

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกส้มโอพันธุ์  
ทับทิมสยามด้วยความถี่เหนือเสียงและวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง

Optimized Extraction of Total Phenolic Compounds  
from 'Tubtim Siam' Pummelo Peel Using Ultrasonic Technique  
and Response Surface Methodology

ฉานิกา แซ่แง ชุกลิน<sup>1\*</sup> และสุภาวิช ชุกลิน<sup>2</sup>

Chanika Saenge Chooklin<sup>1\*</sup> and Supasit Chooklin<sup>2</sup>

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกส้มโอทับทิมสยามโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยอัลตราซาวด์และศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้ ปัจจัยที่ใช้ในการหาสภาวะที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้นของเอทานอล (10 30 และ 50 %v/v) ระยะเวลาในการสกัด (15 30 และ 45 นาที) และสัดส่วนเปลือกส้มโอแห้งต่อสารละลายเอทานอล (1:1 1:2 1:3) โดยใช้วิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง ออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken พบว่า ปัจจัยทั้ง 3 มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ ส่วนการวิเคราะห์ทางสถิติบ่งชี้ว่าข้อมูลจากการทดลองเหมาะสมกับสมการพหุนามกำลังสองเนื่องจากให้ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจสูงมีค่าเท่ากับ 0.9294 ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด คือ ความเข้มข้นของเอทานอล 35 %v/v ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที และสัดส่วนเปลือกส้มโอต่อเอทานอล ภายใต้สภาวะการสกัดสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดที่ได้นี้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการทดลองสูงสุดเท่ากับ  $13.67 \pm 0.52$  mgGAE/gDW และจากการคำนวณเท่ากับ 13.66 mgGAE/gDW และมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวัดเป็นค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ %DPPH เท่ากับ 32.58 %

คำสำคัญ: สารประกอบฟีนอลิกรวม เปลือกส้มโอ อัลตราซาวด์

<sup>1</sup> ผศ.ดร., คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ตรีัง 92150

<sup>2</sup> ผศ.ดร., คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย จังหวัดนครศรีธรรมราช 80240

<sup>1</sup> Asst. Prof. Dr., Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang, 92150, Thailand.

<sup>2</sup> Asst. Prof. Dr., Faculty of Agroindustry, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakon Si Thammarat, 80240, Thailand.

\* Corresponding author: E-mail address: chanika.sae@gmail.com

(Received: May 17, 2020; Revised: November 14, 2020; Accepted: November 26, 2020)

## Abstract

The objectives of this research are to optimize extraction condition for total phenolic compounds from 'Tubtim Siam' pummelo peel using ultrasonic assisted extraction and to determine antioxidant activities of the crude extracts. Variables used to study the optimal extraction conditions of total phenolic compounds include concentration of ethanol (10-50 %v/v), extraction time (15-45 min), and ratio of dried pummelo peel: ethanol solution (1:1, 1:2, 1:3). Furthermore, the optimal were determined using a response surface methodology (RSM) by Box Behnken design. The results showed that these three factors affected the yield of extracted total phenolic. Moreover, the statistical analysis provided indications that the data obtained from the experiment should be fitted to polynomial equation because of its high coefficient of determination with R-square = 0.9294. The highest yields of total phenolic compounds were obtained when the samples were dissolved in ethanol at 35%v/v, the extraction time was set at 30 min and the ratio of solid/ethanol was 1:2. Under these optimal conditions, the highest total phenolic compounds yield were  $13.67 \pm 0.52$  mgGAE/gDW from experimental values and 13.66 mgGAE/gDW from predicted values and the scavenging activity of percentage of inhibition by DPPH assay was 32.58 %.

