

แบบรายงานเรื่องเต็มผลการวิจัยที่สิ้นสุดปีงบประมาณ 2561

- ชุดโครงการวิจัย** พัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีในการเพิ่มผลผลิตมะพร้าวให้เพียงพอกับความต้องการ ภายใต้แผนบูรณาการ วิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชสวนอุตสาหกรรม
- โครงการวิจัย** วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์มะพร้าว
กิจกรรม การพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่มจากผลพลอยได้จากการแปรรูปมะพร้าว
- ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** ศึกษาการสกัดสารแทนนินจากเปลือกมะพร้าวอ่อน
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) Study on Extraction of Tannin from Young Coconut husk
- คณะผู้ดำเนินงาน**

หัวหน้าการทดลอง	นางปาริชาติ พจนศิลป์	สังกัด	สถาบันวิจัยพืชสวน
ผู้ร่วมงาน	นางวิไลวรรณ ทวีศรี	สังกัด	สถาบันวิจัยพืชสวน
	นายโกเมศ สัตยาวุธ	สังกัด	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
	นางสาวทิพยา ไกรทอง	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร
	นางสาวหยกทิพย์ สุดารีย์	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร

5. บทคัดย่อ

การสกัดสารแทนนินที่อยู่ในเปลือกมะพร้าวเป็นทางเลือกหนึ่งในการใช้ประโยชน์จากเปลือกมะพร้าวอ่อนที่เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการตัดแต่งมะพร้าวอ่อนเพื่อส่งออก การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีการสกัดสารแทนนินจากเปลือกมะพร้าวอ่อน โดยทำการสกัดตัวอย่างเปลือกมะพร้าวอ่อนที่แบ่งเป็นเปลือกส่วนนอกและเปลือกส่วนใน อัตราส่วนเปลือกมะพร้าวต่อเอทานอลในอัตรา 1 : 6 โดยปริมาตร ทำการสกัดด้วยสารละลายเอทานอล เข้มข้นร้อยละ 10, 25, 50, 75, และ 95 ที่อุณหภูมิห้อง ใช้เวลาในการสกัด 24 ชั่วโมง นำสารละลายที่ผ่านการกรองมาทำการระเหยเอทานอล โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง และวิเคราะห์ปริมาณสารแทนนินทั้งหมดโดยให้สารที่สกัดได้ทำปฏิกิริยากับสารละลายฟอลิน-ซีโอเคลทู รีเอเจนต์แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี – วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งพบว่า ปริมาณแทนนินจากการสกัดสารแทนนินจากเปลือกมะพร้าวอ่อน ขนาด 1-2 เซนติเมตร และผ่านการอบด้วยเตาอบให้มีความชื้นน้อยกว่า 6 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณสารแทนนินเฉลี่ยในเปลือกส่วนนอกของมะพร้าวอ่อน (green husk or exocarp) มีค่าอยู่ในช่วง 84.9 ถึง 209.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเปลือกส่วนในของมะพร้าวอ่อน (white soft husk or mesocarp) มีค่าอยู่ในช่วง 40.9 ถึง 104.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการสกัดด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 75 สามารถสกัดปริมาณสารสกัดแทนนินจากเปลือกมะพร้าวอ่อนให้ปริมาณแทนนินเฉลี่ยในปริมาณที่มาก จำนวน 207.6 กรัมต่อกิโลกรัมในเปลือกส่วนนอก และ 104.0 กรัมต่อกิโลกรัมในเปลือกส่วนในของมะพร้าวอ่อน

คำสำคัญ : สารแทนนิน เปลือกมะพร้าว

The extraction of tannins in the coconut husk is an alternative way to utilize the young coconut husk as a by-product from the young coconut cutting process for export. The study aims to find out the optimum conditions for tannin extraction of young coconut husk. Coconut samples was included green husk (exocarp) and white soft husk (mesocarp) of young coconut nut (approximately 7 months) which samples size approximately 1-2 cm. and less than 6 percent of moisture. The extraction was carried out for 24 hours at room temperature by using 10, 25, 50, 75, 95 % (v/v) ethanol as an extraction solvent. Ratio of the material to ethanol was 1 : 6 g/ml. The filtered solution was boiled for 6 hours at 60 degrees Celsius for removing ethanol. The determination of total tannin by using reaction with Folin – Denis reagent and the absorbance was measured at 760 nm by UV – Vis spectrophotometer. The results showed that the extraction yields of tannin from green husk of young coconut husk achieved was 84.9 – 209.0 mg/kg and white soft husk of young coconut husk achieved was 40.9 – 104.0 mg/kg. The highest concentration of tannins compounds was found in the extraction by using 75% (v/v) ethanol, it showed 207.6 mg/kg in green husk of young coconut husk and 104.0 mg/kg in white soft husk of young coconut husk.

