



สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวม  
จากดอกบัวหลวง โดยใช้เทคนิคสกัดด้วยไมโครเวฟ  
Optimized Extraction of Total Phenolic Compounds from  
*Nelumbo nucifera* Gaertn Using Microwave  
Assisted Extraction (MAE)

กาญจนา นาคประสม<sup>1,2</sup> จตุรภัทร วาฤทธิ<sup>1,2</sup> อุมภาพร อุประ<sup>1,2</sup> หยาดฝน ทนงการกิจ<sup>1</sup>  
และ นักรบ นาคประสม<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 63 ม.4 ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50290

<sup>2</sup>ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10400

\*Corresponding Author, E-mail: narkprasom@gmail.com

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกลีบดอกบัวหลวงโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยไมโครเวฟและศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้ ปัจจัยที่ใช้ในการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยไมโครเวฟ คือ ความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละ 10-50, ร้อยละโดยปริมาตร) ระยะเวลาในการสกัด (10-20 นาที) และกำลังของคลื่นไมโครเวฟ (200-400 วัตต์) นอกจากนี้สภาวะที่เหมาะสมของผลรวมของปัจจัยเหล่านี้ถูกกำหนดโดยใช้วิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง ออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken ผลการทดลองพบว่าปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัยมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ นอกจากนี้การวิเคราะห์ทางสถิติบ่งชี้ว่าข้อมูลที่ได้จากการทดลองมีความเหมาะสมกับสมการพหุนามกำลังสอง เนื่องจากให้ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจสูงมีค่าเท่ากับ 0.9314 เมื่อนำสมการทางคณิตศาสตร์มาสร้างกราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนองและกราฟโครงร่างเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกลีบดอกบัวหลวงโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยไมโครเวฟ ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด คือ ความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 34 (ร้อยละโดยปริมาตร) ระยะเวลาในการสกัด 15 นาที และกำลังของคลื่นไมโครเวฟ 300 วัตต์ ภายใต้สภาวะการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดที่ได้นี้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่ได้จากการทดลองสูงสุดเท่ากับ  $134.58 \pm 0.20$  mg<sub>GAE</sub>/g<sub>DW</sub> และจากการ

คำนวณเท่ากับ 134.56 mg<sub>GAE/g<sub>DW</sub></sub> และมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวัดเป็นค่าร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับร้อยละ 24.02

### ABSTRACT

The objectives of this research was to study the conditions that optimize the extraction of total phenolic compounds from *Nelumbo Nucifera* Gaertn petals using microwave assisted extraction (MAE) and also investigated their antioxidant activities of the crude extracts. Variables used to study the optimal extraction conditions of total phenolic compounds include concentration of ethanol (10-50 %v/v), extraction time (10-20 min) and microwave power (200-400 watts). Furthermore, the optimal combination of these variables were determined using a response surface methodology (RSM) by Box Behnken design. The results showed that these three factors affected yield of extracted total phenolic. Moreover, the statistical analysis provided indications that the data obtained from the experiment should be fitted to polynomial equation because of its high coefficient of determination with R-square = 0.9314. The 3D response surface plot and the contour plot derived from the mathematical models were used to determine the optimal conditions for extraction of total phenolic compounds from *Nelumbo Nucifera* Gaertn petals using MAE. The highest yields of total phenolic compounds were obtain when the samples were dissolved in ethanol at 34%v/v, the extraction time was set at 15 min and the microwave power was set at 300 watts. Under these optimal conditions, the highest total phenolic compounds yield were 134.58±0.20 mg<sub>GAE/g<sub>DW</sub></sub> from experimental values and 134.56 mg<sub>GAE/g<sub>DW</sub></sub> from predicted values and the scavenging activity of percentage of inhibition in DPPH assay was 24.02%.

**คำสำคัญ:** สารประกอบฟีนอลิกรวม ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ดอกบัวหลวง เทคนิคสกัดด้วยไมโครเวฟ วิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง

**Keywords:** Total phenolic compounds, Antioxidant activity, *Nelumbo nucifera* Gaertn, Microwave assisted extraction (MAE), Response surface methodology (RSM)

## บทนำ

บัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn) เป็นพืชน้ำที่มีความงามและมีการใช้ประโยชน์อย่างหลากหลาย นอกจากนี้ยังเป็นดอกไม้ที่เกี่ยวข้องกับศาสนาพุทธทั้งสัญลักษณ์และอามิสบูชาของคนไทยมาอย่างยาวนาน พันธุ์บัวหลวงตัดดอกที่นิยมในไทย ได้แก่ สัตตบงกช ปทุม สัตตบุตร และบุญทริก เพราะมีลักษณะของดอกใหญ่ กลีบอัดซ้อนกันแน่น มีสีขาวอมเขียวไปจนกระทั่งสีชมพูเข้มเกือบแดงแตกต่างกันไปตามพันธุ์ (ภาณุพล, 2556) ส่วนต่างๆ ของบัวหลวงนั้นสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการประกอบอาหาร เครื่องดื่มบำรุงร่างกาย และยาสมุนไพรได้ เช่น เมล็ดบัวรสชาติหวานมัน นำมาควนหรือโรยบนหน้าขนมหม้อแกง รากบัวเชื่อมหรือต้มน้ำตาล ทำน้ำรากบัวแก้ร้อนใน ยากลิบบัวหรือยาเกสรบัวหลวง เป็นต้น นอกจากนี้สรรพคุณทางยาสมุนไพรของบัวหลวง ได้แก่ กลีบดอกบัวและเกสรใช้บำรุงหัวใจ แก้ไข้ตัวร้อน แก้อ่อนเพลีย ใบบัวแก้วช่วยลดความดันโลหิตและลดไขมันในเส้นเลือดลงได้ ดีบัวมีฤทธิ์ในการขยายหลอดเลือดไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจ ก้านใบมีฤทธิ์เป็นยาห้ามเลือด หรือทำให้เลือดหยุด เหง้าบัวใช้บำรุงกำลัง แก้เสมหะ แก้อาเจียน เป็นต้น หนึ่งในส่วนประกอบของบัวหลวงที่น่าสนใจ คือ กลีบดอกบัวหลวงซึ่งพบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนประกอบอื่นๆ (สุรัตน์วดีและคณะ, 2557) นอกจากนี้ยังพบว่าดอกบัวหลวงทั้งสีขาวยและสีชมพูมีศักยภาพในการต้านแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Venkatesh and Dorai, 2011)

