

การสกัดและคุณสมบัติการเป็นสารกันหืนของแทนนิน
(Extraction and Antioxidant properties of Tannins from Banana Skin)

โดย

นส.จอมขวัญ จีระศิริ B3751336

นส.จีราภร พาริการ B3851197

อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์กนกอร อินทราพิเชฐ

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของรายวิชา สัมมนา 2 (SEMINAR 2) รหัสวิชา 305482

ภาคการศึกษาที่ 3 ปีการศึกษา 2541

สาขาเทคโนโลยีอาหาร สำนักเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คำนำ

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของรายวิชาสัมมนา 2 (SEMINAR 2) รหัสวิชา 305482 สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ภาคการศึกษาที่3 ปีการศึกษา 2541 เป็นการรวบรวมงานวิจัยและข้อมูลความรู้ที่เกี่ยวข้องกับการสกัดและคุณสมบัติการเป็นสารกันเหินของแทนนิน ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างมากในทางอุตสาหกรรม

ทางผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ไม่มากนักแก่ผู้สนใจศึกษาสารสกัดแทนนินและสารฟีนอลิคอื่นๆ ณ โอกาสนี้ ขอขอบพระคุณ ท่าน ผศ.ดร.กนกอร อินทราพิเชษฐ ที่ได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำที่ดีเสมอมา ขอขอบคุณ คุณสมบัติ ศรีเจริญ ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ในการจัดทำสื่อในการสัมมนา ตลอดจนเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการทำงาน หากมีข้อผิดพลาดประการใด ต้องขออภัยมา ณ โอกาสนี้

ผู้จัดทำ

มีนาคม 1999



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การสกัดและการใช้แทนนินเป็นสารกันหืน
(Extraction and Antioxidative Efficacy of Tannins)

โดย

น.ส. จอมขวัญ จีระศิริ B3751336

น.ส. จีราภร ภาริกการ B3851197

บทคัดย่อ

แทนนินเป็นกลุ่มของสารฟีนอลิก ที่มีประโยชน์มากมายในอุตสาหกรรม โดยส่วนใหญ่จะใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง การผลิตน้ำหมัก สีย้อม เครื่องสำอาง และในทางการแพทย์เภสัชกรรมใช้เป็นยารักษาโรคพุงอุง อาการท้องเดินมีฤทธิ์เป็นยาด้านเชื้อไวรัส แทนนินมีกระจายอยู่ในส่วนต่างๆ ของพืช ไม่ว่าจะเป็นเปลือก ลำต้น ราก ใบ ผล หรือเมล็ดเกือบทุกวงศ์

ในการสกัดแทนนินเพื่อนำมาวิเคราะห์และใช้ประโยชน์ มีวิธีการที่นิยมใช้ในการสกัดคือ Methanolysis เป็นการใช้สารละลายเมทานอลเป็นตัวทำละลาย กระบวนการสกัดอาจใช้การแช่หรือการไหลผ่านกัน เช่น Reflux method, Gas- chromatography method, Soxlet Extraction และในขั้นสุดท้ายสารที่สกัดได้จะถูกนำมาแยกตัวทำละลายออก เพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ โดยอาจใช้วิธีการกลั่นหรือการระเหยแบบสูญญากาศ (Mallet et al.,1994; Rodriguez de Sotillo et al., 1998)

ปัจจุบันมีการศึกษาสารแทนนินเป็นสารป้องกันการหืนของไขมันและน้ำมัน โดยการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งคุณสมบัติการเป็นสารกันหืนนี้ได้มีรายงานการศึกษากับพืชหรือส่วนต่างๆ ของพืชหลายชนิด และสามารถนำไปใช้ได้จริงในผลิตภัณฑ์ โดยมีประสิทธิภาพไม่แพ้สารสังเคราะห์ทางเคมีที่ใช้ในปัจจุบัน

Mallet, J.F., Cerati, C., Ucciani, E., Gamissans, J., and Gruber, M.1994. Antioxidant activity of plant leaves in relation to their alpha-tocopherol content. J. Food Chem.49:61-65.

Rodriguez de Sotillo, D.,Hardley, M.,and Holm, E.T.1994.Phenolics in Aqueous Potato Peel Extract :Extraction, Identification and Degradation. J. Food Sci. 59: 649-651.

Rodriguez de Sotillo, D., Hardley, M., and Holm, E.T. 1994. Potato Peel Waste: Stability and Antioxidant Activity of a Freeze-Dried Extract. J. Food Sci. 59 : 1031-1035.

ลายเซ็นอาจารย์ที่ปรึกษา

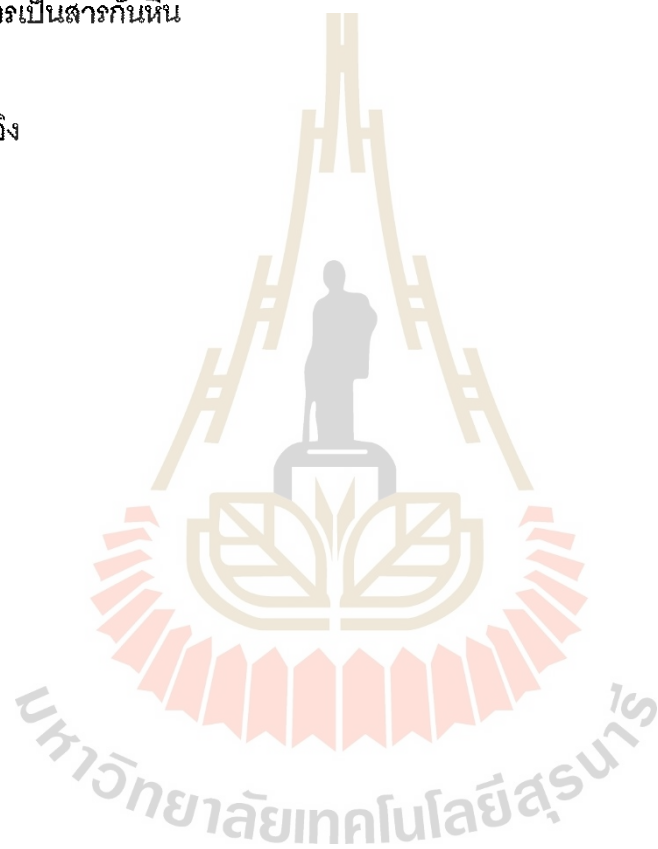


(รศ.ดร. กนกอร อินทราพิเชฐ)

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ	
บทนำ	
ลักษณะของสารแทนนิน	1
หลักการแยกสกัดสารออกจากของแข็งด้วยของเหลว	5
- ขั้นตอนของการสกัด	5
- กลไกของการสกัด	5
- การเลือกลักษณะของวัตถุดิบและตัวทำละลายที่เหมาะสม	6
คุณสมบัติการเป็นสารกันเหิน	9
บทสรุป	12
เอกสารอ้างอิง	13



สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 ลักษณะโครงสร้างของแกลโลแทนนินบางชนิด	2
รูปที่ 2 ลักษณะโครงสร้างของเอลลาจีแทนนิน	2
รูปที่ 3 ลักษณะโครงสร้างของคอนแดนซ์แทนนินบางชนิด	3
รูปที่ 4 ผลของอัตราส่วนเปลือกเงาะต่อน้ำและเอทานอล ที่มีต่อประสิทธิภาพของการสกัดแบบแช่ครั้งเดียวสำหรับขนาดของเปลือกเงาะ 1-2 มิลลิเมตร เวลาแช่ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิสกัดต่างๆ	8
รูปที่ 5 ผลการยับยั้งการหืนที่ความเข้มข้น 200 ppm ในน้ำมันจากเมล็ดทานตะวัน เก็บที่ 63 องศาเซลเซียส ของสารแทนนินที่สกัดได้จากเปลือกมันฝรั่ง	10



สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 ผลการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันใน LDL โดยใช้ Cu^{2+} เสง่ปฏิกิริยา ของสารสกัดจากน้ำพูนและสารประกอบอื่นที่พบในผลิตภัณฑ์

หน้า

11



บทนำ

แทนนินเป็นกลุ่มของสารฟีนอลิก ที่มีประโยชน์มากมายในอุตสาหกรรม โดยส่วนใหญ่จะใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง การผลิตน้ำหมัก สีย้อม เครื่องสำอาง และในทางการแพทย์เภสัชกรรมใช้เป็นยารักษาโรคพุงออง อาการท้องเดินมีฤทธิ์เป็นยาด้านเชื้อไวรัส แทนนินมีกระจายอยู่ในส่วนต่างๆ ของพืช ไม่ว่าจะเป็นเปลือก ลำต้น ราก ใบ ผล หรือเมล็ดเกือบทุกวงศ์ ลักษณะของพืชที่มีแทนนินเป็นองค์ประกอบสามารถสังเกตอย่างง่าย ๆ ได้ คือ จะมีรสฝาด เนื่องจากมีคุณสมบัติรวมตัวกับโปรตีนในน้ำลายและเกิดการตกตะกอน ทำให้การหล่อลื่นในปากลดลง นอกจากนี้แทนนินสามารถตรวจสอบปริมาณได้จากการเกิดสีกับเกลือของโลหะบางชนิด เช่น เหล็ก

ในการสกัดแทนนินเพื่อนำมาวิเคราะห์และใช้ประโยชน์ มีวิธีการที่นิยมใช้ในการสกัดคือ Methanolysis เป็นการใช้สารละลายเมทานอลเป็นตัวทำละลาย กระบวนการสกัดอาจใช้การแช่หรือการไหลผ่านกัน เช่น Reflux method, Gas- chromatography method, Soxlet Extraction และในขั้นสุดท้ายสารที่สกัดได้จะถูกนำมาแยกตัวทำละลายออก เพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ โดยอาจใช้วิธีการกลั่นหรือการระเหยแบบสุญญากาศ (Donovan et al., 1998; Mallet et al., 1994; Rodriguez de Sotillo et al., 1998)

ปัจจุบันมีการศึกษาสารแทนนินในพืชต่างๆ และได้ค้นพบคุณสมบัติใหม่ๆของสารชนิดนี้ เช่น การเป็นสารต้านจุลชีพพวกแบคทีเรียบางชนิด การเปลี่ยนสีในอาหารพวกซ็อคโกแลต ชา กาแฟ การช่วยตกตะกอนโปรตีนในไวน์ น้ำผลไม้ทำให้มีลักษณะใสขึ้น หรือแม้แต่การเป็นสารป้องกันการหืนของไขมันและน้ำมัน โดยการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งคุณสมบัติการเป็นสารกันหืนนี้ได้มีรายงานการศึกษาทั้งพืชหรือส่วนต่างๆ ของพืชหลายชนิด และสามารถนำไปใช้ได้จริงในผลิตภัณฑ์ โดยมีประสิทธิภาพไม่แพ้สารสังเคราะห์ทางเคมีที่ใช้ในปัจจุบัน

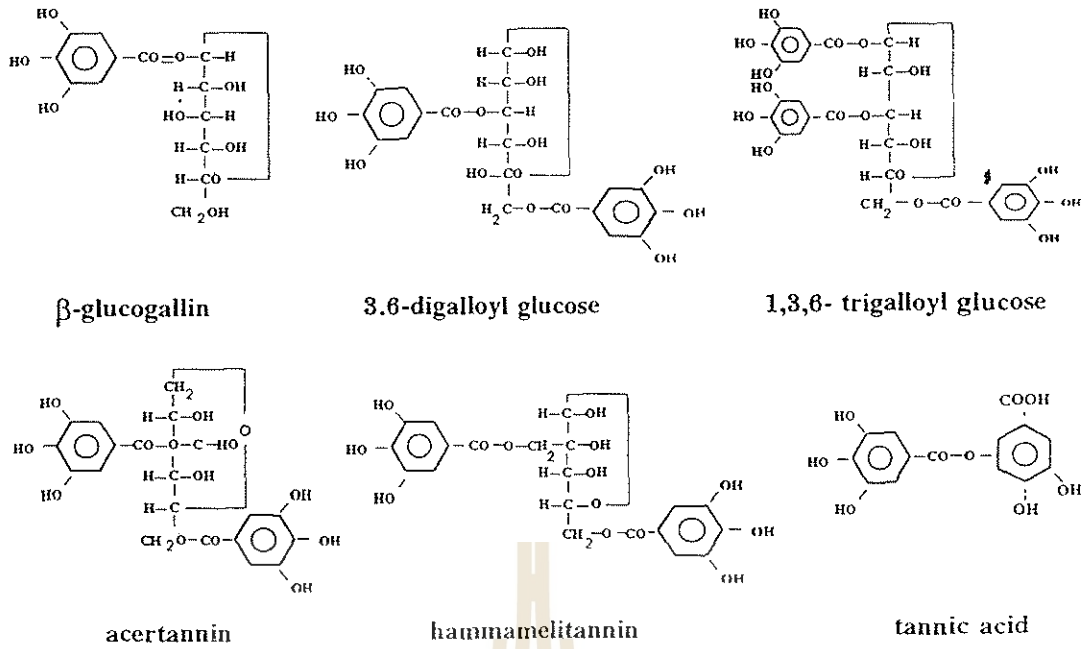
ลักษณะของสารแทนนิน

คำว่า "แทนนิน" มีขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1796 เป็นคำที่มาจากภาษาละตินว่า "tannare" แปลว่าเปลือกต้นโอ๊ค และมีนิยามว่าของฝาด (astringent) เพื่อใช้อธิบายถึงสารประกอบเคมีชนิดหนึ่งที่พบอยู่ในน้ำยาลดจากต้นพีช สารประกอบเคมีดังกล่าวมีคุณสมบัติที่สามารถรวมตัวกับโปรตีนของหนังสัตว์ ทั้งยังสามารถป้องกันไม่ให้เกิดการเนาเปื่อยตลอดจนการเปลี่ยนแปลงสภาพของหนังดิบสดๆ ให้กลายเป็นหนังฟอกหรือหนังสำเร็จรูป (สุวรรณค์, 2536)

