การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดจากเมล็ดลำไย โดยวิธีไมโครเวฟร่วม

Optimization of Total Phenolic from *Euphoria longana Lam*. Seed by Microwave Assisted Extraction

กาญจนา นาคประสม, หยาดฝน ทนงการกิจ, ภานาถ แสงเจริญรัตน์ และ นักรบ นาคประสม*

Kanjana Narkprasom, Yardfon Tanongkankit, Phanat Saenscharoenrat, Nukrob Narkprasom*

คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

Faculty of Engineering and Agro-Industry, Maejo University

Received : 4 September 2018

Revised : 11 October 2018

Accepted : 27 December 2018

บทคัดย่อ

ลำไย (*Euphoria longana Lam*) เป็นไม้ผลเศรษฐกิจในภาคเหนือของไทย ซึ่งเมล็ดลำไยเป็นของเหลือทิ้งจากโรงงานลำไยในน้ำเชื่อม เมล็ดลำไยนั้นอุดมไปด้วยสารฟีนอลิกที่มีสรรพคุณทางทางด้านการต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งป้องกันการก่อมะเร็ง และยับยั้งการกลายพันธ์ การออกแบบ Box-Behnken 15 การทดลองโดยวิธีพื้นผิวตอบสนองนำมาใช้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดจากเมล็ดลำไยโดยวิธีไมโครเวฟร่วม ปัจจัยสัดส่วนเอทานอล (40-60 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร) กำลังไมโครเวฟ (450-700 วัตต์) และเวลาในการสกัด (180-240 วินาที) การวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าสมการกำลังสองนั้นถูกเลือกเพื่อทำนายสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารฟีนอลิกจากเมล็ดลำไยโดยวิธีไมโครเวฟร่วม สภาวะที่สกัดสารสกัดฟีนอลิกสูงสุด (64.952±0.556 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง) คือที่ สัดส่วนเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร กำลังไมโครเวฟ 700 วัตต์ และเวลาในการสกัด 211 วินาที การศึกษาครั้งนี้เป็นการเพิ่มมูลค่าของเสียทางการเกษตรของลำไยเพื่อใช้เป็นส่วนผสมในการพัฒนาเครื่องสำอางและอาหารเพื่อสุขภาพ

คำสำคัญ : ลำไย, สารฟีนอลิก, การสกัดแบบไมโครเวฟร่วม, วิธีพื้นผิวตอบสนอง

*Corresponding author. E-mail : narkprasom@hotmail.com

Abstract

Longan (*Euphoria longana Lam*) is economic fruit of northern Thailand which the seed of it is a waste of industry of longan in syrup. The seeds of longan found the phenolic compound which it has pharmaceutical properties as antioxidant, anti-carcinogenic, anti-mutagenic. The 15 runs, Box-Behken Design by response surface method was used to determine the optimization of total phenolic from longan seeds by microwave-assisted extraction. Factors of ethanol proportion (40-60 %v/v), microwave power (450-700 W), and extraction time (180-240 second) were studied. The statistical analysis indicated that polynomial equation was selected to predict the optimization of total phenolic from longan seeds by microwave-assisted extraction. The highest yield of total phenolic from longan seeds (64.952±0.556 mgGAE/gDW) was found at 50 %v/v of ethanol proportion, 700 W of microwave power and 211 second of extraction time. This study contributes to increase the value of agricultural waste of longan to be used as ingredients for the development of cosmetics and functional foods.

Keywords : *Euphoria longana Lam*, phenolic, microwave assisted extraction, response surface method

บทนำ

ลำไยเป็นพืชเศรษฐกิจของจังหวัดเชียงใหม่ และลำพูนของไทย ซึ่งในทศวรรษที่ผ่านมาได้มีการนำองค์ความรู้และเทคนิคต่างๆเพื่อปรับปรุงพื้นที่ทางการเกษตร และการจัดการด้านพืชผลเพื่อทำให้ลำไยมีผลผลิต 2 ครั้งต่อปี (Manochai *et al*., 2010; Hegele *et al*., 2007) ส่งผลให้มีผลผลิตลำไยมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น การแปรรูปลำไยกระป๋อง และลำไยอบแห้งนั้น เป็นแนวทางหนึ่งเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาที่นิยมในอุตสาหกรรมลำไยแปรรูป แต่อย่างไรก็ตามในกระบวนการแปรรูปลำไยดังกล่าวนั้นมีเมล็ดลำไยที่เป็นของเสียจากกระบวนการผลิตเป็นจำนวนมาก โดยที่เมล็ดลำไยนั้นอุดมไปด้วยสารกลุ่มฟีนอลิก ประกอบด้วย กรดแกลลิก กรดเอลลาจิก และ คอริลาจิน (Sudjaroen *et al*.,2012) ซึ่งเป็นแหล่งธรรมชาติของสารต้านอนุมูลอิสระ (Zheng *et al*., 2009) โดยมีงานวิจัยสกัดสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิก จากเนื้อ เมล็ด และเปลือกของลำไยมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง (Yang *et al*., 2011) ดังนั้นจึงมีแนวคิดที่จะสกัดสารฟีนอลิกซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ เพื่อพัฒนาเป็นอาหารเสริมที่เป็นไปได้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา

การสกัดเป็นขั้นตอนที่แยกสารสำคัญทางชีวภาพออกจากพืชและผลไม้ โดยวิธีในการสกัดที่เหมาะสม ควรสกัดได้สารสำคัญจำนวนมาก ตัวทำละลายราคาถูกและประหยัดเวลาในการสกัด เทคนิคการสกัดด้วยไมโครเวฟ (microwave-assisted extraction, MAE) เป็นเทคนิคใช้ระยะเวลาการสกัด และตัวทำละลายน้อย ได้ปริมาณสารสกัดมากทำให้มีอัตราการสกัดสูง (Narkprasom *et al*., 2015) โดยหลักการทำงานของเครื่องสกัดเริ่มต้นจากเตาไมโครเวฟแผ่คลื่นย่านความถี่ 2.45 จิกะเฮิรตซ์เข้าไปในตัวทำละลาย โมเลกุลของน้ำในตัวทำละลายนั้นมีโมเลกุลประจุบวกและประจุลบจะถูกเหนี่ยวนำและหมุนขั้วเพื่อเรียงตัวตามสนามไฟฟ้าของคลื่น และคลื่นจะเปลี่ยนแปลงสลับไปมาจึงส่งผลให้โมเลกุลเหล่านี้หมุนไปมา ทำให้เกิด

