, ethyl acetate, n-butanol, acetone, and methylene chloride/methanol mixture (v/v,1:1)		120		-
Mauricio <i>et al.</i> , 2007 [27]	Soy beans	Isoflavones	NA, 500W	Ethanol or Methanol, (vary water 30–70%)	50	50, 75, 100, 125, 150	10, 15, 20, 25, 30	-
Mao <i>et al.</i> , 2007 [28]	<i>Rhodiola</i> L.	Salidroside and tyrosol	2450 MHz, 200, 400 and 700 W	Methanol:water (10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 90%)	5	-	1–8	-
Chen <i>et al.</i> , 2008 [29]	<i>Herba Epimedii</i>	Flavonoids	NA, 100 W	Ethanol and methanol	-	80	10	-
Wang <i>et al.</i> , 2008 [30]	<i>Panax ginseng</i> root	Ginsenosides	High pressure microwave assisted extraction (HPMAE)	Methanol, 70% ethanol–water, water	-	2, 5, 10, 15, 30	10	100, 200, 300, 400, 500
Terigar <i>et al.</i> , 2010 [31]	Rice bran/ Soy bean flour		250-3,000 MHz/NA	Methanol, ethanol, hexane, isopropanol	1:0.5, 1:1 and 1:2 by weight	23-50	-	-

หมายเหตุ NA = not available หรือ ไม่ได้กล่าวไว้ในเอกสาร

* เป็นกำลังไฟฟ้าของเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง

ตารางที่ 3. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารมีประโยชน์จากแหล่งต่างๆ โดยใช้ตัวทำละลายภายใต้สภาวะน้ำกึ่งวิกฤติ (SWE)

Authors	Materials	Compounds	Temperature (°C)	Pressure (bar)	Sample loading (g)	Extraction chamber (ml)
Pourali <i>et al.</i> , 2009 [34]	Rice bran	Oil	100-360, 120-240	Up to 250	3	32
Ko <i>et al.</i> , 2014 [35]	Onion skins, <i>Saururus chinensis</i> , seabuckthorn leaves, parsleys, carrots, lemons peels, orange peels, grapefruit peels	Non-polar flavonoids, quercetin, isortamnetin, kaempferol	110-210	100	1	22
Meillis <i>et al.</i> , 2013 [36]	Brown seaweed	Bioactive compounds	200-280	130-600	250	500
Cheigh <i>et al.</i> , 2012 [37]	<i>Citrus unshiu</i>	Flavonones; hesperidin, narirutin	10-100	110-200	10	34
Budrat and Shotipruk 2009 [38]	Bitter lemon (<i>Momordica charantia</i>)	Phenolic compounds	100	130-200	1	10
Fernandez-Ponce <i>et al.</i> , 2012 [39]	<i>Mangifera Indica</i> leaves	Phenolic compounds	100	40	15	100

ตารางที่ 3. (ต่อ) งานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดสารมีประโยชน์จากแหล่งต่างๆ โดยใช้ตัวทำละลายภายใต้สภาวะน้ำกึ่งวิกฤติ (SWE)

Authors	Material	Compound	Temperature (°C)	Pressure (bar)	Sample loading (g)	Extraction chamber (ml)
Aliakbarian <i>et al.</i> , 2012 [40]	Grape pomace	Phenolic compounds	100-140	80-150	2	100
Narita and Inouye 2012 [41]	Coffee silverskin	Antioxidants	25-270	10-53	1	NA
Gong <i>et al.</i> , 2013 [42]	Sea buckthorn (<i>Hippophae rhamnoides</i> L.)	Polyphenols	55	300	2	NA

หมายเหตุ NA = not available หรือ ไม่ได้กล่าวไว้ในเอกสาร

ตารางที่ 4. งานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดสารมีประโยชน์จากแหล่งต่างๆ โดยใช้ตัวทำละลายคาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะวิกฤติขุดยั้ง (SC-CO₂)