**Keywords:** Total Phenolic Compound, Pomelo Peel, Ultrasound

## บทนำ

ส้มโอทับทิมสยามเป็นพืชเศรษฐกิจ และเป็นผลไม้ที่มีชื่อเสียงของจังหวัดนครศรีธรรมราช ส่วนใหญ่เปลือกที่ปอกแล้วถูกทิ้งให้เน่าเปื่อยสร้างมลภาวะเป็นพิษให้กับสิ่งแวดล้อม ดังนั้นเพื่อลดปัญหานี้จึงมีแนวคิดในการนำเปลือกส้มโอมาใช้ประโยชน์ มีงานวิจัยจำนวนมากพบว่าในเปลือกผลไม้เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ เช่น สารประกอบโพลีฟีนอลและสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ [1] ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการต้านแบคทีเรียต้านไวรัสต้านการอักเสบ [2] ศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของส้มโอ พบว่า เปลือกส้มโอมีปริมาณการต้านออกซิเดชันสูงกว่าส่วนเนื้อเชื้อส้มโอ ส่วนการศึกษาของ Pichaiyongvongdee *et al.* [3] ศึกษาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันในส้มโอสายพันธุ์ต่างๆ พบว่า ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงสุดในเมล็ดทุกสายพันธุ์ ส่วนอื่นๆ จะลดลงมา คือ อัลเบลโดฟลาเวโนลและส่วนเมมเบรน ตามลำดับ ยังมีข้อมูลการวิจัยจำนวนน้อยที่ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเปลือกส้มโอ โดยเฉพาะเปลือกส้มโอทับทิมสยามจากอำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเปลือกส้มโอทับทิมสยามเหลือทิ้ง สำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอลิกสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (Solvent Extraction) [4] ซึ่งมีข้อเสีย คือ ใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน และสิ้นเปลืองตัวทำละลาย การสกัดด้วยของไหลเหนือจุดวิกฤต (Supercritical Fluid Extraction) พบว่าสารสกัดที่ได้มีความบริสุทธิ์ค่อนข้างสูง ประหยัดตัวทำละลาย และเหมาะสำหรับการสกัดสารที่ละลายได้ง่ายเมื่อโดนความร้อน [5] อย่างไรก็ตามระบบดังกล่าวมีข้อด้อยคือ ค่าอุปกรณ์เครื่องมือและค่าดำเนินการมีราคาสูง สำหรับการสกัดสารชีวภาพด้วยรังสีอัลตราซาวด์ (Ultrasound Irradiation) เป็นเทคนิคการสกัดหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ ซึ่งข้อดีคือ ระยะเวลาการสกัดสั้น ไม่สิ้นเปลืองพลังงาน [6] อัลตราซาวด์เป็นผลทางกลที่ทำให้การแพร่ของตัวทำละลาย

เข้าไปในตัวอย่าง ซึ่งการสกัดด้วยอัลตราซาวด์จะไม่มีตัวทำละลายไม่ใช้สารเคมีเข้ามาเกี่ยวข้อง [7] Hung *et al.* [8] ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและกิจกรรมทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกส้มโอด้วยเอนไซม์และการสกัดด้วยอัลตราซาวด์เสริม พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยเอนไซม์ คือ ความเข้มข้นเอนไซม์ 2 % สัดส่วนน้ำต่อของแข็งเท่ากับ 40 mg/L อุณหภูมิการบ่ม 50°C และเวลาในการสกัด 60 min ส่วนการสกัดด้วยอัลตราซาวด์เสริม คือ สัดส่วนน้ำต่อของแข็งเท่ากับ 40 mg/L ที่อุณหภูมิห้อง และเวลาในการสกัด 60 min และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด นารินกินและเฮสเพอริดินของสารสกัดเพิ่มขึ้นตามเทคนิคการสกัดผิวดอกสอง (ซึ่งวิธีพื้นที่ Respond Surface Methodology, RSM) เป็นวิธีที่ใช้ในการออกแบบการทดลองและศึกษาความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระที่มีต่อตัวแปรตอบสนอง นอกจากนี้ยังให้ความแม่นยำของสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากเปลือกส้มโอทับทิมสยามโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยอัลตราซาวด์ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้โดยศึกษาปัจจัยในการสกัด คือ ความเข้มข้น ของเอทานอลระยะเวลาในการสกัด และสัดส่วนเปลือกส้มโอต่อเอทานอลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกส้มโอ เพื่อพัฒนากระบวนการสกัดสารสำคัญจากเปลือกส้มโออย่างมีประสิทธิภาพ

