วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 27 (ฉบับที่ 3) กันยายน – ธันวาคม พ.ศ. 2565
BURAPHA SCIENCE JOURNAL Volume 27 (No.3) September – December 2022 บทความวิจัย

การหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยเทคนิคไมโครเวฟร่วมของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเฉาก๊วย

Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Total Phenolic Compounds from *Mesona Chinensis* Bentham

อาทิตย์ ดุเจโต๊ะ, ชนวัฒน์ นิทัศน์วิจิตร, กาญจนา นาคประสม, หยาดฝน ทนงการกิจ และ นักรบ นาคประสม*

Artit Dujeto, Chanawat Nitatwichit , Kanjana Narkprasom , Yardfon Tanongkankit and Nukrob Narkprasom*

สาขาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Agro-Industry, Maejo University

Received : 7 February 2022

Revised : 10 March 2022

Accepted : 7 April 2022

บทคัดย่อ

เฉาก๊วยนั้นเป็นอาหารที่นิยมกันอย่างแพร่หลายในประเทศจีนและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ซึ่งเป็นที่รู้จักกันดีในฐานะที่เป็นทั้งอาหารหวานและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกโดยเทคนิคการสกัดแบบไมโครเวฟร่วม อิทธิพลของปัจจัยที่ศึกษาประกอบด้วยอัตราส่วนของตัวทำละลาย(น้ำกลั่น)ต่อวัตถุดิบ เวลาในการสกัด และกำลังไมโครเวฟ การออกแบบแฟกทอเรียล 2 ระดับ การออกแบบทางไต่ระดับสูงสุด และการออกแบบพื้นผิวการตอบสนองนำไปใช้และวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อกำหนดสภาวะที่เหมาะสม การศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด (69.70 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง)ที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ 435 มิลลิลิตรต่อกรัม เวลาในการสกัด 50 นาทีและกำลังไมโครเวฟ 450 วัตต์ งานวิจัยนี้สามารถนำไปผลิตสารสกัดจากเฉาก๊วยที่มีคุณภาพซึ่งมีคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพซึ่งสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาจากสารสกัดจากผลผลิตทางการเกษตร

คำสำคัญ : การสกัดโดยใช้เทคนิคไมโครเวฟร่วม ; เฉาก๊วย ; วิธีพื้นผิวตอบสนอง ; การหาสภาวะที่เหมาะสม

Abstract

Mesona chinensis Bentham is a popular food in China and Southeast Asia, known as a sweet treat and a healthy drink. The objective of this research was to determine the optimum conditions for extraction of phenolic compounds by microwave assisted extraction technique. The influence of the factors studied included ratio of solvent (distilled water) to raw material, extraction time and microwave power. The factorial 2 levels design, steepest ascent design and response surface design were applied and statistically analyzed to determine optimal conditions. The study found that optimum extraction conditions for total phenolic compounds were highest (69.70 µgGAE/g of dry weight) at ratio of solvent to raw material 435 ml/g, 50 min of extraction time and 450 watts of microwave power. This research can be applied to make quality grass jelly extract that has beneficial properties for health which can be applied in the food and pharmaceutical industries from agricultural product extracts.

Keywords : microwave assisted extraction ; *Mesona chinensis Bentham* ; response surface method ; optimization

***Corresponding author. E-mail :** nukrob@mju.ac.th

บทนำ

เฉาก๊วย (*Mesona chinensis*) เป็นพืชชนิดหนึ่งในตระกูลเดียวกับมิ้นต์ (พืชจำพวกสะระแหน่) พบได้มากในประเทศจีน ซึ่งในสารสกัดเฉาก๊วยจะมีประกอบไปด้วย Polyphenols และ flavonoids เช่น สารแคมพ์เฟอรอล (kaempferol) และกรดคาเฟอิก (caffeic acid) เฉาก๊วยมีสรรพคุณทางยาซึ่งรับรองโดยกองวิจัยสมุนไพรแห่งชาติของกรุงปักกิ่งว่าสามารถใช้แก้ร้อนใน กระหายน้ำ ไข้หวัด ความดันโลหิตสูง กล้ามเนื้อข้อพับอักเสบ ซึ่งเป็นที่ยอมรับในวงการแพทย์จีนทั่วไป (Tungpradit, 2003) ใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน โดยพบว่าในต้นเฉาก๊วยมี กรดยูโซลิก (ursolic acid) ซึ่งเป็นสารที่สามารถช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด (hypoglycemic principle) (Sheu *et al,* 1984) สารสกัดน้ำจากเฉาก๊วยสามารถป้องกันไม่ให้ถูกทำลายด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต-ซี และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยสามารถป้องกันรังสีอัลตราไวโอเลต-ซี ได้มากกว่าไฮโดนเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งความสามารถนี้เกิดเนื่องมาจากในสารสกัดน้ำเฉาก๊วยมีสารประกอบฟีนอลิกและสารอื่น ๆ นอกจากนี้ป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด โรคมะเร็ง และป้องกันโรคร้ายแรงในอนาคต (G.C. Yen, 2000) ในประเทศจีนจะใช้เป็นสมุนไพรในการรักษาโรคตับ โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน และอาการปวดข้อ และยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในการป้องกันโรคหลอดเลือด (Gow-Chin Yen & Chien-Ya Hung, 2000) สารประกอบฟีนอลิกจากต้นเฉาก๊วย สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันและกรดฟีนอลิกที่สำคัญที่สุดในต้นเฉาก๊วยคือ caffeic acid เพราะมีความสามารถในการป้องกันการเกิดออกซิเดชันได้สูงที่สุด ทั้งนี้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกสามารถทำได้หลายแบบได้แก่ การสกัดแบบให้ความร้อน การสกัดแบบ Soxhlet การสกัดแบบ Ultrasound และการสกัดแบบไมโครเวฟร่วม ซึ่งยังไม่มีรายงานวิจัยการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเฉาก๊วยโดยวิธีไมโครเวฟร่วม