Authors	Material	Compound	Solvent Type	Temperature (°C)	Pressure (bar)	Sampling loading (g)	CO ₂ (liquid) flow rate (ml/min)	Extraction chamber (ml)
Palma <i>et al.</i> , 1999 [44]	Grape seed	Polyphenolics	SC-CO ₂ with methanol as co-solvent	35-55	NA	0.03	1	1
Tonthubthimthong <i>et al.</i> , 2001 [45]	Neem seeds	Nimbin	SC-CO ₂	35-60	100-260	2	0.24-1.24	10
Huang-Chung <i>et al.</i> , 2001 [46]	Ginseng root hair	Ginseng root hair oil and ginsenosides	SC-CO ₂ with ethanol as co-solvent	35-60	104-312	80	5	300
Mendes <i>et al.</i> , 1995 [47]	Algae <i>Chlorella vulgaris</i>	Carotenoids and other lipids	SC-CO ₂	40-55	200-350	5	400	NA
Matsuyama <i>et al.</i> , 1998 [48]	Yeast <i>Phaffia rhodozyma</i>	Astaxanthin	SC-CO ₂	40	197	0.3	N/A	50
Careri <i>et al.</i> , 2001 [49]	<i>Spirulina pacifica</i> algae	Carotenoids	SC-CO ₂ with ethanol as co-solvent	40-80	150-350	0.5	2	7
Imsanguan <i>et al.</i> , 2008 [50]	Rice bran	γ-oryzanol	SC-CO ₂	45-65	380 and 480	0.5	0.45	-

ตารางที่ 4. (ต่อ) งานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดสารมีประโยชน์จากแหล่งต่างๆ โดยใช้ตัวทำละลายคาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะวิกฤติยวดยิ่ง (SC-CO₂)

Authors	Materials	Compounds	Solvent Types	Temperature (°C)	Pressure (bar)	Sampling loading (g)	Solvent flow rate (ml/min)	Extraction chamber (ml)
Machmudah <i>et al.</i> , 2006 [1]	<i>Haematococcus pluvialis</i>	astaxanthin	SC-CO ₂ with ethanol as co-solvent	40-80	200-550	7	2-4	50
Ruen-ngam <i>et al.</i> , 2012 [51]	<i>Chlorella vulgaris</i>	Lutein Chlorophyll a, Chlorophyll b, β-carotene	SC-CO ₂ with ethanol as co-solvent	40-80	200-400	10	3	50

หมายเหตุ NA = not available หรือ ไม่ได้กล่าวไว้ในเอกสาร

เอกสารอ้างอิง (References)

- [1] Machmudah, S., Shotipruk, A., Goto, M. Sasaki, M. and Hirose, T., 2006. Extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using supercritical CO₂ and ethanol as entrainer. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 45, 3652-3657.
- [2] Thana, P., Machmudah, S., Goto, M., Sasaki, M., Pavasant, P. and Shotipruk, A., 2008. Response surface methodology to supercritical carbon dioxide extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource Technol.*, 99, 3110–3115.
- [3] Laboratory Supply Online Blogspot, 2013. Laboratory Supply Online.[online] Available at: < <http://labsupplyonline.blogspot.com>> [Accessed 26 November 2013].
- [4] Sališová, M., Toma, Š. and Mason, T.J., 1997. Comparison of conventional and ultrasonically assisted extractions of pharmaceutically active compounds from *Salvia officinalis*. *Ultrason. Sonochem.*, 4, 131-134.
- [5] Rostagno, M.A., Palma, M. and Barroso, C.G., 2003. Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. *J. of Chromatogr. A*, 1012, 119–128.
- [6] Schinor, E.C., Salvador, M.J., Turatti, C.C., Zucchi, O.L.A.D. and Dias, D.A., 2004. Comparison of classical and ultrasound-assisted extractions of steroids and triterpenoids from three *Chresta spp.* *Ultrason. Sonochem.*, 11, 415-421.
- [7] Jianyong, W., Lidong, L. and Foo-tim, C., 2001. Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells. *Ultrason. Sonochem.*, 8, 347–352.
- [8] Vázquez, M.F.B., Comini, L.R., Martini, R.E., Montoya, S.C.N., Bottini, S. and Cabrera, J.L., 2014. Comparisons between conventional, ultrasound-assisted and microwave-assisted methods for extraction of anthraquinones from *Heterophyllaea Pustulata* Hook f. (Rubiaceae). *Ultrason. Sonochem.*, 21, 478–484.
- [9] Pan, Z., Qu, W., Ma, H., Atungulu, G.G. and McHugh, T.H., 2012. Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel. *Ultrason. Sonochem.*, 19, 365–372.
- [10] Pan, Z., Qu, W., Ma, H., Atungulu, G.G. and McHugh, T.H., 2011. Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel. *Ultrason. Sonochem.*, 18, 1249-1257.