อนุมูลอิสระ หมายถึง อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวทำให้มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาเคมี เป็นสาเหตุให้เกิดความผิดปกติทั้งภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต (เป็นสาเหตุการเกิดโรคมะเร็ง ความดัน

โลหิตสูง เบาหวาน รูมาตอยด์) และเกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งร่างกายของสิ่งมีชีวิตมีระบบต้านอนุมูลอิสระ แต่สารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายมีอยู่อย่างจำกัด จึงต้องอาศัยสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอก ไม่ว่าจะเป็นสารจากการสังเคราะห์หรือจากธรรมชาติ เพื่อใช้ป้องกันหรือลดการเกิดอนุมูลอิสระ สำหรับสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) กรดฟีนอลิก (phenolic acid) แอนโทไซยานิน (anthocyanin) และแซนโธน (xanthone) เป็นต้น ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้ทั่วไปในใบ ลำต้น และเปลือกของพืช มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลมาเกาะตั้งแต่สองหมู่ขึ้นไป ละลายน้ำได้ ในปัจจุบันสารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจและมีการวิจัยเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีความเชื่อมั่นว่าการบริโภคสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติมีความปลอดภัยมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (เจนจิราและประสงค์, 2554; บุหรัน, 2556)

การสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืชสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (solvent extraction) เช่น เอทานอล เมทานอล และอะซิโตน เป็นต้น (Quy et al., 2014; Rajha et al., 2014) ซึ่งมีข้อเสีย คือ ใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน และสิ้นเปลืองตัวทำละลาย การสกัดด้วยของไหลเหนือจุดวิกฤต (supercritical fluid extraction) พบว่าสารสกัดที่ได้มีความบริสุทธิ์ที่ค่อนข้างสูง ประหยัดตัวทำละลาย และเหมาะสำหรับการสกัดสารที่สลายตัวง่ายเมื่อโดนความร้อน (Junior et al., 2010) อย่างไรก็ตามระบบดังกล่าวมีข้อด้อย คือ ค่าอุปกรณ์ เครื่องมือ และค่าดำเนินการมีราคาสูง อีกทั้งดำเนินการภายใต้ความดันสูงต้องมีความระวังในระหว่างดำเนินการ สำหรับเทคนิคการสกัดด้วยไมโครเวฟ (microwave

assisted extraction) เป็นการใช้คลื่นไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าร่วมกับตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัด โดยการสั่นสะเทือนของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าทำให้สารละลายเกิดการหมุนหรือสั่นและเกิดความร้อนที่กระจายตัวไปยังตัวทำละลาย ทำให้มีผลต่อเนื้อเยื่อของวัตถุดิบและมีผลต่อการละลายของสารละลายที่ต้องการออกมา (ดวงกมล, 2557; Narkprasom et al., 2015; Song et al., 2011) เทคนิคนี้สามารถสกัดสารได้อย่างรวดเร็ว ใช้ตัวทำละลายและพลังงานน้อย แต่ให้ปริมาณสารสกัดที่สูงและมีประสิทธิภาพ ดังนั้นเทคนิคการสกัดสารด้วยไมโครเวฟจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะใช้สกัดสารประกอบฟีนอลิก ปัจจุบันที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดด้วยไมโครเวฟมีอยู่หลายปัจจัยด้วยกัน ได้แก่ เวลา อุณหภูมิ กำลังของคลื่นไมโครเวฟ คุณสมบัติวัตถุดิบ องค์ประกอบที่เป็นความชื้น ความคงตัวของวัตถุดิบ สมบัติของตัวทำละลาย และสมบัติสารที่ต้องการสกัด

ปัจจุบันมีการใช้เทคนิคทางคณิตศาสตร์ร่วมกับสถิติในการวางแผนและวิเคราะห์ผลการทดลองมาช่วยในการหาสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการต่างๆ ในภาคอุตสาหกรรม ซึ่งวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (Respond surface methodology, RSM) เป็นวิธีที่นิยมสำหรับการประยุกต์ใช้ในการออกแบบการทดลองและศึกษาความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระที่มีต่อตัวแปรตอบสนอง อีกทั้งยังสามารถพัฒนาสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์และหาระดับของตัวแปรอิสระที่ให้ผลตอบสนองที่ดีที่สุด นอกจากนี้ยังให้ความแม่นยำของสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ซึ่งเทคนิคนี้ยังสามารถลดจำนวนการทดลองและหาสภาวะที่เหมาะสมจากหลายๆ ปัจจัยในกระบวนการสกัดสารฟีนอลิกเพื่อให้ได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุดอีกด้วย (Narkprasom et al., 2015)

ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกลีบดอกบัวหลวงโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยไมโครเวฟและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้ในวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response surface methodology) วางแผนการทดลองแบบ Box-Behnken Design โดยศึกษาปัจจัยในการสกัด คือ ความเข้มข้นของเอทานอล ระยะเวลาในการสกัด และกำลังของคลื่นไมโครเวฟต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกลีบดอกบัวหลวง เพื่อพัฒนากระบวนการสกัดสารสำคัญจากบัวหลวงอย่างมีประสิทธิภาพและสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่าในเภสัชกรรมเวชสำอาง อาหารเสริมเพื่อสุขภาพต่อไป

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. การเตรียมตัวอย่าง

ดอกบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช ดอกสีชมพูกลีบซ้อน จากอำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ โดยการเก็บเกี่ยวดอกบัวหลวงจะตัดดอกในระยะดอกตูม นำกลีบดอกบัวล้างน้ำสะอาด พักให้สะเด็ดน้ำ แล้วนึ่งโดยใช้ความร้อนจากไอน้ำที่ได้จากการต้มน้ำเดือดด้วยหม้อลังถึงเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นนำไปทำให้แห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน (UE 400, Memmert, Germany) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนกระทั่งกลีบดอกบัวมีความชื้นน้อยกว่าร้อยละ 8 (ฐานมวลแห้ง) หรือ ค่าวอเตอร์แอกติวิตี ( $a_w$ ) ต่ำกว่า 0.5 ปั่นให้เป็นผงละเอียดโดยใช้เครื่องปั่น (blender) ร่อนผ่านตะแกรงที่มีขนาด 30 mesh แล้วบรรจุลงในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ และเก็บไว้ในโถดูดความชื้นเพื่อใช้สำหรับการทดลองต่อไป