การใช้เทคนิคไมโครเวฟช่วยในการสกัด (Microwave-Assisted Extraction : MAE) โดยใช้ความร้อนจากคลื่นไมโครเวฟทำให้โมเลกุลน้ำในเซลล์พืชสั่นสะเทือน ทำให้เซลล์แตกออกจากการได้รับความร้อนยิ่งยวด และปล่อยสารสำคัญที่อยู่ภายในออกมา (Suedee, 2017) โดยเทคนิคการสกัดแบบไมโครเวฟร่วมเป็นทางเลือกหนึ่งที่ได้รับความสนใจในการสกัดสารสำคัญ เนื่องจากใช้ระยะเวลาในกระบวนการสั้น ตัวทำละลายน้อย ผลผลิตสูงและมีคุณภาพกว่า และต้นทุนต่ำกว่าแบบใช้ความร้อนในการสกัด (Hosseini *et al*, 2016)

เทคนิคการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมจำเป็นต้องศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่างๆ ทำให้ต้องมีการศึกษาเทคนิคทางสถิติ แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ และการออกแบบการทดลอง เพื่อช่วยในการวิเคราะห์ถึงปัจจัยสำคัญและลดจำนวนในการทดลอง ซึ่งแบบจำลองทางคณิตศาสตร์นั้นเป็นสถิติขั้นสูงที่ใช้ในการหาสภาวะของกระบวนการ เพื่อให้ได้ผลตอบสนองเป็นไปตามที่ต้องการ โดยงานวิจัยนี้เลือกแบบการออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล 2 ระดับนำมาการวิเคราะห์คัดเลือกปัจจัยและวิธีพื้นผิวตอบสนองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken Design) นำมาการวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสม ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความยืดหยุ่นตัวในการแก้ปัญหาได้สูง มีความสะดวกในการใช้งานกับการทำนายสภาวะที่มีปัจจัยหรือตัวแปรที่มีจำนวนมากได้ดี และมีประสิทธิภาพสูงในการทำนายความสัมพันธ์ของตัวแปรต้นและตัวแปรตาม จำนวน 17 การทดลอง จากการศึกษาการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน มีจำนวนการทดลองที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับวิธี Central Composite Design(CCD) (Tangjitsitcharoen & Jamchue, 2011) จึงทำให้มีต้นทุนในการทดลองที่ลดลง ผลจากการทดลองพบว่า

สมการพหุนามกำลังสองที่ใช้ในการทำนายหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธีไมโครเวฟร่วม สามารถนำมาทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้อย่างแม่นยำ

ดังนั้นจุดประสงค์ของงานวิจัยนี้คือการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากผงเฉาก๊วยโดยเทคนิคไมโครเวฟร่วม ซึ่งเป็นกระบวนการที่คุ้มค่าต่อการลงทุนสามารถนำไปต่อยอดเพื่อขยายประสิทธิภาพการสกัด การผลิตน้ำเฉาก๊วยพร้อมดื่มและเฉาก๊วยสำเร็จรูปชนิดก้อนให้ได้คุณภาพดีต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมวัตถุดิบ

นำหญ้าเฉาก๊วยจากมหาวิทยาลัยแม่โจ้ โดยนำหญ้าเฉาก๊วยมาล้างทำความสะอาด นำไปอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนมีความชื้นต่ำกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำเฉาก๊วยแห้งมาปั่นและกรองผ่านตะแกรงร่อน ขนาด 30 mesh นำผงเฉาก๊วยเก็บบรรจุในภาชนะปิดสนิท

เครื่องสกัดแบบไมโครเวฟร่วม

เครื่องสกัดแบบไมโครเวฟร่วมประกอบด้วย ตู้อบไมโครเวฟในครัวเรือน (Sumsung, MS23F300EEK) และชุดสกัดซอกซ์เล็ท (soxhlet) นำมาปรับปรุงและต่อเข้าด้วยกัน โดยชุดควบแน่นของซอกซ์เล็ทต่อเข้ากับระบบน้ำหล่อเย็นของคอนเดนเซอร์ใช้เครื่อง cooling bath model WBCI-15 โดยปรับน้ำหล่อเย็นควบคุมอุณหภูมิที่ 10 องศาเซลเซียส ในการหล่อเย็น เพื่อควบแน่นตัวทำละลายและลดการระเหยออก ตรวจการรั่วของคลื่นไมโครเวฟ ด้วยเครื่องมือวัดการรั่วไหลแบบดิจิตอลชนิดพกพา (R.M.C.E. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์) (Narkprasom, 2019) เครื่องสกัดแบบไมโครเวฟใช้กำลังไฟ 100-800 วัตต์ โดยใช้ขวดก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นภาชนะในการสกัด

ภาพที่ 1 ส่วนประกอบเครื่องสกัดแบบไมโครเวฟร่วม

การสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ผงเฉาก๊วย 1 กรัม ใส่ในขวดสกัดก้นกลม ขนาด 500 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำที่อัตราส่วนตัวทำละลายต่อวัตถุดิบต่างๆ (200 – 500 มิลลิลิตรต่อกรัม) นำไปสกัดแบบไมโครเวฟร่วมให้ความร้อนที่กำลังไมโครเวฟ (300 - 600 วัตต์) เป็นเวลาที่ใช้ในการสกัด (20 - 50 นาที) หลังจากให้ความร้อนโดยไมโครเวฟ นำตัวอย่างพักไว้ให้เย็นแล้วมาแยกของเหลวกับของแข็งด้วยกรองสุญญากาศโดยใช้กระดาษกรอง (Whatman no 1) ของเหลวใสถูกรวบรวมเก็บ เพื่อนำไปวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 720 นาโนเมตร (Narkprasom, 2019)

การคัดเลือกปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเฉาก๊วย

คัดเลือกปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเฉาก๊วย โดยศึกษาปัจจัยของอัตราส่วนของวัตถุดิบต่อน้ำ เวลาที่ใช้ในการสกัดและกำลังไมโครเวฟ โดยอิทธิพลของอัตราส่วนตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ(150 – 500 มิลลิลิตรต่อกรัม) ณ เวลาที่ใช้ในการสกัดและกำลังไมโครเวฟคงที่ (35 นาที และ 450 วัตต์) อิทธิพลของเวลาที่ใช้ในการสกัด (20 - 50 นาที) ณ อัตราส่วนตัวทำละลายต่อวัตถุดิบและกำลังไมโครเวฟคงที่ (350 มิลลิลิตรต่อกรัมและ 450 วัตต์) และศึกษาอิทธิพลของกำลังไมโครเวฟ (100 - 800 วัตต์) ณ อัตราส่วนตัวทำละลายต่อวัตถุดิบและเวลาที่ใช้ในการสกัดคงที่ (350 มิลลิลิตรต่อกรัมและ 35 นาที) วางแผนการทดลองเชิงเศษส่วนของแฟคทอเรียล 23-1 (Fractional Factorial Experiments) โดยศึกษาระดับของปัจจัยที่ระดับต่ำและระดับสูง ระดับของปัจจัยที่ใช้ในการทดลองแสดงใน ตารางที่ 1 และทำการวิเคราะห์หาแนวโน้มความสัมพันธ์ของข้อมูลแบบการวิเคราะห์การถดถอย (Regression) เพื่อหาปัจจัยที่มีความสำคัญในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเฉาก๊วย

การวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสม

การหาสภาวะที่เหมาะสมคำนวณโดยวิธีกำหนดการเชิงเส้น (linear programing) โดยคำสั่ง Solver ของโปรแกรม Microsoft Excel นำสมการ 1 มาหาสภาวะที่เหมาะสม โดยมีวัตถุประสงค์ เพื่อทำนายผลตอบสนองสูงสุด หรือสภาวะที่สกัดได้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเฉาก๊วยสูงสุด (Y) ซึ่งคำนวณจากค่ารหัสของตัวแปรปัจจัยต่างๆในการสกัด (x_1,x_2,x_3) ที่มีข้อกำหนด คือ $-1 \leq x_1, x_2, x_3 \leq 1$ โดยค่ารหัสมาจากค่าจริงของปัจจัยอัตราส่วนตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ (X_1) 200 – 500 มิลลิลิตรต่อกรัม ปัจจัยเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_2) 20 - 50 นาที และปัจจัยกำลังไมโครเวฟ (X_3) 300 - 600 วัตต์ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเฉาก๊วย ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซึ่งการทำนายค่าสูงสุด ในการทดลองนี้จะเลือกพื้นผิวตอบสนองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน เนื่องจากเป็นการทดลองที่มีประสิทธิภาพและนิยมใช้ในกรณีศึกษาปัจจัยที่ 3 ระดับ ทำการทดลองหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สภาวะต่างๆ ที่ปัจจัย 3 ระดับ จำนวน 17 การทดลอง ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การออกแบบการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเฉาก๊วย

ปัจจัย	ระดับ		
	-1	0	1
อัตราส่วนตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ (X1) (มิลลิลิตรต่อกรัม)	200	350	500
เวลาที่ใช้ในการสกัด (X_2) (นาที)	20	35	50
กำลังไมโครเวฟ (X_3) (วัตต์)	300	450	600

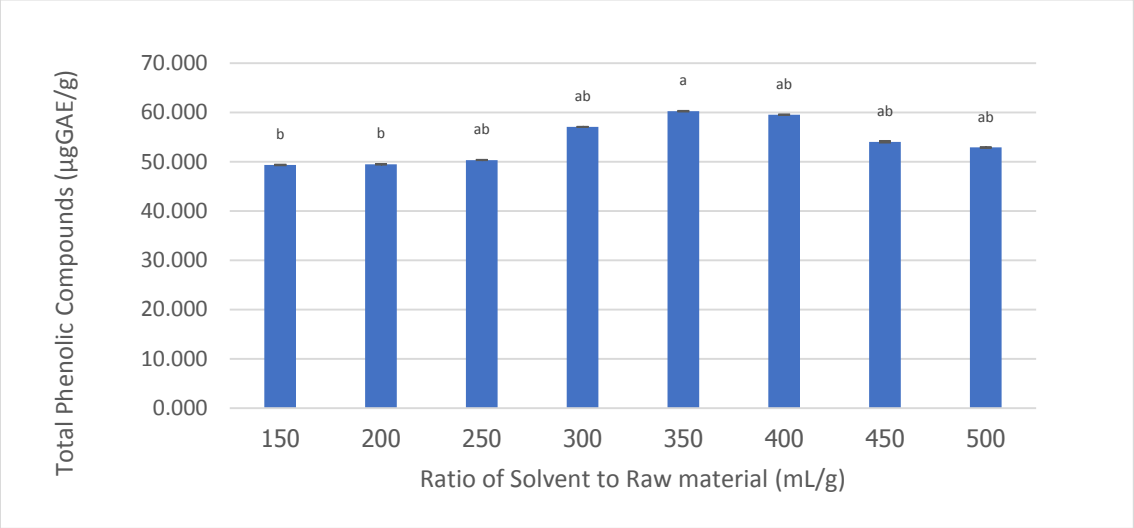
ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษา (x_1, x_2, x_3) กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเฉาก๊วย โดยการสร้างสมการพหุนามลำดับที่สองดังรูปแบบสมการที่ 1

