

การใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการสกัดแอนโทไซยานินจากกากเมา

Ultrasonic-assisted extraction of anthocyanins from Mao marcs

อรัญญา พรหมกูล¹, วรัญญา วงศ์ไชยสิทธิ์¹, ไรดา อักษ์เสน¹ และ เกรียงไกร พัทธยากร^{1*}

Arunya Prommakool¹, Warunya Vongchaisitti¹, Irada Uksan¹

and Kriangkrai Phattayakorn^{1*}

บทคัดย่อ: การศึกษาผลของใช้เครื่องอัลตราโซนิกช่วยในการสกัดแอนโทไซยานินจากกากเมา ซึ่งเป็นวัสดุเหลือจากการผลิตน้ำผลไม้และไวน์ โดยเตรียมตัวอย่างกากเมาและนำมาสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกที่ความถี่ 35 กิโลเฮิร์ต ระดับกำลังคลื่น ต่ำ ปานกลางและสูง ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกากเมาที่ไม่ผ่านการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิก (ชุดควบคุม) จากการทดลอง พบว่า การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกมีผลต่อปริมาณสารแอนโทไซยานิน และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยตัวอย่างกากเมาที่ผ่านการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกที่ระดับกำลังคลื่น ต่ำ ปานกลางและสูง มีค่าเปอร์เซ็นต์ผลได้ (%yield) เท่ากับ 2.64, 2.83 และ 2.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุม ส่วนปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด และ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าวิธีการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกที่ระดับกำลังคลื่นต่างๆ มีค่าใกล้เคียงกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเช่นเดียวกับคุณสมบัติสมบัติน้ำตาลและกรดจากการทดลองบ่งชี้ว่ากากเมาที่มีศักยภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในอาหารเพื่อช่วยในการต้านการเกิดออกซิเดชันได้

คำสำคัญ: กากเมา, แอนโทไซยานิน, สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด, สารต้านอนุมูลอิสระ

ABSTRACT: Effect of ultrasonic-assisted extraction of anthocyanins from Mao marcs, which are waste products from the juice and wine production, the anthocyanins content, total phenolic content and their antioxidant activity were investigated. The extraction were performed using ultrasonic power at low, medium and high level (35 kHz) compared to control (no ultrasonic). The results showed that % yield of anthocyanins extract were 2.64, 2.83 and 2.82% at low, medium and high level of ultrasonic extraction, respectively. The results of total anthocyanin content and DPPH scavenging activity by using ultrasonic extraction were similar to the control as well as the total phenolic content. This study indicated that Mao marcs can be used in dietary applications with potential to be antioxidant.

Keywords: Mao marcs, anthocyanins, phenolic compound, antioxidant

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนาการ คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร, สกลนคร 47000

Department of Food Technology and Nutrition, Faculty of Natural Resources and Agro-Industry, Kasetsart University, Chalermphrakiat Sakon Nakhon Province Campus, Sakon Nakhon 47000

* Corresponding author: csnkpk@ku.ac.th

บทนำ

เม่า (*Antidesma thwaitesianum* Müll. Arg.) เป็นไม้ผลที่ทนแล้งได้ดี พบอยู่ทั่วไปในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของไทย ลักษณะของผลเม่า จะออกผลเป็นพวงเหมือนพริกไทยอ่อน เมื่อผลยังอ่อนอยู่จะมีสีเขียว และเมื่อผลสุกก็จะเปลี่ยนเป็นสีแดงถึงม่วง เม่ามีชื่อเรียกตามภาษาท้องถิ่นที่พบแตกต่างกันออกไป เช่น มะเม่า หมาเม่า เป็นต้น ผลเม่ามีคุณค่าทางโภชนาการสูง เช่น โปรตีน เยื่อใย คาร์โบไฮเดรต วิตามินและแร่ธาตุ รวมถึงเป็นแหล่งของแอนโธไซยานินและสารต้านออกซิเดชัน (Puangpronpitag et al., 2008; Nuengchamnong and Ingkaninan, 2010; Puangpronpitag et al., 2011) ปัจจุบันมีผู้บริโภคเม่าในรูปผลสดและในลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการแปรรูปมากขึ้น สามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายหลายชนิดได้แก่ น้ำเม่าพร้อมดื่ม น้ำเม่าเข้มข้น ไวน์เม่า แยมเม่า ทำให้มีของเหลือจากกระบวนการผลิตจำนวนมาก ซึ่งได้แก่กากและเมล็ด ซึ่งโดยทั่วไปพบว่ากากเหลือดังกล่าวเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระโดยธรรมชาติซึ่งปลอดภัยกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ ซึ่งสามารถนำไปใช้ได้ประโยชน์เป็นสารเจือปนในอุตสาหกรรมอาหารได้