ความร้อนขึ้นอย่างฉับพลัน (Terigar *et al*., 2010) ทำให้สามารถสกัดสารสำคัญภายในระยะเวลาอันสั้นแตกต่างจากกระบวนการสกัดแบบเดิมซึ่งการให้ความร้อนมีขีดจำกัดของเวลาที่ต้องถ่ายเทความร้อนผ่านภาชนะที่บรรจุก่อนจึงจะถ่ายเทความร้อนเข้าสู่สารละลาย จึงทำให้ต้องใช้เวลานานในการทำให้โมเลกุลของตัวทำละลายและตัวอย่างจะมีความร้อนเพียงพอในการสกัดสารสำคัญ แต่เทคนิคไมโครเวฟทำให้สารละลายเกิดความร้อนโดยตรงจากโมเลกุล ดังนั้นทุกโมเลกุลจะเกิดความร้อนขึ้นพร้อมกันจึงทำให้การสกัดด้วยไมโครเวฟมีประสิทธิภาพดีกว่าการสกัดแบบเดิม ซึ่งเทคนิคนี้ใช้ในการสกัดสารฟีโนลิกจากพืชและผลไม้ เช่น สกัดจากเมล็ดมะม่วง (Torres *et al*., 2017) ข้าว (Setyaningsih, *et al*., 2015) มะเขือเทศ (Li, *et al*., 2012) ใบพิสตาชีโอป่า (*Pistacia lentiscus*) (Dahmoune *et al*., 2014) เชอร์รี่ (*Prunus cerasus* var. Marasca) (Garofulic *et al*., 2013) ดอกบัวหลวง (Narkprasom *et al*., 2017) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานวิจัยการสกัดสารฟีนอลิกจากเมล็ดลำไยโดยวิธีสกัดแบบไมโครเวฟร่วม

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการสกัดสารฟีนอลิกจากเมล็ดลำไยด้วยวิธีไมโครเวฟร่วมโดยหาสภาวะที่เหมาะสมของปัจจัยอัตราส่วนเอทานอล กำลังไมโครเวฟ และเวลาในการสกัด โดยวิธีพื้นผิวตอบสนอง

วิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบและสารเคมี

นำเมล็ดลำไยสายพันธุ์อีดอไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 วัน แล้วไปบดเป็นผงละเอียดโดยผ่านตะแกรงร่อนขนาด 40 mesh และบรรจุในถุงอลูมิเนียมฟอยล์เก็บในโถอบไล่ความชื้น สารเคมีที่ใช้ทำงานวิจัยประกอบไปด้วย เอทานอล (ethanol, A.R. grade), โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate), Folin-Ciocalteu's phenol, กรดแกลลิก (gallic acid) ซึ่งสารเคมีทั้งหมดเป็นชนิดใช้วิเคราะห์ (analytical grade) จำหน่ายโดยบริษัทยูเนียนซาย (Union Science) เชียงใหม่

วิธีการสกัดสารด้วยคลื่นไมโครเวฟ

เครื่องสกัดแบบไมโครเวฟร่วมประกอบด้วยตู้อบไมโครเวฟ (Samsung, ME711K) และชุดสกัดซอกซ์เล็ท (soxhlet) นำมาปรับปรุงและต่อเข้าด้วยกัน ซึ่งชุดควบแน่นของซอกซ์เล็ทต่อเข้ากับระบบทำความเย็น (Thermo Electron Haake WKL) ใช้น้ำอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในการหล่อเย็น เพื่อควบแน่นตัวทำละลายและลดการระเหยออก ตรวจการรั่วของคลื่นไมโครเวฟ ด้วยเครื่องมือวัดการรั่วไหลแบบดิจิตอลชนิดพกพา (R.M.C.E. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์) นำผงเมล็ดลำไย 1 กรัม จากโถอบไล่ความชื้นมาผสมกับตัวทำละลายในอัตราส่วน 1:30 กรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ลงในขวดก้นกลม ศึกษาปัจจัยของความเข้มข้นเอทานอล กำลังไมโครเวฟ และระยะเวลาในการสกัดที่มีผลต่อการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดจากเมล็ดลำไย โดยอิทธิพลของความเข้มข้นเอทานอลที่ระดับ (30-90 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร) ณ กำลังไมโครเวฟ และระยะเวลาในการสกัดคงที่ (450 วัตต์ และ 210 วินาที) อิทธิพลของกำลังไมโครเวฟ (100-800 วัตต์) ณ ความเข้มข้นเอทานอล และระยะเวลาในการสกัดคงที่ (40 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร และ 210 วินาที) และศึกษาอิทธิพลระยะเวลาในการสกัด (120-300 วินาที)

ณ กำลังไฟฟ้าของไมโครเวฟ และระยะเวลาในการสกัดคงที่ (450 วัตต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร) ดัดแปลงจาก (Song, *et al*. 2011)

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

นำตัวอย่างที่ผ่านการสกัดโดยวิธีไมโครเวฟร่วมมาปั่นหมุนเหวี่ยงที่ 5000×g เป็นเวลา 5 นาที เพื่อแยกระหว่างกากผงเมล็ดลำไยและของเหลวใส แล้วนำสารฟีนอลิกในของเหลวใส 250 ไมโครลิตร ไปผสมด้วยน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร และสาร Folin-Ciocalteu's phenol 250 ไมโครลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที ผสมสารสกัดด้วยโซเดียมคาร์บอเนต 7 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณ 2.5 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 720 นาโนเมตร