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

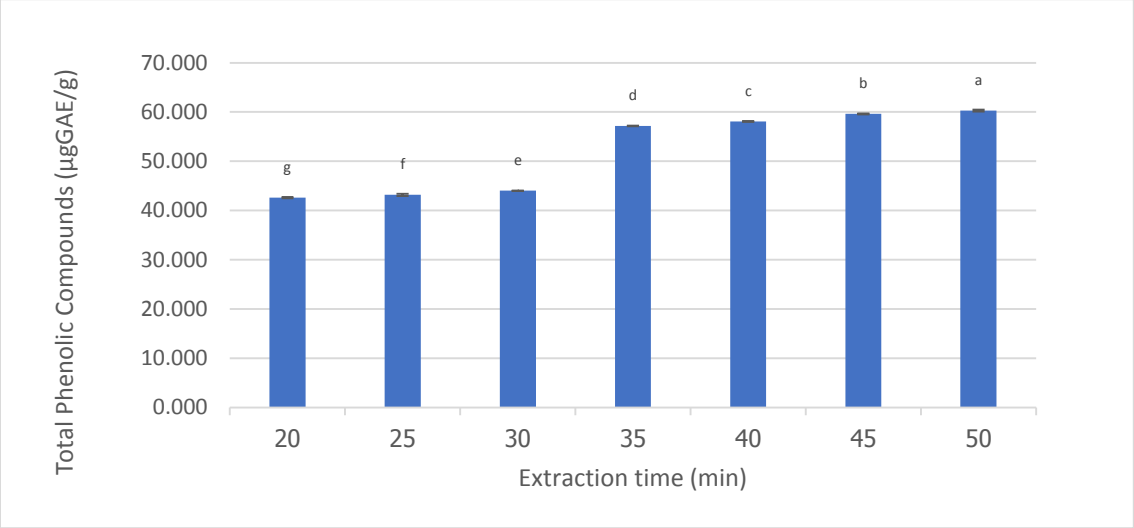
โดยที่ Y คือค่าทำนายการตอบสนอง, β_0 เป็นค่าคงที่, X_1, X_2, X_3 เป็นตัวแปรอิสระ, β_1,β_2,β_3 เป็นค่าสัมประสิทธิ์เชิงเส้น, $\beta_{12},\beta_{13},\beta_{23}$ เป็นค่าสัมประสิทธิ์ระหว่างตัวแปร, $\beta_{11},\beta_{22},\beta_{33}$ เป็นค่าสัมประสิทธิ์กำลังสอง ซึ่งประสิทธิภาพของการทำนายผลผลิตสูงสุด

ผลการวิจัย

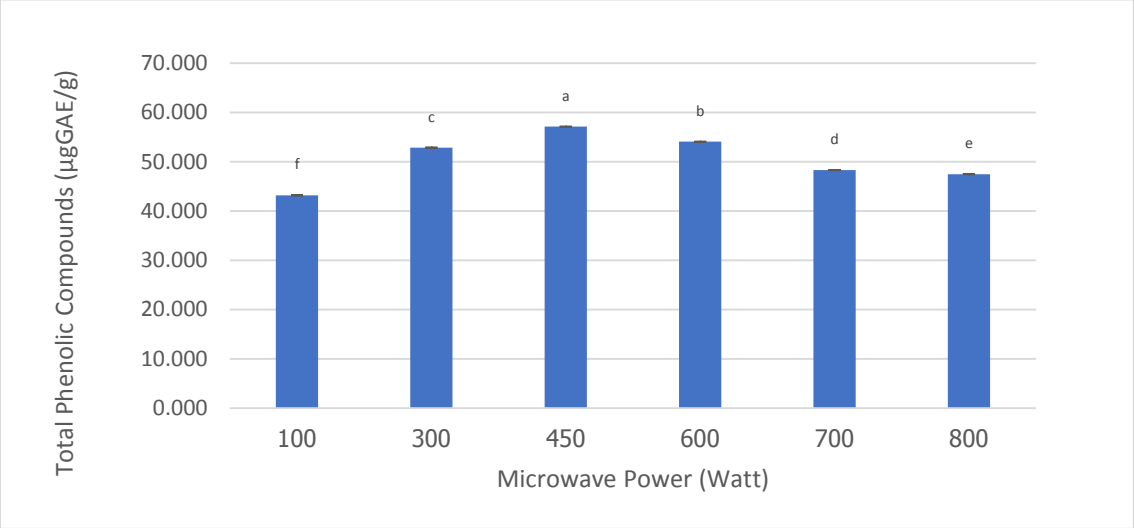
งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเฉาก๊วยโดยเทคนิคไมโครเวฟร่วม ซึ่งเป็นกระบวนการที่คุ้มค่าต่อการลงทุนสามารถนำไปต่อยอดเพื่อขยายประสิทธิภาพการสกัด การผลิตน้ำเฉาก๊วยพร้อมดื่มและเฉาก๊วยสำเร็จรูปชนิดก้อนให้ได้คุณภาพดีต่อไป การทดลองเบื้องต้นอิทธิพลของปัจจัยในการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และผลการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยที่ภาพที่ 2 แสดงการศึกษาปัจจัยระดับอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ 150 - 500 มิลลิลิตรต่อกรัม ที่เวลาที่ใช้ในการสกัดและกำลังไมโครเวฟคงที่ (35 นาที และ 450 วัตต์) พบว่า ที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ 350 มิลลิลิตรต่อกรัม สกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 60.279$\pm$0.005 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง โดยเมื่ออัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบเพิ่มขึ้น 150 – 350 มิลลิลิตรต่อกรัม ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น แต่เมื่ออัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบเพิ่มขึ้น 400 - 500 มิลลิลิตรต่อกรัม ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลง โดยระดับอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ 350 มิลลิลิตรต่อกรัม ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด



ภาพที่ 2 อิทธิพลของอัตราส่วนวัตถุดิบต่อน้ำต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยกำหนดเวลาที่ใช้ในการสกัด 35 นาที และกำลังไมโครเวฟ 450 วัตต์



ภาพที่ 3 อิทธิพลของเวลาที่ใช้ในการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยกำหนดอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ 350 มิลลิลิตรต่อกรัม และกำลังไมโครเวฟ 450 วัตต์



ภาพที่ 4 อิทธิพลของกำลังไมโครเวฟต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยกำหนดอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ 350 มิลลิลิตรต่อกรัม และเวลาที่ใช้ในการสกัด 35 นาที