## 2. การสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกลีบดอกบัวหลวงโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยไมโครเวฟ

ซึ่งผงกลีบดอกบัว 1 กรัม เติมนิโธซานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 10, 30 และ 50 โดยปริมาตร) จำนวน 50 มิลลิลิตร เขย่าเพื่อผสมให้เข้ากัน ใช้เทคนิคไมโครเวฟ (ME711K, Samsung, ไทย: ความจุ 20 ลิตร, พลังงานเอาต์พุต 800 วัตต์ (สูงสุด)) ช่วยสกัดที่ กำลังของคลื่นไมโครเวฟต่างๆ (200, 300 และ 400 วัตต์) และสกัดที่เวลาต่างๆ (10, 15 และ 20 นาที) เมื่อสกัดเสร็จสิ้นตามเวลาที่กำหนดไว้ นำสารสกัดตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง (PLC-012E, Universal Centrifuge, ไต้หวัน) ด้วยแรงเหวี่ยงสัมพัทธ์ 1,050 x g หรือเทียบได้กับความเร็วยก 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 10 นาที แยกสารสกัดส่วนใสออกจากหลอดทดลองและนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อไป

## 3. การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic compounds) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent (ดัดแปลงวิธีจาก Namjooyan et al., 2010) นำสารสกัดจากกลีบดอกบัวหลวงปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติมนิโธซานอล (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) ความเข้มข้นร้อยละ 2 (โดยมวลต่อปริมาตร) จำนวน 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมนิโธซานอล Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที (ในที่มืด) แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (S1200 Visible Diode Array Spectrophotometer, WPA Spectrawave, England) ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรด

แกลลิก (gallic acid) ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกในตัวอย่างน้ำหนักแห้ง 1 กรัม (mg gallic acid equivalent/g dry weight; mg<sub>GAE</sub>/g<sub>DW</sub>)

## 4. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH assay) ทำตามวิธีของ รวีริญา และศิริจันทร์ (2557) โดยทำการเตรียมสารละลาย DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) เข้มข้น 0.1 mM ในเมทานอล ซึ่งสาร 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl 0.1972 กรัม ละลายด้วยเมทานอลจนสารละลายหมด จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะทำให้ได้สารละลาย DPPH เข้มข้น 5 mM เปิดสารละลาย DPPH นี้มา 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลจนครบ 100 มิลลิลิตร (สารละลายนี้ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนใช้งาน) จากนั้นทำการวิเคราะห์โดยนำสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมนิโธซานอล DPPH เข้มข้น 0.1 mM ในเมทานอล 2.9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที (ในที่มืด) พร้อมทั้งทำตัวอย่างควบคุม (control) หรือสารละลาย DPPH ที่ไม่มีตัวอย่างสารสกัด วิเคราะห์ตามวิธีการเดียวกัน เมื่อครบ 30 นาที นำตัวอย่างสารสกัดและตัวอย่างควบคุมทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร คำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นร้อยละของการยับยั้ง (% inhibition) ดังสมการที่ (1)

$$\%inhibition = [(A_{control} - A_{sample}) / A_{control}] \times 100$$

## 5. การวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากแบบจำลอง

การทดลองเพื่อหาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้จากกลีบดอกบัวหลวงโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยไมโครเวฟในวิธีพื้นที่ผิว

ตอบสนอง (Response surface methodology) วางแผนการทดลองแบบ Box-Behnken Design (BBD) ศึกษาปัจจัยในการสกัด 3 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของเอทานอล ( $X_1$ ) ระยะเวลาในการสกัด ( $X_2$ ) และกำลังของคลื่นไมโครเวฟ ( $X_3$ ) โดยพิจารณาจากการทดลองเบื้องต้น และข้อจำกัดของเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง สถานะจริงของการทดลองจะถูกตั้งค่ารหัสของระดับของปัจจัยที่ใช้ในการทดลองซึ่งมี 3 ระดับ คือ ระดับต่ำ (-1) ระดับกลาง (0) และระดับสูง (1) ดังแสดงในตารางที่ 1 และในการทดลองสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกลีบดอกบัวหลวงด้วยไมโครเวฟได้ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ STATISTICA (version 12, Dell, USA) กำหนดลำดับการทดลองและออกแบบการทดลองแบบ BBD ที่มีปัจจัย 3 ปัจจัย แต่ละปัจจัยมี 3 ระดับ และมีการทำซ้ำที่จุดกึ่งกลาง 3 ครั้ง ดังนั้นจึงมีจำนวนการทดลองทั้งหมด 15 การทดลอง

## 6. การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติเพื่อหาสถานะที่เหมาะสม

เมื่อทำการทดลองสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกลีบดอกบัวหลวงโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยไมโครเวฟทั้ง 15 การทดลองแล้ว นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความถูกต้องของแบบจำลอง การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R-Square) และการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เพื่อนำมาสร้างสมการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้ โดยนำค่าของปัจจัยที่ได้จากการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ของสมการถดถอยของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมาเขียนให้อยู่ในรูปของสมการดังสมการที่ 1

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 \dots(1)$$

เมื่อ Y คือ ผลการตอบสนอง ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม,  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  คือ ตัวแปรอิสระหรือปัจจัยที่ศึกษา,  $\beta_0$  คือ ค่าคงที่สมการ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$  คือ สัมประสิทธิ์สมการเส้นตรง,  $\beta_{12}$ ,  $\beta_{13}$ ,  $\beta_{23}$  คือ สัมประสิทธิ์สมการปฏิสัมพันธ์ และ  $\beta_{11}$ ,  $\beta_{22}$ ,  $\beta_{33}$  คือ สัมประสิทธิ์สมการกำลังสอง

เมื่อได้สมการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้จากกลีบดอกบัวหลวงโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยไมโครเวฟแล้ว จึงนำมาสร้างกราฟพื้นที่ผิวตอบสนองของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้เทียบกับปัจจัยที่ใช้ในการทดลองทั้ง 3 ปัจจัย โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ STATISTICA (version 12, Dell, USA) เพื่อหาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุดและอยู่ภายใต้ระดับของค่าปัจจัยในการทดลอง จากนั้นหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละของการยับยั้ง) ของสารสกัดที่ได้จากกลีบดอกบัวหลวง