แทนนิน คือ กลุ่มของสารประกอบ ที่ได้มาจากส่วนต่างๆของพืช เช่นเปลือก ใบ ผล เปลือก มีคุณสมบัติละลายได้ดีในน้ำ (วัฒนา, 2539) ในปัจจุบันได้มีการนิยามว่า แทนนิน คือสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากธรรมชาติที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 500 และ 3000 ทั้งยังมีหมู่ฟีนอลิกไฮดรอกซี (phenolic hydroxy) อีตรอยู่จำนวนหนึ่งที่สามารถเกิดการเชื่อมโยงได้กับสารโปรตีน และสารไบโอโพลิเมอร์ (biopolimer) เช่น เพกติน (pectin) และ เซลลูโลส (cellulose) ได้สารใหม่ที่มีคุณสมบัติคงตัว (Hagerman, 1998b) การแบ่งชนิดของแทนนินขึ้นอยู่กับส่วนประกอบโครงสร้างของโมเลกุล การแยกสลายด้วยน้ำ ด้วยความร้อน กรด ต่าง เอนไซม์ และเชื้อราต่างๆ ดังนั้นเราจึงสามารถแบ่งแทนนินออกเป็นสองประเภท คือ

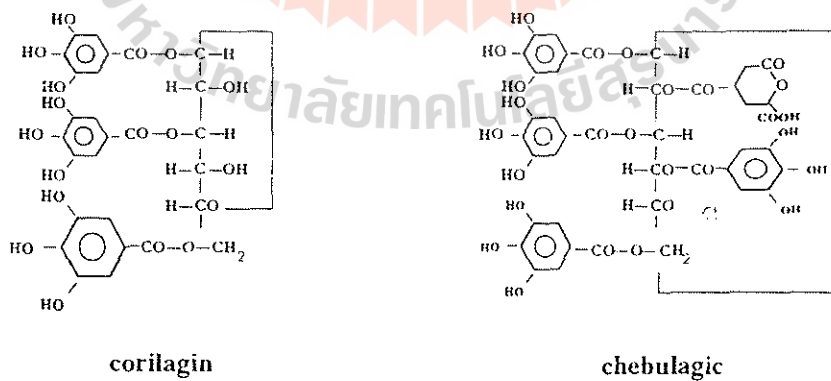
1. ไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน (Hydrolyzable Tannin) หรือ เป็นแทนนินที่มีโครงสร้างเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลที่ซับซ้อน สามารถสลายตัวได้ง่ายเมื่อทำการแยกสลายด้วยน้ำ แทนนินชนิดนี้เป็นเอสเทอร์ระหว่างน้ำตาล 1 โมเลกุล กับกรดโพลีคาร์บอกซิลิก (polycarboxylic acid) อีก 1 หรือมากกว่า 1 โมเลกุล น้ำตาลส่วนใหญ่ที่พบมักเป็นน้ำตาลกลูโคสเกิดการเชื่อมโยงแบบเดบไซด์ (depside linkage) ทำให้แทนนินสามารถถูกไฮโดรไลซ์ได้ง่าย ด้วยกรด ต่าง และเอนไซม์บางชนิด ไฮโดรไลเซเบิลแทนนินยังสามารถแบ่งออกได้อีก 2 ชนิด คือ

1) แกลโลแทนนิน (gallotannin) เป็นแทนนินที่มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยกรดแกลลิก (3,4,5- hydroxybenzoic) ตั้งแต่ 2 โมเลกุลขึ้นไป เชื่อมต่อกันหรือเชื่อมต่อกับน้ำตาลด้วยพันธะเอสเทอร์ ดัง รูปที่ 1 เพราะฉะนั้นเมื่อถูกย่อยสลาย จะได้กรดแกลลิกและน้ำตาล ตัวอย่างของแทนนินชนิดนี้ได้แก่ β - glucogallin พบในต้น Chinese rhubarb (*Rheum officinate*) ในลูกสมอ (*Terminalia chebula*) 1,3,6- trigalloyl glucose acertannin ในใบของ Koream maple (*Acer gimalae*) hamamelitannin ในเปลือก *Hamameles virginiana* tannic acid ในเปลือกต้นโอ๊คและใน sumac



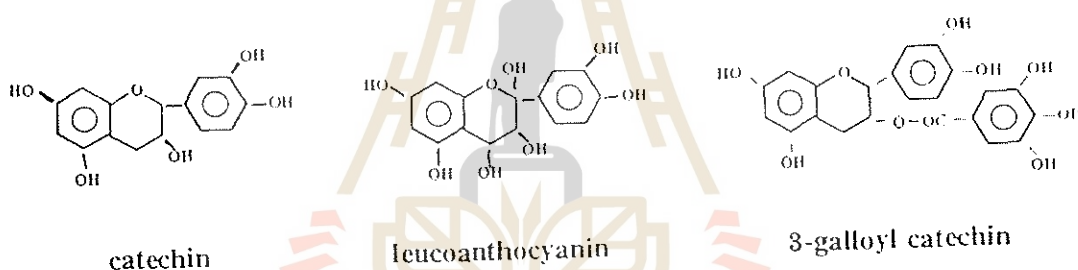
รูปที่ 1 ลักษณะโครงสร้างของแกดโลแทนนินบางชนิด

2)เอลลาจิทแทนนิน (ellagitannin) โครงสร้างของโมเลกุลประกอบด้วยกรดเอลลาจิกและน้ำตาลเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเอสเทอร์ เมื่อถูกย่อยสลายจะได้กรดเอลลาจิก และน้ำตาล ตัวอย่างของแทนนินชนิดนี้ได้แก่ corilagin พบในลูกสมอ chebulagic และตีวี-ตีวี ลักษณะโครงสร้างของแทนนินชนิดนี้ดังรูปที่2



รูปที่ 2 ลักษณะโครงสร้างของเอลลาจิทแทนนิน

2.คอนเดนซ์แทนนิน (Condensed Tannin) หรือ catechin เป็นแทนนินชนิดที่รวมตัวกัน
 แปน มีโครงสร้างโมเลกุลซับซ้อน อยู่ในประเภทโพลีฟีนอล (polymeric polyphenol) มีน้ำหนัก
 โมเลกุลตั้งแต่ 500-3000 ขึ้นไป ถูกย่อยสลายได้ยาก ไม่สามารถไฮโดรไลซ์ได้ด้วยกรด หรือ ด่าง แต่
 ละลายได้ดีในน้ำร้อน แอลกอฮอล์และอะซิโตน (อ้อมบุญ,2536) พบมากในพืชชั้นสูงกว่าพืชที่มี
 ไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน จากการศึกษาพบว่า คอนเดนซ์แทนนินทุกตัวถูกสร้างขึ้นจากสารตั้งต้น คือ
 catechin (3,5,7,3,4 – pentahydroxy flavan) หรือ flavanol (5,7,3,4 – tetrahydroxy flavan 3 –
 ol) เป็นโครงสร้างหลักโดยจะรวมตัวกับกรด หรือสารอินทรีย์ต่างๆ ทำให้น้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้น เมื่อนำ
 คอนเดนซ์แทนนินไปต้มกับกรดจะเกิดการโพลิเมอไรเซชัน (polymerization) ได้ตะกอนสีแดง เรียก
 แทนนินชนิดนี้ว่า tannin red แทนนินชนิดนี้ได้แก่ 3 – galloyl catechin พบในใบชา
 leucoanthocyanin พบในผลไม้สุก ลักษณะโครงสร้างดัง รูปที่ 3



