การสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายที่สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ

TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS EXTRACTION FROM KLUAI HOM THONG PEELS USING SUBCRITICAL SOLVENT EXTRACTION TECHNIQUE

รัตนา ม่วงรัตน์* *พงศธร ถ้ำทอง จรัสศรี หลวงพันธ์*

Rattana Muangrat, Pongsathorn Tomtong, Jaratsri Luangpan*

สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Department of Food Engineering, Faculty of Agro-Industry, Chiang Mai University.

***Corresponding author, E-mail:** rattanamuangrat@yahoo.com*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้งด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายที่สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ และปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย (เอทานอล น้ำ และตัวทำละลายผสมน้ำและเอทานอลในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1) อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองต่อตัวทำละลาย (1:7.5, 1:15, 1:25 และ 1:30) อุณหภูมิ (60, 80, 100 และ 120 องศาเซลเซียส) และเวลา (5, 15, 30 และ 60 นาที) ผลการศึกษาพบว่าปัจจัยดังกล่าวมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง ตัวทำละลายผสมน้ำและเอทานอลในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1: 1 เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้ในปริมาณที่มาก เมื่อปริมาณตัวทำละลายผสมที่ใช้ในการสกัดมากขึ้น สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้เพิ่มขึ้น อุณหภูมิและเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้มีค่าสูงขึ้น อย่างไรก็ตามปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะลดลงเมื่ออุณหภูมิและเวลาในการสกัดมากกว่า 100 องศาเซลเซียส และนานกว่า 15 นาที ตามลำดับ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้ในปริมาณมากที่สุดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้งด้วยเทคนิคการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ คือ ที่อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลายผสม (น้ำและเอทานอลในอัตราส่วนโดยน้ำหนักเท่ากับ 1:1) เท่ากับ 1:25 อุณหภูมิและเวลาในการสกัดเท่ากับ 100 องศาเซลเซียส และ 15 นาที ตามลำดับ สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 59.23 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิคต่อกรัมของเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้จากสภาวะที่เหมาะสมที่สามารถยับยั้งสารอนุมูลอิสระดีพีพีเอชที่ร้อยละ 50 มีค่าประมาณ 1.40 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร

คำสำคัญ: การสกัดด้วยตัวทำละลายที่สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด กรดแกลลิค สารอนุมูลอิสระดีพีพีเอช

Abstract

Total phenolic compounds extraction from dried Kluai Hom thong peels using subcritical solvent extraction method was studied. The factors affecting the total phenolic compounds extraction were investigated such as type of solvents (ethanol, water and water-ethanol with the mixing weight ratio of 1:1), dried Kluai Hom thong peels and solvent weight ratios (1:7.5, 1:15, 1:25 and 1:30), extraction temperatures (60, 80, 100 and 120°C) and extraction time (5, 15, 30 and 60 min). The results showed that these factors had affected amount of the total phenolic compounds. The mixture solvent (water-ethanol ratio 1: 1) was a suitable solvent for extraction to obtain the highest amount of total phenolic compounds from dried Kluai Hom thong peels. When an amount of solvent increased, the amount of total phenolic compounds increased. In addition, the extraction temperature and the extraction time increased, the total phenolic compounds increased. However, the amount of the total phenolic compounds decreased with increasing temperature above 100°C and longer extraction time than 15 min. The highest average amount of the total phenolic compounds was 59.23 milligrams of gallic acid equivalent per gram dried Kluai Hom thong peel which obtained from the optimal condition (the ratio of dried Kluai Hom thong peels to water-ethanol solvent 1:25, the extraction temperature 100°C and time 15 min). The concentration of the total phenolic extract obtained from the optimal extraction necessary to inhibit 50% of DPPH• was 1.40 mg/ml.

Keywords: Subcritical Solvent Extraction, Total Phenolic Compounds, Gallic Acid, DPPH•

บทนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคตระหนักถึงความสำคัญของสุขภาพ ความงาม จึงให้ความสำคัญกับสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติเพิ่มขึ้นเช่น แอนโธไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก [1] เบตาแคโรทีน และแคโรทีนอยด์ [2] สารต้านอนุมูลอิสระพบได้ในผักและผลไม้ต่างๆ เช่น มะม่วง กล้วย ฟักทอง ส้ม แครอท เป็นต้น [3] กล้วยหอมทอง (Musa (AAA Group) "Kluai Hom Thong") เป็นผลไม้เศรษฐกิจที่ผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศนิยมรับประทานกันมากในปัจจุบัน มีการส่งออกทั้งกล้วยหอมทองสดเป็นจำนวนมาก และมีมูลค่าการส่งออกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องทุกปี ตลาดส่งออกกล้วยหอมทองที่สำคัญได้แก่ญี่ปุ่น ฮ่องกง และสิงคโปร์ เป็นต้น [4] แต่หลังจากการบริโภคหรือการแปรรูปจะมีเปลือกกล้วยหอมทองเหลือทิ้งจำนวนมาก ดังนั้นถ้าสามารถสกัดสารต้านอนุมูลอิสระอย่างสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองได้จะสามารถลดปริมาณเปลือกกล้วยหอมทองที่เหลือทิ้งได้และเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับเปลือกกล้วยหอมทอง พงศธร และคณะ [5] ได้ศึกษาหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่แข็งโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดประมาณ 59.3 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิคต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง สำหรับ Rebello และคณะ [6] ได้นำเปลือกกล้วยหอมทองมาผลิตแป้งกล้วย และวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดแป้งกล้วยซึ่งมีค่าประมาณ 29 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิคต่อกรัม

โดยทั่วไปการสกัดสารประกอบฟีนอลิกมีหลายวิธี [7] เช่น การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ (Subcritical Solvent Extraction) การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค (Ultrasonic Extraction) การสกัดด้วยซอกเล็ต (Soxhlet Extraction) และการแช่ในตัวทำละลาย เป็นต้น งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาความเป็นไปได้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองโดยใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ เพราะวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่สภาวะสภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติช่วยให้อัตราการถ่ายเทมวลเกิดขึ้นได้อย่างเร็วขึ้นเนื่องจากตัวทำละลายมีความหนืดต่ำและสัมประสิทธิ์การแพร่สูง และตัวทำละลายสามารถกระจายตัวเข้าไปยังวัตถุดิบที่จะสกัดได้อย่างทั่วถึงทำให้ตัวถูกละลายละลายออกมาอยู่ในตัวทำละลายได้มาก ตัวทำละลายที่สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติยังมีสมบัติการละลายของตัวทำละลาย (Solvent Power Property) ที่ดีและมีสมบัติในการเลือกสกัด (Selectivity Property) ที่เหมาะสมกับสารที่ต้องการสกัด นอกจากนี้งานวิจัยยังทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพื่อให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มากที่สุด โดยปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย (เอทานอล น้ำ และตัวทำละลายผสมน้ำและเอทานอล) อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองต่อตัวทำละลาย อุณหภูมิ และเวลาในการสกัด และทำการศึกษาเปรียบเทียบเทคนิคการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติกับเทคนิคต่างๆ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ

2. หาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพื่อให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สูงที่สุด โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย (เอทานอล น้ำ และตัวทำละลายผสมน้ำและเอทานอล) อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองต่อตัวทำละลาย อุณหภูมิ และเวลา

3. ศึกษาเปรียบเทียบเทคนิคการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติกับเทคนิคต่างๆ ได้แก่ การสกัดด้วยซอกเล็ต การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค และการแช่ในตัวทำละลายผสม

4. ศึกษาความสามารถของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองในการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยวิธีดักจับอนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl ($DPPH^{\bullet}$) radical

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ ประกอบไปด้วยขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

1. นำกล้วยหอมทองสุกที่ซื้อจากตลาดวโรรส อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ และมีความสุกระดับ 6 ตาม Banana Ripening Chart [8] มาวิเคราะห์ปริมาณความชื้นของเปลือกกล้วยหอมทอง (AOAC, 2000) [9] แล้วทำการอบแห้งเปลือกกล้วยหอมทองสดด้วยเครื่องอบแห้งแบบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนจนกระทั่งเหลือความชื้นสุดท้ายมีค่าเฉลี่ยประมาณ 1.35 เปอร์เซ็นต์มาตรฐานเปียก

2. นำตัวอย่างเปลือกกล้วยหอมทองที่เตรียมได้จากข้อ 1. ไปสกัดด้วยเทคนิคการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ โดยทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง

ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย (เอทานอลน้ำ และตัวทำละลายผสมน้ำและเอทานอล) อัตราส่วนโดยน้ำหนักระหว่างเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลาย (1:7.5, 1:15, 1:25 และ 1:35) อุณหภูมิในการสกัด (60, 80, 100 และ 120 องศาเซลเซียส) และเวลาในการสกัด (5, 15, 30 และ 60 นาที) แต่ละปัจจัยทำการทดลอง 3 ซ้ำ เมื่อสกัดเสร็จนำตัวอย่างสารละลายที่สกัดได้ไปผ่านเครื่องกรองสุญญากาศ (Super Suction Unit, SS200, Sturdy Industrial Co., Ltd., Australia) ชั่งสารละลายสกัดที่กรองได้จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดต่อไป