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างส้มโอที่ใช้ในการทดลองเป็นพันธุ์ทับทิมสยามจากอำเภอ ปากพั่น จังหวัดนครศรีธรรมราช (ดังภาพที่ 1) การเตรียมตัวอย่างเริ่มจากการนำเอาเปลือกส้มโอมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า นำเปลือกเขียว (Flaveldo) มาหั่นให้เป็นชิ้นขนาดเท่าๆ กัน ( $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$ ) นำไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ  $50 \pm 5$  องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ความชื้นประมาณ 10%) จากนั้นนำไปบดด้วยเครื่องบดและคัดขนาดด้วยตะแกรงร่อน (ขนาด 50 mesh) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อทำการสกัดในขั้นตอนต่อไป ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ลักษณะส้มโอทับทิมสยาม

## การสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากเปลือกส้มโอทับทิมสยามโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยอัลตราซาวด์

ซึ่งผงเปลือกส้มโอ 1 กรัม เติมน้ำเอทานอล (ความเข้มข้น 10 30 และ 50 %v/v) จำนวน 50 มิลลิลิตร เขย่าเพื่อผสมให้เข้ากัน นำไปสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิก (120 วัตต์ 45 กิโลเฮิร์ต) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส [9] ที่เวลาต่าง ๆ (15 30 และ 45 นาที) นำสารสกัดตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง ด้วยความเร็วรอบ 2,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที แยกสารสกัดส่วนใสออกจากหลอดทดลอง และนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อไป

### การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Compounds) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Reagent (ดัดแปลงวิธีจาก Namjooyan *et al.* [10])

### การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical Scavenging Capacity (DPPH Assay) ทำตามวิธีของ Srimun and Tajai [11]

### การวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากแบบจำลอง

การทดลองเพื่อหาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอทับทิมสยามโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยอัลตราซาวด์ในวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology) วางแผนการทดลองแบบ Box-Behnken Design (BBD) ศึกษาปัจจัยในการสกัด 3 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของเอทานอล ( $X_1$ ) ระยะเวลาในการสกัด ( $X_2$ ) และสัดส่วนของเปลือกส้มโอต่อเอทานอล ( $X_3$ ) ปัจจัยที่ใช้ในการทดลองซึ่งมี 3 ระดับ คือ ระดับต่ำ (-1) ระดับกลาง (0) และระดับสูง (1) ดังแสดงในตารางที่ 1 และในการทดลองสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากเปลือกส้มโอทับทิมสยามด้วยอัลตราซาวด์ได้ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ STATISTICA (Version12, Dell, USA)

ตารางที่ 1 ปัจจัยและระดับของปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง

| ปัจจัย                       | ตัวแปร | ระดับ |     |     |
|------------------------------|--------|-------|-----|-----|
|                              |        | -1    | 0   | 1   |
| ความเข้มข้นของเอทานอล (%v/v) | $X_1$  | 10    | 30  | 50  |
| ระยะเวลาในการสกัด (นาที)     | $X_2$  | 15    | 30  | 45  |
| สัดส่วนเปลือกส้มโอต่อเอทานอล | $X_3$  | 1:3   | 1:2 | 1:1 |

### การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม

เมื่อทำการทดลองสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากเปลือกส้มโอทับทิมสยามโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยอัลตราซาวด์ทั้ง 17 การทดลองแล้ว นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความถูกต้องของแบบจำลองการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R-square) และการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เพื่อนำมาสร้างสมการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้ โดยนำค่าของปัจจัยที่ได้จากการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ของสมการถดถอยของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมาเขียนให้อยู่ในรูปของสมการดังสมการที่ 1

