

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก
การเอนแคปซูเลชัน และจลนพลศาสตร์ของสารลูทีนจากดอกดาวเรือง



ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2568

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก
การเอนแคปซูเลชัน และจลนพลศาสตร์ของสารลูทีนจากดอกดาวเรือง



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2568

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การหาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก
การเอนแคปซูเลชัน และจลนพลศาสตร์ของสารลูทีนจากดอกดาวเรือง

นิภาธร วิลัยลักษณ์

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา นาคประสม)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นักรบ นาคประสม)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หยาดฝน ทนงการกิจ)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หยาดฝน ทนงการกิจ)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ชัยยศ สัมฤทธิ์สกุล)

รองอธิการบดี

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ชื่อเรื่อง	การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกการเอนแคปซูลเลชัน และจลนพลศาสตร์ของสารลูทีนจากดอกดาวเรือง
ชื่อผู้เขียน	นางสาวนิภาธร วิสัยลักษณ์
ชื่อปริญญา	วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา นาคประสม

บทคัดย่อ

ดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) เป็นพืชไม้ดอกเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย และเป็นแหล่งสำคัญของสารลูทีน (lutein) ซึ่งมีคุณสมบัติทางชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระ และช่วยลดความเสี่ยงของโรคจอประสาทตาเสื่อม งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนและสารต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก (Ultrasonic-assisted extraction) ร่วมกับการออกแบบการทดลองแบบพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology: RSM) โดยใช้แผนการทดลองแบบ Box-Behnken ซึ่งพิจารณาปัจจัย 3 ตัวแปร ได้แก่ ความเข้มข้นของแอมพลิจูด (ร้อยละ 20–60%) เวลาในการสกัด (15–25 นาที) และความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละ 40–80) ผลการศึกษาพบว่าสภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่สุด ได้แก่ แอมพลิจูดร้อยละ 42% ระยะเวลาในการสกัด 16 นาที และความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 80 ซึ่งให้ปริมาณสารลูทีนสูงสุดที่ 7.06 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง 1 กรัม และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 79.82% จากนั้นจึงนำสารสกัดที่ได้ไปผ่านกระบวนการทำให้แห้งและห่อหุ้มด้วยมอลโตเด็คซ์ตริน เพื่อศึกษาจลนพลศาสตร์และความคงตัวของผงสารสกัดภายใต้การเก็บรักษาในอุณหภูมิ 4, 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส ผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิการเก็บรักษามีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยพบว่าค่าครึ่งชีวิต (half-life) ของปริมาณสารลูทีนภายใต้แต่ละอุณหภูมิเท่ากับ 173.3, 46.2, 20.4 และ 9.5 วัน ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างอุณหภูมิกับความคงตัวของสารสำคัญ ผลการศึกษานี้สะท้อนให้เห็นถึงศักยภาพในการใช้เทคนิคการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับกระบวนการเอนแคปซูลเลชัน เพื่อพัฒนาเป็นผงสารสกัดที่คงคุณสมบัติทางชีวภาพไว้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลลัพธ์จากงานวิจัยนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ และมีศักยภาพในการต่อยอดสู่กระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรม ทั้งยังเป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้กับดอกดาวเรือง และส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรไทยอย่างยั่งยืน

คำสำคัญ : ดอกดาวเรือง, สารลูทีน, การหาสภาวะที่เหมาะสม, การสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิก, เอนแคปซูเลชัน



Title	OPTIMIZATION OF ULTRASONIC-ASSISTED EXTRACTION,ENCAPSULATION, AND KINETICS OF LUTEINFROM MARIGOLD FLOWERS.
Author	Miss Nipathon Wilailak
Degree	Master of Engineering in Food Engineering
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Kanjana Narkprasom

ABSTRACT

Marigold (*Tagetes erecta* L.) is an important ornamental and economic crop in Thailand and is a rich natural source of lutein, a bioactive compound known for its potent antioxidant properties and its role in reducing the risk of age-related macular degeneration. This study aimed to determine the optimal conditions for extracting lutein and antioxidant compounds from marigold flowers using ultrasonic-assisted extraction (UAE) in combination with response surface methodology (RSM) based on a Box-Behnken design. Three independent variables were investigated: amplitude intensity (20–60%), extraction time (15–25 minutes), and ethanol concentration (40–80%). The optimal extraction conditions were found to be an amplitude of 42%, extraction time of 16 minutes, and ethanol concentration of 80%, which yielded the highest lutein content of 7.06 mg/g dry weight and antioxidant activity of 79.82%. The extracted compounds were then subjected to spray drying and encapsulation using 20% maltodextrin as the wall material. The encapsulated marigold powder was evaluated for kinetic degradation and storage stability under varying temperatures of 4, 25, 35, and 45 °C. The results showed that storage temperature had a statistically significant effect ($p < 0.05$) on key physicochemical properties such as water activity (a_w) and lutein content. The calculated half-lives of lutein degradation at 4, 25, 35, and 45 °C were 173.3, 46.2, 20.4, and 9.5 days, respectively, indicating a negative correlation between storage temperature and compound stability. This study demonstrates the effectiveness of combining

ultrasonic-assisted extraction and encapsulation to produce a stable marigold extract powder while preserving its bioactive properties. The findings highlight the commercial potential of marigold as a raw material for developing functional health supplements, with scalability to industrial production and opportunities to enhance the economic value of Thai medicinal plants in a sustainable manner.

Keywords : Marigold, Lutein, Optimization, Ultrasonic extraction, Encapsulation



กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง “การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก การเอนแคปซูเลชัน และจลนพลศาสตร์ของสารลูทีนจากดอกดาวเรือง” เป็นผลงานที่ผู้วิจัยได้ทุ่มเททั้งสติปัญญา แรงกาย และแรงใจในการดำเนินการอย่างเต็มความสามารถ โดยตลอดระยะเวลาการทำวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้รับความอนุเคราะห์ คำแนะนำ และความช่วยเหลือจากหลายภาคส่วน ซึ่งล้วนมีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งต่อความสำเร็จของงานวิจัย

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรีสุวรรณ นฤนาทวงศ์สกุล ที่ให้เกียรติมาเป็นประธานในการสอบวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา นาคประสม อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ที่ได้ให้คำแนะนำ ความรู้ และข้อเสนอแนะอย่างใกล้ชิดมาโดยตลอด ทั้งในด้านวิชาการและการพัฒนาทักษะการวิจัยอย่างเป็นระบบ รวมถึงความเอาใจใส่และเมตตาที่มีให้ตลอดการดำเนินงาน จนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นักรบ นาคประสม และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หยาดฝน ทนงการกิจ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำแนะนำอันทรงคุณค่า และช่วยตรวจสอบแก้ไข และสนับสนุนในทุกขั้นตอนอย่างใส่ใจ ทำให้งานวิจัยมีความถูกต้องสมบูรณ์และมีคุณภาพยิ่งขึ้น

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณอาจารย์และเจ้าหน้าที่ทุกท่านในคณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร ที่ได้ถ่ายทอดความรู้ แนวคิด และแรงบันดาลใจตลอดช่วงระยะเวลาการศึกษาในระดับบัณฑิตศึกษา ซึ่งล้วนมีส่วนสำคัญในการเสริมสร้างองค์ความรู้และมุมมองทางวิชาการแก่ข้าพเจ้าเป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบคุณเพื่อนร่วมวิจัยและบุคลากรในห้องปฏิบัติการทุกท่าน สำหรับมิตรภาพ ความช่วยเหลือ และการร่วมมือที่ดีตลอดระยะเวลาการศึกษาค้นคว้า อันเป็นแรงสนับสนุนสำคัญในการดำเนินงานครั้งนี้

ท้ายที่สุดนี้ ข้าพเจ้าขอแสดงความขอบคุณอย่างสุดซึ้งต่อครอบครัวที่เป็นกำลังใจและแรงสนับสนุนที่มั่นคงในทุก ๆ ด้านมาโดยตลอด ความรัก ความเข้าใจ และความเชื่อมั่นจากครอบครัว คือแรงผลักดันสำคัญที่ทำให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้อย่างสมบูรณ์

นิภาธร วิลัยลักษณ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ซ
สารบัญตาราง.....	ฐ
สารบัญภาพ.....	ฅ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ที่มาและความสำคัญ.....	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
ดาวเรือง	4
1. ถิ่นกำเนิด	5
2. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	5
3. การจำแนกดาวเรือง	7
5. องค์ประกอบทางเคมีในดอกดาวเรือง.....	10
5.1 สารลูทีน (Lutein)	10
5.2 สารซีแซนทีน (Zeaxanthin)	11
5.3 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compounds).....	12
เทคนิคในการสกัด.....	13

การสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิก (Ultrasound-assisted extraction: UAE).....	15
1. หลักการทำงาน.....	15
2. ปรากฏการณ์คาวิเทชัน (cavitation).....	16
3. เครื่องอัลตราโซนิก.....	18
การวิเคราะห์ทางเคมีและทางกายภาพ	21
1. โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High-Performance Liquid Chromatography: HPLC).....	21
2. การวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer).....	23
3. การวัดค่าสี.....	24
4. ปริมาณความชื้น (Moisture content) และปริมาณน้ำอิสระ (a_w).....	27
การออกแบบการทดลอง (Design of Experiment: DOE).....	29
การออกแบบพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology หรือ RSM).....	29
1. การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken Design (BBD).....	31
2. การออกแบบการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD).....	32
3. การออกแบบการทดลองแบบ Face-Centered Cubic Design (FCC)	32
4. การหาสภาวะที่เหมาะสม (Response optimization).....	33
เทคนิคการเอนแคปซูเลชัน (Encapsulation Techniques)	35
1. สารห่อหุ้ม (Wall material)	37
2. เทคนิคเอนแคปซูเลชันสารให้กลิ่นรส	38
เครื่องทำแห้งแบบฟลูอิดไต์เบด (fluidized bed drier).....	40
1. ทฤษฎีการทำแห้งแบบฟลูอิดไต์เบด.....	40
2. หลักการทำงาน.....	40
3. องค์ประกอบของเครื่อง.....	42
4. ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการแห้ง.....	42

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	43
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงานวิจัย	45
วัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย	45
อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย	45
สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	45
วิธีดำเนินงานวิจัย	46
1. การเตรียมตัวอย่าง	46
2. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง ด้วยคลื่นอัลตราโซนิก	46
3. การออกแบบพื้นที่ผิวตอบสนอง แบบ Box-Behnken Design	46
4. การวิเคราะห์หาปริมาณสารลูทีนด้วยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)	48
5. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH assay)	49
6. การห่อหุ้มสารสกัดจากดอกดาวเรืองโดยใช้เทคนิคเอนแคปซูเลชัน	50
7. ศึกษาความคงตัวของเอนแคปซูลสารสกัดดอกดาวเรืองในระหว่างการเก็บรักษา	50
8. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ (Water activity: a_w)	51
9. การวิเคราะห์ปริมาณค่าความชื้น	51
10. การวิเคราะห์ค่าสี	51
11. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ	51
แผนภาพขั้นตอนการดำเนินงาน (แผนภูมิ)	52
สถานที่ดำเนินงานวิจัย	53
ระยะเวลาดำเนินการ (ตาราง)	53
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	54
การประเมินสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของตัวอย่าง	54

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการและตัวทำละลาย	55
การศึกษาอิทธิพลของปัจจัยที่ต้องการศึกษาในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก	57
การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก.....	58
1. การคัดเลือกปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง.....	58
2. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก	60
2.1. การศึกษาอิทธิพลของแอมพลิจูดต่อการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง	60
2.2. การศึกษาอิทธิพลของเวลาต่อการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง	61
2.3. การศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของตัวทำละลายต่อการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง	62
3. การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับความถดถอยของสารลูทีนจากดอกดาวเรือง	62
4. ผลของการสร้างพื้นผิวตอบสนองแบบจำลองทางคณิตศาสตร์	64
การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่น อัลตราโซนิก.....	67
1. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก.....	67
2. การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับความถดถอยของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง.....	68
3. ผลของการสร้างพื้นผิวตอบสนองแบบจำลองทางคณิตศาสตร์	70
การแปรรูปผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองด้วยกระบวนการเอนแคปซูเลชัน	73
การศึกษาจลนพลศาสตร์และความคงตัวของผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองต่อคุณสมบัติทั่วไปทางเคมีและทางกายภาพ	75
1. ผลจลนพลศาสตร์และความคงตัวของผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองต่อปริมาณน้ำอิสระ (a_w)	75
2. ผลจลนพลศาสตร์และความคงตัวของผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองต่อปริมาณสารลูทีน ..	76

3. ผลของอิทธิพลจลนพลศาสตร์ของผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองที่อุณหภูมิ 4, 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส.....	80
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	82
ข้อเสนอแนะ.....	83
ภาคผนวก.....	84
ภาคผนวก ก ภาพประกอบการทำวิจัย.....	84
วิธีดำเนินงานวิจัย	85
1. การเตรียมตัวอย่าง	85
2. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก	86
3. การวิเคราะห์หาปริมาณสารลูทีนด้วยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC).....	86
4. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH assay)	87
5. การห่อหุ้มสารสกัดจากดอกดาวเรืองโดยใช้เทคนิคเอนแคปซูเลชัน.....	87
7. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ	89
8. การวิเคราะห์ปริมาณค่าความชื้น.....	89
ภาคผนวก ข การประยุกต์และต่อยอดผลงานวิจัย	90
ภาคผนวก ค บทความวิจัย	96
บรรณานุกรม.....	115
ประวัติผู้วิจัย.....	121

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 สารห่อหุ้มและการนำไปใช้ (Gupta et al., 2016).....	37
ตารางที่ 2 การประยุกต์วิธีการห่อหุ้มแบบต่างๆ ในอุตสาหกรรมอาหาร (Madene et al., 2006)..	39
ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริง และค่ารหัสของตัวแปรที่ศึกษา	47
ตารางที่ 4 การออกแบบพื้นผิวตอบสนองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนและซีแซนทีน โดย Box-Behnken Design	47
ตารางที่ 5 ค่าความดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 200-700 นาโนเมตร และความเข้มข้นของสาร มาตรฐานลูทีน	49
ตารางที่ 6 ระยะเวลาดำเนินงานและแผนการทำงาน.....	53
ตารางที่ 7 คุณสมบัติทางเคมีของตัวอย่าง	55
ตารางที่ 8 ผลการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการและตัวทำละลายในการสกัดสารลูทีน	56
ตารางที่ 9 ผลการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการและตัวทำละลายในการสกัดฤทธิ์ต้าน อนุมูลอิสระ	56
ตารางที่ 10 การศึกษาอิทธิพลของแอมพลิจูดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกที่มีผลต่อการสกัดสารลูทีน	57
ตารางที่ 11 การศึกษาอิทธิพลของแอมพลิจูดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกที่มีผลต่อการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูล อิสระ.....	58
ตารางที่ 12 การทดลองเชิงเศษส่วนแฟคทอเรียล 2^{4-1} (Fractional Factorial Experiments).....	59
ตารางที่ 13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับความถดถอยของสารลูทีนจากดอกดาวเรือง	59
ตารางที่ 14 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซ นิก.....	60
ตารางที่ 15 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับความถดถอยในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง	63
ตารางที่ 16 การเปรียบเทียบสารลูทีนที่สภาวะต่าง ๆ ในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง	66
ตารางที่ 17 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองด้วย คลื่นอัลตราโซนิก.....	67

ตารางที่ 18 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับความถดถอยในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง	69
ตารางที่ 19 การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสภาวะต่าง ๆ ในการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง	72
ตารางที่ 20 คุณสมบัติทางกายภาพของผงสารสกัดจากดอกดาวเรือง	73
ตารางที่ 21 ผลของปริมาณสารลูทีน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผงสารสกัดจากดอกดาวเรือง	74
ตารางที่ 22 คุณสมบัติทางเคมีและประสิทธิภาพในการกักเก็บของผงสารสกัดจากดอกดาวเรือง	74
ตารางที่ 23 ผลของความคงตัวของผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองต่อปริมาณน้ำอิสระ ที่อุณหภูมิ 4, 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส หลังจาก 30 วัน	76



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ดอกดาวเรือง	4
ภาพที่ 2 ลักษณะต้นของดาวเรือง (ก) ลักษณะใบดาวเรือง (ข) ช่อดอกดาวเรือง (ค).....	7
ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของสารลูทีน ($C_{40}H_{56}O_2$)	11
ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของสารซีแซนทีน ($C_{40}H_{56}O_2$)	11
ภาพที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก (C_6H_5OH)	12
ภาพที่ 6 คลื่นความถี่ของอัลตราซาวด์และการนำไปใช้ประโยชน์	15
ภาพที่ 7 การเกิดปรากฏการณ์ควิเทชัน	17
ภาพที่ 8 อ่างอัลตราโซนิก (Ultrasonic bath)	19
ภาพที่ 9 หัวส่งของระบบอัลตราโซนิกแบบโพรบ	20
ภาพที่ 10 ฮอร์น (horn).....	21
ภาพที่ 11 องค์ประกอบของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	22
ภาพที่ 12 ตัวอย่างลักษณะกราฟมาตรฐาน	24
ภาพที่ 13 แผนภาพแสดงการอธิบายสีในระบบ CIE Lab ในมุมมองแบบสองมิติ.....	26
ภาพที่ 14 แผนภาพแสดงการอธิบายสีในระบบ CIE Lab ในมุมมองแบบสามมิติ	26
ภาพที่ 15 การออกแบบการทดลองในรูปของกล่อง โดยวิธีพื้นผิวตอบสนองแบบ BBD	31
ภาพที่ 16 การออกแบบการทดลองในรูปของทรงกลม โดยวิธีพื้นผิวตอบสนองแบบ CCD.....	32
ภาพที่ 17 การออกแบบการทดลองในรูปของกล่อง โดยวิธีพื้นผิวตอบสนองแบบ FCC.....	33
ภาพที่ 18 มิติของผลตอบสนองแบบโครงร่างพื้นผิว	34
ภาพที่ 19 ภาพ Contour plot ของผลตอบสนองแบบโครงร่างพื้นผิว.....	35
ภาพที่ 20 กระบวนการเอนแคปซูเลชัน.....	36
ภาพที่ 21 การป้องกันการเกิดออกซิเดชันและรีดักชันของน้ำมันหอมระเหยด้วยเอนแคปซูเลชัน.....	36

ภาพที่ 22 เทคนิคเอนแคปซูเลชันสารให้กลิ่น	38
ภาพที่ 23 กระบวนการทำแห้งแบบฟลูอิดไรซ์เบด.....	41
ภาพที่ 24 กระบวนการทำแห้งแบบฟลูอิดไรซ์เบด.....	41
ภาพที่ 25 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ที่ความยาวคลื่น 200-700 นาโนเมตร และ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานลูทีน	49
ภาพที่ 26 อิทธิพลของแอมพลิจูดและเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารลูทีนจากดอกดาวเรือง	65
ภาพที่ 27 อิทธิพลของแอมพลิจูดและความเข้มข้นของตัวทำละลายต่อปริมาณสารลูทีน.....	65
ภาพที่ 28 อิทธิพลของเวลาในการสกัดและความเข้มข้นของตัวทำละลายต่อปริมาณสารลูทีน.....	66
ภาพที่ 29 อิทธิพลของแอมพลิจูดและเวลาในการสกัดต่อปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	71
ภาพที่ 30 อิทธิพลของแอมพลิจูดและความเข้มข้นของตัวทำละลายต่อปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จากดอกดาวเรือง ที่เวลาในการสกัด 15 นาที	71
ภาพที่ 31 อิทธิพลของเวลาในการสกัดและความเข้มข้นของตัวทำละลายต่อปริมาณ	72
ภาพที่ 32 แสดงปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เมื่อเก็บรักษาผงสารสกัดดอกดาวเรือง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	78
ภาพที่ 33 แสดงปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เมื่อเก็บรักษาผงสารสกัดดอกดาวเรือง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	78
ภาพที่ 34 แสดงปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เมื่อเก็บรักษาผงสารสกัดดอกดาวเรือง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส	79
ภาพที่ 35 แสดงปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เมื่อเก็บรักษาผงสารสกัดดอกดาวเรือง ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส	79
ภาพที่ 36 การเตรียมตัวอย่าง (32a) ดอกดาวเรือง, (32b) กลีบดอกดาวเรือง, (32c) อบแห้งด้วย เครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง, (32d) กลีบดอกดาวเรืองที่ผ่านการอบแห้งแล้ว, (32e) นำไปบด....	85
ภาพที่ 37 เครื่องอัลตราโซนิกแบบโพรบ (Sonics, VCX750A, U.S.A) (33a) และการสกัดสารลูทีน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก (33b).....	86
ภาพที่ 38 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (34a).....	86
ภาพที่ 39 เครื่องวัดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (LabioMed, Spectro SC series 002416).....	87

ภาพที่ 40 ผงสารสกัดจากดอกดาวเรือง.....	87
ภาพที่ 41 การศึกษาความคงตัวของผงสารสกัดดอกดาวเรือง.....	88
ภาพที่ 42 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ (AquaLab, Series 3TE, U.S.A) (38a)	89
ภาพที่ 43 เครื่องวัดปริมาณความชื้น (AND MX-50, Japan) (39a).....	89



บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

ดอกดาวเรือง (มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Tagetes erecta* L.) หนึ่งในพืชตระกูลไม้ดอกเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เป็นพืชไม้ดอกล้มลุกที่แพร่กระจายไปยังหลายประเทศทั่วโลก โดยถิ่นกำเนิดนั้นมาจากประเทศเม็กซิโกและทวีปแถบอเมริกาใต้ ได้รับความนิยมเนื่องจากปลูกง่าย แข็งแรง ไม่ค่อยเกิดโรคหรือมีแมลงมารบกวน และสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี โดยสามารถกำหนดระยะเวลาการออกดอกให้ตรงกับเทศกาลสำคัญ เพราะดอกดาวเรืองมีความหมายมงคลด้วยสีของดอก ที่มีสีเหลืองทองซึ่งหมายถึง ความเจริญรุ่งเรือง ความมั่นคงมั่นคง ผู้คนจึงนิยมใช้ประกอบพิธีมงคลและประดับสถานที่ในโอกาสสำคัญต่าง ๆ นอกจากนี้ยังสามารถใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย อาทิเช่น สกัดทำสีจากกลีบดอกเพื่อให้ได้สีเหลืองสำหรับย้อมผ้า ในอุตสาหกรรมปศุสัตว์นำไปผสมในอาหารไก่เพื่อเพิ่มสีไข่แดง (Skřivan et al., 2015) และสีผิวไก่เนื้อ (Wang et al., 2016) โดยดอกดาวเรืองเป็นแหล่งลูทีน (Lutein) ที่สำคัญ พบว่าดอกดาวเรืองมีสารลูทีนเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 70-79 ของแคโรทีนอยด์ (Fu et al., 2018) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) เป็นองค์ประกอบสูงถึงร้อยละ 90 (Marcella et al., 2019) ด้วยคุณสมบัติที่หลากหลาย ดอกดาวเรืองจึงเป็นพืชที่มีทั้งคุณค่าทางเศรษฐกิจและวัฒนธรรม อีกทั้งยังมีบทบาทสำคัญในภาคอุตสาหกรรมและการเกษตร

ลูทีนเป็นสารประกอบในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ในร่างกายของมนุษย์พบมากในจอประสาทตา (Retina) และบริเวณมาคูลา (Macula Lutea) ซึ่งเป็นศูนย์กลางของการมองเห็น ลูทีนทำหน้าที่เป็นตัวกรองแสง ช่วยลดความเสียหายจากแสงสีฟ้า ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคจอประสาทตาเสื่อม (Aged-related Macular Degeneration: AMD) (Nguyen et al., 2023) แสงสีฟ้าพบได้ในอุปกรณ์ดิจิทัล เช่น โทรศัพท์มือถือ คอมพิวเตอร์ และแสงแดด สารลูทีนยังเป็นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบ ป้องกันระบบประสาท และป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด แต่ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์สารลูทีนซึ่งเป็นสารประกอบในกลุ่มแคโรทีนอยด์ได้ ต้องบริโภคอาหารในแต่ละวันเท่านั้น อีกทั้งลูทีนโดยทั่วไปมีแนวโน้มที่ไม่เสถียรต่อปัจจัยแวดล้อมภายนอก เช่น อุณหภูมิ การฉายรังสีแสง และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เนื่องจากข้อเสียเหล่านี้ การใช้สารลูทีนในระดับอุตสาหกรรมจึงมีข้อจำกัด ดังนั้นเทคโนโลยีการห่อหุ้ม (Encapsulation) จึงถูกนำมาใช้เพื่อปรับปรุงความเสถียรภาพ สามารถปกป้องสารสำคัญให้ไม่เสื่อมสภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพได้เป็นระยะเวลานานทำให้มีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้นและยังสามารถควบคุมการ

ปลดปล่อยสารสำคัญได้ เนื่องจากละลายได้ไม่ดีในน้ำ ด้วยเหตุนี้จึงได้ศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง

ในปัจจุบัน ประเด็นด้านสิ่งแวดล้อมกลายเป็นที่ตระหนักและได้รับความสนใจในวงกว้าง ผู้คนเริ่มตระหนักและรณรงค์เพื่อร่วมเป็นส่วนหนึ่งในการปกป้องสิ่งแวดล้อมให้คงอยู่อย่างยั่งยืน ตัวอย่างเช่น การประหยัดพลังงาน การลดปริมาณของเสีย (Waste Minimization) และการหันมาใช้ผลิตภัณฑ์ที่ลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental Friendly Products) แนวคิดเหล่านี้ส่งผลให้ภาคอุตสาหกรรม โดยเฉพาะในการผลิตเชิงพาณิชย์ (Commercialization) ต้องคำนึงถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเป็นสำคัญ จากการศึกษาพบว่า การสกัดสารลูทีนส่วนใหญ่มักใช้ตัวทำละลายที่เป็นอันตรายต่อทั้งผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อม เช่น เฮกเซน และอะซิโตน ปัจจุบันมีแนวทางใหม่ในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก (Ultrasound-Assisted Extraction: UAE) ร่วมกับตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เช่น เอทานอล ซึ่งเป็นเทคนิคที่ไม่ใช้ความร้อนและสามารถควบคุมพารามิเตอร์ได้หลากหลาย เช่น เวลา อุณหภูมิ และแอมพลิจูด เอทานอลจัดเป็นตัวทำละลายที่มีแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลแบบมีขั้ว (Dipole Interactions) ซึ่งเหมาะสมกับสารลูทีน ซึ่งเป็นสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายมีขั้ว จากงานวิจัยหลายฉบับได้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของเทคนิคนี้ เช่น Jaeschke et al., 2017 รายงานว่าการสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย *Heterochlorella luteoviridis* โดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 75 และความเข้มของคลื่นอัลตราโซนิกที่ร้อยละ 50 สามารถสกัดสารแคโรทีนอยด์ได้มากถึงร้อยละ 80 นอกจากนี้ (Derrien et al., 2017) ยังรายงานผลการสกัดสารลูทีนจากผักโขมด้วยคลื่นอัลตราโซนิก โดยใช้เอทานอลผสมน้ำเป็นตัวทำละลาย พบว่าเอทานอลมีบทบาทสำคัญต่อประสิทธิภาพการสกัด โดยปริมาณสารลูทีนที่สกัดได้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอล

รายงานนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก จากการศึกษาผลของปัจจัยที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ แอมพลิจูด, เวลาในการสกัด, และความเข้มข้นของเอทานอล และเพื่อศึกษาความคงตัวของผงสารสกัดดอกดาวเรืองภายใต้สภาวะอุณหภูมิที่แตกต่างกันที่อุณหภูมิ 4, 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส เพื่อประเมินอายุการเก็บรักษา โดยมีปริมาณสารลูทีน และปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นตัวกำหนดอายุการเก็บรักษา

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก

2. เพื่อศึกษาการห่อหุ้มและจลนพลศาสตร์ความคงตัวของสารลูทีนจากดอกดาวเรืองในระหว่างการรักษา

ขอบเขตของงานวิจัย

1. การทดลองใช้ดอกดาวเรือง สายพันธุ์ ดีฟโกลด์ (อ.เมืองเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่)
2. ตัวแปรควบคุมของการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก โดยเครื่องอัลตราโซนิกทำงานที่กำลังขับ 400 วัตต์, ขนาดของหัวโพรบมีเส้นศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร, ความถี่ของคลื่นอัลตราโซนิก 20 kHz, การทำงานแบบพัลซิงโหมด (เปิด 2 วินาที/ปิด 1 วินาที), ปริมาตรที่ใช้ในการสกัด 100 มิลลิลิตร, ความลึก 2 เซนติเมตรจากตัวอย่าง และตัวทำละลายเป็นเอทานอล
3. ปัจจัยที่ศึกษาในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก ได้แก่ แอมพลิจูด, เวลาในการสกัด, และความเข้มข้นของเอทานอล
4. ศึกษาผลของการสกัดจากการวัดปริมาณสารลูทีน และปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อหาสภาวะในการสกัดที่เหมาะสม
5. ศึกษาความคงตัวของสารสกัดดอกดาวเรืองโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิเย็นอุณหภูมิ 4, 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส เพื่อประเมินอายุการเก็บรักษา โดยมีปริมาณสารลูทีน และปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นตัวกำหนดอายุการเก็บรักษา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้เครื่องอัลตราโซนิกแบบโพรบซึ่งมีตัวทำละลายเป็นเอทานอล
2. สามารถเพิ่มมูลค่าให้กับดอกดาวเรืองได้เพิ่มมากขึ้น
3. สามารถผลิตผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพที่เป็นทางเลือกใหม่ให้กับผู้บริโภค

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในบทนี้จะกล่าวถึงทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง โดยเน้นกระบวนการสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิก (Ultrasonic-assisted Extraction: UAE) ซึ่งใช้พลังงานจากคลื่นเสียงความถี่สูงในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดสารสำคัญ เช่น สารลูทีน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังครอบคลุมแนวทางการแปรรูปสารสกัดให้อยู่ในรูปผงด้วยเทคนิคเอนแคปซูเลชัน (Encapsulation) เพื่อเพิ่มความคงตัวและยืดอายุการเก็บรักษา อันเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์อาหาร และส่งเสริมเศรษฐกิจชุมชนผ่านการแปรรูปพืชท้องถิ่นให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัยและมีศักยภาพทางการตลาด ซึ่งทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง มีรายละเอียด ดังนี้

ดาวเรือง

ดอกดาวเรือง (ชื่อสามัญ: Marigold; ชื่อวิทยาศาสตร์: *Tagetes erecta* L.) เป็นพืชไม้ดอกที่จัดอยู่ในวงศ์ Compositae มีชื่อพื้นเมืองหลายชื่อ เช่น คำปู้जू คำปู้जूหลวง (ภาคเหนือ) บ่วงสั่วเก็ก (จีนแต้จิ๋ว) พอทุ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) เป็นต้น



ภาพที่ 1 ดอกดาวเรือง

ที่มา: เทคโนโลยีชาวบ้าน (2563)

1. ถิ่นกำเนิด

ดาวเรือง (Marigold) มีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมในประเทศเม็กซิโกและบริเวณแถบทวีปอเมริกาใต้ โดยชาวพื้นเมืองในภูมิภาคดังกล่าวมีการปลูกดาวเรืองเพื่อใช้ในการบูชาเทพเจ้าและสิ่งศักดิ์สิทธิ์ตามความเชื่อในวัฒนธรรมท้องถิ่น ต่อมาได้มีการแพร่ขยายพันธุ์ดาวเรืองไปยังภูมิภาคต่าง ๆ ทั่วโลก เนื่องจากเป็นพืชที่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี สำหรับประเทศไทย แม้จะไม่มีหลักฐานแน่ชัดเกี่ยวกับช่วงเวลาที่มีการนำเข้ามาพันธุ์ดาวเรือง แต่จากข้อมูลพบว่าการปลูกดาวเรืองมาอย่างยาวนาน และสามารถปรับตัวเข้ากับภูมิอากาศในประเทศได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีการปลูกกันอย่างแพร่หลาย ดาวเรืองจัดเป็นไม้ดอกที่มีลำต้นแข็งแรง การปลูกและการดูแลรักษาทำได้ง่าย จึงเป็นที่นิยมทั้งในรูปแบบของไม้ตัดดอก ไม้กระถาง และใช้ประดับตกแต่งสถานที่ในโอกาสสำคัญต่าง ๆ นอกจากนี้ ในอดีตดาวเรืองยังมีการนำมาใช้ประโยชน์ในหลายด้าน เช่น การนำกลีบดอกมาใช้เป็นสีย้อมผ้า รวมถึงผสมในอาหารสัตว์ปศุสัตว์ในรูปแบบของสารเสริม เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและช่วยเสริมสีของเนื้อสัตว์และไข่ไก่ ปัจจุบันดาวเรืองยังได้รับความสนใจในเชิงการวิจัยด้านสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีศักยภาพในการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ

2. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ดาวเรือง (*Taetes spp.*) จัดเป็นพืชล้มลุกประเภทไม้ดอก มีทั้งพันธุ์ที่มีความสูงปานกลาง และพันธุ์เตี้ย โดยความสูงของลำต้นอยู่ในช่วงประมาณ 25–60 เซนติเมตร (ภาพที่ 2 ก) ลำต้นมีลักษณะตั้งตรง สีเขียว เป็นไม้เนื้ออ่อน มีการแตกกิ่งก้านที่ปลายยอดซึ่งเป็นที่เกิดของช่อดอก ใบของดาวเรืองมีลักษณะเป็นใบประกอบแบบขนนก เรียงตรงข้ามกันบนลำต้น ลักษณะใบเรียวยาวคล้ายใบหอก สีเขียวเข้ม และไม่มีหูใบ (ภาพที่ 2 ข) ดอกของดาวเรืองเป็นช่อดอกแบบช่อกระจุก (*capitulum*) ที่ปลายยอด เมื่อดอกบานเต็มที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5–8 เซนติเมตร โดยประกอบด้วยดอกย่อย 2 ชนิด ได้แก่ กลีบดอกชั้นในและกลีบดอกชั้นนอก กลีบดอกชั้นในมีลักษณะยาวเรียวคล้ายกระดิ่ง และเป็นดอกสมบูรณ์เพศ ส่วนกลีบดอกชั้นนอกมีลักษณะเป็นดอกเพศเมีย (*pistillate flower*) โคนกลีบดอกมีลักษณะเป็นหลอดเล็ก รูปร่างน้ำ และซ้อนเรียงกันอย่างแน่นหนา (ภาพที่ 2 ค) เมล็ดของดาวเรืองมีลักษณะเรียวยาว ปลายเมล็ดมีหาง และมีขนาดค่อนข้างใหญ่เมื่อเทียบกับเมล็ดของไม้ดอกชนิดอื่น (ภาพที่ 2 ง) ลักษณะทางพฤกษศาสตร์เหล่านี้มีความสำคัญต่อการจำแนกสายพันธุ์ รวมถึงการคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมในการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการเกษตร อุตสาหกรรม และเภสัชกรรม



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

ภาพที่ 2 ลักษณะต้นของดาวเรือง (ก) ลักษณะใบดาวเรือง (ข) ช่อดอกดาวเรือง (ค)
และลักษณะเมล็ดดาวเรือง (ง)

ที่มา: เทคโนโลยีชาวบ้าน (2563)

3. การจำแนกดาวเรือง

ดอกดาวเรืองจัดเป็นไม้ดอกเศรษฐกิจที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในหลายประเทศ ทั้งในด้านการใช้ประโยชน์เพื่อการประดับตกแต่งและการพัฒนาในเชิงพาณิชย์ โดยเฉพาะในต่างประเทศมีการดำเนินงานวิจัยเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์และการผสมพันธุ์อย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรม ทั้งในด้านชนิด ขนาดของดอก และลักษณะทางสัณฐานวิทยา ตลอดจนการเจริญเติบโต ซึ่งความก้าวหน้าเหล่านี้เอื้อให้สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อวัตถุประสงค์เฉพาะด้านได้อย่างมีประสิทธิภาพ ปัจจุบันมีการจำแนกดาวเรืองที่นิยมปลูกออกเป็น 5 ประเภทหลักตามลักษณะทางพฤกษศาสตร์และการใช้ประโยชน์ (สมเพียร เกษมทรัพย์, 2540)

3.1 ดาวเรืองอเมริกัน (*Tagetes erecta* L.) หรือที่รู้จักกันในชื่อสามัญว่า American marigold, African marigold หรือ Friendship เป็นไม้ดอกที่มีการเจริญเติบโตแบบตั้งตรง ลำต้นมีความสูงตั้งแต่ 25–100 เซนติเมตร ดอกมีขนาดใหญ่ประมาณ 7–10 เซนติเมตร และมีลักษณะกลีบดอกซ้อนแน่น สีของดอกมีความหลากหลาย ได้แก่ สีเหลือง ส้ม ทอง และขาว ดาวเรืองชนิดนี้มีหลายสายพันธุ์และสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี โดยจะใช้ระยะเวลาในการออกดอกแตกต่างกันตามฤดูกาล หากปลูกในช่วงฤดูหนาวจะใช้เวลาเพียง 60–65 วันในการออกดอก ขณะที่การปลูกในฤดูร้อนจะทำให้ระยะการออกดอกล่าช้าลงประมาณ 10–15 วัน สามารถจำแนกออกเป็น 3 กลุ่มหลักตามลักษณะของพันธุ์และการใช้ประโยชน์

พันธุ์เตี้ย มีลักษณะการเจริญเติบโตคล้ายกับ *Tagetes patula* (ดาวเรืองฝรั่งเศส) โดยมีความสูงเฉลี่ยอยู่ในช่วง 25–35 เซนติเมตร ลักษณะเด่นคือทรงพุ่มเตี้ย กระชับ เหมาะสำหรับการปลูกเป็นไม้ประดับแปลง ไม้ขอบสนาม และไม้กระถาง เนื่องจากสามารถควบคุมรูปทรงและดูแลรักษาได้ง่าย พันธุ์ที่ได้รับความนิยมในกลุ่มนี้ ได้แก่ พันธุ์ Papaya, Pineapple และ Pumpkin ซึ่งได้รับการคัดเลือกและพัฒนาให้มีคุณลักษณะที่เหมาะสมต่อการใช้งานภูมิทัศน์และการจัดตกแต่งพื้นที่ขนาดเล็ก

พันธุ์สูงปานกลาง มีความสูงประมาณ 35–40 เซนติเมตร ลักษณะทรงพุ่มกระทัดรัด เหมาะสำหรับการปลูกเป็นไม้ประดับแปลงและไม่ตัดดอก พันธุ์ที่นิยมในกลุ่มนี้ ได้แก่ พันธุ์ Apollo, Wiking และ Moonshop

พันธุ์สูง มีความสูงเฉลี่ยตั้งแต่ 40–100 เซนติเมตร นิยมปลูกเป็นไม้ประดับบริเวณด้านหลังแปลงหรือใช้เป็นไม้ตัดดอกเชิงพาณิชย์ พันธุ์ที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ พันธุ์ Double Eagle, Doubloom และ Sovereign ซึ่งได้รับการคัดเลือกให้มีลำต้นแข็งแรง ดอกขนาดใหญ่ และอายุการปักแจกันยาวนาน

3.2 ดาวเรืองฝรั่งเศส (*Tagetes patula* L.) หรือที่รู้จักกันทั่วไปว่า French marigold เป็นไม้ดอกล้มลุกขนาดเล็ก มีลักษณะทรงพุ่มเตี้ย ความสูงเฉลี่ยประมาณ 15–30 เซนติเมตร ดอกมีขนาดเล็กประมาณ 4 เซนติเมตร และมีความหลากหลายของสี ได้แก่ สีเหลือง ส้ม ทอง น้ำตาลอมแดง และแดง ด้วยลักษณะก้านดอกที่ค่อนข้างสั้น ดาวเรืองชนิดนี้จึงนิยมปลูกเพื่อประดับแปลงมากกว่าการใช้เป็นไม้ตัดดอก นอกจากคุณค่าทางประดับแล้วยังมีศักยภาพในเชิงเกษตรกรรม โดยเฉพาะในด้านการควบคุมศัตรูพืชตามธรรมชาติ จากรายงานวิจัยพบว่า ดาวเรืองฝรั่งเศสสามารถช่วยลดความหนาแน่นของไส้เดือนฝอยที่ก่อให้เกิดโรครากปมในพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงเป็นพืชทางเลือกหนึ่งที่ส่งเสริมระบบการผลิตพืชอย่างยั่งยืน สามารถจำแนกออกเป็น 2 กลุ่มหลักตามลักษณะของดอกและรูปแบบการเจริญเติบโต

พันธุ์ดอกชั้นเดียว ได้แก่ พันธุ์เรด มาเรตตา (Red Marietta) พันธุ์นอติ มาเรตตา (Naughty Marietta) พันธุ์เอสปานา (Espana) พันธุ์ลีโอปาร์ด (Leopard)

พันธุ์ดอกซ้อน ได้แก่ พันธุ์ควีน โซเฟีย (Queen Sophia) พันธุ์สการ์เลต โซเฟีย (Scarlet Sophia) พันธุ์โกลเดนเกต (Golden Gate)

3.3 ดาวเรืองไตรพลอยด์ (*Triploid marigold*) และไดพลอยด์ (*Diploid marigold*) ส่วนใหญ่เป็นลูกผสมระหว่าง *Tagetes erecta* และ *Tagetes patula* โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อรวมลักษณะเด่นของทั้งสองสายพันธุ์เข้าด้วยกัน กล่าวคือ นำความแข็งแรง ความสามารถในการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ขนาดดอกที่ใหญ่ และลักษณะกลีบดอกซ้อนจำนวนมากจาก *T. erecta* ผสมเข้ากับลักษณะทรงพุ่มเตี้ยและกระทัดรัดของ *T. patula* ดาวเรืองลูกผสมกลุ่มนี้สามารถให้ดอก