รูปที่ 3 ลักษณะโครงสร้างของคอนเดนซ์แทนนินบางชนิด

บทบาทของแทนนินต่ออาหารมีหลายประการ เช่น สามารถแสดงความฝาดโดยการเกิดเป็นสาร
 ประกอบเชิงซ้อนระหว่างโปรตีนในน้ำลายและแทนนิน ตกตะกอนทำให้การหลั่งในปากลดลง
 (Hageman, Rice and Ritchard,1998) ก่อให้เกิดการตกตะกอนในไวน์ น้ำผลไม้โดยรวมตัวเป็นสาร
 ประกอบเชิงซ้อนกับโปรตีนในผลิตภัณฑ์ ตกตะกอนทำให้มีลักษณะใสกว่าเดิม(Van Burer and
 Robinson,1969) สามารถเปลี่ยนสีในอาหาร โดยรวมตัวกับเหล็กในอาหาร ได้เป็นสารประกอบ
 เชิงซ้อนเหล็กแทนนิน มีลักษณะเป็นจุดรอยดำสีเขียวคล้ำบนผิวหน้าอาหาร พบในใบชา ช็อคโกแลต
 กาแฟและไอศกรีม(วัฒน,2536) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียบางชนิดในอาหารโดย
 กรดแทนนิน (Oomah et al.,1995) และใช้เป็นสารป้องกันการหืน (Doñovan,1998)

คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของแทนนิน (วัณนา, 2539) สามารถสรุปได้ดังนี้

1. แทนนินสามารถละลายได้ในน้ำ แอลกอฮอล์ อะซิโตน และโพริตีน แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายไขมัน เช่นอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม เมื่ออยู่ในน้ำจะมีสภาพเป็นคอลลอยด์
2. เมื่อทำปฏิกิริยากับเหล็ก จะเป็นสีน้ำเงินหรือสีเขียว
3. สามารถตกตะกอนได้โดยเกลือของโลหะ เช่น copper acetate, lead acetata, stanous chloride และ potassium dichromate
4. สามารถทำให้สารอัลคาลอยด์และสีอินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นเมสตกตะกอนได้
5. ในสารละลายที่เป็นต่าง แทนนินจะดูดซับอิออนและเปลี่ยนเป็นสีคล้ำ
6. เมื่ออยู่ในสารละลาย potassium ferric cyanide และแอมโมเนียจะเกิดเป็นสีแดงเข้ม



หลักการแยกสกัดสารออกจากของแข็งด้วยของเหลว

โดยทั่วไปการสกัดในระบบของแข็ง - ของเหลว เป็นกระบวนการแยกสารออกจากของแข็งหรือวัสดุที่ละลายในของเหลวใดๆ ด้วยของเหลวชนิดหนึ่ง สารที่แยกได้อาจมีหนึ่งชนิดหรือมากกว่าของเหลวที่ใช้เรียกว่า ตัวทำละลาย (solvent) ส่วนสารที่สกัดได้เรียกว่า ตัวถูกละลาย (solute) วัสดุที่นำมาสกัดมักอยู่ในรูปของอนุภาคที่มีรูพรุน หรือเซลล์ที่ห่อหุ้มด้วยผนังเมมเบรนที่ดูน้ำได้บางส่วน

ขั้นตอนของกระบวนการสกัด

1. การเตรียมวัสดุหรือตัวอย่างที่จะแยกสกัด ให้มีสภาพที่สามารถนำไปแยกสกัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในการสกัดแทนนินการเตรียมวัสดุก่อนการสกัดใช้วิธีการหลากหลายขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุ เช่น การสกัดแทนนินจากน้ำลูกพรุน เตรียมวัสดุโดยนำผลลูกพรุนมาคั้นเอาน้ำและนำไปสกัดทันที (Donovan et al., 1998) และในการสกัดแทนนินจากเปลือกเงาะ เตรียมวัสดุโดยการนำไปตากแห้งก่อนบด แล้วเก็บรักษาไว้ที่ 0 องศาเซลเซียส เพื่อรอการสกัด (สุวรรณค์, 2536)

2. ใช้วิธีที่เหมาะสม เพื่อให้มีการสัมผัสระหว่างตัวทำละลายกับตัวอย่าง เพื่อให้เกิดการถ่ายเทตัวถูกละลายที่มีในเนื้อของตัวอย่าง (ส่วนประกอบที่ละลายได้) ไปยังตัวทำละลาย หลังจากการสัมผัสกันแล้วจะแยกสารออกเป็นสองส่วน ส่วนหนึ่งประกอบด้วยตัวถูกละลายซึ่งถูกแยกออกจากตัวอย่าง เรียกว่า "overflow" (light phase) อีกส่วนหนึ่งประกอบด้วยกากตัวอย่างกับตัวถูกละลายที่สกัดไม่หมด และมีตัวทำละลายปนอยู่บ้าง เรียกว่า "underflow" (heavy phase) ลักษณะของการสัมผัสกับตัวทำละลายอาจใช้การแช่ หรือการไหลผ่านกัน ในการสกัดแทนนิน หรือสารฟีนอลิกอื่น ๆ นิยมใช้วิธีการแช่สกัดในตัวทำละลาย (Donovan et al., 1998; Oomah et al., 1995; Cadahia et al., 1998) Reflux method (Rodriguez de Sotillo et al., 1994) และ Gas - Chromatographic method (Mallet et al., 1994)

3. นำตัวทำละลายที่เหลือกลับมาใช้ใหม่ โดยแยกออกจากตัวถูกละลายซึ่งอาจใช้การกลั่น

กลไกของกระบวนการสกัด

การถ่ายเทตัวทำละลายไปยังตัวถูกละลายในตัวอย่าง จะเกิดขึ้นสอดคล้องกับขั้นตอนต่างๆ ดังนี้ (สุวรรณค์, 2536)

ขั้นที่ 1 ถ้าตัวถูกละลายมีอยู่ในช่องว่างที่ถูกล้อมรอบด้วยกลุ่มวัตถุเฉื่อย ตัวทำละลายจะแพร่เข้าไปข้างใน เพื่อจับตัวถูกละลายแล้วจึงแพร่ออกมา เพื่อให้การสกัดเร็วขึ้นอาจทำได้โดยการเพิ่มพื้นที่