Keywords: tannins , coconut husk

6. คำนำ

ผลิตภัณฑ์มะพร้าวเป็นสินค้าที่มีศักยภาพสูงชนิดหนึ่งในสินค้าส่งออกของประเทศไทย โดยเฉพาะมะพร้าวอ่อนในปี 2560 มีปริมาณการส่งออกมะพร้าวอ่อน จำนวน 118 ล้านตัน มูลค่า 3,011 ล้านบาท มีมูลค่าการส่งออกเพิ่มขึ้นอย่างเท่าตัวเมื่อเทียบกับข้อมูลในระยะ 5 ปีที่ผ่านมา จากข้อมูลสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2561) ระบุว่า ในปี พ.ศ. 2555-2559 ประเทศไทยมีการส่งออกมะพร้าวอ่อนเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ปริมาณเฉลี่ย 68.2 ล้านตัน มูลค่าเฉลี่ย 1,509 ล้านบาทต่อปี และมีรายงานว่า การส่งออกมะพร้าวน้ำหอมสดเป็นผลแช่เย็นไปยังตลาดต่างประเทศนั้น จะมีเปลือกมะพร้าวอ่อนเหลือทิ้งจำนวนมากกว่า 10 ตันต่อวัน ซึ่งปัจจุบันเปลือกมะพร้าวอ่อนเหลือทิ้งจากแต่ละโรงงานแปรรูปตัดแต่งผล ที่ตากแห้งแดดกองไว้ จะขายให้โรงงานผลิตไฟฟ้าชีวมวล โดยเฉลี่ยโรงงานรับซื้อได้เพียง 2 คันรถบรรทุกทุกวัน เนื่องจากมีข้อจำกัดของกำลังการผลิตของเครื่องย่อย จะมีผู้ที่สนใจมารับไป การใช้ประโยชน์เช่นที่ผ่านมา งานวิจัยส่วนใหญ่เป็นทางด้านวัสดุศาสตร์ที่มีวัตถุประสงค์ในการพัฒนานำเปลือกมะพร้าวผลอ่อนไปทำเป็นผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เช่น วัสดุเพาะกล้า วัสดุปลูก หรือ บรรจุภัณฑ์ เช่น วัสดุกันกระแทก หรือการนำไปใช้เป็นพลังงานเชื้อเพลิง เป็นต้น

ดังนั้นการสกัดสารสำคัญที่อยู่ในเปลือกมะพร้าวเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการสร้างมูลค่าเพิ่มและเป็นแนวทางในการขยายผลการใช้ประโยชน์ต่อไป ในเปลือกมะพร้าวมีสารสำคัญ คือ แทนนิน (tannin) ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนพวกฟีนอลิก มีโมเลกุลใหญ่และมีโครงสร้างซับซ้อนแบ่งออกเป็น ไฮโดรไลซ์เชเบิลแทนนิน (hydrolysable tannin) แทนนินชนิดนี้สามารถละลายในกรดหรือน้ำย่อย พบมากในส่วนของใบพืช ฝัก และ คอนเดนซ์แทนนิน

(condensed tannins) เป็นชนิดแทนนินที่มีโมเลกุลใหญ่และซับซ้อนมากกว่า ไม่สามารถไฮโดรไลซ์ด้วยกรดหรือด่าง แต่ละลายได้ดีในน้ำร้อน แอลกอฮอล์ และอะซิโตน พบได้ในส่วนเปลือกต้น เปลือกไม้ และแก่นไม้ เป็นต้น สารแทนนินมีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน มีรสฝาด จึงเป็นสารที่ให้ความฝาดในพืช แทนนินมีการใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย ด้วยแทนนินมีคุณสมบัติช่วยในการตกตะกอนโปรตีนทำให้หนังสัตว์ไม่เน่าเปื่อย จึงมีการใช้สารแทนนินในอุตสาหกรรมการฟอกหนัง และสามารถช่วยยืดอายุในการรักษาผลิตภัณฑ์อีกด้วย แทนนินใช้เป็นตัวเร่งการตกตะกอน ในอุตสาหกรรมทำเหล้าสาเก ทำให้เหล้าใส ทำให้มีรสชาติดกกล่อม ในทางการแพทย์ พบว่า สารแทนนินสามารถใช้เป็นยารักษาโรคท้องเสียได้ สารแทนนินมีคุณลักษณะเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียบางชนิดได้ (พีรศักดิ์, 2544) แทนนินในพืชบางชนิดมีงานวิจัยว่า ช่วยต้านมะเร็ง ต้านแบคทีเรีย ต้านอนุมูลอิสระ ลดความดันโลหิต ลดไขมันในเลือด เป็นต้น และยังมีการนำสารแทนนินไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น บำบัดน้ำเสีย ขจัดกลิ่นไม่พึงประสงค์ เป็นต้น