3. นำสารสกัดที่ได้จากข้อ 2. มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยวิธี Folin-Ciocalteu ดัดแปลงตามวิธีของ Loypimai และคณะ [10] โดยนำสารสกัด 250 ไมโครลิตร มาเติมลงในน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ จำนวน 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาณ 250 ไมโครลิตร ลงในสารละลายที่เตรียมได้แล้วผสมให้เข้ากัน นำไปวางในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จนปฏิกิริยาเกิดขึ้นสมบูรณ์ จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงแบบ double-beam (PerkinElmer Instruments, Lambda 25 UV/VIS Spectrometer, Shelton, USA) เปรียบเทียบผลที่ได้กับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิคซึ่งเป็นความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกรดแกลลิคกับค่าดูดกลืนแสงของสารละลายสกัด เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในรูปของมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิคต่อกรัมของเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

4. นำสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดจากข้อ 2. มาหาความสามารถในการยับยั้งสารอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) โดยใช้วิธีดักจับอนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl ($DPPH^{\bullet}$) radical ดัดแปลงตามวิธีของ Tananuwong และ Tewaruth [11] โดยทำการเจือจางสารละลายที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0.0313, 0.0625, 0.0125, 0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 2.50, 3.00 และ 4.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายสกัดเจือจางลงในขวดสีชา จำนวน 10 ขวด ขวดละ 0.15 มิลลิลิตร เตรียมสารละลายดีพีพีเอช (DPPH Solution) ที่มีความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ ในตัวทำละลายเอทานอล ทำได้โดยการชั่งสาร DPPH 0.0118 กรัม ละลายด้วยตัวทำละลายเอทานอล จนสารละลายหมด จากนั้นปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเอทานอลให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ ปริมาณ 2.85 มิลลิลิตร ลงในสารละลายสกัดเจือจางที่เตรียมไว้ แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของการยับยั้งสารอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (%$DPPH^{\bullet}$ Inhibition) แสดงดังสมการที่ (1)

$$\%\ DPPH^{\bullet}\ inhibition = \left[\frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}}\right] \times 100 \quad (1)$$

เมื่อ $A_{control}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีตัวอย่างของสารละลายสกัดทำโดยใช้เอทานอลจำนวน 0.15 มิลลิลิตร แทนตัวอย่างของสารละลายสกัด A_{sample} คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสกัดเจือจางที่เตรียมไว้ผสมกับสารละลาย DPPH โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และใช้เอทานอลเป็น Blank จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทอง

ที่สามารถลดปริมาณสารอนุมูลอิสระ DPPH• ลงได้ร้อยละ 50 ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

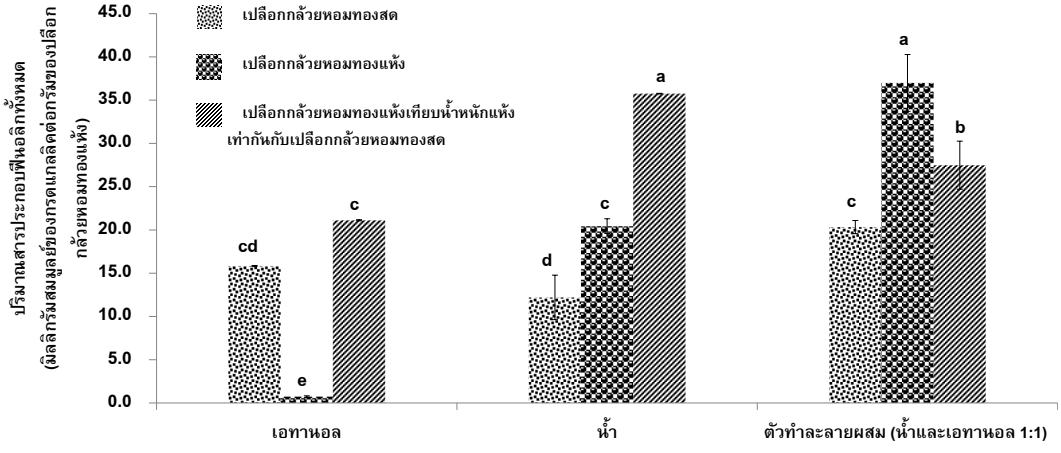
5. ทำศึกษาเปรียบเทียบเทคนิคการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติกับเทคนิคต่างๆ ได้แก่ การสกัดด้วยซอกเล็ต การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค (Elmasonic S30H, Elma Hans Schmidbauer GmbH & Co. K, Germany) และการแช่ในตัวทำละลายผสม

6. วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ โดยแต่ละขั้นตอนการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) แล้วทำการวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS version 17.0 for Windows

ผลการวิจัย

1. การศึกษาเปรียบเทียบชนิดของตัวทำละลายที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดจากเปลือกกล้วยหอมทอง

ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ เอทานอล น้ำ และตัวทำละลายผสม (อัตราส่วนโดยน้ำหนักของน้ำและเอทานอลเท่ากับ 1:1) นำเปลือกกล้วยหอมทองสด (มีความชื้น 85.4 เปอร์เซ็นต์มาตรฐานเปียก) เปลือกกล้วยหอมทองแห้ง และเปลือกกล้วยหอมทองแห้งเทียบน้ำหนักแห้งที่เท่ากันกับเปลือกกล้วยหอมทองสด มาสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองทั้ง 3 แบบต่อตัวทำละลาย เท่ากับ 1:15 ผลการศึกษาแสดงดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำ และตัวทำละลายผสมน้ำและเอทานอล (อัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1) ภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ ที่อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองต่อตัวทำละลาย 1:15 ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

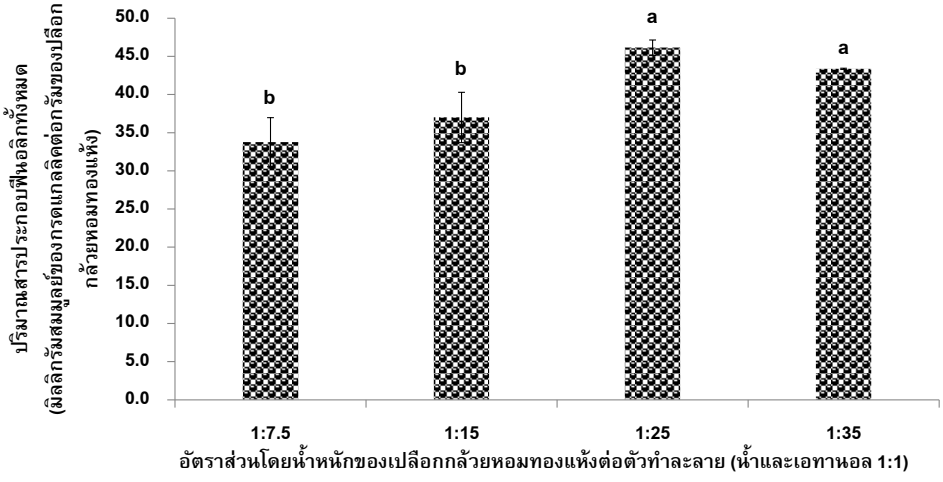
จากภาพที่ 1 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยหอมทองสด เปลือกกล้วยหอมทองแห้ง และเปลือกกล้วยหอมทองแห้งเทียบน้ำหนักแห้งที่เท่ากันกับเปลือกกล้วยหอมทองสด ด้วยตัวทำละลายเอทานอล มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 15.83±0.07, 0.74±0.09 และ 21.11±0.07 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิคต่อกรัมของเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยหอมทองสด เปลือกกล้วยหอมทองแห้ง และเปลือกกล้วยหอมทองแห้งเทียบน้ำหนักแห้งที่เท่ากันกับเปลือกกล้วยหอมทองสดด้วยตัวทำละลายน้ำ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 12.21±2.58, 20.44±0.85 และ 35.75±0.04 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิคต่อกรัมของเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยหอมทองสด เปลือกกล้วยหอมทองแห้ง และเปลือกกล้วยหอมทองแห้งเทียบน้ำหนักแห้งที่เท่ากันกับเปลือกกล้วยหอมทองสดด้วยตัวทำละลายผสมน้ำและเอทานอลในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับเท่ากับ 20.33±0.76, 36.99±3.29 และ 27.47±2.78 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมของเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง ตามลำดับ

จากผลการทดลองข้างต้นสรุปได้ว่าตัวทำละลายผสม (น้ำและเอทานอลในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1) สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้งได้มากที่สุดและมีความสามารถสกัดได้ดีกว่าน้ำและเอทานอล ตามลำดับ อีกทั้งเปลือกกล้วยหอมทองแห้งเมื่อนำมาสกัดจะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าเปลือกกล้วยหอมทองสด อาจเนื่องมาจากตัวทำละลายผสม (น้ำและเอทานอล) มีขั้วที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองได้ดีกว่าน้ำ และเอทานอลเพียงอย่างเดียว ตามลำดับ จากการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rajha และคณะ [12] ได้ศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลและน้ำที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากกากผลองุ่น ผลการศึกษาพบว่าที่อัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลและน้ำเท่ากับ 66 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้มากที่สุด

2. การศึกษาผลของอัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลาย ในการสกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติที่มีต่อปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมด

จากสภาวะการสกัดที่ดีที่สุดจากผลการศึกษาในข้อที่ 1. นำมาศึกษาผลของอัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลายผสม (น้ำและเอทานอลในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1) ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลายผสม (น้ำและเอทานอลในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1) เท่ากับ 1:7.5, 1:15, 1:25 และ 1:35 ที่อุณหภูมิสกัด 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อหาอัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลายผสม (น้ำและเอทานอล) ที่เหมาะสมที่สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้ปริมาณมากที่สุด ผลการทดลองพบว่าอัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลาย (น้ำและเอทานอล) ที่ 1:7.5, 1:15, 1:25 และ 1:35 ที่ใช้ในการสกัดจะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 33.74±3.21, 37.0±3.29, 46.13±1.01 และ 43.37±0.09 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิคต่อกรัมของเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง เมื่อตัวทำละลายมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

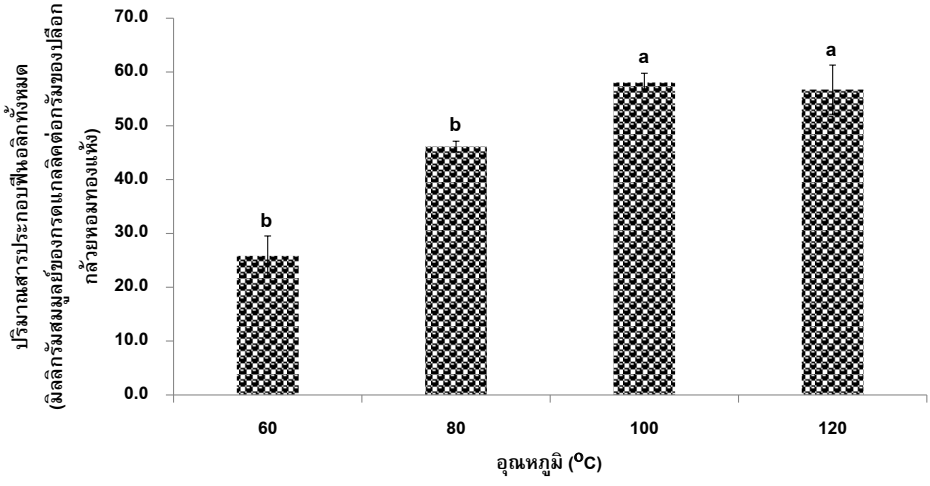
ทั้งหมดที่ได้จะสูงขึ้น ที่อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลาย (น้ำและเอทานอล) 1:25 และ 1:35 ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงดังภาพที่ 2 งานวิจัยนี้จึงเลือกอัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลาย (น้ำและเอทานอล) 1:25 เนื่องจากใช้ปริมาณตัวทำละลายที่น้อยกว่าจึงช่วยลดปริมาณตัวทำละลายในการสกัด



ภาพที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยหอมทองแห้งด้วยตัวทำละลายผสมน้ำและเอทานอล (อัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1) ภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติที่อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลายผสมที่ 1:7.5, 1:15, 1:25 และ 1:35 ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

3. การศึกษาผลของอุณหภูมิในการสกัดที่มีต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง

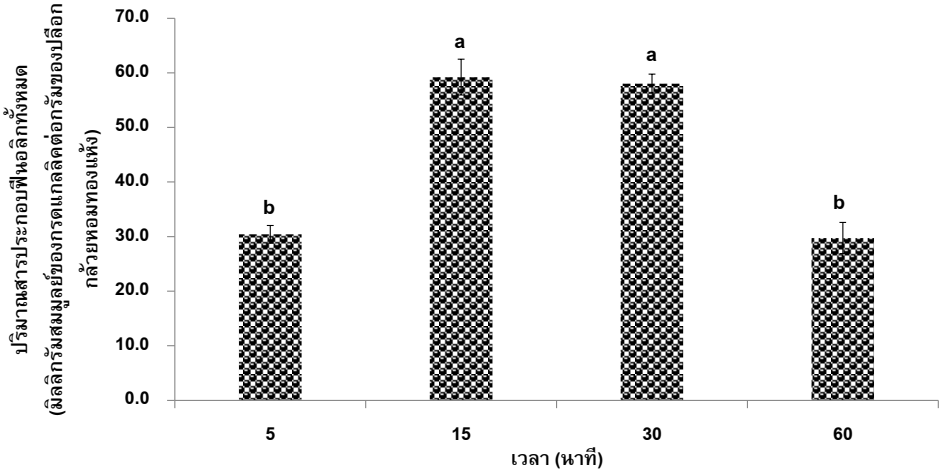
ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 3 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้ที่อุณหภูมิ 60, 80, 100 และ 120 องศาเซลเซียส มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 25.81$\pm$3.72, 46.13$\pm$1.01, 58.03$\pm$1.73 และ 56.72$\pm$4.57 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิคต่อกรัมของเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง ตามลำดับ อุณหภูมิมีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้งด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากขึ้น แต่เมื่ออุณหภูมิในการสกัดสูงกว่า 100 องศาเซลเซียส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะลดลง เนื่องจากอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเพิ่มขึ้นทำให้เกิดการสลายตัวของสารปะกอบฟีนอลิกทั้งหมดเนื่องจากความร้อน [12] อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และ 120 องศาเซลเซียส สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ งานวิจัยนี้จึงเลือกอุณหภูมิในการสกัด 100 องศาเซลเซียส เนื่องจากสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้มากและใช้อุณหภูมิที่ต่ำกว่า