ที่ผิวสัมผัส ระหว่างตัวทำละลายกับอนุภาคตัวอย่าง เมื่อตัวอย่างมีโครงสร้างเป็นผนังเซลล์ การสกัดจะเกี่ยวข้องกับการออสโมซิสของตัวถูกละลายผ่านผนังเซลล์ ถ้ามีการบดอาจทำให้ผนังเซลล์แตกออกซึ่งทำให้สกัดสารที่ไม่ต้องการออกมาด้วย จึงเกิดปัญหาได้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่บริสุทธิ์

ขั้นที่ 2 การแพร่ของตัวถูกละลาย หรือสารละลายจากด้านในของกลุ่มของวัตถุเจือปนออกไปยังขอบนอกของอนุภาค ขั้นตอนนี้ถูกควบคุมโดยการแพร่

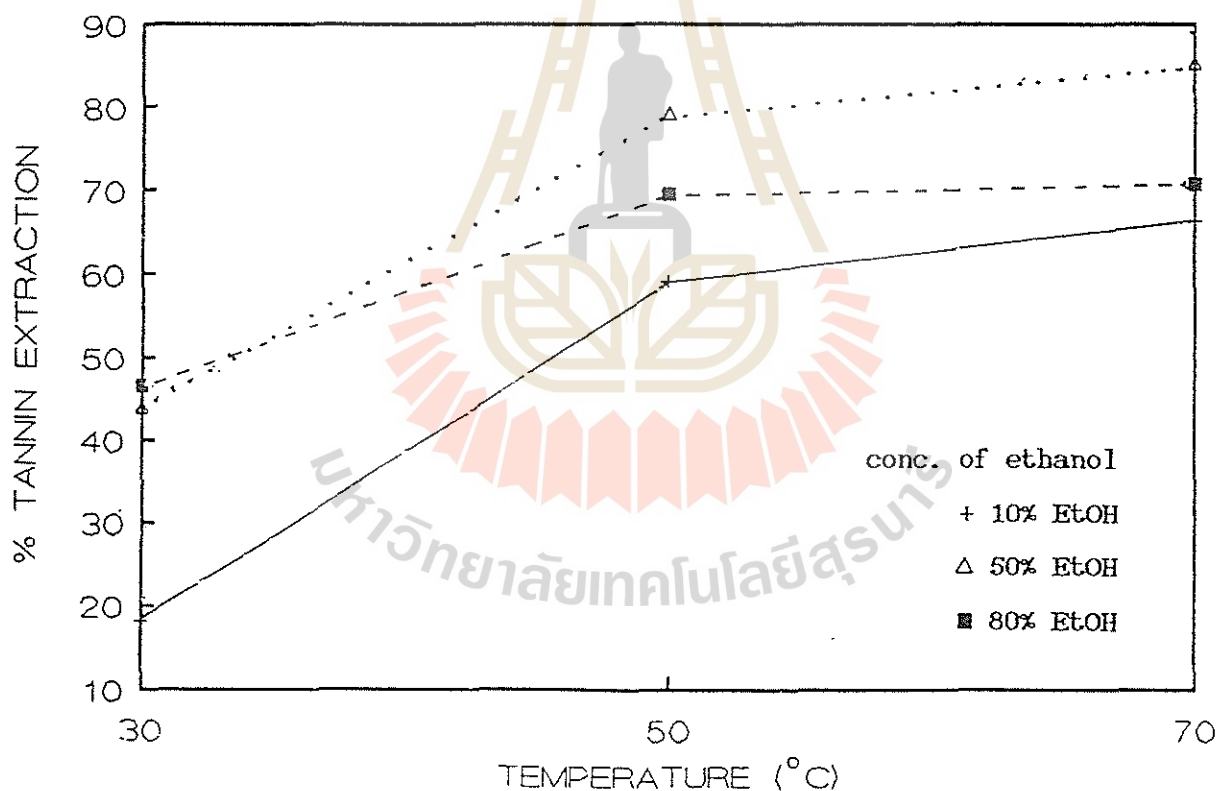
ขั้นที่ 3 กระบวนการถ่ายเทมวลสาร ของตัวถูกละลายที่อยู่ในอนุภาคออกสู่สารละลายทั้งหมด