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 \quad (1)$$

เมื่อ Y คือ ผลการตอบสนอง  $X_1, X_2, X_3$  คือ ตัวแปรอิสระ หรือปัจจัยที่ศึกษา  $\beta_0$  คือ ค่าคงที่สมการ  $\beta_1, \beta_2, \beta_3$  คือ สัมประสิทธิ์สมการเส้นตรง  $\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}$  คือ สัมประสิทธิ์สมการปฏิสัมพันธ์ และ  $\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}$  คือ สัมประสิทธิ์สมการกำลังสอง

### ผลการทดลอง

**ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกส้มโอทับทิมสยาม**

สภาวะการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมที่ดีที่สุด ภายใต้การทดลองจริงนี้ คือ ความเข้มข้นของเอทานอล 30 %v/v สัดส่วนเปลือกส้มโอต่อเอทานอล 1:2 และระยะเวลาในการสกัด 30 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดเท่ากับ  $136.58 \pm 0.018$  mgGAE/gDW

**การสร้างสมการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอทับทิมสยาม**

จากค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R-square;  $R^2$ ) มีค่าเท่ากับ 0.9294 หมายถึงตัวแปรอิสระสามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตามได้ 92.94 % และจากค่า Lack of Fit ของแบบจำลองเท่ากับ 0.1020 ซึ่งไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2) และการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจากเปลือกส้มโอที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 ในตารางที่ 3 พบว่าค่า p-value ในเทอมของ  $X_1^2, X_2^2$  และ  $X_3^2$  มีค่าเท่ากับ 0.002 0.0007 และ 0.0084 ตามลำดับ เมื่อนำมาสร้างสมการทางคณิตศาสตร์ในการทำนายหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากเปลือกส้มโอทับทิมสยามโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยอัลตราซาวด์ดังแสดงในสมการที่ 2

$$\text{ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Y)} = 136.33 + 6.58X_1 - 0.696X_2 - 1.40X_3 - 7.02X_1X_2 - 2.31X_1X_3 + 2.94X_2X_3 - 15.15X_1^2 - 18.27X_2^2 - 11.47X_3^2 \quad (2)$$

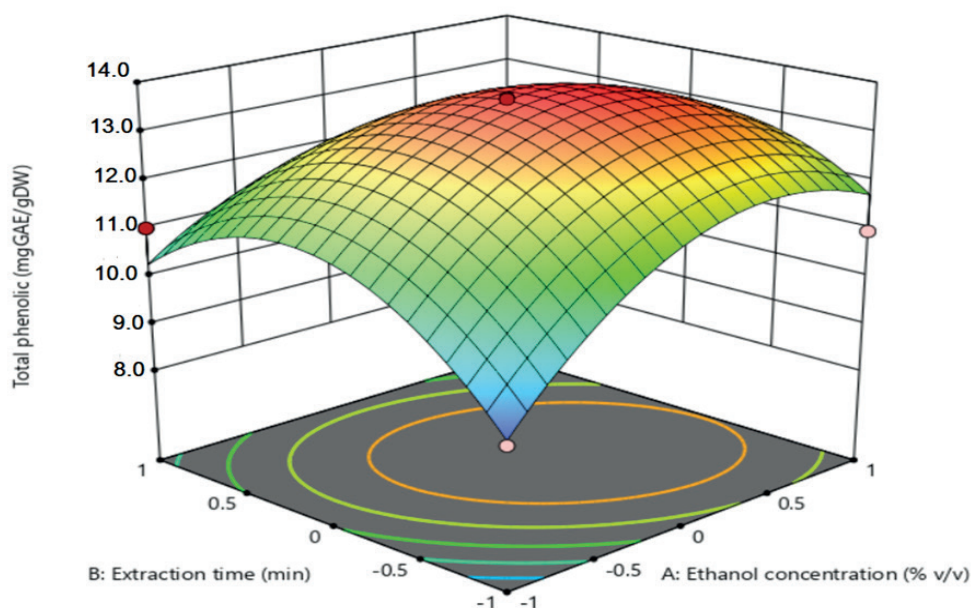
**การสร้างพื้นที่ผิวตอบสนองของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอ**