ภาพที่ 3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยหอมทองแห้งด้วยตัวทำละลายผสมน้ำและเอทานอล (อัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1) ภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติที่อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลายผสมเท่ากับ 1:25 อุณหภูมิในการสกัด 60, 80, 100 และ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

4. การศึกษาผลของเวลาในการสกัดที่มีต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง

จากผลการศึกษาข้างต้น การสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ ที่อัตราส่วนระหว่างเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลายผสม (น้ำและเอทานอลในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1) 1:25 อุณหภูมิการสกัด 100 องศาเซลเซียส สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้ดี ดังนั้นจึงนำมาศึกษาเพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลการทดลอง (แสดงดังภาพที่ 4) พบว่าเวลามีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อเวลาในการสกัดนานขึ้น (มากกว่า 15 นาที) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้จะลดลง เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้จะได้รับปริมาณความร้อนเพิ่มขึ้นเมื่อการสกัดนานขึ้นส่งผลให้เกิดการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากขึ้น [12] ดังนั้นที่เวลาในการสกัด 15 นาที และ 30 นาที สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้มากกว่าที่เวลา 5 และ 60 นาที โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 59.23$\pm$3.28 และ 58.03$\pm$1.72 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลิคต่อกรัมของเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เวลาในการสกัด 15 นาที เพราะใช้เวลาในการสกัดที่สั้นกว่า



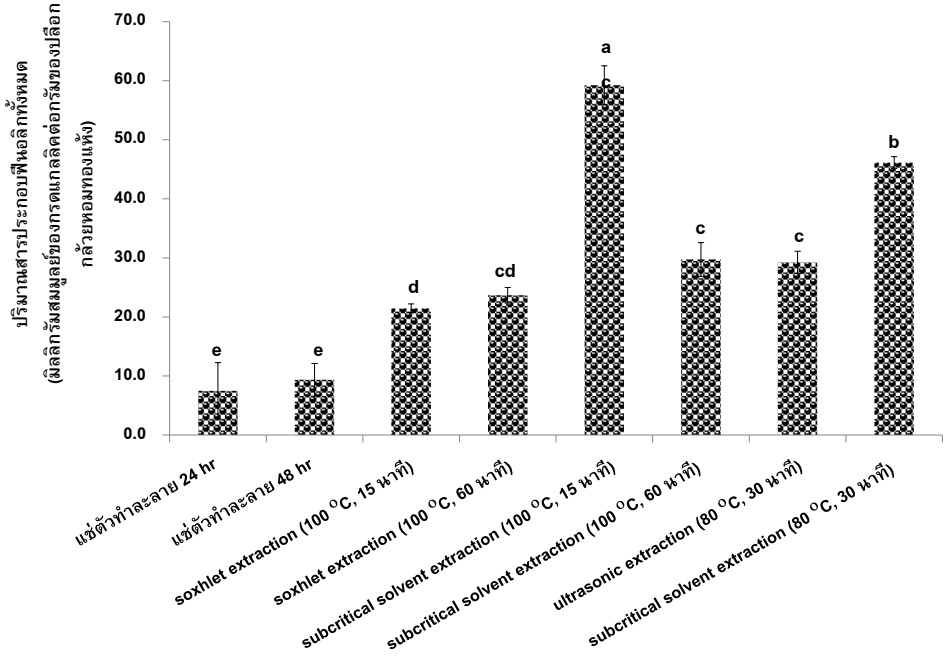
ภาพที่ 4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยหอมทองแห้งด้วยตัวทำละลายผสมน้ำและเอทานอล (อัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1) ภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติที่อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลายผสมเท่ากับ 1:25 ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที

5. การศึกษาเปรียบเทียบเทคนิคต่าง ๆ ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง

จากการศึกษาและทดลองเปรียบเทียบการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง ด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติและเทคนิคการสกัดแบบต่างๆ ได้แก่ การสกัดด้วยซอกเล็ต การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค และการแช่ในตัวทำละลายผสม โดยสกัดที่สภาวะการสกัดเดียวกันกับการสกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ ผลการทดลอง (แสดงดังภาพที่ 5) พบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 และ 60 นาที ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 59.23$\pm$3.28 และ 29.74$\pm$2.86 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิคต่อกรัมของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งตามลำดับ การสกัดแบบซอกเล็ตที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 และ 60 นาที ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 21.46$\pm$0.74 และ 23.68$\pm$1.32 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิคต่อกรัมของเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง ตามลำดับ ขณะที่การแช่ด้วยตัวทำละลายเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.48$\pm$4.78 และ 9.36$\pm$2.76 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิคต่อกรัมของเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง ตามลำดับ จากผลการทดลองสรุปได้ว่าที่สภาวะการสกัดเดียวกันการสกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้มากกว่าการสกัดแบบซอกเล็ตและการแช่ในตัวทำละลายตามลำดับ

จากภาพที่ 5 การเปรียบเทียบการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้งที่สภาวะการสกัดเดียวกันระหว่างการสกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติและการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค (อุณหภูมิสกัด 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ที่อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอม

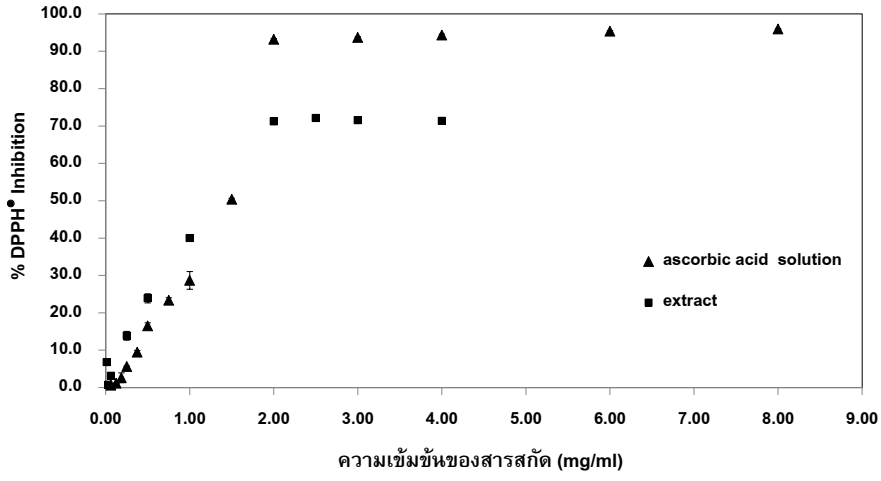
ทองแห้งต่อตัวทำละลายผสม (น้ำและเอทานอลในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1) เท่ากับ 1:25) ผลการทดลองพบว่า การสกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้มากกว่าการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค เนื่องจากคาวิเตชัน (Cavitation) ที่เกิดขึ้นจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคอาจทำให้เกิดอนุมูลอิสระอย่างเช่น hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$) ที่อาจทำปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลิกและเกิดการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้ลดลง [13-15]



ภาพที่ 5 การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยหอมทองแห้งด้วยตัวทำละลายผสมน้ำและเอทานอล (อัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1) ที่อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลายผสมเท่ากับ 1:25 ด้วยเทคนิคการสกัดแบบต่างๆ

6. การศึกษาความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้จากการสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทอง

การศึกษาความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากกากสกัดเปลือกกล้วยหอมทองแห้งที่อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลายผสม (น้ำและเอทานอลในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1) 1:25 อุณหภูมิในการสกัด 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ซึ่งเป็นสภาวะที่สกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้ปริมาณมากที่สุด พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง 1.40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ได้ที่ร้อยละ 50 ขณะที่ความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแอสคอบิกที่สามารถยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ที่ร้อยละ 50 มีค่าประมาณ 1.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (แสดงดังภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH• ของสารสกัดที่ได้จากเปลือกกล้วยหอมทองแห้งเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายผสม (น้ำและเอทานอลที่อัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1) ภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติที่อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลายผสมเท่ากับ 1:25 อุณหภูมิในการสกัด 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สรุปและอภิปรายผล