- [11] Tabaraki, R. and Nateghi, A., 2011. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of natural antioxidants from rice bran using response surface methodology. *Ultrason. Sonochem.*, 18, 1279–1286.
- [12] Roseiro, L.B., Duarte, L.C., Oliveira, D.L., Roque, R., Bernardo-Gil, M.G., Martins, A.L., Sepúlveda, C., Almeida, J., Meireles, M., Gírio, F.M. and Rauter, A.P., 2013. Supercritical, ultrasound and conventional extracts from carob (*Ceratonia siliqua* L.) biomass: Effect on the phenolic profile and antiproliferative activity. *Ind. Crop. Prod.*, 47, 132– 138.
- [13] d'Alessandro L.G., Kriaa K., Nikov I. and Dimitrov K., 2012. Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. *Sep. Purif. Technol.*, 93, 42–47.
- [14] Pan, X., Liu, H., Jia, G. and Shu, Y. Y., 2000. Microwave-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root. *Biochem. Eng. J.*, 5, 173–177.
- [15] Guo, Z., Jin, Q., Fan, G., Duan, Y., Qin, C. and Wen, M., 2001. Microwave assisted extraction of effective constituents from a chinese herbal medicine radix puerariae. *Anal. Chim. Acta*, 436, 41–47.
- [16] Pan, X., Niu, G. and Liu, H., 2001. Microwave-assisted extraction of tanshinones from *Salvia miltiorrhiza* bunge with analysis by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 922, 371–375.
- [17] Hao, J.U., Han, W., Huang, S.D., Xue, B.Y. and Deng, X., 2002. Microwave-assisted extraction of artemisinin from *Artemisia annua* L. *Sep. Purif. Technol.*, 28, 191–196.
- [18] Pan, X., Niu, G. and Liu, H., 2002. Comparison of microwave-assisted extraction and conventional extraction techniques for the extraction of tanshinones from *Salvia miltiorrhiza* bunge. *Biochem. Eng. J.*, 12, 71–77.
- [19] Shu, Y.Y., Koa, Y.M. and Chang, Y.S., 2003. Microwave-assisted extraction of ginsenosides from ginseng root. *Microchem. J.*, 74, 131–139.
- [20] Li, H., Chen, B., Zhang, Z. and Yao, S., 2004. Focused microwave-assisted solvent extraction and HPLC determination of effective constituents in eucommia ulmoides Olive (E. ulmoides). *Talanta*, 63, 659–665.
- [21] Fulzele, D.P. and Satdive, R.K., 2005. Comparison of techniques for the extraction of the anti-cancer drug camptothecin from *Nothapodytes foetida*. *J. Chromatogr. A*, 1063, 9–13.
- [22] Zhao, L., Zhao, G., Chen, F., Wang, Z., Wu, J. and Hu, X. (2006) Different effects of microwave and ultrasound on the stability of (all-E)-astaxanthin. *J. Agric. Food. Chem.*, 54, 8346-8351.