จากภาพที่ 2 พบว่า เมื่อความเข้มข้นของเอทานอลและระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมีปริมาณสูงขึ้นจนถึงจุดหนึ่งแล้วจะลดลงมา สำหรับความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของเอทานอลและระยะเวลาในการสกัดที่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้มีลักษณะไม่เป็นเส้นตรงโดยที่เส้นโค้งจุดกลางแสดงถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้สูงสุดมีค่ามากกว่า 13.5 mgGAE/gDW สำหรับภาพที่ 3 พบว่า เมื่อความเข้มข้นของเอทานอลและสัดส่วนเปลือกส้มโอต่อเอทานอลเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้มีปริมาณสูงขึ้นจนถึงจุดหนึ่งแล้วจะลดลง และในภาพที่ 4 พบว่า เมื่อระยะเวลาในการสกัดและสัดส่วนของเปลือกส้มโอต่อเอทานอลเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้มีปริมาณสูงขึ้นแล้วจึงลดลง

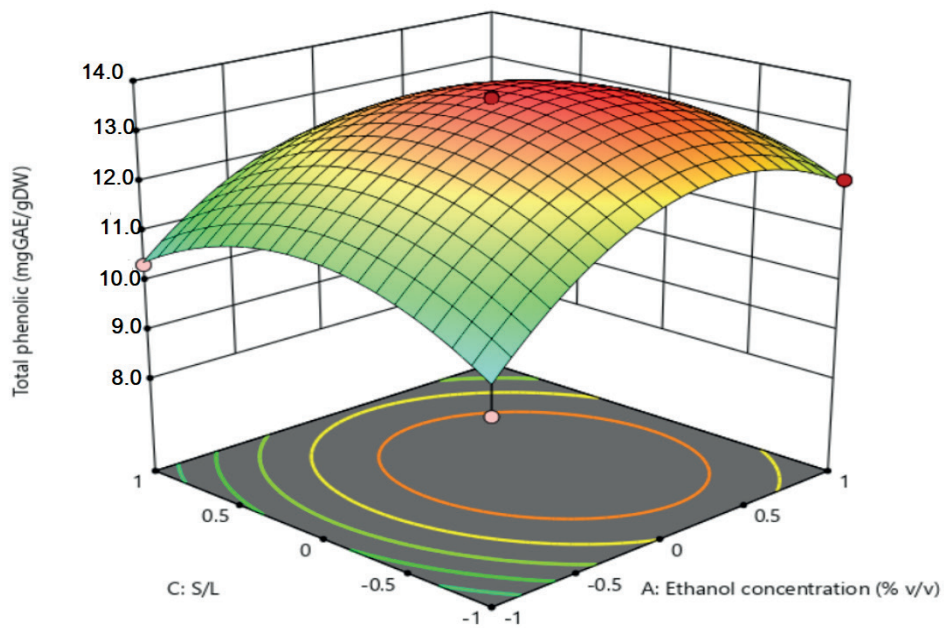
ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจากเปลือกส้มโอทับทิมสยาม

| Factor      | Sum of Squares (SS) | df | Mean Square (MS) | F value | p-value<br>Prob > F |
|-------------|---------------------|----|------------------|---------|---------------------|
| Model       | 3870.95             | 9  | 430.11           | 10.24   | 0.0029              |
| $X_1^2$     | 965.93              | 1  | 965.93           | 23.00   | 0.0020              |
| $X_2^2$     | 1404.87             | 1  | 1404.87          | 33.45   | 0.0007              |
| $X_3^2$     | 553.82              | 1  | 553.82           | 13.19   | 0.0084              |
| Residual    | 293.95              | 7  | 41.99            |         |                     |
| Lack of Fit | 298.83              | 3  | 97.61            | 349.49  | 0.102               |