การเลือกลักษณะของวัตถุดิบและตัวทำละลายที่เหมาะสม

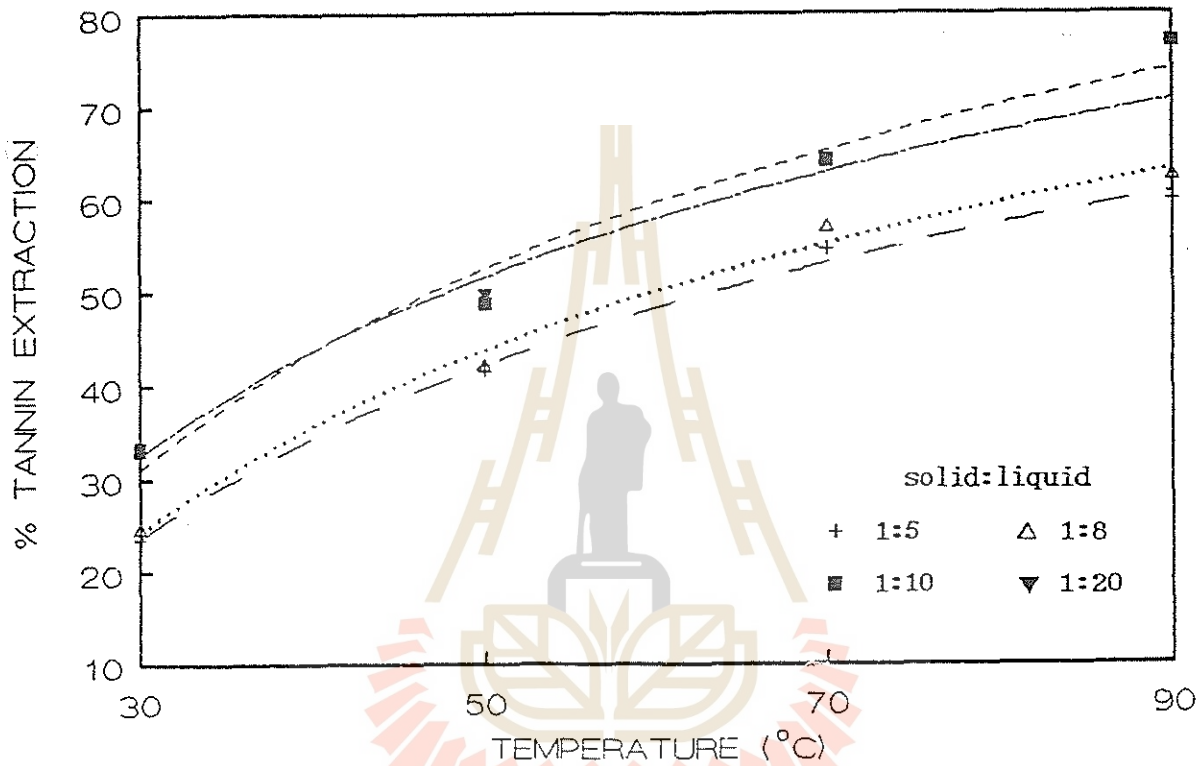
1. คุณสมบัติทางกายภาพของวัตถุดิบ วัตถุดิบที่จะนำมาสกัดจะต้องถูกเตรียมให้เหมาะสมเพื่อที่จะสามารถสกัดตัวถูกละลายที่ต้องการให้ได้มากที่สุด ซึ่งขึ้นอยู่กับธรรมชาติของวัตถุดิบ บางชนิดอาจใช้การบดให้ละเอียด การกด การบีบ หรือทำให้อนุภาคเล็กลงมีลักษณะพิเศษอื่นๆ ที่ง่ายต่อการสกัด ถ้าตัวถูกละลายยึดเกาะอยู่บริเวณผิววัตถุดิบ ซึ่งจะพบรูปทรงล้อมรอบ การสกัดจะถูกควบคุมโดยการแพร่ ในกรณีนี้ถ้าเพิ่มพื้นที่ผิวในการสัมผัสตัวทำละลาย จะช่วยให้อัตราเร็วในการสกัดเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามก็มีข้อจำกัดในการลดขนาดของอนุภาคเนื่องจาก ถ้าปริมาณตัวถูกละลายที่อยู่ในวัตถุดิบน้อยมาก การบดให้ละเอียดจะสิ้นเปลืองพลังงาน เป็นการเพิ่มต้นทุน ถ้าวัตถุดิบถูกทำให้เล็กลงไป อาจทำให้เกิดปัญหาอนุภาคอยู่ในสถานะแขวนลอย ทำให้เกิดความยุ่งยากในการแยก overflow ให้ปราศจากของแข็งเจือ (สุวรรณ, 2536) ในปัจจุบันมีการศึกษาและสกัดแทนนินจากวัสดุธรรมชาติเหลือใช้เป็นจำนวนมาก ไม่ว่าจะเป็น เปลือกหอมแดง เปลือกเงาะ เปลือกมันฝรั่ง เปลือกไม้โกงกาง เปลือกวัสดุเหลือใช้จากธรรมชาติเหล่านี้จะถูกนำไปลดขนาดก่อนการสกัดโดยเปลือกหอมแดงและเปลือกมันฝรั่งมีลักษณะบางเบา ยากต่อการสัมผัสกับตัวทำละลายจึงใช้วิธีบดผสมกับตัวทำละลายด้วย homogenizer (Rodriguez de Sotillo et al., 1994) ส่วนเปลือกไม้โกงกางและเปลือกเงาะมีน้ำหนักมาก และแข็งแรงจึงใช้วิธีบดอย่างหยาบแล้วจึงนำไปสกัดกับตัวทำละลาย (สุวรรณ, 2536) ปัญหาสำคัญมากในกรณีของวัตถุดิบที่มีโครงสร้างเป็นห้องๆ มีผนังเป็นเซลล์ลูลอส ถ้าผนังของวัตถุดิบไม่มีการดัดแปลงที่เหมาะสม การสกัดจะเกิดขึ้นด้วยปรากฏการณ์ออสโมซิส ซึ่งใช้เวลานานมากแต่ถ้าทำให้ผนังเซลล์แตกออก อาจทำให้มีการสกัดสารชนิดอื่นที่ไม่ต้องการออกมาด้วย

2. การเลือกตัวทำละลาย ในการสกัดต้องคำนึงถึงสิ่งที่สำคัญต่างๆ ได้แก่ ความคงตัวเมื่อได้รับความร้อน ราคา อันตรายน และคุณสมบัติทางฟิสิกส์ อันดับแรกในการเลือกตัวทำละลายคือ ควรเลือกตัวทำละลายที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกับโครงสร้างของตัวถูกละลายที่ต้องการสกัดออกมา เช่น การสกัดแทนนินซึ่งเป็นสารฟีนอลิก ส่วนมากจะใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายทั้ง เอทานอลและ

เมทธานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ (Rodriguez de Sotillo et al.,1994; Oomah et al.,1995; Cadahia et al.,1998; Donovan et al.,1998) นอกจากนี้ ยังมีการใช้โซเดียมซัลไฟต์ (sodium sulfite) (สุวรรณค์,2536) เฮกเซน (hexane) (Mallet et al.,1994) ตลอดจนน้ำในการสกัด รูปที่ 5 เป็นการศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดแทนนินจากเปลือกเงาะโดยเลือกใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิดด้วยกันคือ น้ำ เอทานอล 10%, 50%, 80% (v/v) และโซเดียมซัลไฟต์ ทดลองสกัดที่อุณหภูมิ 30, 50, 70 และ 90 องศาเซลเซียส ใช้อัตราส่วนต่อตัวทำละลาย 1:5,1:8,1:10 และ1:20 ผลการศึกษาพบว่าตัวทำละลายเอทานอล 50% สกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนต่อตัวทำละลาย 1:10 สามารถสกัดแทนนินออกมาได้ปริมาณสูงสุด (สุวรรณค์, 2536) ตัวทำละลายที่มีแรงตึงผิวน้อยๆ จะช่วยให้ง่ายต่อการทำให้วัตถุดิบเปียกตัวทำละลายที่มีความหนืดต่ำจะทำให้การแพร่ในตัวทำละลายดีขึ้น ตัวทำละลายจะต้องไม่เปลี่ยนสภาพที่อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด และตัวทำละลายจะต้องไม่เป็นพิษ ไม่ติดไฟ ไม่ระเบิด หรือราคาไม่แพงจนเกินไป



รูปที่4.1 ผลของความเข้มข้นสารละลายเอทานอล ที่มีต่อประสิทธิภาพการสกัดที่สภาวะขนาดเปลือกเงาะ 1 – 2 มิลลิเมตร อัตราส่วนเปลือกเงาะต่อเอทานอล 1:10 อุณหภูมิ 30, 50, และ 70 องศาเซลเซียส ที่เวลาสกัด 24 ชั่วโมง



รูปที่ 4.2 ผลของอัตราส่วนเปลือกเงาะต่อน้ำ ที่มีต่อประสิทธิภาพของการสกัดแบบแช่ครั้งเดียว สำหรับขนาดของเปลือกเงาะ 1-2 มิลลิเมตร เวลาแช่ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิสกัดต่างๆ

รูปที่ 4 ผลของอัตราส่วนเปลือกเงาะต่อน้ำและเอทานอล ที่มีต่อประสิทธิภาพของการสกัดแบบแช่ครั้งเดียวสำหรับสำหรับขนาดของเปลือกเงาะ 1-2 มิลลิเมตร เวลาแช่ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิสกัดต่างๆ