วิธีพื้นผิวตอบสนองแบบ Box-Behnken Design

การหาสภาวะที่สกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดจากเมล็ดลำไยสูงสุด โดยศึกษาปัจจัยของสัดส่วนเอทานอล กำลังไมโครเวฟ และเวลาในการสกัด ค่าจริงของแต่ละปัจจัยแบ่งเป็นค่ารหัส 3 ระดับ ต่ำ (-1), กลาง (0), สูง (1) แต่เนื่องจากกำลังไมโครเวฟสามารถปรับค่าได้ 450 วัตต์ จึงกำหนดค่ารหัสต่ำสุดเป็น -1.5 ดังตารางที่ 1 ดังนั้นปัจจัยทั้ง 3 จึงดัดแปลงการวางแผนการทดลองแบบ Box-Behnken โดยแต่ละปัจจัยมี 3 ระดับ และทำการทดลองหาค่าสารฟีนอลิกทั้งหมดที่สภาวะต่างๆ จำนวน 15 การทดลอง (Torres, *et al*. 2017) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ปัจจัยและระดับในการวางแผนการทดลอง

ปัจจัย	ค่ารหัส			
	-1.5	-1	0	1
ความเข้มข้นของเอทานอล(X_1, เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร)	-	40	50	60
กำลังไมโครเวฟ (X_2, วัตต์)	450	-	600	700
เวลาในการสกัด (X_3, วินาที)	-	180	210	240

ค่าสารฟีนอลิกที่สภาวะต่างๆ ในการทดลองนำมาสร้างสมการพหุนามลำดับที่สอง เพื่อใช้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสามและการตอบสนอง(Y) สามารถคำนวณปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดตามสมการที่ 1

$$Y = \beta_0+\beta_1X_1+\beta_2X_2+\beta_3X_3+\beta_{12}X_1X_2+\beta_{23}X_2X_3+\beta_{13}X_1X_3+\beta_{11}X_1^2+\beta_{22}X_2^2+\beta_{33}X_3^2 \qquad (1)$$

โดยที่ Y คือค่าทำนายการตอบสนอง,β_0 เป็นค่าคงที่, X_1, X_2, X_3 เป็นตัวแปรอิสระ,β_1,β_2,β_3 เป็นค่าสัมประสิทธิ์เชิงเส้น, β_{12},β_{13},β_{23} เป็นค่าสัมประสิทธิ์ระหว่างตัวแปร, β_{11},β_{22},β_{33} เป็นค่าสัมประสิทธิ์กำลังสอง ซึ่งประสิทธิภาพของการทำนายผลผลิตสูงสุด

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การตรวจสอบความแม่นยำของสมการโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบความคลาดเคลื่อนระหว่างค่าจากการทดลองและค่าจากการทำนายจากค่า Significance F และความแม่นยำจากค่า R^2 Multiple R และ Adjusted R^2 วิเคราะห์โดยคำสั่ง Regression ใน Data Analysis ของโปรแกรม Microsoft Excel 2013 และกราฟ 3 มิติ สร้างโดยโปรแกรม STATISTICA 12

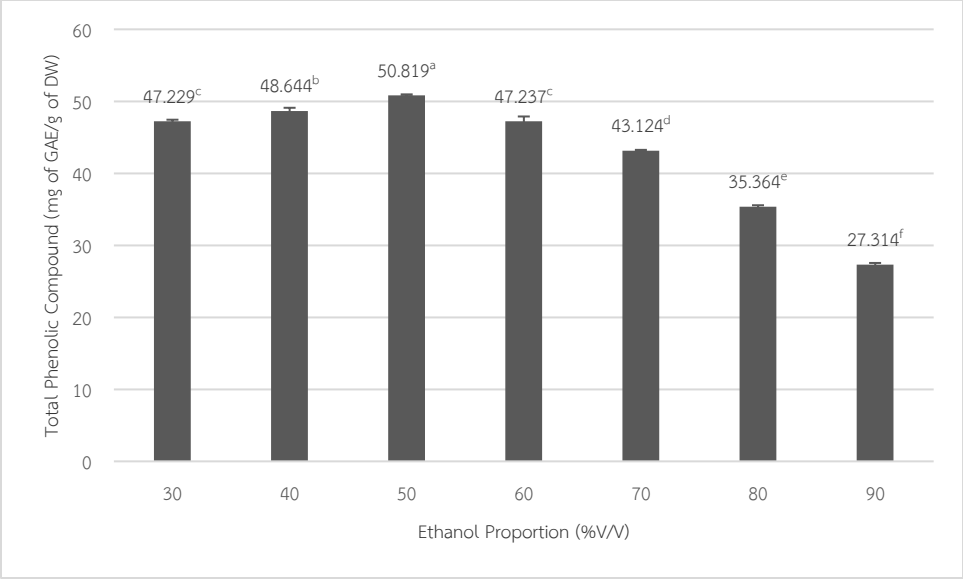
การหาสภาวะที่เหมาะสม

การหาสภาวะที่เหมาะสมคำนวณโดยวิธีกำหนดการเชิงเส้น (linear programing) โดยคำสั่ง Solver ของโปรแกรม Microsoft Excel 2013 นำสมการ 1 มาหาสภาวะที่เหมาะสม โดยมีวัตถุประสงค์ (objective function) เพื่อทำนายผลตอบสนองสูงสุด หรือสภาวะที่สกัดได้สารฟีนอลิกทั้งหมดจากเมล็ดลำไยสูงสุด(y) ซึ่งคำนวณจากค่ารหัสของตัวแปรปัจจัยต่างๆในการสกัด (x_1,x_2,x_3) ที่มีข้อกำหนด (subject to constrains) คือ $-1 \leq x_1, x_3 \leq 1$ และ $-1.5 \leq x_2 \leq 1$ โดยค่ารหัสมาจากค่าจริงของปัจจัยความเข้มข้นของเอทานอล (x_1) 40-60 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร ปัจจัยกำลังไมโครเวฟ (x_2) 450-700 วัตต์ และปัจจัยเวลาในการสกัด(x_3) 180-240 วินาที

ผลการวิจัย

อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของเอทานอลต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