## ผลการวิจัย

### ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากกลีบดอกบัวหลวง

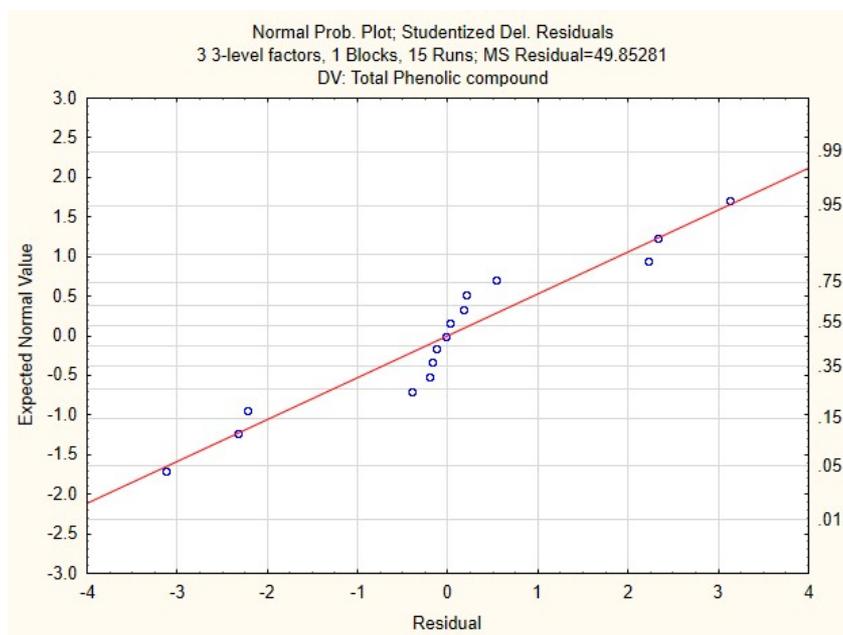
ผลที่ได้จากการทดลองดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่าสถานะการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมที่ดีที่สุดภายใต้การทดลองจริงนี้ คือ ความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 30 (ร้อยละโดยปริมาตร) ที่กำลังของคลื่นไมโครเวฟ 300 วัตต์ และระยะเวลาในการสกัด 15 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุดเท่ากับ

133.96±3.02 mg<sub>GAE</sub>/g<sub>DW</sub> เมื่อนำผลการทดลองทั้งหมดมาวิเคราะห์ความถูกต้องของแบบจำลอง พบว่าข้อมูลการทดลองมีการกระจายตัวตามแนวเส้นตรง แสดงให้เห็นว่าส่วนตกค้างจากผลการทดลองของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้จากกลีบดอกบัวหลวงโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยไมโครเวฟไม่แสดงสิ่งผิดปกติให้เห็นจึงสรุปได้ว่าค่าส่วนตกค้างมีการแจก

แจงแบบปกติ (รูปที่ 1) นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนตกค้างของผลการทดลองการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกลีบดอกบัวหลวงไม่มีรูปแบบที่แน่นอน มีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ แสดงว่าข้อมูลมีความเป็นอิสระ และยังพบว่าข้อมูลมีความเสถียรของความแปรปรวน

ตารางที่ 1 ปัจจัยและระดับของปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง

ปัจจัย	ตัวแปร	ระดับ		
		-1	0	1
ความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	X <sub>1</sub>	10	30	50
ระยะเวลาในการสกัด (นาที)	X <sub>2</sub>	10	15	20
กำลังของคลื่นไมโครเวฟ (วัตต์)	X <sub>3</sub>	200	300	400



รูปที่ 1 กราฟความน่าจะเป็นแบบปกติของส่วนตกค้าง

**ตารางที่ 2** ผลของการออกแบบพื้นที่ผิวตอบสนองของการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยวิธีการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken Design (BBD)

ลำดับการทดลอง	ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v) ( $X_1$ )	ระยะเวลาในการสกัด (นาที) ( $X_2$ )	กำลังของคลื่นไมโครเวฟ (วัตต์) ( $X_3$ )	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ( $\text{mg}_{\text{GAE}}/\text{g}_{\text{DW}}$ )
1	10(-1)	10(-1)	300(0)	83.60±0.003
2	50(1)	10(-1)	300(0)	104.39±0.003
3	10(-1)	20(1)	300(0)	105.46±0.002
4	50(1)	20(1)	300(0)	96.74±0.011
5	10(-1)	15(0)	200(-1)	91.10±0.017
6	50(1)	15(0)	200(-1)	114.96±0.020
7	10(-1)	15(0)	400(1)	98.81±0.025
8	50(1)	15(0)	400(1)	113.17±0.040
9	30(0)	10(-1)	200(-1)	113.03±0.015
10	30(0)	20(1)	200(-1)	96.10±0.037
11	30(0)	10(0)	400(1)	95.10±0.028
12	30(0)	20(-1)	400(1)	99.17±0.016
13	30(0)	15(0)	300(0)	137.31±0.006
14	30(0)	15(0)	300(0)	133.10±0.014
15	30(0)	15(0)	300(0)	131.46±0.020

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

### การสร้างสมการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากกลีบดอกบัวหลวง

จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R-Square;  $R^2$ ) มีค่าเท่ากับ 0.9314 หมายความว่าตัวแปรอิสระ (ความเข้มข้นของเอทานอล ( $X_1$ ) ระยะเวลาในการสกัด ( $X_2$ ) และกำลังของคลื่นไมโครเวฟ ( $X_3$ ) สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตาม (ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ( $Y$ )) ได้ร้อยละ 93.14 นอกจากนี้ยังพบว่า Lack of Fit ของแบบจำลองเท่ากับ 0.1078 ซึ่งไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3) และการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของข้อมูลจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกลีบดอกบัวหลวงที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 ในตารางที่ 3

พบว่าค่า P-value ในเทอมกำลังสองของ  $X_1^2$ ,  $X_2^2$  และ  $X_3^2$  มีค่าเท่ากับ 0.007, 0.003 และ 0.016 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่านัยสำคัญทางสถิติที่กำหนด

จากการวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อสร้างสมการทางคณิตศาสตร์ พบว่าสมการพหุนามกำลังสองถูกเลือกมาใช้ในการทำนายหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกลีบดอกบัวหลวง โดยใช้เทคนิคสกัดด้วยไมโครเวฟดังแสดงในสมการที่ 2

$$\text{ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Y)} = -204.065 + 4.233X_1 + 23.139X_2 + 0.651X_3 - 0.074X_1X_2 - 0.001X_1X_3 + 0.010X_2X_3 - 0.041X_1^2 - 0.801X_2^2 - 0.001X_3^2 \dots(2)$$