จากการศึกษาของ Puangpronpitag et al. (2008) พบว่ากากเม่าเป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลิกจำนวนมากที่พบมากคือแอนโทไซยานิน ซึ่งแอนโธไซยานินเป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นสารให้สีตามธรรมชาติ โดยสีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-ด่าง นอกจากนี้แอนโทไซยานินยังมีสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ช่วยต้านอนุมูลอิสระ สามารถลดอาการอักเสบ ช่วยปกป้องหลอดเลือด ลดคอเลสเตอรอลในเลือด ลดความเสี่ยงของโรคมะเร็งและต้านไวรัส งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการสกัดต่อแอนโทไซยานิน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในกากเม่า

วิธีการศึกษา

วิธีการเตรียมกากเม่า

นำเม่ามาบดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้าและกรองเอาน้ำออกให้เหลือเพียงกากเม่าเท่านั้นแล้วนำไปชั่งน้ำหนักตัวอย่างถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส จนกว่าจะวิเคราะห์

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมสารสกัดชุดควบคุม (Control)

นำกากเม่ามาสกัดด้วย 0.1 % HCl (v/v) ในเมทานอล ที่อัตราส่วน 2:1 (w/v) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการสกัด 2 ครั้ง นำมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman No.1 เก็บสารละลายที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนเหวี่ยง (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นำส่วนที่เหลือไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง (Freeze Dry) แล้วชั่งน้ำหนักหาเปอร์เซ็นต์ผลได้ (% yield) ของสารสกัดแอนโธไซยานินจากกากเม่า เก็บตัวอย่างแห้งในขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส จนกว่าจะวิเคราะห์

2. การสกัดตัวอย่างด้วยคลื่นอัลตราโซนิก

สกัดตัวอย่างกากเม่าด้วย 0.1% HCl (v/v) ในเมทานอล ที่อัตราส่วน 2:1 (w/v) และนำไปสกัดในเครื่องอัลตราโซนิก (Bio-equip, UC25-12TPA, China) ที่ความถี่ 35 kHz ระดับกำลังคลื่น ต่ำ ปานกลางและสูง ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการสกัด 2 ครั้ง (ตามข้อ 2.1) ตัวอย่างแห้งจะถูกเก็บในขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส จนกว่าจะวิเคราะห์

3. การวิเคราะห์

3.1 ผลได้ทั้งหมด (Yield)

ผลได้ทั้งหมด (mg/100g น้ำหนักสด) ของแอนโทไซยานินจากกากเม่า คำนวณโดยใช้สมการ %Yield (mg/100 g น้ำหนักสด)

$$= \frac{\text{Anthocyanins content} \times V}{M} \times 100$$

M

เมื่อ V(L) คือ สารสกัดของแอนโทไซยานินในรูปของเหลว

M(g) คือ น้ำหนักของกากเม่า

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

โดยวิธี pH differential (Kerio et al., 2012) โดยใช้ระบบ 2 บัฟเฟอร์ คือ 0.025 M potassium chloride (KCl) ที่ pH 1.0 และ 0.4 M sodium acetate ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$) ที่ pH 4.5 200 ไมโครลิตร ของตัวอย่างผสมกับ potassium chloride หรือ sodium acetate 1.8 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร และ 700 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังจากนั้นนำมาคำนวณความแตกต่างระหว่างค่าการดูดกลืนแสง