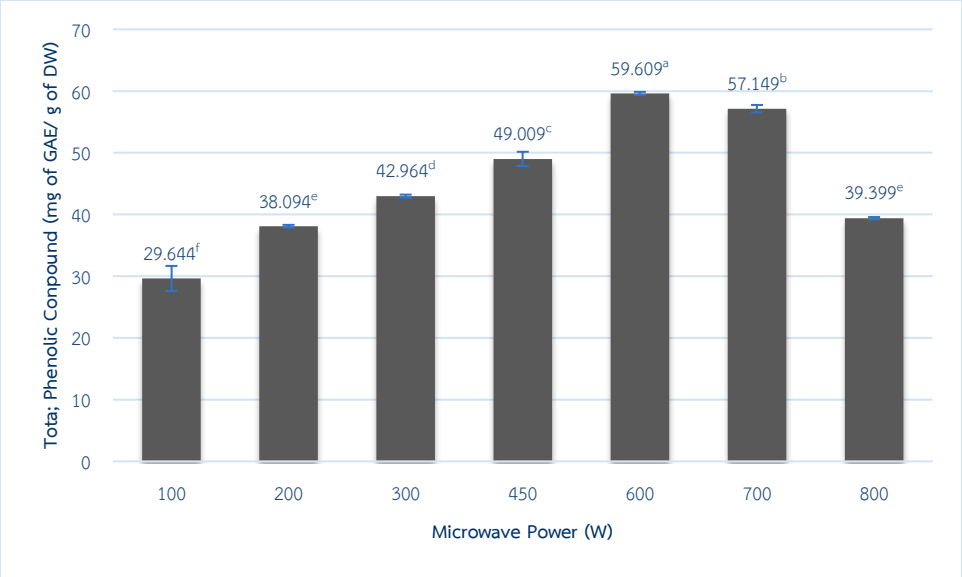
การศึกษาอิทธิพลระดับความเข้มข้นข้นของเอทานอลในช่วง 30-90 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร ที่กำลังไมโครเวฟและระยะเวลาในการสกัดคงที่ (450 วัตต์ และ 210 วินาที) พบว่า เมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้น 30-50 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร ให้ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น และเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้น 60-90 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดลดลง โดยระดับความเข้มข้นข้นของเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร ให้ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 อิทธิพลของความเข้มข้นของเอทานอลต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดโดยกำหนดกำลังไมโครเวฟ 450 วัตต์ และเวลา 210 วินาที

อิทธิพลของกำลังไฟฟ้าของเครื่องไมโครเวฟต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

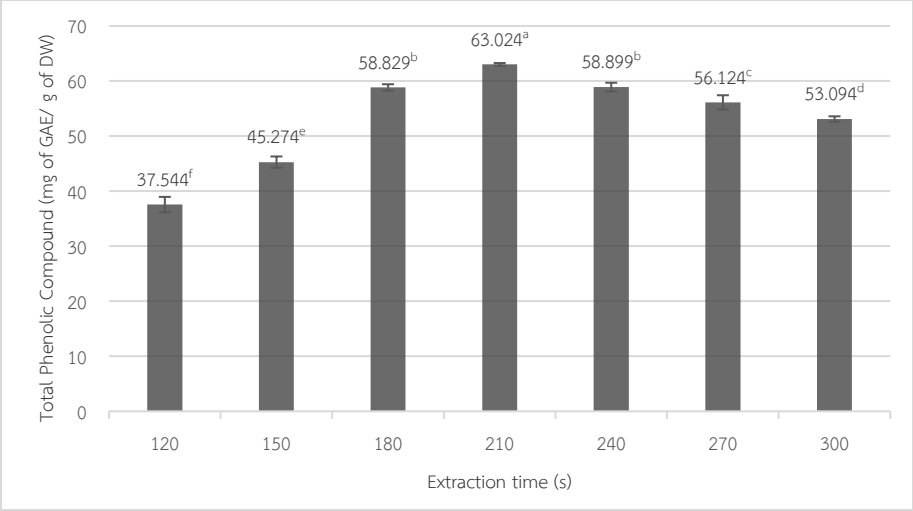
การศึกษาอิทธิพลของกำลังไฟฟ้าของเครื่องไมโครเวฟในการสกัดในช่วง 100 ถึง 800 วัตต์ ที่ความเข้มข้นของเอทานอล และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดคงที่ (40 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร และ 210 วินาที) พบว่า เมื่อการใช้กำลังไมโครเวฟเพิ่มขึ้นในช่วง 100-600 วัตต์ จะทำให้สกัดปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น และมีค่าสูงสุดที่กำลังไมโครเวฟ 600 วัตต์ แต่เมื่อให้กำลังไมโครเวฟเพิ่มขึ้น พบว่า ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดจะลดลง ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 อิทธิพลของกำลังไมโครเวฟต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดโดยกำหนดความเข้มข้นของเอทานอล 40 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรต่อปริมาตร และเวลา 210 วินาที

อิทธิพลของระยะเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

อิทธิพลของระยะเวลาในการสกัดสารฟีนอลิกถูกศึกษาโดยกำหนดระยะเวลาในช่วง 120 ถึง 300 วินาที ที่ความเข้มข้นของเอทานอล และกำลังไมโครเวฟคงที่ (40 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร และ 450 วัตต์) พบว่า เมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น (120-210 วินาที) จะได้ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น แต่เมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นมากกว่า 210 วินาที ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดจะลดลง ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 อิทธิพลของระยะเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดโดยกำหนดความเข้มข้นของเอทานอล 40 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร และกำลังไมโครเวฟ 450 วัตต์

การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดจากเมล็ดลำไยโดยใช้ไมโครเวฟ