### การสร้างพื้นที่ผิวตอบสนองของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากกลีบดอกบัวหลวง

จากกราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนองของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากกลีบดอกบัวหลวงในรูปที่ 2(ก) ระหว่างค่าความเข้มข้นของเอทานอลและระยะเวลาในการสกัดโดยกำหนดให้กำลังของคลื่นไมโครเวฟคงที่ (300 วัตต์) พบว่า เมื่อความเข้มข้นของเอทานอลและระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้มีปริมาณสูงขึ้นจนถึงจุดๆ หนึ่ง แล้วจะค่อยๆ ลดลงมา และเมื่อแสดงในลักษณะของกราฟโครงร่าง จะเห็นความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของเอทานอลและระยะเวลาในการสกัดที่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้มีลักษณะไม่เป็นเส้นตรง ดังรูปที่ 2(ข) โดยที่เส้นโค้งตรงกลาง (แถบพื้นที่สีแดงเข้ม) แสดงถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้สูงสุดมีค่ามากกว่า  $120 \text{ mg}_{\text{GAE}}/\text{g}_{\text{DW}}$  ส่วนเส้นโค้งถัดออกมา (แถบพื้นที่สีแดง, เหลือง, เขียว, เขียวเข้ม ตามลำดับ) จะแสดงถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่เริ่มลดลง คือ 104, 84, 64 และ  $44 \text{ mg}_{\text{GAE}}/\text{g}_{\text{DW}}$  ตามลำดับ

จากกราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนองของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ในรูปที่ 3(ก) ระหว่างค่าความเข้มข้นของเอทานอลและกำลังของคลื่นไมโครเวฟ โดยกำหนดให้ระยะเวลาในการสกัดคงที่ (15 นาที) พบว่า เมื่อความเข้มข้นของเอทานอลและกำลังของคลื่นไมโครเวฟเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้มีปริมาณสูงขึ้นจนถึงจุดๆ หนึ่ง แล้วจะค่อยๆ ลดลงมา และเมื่อแสดงในลักษณะของกราฟโครงร่าง จะเห็นความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของเอทานอลและกำลังของคลื่นไมโครเวฟที่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้มี

ลักษณะไม่เป็นเส้นตรงเช่นเดียวกับรูปที่ 3(ข) โดยที่เส้นโค้งตรงกลาง (แถบพื้นที่สีแดงเข้ม) แสดงถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้สูงสุดมีค่ามากกว่า  $120 \text{ mg}_{\text{GAE}}/\text{g}_{\text{DW}}$  ส่วนเส้นโค้งถัดออกมา (แถบพื้นที่สีแดง, ส้ม, เขียวอ่อน, เขียว, เขียวเข้ม ตามลำดับ) จะแสดงถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่เริ่มลดลง คือ 112, 102, 92, 82 และ  $72 \text{ mg}_{\text{GAE}}/\text{g}_{\text{DW}}$  ตามลำดับ

จากกราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนองของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ในรูปที่ 4(ก) ระหว่างระยะเวลาในการสกัดและกำลังของคลื่นไมโครเวฟ โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของเอทานอลคงที่ (ร้อยละ 30 โดยปริมาตร) พบว่า เมื่อระยะเวลาในการสกัดและกำลังของคลื่นไมโครเวฟเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้มีปริมาณสูงขึ้นจนถึงจุดๆ หนึ่ง แล้วจะค่อยๆ ลดลงมา และเมื่อแสดงในลักษณะของกราฟโครงร่าง จะเห็นความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของระยะเวลาในการสกัดและกำลังของคลื่นไมโครเวฟที่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้มีลักษณะไม่เป็นเส้นตรงเช่นเดียวกับรูปที่ 4(ข) โดยที่เส้นโค้งตรงกลาง (แถบพื้นที่สีแดงเข้ม) แสดงถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้สูงสุดมีค่ามากกว่า  $120 \text{ mg}_{\text{GAE}}/\text{g}_{\text{DW}}$  ส่วนเส้นโค้งถัดออกมา (แถบพื้นที่สีแดง, แดงอ่อน, ส้ม, เหลือง, เขียวอ่อน, เขียว, เขียวเข้ม ตามลำดับ) จะแสดงถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่เริ่มลดลง คือ 120, 110, 100, 90, 80, 70 และ  $60 \text{ mg}_{\text{GAE}}/\text{g}_{\text{DW}}$  ตามลำดับ

จากตารางที่ 4 พบว่าผลการทำนายสถานะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดจากปัจจัยในการสกัดทั้ง 3 ปัจจัยดังกล่าวข้างต้นพบว่าสถานะที่เหมาะสมที่สุดจากแบบจำลอง คือ ความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 34.13 โดยปริมาตร

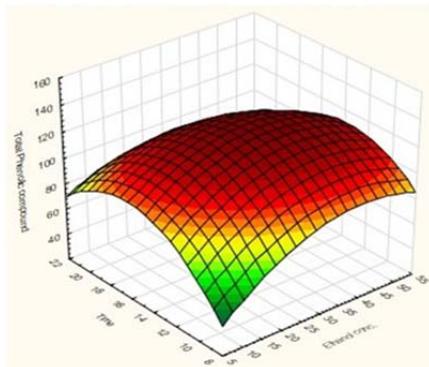
ระยะเวลาในการสกัดที่ 14.79 นาที และกำลังของคลื่นไมโครเวฟที่ 292.91 วัตต์ ทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 134.64 mg<sub>GAE</sub>/g<sub>DW</sub> ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับสภาวะที่เหมาะสมจากการคำนวณและค่าจากสภาวะการทดลองจริง (ความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 34 โดยปริมาตร ระยะเวลาในการสกัดที่ 15 นาที และกำลังของคลื่นไมโครเวฟที่ 300 วัตต์) มี

ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ใกล้เคียงกัน คือ 134.56 และ 134.58 mg<sub>GAE</sub>/g<sub>DW</sub> ตามลำดับ และภายใต้สภาวะการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดที่ได้จากสภาวะการทดลองจริงนี้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด คือ มีค่าร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับร้อยละ 24.02±0.40