การศึกษาวิธีการสกัดแทนนินที่ผ่านมา พบว่า ปริมาณแทนนินสูงในส่วนของแก่นไม้และเปลือกไม้ของพืชที่มีอายุมากกว่า 1 ปีจะมีแทนนินสูงกว่าใบที่อายุเพียงปีเดียว และพืชที่มีใบสีเขียวตลอดปีก็มีแทนนินมากกว่าพืชประเภทผลัดใบ (อัญมณี, 2540) ทั้งนี้ สารละลายแทนนินสามารถละลายได้ในน้ำ แอลกอฮอล์ อะซิโตน และไพรีดีน แต่ไม่สามารถละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม แต่เมื่ออยู่ในน้ำจะมีสภาพเป็นคอลลอยด์ ซึ่งตัวทำละลายที่สามารถสกัดแทนนินได้นั้นก็ขึ้นอยู่กับชนิดของแทนนินเช่นกัน ส่วนการตรวจสอบสมบัติของแทนนินสามารถทดสอบได้หลายวิธี โดยแต่ละวิธีใช้สารในการทำปฏิกิริยาต่างกัน โดยการตรวจสอบโดยใช้วิธี folin-denis ใช้สารละลาย folin-denis reagent เป็นสารทดสอบโดยหลักการคืออาศัยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของหมู่ phenolic hydroxyl โดยหมู่ฟีนอลิกจะปรีดิวิซ์ phosphotunstormolydic acid เกิดเป็นสารเชิงซ้อนสีน้ำเงิน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นประมาณ 700 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยนำไปเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก, กรดแกลลิก หรือแคทีชิน ซึ่งวิธีนี้นิยมใช้เพื่อตรวจสอบหาปริมาณแทนนินในพืช (วรรณวิภาค์, 2554) ซึ่ง โกเมศ และคณะ (2557) รายงานว่า แทนนินเป็นสารสำคัญในการกำหนดคุณภาพในการผลิตไวน์มั่งคุด ความฝาดที่เป็นลักษณะเด่นของแทนนินทำให้คุณภาพของไวน์มั่งคุดมีเอกลักษณ์และเพิ่มมูลค่าสูงขึ้น โดยหากใช้ความร้อนในการสกัดพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณแทนนิน และวิธีวิเคราะห์แทนนินด้วยการใช้ดัชนีเอทานอล โดยแช่ตัวอย่างในเอทานอล 24 ชั่วโมง แล้วทำการวิเคราะห์ด้วยสารละลายมาตรฐาน Folin-Denis ตกตะกอนด้วย Na_2CO_3 เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่ให้ผลดี ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดสารแทนนินจากเปลือกมะพร้าวผลอ่อนเพื่อสร้างมูลค่าจากเปลือกมะพร้าวโดยเปลี่ยนจากวัสดุเหลือทิ้งให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลายมากขึ้น

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. เปลือกมะพร้าวอ่อน (ผลมะพร้าวอายุประมาณ 7 เดือน)
2. เครื่องชั่งตวงวัด 4 ตำแหน่ง

3. เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง
4. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง UV-VIS-Spectrophotometer (รุ่น UV2-100)
5. เครื่องสกัดแยกสาร
6. เครื่องระเหยแห้งแบบสุญญากาศ
7. ชุดเครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่จำเป็น เช่น ขวดเก็บสารสกัดสีชา
8. ตู้อบ (Hot air oven)
9. เครื่องปั่น (blender) บดตัวอย่าง
10. สารเคมี
 - เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์
 - กรดแทนนิก (Tannic Acid)
 - สารละลาย 10.0% Folin-cioalceu phenol reagent
 - สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 7.5 % (7.5 % Sodium carbonate)
 - น้ำกลั่น

- วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง

นำเปลือกมะพร้าวอ่อน (ผลมะพร้าวอายุประมาณ 7 เดือน) ทำแยกเปลือกส่วนนอกที่มีสีเขียว (external husk) โดยปาดจากด้านนอกผลเข้ามาประมาณ 1 เซนติเมตร และเปลือกส่วนในที่มีสีขาว (internal husk) จากนั้นนำมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า ผึ่งให้แห้ง ทำการหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 1-2 เซนติเมตร หลังจากนั้นทำให้แห้งโดยการอบในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ ประมาณ 60-70 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 5 วัน ตัวอย่างมะพร้าว มีความชื้นน้อยกว่า 6 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาปั่นให้ละเอียดโดยเครื่องปั่น

2. การสกัดสารแทนนินจากตัวอย่างเปลือกมะพร้าวอ่อนแห้ง

ทำการสกัดสารแทนนินจากตัวอย่างเปลือกมะพร้าวแห้งทั้งเปลือกส่วนนอกและเปลือกส่วนใน โดยนำตัวอย่างเปลือกมะพร้าวที่บดแล้วมาเติมสารละลายผสมระหว่าง น้ำกลั่นและเอทานอลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 10, 25, 50, 75, และ 95 ตามลำดับ โดยใช้อัตราส่วนของเปลือกมะพร้าวแห้งและสารละลายในอัตราส่วน 1 : 6 จากนั้นปั่นโดยใช้เครื่องปั่นความเร็วสูงเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง และนำมากรองโดยใช้เครื่องกรองป้อนสุญญากาศ ให้ได้เฉพาะส่วนของสารละลาย และทำการระเหยเอทานอลโดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงเพื่อกำจัดตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4000 rpm เป็นระยะเวลา 15 นาที เก็บตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะพร้าวในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารแทนนินในสารสกัดจากเปลือกมะพร้าว

3.1 เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัว (Na_2CO_3)

เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7 โดยเตรียมจากโซเดียมคาร์บอเนตผง 7 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเก็บที่อุณหภูมิต่ำ

3.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานแทนนิกเข้มข้น 1000 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

สารละลายมาตรฐานแทนนิกเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำโดยชั่งแทนนิก 0.025 กรัม ละลายในเอทานอล และปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร จากนั้นเจือจางสิบเท่าให้ได้สารมาตรฐานแทนนิกเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยการปิเปตมา 2.5 มิลลิลิตร เจือจางด้วยเอทานอลให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร

3.3 การสร้างกราฟมาตรฐานกรดแทนนิก

นำสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มาเจือจางด้วยเอทานอลให้มีความเข้มข้นเป็น 0, 20, 40, 60 และ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร และปิเปตใส่หลอดทดลองปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร โดยแยกแต่ละหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำทุกหลอดปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายเฟอร์ริลปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดี และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่องผสม ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 90 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสง และความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแทนนิก มาเขียนกราฟมาตรฐานและหาค่าความชัน (m) เพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณแทนนินในสารสกัด

3.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารแทนนินของตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะพร้าว (Leite & Dourado, 2013; Linggard & Singlaton, 1977)

เจือจางสารที่สกัดได้ 1000 เท่า ด้วยน้ำกลั่น ปิเปตสารที่สกัดได้ ปริมาตร 0.20 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำปริมาตร 2.50 มิลลิลิตร เติมสารละลายโพลิน-ซีโอเคลทู รีเอเจนต์ ปริมาตร 0.20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 60 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี – วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 760 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ในแต่ละตัวอย่างไปเทียบหาปริมาณสารแทนนินกับกราฟมาตรฐานของกรดแทนนิก

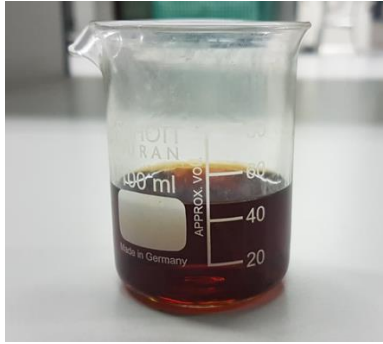
- เวลาและสถานที่

เริ่มต้น กันยายน 2560 สิ้นสุด กันยายน 2561

ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร สถาบันวิจัยพืชสวน ห้องปฏิบัติการของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี วิทยาเขตราชบุรี และห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

ในการสกัดสารประกอบแทนนินจากตัวอย่างแห้งของเปลือกมะพร้าวอ่อนทั้งเปลือกด้านนอกที่มีสีเขียวและเปลือกด้านในที่มีสีขาว โดยทำการสกัดด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 10, 25, 50, 75, และ 95 โดยปริมาตร อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างเปลือกมะพร้าวอ่อนต่อสารละลายเอทานอลในแต่ละความเข้มข้นโดยปริมาตรคือ 1 : 6 ทำการสกัดตามวิธีการสกัด พบว่า สารสกัดจากเปลือกมะพร้าวอ่อนทั้งส่วนด้านนอกและส่วนด้านใน ภายหลังจากการปั่นเหวี่ยงและกรอง มีลักษณะปรากฏเป็นสีน้ำตาลเข้ม ใส ไม่มีตะกอน (รูปที่ 1)



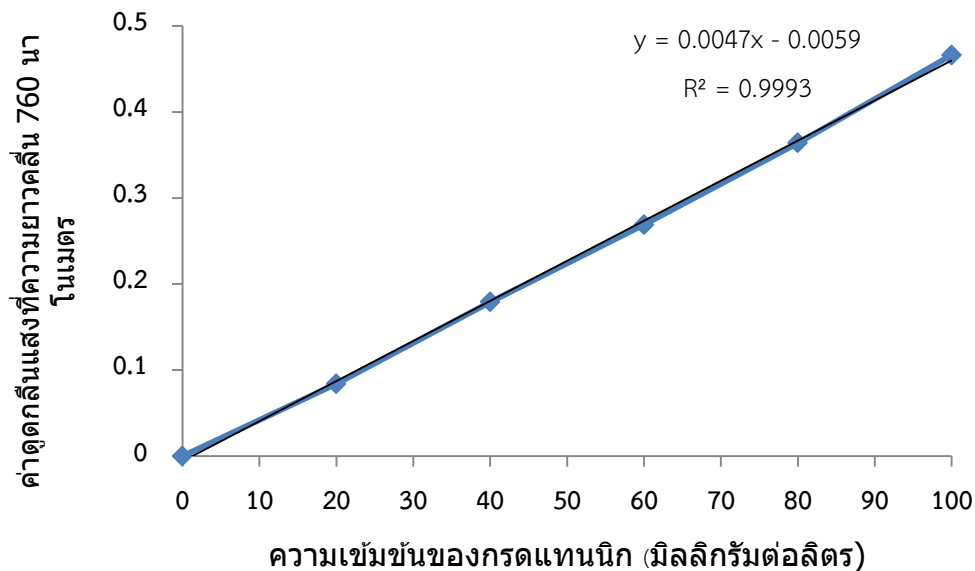
รูปที่ 1 สารสกัดจากเปลือกมะพร้าวอ่อน (ส่วนนอกและส่วนใน) ภายหลังจากการกรอง

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารแทนนินทั้งหมด โดยให้สารที่สกัดได้ทำปฏิกิริยากับสารละลายฟอลิน-ซีโอเคลทู รีเอเจนต์แล้ววัดค่าการดูดกลืนค่าแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี – วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้กรดแทนนิกเป็นสารมาตรฐาน ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร มีค่าเท่ากับ 0, 0.084, 0.179, 0.269, 0.364 และ 0.466 เมื่อความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกเท่ากับ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร
0	0
20	0.084
40	0.179
60	0.269
80	0.364
100	0.466