จากผลการทดลองเบื้องต้นศึกษาอิทธิพลของ 3 ปัจจัย ต่อการสกัดสารฟีโนลิกจากเมล็ดลำไยทำให้ทราบช่วงสภาวะที่สำคัญ คือ ความเข้มข้นของเอทานอล (x_1) ที่ 40-60 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร กำลังไฟฟ้าของไมโครเวฟ (x_2) ที่ 450-700 วัตต์ และเวลา(x_3) ที่ 180-240 วินาที วิธีพื้นผิวตอบสนองแบบ Box Behnken Design นำมาประยุกต์ใช้ศึกษาผลกระทบจากปัจจัยทั้งสามที่มีผลต่อกัน ซึ่งสามารถออกแบบ 15 การทดลอง ประกอบด้วย ตำแหน่งกึ่งกลางขอบ 12 ตำแหน่ง และทำซ้ำจุดศูนย์กลาง 3 ซ้ำ (x_1 = 50 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร, x_2 = 600 W และ x_3 = 210 วินาที) ของกล่อง 3 มิติ (3 ปัจจัย) โดยเปลี่ยนปัจจัยในการสกัดทั้งสามจากค่าจริงเป็นค่ารหัสแสดงในตารางที่ 1 และผลของปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของแต่ละสภาวะการทดลองพร้อมทั้งค่าทำนายจากสมการ 2 แสดงในตารางที่ 2

$$Y_{\text{total phenolic}} = 64.264-0.513X_1+2.616X_2+0.263X_3+0.098X_1X_2-0.578X_2X_3+0.256X_1X_3-5.002X_1^2-1.473X_2^2-5.786X_3^2 \quad (2)$$

ตารางที่ 2 สภาวะการสกัดแบบไมโครเวฟร่วมจากการวางแผนการทดลองแบบ Box-Behnken design และค่าตอบสนองของสารฟีโนลิกทั้งหมด

การทดลอง	ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v)	กำลังไมโครเวฟ (วัตต์)	เวลาในการสกัด (วินาที)	สารฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง)	
	x_1	x_2	x_3	ค่าจากการทดลอง	ค่าจากการทำนาย
1	40(-1)	450(-1.5)	210(0)	53.544	52.68264
2	60(1)	450	210	50.889	51.36411
3	40	700(1)	210	61.629	60.81977
4	60	700	210	58.794	59.98948
5	40	600(0)	180(-1)	52.419	53.14915
6	60	600	180	54.219	53.27856
7	40	600	240(1)	53.889	54.82944
8	60	600	240	53.379	52.64885
9	50(0)	450	180	51.084	51.36124
10	50	700	180	59.169	59.10205
11	50	450	240	51.009	51.11801
12	50	700	240	60.459	60.1397
13	50	600	210	64.269	64.264
14	50	600	210	64.284	64.264
15	50	600	210	64.239	64.264

ในการตรวจสอบความแม่นยำของแบบจำลองพื้นผิวตอบสนองโดยนำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ค่าจากการทดลองและค่าจากการทำนายถูกนำมาเปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อน แสดงในตารางที่ 3 พบว่าค่า Significance F ต่ำกว่า 0.001 แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และค่า F (33.337) ของแบบจำลองมีค่ามากกว่า $F_{critical}$ ($F_{0.05,9,5}$=4.773 เนื่องจากที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ที่ degree of freedom ของ regression และ residual เท่ากับ 9 และ 5 ตามลำดับ) แสดงว่าความแตกต่างระหว่างค่าจากการทดลองและค่าจากการทำนายมีน้อยมาก มีความคลาดเคลื่อนน้อย โดยมีค่า R^2 = 0.9836, Multiple R= 0.9918 และ Adjusted R^2 =0.9541 ซึ่งค่าเหล่านี้ใกล้เคียงกับ 1 ดังนั้นสมการที่ใช้ทำนายมีความแม่นยำสูงสามารถใช้ทำนายหาสภาวะที่เหมาะสม

ค่าสัมประสิทธิ์ของสมการถดถอยพหุคูณ (multiple linear regression) ในแบบจำลองแสดงอิทธิพลของตัวแปรต้นต่อตัวแปรตาม โดยที่ค่าบวกของสัมประสิทธิ์ของแสดงถึงค่าตัวแปรตามเพิ่มขึ้นเมื่อค่าตัวแปรต้นนั้นเพิ่มขึ้น และค่าลบของสัมประสิทธิ์แสดงถึงตัวแปรตามเพิ่มขึ้นเมื่อค่าตัวแปรต้นนั้นลดลง ดังนั้นเมื่อต้องการสกัดแบบไมโครเวฟร่วมเพื่อให้ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดจากเมล็ดลำไยเพิ่มขึ้น ควรลดปริมาณความเข้มข้นของเอทานอลลงเล็กน้อย แต่เพิ่มกำลังไมโครเวฟสูงขึ้นและเวลาในการสกัดสูงขึ้นเล็กน้อย เมื่อวิเคราะห์ความสำคัญทางสถิติ โดยพิจารณาจากค่า t-Stat หรือ $t_{\alpha/2,n-2}$ ($t_{0.025,13}$=2.160 เนื่องจากที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ที่ 15 การทดลอง) และ P-value พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ x_2 x_1^2 x_2^2 และ x_3^2 มีค่าสัมบูรณ์ t-Stat มากกว่า 2.160 และ P-value ต่ำกว่า 0.05 แสดงว่า ระดับของปัจจัยที่กำหนดมีอิทธิพลสูงต่อกำลังไมโครเวฟในรูปแบบเชิงเส้นและมีอิทธิพลต่อความเข้มข้นของเอทานอล กำลังไมโครเวฟ และเวลาในการสกัดในรูปแบบกำลังสอง โดยค่าสัมประสิทธิ์เหล่านี้มีความสำคัญต่อการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดจากเมล็ดลำไย แต่อย่างไรก็ตามค่าสัมประสิทธิ์ระหว่างตัวแปร x_1x_2 ,x_1x_3 และ x_2x_3 มีค่าสัมบูรณ์ t-Stat น้อยกว่า 2.160 และ P-value มากกว่า 0.05 แสดงว่า แต่ละปัจจัยไม่มีอิทธิพลต่อกัน ซึ่งสามารถนำเฉพาะพจน์ที่มีความสำคัญเขียนอยู่ในรูปสมการ 3 และได้ค่าการทำนายสารฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างจากสมการ 2