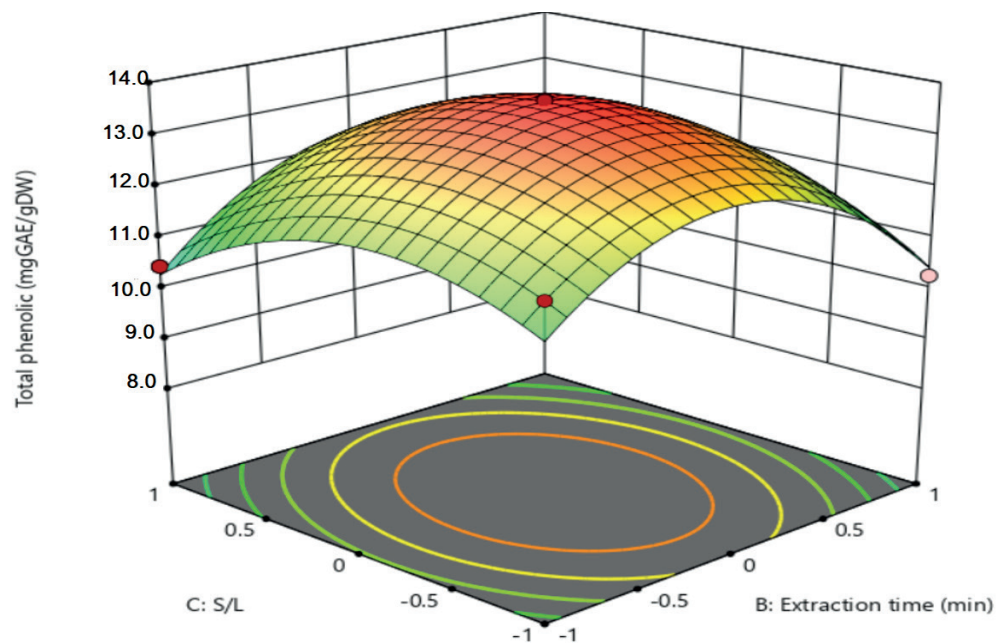
Std. Dev. = 6.48, Mean = 115.21, R-Squared ( $R^2$ ) = 0.9294, Adj R-Squared (Adj  $R^2$ ) = 0.8387



ภาพที่ 2 กราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนอง แสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของเอทานอล และระยะเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม



ภาพที่ 3 กราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนอง แสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของเอทานอล และสัดส่วนเปลือกส้มโอต่อเอทานอลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม



ภาพที่ 4 กราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนอง แสดงความสัมพันธ์ของระยะเวลาในการสกัดและ สัดส่วนเปลือกส้มโอต่อเอทานอลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

จากตารางที่ 3 พบว่า ผลการทำนายสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดทั้ง 3 ปัจจัยดังกล่าวข้างต้น พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดจากแบบจำลองคือ ความเข้มข้นของเอทานอล 35.12%v/v ระยะเวลาในการสกัดที่ 30 นาที และสัดส่วนเปลือกส้มโอต่อเอทานอล 1:2 ทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 13.69 mgGAE/gDW ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับสภาวะที่เหมาะสมจากการคำนวณและค่าจากสภาวะการทดลองจริง (ความเข้มข้นของเอทานอล 35%v/v ระยะเวลาในการสกัดที่ 30 นาที และสัดส่วนเปลือกส้มโอต่อเอทานอล 1:2 มีค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ใกล้เคียงกัน คือ 13.66 และ 13.67 mgGAE/gDW ตามลำดับ และ ภายใต้สภาวะการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดที่ได้จากสภาวะการทดลองจริงนี้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด คือ มีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ %DPPH เท่ากับ  $31.05 \pm 0.25\%$  ในการประยุกต์ใช้วิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology) พบว่า ปัจจัยที่ใช้ในการสกัดคือ ความเข้มข้นของเอทานอล ( $X_1$ ) ระยะเวลา ในการสกัด ( $X_2$ ) และสัดส่วนเปลือกส้มโอต่อเอทานอล ( $X_3$ ) มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้ มีผลสัมพันธ์จากการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงว่าข้อมูลที่ได้นี้ทำให้ได้แบบจำลองที่มีความเหมาะสม เนื่องจากมีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.9294 ซึ่งสมการที่มี ค่า  $R^2$  ยิ่งสูงจะมีความแม่นยำในการทำนายผลลัพธ์จะสูงมากยิ่งขึ้น [8] และจากแบบจำลอง Full Quadratic มีค่า p-Value น้อยกว่า 0.05 ซึ่งหมายถึง ความเข้มข้นของเอทานอล ระยะเวลาในการสกัด และสัดส่วนเปลือกส้มโอต่อเอทานอล มีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