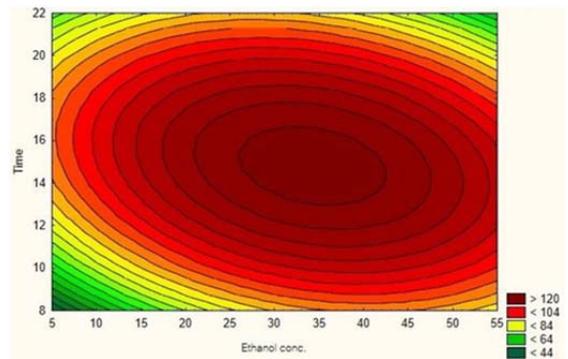
**ตารางที่ 3** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกลีบดอกบัวหลวง

Factor	Sum of Squares (SS)	df	Mean Square (MS)	F value	p-value Prob > F
Model	3385.45	9	376.16	7.54	0.019
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	990.05	1	990.05	19.86	0.007
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	1482.20	1	1482.20	29.73	0.003
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	630.87	1	630.87	12.65	0.016
Residual	249.30	5	49.86		
Lack of Fit	231.04	3	77.01	8.44	0.108
Pure error	18.26	2	9.13		
Total SS	3634.75	14			

Std. Dev. = 7.06, Mean = 107.57, R-Squared (R<sup>2</sup>) = 0.9314, Adj R-Squared (Adj R<sup>2</sup>) = 0.8080

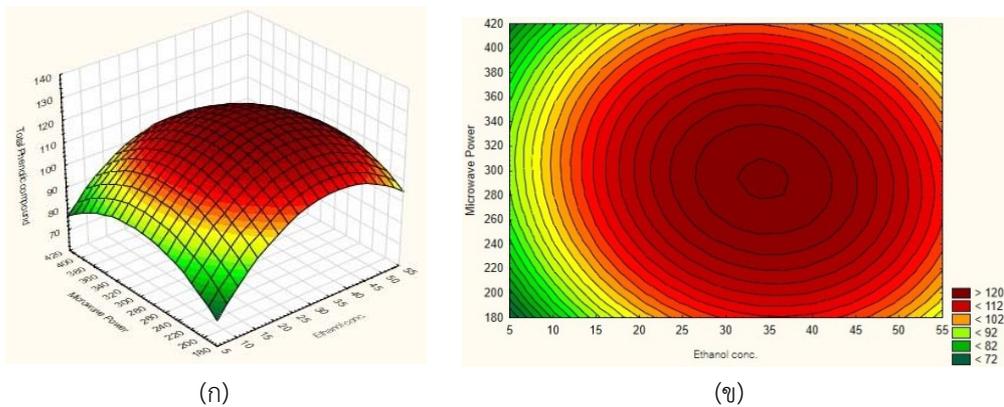


(ก)

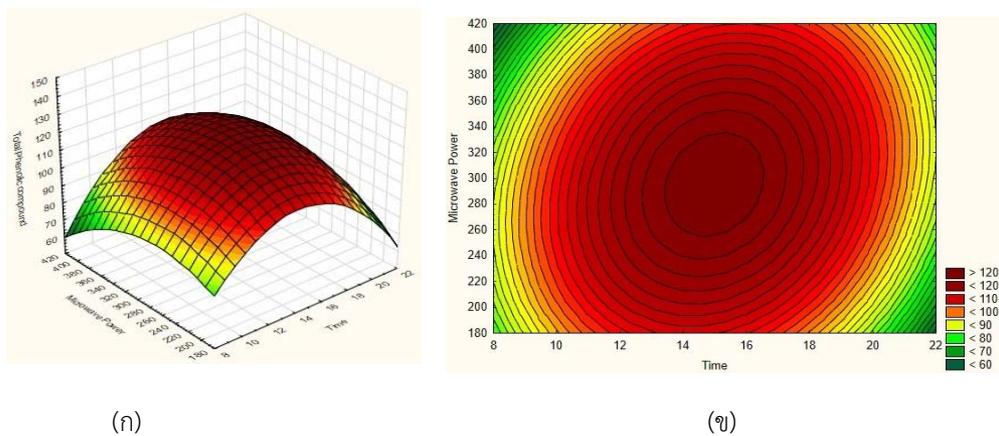


(ข)

**รูปที่ 2** กราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนอง (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของเอทานอลและ ระยะเวลาในการสกัดโดยกำหนดให้กำลังของคลื่นไมโครเวฟคงที่ (300 วัตต์) ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม



รูปที่ 3 กราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนอง (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของเอทานอลและกำลังของคลื่นไมโครเวฟโดยกำหนดให้ระยะเวลาในการสกัดคงที่ (15 นาที) ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม



รูปที่ 4 กราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนอง (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ของระยะเวลาในการสกัดและกำลังของคลื่นไมโครเวฟโดยกำหนดให้ความเข้มข้นของเอทานอลคงที่ (ร้อยละ 30) ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

**ตารางที่ 4** การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่ได้จากการทดลอง และจากสมการทำนาย สภาวะที่เหมาะสมของแบบจำลอง

	ความเข้มข้นของ เอทานอล (% v/v) : (X <sub>1</sub> )	ระยะเวลาใน การสกัด (นาที) (X <sub>2</sub> )	กำลังของคลื่น ไมโครเวฟ (วัตต์) (X <sub>3</sub> )	ปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกรวม (mg <sub>GAE</sub> /g <sub>DW</sub> )
สภาวะที่เหมาะสม (จากแบบจำลอง)	34.13	14.79	292.91	134.64
สภาวะที่เหมาะสม (จากการคำนวณ)	30	15	300	134.56
สภาวะที่เหมาะสม (จากการทดลองจริง)	34	15	300	134.58±0.20

**หมายเหตุ** 1. ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน  
2. ในการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของผลการทดลองจากสภาวะการทดลองจริง โดยทำ การเจือจางสารสกัดตัวอย่างด้วย เอทานอล 10 เท่า มีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับร้อยละ 24.02±0.40