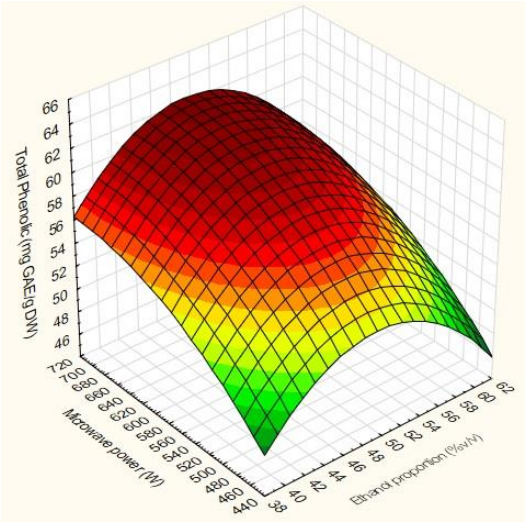
$$Y_{\text{total phenolic}} = 64.264+2.616X_2-5.002X_1^2-1.473X_2^2-5.786X_3^2 \quad (3)$$

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และค่าสัมประสิทธิ์ของสมการถดถอย (regression coefficient) จากการทดลอง

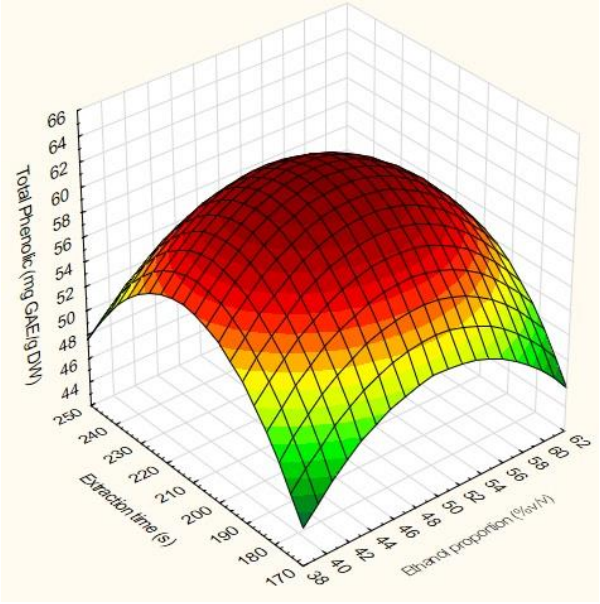
	df	SS	MS	F	Significance F
Regression	9	365.021	40.558	33.337	<0.001(6.15E-4)
Residual	5	6.083	1.217		
Total	14	371.104			

Term	Coefficients	Standard Error	t-Stat	P-value
Intercept	64.264	0.637	100.915	0.000
x_1	-0.513	0.394	-1.302	0.250
x_2	2.616	0.388	6.735	0.001
x_3	0.263	0.394	0.667	0.534
x_1x_2	0.098	0.437	0.224	0.832
x_1x_3	-0.578	0.551	-1.047	0.343
x_2x_3	0.256	0.437	0.586	0.583
x_1^2	-5.002	0.574	-8.714	0.000
x_2^2	-1.473	0.386	-3.815	0.012
x_3^2	-5.786	0.574	-10.079	0.000

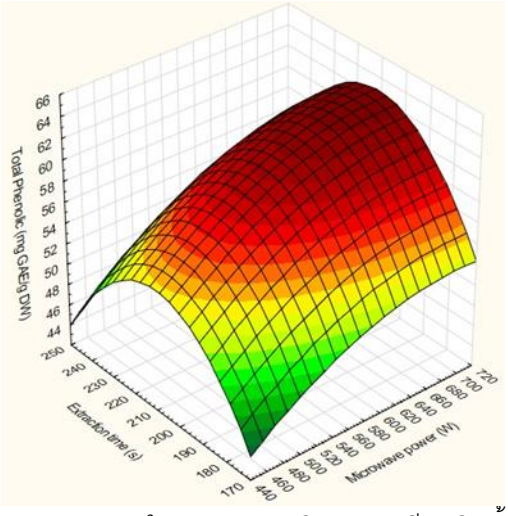
R^2 = 0.9836, Multiple R= 0.9918, Adjusted R^2 =0.9541



ภาพที่ 4 อิทธิพลของความเข้มข้นของเอทานอลและกำลังไฟฟ้าของไมโครเวฟต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดที่เวลาในการสกัด 210 วินาที



ภาพที่ 5 อิทธิพลของความเข้มข้นของเอทานอลและเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดที่กำลังไมโครเวฟ 450 วัตต์



ภาพที่ 6 อิทธิพลของกำลังไมโครเวฟและระยะเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ที่ความเข้มข้นของเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร

แผนภาพพื้นผิวตอบสนองสามมิติ ภาพที่ 4-6 แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงค่าของสองปัจจัย ณ ปัจจัยที่สามคงที่ที่จุดศูนย์หรือค่าจริงที่จุดกึ่งกลาง (50 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร หรือ 600 วัตต์ หรือ 210 วินาที) ในการสกัดแบบไมโครเวฟส่งผลกระทบต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

จากสมการที่ 3 และ ภาพที่ 4-6 สามารถวิเคราะห์ทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแบบไมโครเวฟ โดยที่สภาวะที่ทำให้เกิดสารฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด คำนวณจากวิธีกำหนดการเชิงเส้น โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของเอทานอลอยู่ระหว่าง 40-600 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร กำลังไมโครเวฟอยู่ระเหว่าง 450-700 วัตต์ และเวลาในการสกัดอยู่ระหว่าง 180-240 วินาที สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธีไมโครเวฟร่วม คือ ที่ความเข้มข้นของเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร กำลังไมโครเวฟ 700 วัตต์ และเวลาในการสกัด 211 วินาที ภายใต้สภาวะนี้ทำนายการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดได้ 65.4456 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง การยืนยันความถูกต้องทำการทดลองที่สภาวะดังกล่าวได้สารฟีนอลิกทั้งหมดได้ 64.952±0.556 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าจากการทำนาย