ได้เร็วภายในระยะเวลาเพียง 5 สัปดาห์หลังการเพาะเมล็ด ดอกมีขนาดประมาณ 5-7 เซนติเมตร มีจำนวนดอกต่อต้นสูง และดอกสามารถคงสภาพอยู่บนต้นได้นาน อย่างไรก็ตาม ข้อจำกัดสำคัญของดาวเรืองไตรพลอยด์คือเมล็ดที่ได้มีลักษณะลีบ ไม่สมบูรณ์ และไม่สามารถนำไปเพาะปลูกต่อได้ จึงจัดอยู่ในกลุ่มพืชลูกผสมที่ไม่สามารถขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดรุ่นถัดไปได้ (sterile hybrids) ลักษณะดังกล่าวคล้ายกับปรากฏการณ์ในลูก่อ (mule) ที่เกิดจากการผสมข้ามระหว่างม้าและลา ส่งผลให้เมล็ดของดาวเรืองลูกผสมมีราคาค่อนข้างสูง นอกจากนี้ เมล็ดดาวเรืองไตรพลอยด์มักมีอัตราการงอกต่ำกว่าพันธุ์ทั่วไป จึงแนะนำให้ใช้เมล็ดในปริมาณประมาณ 2 เท่าของจำนวนต้นที่ต้องการปลูก เพื่อให้ได้ต้นกล้าจำนวนเพียงพอ ดาวเรืองลูกผสมกลุ่มนี้มีพันธุ์ที่ได้รับความนิยมหลายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Nugget, Fireworks, Red Sevenstar และ Showboat ซึ่งได้รับการพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ในงานประดับแปลงและภูมิทัศน์เชิงพาณิชย์

3.4 ดาวเรืองชนิด *Tagetes tenuifolia pumila* หรือ *Tagetes signata pumila* ซึ่งมักเรียกโดยทั่วไปว่า Signet marigold เป็นไม้ดอกล้มลุกขนาดเล็กที่มีลักษณะทรงพุ่มเตี้ยและกระชับ ความสูงของต้นเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 18-25 เซนติเมตร ลำต้นแตกกิ่งก้านดี ทำให้เกิดทรงพุ่มขนาดใหญ่ ใบมีลักษณะสวยงามและละเอียด ส่วนดอกมีขนาดเล็กมาก โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 2.25 เซนติเมตร และมีลักษณะกลีบดอกชั้นเดียว Signet marigold มีลักษณะการออกดอกต่อเนื่องและดกตลอดฤดูกาล จึงเหมาะสำหรับการปลูกเป็นไม้ประดับขอบแปลงหรือใช้ในการจัดตกแต่งสวนหิน โดยเฉพาะในภูมิอากาศเย็น ซึ่งเป็นสาเหตุให้พันธุ์นี้ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในภูมิภาคยุโรป โดยเฉพาะในสหราชอาณาจักร

3.5 ดาวเรืองชนิด *Tagetes filifolia* หรือที่รู้จักกันในชื่อ Foliage marigold เป็นพันธุ์ไม้ดอกที่มีจุดเด่นด้านลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบ โดยมีใบเรียวยาว ละเอียด และมีความสวยงามเป็นพิเศษ ทรงพุ่มแน่นและกระทัดรัด ทำให้เหมาะสำหรับปลูกเป็นไม้ประดับริมขอบแปลงหรือใช้ในการจัดสวนเชิงภูมิทัศน์ ทั้งนี้ แม้จะไม่ใช่ที่นิยมในด้านความโดดเด่นของดอกเท่ากับสายพันธุ์อื่น แต่ด้วยลักษณะพุ่มแน่นและใบที่มีคุณค่าทางสุนทรียภาพสูง จึงได้รับความนิยมในงานประดับสวน โดยเฉพาะในพื้นที่ที่ต้องการเน้นความกลมกลืนขององค์ประกอบพืชพรรณ

4. การนำไปใช้ประโยชน์

ดอกดาวเรือง เป็นพืชสมุนไพรที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจและสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลายด้าน ทั้งในเชิงอุตสาหกรรม อาหาร สุขภาพ และเกษตรกรรม ดังนี้

4.1 ดาวเรืองจัดเป็นไม้ดอกที่มีความสวยงามโดดเด่น โดยเฉพาะลักษณะของกลีบดอกที่ซ้อนกันแน่นและมีสีเหลืองสดใส ดอกมีขนาดใหญ่และมีความคงทนสูง ส่งผลให้มีอายุการใช้งานที่ยาวนาน เมื่อเปรียบเทียบกับไม้ดอกชนิดอื่น ด้วยคุณสมบัติดังกล่าว ดาวเรืองจึงได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย

ในการนำไปใช้ประดับตกแต่งสถานที่ เพื่อเพิ่มความสวยงามและความรื่นรมย์ในงานพิธีการและกิจกรรมสำคัญต่าง ๆ อาทิ งานนิทรรศการ งานพระราชทานปริญญาบัตร และงานพิธีมงคล

4.2 ดาวเรืองเป็นพืชที่มีศักยภาพในการใช้ประโยชน์ทางชีวภาพเพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช โดยดอกของดาวเรืองมีกลิ่นฉุนเฉพาะตัว ซึ่งเป็นกลิ่นที่ไม่เป็นที่ชื่นชอบของแมลงหลายชนิด จึงสามารถปลูกเป็นพืชร่วมในแปลงเกษตรเพื่อช่วยลดการรบกวนของแมลงศัตรูพืชในพืชชนิดอื่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ รากของดาวเรืองยังมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยเฉพาะกลุ่มสารเทอร์พีนอยด์ (terpenoids) และสารอัลฟา-ไทออฟีน (α -thiophene) ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งและลดปริมาณของไส้เดือนฝอยที่เป็นสาเหตุของโรคพืชในดิน เช่น โรครากปม (*Meloidogyne spp.*) จึงเป็นพืชที่สามารถนำมาใช้ในการจัดการศัตรูพืชในระบบเกษตรกรรมแบบยั่งยืนได้อย่างเหมาะสม

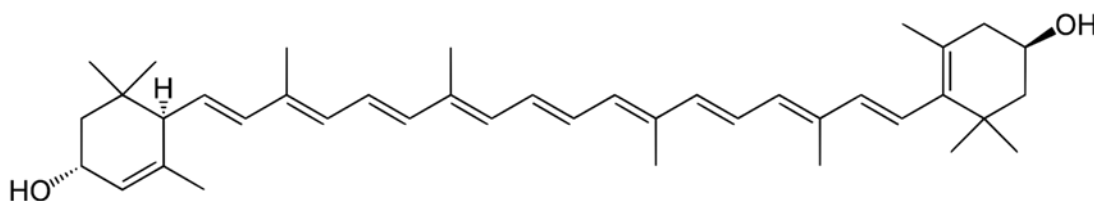
4.3 เพื่อจำหน่าย ด้วยสีของกลีบดอกดาวเรืองที่เป็นสีเหลืองทอง ทำให้กลายเป็นตัวแทนของความเจริญรุ่งเรือง ความก้าวหน้า และความเป็นสิริมงคล จึงนิยมนำดอกนำไปใช้ร้อยเป็นพวงมาลัยคล้องคอในงานมงคล ปักแจกันประกอบโต๊ะหมู่บูชาสำหรับกราบไหว้สิ่งศักดิ์สิทธิ์ หรือประกอบพิธีทางศาสนาต่าง ๆ

4.4 เพื่อสุขภาพ สารสกัดจากดอกดาวเรืองมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ , ส่งเสริมสุขภาพดวงตา, ลดการอักเสบ, ช่วยแก้โรคที่เกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด, ช่วยเร่งกระบวนการสมานแผล, รวมทั้งถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและอาหารเสริมเพื่อดูแลสุขภาพและฟื้นฟูผิวพรรณอย่างมีประสิทธิภาพ

5. องค์ประกอบทางเคมีในดอกดาวเรือง

5.1 สารลูทีน (Lutein)

เป็นสารสีแดงส้ม ไม่ละลายน้ำ เป็นสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoids) ซึ่งเป็นสารฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระชนิดหนึ่ง มีโครงสร้างทางเคมีดังภาพที่ 3 พบมากในผักใบ เช่น ผักโขม กะหล่ำปลี บรอกโคลี เป็นต้น และพบมากในกลีบดอกดาวเรือง ซึ่งในกลีบดอกมีปริมาณสารลูทีนเอสเทอร์ร้อยละ 70-79 จากปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (Boonnoun et al., 2017) ในร่างกายของมนุษย์พบได้ในจอรับประสาทตา (retina) เป็นปริมาณสูงทำหน้าที่ดูดซับ และกรองแสงสีฟ้าจากหน้าจอต่าง ๆ ที่จะมาทำลายจอประสาทตา สามารถป้องกันโรคจอประสาทตาเสื่อมได้ นอกจากนั้นยังมีฤทธิ์ด้านการอักเสบ ป้องกันผิวจากรังสี UV ป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด เนื่องจากมีสรรพคุณมากมายลูทีนจึงถูกใช้งานในอุตสาหกรรมยาและอาหาร แต่ถึงจะมีหน้าที่ที่สำคัญดังกล่าว แต่ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์สารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ได้ อีกทั้งลูทีนโดยทั่วไปมีแนวโน้มที่ไม่เสถียรต่อปัจจัยแวดล้อมภายนอก เช่น อุณหภูมิ การฉายรังสีแสง และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เป็นต้น

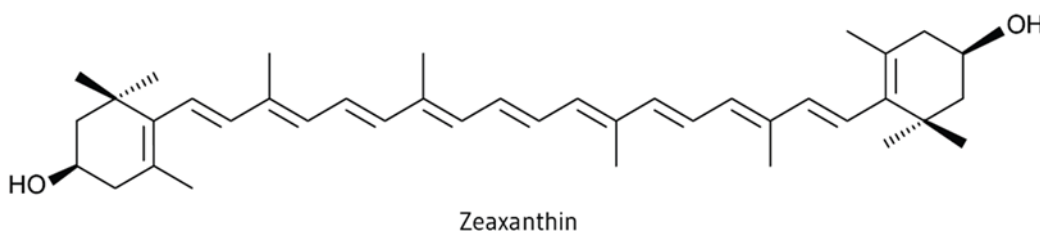


ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของสารลูทีน ($C_{40}H_{56}O_2$)

ที่มา: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (2565)

5.2 สารซีแซนทีน (Zeaxanthin)

สารซีแซนทีน (Zeaxanthin) เป็นสารประกอบในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่จัดอยู่ในประเภทแซนโทฟิลล์ (xanthophylls) ซึ่งมีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างโมเลกุล จัดเป็นสารประกอบที่ไม่มีขั้ว (non-polar compound) และมีลักษณะไลโปฟิลิกสูง โดยสารซีแซนทีนเป็นไอโซเมอร์ (isomer) กับลูทีน (lutein) ซึ่งทั้งสองมีโครงสร้างทางเคมีใกล้เคียงกัน แต่มีความแตกต่างกันเล็กน้อยที่ตำแหน่งของพันธะคู่บริเวณวงแหวนปลายโมเลกุล ในธรรมชาติ สารซีแซนทีนมักพบในรูปแบบทรานส์ทั้งหมด (all-trans isomer) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่เสถียรและพบมากที่สุด คุณสมบัติของสารซีแซนทีนที่สำคัญคือไม่ละลายน้ำ และสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีลักษณะไม่ขั้ว (lipophilic solvents) ดังนั้น สารซีแซนทีนจึงมีแนวโน้มที่จะกระจายตัวอยู่ในบริเวณที่เป็นไลโปฟิลิกของเซลล์ในสิ่งมีชีวิต เช่น บริเวณแกนกลางของเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane core) หรืออาจพบรวมอยู่กับโปรตีนจำเพาะบางชนิดคุณสมบัติเหล่านี้มีความสำคัญต่อการทำงานของสารซีแซนทีนในร่างกาย โดยเฉพาะในบริเวณที่ต้องการการปกป้องจากอนุมูลอิสระ เช่น บริเวณดวงตาและระบบประสาท ซึ่งสอดคล้องกับบทบาทของสารซีแซนทีนในฐานะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ



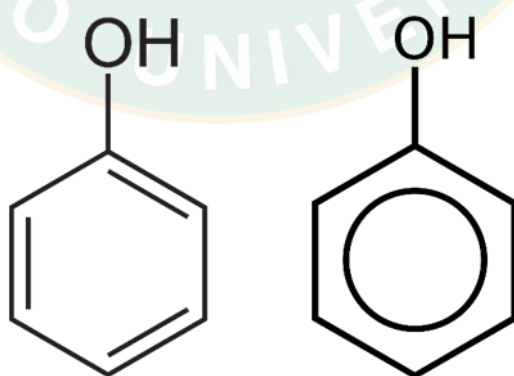
Zeaxanthin

ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของสารซีแซนทีน ($C_{40}H_{56}O_2$)

ที่มา: ดัดแปลงจาก Dixit and Pandit (2023)

5.3 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compounds)

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) เป็นกลุ่มของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีแหล่งกำเนิดตามธรรมชาติ พบได้อย่างแพร่หลายในพืชหลายชนิด โดยมีบทบาทสำคัญในการปกป้องเซลล์พืชจากความเครียดจากสิ่งแวดล้อม รวมถึงมีศักยภาพทางชีวภาพต่อสุขภาพมนุษย์ในด้านการต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ และด้านจุลชีพ เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids), ฟีนอลิกโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ไปจนถึงโครงสร้างเชิงซ้อนในรูปแบบโพลีเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignins), เมลานิน (melanins) และแทนนิน (tannins) สารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติเด่นในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยสามารถละลายได้ดีในน้ำ และพบได้ทั่วไปในบริเวณช่องว่างภายในเซลล์พืช (cell vacuole) ตลอดจนในโครงสร้างต่าง ๆ ของพืช โดยธรรมชาติ สารกลุ่มนี้ถูกสร้างขึ้นเพื่อทำหน้าที่ในกระบวนการเจริญเติบโต ป้องกันโรค และส่งเสริมการขยายพันธุ์ของพืช แม้ว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในอาหารแต่ละประเภทจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบ แหล่งที่มา และกระบวนการแปรรูป แต่โดยเฉลี่ยมนุษย์จะได้รับสารเหล่านี้ในช่วงประมาณ 20 มิลลิกรัมถึง 1 กรัมต่อวัน โพลีฟีนอล (polyphenols) ซึ่งเป็นกลุ่มย่อยของสารฟีนอลิก มีบทบาทสำคัญทางชีวภาพหลายประการ ได้แก่ ฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ด้านการอักเสบ ด้านอาการแพ้ และสามารถทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ (free radicals) โดยการยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของปฏิกิริยาออกซิเดชัน อย่างไรก็ตาม ข้อจำกัดของกลไกนี้คืออาจทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระบางชนิดถูกทำลายไปพร้อมกัน นอกจากนี้โพลีฟีนอลยังมีคุณสมบัติเสริมอื่น ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น การสลายลิ่มเลือด การต้านมะเร็ง และการช่วยลดความดันโลหิต



ภาพที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก (C_6H_5OH)

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Zagoskina *et al.* (2023)

เทคนิคในการสกัด

กระบวนการสกัด คือ การแยกสารที่ต้องการออกจากวัตถุดิบหรือสารผสมโดยอาศัยความสามารถในการละลายของสารที่ต้องการในสารละลาย การสกัดจึงทำได้โดยอาศัยสารทำละลาย (Solvent) ลงในวัตถุดิบที่ต้องการสกัดเพื่อที่สารละลายจะเข้าไปละลายแยกองค์ประกอบที่ต้องการในตัวอย่างออกมา สารที่ถูกละลายออกมาอยู่ในตัวทำละลายจะถูกเรียกว่า ตัวถูกละลาย (Solute) ในขณะที่องค์ประกอบอื่น ๆ ที่ไม่ได้ถูกแยกออกมายังอยู่ในตัวอย่าง (ม่วงรัตน์, 2013) ได้มีการใช้เทคนิคการสกัดต่าง ๆ เพื่อสกัดสารที่ต้องการในตัวอย่างทั้งที่เป็นอาหารและไม่ใช่อาหาร เช่น การสกัดสารออกฤทธิ์จากรากกระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus sagittifolius*) เพื่อสกัดสารฟีนอลและเทอร์ปีนจากรากกระเจี๊ยบเขียว (Vo et al., 2023) การสกัดลูทีนจากกากกลูเตนข้าวโพด (Wang et al., 2019) การแยกสเปกตรัมของแบคทีเรียจากน้ำ การใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการแยกสเปกตรัมของแบคทีเรียออกจากน้ำ เพื่อดักจับสเปกตรัมในตำแหน่งที่ต้องการ ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีประโยชน์ในการบำบัดน้ำ (Lipkens et al., 2010) ทั้งนี้ในการสกัดโดยอาศัยตัวทำละลาย ต้องศึกษาถึงสมบัติของตัวทำละลายที่จะนำมาใช้ในการสกัดสารที่ต้องการ ตัวทำละลายที่นิยมใช้กัน คือ น้ำ เอทานอล เมทานอล และอะซิโตน เป็นต้น สิ่งที่ต้องคำนึงถึงในการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมได้แก่

- 1) ความมีขั้ว (polarity) การเลือกใช้ตัวทำละลายที่มีค่าความมีขั้วใกล้เคียงกับสารที่ต้องการสกัดเป็นปัจจัยสำคัญ เนื่องจากจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการละลายและแยกสารเป้าหมายออกจากวัตถุดิบได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น
- 2) จุดเดือด (boiling point) โดยทั่วไป ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดควรมีจุดเดือดต่ำกว่าสารที่ต้องการสกัด เพื่อให้สามารถระเหยออกได้ง่ายภายหลังการสกัด ซึ่งเอื้อต่อกระบวนการแยกและทำให้บริสุทธิ์ของสารเป้าหมายได้อย่างมีประสิทธิภาพ
- 3) ความหนืด (viscosity) ตัวทำละลายที่มีความหนืดต่ำจะสามารถแทรกซึมไปในวัตถุดิบได้ดีกว่าตัวทำละลายที่มีความหนืดสูง ทำให้สกัดสารออกมาได้ประสิทธิภาพดีกว่า
- 4) ความร้อนแฝงของการระเหย (latent heat of evaporation) การสกัดแยกสารจะง่ายและใช้พลังงานน้อยหากเลือกตัวทำละลายที่มีค่าความร้อนแฝงของการระเหยต่ำ

นอกจากนี้ ปัจจัยอื่น ๆ ในการเลือกตัวทำละลายเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดก็เป็นสิ่งที่ต้องคำนึงถึงเช่นกัน เช่น ความเป็นพิษของตัวทำละลาย ความสามารถในการแยกสารที่ต้องการ การทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด ต้นทุนในการสกัดทั้งในด้านค่าใช้จ่ายและเวลา เป็นต้น

การสกัดด้วยตัวทำละลายสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท ดังนี้ (ม่วงรัตน์, 2013)

1. การสกัดของแข็งด้วยของเหลว (Solid/Liquid Extraction, SLE) เป็นการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมมาละลายสารที่ต้องการออกมาจากวัตถุดิบหรือสารผสมที่เป็นของแข็ง เรียกวิธีการสกัดแบบนี้อีกอย่างว่า การชะ (leaching) การสกัดวิธีนี้เป็นกระบวนการสกัดที่ใช้กันอย่าง

แพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การสกัดน้ำมันจากพืช หรือการสกัดคาเฟอีนจากกาแฟ ในการสกัดของแข็งด้วยของเหลวนี้ ตัวทำละลาย (solvent) จะแทรกซึมเข้าไปในวัตถุที่นำมาสกัด ทำให้ตัวถูกละลาย (solute) ที่อยู่ในวัตถุนั้นถูกละลายออกมาจากตัววัตถุนั้นแล้วแพร่ออกมายังตัวทำละลาย ตัวทำละลายที่มีสารตัวถูกละลายผสมอยู่ด้วยเรียกได้ว่าเป็นส่วนของสารสกัด (extract) โดยในส่วนของสารสกัดนี้อาจจะมีส่วนที่ไม่ละลายออกมาปนอยู่ด้วยหากผ่านกระบวนการแยกที่ไม่มีประสิทธิภาพ ระบบการสกัดของแข็งด้วยของเหลวสามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ การสกัดแบบขั้นเดียว (single stage extraction) และการสกัดแบบหลายขั้นต่อเนื่อง (continuous multiple extraction) ในการสกัดแบบขั้นเดียว จะสกัดโดยให้วัตถุดิบและตัวทำละลายสัมผัสกันครั้งเดียวตามระยะเวลาที่ต้องการแล้วแยกออกจากกัน แต่การสกัดแบบหลายขั้นต่อเนื่องเป็นวิธีการที่ให้วัตถุดิบและตัวทำละลายสัมผัสกับตัวทำละลายหลายครั้งอย่างต่อเนื่อง การสกัดแบบนี้จะให้ประสิทธิภาพในการสกัดที่ดีกว่าการสกัดเพียงครั้งเดียว เนื่องจากวัตถุดิบที่ผ่านการสกัดหรือกากยังมีส่วนตัวถูกละลายหลงเหลืออยู่ การสกัดอีกหลายรอบจะช่วยให้สารสกัดที่ได้มีความเข้มข้นของตัวถูกละลายมากกว่า

