Research Article

Received: August 25, 2019; Accepted: November 11, 2019

วิธีการและสภาวะที่เหมาะสม ของการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดลำไย

Appropriate Extraction Methods and Conditions of Antioxidant Compounds in Longan

สุกัญญา เขียวสะอาด* และอัศวิน ดาดูเคล

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพายัพ

ตำบลหนองป่าครั่ง อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50000

อาทิตย์ ยาวุฑฒิ และพิสิษฐ์ วิมลธนสิทธิ์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา

ถนนห้วยแก้ว ตำบลช้างเผือก อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50300

Sukanya Keawsa-ard* and Auswin Dadookain

Faculty of Pharmacy, Payap University,

Nhongpakrug, Maung, Chiangmai 50000

Artit Yawootti and Pisit Wimonthanasit

Faculty of Engineering Rajamangala University of Technology Lanna,

Huay Kaew Road, Chang Puak, Muang, Chiang Mai 50300

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเมล็ดลำไย โดยใช้วิธีการสกัดที่ต่างกัน 3 วิธี ได้แก่ การแช่ (maceration) ฟลักซ์ (reflux) และสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ (magneto pulse extraction) แต่ละวิธีใช้ระยะเวลาในการสกัดสารต่างกัน โดยวิธีการแช่ใช้ระยะเวลาในการสกัด 3, 5 และ 7 วัน ส่วนวิธีรีฟลักซ์ใช้ระยะเวลาในการสกัด 1, 3 และ 6 ชั่วโมง และวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ใช้ระยะเวลาในการสกัด 15, 30 และ 45 นาที นำสารสกัดมาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากวิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดจากวิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 45 นาที ตามลำดับ ดังนั้นวิธีการและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเมล็ดลำไย คือ วิธีการรีฟลักซ์ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง สามารถสกัดสารที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 271.33±6.11 มิลลิกรัมสมมูลของ gallic acid ต่อกรัมของสารสกัดแห้ง และมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** sukanya_k40@hotmail.com **doi:** 10.14456/tstj.2020.163

มีค่า IC_{50} เท่ากับ 36.9±0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (FRAP value) เท่ากับ 1,010.42±8.59 ไมโครโมลสมมูลของ $FeSO_4$ ต่อกรัมของสารสกัดแห้ง

คำสำคัญ : เมล็ดลำไย; ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ; สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด; วิธีการสกัด; สภาวะการสกัด

Abstract

The aim of this research was to study appropriate extraction methods and conditions of antioxidant compounds from longan seed by comparing 3 methods; i.e. maceration, reflux and magneto pulse extraction. The different extraction times were studies at 3, 5 and 7 days for maceration, 1, 3 and 6 hours for reflux and 15, 30 and 45 minutes for pulsed electric field extraction. The extracts were evaluated for their antioxidant activity and total phenolic contents. The reflux extract for 6 hours showed the highest total phenolic content and antioxidant activity, followed by the reflux extract for 3 hours and the pulsed electric field extract for 45 minutes, respectively. Therefore, the reflux extraction for 6 hours is the suitable method and condition for antioxidant compounds extraction from longan seed. This condition gave the total phenolic content of 271.33±6.11 mg GAE/g dry extract and possessed the antioxidant activity by DPPH assays with the IC_{50} value of 36.9±0.4 μg/mL; FRAP value of 1,010.42±8.59 μmol $FeSO_4$/g dry extract.

Keywords: longan seed; antioxidant activity; total phenolic compound; extraction method; extraction condition

1. บทนำ

อนุมูลอิสระ (free radical) คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว (unpaired electron) อยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุด ไม่เสถียรแต่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีสูง [1] อนุมูลอิสระเกิดจากกระบวนการเมทาบอลิซึมต่าง ๆ ในร่างกาย เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน กระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว รวมทั้งปัจจัยภายนอกร่างกาย ได้แก่ ยารักษาโรคบางชนิด (โดยเฉพาะยารักษาโรงมะเร็ง) รังสีเอกซ์ (X-ray) ควันบุหรี่ อาหารปิ้งย่าง เป็นต้น [2] เมื่ออนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลในเซลล์หรือส่วนประกอบของเซลล์ในสิ่งมีชีวิต จะทำให้เกิดความผิดปกติขึ้น เช่น การทำงานของสารชีวโมเลกุลเกิดความบกพร่อง การทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ การเปลี่ยนสภาพโปรตีน และทำให้เกิดเป็นโรคต่าง ๆ ได้แก่ โรคระบบหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease) โรคชรา (aging) โรคความจำเสื่อม (Alzheimer's disease) โรคข้ออักเสบ (arthritis) โรคภูมิแพ้ (allergy) โรคมะเร็ง (cancer) เป็นต้น [3] อนุมูลอิสระถูกกำจัดได้ด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ได้แก่ เอนไซม์คะตะเลส (catalase) เอนไซม์กลูตาไธโอนเพอรอกซิเดส (glutathione peroxidase) และเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) หรือโปรตีนบางอย่าง เช่น อัลบูมิน (albumin) บิลิรูบิน (bilirubin) กลูตาไธโอน (glutathione) เป็นต้น [2] หากร่างกายมี