วิจารณ์ผลการวิจัย

ตัวทำละลายเอทานอลและน้ำถูกใช้ในการสกัดสารประกอบแบบมีขั้ว เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก โพลีแซกคาไรด์ และน้ำตาล โดยปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับขั้วของสารสำคัญเหล่านั้น ซึ่งความเข้มข้นที่ระดับต่างๆทำให้ ขั้วของตัวทำละลาย ความสามารถในการละลายสารสกัด และความสามารถในการถ่ายเทมวลสารแตกต่างกัน (Prasad *et al*., 2009) ทั้งนี้เนื่องความเข้มข้นของเอทานอลมากจะส่งผลต่อการระเหยของเอทานอลมากขึ้นทำให้สกัด สารฟีนอลิกน้อยลง อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยอื่นรายงานว่ากรดฟีนอลิกละลายในอะซิโตนกับเมทานอลได้ดีกว่าเอทานอล เพราะอะซิโตนกับเมทานอลสามารถแพร่กระจายเข้าไปในรูพรุนของวัสดุจากพืชเพื่อชะล้างสารฟีนอลิกจากองค์ประกอบของวัตถุดิบ (Nouri *et al*., 2014) แต่อย่างไรก็ตามเอทานอลมีความเป็นพิษน้อยกว่าและง่ายต่อการนำกลับไปใช้ใหม่ การทดลองนี้จึงเลือกใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

กำลังไมโครเวฟมีผลกระทบต่อการสกัดสารสารฟีนอลิกทั้งหมด โดยการแผ่คลื่นไมโครเวฟ เข้าสู่ตัวทำละลายแบบมีขั้ว ตัวทำละลายที่มีโมเลกุลประจุบวกและประจุลบจะหมุนขั้วเพื่อจัดเรียงตัวตามสนามไฟฟ้าของคลื่นทำให้เกิดความร้อนอย่างรวดเร็วเพื่อใช้สกัดวัตถุดิบมีขั้วหรือสารกลุ่มฟีนอล ซึ่งสารฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นหลังจากได้รับความร้อนหรือการแผ่รังสีเข้าสู่วัตถุดิบเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับการศึกษาการสกัดสารฟีนอลิกจากพืช (Hayat *et al*., 2010) ทั้งนี้กำลังไมโครเวฟกับเวลาในการสกัดเป็นปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กัน เนื่องจากในการทดลองนี้ควบคุมเวลาในการสกัดที่ 210 วินาที ซึ่งเป็นระยะเวลาที่สั้น จึงทำให้ใช้กำลังไมโครเวฟสูงเพื่อใช้สกัดสารฟีนอลิก โดยเมื่อใช้กำลังไมโครเวฟและเวลาที่มากขึ้นอาจส่งผลให้สารสกัดลดลง เนื่องจากการทำลายด้วยความร้อนส่งผลต่อการเสื่อมสภาพของผลผลิตและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Routray & Orsat, 2014)

แม้ว่าผลผลิตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลา แต่เวลาที่เพิ่มมากขึ้นทำให้เกิดความเสี่ยงในการทำลายสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Alara *et al*., 2018) ดังนั้นจึงต้องคำนึงถึงปัจจัยทางด้านเวลาต่อการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดจากเมล็ดลำไย โดยในการทดลองนี้เมื่อเวลามากขึ้นอาจทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของสารฟีนอลิกเนื่องจากเวลาร่วมกับความร้อนในการสกัด

สอดคล้องกับงานวิจัยอื่นในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช (Narkprasom *et al*., 2015; Dahmoune *et al*., 2014; Garofulic *et al*., 2013; Song *et al*., 2011; Li *et al*., 2012)

เมื่อเปรียบเทียบปัจจัยการสกัดแบบไมโครเวฟร่วมของสัดส่วนเอทานอล กำลังไมโครเวฟ และเวลาในการสกัด ร่วมกัน โดยวิธีพื้นผิวตอบสนองพบว่า กำลังไมโครเวฟมีอิทธิพลที่มีประโยชน์ในการสร้างความเสียหายต่อโครงสร้างเซลล์ของพืช เพื่อให้สารสำคัญแพร่กระจายเข้าสู่ตัวทำละลายทำให้ได้ปริมาณของสารสำคัญเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามกำลังไมโครเวฟ ที่มากเกินไปอาจทำให้เกิดการเสื่อมสลายด้วยความร้อน นอกจากนี้การเพิ่มกำลังไมโครเวฟช่วยในการเพิ่มความเร็วในการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายแต่ถ้ามากเกินไปอาจทำให้เกิดการระเหยของตัวทำละลาย (Garofulic *et al*., 2013) เวลาที่ใช้ในการสกัดด้วยไมโครเวฟเป็นเวลานานสามารถเพิ่มปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (Hu *et al*., 2018) เช่นเดียวกับ ความเข้มข้นของเอทานอลมีอิทธิพลต่อคุณสมบัติความเป็นขั้วไดอิเล็กตริกของตัวทำละลาย (Izadifar & Baik, 2008) อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ช่วงของเวลาในการสกัด 180-240 วินาที และความเข้มข้นของเอทานอล 40-60 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร ไม่ส่งผลชัดเจนต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในค่าสัมประสิทธิ์เชิงเส้น แต่มีอิทธิพลในค่าสัมประสิทธิ์กำลังสอง แสดงให้เห็นว่าช่วงของเวลา และความเข้มข้นของเอทานอล ที่กำหนดนั้นมีค่าที่เหมาะสม คือ 211 วินาที และ 50 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร ตามลำดับ เพียงพอสำหรับสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดได้สูงสุด (Alara *et al.,2018)*

สรุปผลการวิจัย

เมล็ดลำไยเป็นของเหลือทิ้งทางการเกษตรที่อุดมไปด้วยสารประกอบฟีโนลิกทั้งหมดถูกนำมาสกัดแบบไมโครเวฟร่วมและหาสภาวะที่เหมาะสมโดยวิธีวิเคราะห์ด้วยพื้นผิวตอบสนอง โดยศึกษาปัจจัยสัดส่วนเอทานอล (40-60 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร) กำลังไมโครเวฟ (450-700 วัตต์) และเวลาในการสกัด (180-240 วินาที) พบว่าสภาวะการสกัดแบบไมโครเวฟร่วมโดยใช้สัดส่วนเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร กำลังไมโครเวฟ 700 วัตต์ และเวลาในการสกัด 211 วินาที สกัดสารสกัดฟีนอลิกจากเมล็ดลำไยสูงสุด 64.952$\pm$0.556 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่สนับสนุนทุนในงานวิจัยนี้ และขอขอบคุณ คุณสุพิชญ์ชญา กลันทะกะสุวรรณ และคุณพัชรินทร์ จินทะวงค์ ที่ช่วยบันทึกผลข้อมูลการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., Ukaegbu, C. I., & Azhari, N. H. (2018). Vernonia cinerea leaves as the source of phenolic compounds, antioxidants, and anti-diabetic activity using microwave-assisted extraction technique. *Industrial Crops & Products, 122*, 533-544.