2. การสกัดของเหลวด้วยของเหลว (Liquid/Liquid Extraction, LLE) เป็นการสกัดตัวถูกละลายในสารละลาย หรือตัวถูกละลายละลายในสารทำละลายเดิมด้วยการเติมสารละลายใหม่เข้าไป ได้มีการใช้เทคนิคการสกัดนี้ในอุตสาหกรรมอาหาร การสกัดของเหลวด้วยของเหลวนี้ประกอบด้วย 2 เฟสที่แยกกัน คือ เฟสของสารสกัด (extract phase) เป็นเฟสของสารละลายที่สกัดได้กับเฟสราฟฟินเนต (raffinate phase) ซึ่งเป็นส่วนของเหลวที่เหลือจากการสกัด ในระบบการสกัดที่มีประสิทธิภาพ เฟสทั้งสองเฟสไม่ควรผสมเป็นเนื้อเดียวกัน เพื่อที่จะสามารถแยกออกจากกันได้โดยอาศัยหลักการกระจายตัวของตัวถูกละลาย ในสารละลายทั้งสองเฟส การสกัดของเหลวด้วยของเหลวนี้ อาจจะทำให้การสกัดโดยใช้สารทำละลายบริสุทธิ์เพียงครั้งเดียวหรือหลายๆ ครั้งก็ได้ หรือสกัดด้วยสารทำละลายที่ใช้แล้วนำกลับมาใช้ใหม่อีกครั้งก็ได้ แต่ในทางอุตสาหกรรมส่วนใหญ่จะนิยมสกัดแบบหลายครั้งต่อเนื่อง

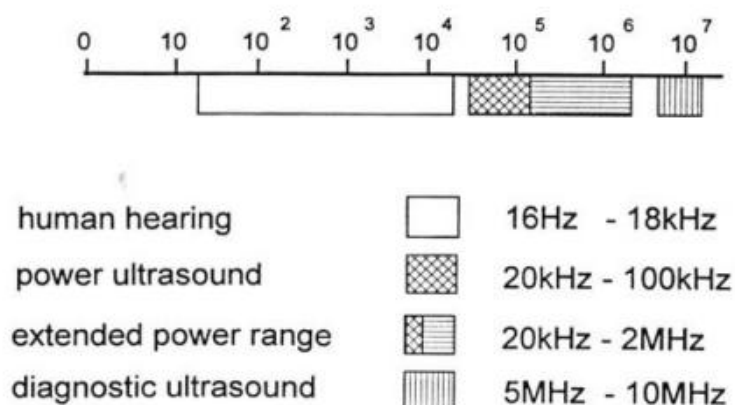
3. การสกัดด้วยของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤติ (Supercritical Fluid Extraction) เป็นการสกัดโดยใช้ของไหลที่สภาวะต่ำและสูงกว่าจุดวิกฤติ (subcritical and supercritical fluid) มาเป็นสารทำละลายที่มีคุณสมบัติเป็นได้ทั้งของเหลวและก๊าซในเวลาเดียวกัน เพื่อมาสกัดเอาองค์ประกอบที่ต้องการออกจากวัตถุดิบ การสกัดโดยวิธีนี้สามารถจัดได้ว่าเป็นระบบการสกัดของแข็งด้วยของเหลว หรือของเหลวด้วยของเหลวก็ได้ ขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่นำมาสกัด การสกัดด้วยของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตินี้ดีกว่าการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายทั่วไป เนื่องจากของไหลดังกล่าวมีความหนืดต่ำและสัมประสิทธิ์การแพร่สูง จึงช่วยเพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลและกระจายตัวเข้าไปในวัตถุดิบได้อย่างทั่วถึง ได้มีการนำเทคนิคการสกัดนี้มาใช้ในการสกัดองค์ประกอบสำคัญจากวัตถุดิบ เช่น การสกัดไขมันออกจากมันฝรั่งทอด และการสกัดแอลกอฮอล์ออกจากเครื่องดื่ม เป็นต้น

การสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิก (Ultrasound-assisted extraction: UAE)

การสกัดด้วยเทคโนโลยีคลื่นเสียงความถี่สูง หรือที่เรียกว่า Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) เป็นกระบวนการที่อาศัยคลื่นเสียงในช่วงความถี่ตั้งแต่ 16 กิโลเฮิร์ตซ์ (kHz) ไปจนถึง 1 กิกะเฮิร์ตซ์ (GHz) ซึ่งจัดอยู่ในช่วงคลื่นเสียงเหนือขอบเขตการได้ยินของมนุษย์ (ultrasonic range) เทคนิคนี้ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวางในการสกัดสารชีวภาพที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive constituents) จากเนื้อเยื่อพืช เนื่องจากมีข้อได้เปรียบหลายประการ เช่น ประสิทธิภาพการสกัดที่สูงขึ้น การใช้พลังงานในระดับต่ำ และความสามารถในการลดระยะเวลาของกระบวนการสกัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ การใช้ประโยชน์คลื่นอัลตราซาวด์แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ใหญ่ ๆ ได้แก่

1) การใช้คลื่นอัลตราซาวด์ที่มีความถี่สูงร่วมกับกำลังงานต่ำมักประยุกต์ใช้ในงานวิเคราะห์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านการตรวจวินิจฉัยทางการแพทย์ (Diagnostic ultrasound)

2) การใช้อัลตราซาวด์กำลังสูงร่วมกับความถี่ต่ำ (high power and low frequencies) หรือที่เรียกว่าพาเวอร์อัลตราซาวด์ (Power ultrasound) ซึ่งใช้ในด้านกระบวนการต่าง ๆ (Awad et al., 2012) ถูกประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการแปรรูปอาหาร เช่น การสกัด การทำให้เป็นเนื้อเดียว และการทำให้แห้ง



ภาพที่ 6 คลื่นความถี่ของอัลตราซาวด์และการนำไปใช้ประโยชน์

ที่มา : Awad et al., 2012

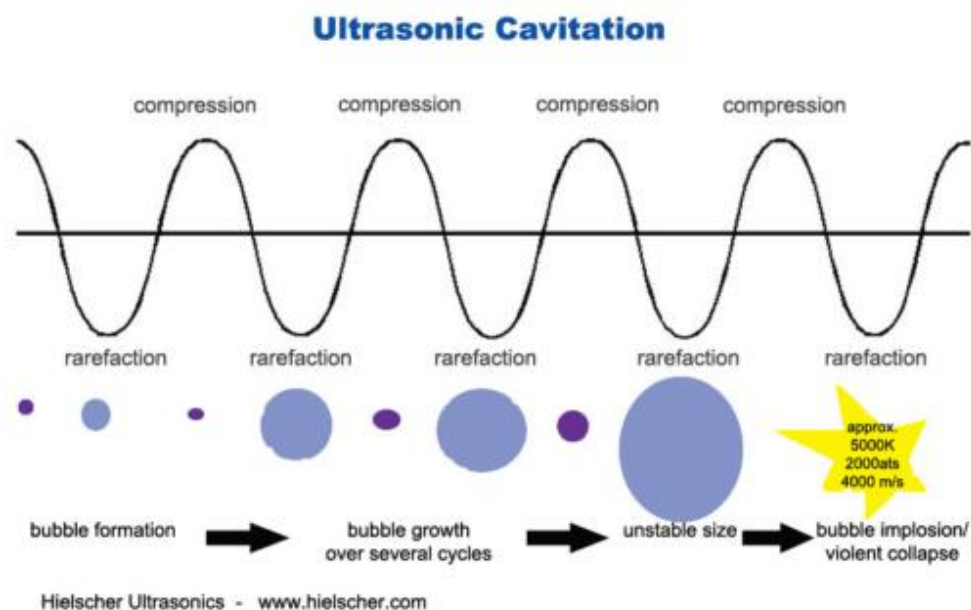
1. หลักการทำงาน

การทำงานของเทคโนโลยีอัลตราซาวด์ในการสกัดสารชีวภาพอาศัยคลื่นเสียงความถี่สูงซึ่งจัดอยู่ในลักษณะของคลื่นตามยาว (longitudinal wave) ที่ต้องอาศัยตัวกลางในการถ่ายเทพลังงาน โดย

อนุภาคของตัวกลางจะสั่นในแนวเดียวกับทิศทางการเคลื่อนที่ของคลื่นเสียง ซึ่งคลื่นเหล่านี้มักเคลื่อนที่ผ่านตัวกลางของเหลว เช่น น้ำ หรือตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ทำให้เกิดการสั่นสะเทือนที่เป็นจังหวะของส่วนที่อัดตัว (compression) และส่วนที่ขยายตัว (expansion) สลับกันอย่างต่อเนื่องในตัวกลาง ในช่วงที่คลื่นเสียงเกิดการอัดตัว โมเลกุลของของเหลวจะถูกบีบอัดเข้าหากันอย่างแน่นหนา ขณะที่ในช่วงการขยายตัว โมเลกุลจะแยกตัวออกจากกัน ส่งผลให้เกิดฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมากในของเหลว ฟองอากาศเหล่านี้จะขยายตัวและหดตัวตามแรงดันของคลื่นเสียง กระบวนการดังกล่าวเมื่อเกิดขึ้นบริเวณใกล้ผิวของแข็ง เช่น ผิวของวัตถุบิพิกซ์ จะทำให้ฟองอากาศยุบตัวลงอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้เกิดแรงเฉือนและการไหลพุ่งของตัวกลางของเหลวเข้าชนกับพื้นผิวของวัตถุตัวอย่างรุนแรง ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า ปรากฏการณ์ควิเทชัน (cavitation) ซึ่งเป็นกลไกสำคัญที่ช่วยทำลายโครงสร้างเซลล์ของวัตถุบิพิกซ์ ทำให้สารออกฤทธิ์ภายในเซลล์สามารถแพร่ออกสู่ตัวทำละลายได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น โดยไม่ต้องใช้ความร้อนสูงหรือระยะเวลาการสกัดที่ยาวนาน จึงเป็นข้อได้เปรียบสำคัญของเทคโนโลยีอัลตราซาวด์ในการสกัดสารชีวภาพที่ไวต่อความร้อน

2. ปรากฏการณ์ควิเทชัน (cavitation)

เมื่อคลื่นอัลตราโซนิกถูกส่งผ่านลงในของเหลว จะก่อให้เกิดฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมากในตัวกลางหรือสารละลาย ซึ่งฟองอากาศเหล่านี้จะเกิดกระบวนการบีบอัดและขยายตัวสลับกันอย่างรวดเร็ว (compression and rarefaction) ส่งผลให้เกิดปรากฏการณ์ทางกลที่เรียกว่า cavitation ซึ่งนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพและเคมีในระดับจุลภาค แรงดันที่เกิดขึ้นจากการยุบตัวของฟองอากาศจะกระทำต่อผิวของวัสดุ ทำให้โครงสร้างของผนังเซลล์หรือเนื้อเยื่อของตัวอย่างเกิดการฉีกขาด ส่งผลให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่อยู่ภายในเซลล์ถูกปลดปล่อยออกมาและละลายเข้าสู่ตัวทำละลายได้อย่างมีประสิทธิภาพ



ภาพที่ 7 การเกิดปรากฏการณ์ควิเทชั่น

ที่มา : Suslick, 1988

Frizzell, 1988 รายงานว่า ควิเทชั่นแบบถาวรเกิดขึ้นเมื่อฟองอากาศในของเหลวได้รับคลื่นอัลตราซาวด์เป็นจำนวนหลายรอบ โดยฟองอากาศจะเกิดการสั่นแกว่งอย่างต่อเนื่องแต่ไม่แตกตัว ซึ่งอาจทำให้ฟองอากาศเพิ่มขนาดขึ้นจนถึงระดับเรโซแนนซ์ (resonance size) ในขณะที่ ควิเทชั่นแบบชั่วคราว จะเกิดขึ้นในระยะการบีบอัดของคลื่นเสียง โดยเฉพาะเมื่อฟองอากาศได้รับแรงดันหรือความเครียดในช่วงต้นของการขยายตัว ส่งผลให้ฟองอากาศเกิดการแตกตัวอย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นผลจากการสั่นและขยายตัวของฟองในระยะเวลาหนึ่งก่อนถึงจุดวิกฤติที่ฟองอากาศไม่สามารถคงรูปได้อีกต่อไป

จากการศึกษาของ Sala et al., 1995 พบว่า ในขณะที่เกิดการยุบตัวของฟองอากาศ อาจมีการสร้างอุณหภูมิสูงถึง 5,000 เคลวิน และความดันภายในจุดที่เกิดคลื่นกระแทก (shock wave) สูงถึง 2,000 บรรยากาศ (atm) ปรากฏการณ์นี้เกิดจากสมดุลระหว่างความดันไอภายในฟองอากาศและความดันจากของเหลวภายนอกในระหว่างกระบวนการขยายตัวและหดตัว โดยพื้นผิวของฟองอากาศในช่วงขยายตัวจะมีพื้นที่มากกว่าในช่วงหดตัว ส่งผลให้อัตราการซึมผ่านของก๊าซเข้าสู่ฟองอากาศในช่วงขยายตัวมีมากกว่าช่วงถูกอัด และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในแต่ละรอบความถี่ของคลื่นเสียง

เมื่อฟองอากาศขยายตัวถึงขนาดเรโซแนนซ์ และพลังงานที่ได้รับจากคลื่นอัลตราซาวด์ไม่เพียงพอในการคงสภาพของไอหรือแก๊สภายในฟอง จะเกิดกระบวนการควบแน่น (condensation) ขึ้นทันที โดยโมเลกุลของไอที่ควบแน่นจะชนกันอย่างรุนแรง ก่อให้เกิดคลื่นกระแทกและบริเวณจุดเล็ก

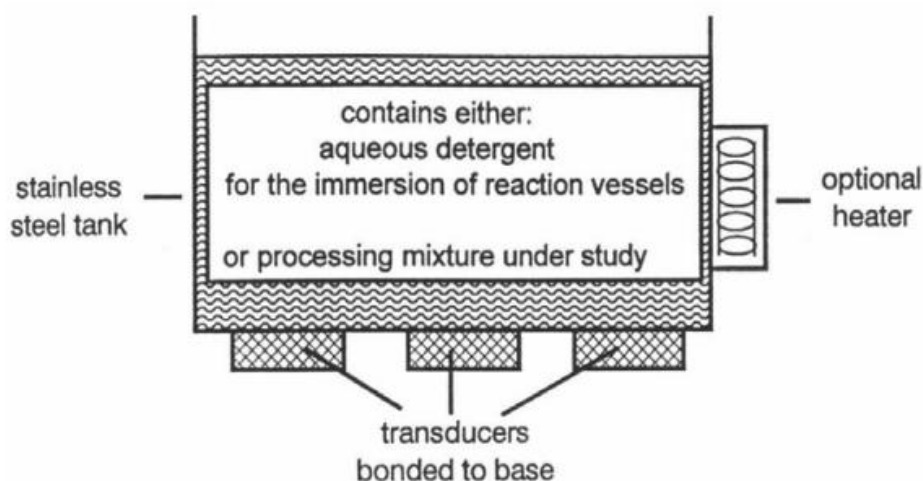
ๆ ที่มีอุณหภูมิและความดันสูงอย่างมาก (Suslick, 1988) ซึ่งเป็นที่เชื่อกันว่าปรากฏการณ์นี้เป็นหัวใจสำคัญของปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นในสภาวะที่ได้รับคลื่นอัลตราซาวด์ โดยการปลดปล่อยพลังงานจากการยุบตัวของฟองอากาศสามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาเคมีใหม่ หรือผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างจากสภาวะปกติได้ ปรากฏการณ์คาวิเทชันดังกล่าวจึงมีบทบาทอย่างมากต่อการประยุกต์ใช้คลื่นอัลตราซาวด์ในกระบวนการสกัด การเร่งปฏิกิริยาเคมี และเทคโนโลยีด้านการแปรรูปสารชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการและอุตสาหกรรม

3. เครื่องอัลตราโซนิก

เครื่องอัลตราโซนิกที่ใช้ในปัจจุบันมีความแตกต่างที่การออกแบบแหล่งกำเนิดไฟฟ้า แหล่งกำเนิดคลื่นเสียง และตัวเครื่องที่ใช้ร่วมกับแหล่งกำเนิดคลื่นเสียง โดยสามารถแบ่งออกเป็นชนิดต่าง ๆ (Bermudez, 2017) ดังนี้

3.1 อ่างอัลตราโซนิก (Ultrasonic bath)

ในการประยุกต์คลื่นอัลตราโซนิกเพื่อการสกัดสารชีวภาพ มักใช้คลื่นเสียงที่มีความเข้มประมาณ 1–5 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร ร่วมกับความถี่ในช่วง 20–40 กิโลเฮิร์ตซ์ (kHz) ซึ่งอยู่ในช่วงคลื่นเสียงเหนือการรับรู้ของมนุษย์ (ultrasonic frequency) อ่างอัลตราโซนิก (ultrasonic bath) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ส่งผ่านคลื่นเสียงไปยังตัวอย่าง โดยมีน้ำหรือของเหลวอื่นภายในอ่างทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการนำคลื่นจากแหล่งกำเนิดไปยังภาชนะที่บรรจุตัวอย่างหรือสารละลายที่ต้องการสกัด ภาชนะที่ใช้ควรมีฐานเรียบและวางตั้งฉากกับทิศทางการเคลื่อนที่ของคลื่นจากอ่าง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายเทพลังงานคลื่นเข้าสู่ของเหลวภายใน เพื่อให้การสกัดมีประสิทธิภาพสูงสุด ควรจุ่มภาชนะในบริเวณที่มีความเข้มของคลื่นเสียงสูงสุดภายในอ่าง (ดังแสดงในภาพที่ 8) ข้อดีของการใช้อ่างอัลตราโซนิก ได้แก่ ความสะดวกในการใช้งาน การรองรับภาชนะหลากหลายขนาด ความปลอดภัยจากการปนเปื้อนของโลหะ และความสามารถในการควบคุมระบบได้ง่าย อย่างไรก็ตาม ข้อจำกัดที่สำคัญคือ ความเข้มของคลื่นเสียงที่ได้มักอยู่ในระดับต่ำ และการกระจายคลื่นไม่สม่ำเสมอทั่วทั้งอ่าง ซึ่งอาจส่งผลต่อความสม่ำเสมอของกระบวนการสกัดระหว่างตัวอย่างแต่ละชุด ถึงจะมีข้อจำกัด แต่อ่างอัลตราโซนิกยังคงเป็นเครื่องมือที่เหมาะสมสำหรับการใช้งานในระดับห้องปฏิบัติการ เนื่องจากมีต้นทุนต่ำและใช้งานง่าย



ภาพที่ 8 อ่างอัลตราโซนิก (Ultrasonic bath)

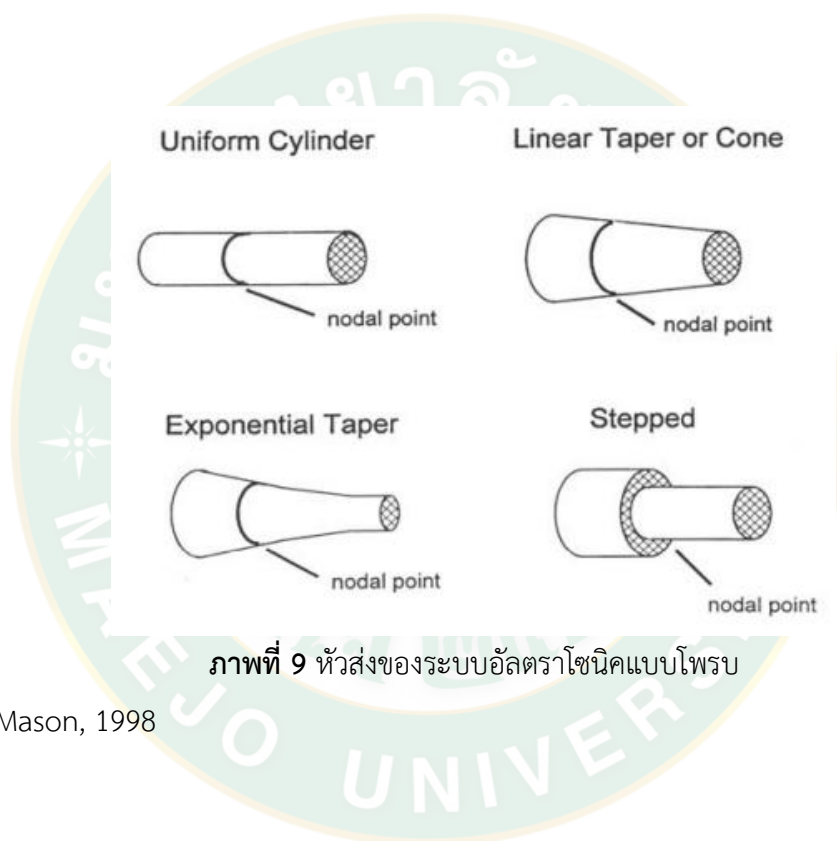
ที่มา : Mason, 1998

อ่างอัลตราโซนิกเป็นเครื่องมือที่ได้ถูกเลือกใช้มาเป็นเวลานานแล้วโดยเฉพาะในห้องปฏิบัติการเพราะเป็นเครื่องที่ราคาย่อมเยาเมื่อเทียบกับเครื่องอัลตราโซนิกประเภทอื่น สามารถเสริมอุปกรณ์ประเภทต่าง ๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเครื่องให้ดีขึ้น เช่น อุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ (thermostatically controlled heating) อุปกรณ์กระจายคลื่น (frequency sweeps) อุปกรณ์ปรับระดับพลังงาน สวิตช์เปิดปิดแบบจังหวะหรือนาฬิกาจับเวลา เป็นต้น