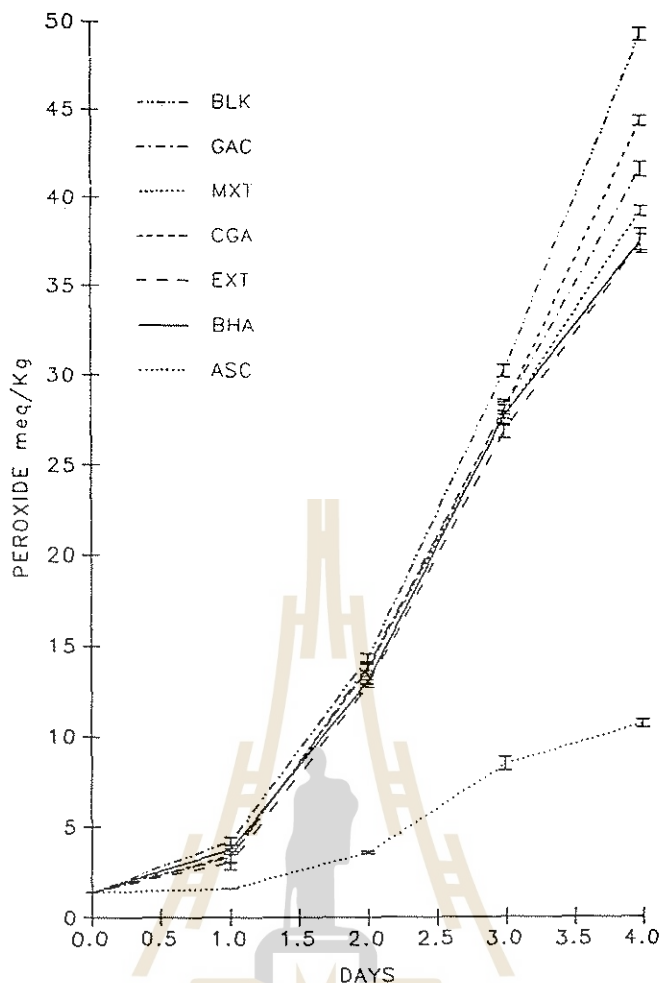
ที่มา : สุวรรณค์ (2536)

คุณสมบัติการเป็นสารกันหืน

สารกันหืนที่ได้จากธรรมชาติมีอยู่ในส่วนต่างๆของพืช เป็นสารประกอบฟีนอลิก (polyphenolic) ซึ่งมีมากมายหลายชนิด จึงถูกเรียกรวมๆ กันว่า สารแทนนิน (Okuda et al., 1992) แทนนินมีคุณสมบัติในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันหรือน้ำมัน เนื่องจากมีโครงสร้างที่สามารถเข้ารวมตัวกับอนุมูลเปอร์ออกไซด์ เกิดเป็นสารเชิงซ้อน แล้วอาจทำปฏิกิริยาต่อกับอนุมูลเปอร์ออกไซด์อื่นๆ และเกิดเป็นสารประกอบสุดท้ายที่ไม่เปลี่ยนแปลง ดังสมการ สมมติให้ AH เป็นสูตรของสารกันหืน



ในปัจจุบันมีการพยายามสกัดสารแทนนินจากวัสดุธรรมชาติต่างๆ เพื่อนำมาใช้เป็นสารกันหืนทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ที่ใช้น้ำมันโดยทั่วไป เช่น Butylated hydroxyanisole (BHA), Butylated hydroxytoluene (BHT) หรือ Propyl Gallate (PG) จากรายงานการศึกษาพบว่าสารสกัดแทนนินจากหลายแหล่ง สามารถใช้เป็นสารป้องกันการหืนของไขมันและน้ำมันได้ดีเทียบเท่ากับสารกันหืนที่สังเคราะห์ขึ้น รูปที่ 6 ตัวอย่างผลการทดลองสกัดแทนนินจากเปลือกมันฝรั่ง และใช้เป็นสารกันหืนโดยอาศัยการสกัดแบบ Freeze -- Dried Extraction ใช้ตัวทำละลายเมทานอล และทดสอบคุณสมบัติการเป็นสารกันหืนโดยวิธีวัดปริมาณเปอร์ออกไซด์ในน้ำมันจากดอกทานตะวัน เปรียบเทียบกับสารเคมีสังเคราะห์ BHA, gallic acid (GAC) , chlorogenic acid (CGA) , L- ascorbic acid-6-palmitate(ASC) และสารผสมฟีนอลิก พบว่าสารสกัดจากมันฝรั่งสามารถยับยั้งการเกิดเปอร์ออกไซด์ ได้เทียบเท่ากับ BHA แต่ยังมีประสิทธิภาพต่ำกว่ากรดแอสคอร์บิก (ASC) ดูได้จากกราฟเปรียบเทียบปริมาณเปอร์ออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นกับเวลา และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกด้วยเครื่องมือ HPLC พบว่าประกอบด้วย chlorogenic acid 50.31% gallic acid 41.67% protocatechuic acid 7.81% cafeic acid 0.21% (Rodriguez de Sotillo et al., 1994)



รูปที่ 5 ผลการยับยั้งการขึ้นที่ความเข้มข้น 200 ppm ในน้ำมันจากเมล็ดทานตะวัน เก็บไว้ที่ 63 องศาเซลเซียส ของสารแทนนินที่สกัดได้จากเปลือกมันฝรั่ง = EXT (potatoes peel freeze- dried extract) เปรียบเทียบกับ ตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารใด = BLK, เติม gallic acid=GAC, สารผสมฟีนอลิก = MXT (synthetic mixture of phenolic acid), chlorogenic acid=CGA, butylated hydroxyanisole=BHA, และ L- ascorbic acid-6- palmitate=ASC

ที่มา : Rodriguez de Sotillo et al., 1994

จากการศึกษาการป้องกันการขึ้นของสารสกัดแทนนินจากลูกพวุน และน้ำพวุนโดยอาศัยสมมติฐานที่ว่า สารฟีนอลิกในอาหาร มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของ Low- Density Lipoprotein (LDL) ลดโอกาสการเป็นโรคหัวใจ การวิเคราะห์คุณสมบัติการเป็นสารกันขึ้นของสารสกัดจากพวุน จึงใช้ Cu^{2+} เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL ของมนุษย์ และวัดปริมาณการเกิดเป็นสารเฮกซานาล (hexanal) โดย headspace gas chromatography นำค่าที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การ

ยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของ LDL จากสูตร $[(C - S)/C] \times 100$ ค่า C คือปริมาณเฮกซานาลที่เกิดขึ้นก่อนเติมสารสกัด และ S คือ ปริมาณเฮกซานาลที่เกิดขึ้นเมื่อเติมสารสกัด ผลการยับยั้งเป็นดังตารางที่ 1 สารสกัดจาก pitted prune สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของ LDL 24, 82, และ 98% ที่ 5, 10, และ 20 μM gallic acid equivalents (GAE) สารสกัดจากน้ำพุนสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน 3, 62, และ 97% ที่ 5, 10, และ 20 μM GAE แสดงให้เห็นว่าสารสกัดแทนนินจากลูกพุนมีความสามารถในการป้องกันการหืนได้ สารที่สกัดได้ประกอบด้วย Hydroxycinnamates มากที่สุด รองลงมาเป็น neochlorogenic acid, chlorogenic acid และสารฟีนอลิกอื่นๆ (Donovan et al., 1998)