อนุมูลอิสระมากเกินไปจำเป็นต้องได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากการรับประทาน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอลิก ซึ่งสารเหล่านี้พบมากในพืชสมุนไพร ผัก และผลไม้ ทำให้ปัจจุบันมีการศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพร ผัก และผลไม้กันมากขึ้น [4]

ลำไยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dimocarpus longan* Lour. อยู่ในวงศ์ Sapindaceae เป็นพืชไม้ผลเขตร้อนและกึ่งร้อน ลำต้นมีสีน้ำตาล ผลเป็นทรงกลม เนื้อลำไยมีสีขาวหรือชมพูอ่อน เมล็ดสีดำเป็นมัน ลำไยมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูง เนื่องจากมีสารสำคัญที่เป็นสารประกอบฟีนอลิก 3 ชนิด ได้แก่ gallic acid, ellagic acid และ corilagin ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกพบในเนื้อ เปลือก เมล็ด และสายพันธุ์ลำไยจะต่างกันไป ในเมล็ดลำไยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเปลือกและเนื้อลำไย [5] นอกจากนี้ในเมล็ดลำไยยังพบสารประกอบฟีนอลิกอีกหลายชนิด ได้แก่ ethyl gallate, 1-β-O-galloyl-d-glucopyranose, methyl brevifolin carboxylate, brevifolin, 4-O-α-l-rhamnopyranosyl-ellagic acid เป็นต้น [6] การสกัดเป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้แยกสารที่ผสมกันออกจากกัน โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม การสกัดสารจากพืชสมุนไพรทำได้หลายวิธี ได้แก่ การสกัดแบบซอกห์เลต (Soxhlet extraction) การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (sonication) การกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) และการสกัดของแข็งด้วยของเหลว (solid-liquid extraction) เป็นต้น ซึ่งแต่ละวิธีจะให้สารสกัดที่ต่างกันและได้ปริมาณไม่เท่ากัน

การวิจัยนี้ผู้วิจัยสนใจเมล็ดลำไย ซึ่งเป็นเศษวัสดุเหลือทิ้งจากการคว้านเนื้อลำไยไปทำเป็นลำไยอบแห้ง ในพื้นที่ชุมชนเทศบาลตำบลบ้านธิ อำเภอบ้านธิ จังหวัดลำพูน โดยนำเมล็ดลำไยมาศึกษาวิธีการและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเมล็ดลำไย โดยใช้วิธีการสกัดที่ต่างกันและแต่ละวิธีใช้ระยะเวลาในการสกัดสารต่างกัน การวิจัยครั้งนี้ถือเป็นครั้งแรกที่ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีการแช่ วิธีรีฟลักซ์ และวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ ซึ่งผลการทดลองที่ได้จะเป็นข้อมูลสำคัญในการเลือกวิธีการและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเมล็ดลำไย ซึ่งองค์ความรู้ที่ได้อาจนำไปพัฒนาต่อยอดงานวิจัย สร้างนวัตกรรมเป็นผลิตภัณฑ์ด้านการแพทย์ อาหาร เครื่องสำอาง หรืออื่น ๆ เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับเมล็ดลำไยต่อไป

2. วิธีการวิจัย

2.1 เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer) บริษัท Perkin Elmer รุ่น LAMBDA 25 (ประเทศสหรัฐอเมริกา) เครื่องวัดสี (color meter) ยี่ห้อ Minolta รุ่น CR-10 (ประเทศญี่ปุ่น) เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (refractometer) ยี่ห้อ Atago รุ่น PAL-3 (ประเทศญี่ปุ่น) เครื่องระเหยแบบสุญญากาศภายใต้ความดันต่ำ (vacuum rotary evaporator) ยี่ห้อ Heidolph รุ่น HB digital (ประเทศเยอรมัน)

สารละลายมาตรฐาน gallic acid, Trolox, $FeSO_4.7H_2O$ และสาร 2,4,6-tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) จากบริษัท Sigma-Aldrich (ประเทศเยอรมัน) สาร Folin-Ciocalteau และสารมาตรฐาน vitamin C จากบริษัท Merck (ประเทศเยอรมัน) สาร DPPH จากบริษัท Sigma Chemical (ประเทศสหรัฐอเมริกา) สารเคมีอื่น ๆ และตัวทำละลายที่ใช้เป็นเกรดสำหรับวิเคราะห์

2.2 พืชที่ใช้ในการทดลอง

เมล็ดลำไยที่ใช้ในการวิจัยเป็นเมล็ดลำไยพันธุ์อีดอ เก็บในพื้นที่เทศบาลตำบลบ้านธิ อำเภอบ้านธิ จังหวัดลำพูน ช่วงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2561