ภาพที่ 3 แสดงการศึกษาเวลาที่ใช้ในการสกัด 20 - 50 นาที ที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบและกำลังไมโครเวฟคงที่ (350 มิลลิลิตรต่อกรัม และ 450 นาที) พบว่าเวลาที่ใช้ในการสกัดที่ 35 นาที ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้นเล็กน้อย จนเวลาที่ 50 นาที สกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 60.279±0.005 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง โดยเมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นจะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น โดยที่เวลาสกัดเพิ่มขึ้นจาก 20 – 35 นาที สามารถสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น 34.066 เปอร์เซ็นต์ แต่ที่เวลาสกัดเพิ่มขึ้นจาก 35 - 50 นาที สามารถสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นเพียงแค่ 5.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเวลาสกัดที่ใช้ระยะเวลานานทำให้สิ้นเปลืองพลังงาน ดังนั้นจึงเลือกเวลาที่ใช้ในการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ในช่วง 20 - 50 นาที ในการหาสภาวะที่เหมาะสม และภาพที่ 4 แสดงการศึกษา กำลังไมโครเวฟ 300 - 600 วัตต์ ที่กำลังไมโครเวฟ 450 วัตต์ สกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 60.279±0.005 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง โดยที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบและเวลาที่ใช้ในการสกัดคงที่ (350 มิลลิลิตรต่อกรัม และ 35 นาที) พบว่า เมื่อกำลังไมโครเวฟเพิ่มขึ้น (100-450 วัตต์) สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อกำลังไมโครเวฟเพิ่มมากขึ้น (600-800 วัตต์) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะลดลง ดังนั้นจึงเลือกกำลังไมโครเวฟสำหรับการสกัดในช่วง 300-600 วัตต์ ในการหาสภาวะที่เหมาะสม

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากผงเฉาก๊วย

จากผลการทดลองเบื้องต้นศึกษาปัจจัยของ 3 ปัจจัย ของการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเฉาก๊วย ทำให้ทราบช่วงสภาวะที่สำคัญ อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ (x_1) ที่ 200 -500 มิลลิลิตรต่อกรัม เวลาที่ใช้ในการสกัด (x_2) ที่ 20 – 50

นาที และกำลังไมโครเวฟ (x_3) ที่ 300 - 600 วัตต์ วิธีพื้นผิวตอบสนองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box Behnken Design) นำมาประยุกต์ใช้ศึกษาผลกระทบจากปัจจัยทั้งสามที่มีผลต่อกัน ซึ่งสามารถออกแบบ 17 การทดลอง ประกอบด้วย ตำแหน่งกึ่งกลางขอบ 12 ตำแหน่ง และทำซ้ำจุดศูนย์กลาง 5 ซ้ำ (x_1 = 350 มิลลิลิตรต่อกรัม, x_2 = 35 นาที และ x_3 = 450 วัตต์) ของกล่อง 3 มิติ (3 ปัจจัย) โดยปัจจัยในการสกัดความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงกับค่ารหัสแสดงในตารางที่ 2 และผลของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของแต่ละสภาวะการทดลองพร้อมทั้งค่าทำนายจากสมการ 2 แสดงในตารางที่ 2

$$\text{ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก} = 65.08 + 6.50X_1 + 0.72X_2 - 0.22X_3 + 1.28X_1X_2 - 0.58X_1X_3 - 1.15X_2X_3 - 7.00X^2_1 + 1.36X^2_2 - 2.71X^2_3 \quad (2)$$

จากการตรวจสอบความแม่นยำของแบบจำลองพื้นผิวตอบสนองโดยนำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ค่าจากการทดลองและค่าจากการทำนายถูกนำมาเปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อน แสดงในตารางที่ 3 พบว่าค่า Significance F ต่ำกว่า 0.001 แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ 0.05 แสดงว่าความแตกต่างระหว่างค่าจากการทดลองและค่าจากการทำนายมีความคลาดเคลื่นน้อย โดยมีค่า R^2 = 0.953, Multiple R = 0.976 และ Adjusted R^2 = 0.892 ซึ่งค่าใกล้เคียงกับ 1 ดังนั้นสมการที่ใช้ทำนายมีความแม่นยำสามารถใช้ทำนายหาสภาวะที่เหมาะสม

ค่าสัมประสิทธิ์ของสมการถอถอยพหุคูณ (multiple linear regression) ในแบบจำลองแสดงอิทธิพลของตัวแปรต้น (ปัจจัยในการสกัด) ต่อตัวแปรตาม (ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด) โดยค่าบวกของสัมประสิทธิ์แสดงถึงค่าตัวแปรตามเพิ่มขึ้นเมื่อค่าตัวแปรต้นเพิ่มขึ้น และค่าลบของสัมประสิทธิ์แสดงถึงตัวแปรตามเพิ่มขึ้นเมื่อค่าตัวแปรต้นนั้นลดลง ดังนั้นเมื่อต้องการสกัดแบบไมโครเวฟร่วมเพื่อให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเฉาก๊วยเพิ่มขึ้น ควรเพิ่มอัตราส่วนของวัตถุดิบต่อน้ำและเวลาที่ใช้ในการสกัด แต่ลดกำลังไมโครเวฟ เมื่อวิเคราะห์ความสำคัญทางสถิติ โดยพิจารณาค่า P-value พบว่า X_1 และ X^2_1 มีค่า P-value ต่ำกว่า 0.05 แสดงว่าระดับของปัจจัยที่กำหนดมีอิทธิพลสูงต่ออัตราส่วนวัตถุดิบต่อน้ำในรูปแบบเชิงเส้นและมีอิทธิพลต่ออัตราส่วนวัตถุดิบต่อน้ำในรูปแบบกำลังสอง โดยมีความสำคัญต่อการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเฉาก๊วย แต่ค่าสัมประสิทธิ์ระหว่างตัวแปร X_2, X_3, X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3, X^2_2 และ X^2_3 มีค่า P-value มากกว่า 0.05 แสดงว่า แต่ละปัจจัยไม่มีอิทธิพลต่อกัน ซึ่งสามารถนำเฉพาะพจน์ที่มีความสำคัญเขียนอยู่ในรูปสมการ 3 และได้ค่าการทำนายสารฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างจากสมการ 2