3.2 ระบบอัลตราโซนิกแบบโพรบ (Ultrasonic probe systems)

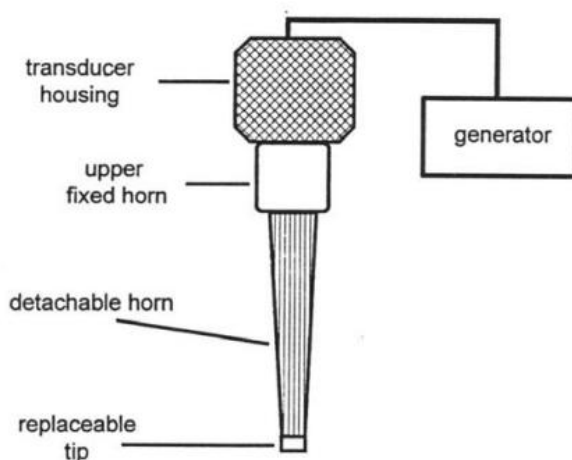
อุปกรณ์หัวส่งคลื่นอัลตราโซนิก หรือที่เรียกกันทั่วไปว่า *ultrasonic probe* เป็นระบบที่สามารถถ่ายทอดพลังงานคลื่นเสียงเข้าสู่ของเหลวได้โดยตรงผ่านหัวส่ง (sonotrode) ซึ่งทำหน้าที่เป็นจุดกำเนิดและส่งผ่านพลังงานจากทรานสดิวเซอร์ (transducer) ไปยังของเหลวหรือตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด โดยการใช้งานมักจะเป็นการจุ่มหัวส่งลงในภาชนะที่บรรจุตัวอย่างหรือสารละลายโดยตรง (แสดงในภาพที่ 9) หัวส่งสามารถสร้างความเข้มของคลื่นเหนือเสียงได้ในช่วงประมาณ 10–100 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร ซึ่งสูงกว่าระบบอ่างอัลตราโซนิกอย่างมีนัยสำคัญ ข้อดีของระบบหัวส่งคือสามารถให้ความเข้มของคลื่นเสียงในระดับสูงและมีความแม่นยำในการควบคุม โดยผู้ใช้งานสามารถปรับความเข้มของคลื่นได้ผ่านการปรับกำลังไฟฟ้าที่ป้อนเข้าสู่ระบบ และการเลือกขนาดหัวส่งที่เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ของการใช้งาน อย่างไรก็ตาม อุปกรณ์ชนิดนี้มีข้อจำกัดที่สำคัญคือ ความเสี่ยงในการปนเปื้อนของตัวอย่างจากการสึกกร่อนของหัวส่ง โดยเฉพาะในกรณีที่ใช้งานเป็นระยะเวลานานหรือในสถานะที่มีความเป็นกรดหรือด่างสูง ซึ่งอาจทำให้วัสดุของหัวส่งหลุดออกมาผสมกับสารละลายได้

เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการกระจายคลื่นเสียงและถ่ายทอดพลังงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ทรานส์ดิวเซอร์มักถูกต่อเข้ากับอุปกรณ์ที่เรียกว่า ฮอร์น (horn) ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวขยายคลื่นเสียง โดยฮอร์นส่วนใหญ่ออกแบบให้มีความยาวเป็นครึ่งหนึ่งหรือพหุคูณของความยาวคลื่นเสียงของวัสดุที่ใช้ผลิต ซึ่งช่วยให้เกิดการส่งผ่านคลื่นอย่างมีประสิทธิภาพและลดการสูญเสียพลังงาน การเลือกใช้ อุปกรณ์หัวส่งคลื่นอัลตราโซนิกจึงเหมาะสมอย่างยิ่งกับการสกัดสารออกฤทธิ์จากพืชในระดับ ห้องปฏิบัติการและการวิจัย ที่ต้องการความเข้มของคลื่นสูงและสามารถควบคุมกระบวนการได้อย่าง แม่นยำ



ภาพที่ 9 หัวส่งของระบบอัลตราโซนิกแบบโพรบ

ที่มา : Mason, 1998



ภาพที่ 10 ฮอร์น (horn)

ที่มา : Mason, 1998

ลักษณะทางกายภาพของฮอร์นมีอิทธิพลโดยตรงต่อการสร้างแอมพลิจูดภายในระบบการส่งถ่ายคลื่นเสียง สำหรับฮอร์นที่มีรูปทรงกระบอกสม่ำเสมอ (uniform cylinder) แอมพลิจูดของคลื่นเสียงจะคงที่ตลอดแนว แต่ฮอร์นยังคงทำหน้าที่เพิ่มประสิทธิภาพในการส่งผ่านพลังงานเสียงจากต้นกำเนิดสู่สื่อกลาง ความยาวคลื่นที่ได้จากระบบขยายเสียง (amplifier) สามารถคำนวณได้จากอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่หน้าตัดระหว่างผิวด้านขับเคลื่อน (driven face; D) และผิวที่ปล่อยคลื่น (emitting face; d) อย่างไรก็ตาม เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดความเสียหายจากความเค้นภายในวัสดุ (internal stress) ควรควบคุมอัตราส่วน D/d ไม่ให้มีความมากเกินไป

การวิเคราะห์ทางเคมีและทางกายภาพ

1. โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High-Performance Liquid Chromatography: HPLC)

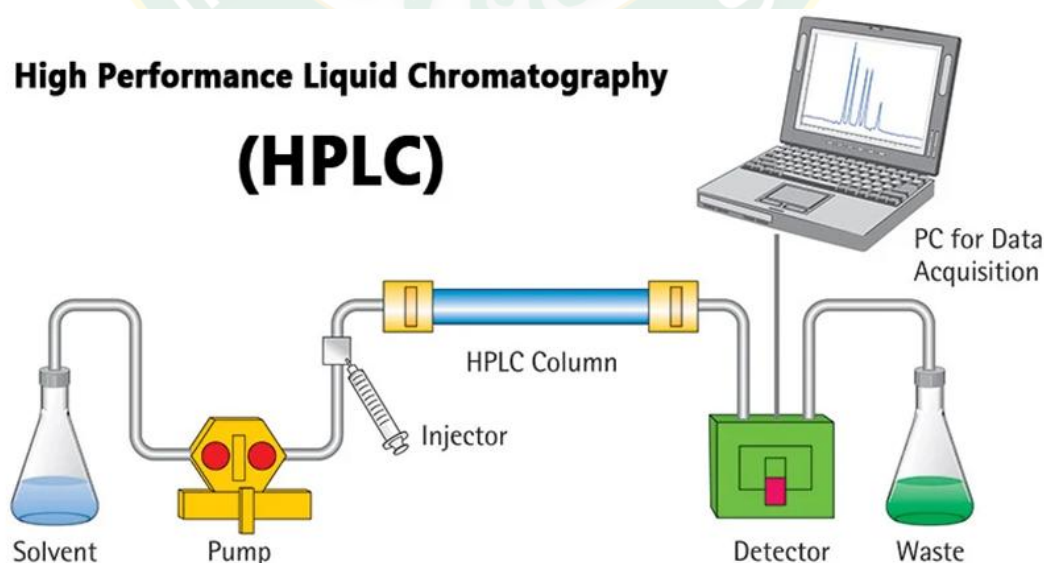
เทคนิคโครมาโทกราฟี (chromatography) เป็นวิธีการแยกสารที่อาศัยความแตกต่างของคุณสมบัติทางฟิสิกส์และเคมีของสารในตัวอย่าง โดยเฉพาะความสามารถในการละลายหรือยึดติดกับวัสดุภาคต่าง ๆ ของระบบการแยก เทคนิคนี้สามารถประยุกต์ใช้งานได้ทั้งในด้านการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (qualitative analysis) และเชิงปริมาณ (quantitative analysis) และได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในหลากหลายสาขา เช่น อุตสาหกรรมอาหาร ยา สมุนไพร การวิเคราะห์สารตกค้างจากยาฆ่าแมลง รวมถึงการตรวจสอบสิ่งแวดล้อม หนึ่งในเทคนิคโครมาโทกราฟีที่มีประสิทธิภาพสูงและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายคือ โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid

Chromatography: HPLC) ซึ่งเป็นระบบการแยกสารที่ใช้ของเหลวหรือตัวทำละลายเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) และใช้อนุภาคที่ไม่เคลื่อนที่ซึ่งบรรจุอยู่ในคอลัมน์เป็นวัฏภาคคงที่ (stationary phase)

ระบบ HPLC ประกอบด้วยเครื่องสูบล้างแรงดันสูง (high pressure pump) สำหรับส่งผ่าน mobile phase ผ่านตัวอย่างซึ่งถูกฉีดเข้าสู่ระบบผ่านช่องฉีดสาร (injector) สารผสมจะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์ที่บรรจุ stationary phase ซึ่งทำหน้าที่แยกสารต่าง ๆ ตามอัตราการเคลื่อนที่ที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับความสามารถของสารในการละลายหรือจับกับ mobile phase หรือ stationary phase โดยสารที่มีความเข้ากันได้ดีกับ mobile phase จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่ยึดติดกับ stationary phase ได้ดีจะเคลื่อนที่ช้ากว่าและถูกแยกออกมาทีหลัง เมื่อสารแต่ละชนิดถูกแยกออกจากกันแล้ว จะไหลผ่านเข้าสู่เครื่องตรวจวัด (detector) ซึ่งแปลงสัญญาณที่ตรวจพบเป็นสัญญาณไฟฟ้าแสดงผลตามเวลาและปริมาณของสารนั้น ๆ สัญญาณเหล่านี้จะถูกส่งต่อไปยังเครื่องบันทึกผลหรือซอฟต์แวร์ประมวลผลเพื่อแสดงผลในรูปแบบของโครมาโตแกรม (chromatogram) ที่ประกอบด้วยลักษณะของยอดสัญญาณ (peaks) ซึ่งแต่ละยอดแสดงถึงสารประกอบต่าง ๆ ในตัวอย่าง แม้รูปลักษณ์ภายนอกของระบบ HPLC จะมีความแตกต่างกันตามผู้ผลิต แต่อุปกรณ์หลักประกอบด้วยส่วนสำคัญเหมือนกัน ได้แก่ แหล่งเก็บ mobile phase, ปั๊มแรงดันสูง, ช่องฉีดตัวอย่าง, คอลัมน์แยกสาร, เครื่องตรวจวัด และหน่วยประมวลผลสัญญาณ (ดังแสดงในภาพที่ 10) ด้วยคุณสมบัติในการแยกและวิเคราะห์สารได้อย่างแม่นยำ รวดเร็ว และมีความสามารถในการตรวจวัดที่ความเข้มข้นระดับต่ำ HPLC จึงเป็นเทคนิคที่มีบทบาทสำคัญในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์และวิจัยทางเคมีชีวภาพและเภสัชกรรมอย่างกว้างขวาง

High Performance Liquid Chromatography

(HPLC)



ภาพที่ 11 องค์ประกอบของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

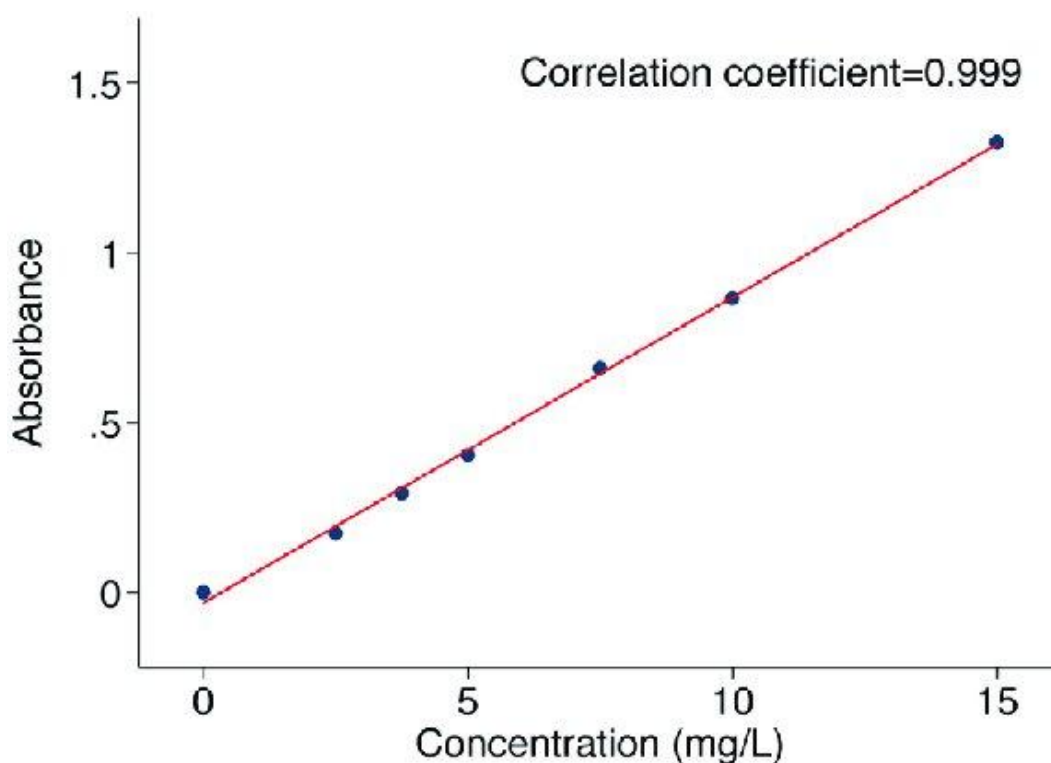
ที่มา : Sartorius AG

2. การวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

การวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometry) เป็นเทคนิคทางวิเคราะห์ที่มีบทบาทสำคัญในการศึกษาสมบัติทางกายภาพของสาร ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ โดยอาศัยหลักการที่ว่าสารแต่ละชนิดมีความสามารถในการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเฉพาะเจาะจง (spectrum) แตกต่างกัน เมื่อแสงผ่านสารตัวอย่างบางส่วนของแสงจะถูกดูดกลืนไว้ ซึ่งปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนสามารถนำมาใช้วิเคราะห์คุณสมบัติของสารนั้นได้ เทคนิคนี้จัดเป็นหนึ่งในวิธีการวิเคราะห์พื้นฐานที่มีความแม่นยำและความไวสูง โดยเฉพาะในการตรวจวัดสารชีวโมเลกุลในระดับไมโครกรัม (μg) จึงได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในด้านชีวเคมี อาหาร ยา และสิ่งแวดล้อม เนื่องจากสามารถให้ผลการวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว มีความเที่ยงตรงสูง และไม่ต้องใช้ปริมาณตัวอย่างมาก ในปัจจุบัน เครื่องมือที่ใช้ในการวัดการดูดกลืนแสงมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ทั้งในรูปแบบของระบบบนาล็อก ระบบดิจิทัล และระบบดิจิทัลอัตโนมัติที่ควบคุมด้วยไมโครโพรเซสเซอร์ ซึ่งช่วยให้สามารถปรับตั้งค่าการวัด วิเคราะห์ข้อมูล และประมวลผลได้อย่างสะดวกและแม่นยำมากยิ่งขึ้น

ด้วยคุณสมบัติที่โดดเด่นเหล่านี้ เทคนิคการวัดการดูดกลืนแสงจึงถือเป็นเครื่องมือที่สำคัญในการวิเคราะห์สารทางเคมีและชีวภาพ โดยเฉพาะในการศึกษาองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์จากธรรมชาติ การวิเคราะห์สารปนเปื้อน หรือการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาทางเคมีในงานวิจัยต่าง ๆ

หลักการทำงานของเครื่องมือวิเคราะห์นี้เริ่มต้นเมื่อแสงถูกปล่อยออกจากแหล่งกำเนิด จากนั้นจะถูกส่งผ่านเข้าสู่ชุดควบคุมแสง ซึ่งทำหน้าที่ปรับให้แสงที่ผ่านออกมาเป็นลำแสงที่มีความยาวคลื่นเฉพาะตามที่กำหนดไว้ แสงดังกล่าวจะเดินทางเข้าสู่ตัวอย่างซึ่งอยู่ในสถานะสารละลายและบรรจุอยู่ในหลอดควิเวท (cuvette) เมื่อแสงส่องผ่านตัวอย่าง พลังงานของแสงบางส่วนจะถูกดูดกลืนโดยโมเลกุลของสารที่อยู่ภายใน จากนั้นแสงที่เหลือจะถูกส่งต่อไปยังตัวตรวจวัดสัญญาณ (detector) ซึ่งทำหน้าที่แปลงพลังงานจากรังสีแสงให้กลายเป็นสัญญาณไฟฟ้า และแสดงผลลัพธ์ออกมาในรูปของค่าการดูดกลืนแสง (optical density, OD) บนหน้าจอ ค่าการดูดกลืนแสงนี้มีความสัมพันธ์โดยตรงกับจำนวนโมเลกุลของสารที่ทำการดูดกลืนแสง ตามหลักของกฎเบียร์-แลมเบิร์ต (จันทร์สุวรรณ, 2020) จากนั้นสามารถนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณของสารในตัวอย่างโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ซึ่งเป็นกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการตอบสนอง (response) ที่วัดได้บนแกน Y และค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (analyte) บนแกน X โดยค่าการตอบสนองจะต้องแปรผันตรงกับปริมาณของสารที่ต้องการวิเคราะห์



ภาพที่ 12 ตัวอย่างลักษณะกราฟมาตรฐาน

ที่มา : Aguree and Gernand, 2019

การสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้น (calibration curve) เริ่มจากการเตรียมสารละลายมาตรฐาน (standard solutions) ที่มีความเข้มข้นทราบแน่ชัด จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของสารละลายแต่ละความเข้มข้นที่ความยาวคลื่นที่กำหนดไว้ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสาร (แกน X) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน Y) เพื่อใช้เป็นกราฟมาตรฐาน ในกรณีของสารตัวอย่างซึ่งไม่ทราบค่าความเข้มข้นล่วงหน้า เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงภายใต้เงื่อนไขเดียวกับที่ใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน เครื่องมือจะรายงานค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง จากนั้นสามารถนำค่าดังกล่าวไปแทนในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของสารที่สนใจในตัวอย่างได้อย่างแม่นยำ (จันทร์สุวรรณ, 2020)

3. การวัดค่าสี

สีเป็นคุณลักษณะทางแสงที่สะท้อนถึงลักษณะภายนอกของผลิตภัณฑ์ และมักถูกใช้เป็นหนึ่งในตัวแปรสำคัญในการกำหนดมาตรฐานคุณภาพของผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ อย่างไรก็ตาม ในหลายกระบวนการผลิตในภาคอุตสาหกรรม มักประสบปัญหาในการควบคุมคุณภาพของสี เนื่องจากการประเมินสีด้วยสายตามนุษย์มีความไม่แม่นยำและคลาดเคลื่อนสูง ซึ่งความคลาดเคลื่อน

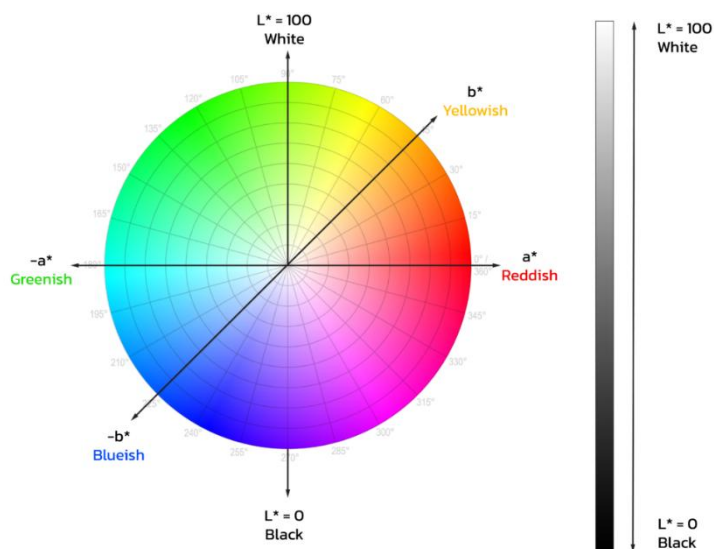
ดังกล่าวเกิดขึ้นจากหลายปัจจัย เช่น ความแตกต่างของแหล่งกำเนิดแสง สภาพสายตา และการรับรู้ของแต่ละบุคคล เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว จึงมีการพัฒนาระบบการวัดสีที่สามารถใช้เป็นมาตรฐานสากลและช่วยลดความคลาดเคลื่อนจากการประเมินด้วยสายตามนุษย์ โดยองค์กรหลักที่รับผิดชอบในการกำหนดมาตรฐานด้านการวัดแสงและสีคือ International Commission on Illumination ซึ่งเป็นที่รู้จักกันในชื่อภาษาฝรั่งเศสว่า Commission Internationale de l'Éclairage (CIE) CIE ได้เริ่มต้นพัฒนาระบบวัดสีโดยอิงจากการรับรู้ของสายตามนุษย์ นำไปสู่การสร้างระบบ วัดสี X-Y-Z Color Space ซึ่งเป็นระบบสีมาตรฐานแรกที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง โดยแสดงค่าพิกัดสีในเชิงตัวเลขที่สัมพันธ์กับความยาวคลื่นของแสง จะใช้อธิบายสีแดง (Red) สีเขียว (Green) สีน้ำเงิน (Blue) อย่างไรก็ตาม ระบบ X-Y-Z ยังไม่สามารถสะท้อนความรู้สึกของความแตกต่างของสีได้อย่างแม่นยำในทุกกรณี เพื่อเพิ่มความสอดคล้องกับการรับรู้ของมนุษย์ CIE ได้พัฒนาระบบ CIE $L^* a^* b^*$ ซึ่งเป็นระบบที่มีลักษณะเชิงปริภูมิสีแบบสามมิติ โดยค่าสีที่ได้สามารถนำมาเปรียบเทียบและวิเคราะห์ความแตกต่างของสี (ΔE) ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ระบบเหล่านี้นักกลายเป็นมาตรฐานสำคัญในการควบคุมคุณภาพสีในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อาหาร สิ่งทอ วัสดุพิมพ์ และจอแสดงผล ระบบสี CIE $L^* a^* b^*$ ซึ่งประกอบด้วยพิกัด 3 มิติ โดยให้ความหมาย ดังนี้