ตารางที่ 1 ผลการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันใน LDL โดยใช้ Cu^{2+} เ่งปฏิกิริยา ของสารสกัดจากน้ำพุน ลูกพุนและสารประกอบอื่นที่พบในผลิตภัณฑ์

sample	%inhibition at		
	5 μM^a	10 μM^a	20 μM^a
prune extract	24 \pm 3	82 \pm 6	98 \pm 1
prune juice extract	3 \pm 3	62 \pm 1	97 \pm 1
neochlorogenic acid	87 \pm 3	99 \pm 1	99 \pm 1
HMF	3 \pm 4	5 \pm 2	0 \pm 6
Sorbic acid	nd ^b	nd	15 \pm 7

^aข้อมูลการยับยั้งมีค่า \pm เป็นผลจากการคำนวณทางสถิติ สารสกัดจากพุนและน้ำลูกพุนรายงานผลการทดสอบเป็น gallic acid equivalents (GAE)

^bnd, ไม่สามารถวิเคราะห์ได้

ที่มา : Donovan et al. 1998

นอกจากสารสกัดแทนนินจากเปลือกมันฝรั่ง ลูกพุนและน้ำพุนแล้วยังมีรายงานการศึกษาแทนนินเพื่อใช้เป็นสารกันหืนจากแหล่งอื่น เช่น เปลือกหอมแดง พบว่าสามารถใช้ได้ในน้ำมัน 0.3% เพื่อป้องกันการหืนเทียบเท่ากับการใช้สาร BHA ซึ่งใช้ในปริมาณ 0.1% (วันดี, 2537)

บทสรุป

แทนนินเป็นสารที่มีประโยชน์มากในทางอุตสาหกรรม ไม่ว่าจะเป็นอุตสาหกรรมการฟอกหนัง การผลิตน้ำหมัก สีย้อม เครื่องสำอาง การแพทย์เภสัชใช้เป็นยารักษาโรคพุง อากาศท้องเดิน ใช้เป็นสารป้องกันจุลชีพหรือแม้แต่ใช้เป็นสารกันเหิน เนื่องจากแทนนินเป็นสารฟีนอลิกที่มีการกระจายอยู่ทั่วไปในส่วนต่างๆ ของพืช จึงมีการนำมาสกัดและศึกษากันอย่างแพร่หลาย ในการสกัดวิธีที่นิยมมากที่สุดคือ การใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย หรือที่เรียกว่า Methanolysis เนื่องจากราคาถูกและให้ผลผลิตที่สูง โดยอาจจะใช้วิธีการ reflux method, chromatography method แขนในตัวทำละลาย หรือแช่และมีการกวนผสม สารที่สกัดได้ในพืชแต่ละชนิดมีองค์ประกอบของสารฟีนอลิกที่แตกต่างกัน ดังจะเห็นได้จากการนำสารสกัดจากลูกพุนและเปลือกมันฝรั่งไปวิเคราะห์ด้วย HPLC (high performance liquid chromatography) พบว่า สารที่สกัดได้มีชนิดและปริมาณของสารฟีนอลิกที่แตกต่างกัน จึงทำให้มีคุณสมบัติ หรือความสามารถบางอย่างที่แตกต่างกัน

ในด้านคุณสมบัติการเป็นสารกันเหินของสารแทนนิน เกิดจากโครงสร้างที่สามารถรวมตัวได้กับอนุมูลเปอร์ออกไซด์เป็นสารเชิงซ้อนและรวมตัวกับอนุมูลเปอร์ออกไซด์อื่นๆ กลายเป็นสารประกอบที่คงตัวไม่ทำปฏิกิริยาต่อไป จึงยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในน้ำมัน และไขมันได้ มีการศึกษาคุณสมบัตินี้ในสารสกัดจากพืชหลายชนิด เช่น น้ำพุน ลูกพุน เปลือกมันฝรั่ง และเปลือกหอมแดง พบว่าสารแทนนินที่สกัดได้สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน ได้เทียบเท่ากับสารเคมีสังเคราะห์ BHA แต่ยังมีคุณสมบัติดีต่อกว่ากรดแอสคอร์บิกอยู่มาก



เอกสารอ้างอิง

- วันดี กฤษณพันธ์. 2537. สมุนไพรน้ำจืด. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 152-153.
- วัฒนา วิจิตร. 2539. ความสำคัญของแทนนินที่มีต่ออุตสาหกรรมอาหาร. วารสารอาหาร ปีที่ 26 ฉบับที่ 3 , 157-169.
- สุวงศ์ วงษ์ศิริ. 2536. การสกัดแทนนินจากเปลือกเงาะ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. 2536. การสกัดและตรวจสอบสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ. กรุงเทพมหานคร: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 7-23; 114-124.
- Cadahia, E., Conde, E., Fernández de Simon, B., and Concepcion Garcia-Vallejo, M. 1998. 46:2332-2336.
- Hagerman, A.E., Rice, M.E., and Ritchard, N.T. 1998. Mechanisms of protein precipitation for two tannins, pentagalloyl glucose and epicatechin(6(4-8) catechin(procyanidin). J. Agric. Food Chem. 46: 2590-2595.
- Hagerman, A.E., Reidl, K.M., Jones, G.A., Sovik, K.N., Ritchard, N.T., Hartzfeld, P.W., and Riechel, T.L. 1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological Antioxidants. J. Agric. Food Chem. 46: 1887-1892.
- Mallet, J.F., Cerati, C., Ucciani, E., Gamissans, J., and Gruber, M. 1994. Antioxidant activity of plant leaves in relation to their alpha-tocopherol content. J. Food Chem. 49: 61-65.
- Okuda, T., Tashida, T., and Hatano, T. 1992. Antioxidant effects of tannins and related polyphenol. Ch.7 in *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II*, T.T. Ho, C.Y. Lee, and M.T. Huang (Ed.), p.87-97. American Chemical Society, Washington, DC.
- Oomah, B.D., Kenaschuk, O.E., and Mazza, G. 1995. Phenolic Acid in Flaxseed. J. Agric. Food Chem. 43: 2016-2019.
- Rodriguez de Sotillo, D., Hardley, M., and Holm, E.T. 1994. Phenolics in Aqueous Potato Peel Extract : Extraction, Identification and Degradation. J. Food Sci. 59: 649-651.
- Rodriguez de Sotillo, D., Hardley, M., and Holm, E.T. 1994. Potato Peel Waste: Stability and Antioxidant Activity of a Freeze-Dried Extract. J. Food Sci. 59: 1031-1035

Van Berren, J.P. and Robinson, W.B. 1969. Formation of complex between protein and tannic acid. J. Agric. Food Chem. 17:772.