2.3 การเตรียมวัตถุดิบใช้ในการทดลอง

นำเมล็ดลำไยมาล้างทำความสะอาด อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ด้วยตู้อบลมร้อนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปบดให้ละเอียด

2.4 การสกัดสารจากเมล็ดลำไย

สกัดสารจากเมล็ดลำไยโดยใช้วิธีที่ต่างกัน 3 วิธี แต่ละวิธีใช้เวลาในการสกัดที่ต่างกัน 3 สภาวะ ดังนี้

2.4.1 วิธีการแช่ ดัดแปลงจากวิธีของ Sultana และคณะ [7] โดยนำเมล็ดลำไยแห้งบดละเอียด 100 กรัม ใส่ลงในขวดแก้ว เติมตัวทำละลายเอทานอล 95 % ปริมาตร 400 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เปรียบเทียบเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็นเวลา 3, 5 และ 7 วัน

2.4.2 วิธีรีฟลักซ์ ดัดแปลงจากวิธีของ Pan และคณะ [8] โดยนำเมล็ดลำไยแห้งบดละเอียด 100 กรัม ใส่ขวดก้นกลม เติมตัวทำละลายเอทานอล 95 % ปริมาตร 400 มิลลิลิตร รีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็นเวลา 1, 3 และ 6 ชั่วโมง

2.4.3 วิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ ใช้เครื่องสร้างไฟฟ้าแรงดันสูงแบบพัลส์ช่วงสั้น แบบ unipolar ขนาดความกว้างพัลส์ 1 ไมโครวินาที ความถี่พัลส์ 2 เฮิรตซ์ กระตุ้นในห้องสกัดแบบทรงกระบอกซ้อนแกนร่วมที่บรรจุด้วยเมล็ดลำไยแห้งบดละเอียด 100 กรัม เติมตัวทำละลายเอทานอล 95 % ปริมาตร 400 มิลลิลิตร ระยะห่างระหว่างขั้วไฟฟ้าแรงดันสูง 2 เซนติเมตร โดยจ่ายไฟฟ้าแรงดันสูง 20 กิโลโวลต์ ที่ขั้วไฟฟ้าแกนกลางด้านใน กระแสไฟฟ้าแรงดันสูงพัลส์จะเคลื่อนที่ผ่านเมล็ดลำไยที่แช่ในเอทานอลไปยังกระบอกด้านนอกเป็นขั้วกราวด์ สนามไฟฟ้าในการสกัด 10 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร มีการเปรียบเทียบเวลาที่ใช้ในการสกัด 3 ระดับ ได้แก่ 15, 30 และ 45 นาที

นำสารสกัดจากเมล็ดลำไยที่ได้ทั้งหมดมากรองด้วยชุดกรองแบบสุญญากาศใช้กระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 5 นำสารสกัดมาตรวจวัดค่าสี (ค่า L*, a* และ b*) ด้วยเครื่องวัดสี และวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) ด้วยเครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และวัดตัวอย่างซ้ำ 5 ครั้ง นำสารสกัดไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส คำนวณหาร้อยละผลผลิตของสารสกัด (% yield) และเก็บสารสกัดหยาบไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนวิเคราะห์ต่อไป

2.5 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.5.1 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ใช้วิธี Folin Ciocalteu โดยดัดแปลงมาจากวิธีของ McDonald และคณะ [9] เตรียมสารละลายมาตรฐาน gallic acid เข้มข้น 0.01-0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอลกับน้ำ (50 : 50 % v/v) ปิเปตสารละลายมาตรฐาน gallic acid แต่ละความเข้มข้นมาอย่างละ 1 มิลลิลิตร ผสมสารละลาย Folin Ciocalteu (1 : 10 % v/v) 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 8 นาที เติมสารละลาย Na_2CO_3 (1 โมลาร์) 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vertex mixture เก็บไว้ที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของ

สารละลายมาตรฐาน gallic acid กับค่าการดูดกลืนแสง สำหรับสารสกัดจากเมล็ดลำไยทดลองเช่นเดียวกัน ใช้สารละลายเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอลกับน้ำ (50 : 50 %v/v) แทนสารละลายมาตรฐาน gallic acid คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากเมล็ดลำไย โดยเปรียบเทียบกับกราฟสมการเส้นตรงของสารมาตรฐาน gallic acid และรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของ gallic acid ต่อกรัมของสารสกัดแห้ง (mg GAE/g dry extract) นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติสำเร็จรูป เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT (Duncan's new multiple range test) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