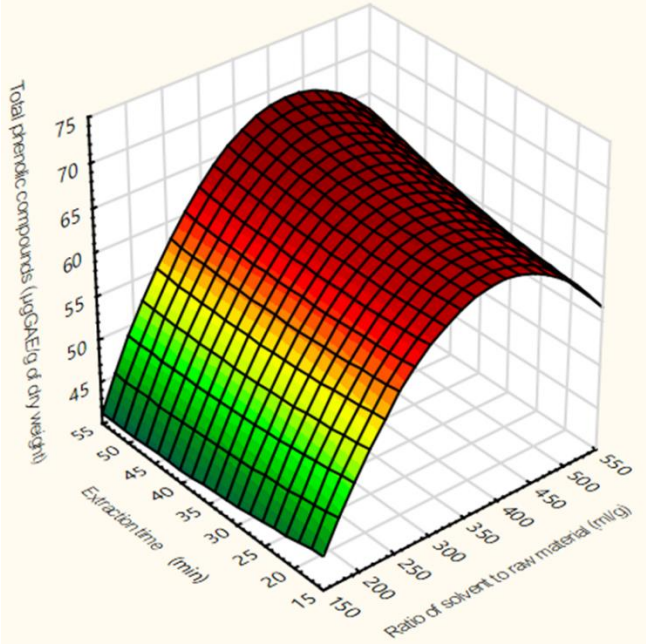
$$\text{ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก} = 65.08 + 6.50X_1 - 7.00X^2_1 \quad (3)$$

ตารางที่ 2 การออกแบบพื้นผิวตอบสนองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยวิธีการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน

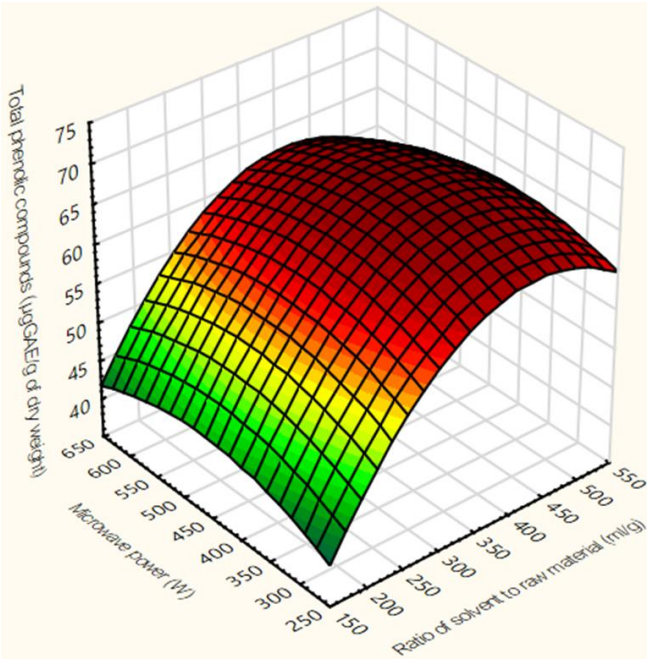
Run order	อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ (มิลลิลิตรต่อกรัม)	เวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที)	กำลังไมโครเวฟ (วัตต์)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง)	
				การทดลอง	การทำนาย
1	200(-1)	20(-1)	300(-1)	49.92	49.30
2	500(1)	20(-1)	300(-1)	59.23	60.88
3	200(-1)	50(1)	300(-1)	49.83	50.48
4	500(1)	50(1)	300(-1)	69.32	67.18
5	200(-1)	20(-1)	600(1)	49.91	52.31
6	500(1)	20(-1)	600(1)	61.98	61.59
7	200(-1)	50(1)	600(1)	50.28	48.88
8	500(1)	50(1)	600(1)	62.40	63.28
9	200(-1)	35(0)	450(0)	52.61	51.58
10	500(1)	35(0)	450(0)	64.57	64.58
11	350(0)	20(-1)	450(0)	68.75	65.72
12	350(0)	50(1)	450(0)	65.15	67.16
13	350(0)	35(0)	300(-1)	62.12	62.59
14	350(0)	35(0)	600(1)	63.64	62.15
15	350(0)	35(0)	450(0)	65.15	65.08
16	350(0)	35(0)	450(0)	64.20	65.08
17	350(0)	35(0)	450(0)	63.86	65.08

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากผงเฉาก๊วย

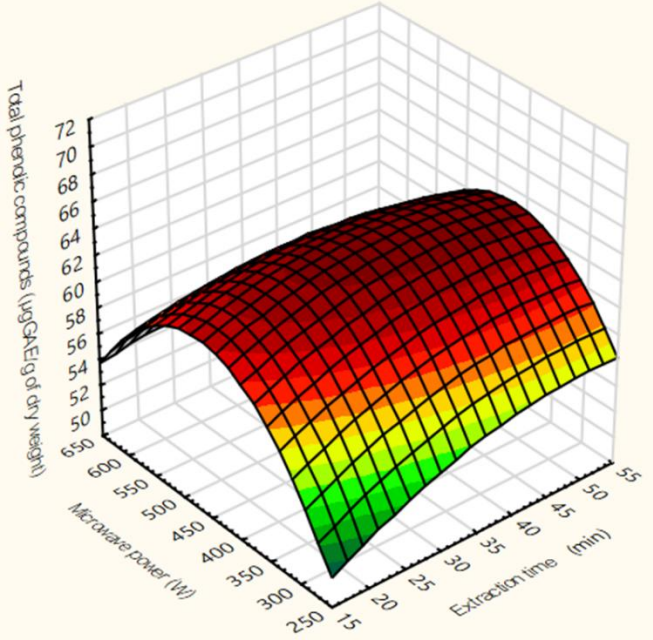
ปัจจัย	ค่าสัมประสิทธิ์	P-value
Intercept	65.080	0.000
อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ (X_1)	6.495	0.000
เวลาที่ใช้ในการสกัด (X_2)	0.718	0.347
กำลังไมโครเวฟ (X_3)	-0.221	0.766
X_1X_2	1.279	0.152
X_1X_3	-0.575	0.494
X_2X_3	-1.150	0.192
X_1^2	-7.000	0.001
X_2^2	1.363	0.355
X_3^2	-2.707	0.090
Multiple R	0.976	
R-Square (R^2)	0.953	
Adjust R^2	0.892	