### วิจารณ์ผลการวิจัย

ในการศึกษาการประยุกต์ใช้วิธีพื้นที่ผิว ตอบสนอง (Response surface methodology) วาง แผนการทดลองแบบ Box-Behnken Design (BBD) เพื่อ หาสภาวะที่เหมาะสมของปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้จากกลีบดอกบัว หลวง โดยใช้เทคนิคสกัดด้วยไมโครเวฟ ซึ่งพบว่าปัจจัย ที่ใช้ใน การสกัด คือ ความเข้มข้นของเอทานอล (X<sub>1</sub>) ระยะเวลา ในการสกัด (X<sub>2</sub>) และกำลังของคลื่น ไมโครเวฟ (X<sub>3</sub>) มีผล ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้ โดยทั้ง 3 ปัจจัย มีผลเกี่ยวเนื่องกัน จากการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงให้เห็นว่าข้อมูล ที่ได้ จากการทดลองนี้ทำให้ได้แบบจำลองที่มีความถูกต้อง เหมาะสม เนื่องจากมีค่า R<sup>2</sup> เท่ากับ 0.9314 สอดคล้อง กับ งานวิจัยของ Narkprasom et al. (2015) ที่ รายงานว่าค่า R<sup>2</sup> เป็นค่าที่ใช้เพื่อพิจารณาความ เหมาะสมของแบบจำลอง แบบจำลองที่ดีควรมีค่า R<sup>2</sup> ที่เข้าใกล้ 1.0 และ มีค่า R<sup>2</sup> มากกว่า 0.80 สำหรับการ ทดสอบความเหมาะสม ของสมการถดถอยจะพิจารณา จาก Lack of Fit ซึ่งจาก ข้อมูลการทดลองนี้มีค่า เท่ากับ 0.1078 ซึ่งไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยงานวิจัยของ หทัยกาญจน์และ คณะ (2558) ได้

อธิบายว่าการไม่มีนัยสำคัญของ Lack of Fit (P>0.05) แสดงว่าแบบจำลองที่ได้มีความเหมาะสมกับ ข้อมูลการ ทดลองอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับการวิเคราะห์ความ แปรปรวน (ANOVA) ของข้อมูลโดยการวิเคราะห์ความ แปรปรวนของปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกรวมจาก กลีบดอกบัวหลวง ซึ่งค่า Pvalue ในเทอมกำลังสอง ของ X<sub>1</sub><sup>2</sup>, X<sub>2</sub><sup>2</sup> และ X<sub>3</sub><sup>2</sup> มีค่าน้อย กว่าค่า นัยสำคัญทางสถิติที่กำหนด โดยสอดคล้องกับ งานวิจัย ของดาริกาและคณะ (2556) ได้อธิบายว่าการ วิเคราะห์ ANOVA เป็นการตรวจสอบแหล่งต้นแปรของ แบบจำลองโดยพิจารณาจากค่า P-value ของเทอม ต่างๆ (เทอมของตัวแปรอิสระ เทอมอันตรกิริยา และ เทอมกำลัง สอง) ซึ่งพบว่าค่า P-value ของผลรวมของ เทอมเส้นตรง และเทอมกำลังสองมีค่าน้อยกว่า 0.05 แสดงว่ามีส่วนโค้ง เกิดขึ้นที่พื้นที่ผิวตอบสนอง นอกจากนี้ Yetilmezsoy et al. (2009) ยังรายงานว่า การวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม ของตัวแปรต่างๆ จะ ทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ของ แบบจำลองที่สร้างขึ้น โดยค่า P-value ของแบบจำลอง ควรมีค่าน้อยกว่า 0.05 ดังนั้นจากการทดลองนี้สามารถหา สมการ พหุนามกำลังสองมาใช้ในการทำนายหาสภาวะที่

เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกลีบดอกบัวหลวงโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยไมโครเวฟ

จากกราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนองและกราฟโครงร่างของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากกลีบดอกบัวหลวง (รูปที่ 2-4) ที่ศึกษาอิทธิพลของตัวแปรอิสระจากปัจจัยที่ใช้ในการสกัดทั้งสามปัจจัย พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดสูงขึ้น เมื่อความเข้มข้นของเอทานอล ระยะเวลาในการสกัด และกำลังของคลื่นไมโครเวฟเพิ่มขึ้น เนื่องจากไมโครเวฟใช้หลักการสั่นสะเทือนของคลื่น ทำให้เกิดความร้อน และความร้อนนั้นจะทำให้ผนังเซลล์ของกลีบดอกบัวหลวงเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว ทำให้สารประกอบฟีนอลิกรวมสกัดออกมาได้มาก (ดวงกมล, 2557) และเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลสูงกว่าร้อยละ 30 โดยปริมาตร ระยะเวลาในการสกัดนานกว่า 15 นาที และกำลังของคลื่นไมโครเวฟสูงกว่า 300 วัตต์ มีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้ลดลง การลดลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเกิดจากการถูกความร้อนที่สูงขึ้นรวมทั้งระยะเวลาในการสกัดที่นานเกินความเหมาะสม อาจทำให้พันธะเอสเทอร์ของสารประกอบฟีนอลิกเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารชนิดอื่น (Dahmoune et al., 2014) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Dai and Mumper (2010) ที่พบว่าชนิดของตัวทำละลายสามารถส่งผลโดยตรงต่อกระบวนการสกัด ซึ่งเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระและไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ นอกจากนี้ Narkprasom et al. (2015) ได้ศึกษาใช้เทคนิคไมโครเวฟในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเมล็ดมะเกี๋ยง และ Song et al. (2011) สกัดจากใบมันเทศ อธิบายว่าการใช้เทคนิคไมโครเวฟสำหรับการสกัดสารสำคัญนี้มีประสิทธิภาพสูง เนื่องจากเป็นการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับตัว

ทำละลายอินทรีย์ในการสกัด แต่เมื่อกำลังไมโครเวฟสูงขึ้นทำให้เกิดการสั่นสะเทือนของคลื่นไมโครเวฟ จากนั้นสารละลายเกิดการหมุนหรือสั่นทำให้เกิดความร้อนที่กระจายตัวไปยังตัวทำละลาย และเนื่องจากระยะเวลาในการสกัดที่นานขึ้นร่วมด้วย จึงมีผลต่อการถูกทำลายหรือการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิก

เมื่อพิจารณาผลของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดได้จากการวางแผนการทดลองแบบ Box-Behnken Design (BBD) ต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ค่าร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH) จะเห็นได้ว่า ผลการทำนายสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดจากปัจจัยในการสกัดทั้ง 3 ปัจจัยมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีเช่นกัน ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการทดลองมีค่ามากกว่างานวิจัยของสุธีราและประสพอร (2559) ที่พบว่าสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยเมทานอลจากดอกแก้วแระและดอกส้มป่อยนั้น มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ  $113.54 \pm 2.75$  และ  $60.96 \pm 3.64$  mg<sub>GAE</sub>/g<sub>DW</sub> ตามลำดับ และยังพบว่าสารสกัดจากพืชทั้งสองชนิด มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH นอกจากนี้ สุชาติดาและปวีณา (2558) ได้อธิบายว่าสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดมีกลไกการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันไป โดยในวิธี DPPH สารสกัดที่ให้ไฮโดรเจนอะตอมในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดี คือ ดอกกานพลู โกฎงปลา และบัวเผื่อน ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่ให้ผลสูงสุด