2.5.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

(1) วิธี DPPH

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ดัดแปลงจากวิธีของ Keawsa-ard และคณะ [10] ใช้สาร Trolox และ vitamin C เป็นสารมาตรฐาน เตรียมสารละลายมาตรฐาน Trolox เข้มข้น 0.0025-0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายมาตรฐาน vitamin C เข้มข้น 0.00125-0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายสารสกัดจากเมล็ดลำไยเข้มข้น 0.005-0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเอทานอล ปิเปตสารละลายมาตรฐานหรือสารสกัด 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH (0.004 % w/v) 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vertex mixture เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจาก [(Ab - As) ÷ Ab] x 100 เมื่อ Ab คือ ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อไม่มีสารมาตรฐานหรือไม่มีสารสกัด (blank) ส่วน As คือ ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อมีสารมาตรฐานหรือสารสกัด ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง สร้างกราฟระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล DPPH กับความเข้มข้นของสารละลาย และคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารละลายที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (ค่า IC_{50}) โดยหาจากสมการเส้นตรงของกราฟเส้นตรงที่มีค่า R^2 (R-squared) มากกว่า 0.99 นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติสำเร็จรูป เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

(2) วิธี FRAP

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ดัดแปลงจากวิธีของ Manok และคณะ [11] ใช้สาร $FeSO_4.7H_2O$ เป็นสารละลายมาตรฐาน เตรียมสารละลาย FRAP โดยผสมสารละลาย acetate buffer เข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ (pH = 3.6) สารละลาย $FeCl_2.6H_2O$ เข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย TPTZ 10 มิลลิโมลาร์ ใน HCl 40 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 10 : 1 : 1 ตามลำดับ เตรียมสารละลาย $FeSO_4.7H_2O$ เข้มข้น 0.04-0.24 มิลลิโมลาร์ และเตรียมสารละลายสารสกัดจากเมล็ดลำไยเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเอทานอล ปิเปตสารละลายสารสกัดจากเมล็ดลำไย 1 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำ 1 มิลลิลิตร และสารละลาย FRAP 8 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vertex mixture ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน $FeSO_4$ กับค่าการดูดกลืนแสงเพื่อหาสมการเส้นตรง และคำนวณความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (FRAP value) ของสารละลายสารสกัดจากเมล็ดลำไย โดยเปรียบเทียบกับกราฟสมการเส้นตรง

ของสารละลายมาตรฐาน $FeSO_4$ และรายงานผลในหน่วยไมโครโมลสมมูลของ $FeSO_4$ ต่อกรัมของสารสกัดแห้ง (μmol $FeSO_4$/g dry extract) นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติสำเร็จรูป เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ผลการวัดค่าสีและวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

การสกัดสารจากเมล็ดลำไยด้วยเอทานอลด้วยวิธีสกัดที่ต่างกัน 3 วิธี ได้แก่ การแช่ รีฟลักซ์ และสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ โดยแต่ละวิธีจะใช้เวลาในการสกัดต่างกัน ดังตาราง 1 เมื่อนำสารละลายไปวัดค่าสี พบว่าค่า a* ของสารสกัดจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 1, 3 และ 6 ชั่วโมง และการสกัดจากวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 45 นาที มีค่าสูงสุดและไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่มีความแตกต่างทางนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดในสภาวะอื่น ๆ ($p \leq 0.05$) ส่วนค่า b* ของสารสกัดจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 15 นาที มีค่าสูงสุด และมีความแตกต่างทางนัยสำคัญเมื่อเทียบกับสารสกัดในสภาวะอื่น ๆ ($p \leq 0.05$) ส่วนค่า L* ของสารสกัดจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 15 นาที มีค่าสูงสุดและมีความแตกต่างทางนัยสำคัญเมื่อเทียบกับสารสกัดในสภาวะอื่น ๆ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในตาราง 1 ซึ่งค่าสีของสารสกัดที่วัดได้มีความสอดคล้องกับสีของสารละลายที่มองเห็น โดยสารสกัดจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 15 นาที มีสีเหลืองอ่อนสุด ทำให้มีค่า a* น้อยสุด ส่วนค่า b* และค่า L* มีค่าสูงสุด ส่วนสารสกัดจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 1, 3 และ 6 ชั่วโมง และสารสกัดจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 45 นาที มีสีน้ำตาลแดงเข้มสุด ทำให้มีค่า a* สูงสุด ส่วนค่า b* และค่า L* มีค่าต่ำสุด

ส่วนวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของสารสกัดได้ผลดังตาราง 1 พบว่าสารสกัดจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเฉลี่ยสูงสุด (22.6± 0.5 °Brix) รองลงมา คือ สารสกัดจากวิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมง (22.1±0.2 °Brix) และวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 45 นาที (22.0±0.1 °Brix) ตามลำดับ แต่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของสารสกัดจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 และ 6 ชั่วโมง และสารสกัดจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 45 นาที ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

เมื่อนำสารละลายของสารสกัดจากเมล็ดลำไยไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศภายใต้ความดันต่ำ ร้อยละผลผลิตของสารสกัดจากเมล็ดลำไยแสดงดังตาราง 2 พบว่าเมื่อใช้เวลาในแช่มากขึ้นร้อยละผลผลิตของสารสกัดจะเพิ่มขึ้น ซึ่งการสกัดสารด้วยวิธีรีฟลักซ์และวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ให้ผลในทำนองเดียวกัน วิธีรีฟลักซ์จะให้ร้อยละผลผลิตสูงกว่าวิธีอื่น ๆ การสกัดสารด้วยวิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ให้ร้อยละผลผลิตของสารสกัดสูงสุด รองลงมา คือ วิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 45 นาที ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการรีฟลักซ์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตามลำดับ

3.2 ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของ gallic acid ต่อกรัมของสารสกัดแห้ง ผลการทดลองแสดงในตาราง 3

Table 1 Physicochemical properties of longan seed extracts

Methods	Times	Colors	Means			TSS
			a*	b*	L*	(ºBrix)
Maceration	3 days	yellow-brown	-0.4±0.1[c]	5.8±0.2[b]	30.9±0.2[b]	10.1±0.1[b]
	5 days	yellow-brown	-0.5±0.1[c]	5.9±0.1[b]	31.0±0.2[b]	10.3±0.3[b]
	7 days	yellow-brown	-0.5±0.1[c]	5.9±0.2[b]	31.0±0.1[b]	10.5±0.5[b]
Reflux	1 hour	brown-red	0.4±0.2[a]	4.1±0.1[d]	29.4±0.1[d]	20.3±0.6[d]
	3 hours	brown-red	0.4±0.1[a]	3.9±0.2[d]	29.5±0.1[d]	22.1±0.2[e]
	6 hours	brown-red	0.4±0.1[a]	3.9±0.2[d]	29.5±0.1[d]	22.6±0.5[e]
Magneto pluse extraction	15 minutes	yellow	-1.0±0.1[b]	6.9±0.2[a]	32.2±0.3[a]	8.3±0.2[a]
	30 minutes	brown	0.3±0.1[a]	6.0±0.1[b]	30.3±0.2[c]	16.3±0.2[c]
	45 minutes	brown-red	0.4±0.1[a]	4.8±0.2[c]	29.7±0.3[d]	22.0±0.1[e]

Means ± S. D. with different superscript letters in the same column (a- g) indicate significant differences ($p \leq 0.05$) ($n = 5$)

Table 2 The percentage yields of the longan seed extracts

Methods	Times	% Yield (% w/w)
Maceration	3 days	2.81
	5 days	3.18
	7 days	3.84
Reflux	1 hour	6.09
	3 hours	6.29
	6 hours	6.98
Magneto pulse extraction	15 minutes	2.57
	30 minutes	4.47
	45 minutes	5.94

Table 3 Total phenolic contents of longan seed extracts

Methods	Times	Total phenolic contents (mg GAE/g dry extract)
Maceration	3 days	191.33±5.51[f]
	5 days	205.33±7.37[e]
	7 days	208.00±2.00[e]
Reflux	1 hour	215.67±7.51[d,e]
	3 hours	258.33±11.50[b]
	6 hours	271.33±6.11[a]
Magneto pulse extraction	15 minutes	112.67±7.77[g]
	30 minutes	225.00±5.29[d]
	45 minutes	243.33±6.66[c]

Means ± S.D. with different superscript letters in the same column (a-g) indicate significant differences ($p \leq 0.05$) ($n = 3$)

พบว่าสารสกัดเมล็ดลำไยที่ได้จากวิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเฉลี่ย 271.33±6.11 มิลลิกรัมสมมูลของ gallic acid ต่อกรัมของสารสกัดแห้ง รองลงมา คือ วิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมง (258.33±11.50 มิลลิกรัมสมมูลของ gallic acid ต่อกรัมของสารสกัดแห้ง) และวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 45 นาที (243.33±6.66 มิลลิกรัมสมมูลของ gallic acid ต่อกรัมของสารสกัด

แห้ง) ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นวงแหวนอะโรมาติกที่ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อย 1 หมู่ มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ สารที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี [1] การสกัดสารจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 3-6 ชั่วโมง และวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 30-45 นาที สกัดสารจากเมล็ดลำไยได้ดีกว่าวิธีการแช่เป็นเวลา 3-7 วัน อาจเป็นเพราะวิธีรีฟลักซ์เป็นการให้ความร้อนแก่ตัวทำละลายเพื่อละลายสารประกอบฟีนอลิกออกจากเมล็ดลำไย โดยตัวทำละลายถูกต้มจนเดือดแล้วถูกควบแน่นกลับลงมาในบริเวณ condenser ซึ่งเป็นการสกัดอย่างต่อเนื่อง ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดไม่ได้สลายตัว เนื่องจากได้มีรายงานวิจัยพบสารประกอบฟีนอลิกจากการสารสกัดใบลำไยที่สกัดด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ได้แก่ ellagic acid, 3, 4-O-dimethyl ellagic acid, (+)-catechin, ethyl gallate, gallic acid และ kaempferol [12]