ชนิดของตัวทำละลาย อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลาย อุณหภูมิ และเวลามีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้งด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ เมื่อตัวทำละลายในอัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลาย อุณหภูมิ และเวลาในการสกัดสูงขึ้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้มีค่าเพิ่มมากขึ้น โดยสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ คือการสกัดเปลือกกล้วยหอมทองแห้งด้วยตัวทำละลายผสม (น้ำและเอทานอลในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1) โดยใช้อัตราส่วนโดยน้ำหนักเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:25 ที่อุณหภูมิและเวลาเท่ากับ 100 องศาเซลเซียส และ 15 นาที ตามลำดับ โดยสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้เท่ากับ 59.23$\pm$3.28 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิคต่อกรัมของเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง ความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้ 1.40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งสารอนุมูลอิสระ DPPH• ที่ร้อยละ 50

เมื่อทำการเปรียบเทียบสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติกับการสกัดด้วยเทคนิคอื่นๆ ได้แก่ การสกัดด้วยซอกเล็ต การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค และการแช่ในตัวทำละลาย พบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้งได้ดีกว่าการสกัดด้วยซอกเล็ต การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค และการแช่ในตัวทำละลาย จากงานวิจัยที่ได้พบว่าเปลือกกล้วยหอมทองสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลิกทางธรรมชาติที่สามารถสกัดได้ด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ โดยงานวิจัยจะศึกษาเพิ่มเติมในการนำสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยหอมทองมาใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป

เอกสารอ้างอิง

[1] Johansson, E., Hussain, A., Kuktait, R., Andersson, S.C.; and Olsson, M.E. (2014). Contribution of organically grown crops to human health. *International Journal of Environmental Research and Public Health.* 11(4): 3870–3893.

[2] Durante, M., Lenucci, M.S.; and Mita, G. (2014). Supercritical carbon dioxide extraction of carotenoids from pumpkin (*Cucurbita* spp.): a review. *International Journal of Molecular Sciences*. 15(4): 6725-6740.

[3] Liu, R.H. (2013). Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet. *Advances in Nutrition.* 4: 384S-392S.

[4] *สารสนเทศเศรษฐกิจการเกษตรรายสินค้า เอกสารสถิติการเกษตรเลขที่ 401*. (2557). กรุงเทพฯ: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

[5] พงศธร ล้อสุวรรณ; จิตศิริ ราชตนะพันธุ์; และ ศศิธร จันทนวรางกูร. (2551). สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สมบัติการต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์ของเปลือกผลไม้. ใน *เอกสารการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร.* หน้า 554-561. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

[6] Rebello, L.P.G., Ramos, A.M., Pertuzatti, P.B., Barcia, M.T., Castillo-Muñoz, N.; and Hermosín-Gutiérrez, I. (2014). Flour of banana (*Musa AAA*) peel as a source of antioxidant phenolic compounds. *Food Research International*. 55: 397-403.

[7] Delfanian, M., Kenari, R.E.; and Sahari, M.A.. (2015). Influence of extraction techniques on antioxidant properties and bioactive compounds of loquat fruit (*Eriobotrya japonica* Lindl.) skin and pulp extracts. *Food Science and Nutrition*. 3(3): 179–187.

[8] *UC. Davis. Banana ripening chart*. (2005). Retrieved August 25, 2015, from http://postharvest.ucdavis.edu/PFfruits/BananaPhotos/?repository=29280&a=83211

[9] AOAC. (2000). *Official methods analysis of Analysis of AOAC International 17th ed.* USA, Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists International.

[10] Loypimai, P., Moongngarm, A.; and Chottanom, P. (2009). Effects of ohmic heating on lipase activity, bioactive compounds and antioxidant activity of rice bran. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 3(4): 3642-3652.

[11] Tananuwong, K.; and Tewaruth, W. (2010). Extraction and application of antioxidants from black glutinous rice. *LWT-Food Science and. Technology*. 43: 476-481.

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

[13] Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L.; and Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry-A review. *Innovative Food Science* and *Emerging Technologies*. 9: 161-169.

[14] Bremner, D.H., Burgess, A.E.; and Chand, R. (2011). The chemistry of ultrasonic degradation of organic. *compounds. Current Organic Chemistry*. 15(2): 168-177.

[15] Ho, S.K., Tan, C.P., Thoo, Y.Y., Abas, F.; and Ho, C.W. (2014). Ultrasound-assisted extraction of antioxidants in Misai Kucing (*Orthosiphon stamineus*). *Molecules.* 19: 12640-12659.