ดังนั้น การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกลีบดอกบัวหลวงจากงานวิจัยนี้ทำให้ทราบความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในระหว่างกระบวนการสกัด

ด้วยเทคนิคไมโครเวฟ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของตัวทำละลาย ระยะเวลาในการสกัด และกำลังของคลื่นไมโครเวฟของสารสกัดที่เหมาะสม จะทำให้กระบวนการสกัดสารประกอบฟีนอลิกที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากวัตถุดิบธรรมชาติอื่นๆ ได้ในปริมาณสูงด้วย

### สรุปผลการวิจัย

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกลีบดอกบัวหลวงโดยใช้เทคนิคสกัดด้วยไมโครเวฟที่ให้ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด คือ ความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 34 (ร้อยละโดยปริมาตร) ระยะเวลาในการสกัด 15 นาที และกำลังของคลื่นไมโครเวฟ 300 วัตต์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก รวมที่ได้จากการทดลองสูงสุดเท่ากับ  $134.58 \pm 0.20 \text{ mg}_{\text{GAE}}/\text{g}_{\text{DW}}$  ซึ่งภายใต้สภาวะการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดที่ได้นี้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวัดเป็นค่าร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับร้อยละ 24.02 นอกจากนี้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ได้ยังมีความน่าเชื่อถือสามารถนำไปพัฒนากระบวนการสกัดเพื่อให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอย่างมีประสิทธิภาพ และสามารถนำสารสกัดที่ได้ไปประยุกต์ใช้เป็นผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่าในเภสัชกรรมเวชสำอาง อาหารเสริมเพื่อสุขภาพต่อไป

### กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2557 ที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ที่อำนวยความสะดวก

สะดวกในการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ และห้องปฏิบัติการ ทำให้การดำเนินการวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

### เอกสารอ้างอิง

- เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม. (2554). อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา.วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์ 1(1): 59-70.
- ดาริกา อวษภาค นพรัตน์ มะเห และตลฤดี พิษย์รัตน์. (2556). การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายพมนางโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง.วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 41(2): 414-430.
- ดวงกมล เรือนงาม. (2557). การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ.วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง 23(2): 120-139.
- บุหริน พันธุ์สวรรค์. (2013). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ.วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 21(3): 275-286.
- ภาณุพล หงษ์ภักดี. (2556). บัวหลวง: ศักยภาพไม้ดอกไทยสู่ตลาดอาเซียน. เก่นเกษต, 41(3): 213-220.
- รวินิภา ศรีมูล และศิริจันทร์ ตาใจ. (2557). ปริมาณฟีนอลรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผลไม้แปรรูปในจังหวัดจันทบุรี.วารสารวิจัย 7(1): 24-30.
- สุชาดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ. (2558). การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรายาหอมเทพจิตร. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์ 15(1): 106-117.
- สุธิรา มณีฉาย และประสพอร รินทอง. (2559). ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดเมทานอลจากดอกแก้วแระและดอกส้มป่อย.วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 44(1): 142-152.
- สุรัตน์วดี วงศ์คลัง เลอลักษณ์ เสถียรรัตน์ และอรุณพร อิฐรัตน์. (2557). การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของบัวหลวง.วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 45 (ฉบับพิเศษ 2): 673-676.
- หทัยกาญจน์ กกแก้ว กฤษณา สุศรีพ และเทพฤทธิ์ ปีติฤทธิ์. (2558). สภาวะที่เหมาะสมของปริมาณสารแอนโทไซ

- ยานินพินอลิก และการต้านออกซิเดชันในเค้กข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงโดยใช้วิธีการพื้นผิวตอบสนอง. แก่นเกษตร 43 (ฉบับพิเศษ 1): 790-798.
- Dahmoune, F., Nayak, B., Moussi, K., Remini, H. and Madani, K. (2014). Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. *Food Chemistry* 166: 585-595.
- Dai, J. and Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15: 7313-7352.
- Junior, M.R.M., Leite, A.V. and Dragano, N.R.V. (2010). Supercritical fluid extraction and stabilization of phenolic compounds from natural sources—review (supercritical extraction and stabilization of phenolic compounds). *The Open Chemical Engineering Journal* 4: 51-60.
- Kaan Yetilmezsoya, K., Demirelb, S. and Vanderbeic, R. J. (2009). Response surface modeling of Pb(II) removal from aqueous solution by *Pistacia vera* L.: Box–Behnken experimental design. *Journal of Hazardous Materials* 171(1-3): 551-562.
- Namjooyan, F., Azemi, M.E. and Rahmanian, V.R.(2010). Investigation of antioxidant activity and total phenolic content of various fractions of aerial parts of *Pimpinella barbata* (DC.) Boiss. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products* 5(1): 1-5.
- Narkprasom, N., Narkprasom, K. and 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.
- Quy, D.D., Artik, E.A., Phuong, L.T-N., Lien, H.H., Felycia, E.S., Suryadi, I. and Ju, Y-H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. *Journal of Food and Drug Analysis* 22: 296-302.
- Rajha, H. N., Darra, N. E., Hobaika, Z., Boussetta, N., Vorobiev, E., Maroun, R. G. and Louka, N. (2014). Extraction of total phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins and tannins from grape byproducts by response surface methodology. influence of solid-liquid ratio, particle size, time, temperature and solvent mixture on the optimization process. *Food and Nutrition Sciences* 5: 397-409.
- Song, J., Li, D., Liu, Chunquan. and 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.
- Venkatesh, B. and Dorai, A. (2011). Antibacterial and antioxidant potential of white and pink *Nelumbo Nucifera* Gaertn flowers. In: *International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. Singapore: IPCBEE IACSIT Press. 213-217.
- Yetilmezsoy, K., Demirel, S., and Vanderbei, R.J. (2009). Response surface modeling of Pb (II) removal from aqueous solution by *Pistacia vera* L.: Box-Behnken experimental design. *Journal of Hazardous Materials* 171(1-3): 551-562.