จากตารางที่ 1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 760 นาโนเมตร สามารถนำไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกได้ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก

จากนั้นได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณแทนนินในตัวอย่างเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก (ดัดแปลงจาก Leite & Dourado, 2013; Linggard & Singlaton, 1977 อ้างถึงใน ณพัฐอร, 2561) ซึ่งปริมาณสารแทนนินในเปลือกมะพร้าวอ่อนที่ทำการสกัดโดยสารละลายเอทานอลแต่ละความเข้มข้นในอัตราส่วนเปลือกมะพร้าวต่อเอทานอลในอัตราส่วน 1 : 6 โดยปริมาตร พบว่า ในเปลือกส่วนนอกของมะพร้าวอ่อนที่สกัดโดยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 10, 25, 50, 75, และ 95 มีปริมาณแทนนินเฉลี่ย 84.89, 105.76, 98.36, 207.58 และ 209.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) และปริมาณแทนนินในเปลือกมะพร้าวอ่อนส่วนใน สกัดโดยเอทานอลความเข้มข้น ร้อยละ 10, 25, 50, 75, และ 95 มีปริมาณแทนนินเฉลี่ย 40.91, 42.33, 29.57, 104.03 และ 38.08 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

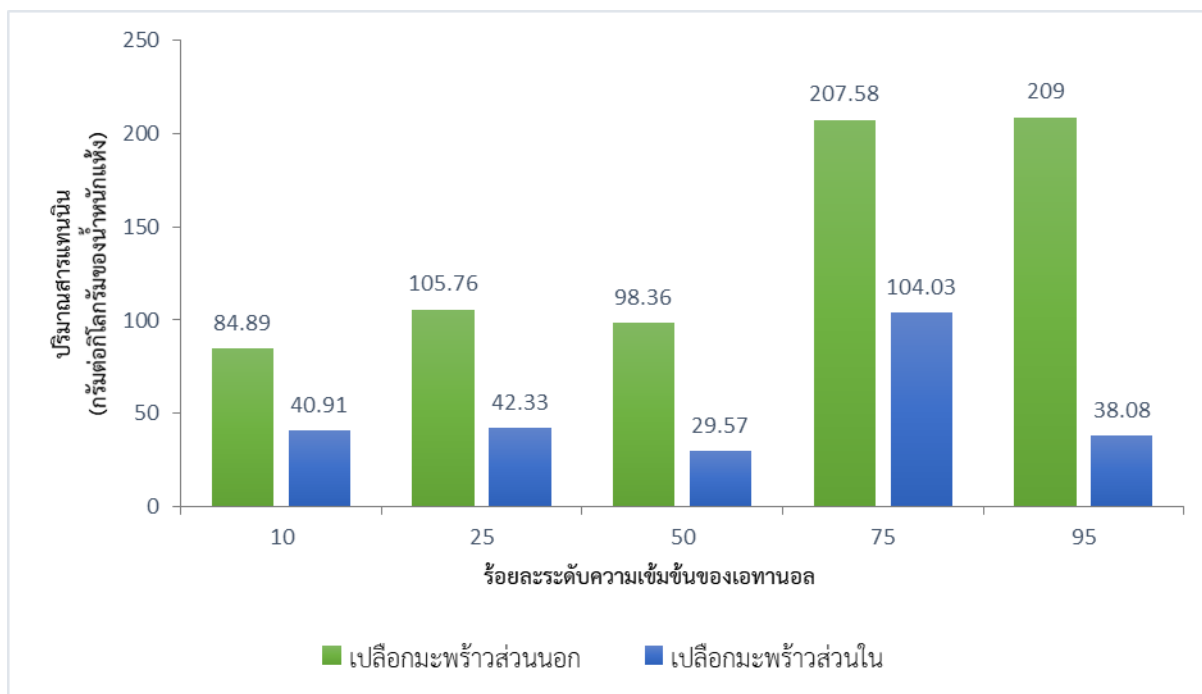
ตารางที่ 2 ปริมาณแทนนินในสารสกัดจากเปลือกมะพร้าวอ่อนส่วนนอก

ชนิด	อัตราส่วน เปลือกมะพร้าว (กรัม) :เอ ทานอล (มล.)	ร้อยละ ระดับความ เข้มข้นของ เอทานอล	ครั้งที่	ค่าการดูดกลืน แสงที่ความยาว คลื่น 760 นาโน เมตร	ปริมาณแทนนิน (กรัมต่อ กิโลกรัม)	ปริมาณแทนนิน เฉลี่ย (กรัมต่อ กิโลกรัม)
เปลือก มะพร้าว ส่วนนอก	1 : 6	10	1	0.030	76.38	84.89±9.75
			2	0.039	95.53	
			3	0.033	82.76	
		25	1	0.045	100.82	105.76±6.06
			2	0.043	104.00	
			3	0.047	112.55	
		50	1	0.040	97.65	98.36±5.35
			2	0.043	104.04	
			3	0.038	93.40	
		75	1	0.081	184.89	207.58±32.21
			2	0.109	244.46	
			3	0.085	193.40	
		95	1	0.096	216.80	209.00±11.71
			2	0.095	214.68	
			3	0.086	195.53	