**ตารางที่ 3** การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่ได้จากการทดลอง และจากสมการทำนายสภาวะที่เหมาะสมของแบบจำลอง

| สภาวะ                | ความเข้มข้น<br>ของเอทานอล<br>(% v/v)<br>( $X_1$ ) | ระยะเวลาใน<br>การสกัด (นาที)<br>( $X_2$ ) | สัดส่วนของ<br>เปลือกส้มโอ<br>ต่อ เอทานอล( $X_3$ ) | ปริมาณ<br>สารประกอบ<br>ฟีนอลิกรวม<br>(mgGAE/gDW) |
|----------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| สภาวะจากแบบจำลอง     | 35.12                                             | 30                                        | 1:2                                               | 13.69                                            |
| สภาวะจากการคำนวณ     | 30                                                | 30                                        | 1:2                                               | 13.66                                            |
| สภาวะจากการทดลองจริง | 35                                                | 30                                        | 1:2                                               | $13.67 \pm 0.52$                                 |

**หมายเหตุ 1.** ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**2.** ในการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของผลการทดลองจากสภาวะการทดลองจริง โดยทำการเจือจางสารสกัดมีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ  $31.05 \pm 0.25\%$

การวิเคราะห์ความแปรปรวน สำหรับค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่มีการปรับแก้  $R^2$ -adj มีค่าเป็น 83.87 % นั่นคือหากมีการเปลี่ยนแปลงปัจจัยต่างๆ จะส่งผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เมื่อพิจารณาการขาดความเหมาะสมของสมการ (Lack of Fit) ในตารางที่ 2 พบว่า ค่า p-value ของ Lack of Fit มีค่าเท่ากับ 0.102 ซึ่งหมายถึงแบบจำลองนี้มีความเหมาะสมสมรูปแบบกับข้อมูลของตัวแปรในสมการ จากกราฟสามมิติ พื้นที่ผิวตอบสนองและกราฟโครงร่างของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอ ที่ศึกษาอิทธิพลของตัวแปรอิสระจากปัจจัยที่ใช้ในการสกัดทั้งสามปัจจัย พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่

สกัดสูงขึ้น เมื่อความเข้มข้นของเอทานอล ระยะเวลาในการสกัด และสัดส่วนเปลือกส้มโอต่อเอทานอลเพิ่มขึ้น เนื่องจากอัตราการใช้หลักการของคลื่นเสียงในการสกัด ทำให้ผนังเซลล์ของเปลือกส้มโอเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วทำให้สารประกอบฟีนอลิกรวมสกัดออกมาได้มาก เมื่อความเข้มข้นของเอทานอล สูงกว่า 30%v/v ระยะเวลาในการสกัดนานกว่า 30 นาที และสัดส่วนเปลือกส้มโอต่อเอทานอล 1: 2 มีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้ลดลง ซึ่งเกิดจากเวลาในการสกัดด้วยอัตราความถี่ที่สูงขึ้นซึ่ง ระยะเวลาในการสกัดที่นานเกินความเหมาะสมอาจทำให้พันธะเอสเทอร์ของสารประกอบฟีนอลิกเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารชนิดอื่น [9]