ดังนั้นวิธีรีฟลักซ์จึงเป็นวิธีการสกัดสารออกมาจากเมล็ดลำไยได้ดีสุด รองลงมา คือ วิธีการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นการสกัดสารโดยใช้กระแสไฟฟ้าแรงสูงเป็นการทำให้เซลล์ของพืชแตก สารสกัดจึงถูกแรงเคลื่อนไฟฟ้าพาออกมาในตัวทำละลาย ส่วนวิธีการแช่เป็นการสกัดสารที่อุณหภูมิห้องสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้น้อยสุด อาจเนื่องจากไม่มีความร้อนช่วยในการสกัดจึงทำให้สารละลายออกมาได้น้อย นอกจากนี้ได้มีรายงานวิจัยเกี่ยวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเมล็ดลำไยแต่เมื่อเทียบกับการศึกษาในครั้งนี้มีค่าต่างกัน อาจเนื่องจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น สายพันธุ์ลำไย วิธีการสกัด ตัวทำละลาย สภาวะการทดลอง และระยะเวลาที่ใช้มีความต่างกัน เช่น Nitteranon [13] สกัดเมล็ดลำไยพันธุ์เถาโดยวิธีการแช่ด้วยเอทานอลเป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 93.12±58.88 มิลลิกรัมสมมูลของ gallic acid ต่อกรัมของสารสกัดแห้ ส่วน Natungnuy และคณะ [14] สกัดเมล็ดลำไยพันธุ์อีดอโดยวิธีการแช่ด้วยเมทานอลเป็นเวลา 7 วัน พบว่าสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 140.06±6.84 มิลลิกรัมสมมูลของ gallic acid ต่อกรัมของสารสกัดแห้ง Narkprasom และคณะ [15] สกัดเมล็ดลำไยพันธุ์อีดอโดยวิธีไมโครเวฟ ใช้กำลังไมโครเวฟ 700 วัตต์ เป็นเวลา 211 วินาที ด้วยเอทานอล 50 % พบว่าสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 64.952±0.556 มิลลิกรัมสมมูลของ gallic acid ต่อกรัมของสารสกัดแห้ง วิธีการและสภาวะในการสกัดสารจากเมล็ดลำไยในการวิจัยนี้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่างานวิจัยที่ได้กล่าวมายกเว้นวิธีสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 15 นาที

3.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH

เมื่อนำสารละลายมาตรฐาน Trolox, vitamin C และสารละลายสารสกัดลำไยที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ไปวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารละลายมาตรฐาน พล็อตกราฟระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของสารละลาย คำนวณค่า IC_{50} จากสมการเส้นตรงของกราฟได้ผลดังตาราง 4

สารสกัดจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีรีฟลักซ์ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีค่า IC_{50} ต่ำสุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดอื่น ๆ และมีความแตกต่างกันกันอย่างมี

นัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงว่าสารสกัดจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีรีฟลักซ์ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 45 นาที ส่วนวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 15 นาที มีค่า IC_{50} สูงสุด แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้น้อยที่สุด ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเมล็ดลำไยพบว่ามีความสอดคล้องกัน เนื่องจากสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง [1,16] ดังนั้นสารสกัดจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เป็นวิธีการและสภาวะที่ให้สารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าสารสกัดอื่น ๆ

Table 4 Antioxidant activity by DPPH method

Methods	Times	IC_{50} (μg/mL)
Maceration	3 days	48.7 ± 0.4^{f}
	5 days	$48.0 \pm 0.8^{e,f}$
	7 days	46.7 ± 0.6^{e}
Reflux	1 hour	42.9 ± 0.7^{d}
	3 hours	$37.9 \pm 0.3^{b,c}$
	6 hours	36.9 ± 0.4^{b}
Magneto pulse extraction	15 minutes	51.6 ± 1.1^{g}
	30 minutes	42.3 ± 0.6^{d}
	45 minutes	39.5 ± 0.8^{c}
Trolox		17.0 ± 0.1^{a}
Vitamin C		15.7 ± 0.2^{a}

Means ± S.D. with different superscript letters in the same column (a-g) indicate significant differences ($p \leq 0.05$) ($n = 3$)

Table 5 Ferric reducing antioxidant power of the longan seed extracts

Methods	Times	Ferric reducing antioxidant power (μmol $FeSO_4$ /g dry extract)
Maceration	3 days	524.65 ± 21.30^{g}
	5 days	650.41 ± 13.58^{f}
	7 days	653.88 ± 17.89^{f}
Reflux	1 hour	743.37 ± 10.93^{e}
	3 hours	908.47 ± 16.45^{b}
	6 hours	$1,010.42 \pm 8.59^{a}$
Magneto pulse extraction	15 minutes	527.72 ± 3.67^{g}
	30 minutes	777.67 ± 7.56^{d}
	45 minutes	868.26 ± 15.50^{c}

Means ± S.D. with different superscript letters in the same column (a-g) indicate significant differences ($p \leq 0.05$) ($n = 3$)