ภาพที่ 5 อิทธิพลของอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบและเวลาที่ใช้ในการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ที่กำลังไมโครเวฟ 450 วัตต์



ภาพที่ 6 อิทธิพลของอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบและกำลังไมโครเวฟในการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ที่เวลาที่ใช้ในการสกัด 35 นาที



ภาพที่ 7 อิทธิพลของเวลาและกำลังไมโครเวฟที่ใช้ในการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบในการสกัด 350 มิลลิลิตรต่อกรัม

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้จากการทดลองและสมการการทำนายการออกแบบพื้นที่ผิวตอบสนอง

	อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ (มิลลิลิตรกรัมต่อกรัม)	**เวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที)**	**กำลังไมโครเวฟ (วัตต์)**	**ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง)**
สมการทำนายสภาวะที่เหมาะสม	1:435.23	50	402.96	69.59
สภาวะการทดลองจริง(ปรับจากสมการ)	1:435	50	450	69.32
ผลการทดลองจากสภาวะทดลองจริง	1:435	50	450	69.70 ± 0.142

จากตารางที่ 4 พบว่าสามารถวิเคราะห์ทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแบบไมโครเวฟ โดยที่สภาวะที่ทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด โดยกำหนดให้อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบอยู่ระหว่าง 200 - 500 มิลลิลิตรต่อกรัม เวลาที่ใช้ในการสกัดอยู่ระเหว่าง 20 - 50 นาที และกำลังไมโครเวฟอยู่ระหว่าง 300 - 600 วัตต์ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธีไมโครเวฟร่วม คือ อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ (X_1) 425.23 มิลลิลิตรต่อกรัม เวลาที่ใช้ในการสกัด (X_2) 50 นาที และกำลังไมโครเวฟ (X_3) 402.96 วัตต์ ภายใต้สภาวะนี้สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้ 69.53 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง แต่เนื่องจากให้การทดลองไม่สามารถใช้ค่าได้ตามกำหนดจึงปรับค่าที่ใช้ในการทดลองตามสภาวะการทดลองที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ (X_1) 435 มิลลิลิตรต่อกรัม เวลาที่ใช้ในการสกัด (X_2) 50 นาที และกำลังไมโครเวฟ (X_3) 450 วัตต์ โดยทำนายค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้ 69.32 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ซึ่งจากผลการทดลองจากสภาวะทดลองจริงเพื่อยืนยันความถูกต้องทำการทดลองที่สภาวะดังกล่าวได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 69.70±0.142 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าจากการทำนาย จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่ได้สามารถนำไปต่อยอดเพื่อขยายประสิทธิภาพการสกัด การผลิตน้ำเฉาก๊วยพร้อมดื่มและเฉาก๊วยสำเร็จรูปชนิดก้อนให้ได้คุณภาพดีต่อไป และเมื่อเทียบการงานวิจัยของ Nkhili et *al*. 2009 ทำการศึกษาเทคนิคการสกัดไมโครเวฟร่วมในการสกัดสารโพลีฟีนอลจากชาเขียว ที่กำลังไมโครเวฟ 600 วัตต์ เวลาที่ใช้ในการสกัด 20 นาที อัตราส่วนของน้ำต่อชาเขียว 20 มิลลิลิตรต่อกรัม ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 111.28 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของชาเขียว ซึ่งใช้ปัจจัยในการสกัดใกล้เคียงกับผลการทดลองนี้

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเฉาก๊วย โดยเทคนิคไมโครเวฟร่วม พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดที่มากที่สุดคือ อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลายเมื่อใช้อัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นจะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สูงขึ้น ตัวทำละลายน้ำถูกใช้ในการสกัดสารประกอบแบบมีขั้ว เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก โพลีแซกคาไรด์และน้ำตาลโดยปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับขั้วของสารสำคัญ ซึ่งความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ ทำให้ขั้วของตัวทำละลายความสามารถในการละลายสารสกัด และความสามารถในการถ่ายเทมวลสารแตกต่างกัน ทั้งนี้เมื่อตัวทำละลายมากจะส่งผลทำให้การสกัดสารฟีนอลิกเพิ่มมากขึ้น (Narkprasom, 2019) ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Katsuwan, 2018 ศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดน้ำมันจากเมล็ดมะละกอด้วยไมโครเวฟ ซึ่งพบว่าการใช้อัตราส่วนเมล็ดมะละกอต่อตัวทำละลายที่ต่ำให้ปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดมะละกอที่สูงกว่าการใช้อัตราส่วนที่สูง และช่วยให้การสกัดมีประสิทธิภาพและสิ้นเปลืองพลังงานน้อย

เวลาที่ใช้ในการสกัดมีส่วนทำให้การแพร่หรือการถ่ายเทมวลสารเป็นเวลานานขึ้น ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกถูกสกัดและแพร่ออกมาในสารละลายได้เพิ่มมากขึ้นซึ่งสัมพันธ์กับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูงขึ้น (Hong et *al*, 2017) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Potisate & Pintha, 2021 ทำการศึกษาหาสภาวะการสกัดที่เหมาะสมและการทำแห้งสารสกัดเมล็ดลิ้นจี่