- [23] Martino, E., Ramaiola, I., Urbano, M., Bracco F. and Collina S., 2006. Microwave-assisted extraction of coumarin and related compounds from *Melilotus officinalis* (L.) pallas as an alternative to soxhlet and ultrasound-assisted extraction. *J. Chromatogr. A*, 1125, 147–151.
- [24] Barbero, G.F., Palma, M. and Barroso, C.G., 2006. Determination of capsaicinoids in peppers by microwave-assisted extraction–high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Anal. Chim. Acta*, 578, 227–233.
- [25] Hemwimon, S., Pavasant, P. and Shotipruk, A., 2006. Ultrasound-assisted extraction of enthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Ultrason. Sonochem.*, 13, 543–548.
- [26] Chen, Y., Xie, M.Y. and Gong, X.F., 2007. Microwave-assisted extraction used for the isolation of total triterpenoid aaponins from ganoderma atrum. *J. Food Eng.*, 81, 162–170.
- [27] Mauricio, A., Rostagno, Miguel, P. and Carmelo, G.B., 2007. Microwave assisted extraction of soy isoflavones. *Anal. Chim. Acta*, 588, 274–282.
- [28] Mao, Y., Li, Y. and Yao, N., 2007 Simultaneous determination of dalidroside and tyrosol in extracts of *Rhodiola* L. by microwave assisted extraction and high-performance liquid chromatography. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 45, 510–515.
- [29] Chen, L., Jin, H., Ding, L., Zhang, H., Li, J., Qu, C. and Zhang, H., 2008. Dynamic microwave-assisted extraction of flavonoids from *Herba Epimedii*. *Sep. Purif. Technol.*, 59, 50–57.
- [30] Wang, Y., You, J., Yu, Y., Qu, C., Zhang, H., Ding, L., Zhang, H. and Li, X., 2008. Analysis of ginsenosides in Panax Ginseng in high pressure microwave-assisted extraction. *Food Chem.*, 110, 161–167.
- [31] Terigar, B.G., Balasubramanian, S. and Boldor, D., 2010. An analysis of the microwave dielectric properties of solvent-oil feedstock mixtures at 300–3000 MHz. *Bioresource Technol.*, 101, 6510–6516.
- [32] Watchararужи, K., Goto, M., Sasaki, M. and Shotipruk, A., 2008. Value-added subcritical water hydrolysate from rice bran and soybean meal. *Bioresource Technol.*, 99, 6207–6213.
- [33] Wataniyakul, P., Pavasant, P., Goto, M., and Shotipruk, A., 2012. Microwave pretreatment of defatted rice bran for enhanced recovery of total phenolic compounds extracted by subcritical water. *Bioresource Technol.*, 124, 18–22.
- [34] Pourali, O., Asghari, F.S. and Yoshida, H., 2009. Review: Sub-critical water treatment of rice Bran to Produce Valuable Materials. *Food Chem.*, 115, 1–7.