ค่า L^* หมายถึง ค่าความสว่างของสี (Lightness) โดยมีค่าตั้งแต่ 0 (ดำสนิท) ไปจนถึง 100 (ขาวบริสุทธิ์)

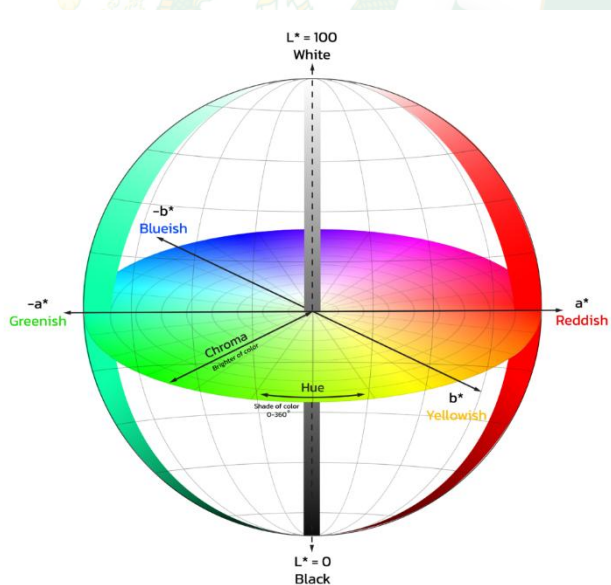
ค่า a^* หมายถึง ความแตกต่างของตำแหน่งสีในแกนเขียวและแดง โดยค่าบวกหมายถึงเฉดแดง ($+a^*$) และค่าลบหมายถึงเฉดเขียว ($-a^*$)

ค่า b^* หมายถึง ความแตกต่างของตำแหน่งสีในแกนฟ้าและเหลือง โดยค่าบวกหมายถึงเฉดเหลือง ($+b^*$) และค่าลบหมายถึงเฉดน้ำเงิน ($-b^*$)

และในส่วน of พื้นที่ตรงกลาง จะไม่สามารถแยกสีได้ (Achromatic) เมื่อค่า a^* และ b^* เพิ่มขึ้น และจุดดังกล่าวเคลื่อนที่ออกจากจุดศูนย์กลาง ความอิ่มสีจะเพิ่มมากขึ้น ระบบสี CIE $L^* a^* b^*$ นี้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล และได้รับการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการควบคุมคุณภาพสีของผลิตภัณฑ์อาหารและผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมอื่น ๆ อย่างแม่นยำและมีความสม่ำเสมอการวัดความขึ้น



ภาพที่ 13 แผนภาพแสดงการอธิบายสีในระบบ CIE Lab ในมุมมองแบบสองมิติ
ที่มา: Koffaree S. (2567)



ภาพที่ 14 แผนภาพแสดงการอธิบายสีในระบบ CIE Lab ในมุมมองแบบสามมิติ
ที่มา: Koffaree S. (2567)

ในการวัดสีของผลิตภัณฑ์อาหารและวัสดุต่าง ๆ อย่างแม่นยำและเชื่อถือได้ จำเป็นต้องใช้ อุปกรณ์วัดสีเชิงวิทยาศาสตร์ที่มีความเที่ยงตรงสูง หนึ่งในอุปกรณ์ที่นิยมใช้อย่างแพร่หลาย คือ สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่สามารถวัดปริมาณการสะท้อนหรือ การดูดกลืนของแสงในช่วงความยาวคลื่นต่าง ๆ โดยละเอียด หลักการทำงานของสเปกโตรโฟโต มิเตอร์คือการฉายแสงจากแหล่งกำเนิดแสงประดิษฐ์ (Illuminant) ไปยังผิวของตัวอย่าง แล้ววัดแสงที่ สะท้อนกลับหรือผ่านตัวอย่างนั้น อุปกรณ์จะทำการแยกแสงออกเป็นช่วงความยาวคลื่น และวัดค่า ความเข้มของแสงในแต่ละช่วง เพื่อวิเคราะห์ลักษณะสีของตัวอย่างอย่างแม่นยำ

4. ปริมาณความชื้น (Moisture content) และปริมาณน้ำอิสระ (a_w)

ความชื้น (Moisture content) หมายถึง ปริมาณน้ำที่สามารถตรวจวัดได้ในตัวอย่างอาหาร ซึ่งสามารถอยู่ได้ทั้งในรูปของ น้ำอิสระ (free water) ที่สามารถระเหยหรือเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระ และ น้ำที่ถูกยึดเหนี่ยว (bound water) ซึ่งจับยึดกับโครงสร้างขององค์ประกอบต่าง ๆ ภายในอาหาร เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และแร่ธาตุต่าง ๆ ความชื้นเป็นองค์ประกอบสำคัญที่มีอิทธิพลต่อ เสถียรภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเฉพาะการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ ซึ่งส่งผลต่อทั้งอายุการเก็บรักษา และความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์

อาหารที่มีปริมาณความชื้นสูงมักเป็นผลิตภัณฑ์ที่เน่าเสียได้ง่าย เพราะมีสภาพแวดล้อมที่เอื้อ ต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค รวมถึงเชื้อราและแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารพิษ เช่น อะฟลาทอกซิน (aflatoxin) และ พาทูลิน (patulin) ซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค (อุตสาหกรรมอาหาร, 2564)

การแสดงค่าความชื้นของอาหารสามารถทำได้ใน 2 รูปแบบคือ

- 1) ความชื้นฐานเปียก (wet basis) เป็นวิธีการรายงานค่าความชื้นที่ใช้กันโดยทั่วไปใน เชิงพาณิชย์และในชีวิตประจำวัน โดยระบุเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำที่อยู่ในอาหารเมื่อ เทียบกับน้ำหนักรวมของอาหารทั้งหมด
- 2) ความชื้นฐานแห้ง (dry basis) เป็นวิธีที่นิยมใช้ในงานวิจัยและในกระบวนการแปรรู ปอาหาร โดยเฉพาะในกระบวนการอบแห้ง (dehydration) เนื่องจากน้ำหนักของ สารที่ไม่มีน้ำจะคงที่ ช่วยให้สามารถคำนวณสมดุลมวลและการถ่ายเทความร้อนได้ สะดวก โดยอาจรายงานเป็นเปอร์เซ็นต์ หรือในรูปของอัตราส่วน เช่น กรัมของน้ำต่อ น้ำหนักของของแข็งแห้ง (g_{H_2O}/g_{solid})

4.1 การวัดความชื้นของอาหาร

น้ำที่มีอยู่ในอาหารแต่ละชนิดอาจอยู่ในรูปแบบที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับลักษณะของการยึดเหนี่ยวระหว่างน้ำกับโครงสร้างหรือโมเลกุลขององค์ประกอบต่าง ๆ ในอาหาร เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และแร่ธาตุ โดยน้ำอาจอยู่ในรูปของน้ำอิสระ (free water) หรืออยู่ในรูปที่จับยึดกับ

สารอื่นอย่างแน่นหนา (bound water) ลักษณะของการยึดเหนี่ยวน้ำเหล่านี้ส่งผลต่อการเลือกใช้เทคนิควิเคราะห์ความชื้นที่เหมาะสม เนื่องจากเทคนิคในการวัดความชื้นมีความหลากหลาย ทั้งในแง่ของหลักการทำงาน ความซับซ้อนของอุปกรณ์ที่ใช้ ความแม่นยำของผลลัพธ์ รวมถึงความเหมาะสมกับชนิดของอาหาร ทำให้การเลือกวิธีวิเคราะห์ความชื้นต้องพิจารณาอย่างรอบคอบ โดยเฉพาะเมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างขององค์ประกอบภายในอาหารแต่ละประเภท เช่น อาหารที่มีไขมันสูง อาหารที่มีความชื้นต่ำ หรืออาหารที่มีส่วนประกอบของสารระเหยง่าย ดังนั้น การทำความเข้าใจเกี่ยวกับ วิธีการวัดความชื้นในอาหารในแต่ละเทคนิค ตลอดจน ข้อดีและข้อจำกัดของแต่ละวิธี จึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อให้สามารถเลือกใช้เทคนิคที่เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ของการวิเคราะห์ และสอดคล้องกับลักษณะเฉพาะของตัวอย่างอาหารที่ต้องการศึกษา ทั้งในเชิงวิจัยและเชิงอุตสาหกรรม

4.1.1 การวัดความชื้นโดยตรง (direct method) การวัดความชื้นในอาหารโดยตรง (direct methods) เป็นวิธีที่ใช้ตรวจวัดปริมาณน้ำที่มีอยู่ในตัวอย่างอาหารโดยตรง ซึ่งสามารถดำเนินการได้หลายวิธีตามหลักการที่ต่างกัน เช่น การแยกน้ำออกจากตัวอย่างด้วยกระบวนการทางกายภาพ และเคมี วิธีการทางกายภาพ ได้แก่ การทำให้น้ำระเหยออกจากอาหารผ่านกระบวนการอบแห้ง การกลั่น หรือการให้ความร้อนด้วยรังสีอินฟราเรดหรือคลื่นไมโครเวฟ ขณะที่วิธีทางเคมีมักอาศัยปฏิกิริยาระหว่างน้ำกับสารเคมีจำเพาะ เช่น การไทเทรตด้วยวิธี Karl Fischer titration แม้ว่าวิธีการวัดโดยตรงจะเป็นวิธีที่ทำลายตัวอย่าง แต่ก็ยังเป็นเทคนิคที่ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางในแง่ของความแม่นยำและความถูกต้อง โดยเฉพาะในกรณีที่ต้องการใช้เป็นค่าความชื้นมาตรฐาน (reference method) สำหรับเปรียบเทียบหรือเปรียบเทียบกับผลการวัดจากวิธีอื่นที่ไม่ทำลายตัวอย่าง

4.1.2 การวัดโดยอ้อม (indirect methods)

การวัดความชื้นทางอ้อม (indirect moisture determination) เป็นเทคนิคที่อาศัยการวัดสมบัติทางไฟฟ้าของเมล็ดพืชโดยใช้อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ เช่น การวัดค่าความต้านทานไฟฟ้า (electrical resistance) และความจุไฟฟ้า (capacitance) ของตัวอย่าง ซึ่งมีจุดเด่นด้านความสะดวก รวดเร็ว ใช้งานง่าย และเหมาะสำหรับการตรวจวัดบ่อยครั้ง อย่างไรก็ตาม วิธีการนี้ให้ค่าความชื้นในเชิงประมาณการ จึงมีความแม่นยำต่ำกว่าวิธีวัดโดยตรง และจำเป็นต้องใช้การสอบเทียบ (calibration) กับค่ามาตรฐาน หนึ่งในวิธีที่นิยมคือ การวัดความต้านทานไฟฟ้า (resistance method) โดยบรรจุเมล็ดพืชลงในช่องว่างระหว่างขั้วไฟฟ้าภายในภาชนะปิดสนิท แล้ววัดค่าความต้านทานไฟฟ้าที่เกิดขึ้น ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงตามปริมาณน้ำที่มีอยู่ในเมล็ด โดยค่าความต้านทานที่วัดได้สามารถแปลงกลับเป็นค่าความชื้นโดยใช้ตารางหรือสมการความสัมพันธ์ที่ได้จากการสอบเทียบ อีกวิธีหนึ่งคือ การวัดความจุไฟฟ้า (capacitance method) ซึ่งมีความแม่นยำสูงกว่าวิธีวัดความต้านทาน โดยตัวอย่างเมล็ดพืชจะถูกบรรจุในภาชนะปิดที่ผนังสามารถปล่อยคลื่นไฟฟ้าความถี่สูงออกมาได้ ความชื้นในเมล็ดจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความจุไฟฟ้าของระบบ โดยการแปลงค่านี้ให้เป็นค่า

ความชื้นต้องอาศัยตารางคาลิเบรชันที่ได้จากการเปรียบเทียบกับวิธีวัดความชื้นโดยตรง นอกจากนี้ ยังมี การวัดความชื้นโดยอาศัยความชื้นสัมพัทธ์ (relative humidity method) ซึ่งเป็นการประเมินปริมาณน้ำในเมล็ดโดยอาศัยการวัดความชื้นสัมพัทธ์ในช่องอากาศระหว่างเมล็ดพืชในภาชนะปิด เนื่องจากความชื้นในเมล็ดมีผลต่อค่าความชื้นสัมพัทธ์ของบรรยากาศในบริเวณดังกล่าว อย่างไรก็ตาม ความแม่นยำของวิธีนี้ขึ้นอยู่กับการกระจายตัวของความชื้นภายในตัวอย่าง และจำเป็นต้องใช้ระยะเวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมงเพื่อให้ความชื้นสัมพัทธ์ภายในภาชนะเกิดสมดุลก่อนการวัด แม้ว่าวิธีการวัดทางอ้อมจะไม่สามารถระบุค่าความชื้นได้อย่างแม่นยำเทียบเท่ากับวิธีตรง แต่ด้วยความสะดวกและรวดเร็วในการใช้งาน จึงเหมาะสมสำหรับการควบคุมคุณภาพในภาคสนามหรือสายการผลิต โดยเฉพาะเมื่อต้องการการประเมินผลเบื้องต้นในปริมาณมาก

การออกแบบการทดลอง (Design of Experiment: DOE)

การออกแบบการทดลอง (Experimental Design) เป็นกระบวนการวางแผนเพื่อพัฒนาการทดลองให้มีคุณภาพและความเหมาะสมสูงสุด โดยมุ่งเน้นการค้นหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุด (Optimization) ผ่านการสร้างแบบจำลองหรือสมการทางคณิตศาสตร์ที่อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ การออกแบบการทดลองช่วยให้สามารถศึกษาผลของหลายปัจจัยได้พร้อมกันภายใต้เงื่อนไขเดียวกัน จึงถือเป็นวิธีการเก็บข้อมูลที่มีประสิทธิภาพ โดยอาศัยการปรับเปลี่ยนค่าของตัวแปรต้น (Input: Factors) อย่างเป็นระบบ เพื่อตรวจสอบผลกระทบที่เกิดขึ้นกับตัวแปรตอบสนอง (Output: Response)

การออกแบบพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology หรือ RSM)

การออกแบบพื้นที่การตอบสนอง (Response Surface Methodology: RSM) เป็นวิธีการทางคณิตศาสตร์และสถิติที่ใช้สำหรับสร้างแบบจำลอง (modeling) และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรหลายตัวแปร (multivariate analysis) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาค่าที่เหมาะสมที่สุด (optimum) ของค่าการตอบสนอง (response variable) จากความสัมพันธ์ของตัวแปรต้น (input variables) ที่อยู่ภายใต้การควบคุมในการทดลอง เทคนิคนี้มีประโยชน์อย่างยิ่งในการศึกษาระบบที่ซับซ้อนในงานวิจัย โดยเฉพาะในกระบวนการที่ต้องการการพัฒนา การปรับปรุง และการเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการ เช่น งานด้านวิทยาศาสตร์อาหาร วิศวกรรมเคมี และเทคโนโลยีชีวภาพ การประยุกต์ใช้ RSM ทำให้สามารถศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต้นได้อย่างชัดเจน และสามารถแสดงผลในลักษณะกราฟิกสามมิติ (3D surface plots) หรือแผนที่ระดับเส้น (contour plots) เพื่อแสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต้นและตัวแปรตอบสนองอย่างเป็นรูปธรรม แกนหลักของวิธีการนี้อยู่ที่การวิเคราะห์ข้อมูลจากการทดลองที่ถูกออกแบบอย่างเป็นระบบตามรูปแบบการวางแผนการ

ทดลอง เช่น Box-Behnken Design (BBD) หรือ Central Composite Design (CCD) ซึ่งช่วยให้สามารถประมาณค่าการตอบสนองผ่านสมการฟังก์ชันเชิงพหุนาม (polynomial regression function) และใช้ฟังก์ชันดังกล่าวในการหาจุดที่เหมาะสมของกระบวนการ

โดยทั่วไป แบบจำลองที่ใช้ใน RSM จะอยู่ในรูปของสมการพหุนามอันดับที่สอง (second-order polynomial model) ซึ่งสามารถประมาณความสัมพันธ์เชิงเส้นและไม่เชิงเส้นของตัวแปรได้ การวิเคราะห์นี้ไม่เพียงแต่ช่วยให้เข้าใจผลกระทบของแต่ละตัวแปรอย่างเป็นระบบ แต่ยังช่วยให้นักวิจัยสามารถตัดสินใจได้อย่างมีประสิทธิภาพในการกำหนดสถานะที่เหมาะสมที่สุดเพื่อใช้ในการปฏิบัติการหรือขยายผลในระดับอุตสาหกรรม ด้วยคุณสมบัติที่สามารถเชื่อมโยงระหว่างการวางแผนการทดลอง การสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ และการหาค่าที่เหมาะสมได้อย่างครบถ้วน RSM จึงเป็นเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีความสำคัญต่อการวิจัยเชิงทดลองในหลากหลายสาขา

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_n) + \epsilon \quad (2.1)$$

เมื่อ Y คือ ค่าตอบสนองที่วัดได้ เรียกว่า ตัวแปรตาม (Dependent variable)
 f คือ กลุ่มตัวแปรอิสระเชิงปริมาณ ที่มีผลต่อค่าตอบสนองดังกล่าว
 (Independent variable)
 ϵ คือ เทอมของความคลาดเคลื่อนสุ่ม

ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรสามารถอธิบายได้ด้วยสมการถดถอยเชิงเส้นตรง ดังนี้

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_n X_n + \epsilon \quad (2.2)$$

สมการนี้จัดเป็นสมการเชิงเส้นพื้นฐานซึ่งอยู่ในรูปแบบลำดับที่หนึ่ง (First-order model or equation) และมักถูกใช้เป็นจุดเริ่มต้นในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร

สำหรับสมการลำดับที่สอง (Second-order model) เป็นการแสดงความสัมพันธ์ในลักษณะของสมการถดถอยเชิงพาราโบลา หรือที่เรียกว่า สมการถดถอยเชิงกำลังสอง (Quadratic regression relationship)

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_n X_n + \beta_{11} X_1^2 + \dots + \beta_{nn} X_n^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \dots + \beta_{n-1} X_{n-1} + \epsilon \quad (2.3)$$

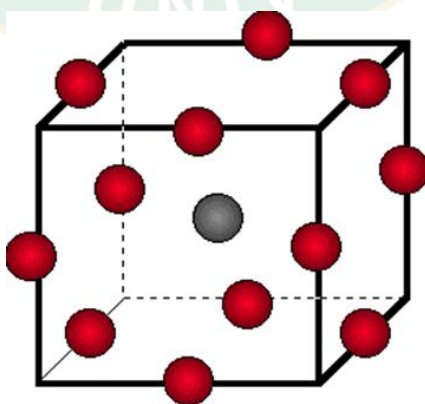
พารามิเตอร์ในสมการนี้โดยส่วนใหญ่ไม่สามารถกำหนดค่าได้โดยตรง จำเป็นต้องใช้วิธีประมาณค่าโดยอ้างอิงจากผลลัพธ์ที่ได้จากการทดลอง โดยสามารถตีความความหมายในเชิงกายภาพของแต่ละพารามิเตอร์ได้ดังนี้

เมื่อ β_0 คือ จุดตัด (Intercept) หรือ Grand mean

- β_i คือ เป็นผลเชิงเส้นตรง (Linear effect) ของ X_i
 β_{ii} คือ เป็นผลเชิงเส้นโค้ง (Quadratic effect) ของ X_i
 β_{ij} คือ เป็นผลของปฏิกริยาสัมพันธ์ (Interaction effect) ของ X_i และ X_j

1. การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken Design (BBD)