โดยใช้ไมโครเวฟที่ 450 วัตต์ เป็นเวลา 15 นาที ในอัตราส่วนของน้ำกลั่นต่อเมล็ดลิ้นจี่บด 10 มิลลิลิตรต่อกรัม ได้ปริมาณสารฟีนอลิกที่ 39.66±0.25 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมเมล็ดลิ้นจี่บดแห้ง ซึ่งการสกัดด้วยเทคโนโลยีไมโครเวฟจะใช้ระยะเวลาน้อย ประหยัดพลังงาน

การใช้กำลังไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเมื่อเข้าไปในสารละลายน้ำ โมเลกุลของในสารละลายมีโมเลกุลประจุบวกและประจุลบจะถูกเหนี่ยวนำและหมุนขั้วเพื่อจัดเรียงตัวในสนามไฟฟ้าของคลื่นและทำให้คลื่นเกิดการเปลี่ยนแปลงสลับไปมาส่งผลต่อโมเลกุลน้ำเกิดการหมุนไปมาเกิดความร้อนขึ้นอย่างฉับพลัน (Terigar et *al*, 2010) แต่ในขณะที่การใช้กำลังไมโครเวฟที่สูงจะทำให้สารละลายเกิดความร้อนจากภายในโมเลกุล ด้วยเหตุนี้ในกำลังไมโครเวฟจึงส่งผลให้สารสกัดมีปริมาณสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลง เนื่องจากถูกทำลายด้วยความร้อนทำให้การเสื่อมสภาพของผลผลิตและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งเมื่อสอดคล้องกับการทดลองของ Narkprasom, 2019 ทำการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเมล็ดลำไยโดยวิธีไมโครเวฟ พบว่า เมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น จะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น แต่เมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นมากจนถึงช่วงเวลาที่เหมาะสมที่ทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด หลังจากนั้นถึงแม้จะเพิ่มเวลาในการสกัดก็จะไม่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

สรุปผลการวิจัย

เฉาก๊วยอุดมไปด้วยสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดนำมาสกัดโดยใช้เทคนิคไมโครเวฟร่วม เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีวิเคราะห์พื้นที่ผิวตอบสนอง ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากผงเฉาก๊วย คือ อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ (X_1) 435 มิลลิลิตรต่อกรัม เวลาที่ใช้ในการสกัด (X_2) 50 นาที และกำลังไมโครเวฟ (X_3) 450 วัตต์ ปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมดที่สกัดได้สูงสุด 69.70 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ผลที่ได้จากการวิจัยนี้สามารถประยุกต์ทำน้ำเฉาก๊วยที่มีคุณภาพและประสิทธิภาพที่ดี ซึ่งสามารถนำไปใช้เพื่อการถนอมอาหาร โดยใช้เป็นสารกันหืน ป้องกันปฏิกิริยาการออกซิเดชันของลิพิดและสารประกอบฟีนอลหลายชนิดมีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชันยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและเป็นสารต้านการกลายพันธุ์ มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ ป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

Banjong, K. & Katsuwan, P. (2018). Optimization of Microwave-assisted Extraction of Papaya Seed Oil by Response Surface Methodology. Srinakharinwirot University (Journal of Science and Technology), 76-88. (in Thai)

Chen, Y., Liao, M.-L., Boger, D.V., & Dunstan, D.E. (2001). Rheological characterisation of **K**-carrageenan/locust bean gum mixtures. Carbohydrate Polymers, 117-124.

Hong R, Ting L, & Huijie W. (2017) Optimization of extraction condition for phytic acid from peanut meal by response surface methodology. Res Effic Technol, *3*, 226-231.

Hosseini, S.S., Khodaiyan, F., & Yarmand, M.S. (2016). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sour orange peel and its physicochemical properties. Carbohydrate Polymers, 59-65.

Hung, Y. L., Hsieh, C.L., Yen, G.C. (2000). Protective Effect of Extracts of Mesona procumbens Hemsl. On DNA Damage in Human Lymphcytes Exposed to Hydrogen peroxide and UV irradiation, 747-754.

Narkprasom, K., Tanongkankit, Y., Saenscharoenrat, P., & Narkprasom, N. (2019). Optimization of Total Phenolic from Euphoria longana Lam. Seed by Microwave Assisted Extraction. Burapha Science Journal, *24*, 48-63. (in Thai)

Nkhili, E., Tomao, V., Hajji, H.E., Boustani, E.E., Chemat, F., Dangles, O. (2009). Microwave-assisted Water Extraction of Green Tea Polyphenols. Phytochemical Analysis, 408-415.

Potisate, Y. & Pintha, K. (2021). Optimum extraction condition and dehydration of lychee seeds extracts. Naresuan Phayao Journal, 105-115. (in Thai)

Sheu, S. Y., Liu, C. & Chiang, H. C. (1984). The hypoglycemic principle of Mesona procumbens and Ortheslphon staminens. T'ai-wan K'O Hsueh, 26-31.

Suedee, A. (2017). Microwave-Assisted Extraction of Active Compounds from Medicinal Plants. EAU Heritage Journal, 1-14. (in Thai)

Tangjitsitcharoen, S. & Jamchue, P. (2011). Reduction of Bubble Defects in Plastic Packaging Production Process. IE Network Conference, 171-175. (in Thai)

Terigar BG, Balasubramanian S, Boldor D. An analysis of the microwave dielectric properties of solvent-oil feedstock mixtures at 300–3000 MHz. Biores Technol. , 2010, *101*, 6510-6516.

Tungpradit, R. (2003). Study of Major Components in Water Extract of Mesona chinensis Benth. for Developing as Instant Product. (in Thai)

Yen, G.C. & Hung, C.Y. (2000). Effect of Alkaline and Heat Treatmrnt on Antioxidative Activity and Total Phenolics of Extraction from Hsian-tsao (Mesona procumbens Hemsl. Food Research International, 487-492.