ตารางที่ 3 ปริมาณแทนนินในสารสกัดจากเปลือกมะพร้าวอ่อนส่วนใน

ชนิด	อัตราส่วนเปลือกมะพร้าว (กรัม) : เอทานอล (มล.)	ร้อยละระดับความเข้มข้นของเอทานอล	ครั้งที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร	ปริมาณแทนนิน (กรัมต่อกิโลกรัม)	ปริมาณแทนนินเฉลี่ย (กรัมต่อกิโลกรัม)
เปลือกมะพร้าวส่วนใน	1:6	10	1	0.015	44.46	40.91±3.24
			2	0.012	38.08	
			3	0.013	40.21	
		25	1	0.015	44.46	42.33±3.68
			2	0.015	44.46	
			3	0.012	38.08	
		50	1	0.012	38.08	29.57±9.75
			2	0.009	31.70	
			3	0.003	18.93	
		75	1	0.037	91.27	104.03±12.76
			2	0.049	116.80	
			3	0.043	104.04	
		95	1	0.007	27.44	38.08±14.89
			2	0.009	31.70	
			3	0.020	55.10	

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของสารแทนนินจากเปลือกมะพร้าวอ่อนที่ทำการสกัดโดยน้ำและสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 10, 25, 50, 75, และ 95 โดยปริมาตร ในอัตราส่วนเปลือกมะพร้าวต่อสารละลายเอทานอล อัตรา 1 : 6 โดยปริมาตร พบว่า เปลือกมะพร้าวอ่อนส่วนนอกมีปริมาณแทนนินเฉลี่ยมากกว่าเปลือกมะพร้าวอ่อนส่วนในในทุกความเข้มข้นของสารละลายเอทานอล (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 ปริมาณแทนนินในส่วนของเปลือกมะพริ้วอ่อน

จากผลการทดลองการสกัดสารแทนนินในเปลือกมะพริ้วอ่อน โดยสารละลายเอทานอลเป็นตัวทำละลาย อัตราส่วนของเปลือกมะพริ้วแห้งและสารละลายในอัตราส่วน 1 : 6 ทั้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า การสกัดโดย สารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ให้ปริมาณแทนนินเฉลี่ยในปริมาณที่สูงที่สุด 209.0 กรัมต่อگیโลกกรัม และ สารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 75 ที่ให้ปริมาณแทนนินเฉลี่ย 207.58 กรัมต่อگیโลกกรัม และการสกัดสารแทนนินจากเปลือกมะพริ้วอ่อนส่วนใน โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 75 มีปริมาณแทนนินเฉลี่ยสูงสุด 104.03 กรัมต่อگیโลกกรัม ซึ่งปริมาณสารแทนนินที่ได้มีปริมาณที่อยู่ในเกณฑ์ที่สามารถนำไปปรับใช้ประโยชน์ได้ หากเทียบกับปริมาณสารสกัดแทนนินที่ได้จากพืชอื่นที่มีวิธีการสกัดต่างกัน ได้แก่ ใบมันสำปะหลัง ที่ทำการศึกษา โดย กมลชนก และ ปณิตดา (2557) พบว่า การสกัดด้วย อะซิโตนกับน้ำร้อยละ 80 อัตราส่วน 1 : 20 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง ได้ปริมาณสารแทนนินสูงที่สุดคือ 644.62 มิลลิกรัมต่อگیโลกกรัม ส่วนการ สกัดด้วย เอทานอลกับน้ำร้อยละ 80 อัตราส่วน อัตราส่วน 1 : 20 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 1 ชั่วโมง ได้ปริมาณสารแทนนินสูงที่สุดคือ 359.82 มิลลิกรัมต่อگیโลกกรัม และการสกัดด้วยน้ำกับตัวอย่างใน อัตราส่วน 1 : 10 ที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลา 5 ชั่วโมง ได้ปริมาณสารแทนนินสูงที่สุดคือ 236.06 มิลลิกรัมต่อ ภิโลกกรัม วัลลภและคณะ (2530) ซึ่งศึกษาในมันสำปะหลังเช่นกัน พบว่าสกัดสารแทนนินด้วย อะซิโตน ความ เข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 2 ชั่วโมง ได้สารสกัดแทนนินในปริมาณ 10.833 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และฤทัยรัตน์ (2551) พบว่า สารสกัดที่เหมาะสมที่สามารถสกัดสารแทนนินมากที่สุด คือ อะซิโตน 80 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 5 ชั่วโมง โดยสามารถสกัดสารแทนนินจากใบมันสำปะหลัง 40 กรัม ได้ 8.829 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนน้ำ กลั่นสามารถสกัดสารแทนนินได้ในปริมาตรที่น้อยกว่า คือ 1.111 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาสกัดเท่ากัน ส่วนใน ลูกตาลสด อัญมณี (2540) พบว่า สารสกัดแทนนินจากเปลือกลูกตาล โดยวิธีการสกัดด้วยน้ำและสารละลายเอทา นอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสในอัตราส่วนเปลือกลูกตาลต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1 : 10