$A = (A_{520} - A_{700})$ ที่ pH 1.0 – $(A_{520} - A_{700})$ ที่ pH 4.5 ปริมาณ anthocyanin (mg/l) = $(A \times MW \times DF \times 1000) / (e \times 1)$

เมื่อ

A คือ ความแตกต่างของ Absorbance ที่ pH แตกต่างกัน

MW คือ น้ำหนักโมเลกุลของแอนโทไซยานิน (449.2)

DF คือ dilution factor

e คือ cyaniding-3-glucoside molar absorbance (26,900)

3.3 วิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compounds) โดยวิธี Folin-ciocalteu (Corrales et al., 2008)

สารละลายตัวอย่าง 125 ไมโครลิตร เติม Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 625 ไมโครลิตร (บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ก่อนใช้) ทิ้งไว้ 3 นาทีที่อุณหภูมิห้อง และเติม Na_2CO_3 (105.99 g/mol และบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ก่อนใช้) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 45 นาทีที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ข้อมูลแสดงในรูป mg gallic acid

equivalent (mgGAE)/g ของสารสกัด

3.4 วิเคราะห์คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH (Du et al., 2008)

สารละลายสกัด 0.1 มิลลิลิตร (0.8, 0.4, 0.2, 0.1 mg/ml) ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 2.9 ไมโครลิตร (65 uM ในเมทานอล) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ใช้กรดแอสคอบิกเป็นสารอ้างอิง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำไปคำนวณค่า scavenging effect ตามสมการ

$\text{DPPH scavenging effect (\%)} = 1 - (A_{517} \text{ sample} / A_{517} \text{ control}) \times 100$

4. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการศึกษาและวิจารณ์

เปอร์เซ็นต์ผลได้ (% yield) ของสารสกัดแอนโทไซยานินจากกากเม่า

จากการศึกษาผลของการใช้เครื่องอัลตราโซนิกที่ช่วยสกัดแอนโทไซยานินจากกากเม่าโดยเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์น้ำหนักของชุดควบคุม และกากเม่าที่ผ่านการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกที่ระดับกำลังคลื่นระดับต่ำ กลางและสูง แสดงผลดัง Table 1 โดยพบว่า ตัวอย่างกากเม่าของชุดควบคุม มีค่าเปอร์เซ็นต์ผลได้ ของแอนโทไซยานิน เท่ากับ 1.35 เปอร์เซ็นต์ และกากเม่าที่ผ่านการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลได้ ของสารสกัดจากกากเม่า เท่ากับ 2.64, 2.83 และ 2.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าเป็น 1 เท่าของชุดควบคุม ที่ไม่ผ่านการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิก ระดับของการใช้อัลตราโซนิกมีผลต่อปริมาณผลได้ของสารสกัดไม่แตกต่างกันมากนัก จากปริมาณเปอร์เซ็นต์ผลได้ แสดงให้เห็น

ว่าการใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่สามารถสกัดสารแอนโทไซยานินจากกากเม่าได้มากขึ้นเนื่องจากปรากฏการณ์ Cavitation โดยคลื่นอัลตราโซนิกนั้นจะประกอบด้วยช่วงอัดและช่วงขยาย ในช่วงขยายเมื่อคลื่นเคลื่อนที่ผ่านตัวทำละลายจะทำให้เกิดฟอง (Bubble) ของตัวทำละลายขนาดเล็กจำนวนมาก จากนั้นเมื่อฟองได้รับแรงจากคลื่นในช่วงอัดจะทำให้ฟองนั้นแตกออกและ

เกิด Microjet ที่มีความแรงมาก จนสามารถเจาะทำลายผนังเซลล์ได้ เมื่อผนังเซลล์แตกออกจะทำให้เพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้การทำให้ขนาดของตัวอย่างเล็กลงก่อนจะเพิ่มการสัมผัสกับตัวทำละลาย และ Cavitation ได้ง่ายขึ้นด้วย (Chen et al., 2007; Vilku et al., 2008)

Table 1 % yield (mg/100 g fresh wt) of anthocyanins from Mao marcs using ultrasonic.