Dahmoune, F., Spigno, G., Moussi, K., Remini , H., Cherbal, A., & Madani , K. (2014). Pistacia lentiscus leaves as a source of phenolic compounds:Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction. *Industrial Crops and Products, 61*, 31-40.

Garofulic, I. E., Uzelac, V. D., Jambrak, A. R., & Jukic, M. (2013). The effect of microwave assisted extraction on the isolation of anthocyanins and phenolic acids from sour cherry Marasca (Prunus cerasus var. Marasca). *Journal of Food Engineering, 117*, 437-442.

Hayat, K., Zhang, X., Farooq, U., Abbas, S., Xia, S., Jia, C., Zhong, F., & Zhang, J. (2010). Effect of microwave treatment on phenolic content and antioxidant activity of citrus mandarin pomace. *Food Chemistry, 123*, 423-429.

Hegele, M., Bangerth, F., Naphrom, D., Manochai, P., Sruamsiri, P., Wiriya-Alongkorn, W., Chattraku, A., Roygrong, S. (2007). The Plant-Physiological Basis of Flower Induction in the Control of Fruit Production. *Sustainable Land Use in Mountainous Regions of Southeast Asia* , 110-119.

Hu, B., Zhou, K., Liu, Y., Liu, A., Zhang, Q., Han, G., Liu, S., Yang, Y., Zhu, Y., & Zhu, D. (2018). Optimization of microwave-assisted extraction of oil from tiger nut (Cyperus esculentus L.) and its quality evaluation. *Industrial Crops & Products, 115*, 290-297.

Izadifar, M., & Baik, O. D. (2008). Dielectric properties of a packed bed of the rhizome of P. Peltatum with an ethanol/water solution for radio frequency-assisted extraction of podophyllotoxin. *Biosystems Engineering, 100*(3), 376-388.

Li, H., Deng, Z., Wu, T., Liu, R., Loewen, S., & Tsao, R. (2012). Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes. *Food Chemistry, 130*(4), 928-936.

Manochai, P., Jaroenkit, T., Ussahatanonta, S., Ongprasert, S., & Kativat, B. (2010). Seasonal effect of potassium chlorate on flowering and yield of longan (Dimocarpus longan lour.). *Acta Horticulturae*, 363-366.

Narkprasom, K., Varith, J., Upara, U., Thanongkankit, Y., & Narkprasom, N. (2017). Optimized Extraction of Total Phenolic Compounds from Nelumbo nucifera Gaertn Using Microwave Assisted Extraction (MAE). *KKU Science Journal, 45*, 328-342.(in Thai)

Narkprasom, N., Narkprasom, K., & Upara, U. (2015). Optimization of Total Phenolic from Cleistocalyx nervosum by Microwave-Assisted Extraction. *American Journal of Engineering and Applied Sciences, 8*(3), 302-309.

Nouri, L., Nafchi, A. M., & Karim, A. A. (2014). Phytochemical, antioxidant,antibacterial,and alpha-amylase inhibitory properties of different extracts from betel leaves. *Industrial Crops and Products, 62*, 47-52.

Prasad, K. N., Yang, E., Yi, C., Zhao, M., & Jiang, Y. (2009). Effects of high pressure extraction on the extraction yield, total phenolic content and antioxidant activity of longan fruit pericarp. *Innovative Food Science and Emerging Technologies, 10*, 155-159.

Routray, W., & Orsat, V. (2014). MAE of phenolic compounds from blueberry leaves and comparison with other extraction methods. *Industrial Crops and Products, 58*, 36-45.

Setyaningsih, W., Saputro, I. E., Palma, M., & Barroso, C. G. (2015). Optimisation and validation of the microwave-assisted extraction of phenolic compounds from rice grains. *Food Chemistry, 169*, 141-149.

Song, J., Li, D., Liu, C., & Zhang, Y. (2011). Optimized microwave-assisted extraction of total phenolics (TP) from Ipomoea batatas leaves and its antioxidant activity. *Innovative Food Science and Emerging Technologies, 12*, 282-287.

Sudjaroen, Y., Hull, W. E., Erben, G., Würtele, G., Changbumrung, S., Ulrich, C. M., & Owen, R. W. (2012). Isolation and characterization of ellagitannins as the major polyphenolic components of Longan (Dimocarpus longan Lour) seeds. Phytochemistry, *77*, 226-237.

Terigar, B. G., Balasubramanian, S., & Boldor, D. (2010). An analysis of the microwave dielectric properties of solvent-oil feedstock mixtures at 300–3000 MHz. *Bioresource Technology, 101*, 6510-6516.

Torres, C. L., Rojas, R., Serna, L. C., Belmares, R. C., & Aguilar, C. N. (2017). Extraction of antioxidants from mango seed kernel: Optimization assisted by microwave. *Food and Bioproducts Processing, 105*, 188-196.

Yang, B., Jiang, Y., Shi, J., Chen, F., & Ashraf, M. (2011). Extraction and pharmacological properties of bioactive compounds from longan (Dimocarpus longan Lour.) fruit - A review. *Food Research International, 44*, 1837-1842.

Zheng, G., Xu, L., Wu, P., Xie, H., Jiang, Y., Chen, F., & Wei, X. (2009). Polyphenols from longan seeds and their radical-scavenging activity. *Food Chemistry, 116*, 433-436.