ระยะเวลา 1 ชั่วโมง สามารถสกัดสารแทนนินได้ร้อยละ 26.64 ของเปลือกลูกตาลสด เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยน้ำเป็นตัวทำละลายอย่างเดียว อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสในอัตราส่วนเปลือกลูกตาลต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1 : 10 ระยะเวลา 1 ชั่วโมง สามารถสกัดสารแทนนินได้เพียงร้อยละ 22.57 ของเปลือกลูกตาลสด ขนิษฐา และคณะ (2558) สกัดสารแทนนินจากทับทิม โดยใช้สารละลายเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 โดยปริมาตร อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างทับทิมต่อตัวทำละลาย ในอัตรา 1 : 20 กรัมต่อมิลลิลิตร สกัดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่า ส่วนของเปลือกต้นมีปริมาณสารแทนนินเฉลี่ยสูงที่สุด 30.24 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทั้งนี้ในการสกัดสารแทนนินในพืชชนิดเดียวกันในแต่ละครั้งก็อาจทำให้ปริมาณสารแทนนินที่ได้มีความแตกต่างกันด้วย ดังนั้นทุกขั้นตอนในการสกัดมีความสำคัญเพราะเป็นปัจจัยที่แปรผันตรงกับปริมาณสารสกัดที่ได้

ในการแยกสารสกัดที่ต้องการแยกออกจากส่วนต่างๆ ของพืชนั้น ต้องใช้การสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีความเหมาะสมในการสกัดแต่ละชนิดเพราะสารแต่ละชนิดจะมีความสามารถละลายในตัวทำละลายต่างกันและละลายได้ในปริมาณต่างกัน โดยหลักสำคัญในการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมนั้น ตัวทำละลายต้องละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี ควรมีราคาถูกและหาได้ง่าย จากการศึกษาที่ผ่านมา Hagerman (1988) พบว่า สารอะซิโตน ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ สามารถสกัดสารแทนนินจากใบ Burr Oak, Sugar Maple และ Shagbark Hickory ได้สูงที่สุด เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยสารละลาย เมทานอล และสารละลายกรดไฮโดรคลอริกผสมเมทานอล และในการศึกษาการสกัดแทนนินในใบพืช เช่น สกัดสารแทนนินจากเปลือกไม้โกงกางด้วยน้ำเป็นตัวทำละลาย (ประเชิญ, 2530) ในมันสำปะหลัง พบว่า สารสกัดที่สามารถสกัดสารแทนนินได้ในปริมาณสูงสุด คือ อะซิโตน ที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลาสกัด 2 ชั่วโมง ส่วนสารสกัดแทนนินที่สกัดด้วย อะซิโตน 50 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับเอทิลแอลกอฮอล์ 80 เปอร์เซ็นต์ จะให้สารสกัดแทนนินที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (วัลลภ และคณะ, 2530) ซึ่งหากเทียบตัวทำละลายระหว่าง อะซิโตนกับน้ำ ฤทัยรัตน์ (2551) รายงานว่า สกัดสารแทนนินจากใบสำปะหลังด้วย อะซิโตน 80 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 5 ชั่วโมง ได้ปริมาณสารสกัดแทนนินจากใบมันสำปะหลัง 40 กรัม ได้ 8.829 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย สามารถสกัดสารแทนนินได้ในปริมาณที่น้อยกว่า คือ 1.11 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาสกัดเท่ากัน ส่วนในเปลือกเงาะ สุรวงศ์ (2535) รายงานว่า การสกัดสารแทนนินจากเปลือกเงาะโดยใช้สารละลายเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำมาก และระบบสกัดครั้งเดียวที่มีการกวนผสมจะให้ประสิทธิภาพสูงกว่าระบบสกัดครั้งเดียวที่ไม่มีการผสมกวน เนื่องจากการใช้อะซิโตนในการสกัดมีความเสี่ยงต่อมนุษย์และอะซิโตนเป็นสารอันตรายไม่เหมาะแก่การนำการสกัดใช้จริง สำหรับในการวิจัยครั้งนี้จึงได้เลือกเอทานอลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายเท่านั้น โดยทำการสกัดสารแทนนินในเปลือกมะพร้าวอ่อนโดยใช้เอทานอลแอลกอฮอล์ในระดับความเข้มข้นต่างกัน ซึ่งจากผลการทดลอง เห็นได้ว่าการสกัดสารแทนนินจากเปลือกมะพร้าวอ่อนทั้งส่วนนอกและส่วนใน การใช้อเอทานอลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 75 ให้ปริมาณแทนนินเฉลี่ยในปริมาณที่สูง (207.58 กรัมต่อกิโลกรัม และ 104.03 กรัมต่อกิโลกรัม) ดังนั้นในการสกัดสารแทนนินจากเปลือกมะพร้าวอ่อน โดยสารละลายเอทานอลเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 75 เหมาะสมที่สุด เนื่องจากหาได้ง่ายและในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยมีความประสงค์ที่จะศึกษาถึงวิธีการสกัดสารแทนนินจากเปลือกมะพร้าวอ่อน ซึ่งต้องเป็นวิธีการที่เหมาะสม สะดวก และสามารถนำไปถ่ายทอดและใช้ประโยชน์ได้จริง