3.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมล็ดลำไย ด้วยวิธี FRAP

สารที่มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (FRAP value) สูงจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ FRAP ได้ดี [3] ผลการทดลองในตาราง 5 พบว่าสารสกัดจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (FRAP value) ดีที่สุด มีค่า 1010.42±8.59 ไมโครโมลสมมูลของ $FeSO_4$ ต่อกรัมของสารสกัดแห้ง รองลงมา คือ สารสกัดจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมง (มีค่า FRAP value 908.47±16.45 ไมโครโมลสมมูลของ $FeSO_4$ ต่อกรัมของสารสกัดแห้ง) และสารสกัดเมล็ดลำไยด้วยวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 45 นาที (มีค่า FRAP value 868.26±15.50 ไมโครโมลสมมูลของ $FeSO_4$ ต่อกรัมของสารสกัดแห้ง) ตามลำดับ

ส่วนวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 15 นาที มีค่า FRAP value ต่ำสุด แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้น้อยที่สุด สารสกัดจากเมล็ดลำไยที่สกัดด้วยวิธีการที่ต่างกันและสภาวะที่ต่างกัน เมื่อนำมาวิเคราะห์หาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP ให้ผลการวิเคราะห์ที่สอดคล้องเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

มีรายงานวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของลำไยทั้งวิธี DPPH และวิธี FRA เช่น Liu และคณะ [17] สกัดเปลือกและใบลำไยโดยวิธีรีฟลักซ์ด้วยเมทานอลที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 57 และ 58 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ Panyathep และคณะ [18] สกัดเมล็ดลำไยโดยวิธีการแช่ด้วยอะซีโตน ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทรกราฟีได้ 3 ส่วน (fraction) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH โดยมีค่า IC_{50} อยู่ระหว่าง 14-40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร Soong และคณะ [19] สกัดสารจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีการรีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่ามีความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (FRAP value) 1,388±136.8 ไมโครโมลต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดลำไยทั้งวิธี DPPH และวิธี FRAP ในการทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานที่กล่าวมามีความแตกต่างกัน อาจเนื่องจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น วิธีการทดสอบ สายพันธุ์ลำไย วิธีการสกัด ตัวทำละลาย สภาวะการทดลอง และระยะเวลาที่ใช้ต่างกัน

นอกจากนี้ค่าสีของสารสกัดที่วัดได้และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีความสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดรวมทั้งความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP โดยสารสกัดที่มีความเข้มของสีมาก คือ สารสกัดที่มีสีน้ำตาลแดง ได้แก่ วิธีการรีฟลักซ์เป็นเวลา 1-6 ชั่วโมง และวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 45 นาที ซึ่งมีค่า a* มาก ค่า b* และ L* น้อย มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดสูง แสดงว่าน่าจะสกัดสารออกมาจากเมล็ดลำไยได้ดีโดยเฉพาะสารประกอบฟีนอลิก จึงทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งวิธี DPPH และวิธี FRAP สูงด้วย ส่วนสารสกัดที่มีสีเหลืองจากวิธีสกัดด้วยวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ มีค่า a* น้อย ค่า b* และ L* สูง มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดน้อย แสดงว่าน่าจะสกัดสารออกจากเมล็ดลำไยได้น้อย จึงทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยและมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้ง DPPH และ ABTS น้อยด้วย

ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้พบว่าวิธีการสกัดสารจากเมล็ดลำไยด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่เหมาะสม คือ วิธีรีฟลักซ์ และเวลาที่เหมาะสมในการสกัด คือ เวลา 6 ชั่วโมง เนื่องจากได้สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP ดีที่สุด รองลงมา คือ วิธีการสกัดสารจากเมล็ดลำไยด้วยตัวทำละลายเอทานอลด้วยวิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และวิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเวลา 45 นาที ตามลำดับ

4. สรุปผลการศึกษา

การสกัดสารจากเมล็ดลำไยด้วยตัวทำละลายเอทานอลโดยวิธีรีฟลักซ์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เป็นวิธีและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด เนื่องจากได้สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด วิธีการสกัดแบบสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นอีกวิธีหนึ่งที่น่าสนใจอีกวิธีหนึ่งที่ใช้สกัดสาร แม้สารสกัดที่ได้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าวิธีรีฟลักซ์เล็กน้อยแต่ใช้ระยะเวลาในการสกัดน้อยกว่า

มาก และวิธีการสกัดแบบสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นการสกัดสารโดยใช้กระแสไฟฟ้าแรงสูงโดยทำให้เซลล์ของพืชแตก น่าจะเหมาะกับการสกัดพืชสดมากกว่าพืชแห้ง อย่างไรก็ตาม การเลือกวิธีการสกัดสารขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ สถานที่ อุปกรณ์เครื่องมือ ระยะเวลา เป็นต้น วิธีรีฟลักซ์มีเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ไม่ซับซ้อน เหมาะกับการใช้ในห้องปฏิบัติการทางเคมี วิธีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์มีอุปกรณ์ที่ซับซ้อนกว่าวิธีรีฟลักซ์ แต่สะดวกต่อการพกพามากกว่า สามารถนำไปสกัดยังสถานที่ต่าง ๆ ขณะที่วิธีการแช่เหมาะสำหรับสกัดสารที่ต้องการใช้วิธีที่อุณหภูมิไม่สูง เนื่องจากอุณหภูมิสูงอาจทำให้สารบางชนิดเกิดการสลายตัว นอกจากนี้วิธีการแช่ใช้เวลาในการสกัดนาน แต่มีอุปกรณ์ไม่ซับซ้อนและวิธีการไม่ยุ่งยาก การเลือกวิธีการสกัดจึงขึ้นอยู่กับความสะดวกและปัจจัยเอื้ออำนวยต่าง ๆ ดังกล่าวด้วย