- [35] Ko M., Cheigh C. and Chung M., 2014. Relationship Analysis between Flavonoids Structure and subcritical water Extraction (SWE). *Food Chem.*, 143, 147–155.
- [36] Meillisa, A., Siahaan, A.S., Park, J., Woo, H. and Chun, B., 2013. Effect of subcritical water hydrolysate in the brown seaweed *Saccharina japonica* as a potential antibacterial agent on food-borne pathogens. *J. Appl. Phycol.*, 25, 763–769.
- [37] Cheigh, C., Chung, E. and Chung, M., 2012. Enhanced extraction of flavanones hesperidin and narirutin from Citrus unshiu peel using subcritical water. *J. Food Eng.*, 110, 472–477.
- [38] Budrat, P. and Shotipruk, A., 2009. Enhanced recovery of phenolic compounds from bitter melon (*Momordica charantia*) by subcritical water extraction. *Sep. Purif. Technol.*, 66, 125–129.
- [39] Fernández-Ponce, M., Casas, L., Mantell, C., Rodríguez, M. and Ossa, E.M., 2012. Extraction of antioxidant compounds from different varieties of *Mangifera indica* leaves using green technologies. *J. Supercrit. Fluids*, 72, 168–175.
- [40] Aliakbarian, B., Fathi, A., Perego, P. and Dehghani, F., 2012. Extraction of antioxidants from winery wastes using subcritical water. *J. Supercrit. Fluids*, 65, 18– 24.
- [41] Narita, Y. and Inouye, K., 2012. High antioxidant activity of coffee silverskin extracts obtained by the treatment of coffee silverskin with subcritical water. *Food Chem.*, 135, 943–949.
- [42] Gong, Y., Zhang, X., He, L., Yan, Q., Yuan, F. and Gao, Y., 2013. Optimization of subcritical water extraction parameters of antioxidant polyphenols from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) seed residue. *J. Food Sci. Technol.* DOI 10.1007/s13197-013-1115-7.
- [43] Rangsrivong, P., Rangkadilok, N., Satayavivad, J., Goto, M. and Shotipruk, A., 2009. Subcritical water extraction of polyphenolic compounds from *Terminalia chebula* Retz. *Fruits. Sep. Purif. Technol.*, 66, 51-96.
- [44] Palma, M. and Taylor, L.T., 1999. Extraction of polyphenolic compounds from grape seeds with near critical carbon dioxide. *J. Chromatogr. A*, 89, 117-124.
- [45] Tonthubthimthong, P., Chuaprasert, S., Douglas, P. and Luewisutthichat, W., 2001. Supercritical CO₂ Extraction of nimbin from neem seeds – an experimental Study. *J. Food Eng.*, 47, 289-293.

- [46] Huang-Chung, W., Chao-Ruey, C. and Chiehming, J.C., 2001. Analytical nutritional and clinical methods section, carbon dioxide extraction of ginseng root hair oil and ginsenosides *Food Chem.*, 72, 505-509.
- [47] Mendes, R. L., Fernandes, H. L., Coelho J. P., Reis E. C., Cabral J. M. S., Novais J. M. and Palavra A.F., 1995. Supercritical CO₂ extraction of carotenoids and other lipids from *Chlorella vulgaris*. *Food Chem.*, 53, 99-103.
- [48] Matsuyama, K., Mishima, K., Taruta, Y., Ezawa M., Nagatani, M. and Park P.W., 1998. Extraction of astaxanthin from silver nitrate solution using supercritical fluid extraction. *Solvent Extr. Res. Dev.*, 5, 166-171.
- [49] Careri, M., Furlattini, L., Mangia, A., Musci, M., Anklam, E., Theobald, A. and von Holst, C., 2001. Supercritical fluid extraction for liquid chromatographic determination of carotenoids in *Spirulina pacifica* algae: a chemometric approach. *J. Chromatogr. A*, 912, 61-71.
- [50] Imsanguan, P., Roaysubtawee, A., Borirak, R., Pongamphai, S., Douglas, S. and Douglas, P.L., 2008. Extraction of alpha-tocopherol and gamma-oryzanol from rice bran. *Lwt- Food sci. technol.*, 41(8), 1417-1424.
- [51] Ruen-ngam, D., Shotipruk, A., Pavasant, P., Machmudah, S. and Goto, M., 2012. Selective extraction of lutein from alcohol-treated *Chlorella vulgaris* by supercritical carbon dioxide. *Chem. Eng. Technol.*, 35, 255-260.
- [52] Ruen-ngam, D., Armando, T., Quitain, Mitsuru C., Sasaki O., and Goto, M., 2012. Hydrothermal hydrolysis of hesperidin into more valuable compounds under supercritical carbon dioxide condition. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 51, 13545-13551.
- [53] Ruen-ngam, D., Armando, T., Quitain, Tanaka M., Sasaki M. and Goto, M., 2012. Reaction kinetics of hydrothermal hydrolysis of hesperidin into more valuable compounds under supercritical carbon dioxide conditions. *J. Supercrit. Fluids*, 66, 215-220.
- [54] Ruen-ngam, D., 2010. Extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. Ph.D. Thesis, Chulalongkorn University.