### สรุปผล

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากเปลือกส้มโอโดยใช้เทคนิคสกัดด้วย อัลตราซาวด์ที่ให้ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด คือ ความเข้มข้นของเอทานอล 35%v/v ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที และสัดส่วนเปลือกส้มโอต่อเอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่ได้ จากการทดลองสูงสุดสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากเปลือกส้มโอโดยใช้เทคนิค สกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ให้ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด คือ ความเข้มข้นของเอทานอล 35 %v/v ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที และสัดส่วนเปลือกส้มโอต่อเอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่ ได้จากการทดลองสูงสุด เท่ากับ  $13.67 \pm 0.52$  mgGAE/gDW ซึ่งภายใต้สภาวะการสกัดสารประกอบฟีนอลิก รวมสูงสุดที่ได้นี้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวัดเป็นค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ %DPPH เท่ากับ 31.05 % นอกจากนี้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ได้ยังมีความน่าเชื่อถือสามารถนำไปพัฒนากระบวนการสกัดเพื่อให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้อย่างมีประสิทธิภาพ

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรังที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์ เครื่องมือและสถานที่ในการดำเนินการวิจัย

### References

- [1] Lee, H. E., Yeom, J. H., Ha, M. S., & Bae, H. D. (2010). Development of banana peel jelly and its antioxidant and textural properties. *Food Science and Biotechnology*, 19(2), 449-455. DOI: 10.1007/s10068-010-0063-5.
- [2] Toh, J. J., Khoo, H. E., & Azrina, A. (2013). Comparison of antioxidant properties of pomelo (*Citrus Grandis* (L) Osbeck) varieties. *Food Research Journal*, 20(4), 1661-1668.
- [3] Pichaiyongvongdee, S., Rattanapun, B. & Haruenkit, R. (2014). Total polyphenol content and antioxidant properties in different tissues of seven pomelo (*Citrus Grandis* (L.) Osbeck) cultivars. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 48(6), 989-996.

- [4] Rajha, H. N., El Darra, N., Hobaika, Z., Boussetta, N., Vorobiev, E., Maroun, R. G., & 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(4), 397–409. DOI: 10.4236/fns.2014.54048.
- [5] Junior, M. R. M., Leite, A. V., & Dragano, N. R. V. (2010). Supercritical fluid extraction and stabilization of phenolic compounds from natural sources—review (supercritical extraction and stabilization of phenolic compounds). *The Open Chemical Engineering Journal* 4, 51–60.
- [6] Chemat, F., Tomao, V., & Viot, M. (2008). Ultrasound-assisted extraction in food analysis. In S. Otets (Ed.). *Handbook of food analysis instruments*. 85–103. Boca Raton, USA: CRC press.
- [7] Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*, 17(6), 300–312.
- [8] Hung, P. V., Nhi, N. H. Y., Ting, L. Y., & Phi, N. T. L. (2020). Chemical composition and biological activities of extracts from pomelo peel by products under enzyme and ultrasound assisted extractions. *Journal of Chemistry*, 2020, 1043251. DOI:10.1155/2020/1043251.
- [9] Chooklin, S. (2013). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from brown rice and their antioxidant activities. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 47(6), 864–873.
- [10] Namjooyan, F., Azemi, M. E., & Rahmanian, V. R. (2010). Investigation of antioxidant activity and total phenolic content of various fractions of aerial parts of *Pimpinella barbata* (DC.) Boiss. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 5(1), 1–5.
- [11] Srimun, R., & Tachai, S. (2014). Total phenolic compounds and free radicals scavenging content in processing fruit juice in Chanthaburi province. *Rajamangala University of Technology Tawan-ok Research Journal*, 7(1), 24–30.
- [12] Lungmann, P., Choorit, W., & Prasertsan, P. (2007). Application of statistical experimental methods to optimize medium for exopolymer production by newly isolated *Halobacterium* sp. SM5. *Electronic Journal of Biotechnology*, 10(1), 1–11. DOI:10.2225/vol10-issue5-fulltext-14.
- [13] Dahmoune, F., Nayak, B., Moussi, K., Remini, H., & Madani, K. (2015). Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. *Food Chemistry*, 166(1), 585–595. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.06.066.