การออกแบบการทดลองแบบสามระดับสำหรับการวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology: RSM) เหมาะสำหรับการศึกษาตัวแปรเชิงปริมาณที่มี 3 ระดับ โดยเฉพาะในกรณีศึกษาที่มีจุดมุ่งหมายเพื่อทำความเข้าใจความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่าตอบสนอง แบบจำลองของ Box-Behnken Design (BBD) เป็นการออกแบบที่ผสมหลักการของแฟกทอเรียลเต็มรูปแบบเข้ากับจุดกึ่งกลาง (center points) เพื่อเพิ่มความเที่ยงตรงในการวิเคราะห์ผลลัพธ์จากการออกแบบดังกล่าวมีคุณสมบัติในการหมุน (rotatability) หรือใกล้เคียงกับการหมุนเนื่องจากจุดทดลองทั้งหมดถูกจัดวางอยู่บนผิวของทรงกลมที่มีรัศมี จุดเด่นของ Box-Behnken Design คือการไม่รวมจุดที่อยู่ตรงมุมของลูกบาศก์ ซึ่งเป็นขีดจำกัดบนและล่างของแต่ละปัจจัย ทำให้ลดความเสี่ยงต่อการทดลองในสภาวะสุดโต่ง สำหรับการกำหนดค่าของพารามิเตอร์ในการออกแบบจะใช้รหัสออร์โธโกนัล โดยกำหนดให้สองปัจจัยมีค่าเป็น +1 และ -1 ในขณะที่อีกปัจจัยหนึ่งอยู่ที่ระดับ 0 การจัดตำแหน่งจุดทดลองใน BBD ประกอบด้วยจุดกึ่งกลางของแต่ละขอบกล่องจำนวน 12 จุด และทำซ้ำที่จุดกึ่งกลางของการออกแบบอย่างน้อย 3 ครั้ง เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือของข้อมูล การออกแบบนี้สามารถใช้ศึกษาผลกระทบในเชิงเส้น (linear effect), ผลกระทบเชิงกำลังสอง (quadratic effect) และปฏิสัมพันธ์ระหว่างสองปัจจัย (two-factor interaction) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (ประไพศรี สุทัศน์ ณ อยุธยา และ พงศ์ชนัน เหลืองไพบูลย์, 2008)

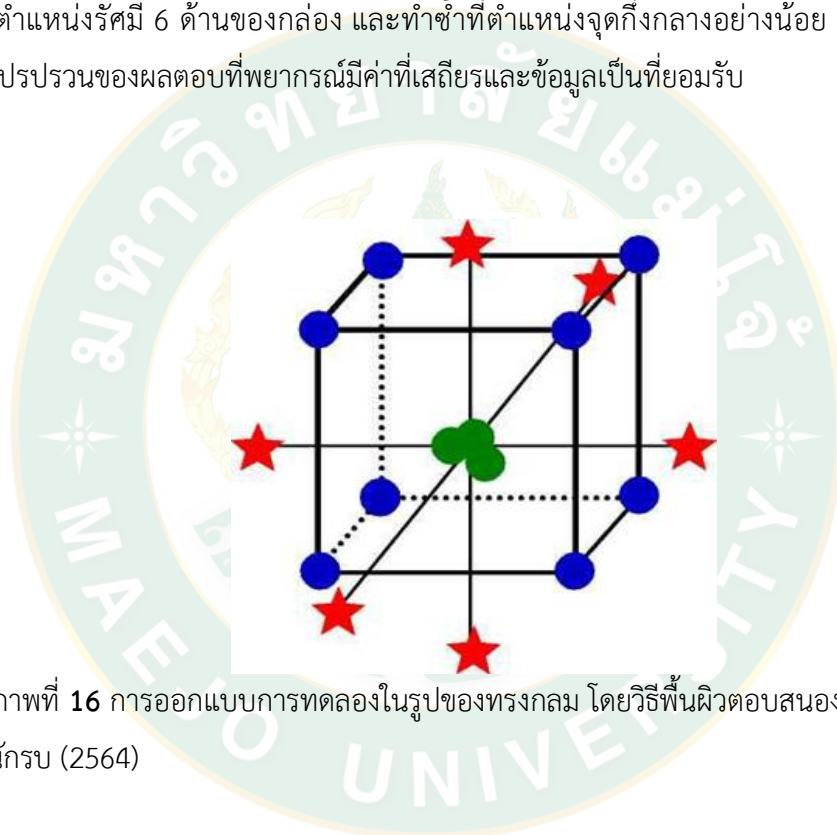


ภาพที่ 15 การออกแบบการทดลองในรูปของกล่อง โดยวิธีพื้นผิวตอบสนองแบบ BBD

ที่มา: นักรบ (2564)

2. การออกแบบการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD)

เป็นหนึ่งในวิธีการหาพื้นผิวตอบสนองเพื่อหากระบวนการที่เหมาะสมเป็นวิธีออกแบบการทดลองที่มีประสิทธิภาพโดยการพิถีพิถันแบบจำลองอันดับสอง จะมีพารามิเตอร์ 2 ตัว โดยการออกแบบนี้จะมีระยะ α ของการออกแบบการทดลองจากจุดศูนย์กลางของการออกแบบ และจำนวนของจุดศูนย์กลาง n_c การออกแบบวิธีนี้จะประกอบด้วย 2^k แฟกทอเรียลที่มีจำนวนจุดที่ถูกใช้ในส่วนแฟกทอเรียลของการออกแบบ (n_f) ครั้ง และ จำนวน 2^k ครั้งอยู่ในแนวแกนหรือแนวรูปดาว และ จำนวนจุดศูนย์กลาง n_c ครั้ง โดยการออกแบบด้วยวิธี CCD นี้จะประกอบด้วย สภาวะจากตำแหน่ง 8 มุมของกล่อง ตำแหน่งรัศมี 6 ด้านของกล่อง และทำซ้ำที่ตำแหน่งจุดกึ่งกลางอย่างน้อย 3 ครั้ง เพื่อให้ค่าความแปรปรวนของผลตอบที่พยากรณ์มีค่าที่เสถียรและข้อมูลเป็นที่ยอมรับ

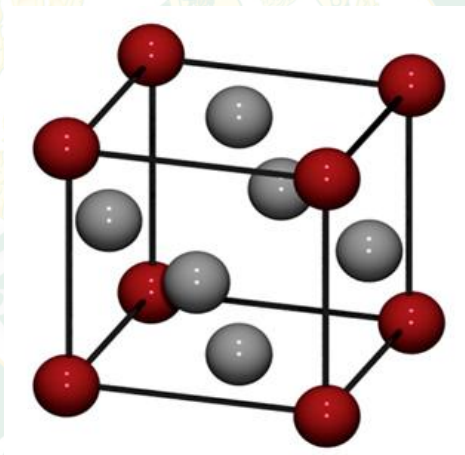


ภาพที่ 16 การออกแบบการทดลองในรูปของทรงกลม โดยวิธีพื้นผิวตอบสนองแบบ CCD
ที่มา: นักรบ (2564)

3. การออกแบบการทดลองแบบ Face-Centered Cubic Design (FCC)

การออกแบบการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) เป็นหนึ่งในวิธีที่ได้รับความนิยมอย่างมากในการหาพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface) เพื่อระบุสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการที่อยู่ระหว่างการศึกษ โดยมีการจุดประสงค์เพื่อสร้างแบบจำลองเชิงคณิตศาสตร์ในรูปของสมการพหุนามลำดับที่สอง (Second-order หรือ Quadratic Model) จากการศึกษาวิจัยหลายฉบับพบว่า CCD เป็นแผนการทดลองที่มีความยืดหยุ่นในการประยุกต์ใช้งานสูง และให้ประสิทธิภาพดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแผนการทดลองประเภทอื่น โดยเฉพาะเมื่อนำมาใช้ในการศึกษาปัจจัยเชิงปริมาณ (Quantitative Factors) จุดเด่นของการออกแบบนี้คือสามารถกำหนดระดับของ Resolution ได้

หลากหลายครอบคลุมทุกระดับ เนื่องจากสามารถเลือกใช้งานได้ทั้งในรูปแบบของแผนการทดลองแฟกทอเรียลเต็มรูปแบบ 2 ระดับ (2^k Full Factorial) และแผนการทดลองแฟกทอเรียลบางส่วน (Fractional Factorial) สำหรับ Resolution III หรือ IV โครงสร้างของการทดลองแบบซ้อนสามารถคำนวณได้ในลักษณะเดียวกับการทดลองแบบ 2^{k-p} ที่เป็น Fractional Factorial Design โดย CCD แบ่งองค์ประกอบของการทดลองออกเป็น 3 ส่วนหลัก ได้แก่ ส่วนของแฟกทอเรียล (Factorial portion), จุดศูนย์กลาง (Center point) และจุดแกน (Axial portion) ในกระบวนการดำเนินงาน จะเริ่มจากการทดลองในส่วนของแฟกทอเรียลร่วมกับจุดศูนย์กลาง เพื่อสร้างสมการถดถอยเชิงเส้น (Linear model) สำหรับกรณีที่พิจารณาปัจจัยในระดับ 2 หากแบบจำลองเชิงเส้นไม่สามารถอธิบายข้อมูลได้อย่างเพียงพอ จึงทำการเพิ่มจุดทดลองในตำแหน่งแกน (Axial points) เพื่อให้สามารถประมาณค่าพารามิเตอร์ของแบบจำลองพหุนามลำดับที่สองได้อย่างแม่นยำ (ประไพศรี สุกทัศน์ ณ อยุธยา and พงศ์ชนัน เหลืองไพบูลย์, 2008)



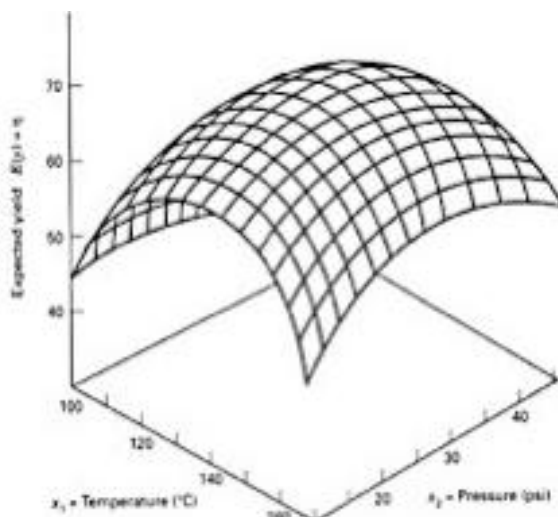
ภาพที่ 17 การออกแบบการทดลองในรูปของกล่อง โดยวิธีพื้นผิวตอบสนองแบบ FCC
ที่มา: นักรบ (2564)

4. การหาสภาวะที่เหมาะสม (Response optimization)

การหาค่าผลตอบที่เหมาะสม (Response optimization) การออกแบบการทดลองต้องมีการพยากรณ์การตัดสินใจที่เกี่ยวกับปัจจัยที่ศึกษาให้เหมาะสม จึงจะทำให้ได้ค่าผลตอบที่ดีที่สุด โดยการออกแบบด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนองมีการหาค่าที่เหมาะสมได้ 2 วิธีดังนี้

4.1 Response optimization จะเป็นการคำนวณค่าที่เหมาะสมที่เกี่ยวกับค่าของปัจจัยควบคุมได้หลายค่ารวมกัน ใช้ได้กับการทดลองหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรตาม หรือตัวแปรตอบสนอง (Response variable) ซึ่งจะแสดงผลที่ได้ Y สัมพันธ์กับตัวแปรอิสระที่ทำการทดลอง (X_1 ,

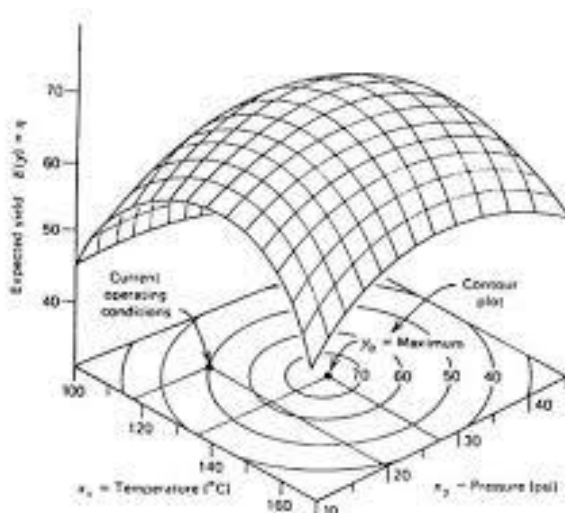
$X_2, \dots, X_n$) โดยจะแสดงผลตอบสนองในรูปของกราฟ 3 มิติ มีลักษณะเป็นพื้นผิว หรือเรียกว่า พื้นผิว ผลตอบสนอง (Response surface) เพื่อแสดงค่าของผลตอบสนองที่เปลี่ยนแปลงไปตามค่าของตัวแปรอิสระ และสามารถทำการ Optimization เป็นวิธีการที่สามารถปรับค่าการตั้งค่าของปัจจัยที่อิสระให้สามารถควบคุมได้ เพื่อที่นำมาประยุกต์ใช้กับวิธีการทดลองที่ต้องการให้ได้ค่าผลตอบดีที่สุด



ภาพที่ 18 มิติของผลตอบสนองแบบโครงร่างพื้นผิว

ที่มา: Al-Ashwal et al., 2021

4.2 Overlaid contour plot เป็นการพิจารณาผลตอบที่ได้จากการทดลองนั้นมีความสัมพันธ์อย่างไรกับค่าของปัจจัยอิสระที่นำมาทำการทดลอง และยังสามารถบอกถึงความสัมพันธ์กับปัจจัยอิสระอื่นๆ ที่ใช้ในการทดลองได้ ซึ่งค่าของผลตอบสนองจะแสดงในรูปของเส้นโครงร่าง (Contour plot) เป็นการเชื่อมจุดต่างๆ ที่มีค่าของผลตอบสนองเท่าๆ กันบนระนาบของตัวแปรอิสระที่ใช้ในการทดลอง และแต่ละเส้นของเส้นโครงร่างจะแสดงค่าผลตอบสนองที่เท่ากันเมื่อค่าของตัวแปรอิสระเปลี่ยนเป็นค่าต่างๆ



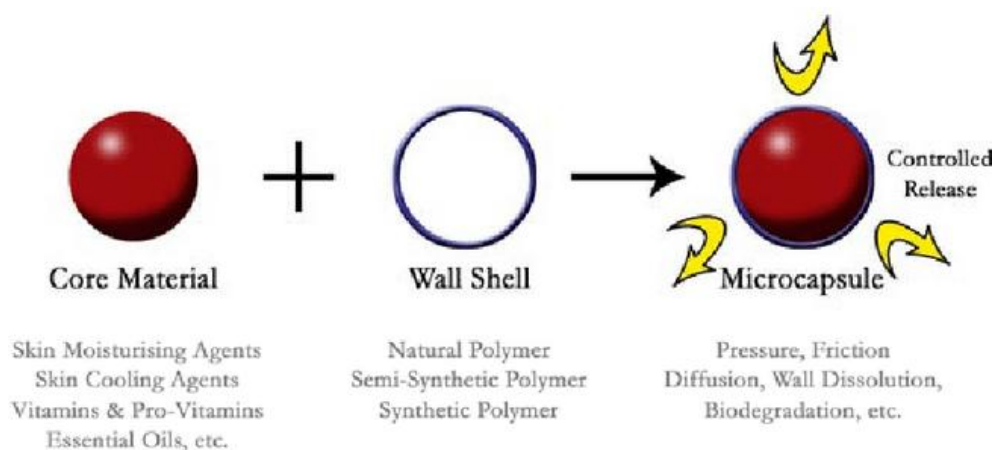
ภาพที่ 19 ภาพ Contour plot ของผลตอบแทนแบบโครงสร้างพื้นผิว

ที่มา: Jana et al., 2022

เทคนิคการเอนแคปซูเลชัน (Encapsulation Techniques)

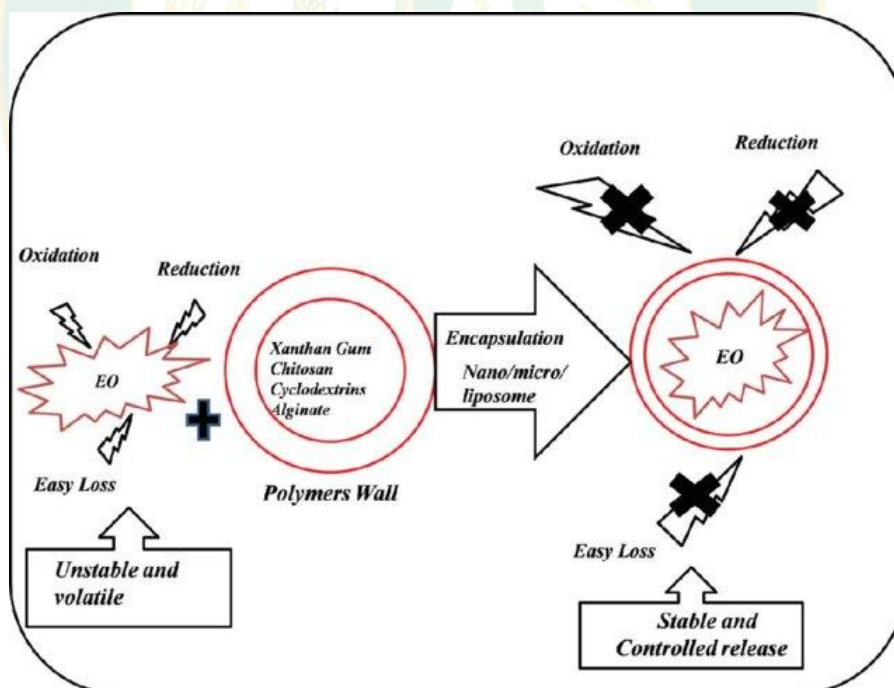
เทคนิคการเอนแคปซูเลชัน (Encapsulation) เป็นกระบวนการที่สารออกฤทธิ์หรือสารสำคัญชนิดหนึ่งถูกกักเก็บหรือเคลือบไว้ภายในโครงสร้างของสารอีกชนิดหนึ่ง โดยสารที่ถูกห่อหุ้มมักเรียกว่า สารออกฤทธิ์ (Active Agent) หรือ แกนกลาง (Core Material) ในขณะที่สารที่ทำหน้าที่เป็นตัวห่อหุ้มเรียกว่า สารเคลือบ (Coating Agent), สารห่อหุ้ม (Wall Material) หรือ พาหะ (Carrier Material) (Ellis-Davies, 2007) เทคนิคนี้ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในหลากหลายอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมอาหาร ยา เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์สุขภาพ เนื่องจากสามารถเพิ่มเสถียรภาพของสารออกฤทธิ์ รวมถึงป้องกันการเสื่อมสภาพของสารจากปัจจัยแวดล้อมภายนอก เช่น ความร้อน ความชื้น แสง ออกซิเจน และความเปลี่ยนแปลงของค่า pH สารที่นำมาใช้ในการเอนแคปซูเลชันส่วนใหญ่เป็นสารที่มีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยา มีความไม่คงตัว หรือมีมูลค่าสูง เช่น สารให้กลิ่นและรส วิตามิน เอนไซม์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ น้ำมันหอมระเหย และแร่ธาตุ (Estevinho et al., 2014) ในเชิงโครงสร้าง เอนแคปซูเลชันจะเป็นการกักเก็บสารออกฤทธิ์ภายในอนุภาคขนาดเล็ก โดยมีโครงสร้างของพาหะห่อหุ้มอยู่ภายนอกเพื่อควบคุมการปลดปล่อยสารดังกล่าวให้เกิดขึ้นตามเวลาหรือเงื่อนไขที่กำหนด ดังแสดงในภาพที่ 20 เทคนิคนี้จึงมีบทบาทสำคัญในการรักษาคุณภาพ ความเสถียร และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารออกฤทธิ์ที่ไวต่อสภาพแวดล้อม อีกทั้งยังสามารถใช้ในการควบคุมอัตราและจุดที่ต้องการให้เกิดการปลดปล่อยของสารได้อย่างมีประสิทธิภาพการเลือกเทคนิคการเอนแคปซูเลชันที่เหมาะสมควรพิจารณาจากคุณสมบัติเฉพาะของสารที่ต้องการห่อหุ้ม ความเข้ากันได้กับพาหะ

ลักษณะทางเคมีกายภาพของสาร งบประมาณที่มี และวัตถุประสงค์ในการใช้งาน เช่น การยืดอายุการเก็บรักษา การเพิ่มความคงตัว หรือการควบคุมการปลดปล่อยในระบบชีวภาพ



ภาพที่ 20 กระบวนการเอนแคปซูเลชัน

ที่มา : Iheaturu et al., 2019



ภาพที่ 21 การป้องกันการเกิดออกซิเดชันและรีดักชันของน้ำมันหอมระเหยด้วยเอนแคปซูเลชัน

ที่มา : Vishwakarma et al., 2016

1. สารห่อหุ้ม (Wall material)

สารห่อหุ้มที่นำมาใช้ในการเอนแคปซูเลชันมีหลากหลายชนิดโดยวัตถุดิบที่นำมาเป็นสารที่ใช้ห่อหุ้มมีทั้งจากธรรมชาติ และจากการสังเคราะห์ขึ้นอยู่กัลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ต้องการและการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ดังแสดงตารางที่ 1 โดยสารที่ใช้ห่อหุ้มต้องไม่มีอันตรายต่อผู้บริโภคไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่จะกักเก็บไม่เสียสภาพในระหว่างการเก็บรักษา สามารถปกป้องสารที่ถูกกักเก็บจากสภาวะแวดล้อมและสามารถปลดปล่อยสารที่ถูกกักเก็บได้ โดยคุณสมบัติส่วนใหญ่ของผลิตภัณฑ์ผงแห้งที่ดีหรือไม่ดีนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของสารห่อหุ้มเป็นหลัก ชนิดของสารห่อหุ้มอาจแบ่งได้เป็น 5 ประเภทหลัก คือ