Ultrasonic level	% yield
Control	1.35
Low level	2.64
Medium level	2.83
High level	2.82

ปริมาณแอนโทไซยานิน (Anthocyanins content)

จากการศึกษาผลของการใช้เครื่องอัลตราโซนิกช่วยสกัดแอนโทไซยานินจากกากเม่า เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก แสดงผลดัง Table 2 พบว่า การสกัดแอนโทไซยานินจากกากเม่าด้วยคลื่นอัลตราโซนิกส่งผลให้มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงขึ้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุม และพบว่า การสกัดด้วยที่กำลังคลื่นระดับสูง มีปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุด เท่ากับ 15.84 ± 1.04 และมีปริมาณแอนโทไซยานินมากกว่าชุดควบคุม 1.3 เท่า แสดงให้เห็นว่าการใช้คลื่นอัลตราโซนิกเป็นการเพิ่มแรงกล ซึ่งเป็นตัวช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดแอนโทไซยานินจากกากเม่าให้เพิ่มขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบ

ปริมาณสารแอนโทไซยานินของกากเม่าแต่ละระดับกำลังคลื่น พบว่าการสกัดกากเม่าด้วยเครื่องอัลตราโซนิก ที่ระดับกำลังคลื่นต่ำและสูง ให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าระดับกำลังคลื่นปานกลางเล็กน้อย อาจเกิดเนื่องจากระดับของคลื่นที่ใช้มีกำลังไม่แตกต่างกันมากนัก ขณะที่สภาวะในการสกัดใช้อุณหภูมิสูงและเวลาค่อนข้างนานอาจจะเป็นผลของระดับคลื่นต่อปริมาณแอนโทไซยานินไม่ชัดเจน โดยที่ Ubeda et al. (2013) ศึกษาประสิทธิภาพการสกัดแอนโทไซยานินปริมาณฟีนอลทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในผลสตรอเบอรี่โดยใช้เทคนิคอัลตราโซนิก พบว่าเวลาประสิทธิภาพของการสกัดขึ้นกับเวลาที่ใช้ โดยที่เวลาที่เหมาะสมที่สุดคือ 25 นาที

Table 2 Anthocyanins content, total phenolic content and %DPPH scavenging effect of anthocyanins from Mao marcs using ultrasonic.

Ultrasonic level	Anthocyanins (mg/l)	Total phenolic content (mg GAE/g Dw)	% DPPH scavenging effect
Control	11.96 ^a ± 0.22	312.33 ^b ± 29.09	81.02 ^a ± 2.83
Low level	14.92 ^b ± 0.69	286.67 ^{ab} ± 10.67	81.64 ^{ab} ± 1.05
Medium level	12.72 ^a ± 0.14	294.67 ^{ab} ± 17.95	85.03 ^b ± 1.63
High level	15.84 ^b ± 1.04	259.33 ^a ± 8.39	80.82 ^a ± 1.25

Mean values within a column superscripted by the same letter are not significantly different at $P < 0.05$.

สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดแอนโทไซยานินจากกากเม่าที่ผ่านการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกที่ระดับต่าง พบว่า ชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด (312.33 ± 29.09 mg GAE/g Dw) และชุดที่ผ่านการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกที่ระดับกำลังคลื่นสูง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุด (259.33 ± 8.39 mg GAE/g Dw) (Table 2) และจากการเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารแอนโทไซยานินจากกากเม่าแต่ละระดับกำลังคลื่น พบว่า แอนโทไซยานินที่ผ่านการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแต่ละระดับกำลังคลื่นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ซึ่งน้อยกว่าชุดควบคุม สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารทุติยภูมิ ซึ่งพบได้ในพืชทั่วไปแต่ปริมาณและตำแหน่งที่พบสารกลุ่มนี้มักแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช ซึ่งกากเม่าสกัดที่ได้ในงานวิจัยจัดได้ว่าเป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลิกด้วยเช่นกัน Puangpronpitag et al. (2008) พบว่ากากเม่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในช่วง 99-129 mg GAE/g Dw

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

จากวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี

DPPH ของสารแอนโทไซยานินจากกากเม่าที่ผ่านการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิก (Table 2) พบว่า แอนโทไซยานินจากกากเม่าที่ผ่านการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกที่ระดับกำลังคลื่นต่างๆ มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุม บ่งชี้ว่ากากเม่ามีศักยภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในอาหารเพื่อช่วยในการต้านการเกิดออกซิเดชันได้

สรุป

การใช้คลื่นอัลตราโซนิกช่วยในการสกัดกากเม่าช่วยให้เปอร์เซ็นต์ผลได้ของแอนโทไซยานินสูงกว่าการไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิก การสกัดแอนโทไซยานินจากกากเม่าโดยกำลังคลื่นอัลตราโซนิกระดับสูง ทำให้ได้ปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุดและมีปริมาณแอนโทไซยานินมากกว่าที่ไม่ได้ใช้คลื่นอัลตราโซนิก 1.3 เท่า ขณะที่การสกัดกากเม่าด้วยคลื่นอัลตราโซนิกที่ระดับกำลังคลื่นต่างๆ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะทรัพยากรธรรมชาติ และอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร สำหรับการ
สนับสนุนงบประมาณในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Du, Q., J. Zheng, and Y. Xu. 2008. Composition of anthocyanins in mulberry and their antioxidant activity. *J. Food Com. Anal.* 21:390-395.
- Corrales, M., S. Toepfl, P. Butz, D. Knorr, and B. Tauscher. 2008. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Inno. Food Sci. Emer. Tech.* 9:85-91.
- Chen, F., Y. Sun, G. Zhao, X. Liao, X. Hu, J. Wu, and Z. Wang. 2007. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Ultrason. Sonochem.* 14:767-778.
- Keio, I.C., F.N. Wachira, J.K. Wanyoke, and M.K. Rotich. 2012. Characterization of anthocyanins in Kenyan teas: extraction and identification. *Food Chem.* 131:31-38.
- Nuengchamnong, N., and K. Ingkaninan. 2010. On-line HPLC-MS-DPPH assay for the analysis of phenolic antioxidant compounds in fruit wine: *Antidesma thwaitesianum* Muell. *Food Chem.* 118(1):147-52.
- Puangpronpitag, D., P. Areejitranusorn, P. Boonsiri, M. Suttajit, and P. Yongvanit. 2008. Antioxidant activities of polyphenolic compounds isolated from *Antidesma thwaitesianum* Müll. Arg. seeds and marcs. *J. Food Sci.* 73:648-53.
- Puangpronpitag, D., P. Yongvanit, P. Boonsiri, M. Suttajit, P. Areejitranusorn, and H.K. Na. 2011. Molecular mechanism underlying anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of Mamao (*Antidesma thwaitesianum* Müll. Arg.) polyphenolics in human breast epithelial cells. *Food Chem.* 127:1450-8.
- Ubeda, C., R.M. Callejón, C. Hidalgo, M.J. Torija, A.M. Troncoso, and M.L. Morales. 2013. Employment of different processes for the production of strawberry vinegars: Effects on antioxidant activity, total phenols and monomeric anthocyanins. *LWT – Food Sci. Tech.* 52:139-145.
- Vilkhu, K., R. Mawson, L. Simons, and D. Bates. 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry - A review. *Innov. Food Sci. Emerg.* 9:161-169.