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาการสกัดสารแทนนินจากเปลือกมะพร้าวอ่อนทั้งเปลือกส่วนนอกและเปลือกส่วนใน พบว่า ปริมาณสารแทนนินเฉลี่ยในเปลือกส่วนนอกของมะพร้าวอ่อนมีค่าอยู่ในช่วง 84.89 ถึง 209.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเปลือกส่วนในของมะพร้าวอ่อนมีค่าอยู่ในช่วง 40.91 ถึง 104.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งจากผลการทดลอง พบว่า สารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 75 เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สามารถสกัดปริมาณสารสกัดแทนนินจากเปลือกมะพร้าวอ่อนให้ปริมาณแทนนินเฉลี่ยในปริมาณที่มาก จำนวน 207.58 กรัมต่อกิโลกรัมในเปลือกส่วนนอก และ 104.03 กรัมต่อกิโลกรัมในเปลือกส่วนในของมะพร้าวอ่อน

- ข้อเสนอแนะ

ควรศึกษาการนำสารสกัดแทนนินไปใช้ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช เพื่อตอบสนองการผลิตสินค้าออร์แกนิก

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สามารถถ่ายทอดวิธีการสกัด สารแทนนินจากเปลือกมะพร้าวอ่อน ให้ผู้ประกอบการหรือผู้สนใจ นำไปพัฒนาต่อได้ ซึ่งระดับการผลิตสามารถทำได้ในระดับอุตสาหกรรมครัวเรือน หรือระดับชุมชน
2. สามารถนำแนวทางงานวิจัยไปต่อยอดในการผลิตแทนนินในภาคอุตสาหกรรม

11. คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ อาจารย์พรหม สิริสมนต์ มจร.ราชบุรี ที่ปรึกษาโครงการ และ ผศ.ดร.จิตติมา วงศ์ศิริ ที่ให้แนวทางในการสกัดสารประกอบแทนนิน ขอขอบคุณ ผศ.ดร.รชา เทพพร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่ชี้แนะและช่วยสนับสนุนการวิเคราะห์สารประกอบแทนนิน และขอขอบคุณพนักงานราชการ ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร ที่ทุ่มเทในการเตรียมตัวอย่างเปลือกมะพร้าว หากขาดท่านเหล่านี้ งานวิจัยครั้งนี้คงไม่สำเร็จ

12. เอกสารอ้างอิง

- ชนิษฐา แพบขุนทด ปนิตา เย็นใจ ศิริพร ตะทะกระโทก. 2558. การศึกษาสารแทนนินจากส่วนต่างๆ ของทับทิม. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา
- ณพัทธ์อร บัวฉุน. 2561. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกของเมล็ดและเนื้อมะม่วงไม่รู้หัท. วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ปีที่ 13 ฉบับที่ 2. หน้า 52 -63
- ประเชิญ สร้อยทองคำ. 2530. การสกัดแยกสารแทนนินจากเปลือกไม้โกงกาง เพื่อใช้ในการฟอกหนังชนิดฟอกทับ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พีรศักดิ์ วรสุนทรโรสถ. 2544. พืชที่ให้สีส้มและแทนนิน. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.), กรุงเทพฯ.

ฤทัยรัตน์ น้อยคนดี. 2551. การสกัดแทนนินจากใบมันสำปะหลังเพื่อบำบัดคุณภาพน้ำเสีย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วรรณวิภากร์ ซื่อตระกูล. 2554. การวิเคราะห์หาปริมาณแทนนินในเครื่องดื่มในชาปรุงสำเร็จพร้อมดื่มด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาเคมีศึกษา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา

สุรวงศ์ วงษ์ศิริ (2535) การสกัดแทนนินจากเปลือกเงาะ Extraction of Tannin From Rambutan Peel วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. บัณฑิตวิทยาลัย 139 หน้า

อัญมณี ปิณฑะบุตร. (2540). การสกัดสารแทนนินจากเปลือกลูกตาล. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏเพชรบุรี.

Atanassova, M. and V. Christova-Bagdassarian. 2009. Determination of tannin content by titrimetric method for comparison of different plant species. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy 44(4): 413-415.

Hagerman, A.E. 1988. Extraction of Tannin from Fresh and Preserved Leaves. Journal of Chemical Ecology, Vol. 14, No. 2.

Leite, L., Dourado, L., 2013. "Laboratory activities, science education and problem-solving skills". Procedia-Social and Behavioral Sciences. P. 1677-1686

13. ภาคผนวก

ภาพผนวกที่ 1 การเตรียมตัวอย่างมะพร้าว



ภาพผนวกที่ 2 การเตรียมตัวอย่างเปลือกมะพร้าว(ส่วนในและนอก) แห้งปั่นละเอียด ในอัตราส่วนระหว่าง สารละลายเอทานอลความเข้มข้นในระดับต่าง ๆ ต่อ ตัวอย่างเปลือกมะพร้าวแห้งปั่นละเอียด (1:6)



ภาพผนวกที่ 3 การปั่นสารละลายผสมระหว่างเปลือกมะพร้าวแห้งและเอทานอล (ก) กรองด้วยชุดเครื่องปั๊มสุญญากาศ (ข) และสารสกัดจากเปลือกมะพร้าวภายหลังการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นต่าง เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง (ค)



ภาพผนวกที่ 4 การระเหยเอทานอลในสารสกัดที่ระดับอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (ก) และ สารสกัดจากเปลือกมะพร้าวภายหลังการระเหยเอทานอลเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์สารแทนนินต่อไป (ข)