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยพายัพที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย คณะวิทยาศาสตร์และคณะเภสัชศาสตร์ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และเครื่องมือในการวิจัย

6. References

[1] Vajragupta, O., Boonchoong, P., Boonya rut, C. and Atsinthong, M., 2007, Radical Scavenging Agents, 2nd Ed., New Thaimit Printing, Bangkok, 262 p. (in Thai)

[2] Jirum, J., Srihanam, P., 2011, Oxidants and antioxidants: Sources and mechanism, Acad. J. Kalasin Rajabhat Univ. 1(1): 59-70. (in Thai)

[3] Phansawan, B., 2013, Free radicals, antioxidants and antioxidant activity determination, Thai Sci. Technol. J. 21(3): 275-286. (in Thai)

[4] Tienboon, P., 2010, The role of antioxidants and health, Thai J. Clin. Nutr. 4(2): 69-76. (in Thai)

[5] Rangkadilok, N., Worasuttayayangkurn, L., Bennett, R.N. and Satayavivad, J., 2005, Identification and quantification of polyphenolic compounds in Longan (*Euphoria longana* Lam.) fruit, J. Agric. Food Chem. 53: 1387-1392.

[6] Zheng, G., Xu, L., Wu, P., Xie, H., Jiang, Y., Chen, F. and Wei, X., 2009, Polyphenols from longan seeds and their radical-scavenging activity, Food Chem. 116: 433-436.

[7] Sultana, B., Anwar, F. and Ashraf, M., 2009, Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts, Molecules 14: 2167-2180.

[8] Pan, Y., Wang, K., Huang, S., Wang, H., Mu, X., He, C., Ji, X., Zhang, J. and Huang, F., 2008, Antioxidant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel, Food Chem. 106: 1264-1270.

[9] McDonald, S., Prenzler, P.D., Antolovich, M. and Robards, K., 2001, Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts, Food Chem. 73: 73-84.

[10] Keawsa-ard, S., Liawruangrath, B., Liaw ruangrath, S., Teerawutgulrag, A. and

Pyne, S.G., 2012, Chemical constituents and antioxidant and biological activities of the essential oil from leaves of *Solanum spirale*, Nat. Prod. Commun. 7: 955-958.

[11] Manok, S. and Limcharoen, P., 2015, Investigating antioxidant activity by DPPH, ABTS and FRAP assay and total phenolic compounds of herbal extracts in Ya-Hom Thepphachit, Adv. Sci. 15: 106-117.

[12] Wu, Q., Wang, L., Yu, X., Sun, Y. and Jinag, Y., 2013, Polyphenols from longan leaf and their radical-scavenging activity, pp. 180-185, 4th International Conference on Food Engineering and Biotechnology, IACSIT Press, Singapore.

[13] Nitteranon, V., 2018, Anti-inflammatory, antioxidant and quinone reductase inducing effects of Lumyai Thao (*Dimocarpus longan* var. obtusus) seed extract, J. Food Sci. Agric. Tech. 4: 29-35.

[14] Natungnuy, K., Chareonsap, P. P. and Poeaim, S., 2018, Biological activities of the methanolic extracts from two varieties of *Dimocarpus longan* seeds, Int. J. Agric. Tech. 14: 1505-1514

[15] Narkprasom, K., Tanongkankit, Y., Saens charoenrat, P., Narkprasom, N., 2019, Optimization of Total Phenolic from *Euphoria longana* Lam. Seed by Microwave Assisted Extraction, Burapha Sci. J. 24(1): 48-63. (in Thai)

[16] Inrod, P., 2008, Antioxidant Activities and Total Phenolic Contents of *Etlingera pavieana* and *Amomum biflorum*, Special Project, Burapa University, Chon Buri, 64 p. (in Thai)

[17] Liu, Y., Liu, L., Mo, Y., Wei, C., Lv, L. and Luo, P., 2012, Antioxidant activity of longan (*Dimocarpus longan*) barks and leaves, Afr. J. Biotechnol. 11: 7038-7045.

[18] Panyathepa, A., Chewonarina, T., Taneyhillb, K. and Vinitketkumnuena, U., 2012, Antioxidant and anti-matrix metalloproteinases activities of dried longan (*Euphoria longana*) seed extract, Sci. Asia 39: 12-18.

[19] Soong, Y.Y. and Barlow, P.J., 2004, Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds, Food Chem. 88: 411-417.