- 1) สารประเภทคาร์โบไฮเดรต เช่น แป้ง แป้งดัดแปร มอลโตเดกซ์ทริน โซโคเดกซ์ทริน
- 2) สารประเภทเอสเทอร์หรืออีเทอร์ของเซลลูโลส เช่น คาร์บอกซีเซลลูโลส เอทิลเซลลูโลส
- 3) สารประเภทยางหรือกัม เช่น โซเดียมแอลจีเนต
- 4) สารประเภทไขมัน เช่น พาราฟิน น้ำมัน ไขมัน
- 5) สารประเภทโปรตีน เช่น เจลาติน โปรตีนจากถั่ว

ตารางที่ 1 สารห่อหุ้มและการนำไปใช้ (Gupta *et al.*, 2016)

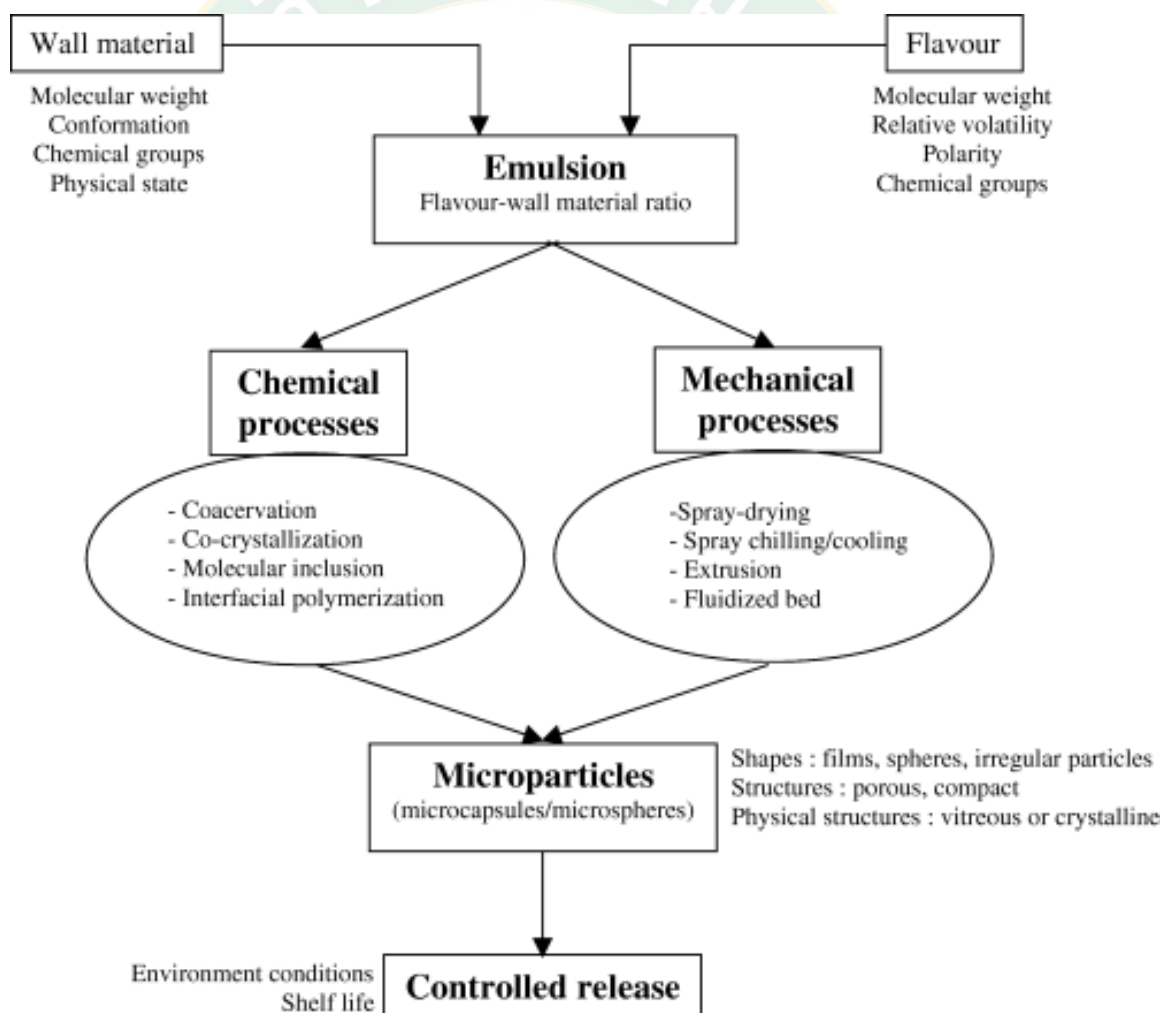
หมวดหมู่	วัสดุที่ใช้ห่อหุ้ม	วิธีที่นิยมใช้
คาร์โบไฮเดรต	แป้ง, มอลโตเดกซ์ทริน, โคโคซาน, ของแข็งจากน้ำเชื่อมข้าวโพด, เดกซ์ทริน, แป้งดัดแปร, โซโคเดกซ์ทริน	การทำแห้งแบบพ่นฝอยและแช่แข็ง, การอัดรีด, การสร้างสารเชิงซ้อน (inclusion complexation)
เซลลูโลส	คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส, เมทิลเซลลูโลส, เอทิลเซลลูโลส, เซลลูโลสอะซีเตตพทาเลต, เซลลูโลสอะซีเตตบิวทิลเลต-พทาเลต	การทำแห้งแบบพ่นฝอย, ฟิล์มรับประทานได้
กัม	กัมอะคาเซีย, วุ้น (agar), โซเดียมแอลจีเนต, คาร์ราจีแนน	วิธีพ่นแห้งด้วยเข็มฉีดยา (สร้างเป็นเจลปิด)
ลิพิด	ขี้ผึ้ง, พาราฟิน, ขี้ผึ้งผึ้ง, ไดออกซิลกลีเซอรอล, น้ำมัน, ไขมัน	อิมัลชัน, ไลโปโซม, การสร้างฟิล์ม

โปรตีน	กลูเตน, เคซีน, เจลาติน, อัลบูมิน, เปปไทด์	อิมัลชัน, การทำแห้งแบบพ่นฝอย
--------	---	------------------------------

2. เทคนิคเอนแคปซูเลชันสารให้กลิ่นรส

สามารถแบ่งเอนแคปซูเลชันสารให้กลิ่นออกเป็น 2 แบบใหญ่ ๆ (ภาพที่ 22) คือ

- 1) เอนแคปซูเลชันทางกายภาพ เช่น การอบแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) เอ็กซ์ทรูชัน (extrusion) สเปรย์ชิลลิ่งและคูลลิ่ง (spray chilling and cooling)
- 2) เอนแคปซูเลชันทางเคมี เช่น coacervation และโมเลกุลลาร์อินคลูชัน (molecular inclusion) (Gibbs et al., 1999; Madene et al., 2006; Zuidam et al., 2009)



ภาพที่ 22 เทคนิคเอนแคปซูเลชันสารให้กลิ่น

ที่มา: Madene et al., 2006

ตารางที่ 2 การประยุกต์วิธีการห่อหุ้มแบบต่างๆ ในอุตสาหกรรมอาหาร (Madene et al., 2006)

เทคนิคการห่อหุ้ม	รูปแบบของสารที่ถูกห่อหุ้ม	พื้นที่การประยุกต์ใช้
Coacervation	เนื้อมะพร้าว/ผง/แคปซูล	หมากฝรั่ง ยาสีฟัน ขนมอบ
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	ผง	ขนมหวาน นมผง ของหวานสำเร็จรูป กลั่นรสอาหาร เครื่องดื่มสำเร็จรูป
การทำแห้งด้วยฟลูอิดไชเบด	ผง/เกล็ด	อาหารสำเร็จรูป ขนมหวาน
การทำให้เย็นแบบพ่น	ผง	อาหารสำเร็จรูป ไอศกรีม
การอัดรีด	ผง/เกล็ด	เครื่องดื่มสำเร็จรูป ขนมหวาน ชา
การก่อสารเชิงซ้อนระดับโมเลกุล	ผง	ขนมหวาน เครื่องดื่มสำเร็จรูป ขนมอบ แบบอัดรีด

เทคนิคการเอนแคปซูเลชัน (Encapsulation) มีความหลากหลายทั้งในแง่ของกระบวนการดำเนินการและรูปแบบของผลิตภัณฑ์ที่ได้ ซึ่งสามารถเลือกใช้ให้เหมาะสมกับจุดประสงค์เฉพาะด้านตามลักษณะการประยุกต์ใช้งาน ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 2 ปัจจัยสำคัญที่ควรพิจารณาในการเลือกเทคนิคที่เหมาะสม ได้แก่ ลักษณะของผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้าย เช่น รูปแบบผงหรือแคปซูล ความซับซ้อนของกระบวนการผลิต ความคงตัวของสารออกฤทธิ์หลังการห่อหุ้ม ระดับการควบคุมการปลดปล่อยกลิ่นและรส ตลอดจนต้นทุนที่เกี่ยวข้องในการผลิต การเอนแคปซูเลชันมีบทบาทอย่างยิ่งในการลดการสูญเสียของสารแต่งกลิ่นและรสระหว่างการแปรรูป ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) และเพิ่มศักยภาพในการควบคุมการปลดปล่อยสารให้ตรงตามช่วงเวลา หรือภายใต้เงื่อนไขที่กำหนด อีกทั้งยังช่วยขยายขอบเขตการใช้งานของสารแต่งกลิ่นให้สามารถนำเสนอในรูปแบบใหม่ เช่น ผงแห้ง หรือผลิตภัณฑ์สำหรับชงดื่ม ที่มีอายุการเก็บรักษายาวนานยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตาม ความสำเร็จของการห่อหุ้มสารออกฤทธิ์ขึ้นอยู่กับหลายองค์ประกอบ โดยเฉพาะชนิดของวัสดุที่ใช้เป็นผนังห่อหุ้ม (wall material) และเทคนิคเอนแคปซูเลชันที่เลือกใช้ ซึ่งส่งผลต่อทั้งประสิทธิภาพในการปกป้องสารออกฤทธิ์ คุณลักษณะทางกายภาพของอนุภาคที่ได้ และลักษณะของการปลดปล่อยสารในผลิตภัณฑ์ปลายทาง ดังนั้น การเลือกใช้วัสดุห่อหุ้มและเทคนิคที่เหมาะสมควรพิจารณาร่วมกับ

คุณสมบัติเฉพาะของสารออกฤทธิ์ ลักษณะของผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป และสภาพแวดล้อมของการใช้งาน ในเชิงอุตสาหกรรม เพื่อให้สามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูงและตอบสนองความต้องการเชิงพาณิชย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เครื่องทำแห้งแบบฟลูอิดไชเบต (fluidized bed drier)

เป็นเทคนิคการทำแห้งที่ใช้หลักการทำให้อนุภาคของวัสดุแขวนลอยอยู่ในกระแสลมร้อน ซึ่งส่งผลให้เกิดการแลกเปลี่ยนความร้อนและมวลที่มีประสิทธิภาพสูง กระบวนการนี้เป็นที่นิยมในอุตสาหกรรมอาหารและยา เนื่องจากสามารถควบคุมอุณหภูมิได้ดี มีอัตราการทำแห้งสูง ลดเวลาการผลิต และยังรักษาคุณภาพทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ได้ดี

1. ทฤษฎีการทำแห้งแบบฟลูอิดไชเบต

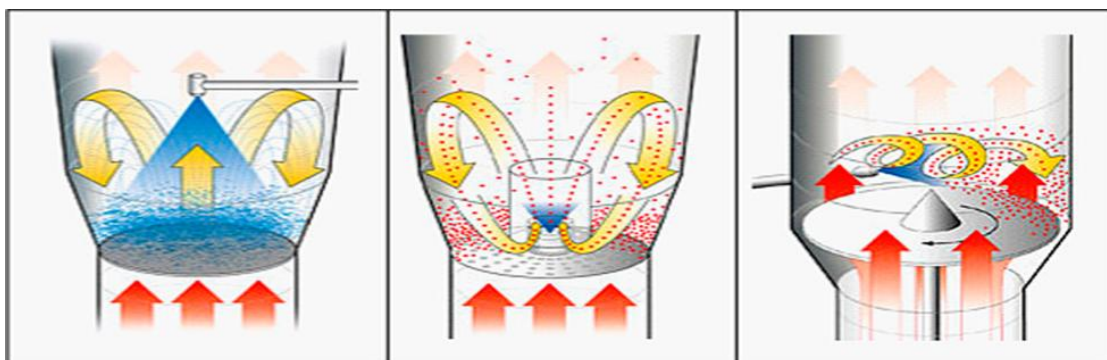
ใช้กระแสลมร้อนพัดจากด้านล่างผ่านตะแกรงรองรับวัสดุ ทำให้อนุภาคของวัสดุ เช่น ผงหรือเม็ดขนาดเล็ก เคลื่อนตัวอย่างอิสระในสถานะ ฟลูอิดิเซชัน (Fluidization) หรือการลอยตัวคล้ายของไหล การลอยตัวนี้ทำให้พื้นที่ผิวของวัสดุสัมผัสกับอากาศร้อนได้ทั่วถึง ส่งผลให้เกิดการถ่ายเทความร้อนและการระเหยของความชื้นอย่างมีประสิทธิภาพสูง ลมร้อนที่ใช้ในการทำแห้งจะมีการควบคุมทั้งในด้าน อุณหภูมิ และ อัตราการไหล เพื่อให้เหมาะสมกับชนิดของวัสดุที่ต้องการทำแห้ง โดยกระบวนการทำแห้งสามารถแบ่งออกเป็น 3 ระยะหลัก ได้แก่

- 1) ระยะคงที่ (Constant rate period) ความชื้นผิวระเหยออกได้เร็ว
- 2) ระยะอัตราต่ำลง (Falling rate period) ความชื้นเริ่มอยู่ภายในวัสดุ ต้องใช้เวลาในการแพร่กระจาย
- 3) ระยะคงเหลือ (Equilibrium period) วัสดุใกล้แห้งสนิท อัตราการแห้งลดต่ำมาก

2. หลักการทำงาน

ระบบจ่ายลมร้อน ซึ่งประกอบด้วยพัดลมดูดอากาศ (blower) ที่ทำหน้าที่นำอากาศจากภายนอกเข้าสู่ระบบ ผ่านชุดกรองอากาศ และเข้าสู่ ฮีตเตอร์ (heater) เพื่อให้ความร้อนกับอากาศ ก่อนเข้าสู่ ห้องอบแห้ง (drying chamber) บริเวณก้นห้องอบติดตั้ง แผ่นกระจายลมรูปกรวย (distributor plate) ซึ่งทำหน้าที่กระจายกระแสลมร้อนอย่างสม่ำเสมอ วัสดุที่ต้องการอบแห้งจะถูกบรรจุไว้ในห้องอบซึ่งผลิตจากวัสดุสแตนเลสที่มีความทนทานต่อความร้อนและการกัดกร่อน เพื่อให้เหมาะสมต่อการใช้งานในอุตสาหกรรมอาหารและยา เมื่อกระแสลมร้อนถูกเป่าเข้าสู่ห้องอบผ่านแผ่นกระจายลม อนุภาคของวัสดุจะถูกยกตัวขึ้นและเคลื่อนที่แบบลอยตัวในลักษณะของสารแขวนลอย (fluidization) ซึ่งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายเทความร้อนและการระเหยของความชื้นจากวัสดุได้อย่างรวดเร็วและทั่วถึง ดังแสดงในภาพที่ 22 และ 23 ภายหลังการแลกเปลี่ยนความร้อน อากาศที่มีไอน้ำและฝุ่นละอองจะถูกนำผ่านเข้าสู่ ระบบกรองฝุ่น (dust filtration system) ซึ่งติดตั้ง ถูกรอง

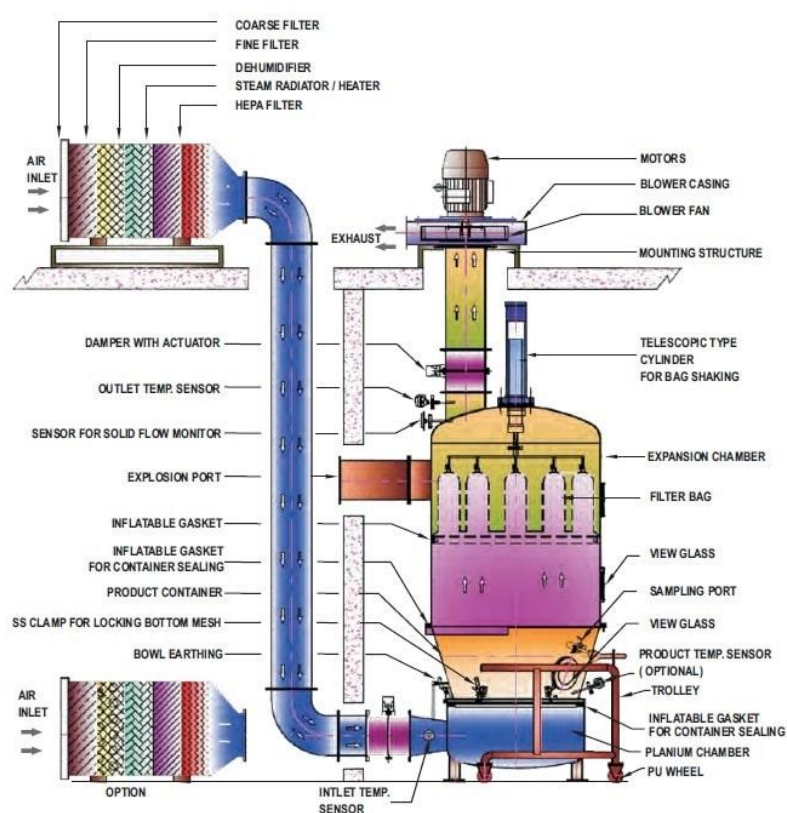
(filter bags) เพื่อดักจับอนุภาคฝุ่นหรือวัสดุขนาดเล็กที่อาจหลุดลอยไปกับกระแสอากาศ ก่อนที่จะปล่อยอากาศออกสู่ภายนอกหรือส่งกลับเข้าสู่ระบบหมุนเวียนต่อไป



ภาพที่ 23 กระบวนการทำแห้งแบบฟลูอิดไชเบต

ที่มา: VJ Instruments

SCHEMATIC DIAGRAM OF FLUID BED DRYING SYSTEM



ภาพที่ 24 กระบวนการทำแห้งแบบฟลูอิดไชเบต

ที่มา: Adinath International

3. องค์ประกอบของเครื่อง

3.1 ระบบจ่ายลมร้อน ประกอบด้วยเครื่องกรองอากาศ พัดลม และฮีตเตอร์ ทำหน้าที่ดูดและทำความร้อนกับอากาศ ก่อนพ่นขึ้นสู่เตียงวัสดุ

3.2 ห้องทำแห้งและแผ่นกระจายลม ห้องเป็นภาชนะสแตนเลสที่มีแผ่นกระจายอากาศเจาะรูด้านล่าง วัสดุเม็ดจะถูกวางในห้องนี้ เมื่อพ่นลมร้อน แผ่นกระจายจะช่วยแจกจ่ายลมให้ผ่านวัสดุอย่างสม่ำเสมอ

3.3 เตียงวัสดุ (Material Bed) ชั้นวัสดุเม็ดภายในถึงที่ถูกพ่นลมลอยตัว เมื่อความเร็วลมสูงพอ อนุภาคเม็ดจะเคลื่อนที่ห่างกันและลอยขึ้นลงเหมือนของไหล สร้างการสัมผัสกับลมร้อนทั่วถึง

3.4 ระบบกรองฝุ่น (Filter) ฝุ่นกรองและช่องระบายออกใช้งานดักจับฝุ่นอนุภาคขนาดเล็กในลมที่ผ่านเตียงวัสดุ เพื่อป้องกันการปล่อยฝุ่นสู่ภายนอก ขณะที่อนุภาคละเอียดอาจกลับสู่เตียงอีกครั้งหลังการเขย่า

4. ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการแห้ง

4.1 อุณหภูมิของลมร้อน (Inlet Air Temperature) อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะเพิ่มอัตราการถ่ายเทความร้อนและเร่งการระเหยของความชื้น อย่างไรก็ตาม ควรควบคุมไม่ให้สูงเกินไป เพื่อหลีกเลี่ยงการเสื่อมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เช่น สี กลิ่น และเนื้อสัมผัส

4.2 ความเร็วของลม (Air Velocity / Fluidization Airflow Rate) ความเร็วของลมต้องสูงพอที่จะทำให้เกิดการ “fluidization” อย่างมีเสถียรภาพ หากต่ำเกินไปจะไม่เกิด fluidization แต่หากสูงเกินไปอาจทำให้เกิดการพัดพาผลิตภัณฑ์ออกจากระบบ (particle entrainment)

4.3 ความชื้นสัมพัทธ์ของลม (Relative Humidity of Air) ลมที่มีความชื้นต่ำสามารถรับน้ำจากผลิตภัณฑ์ได้มากกว่า ส่งผลให้กระบวนการทำแห้งมีประสิทธิภาพสูงขึ้น

4.4 ขนาดและลักษณะของอนุภาค (Particle Size and Shape) อนุภาคขนาดเล็กและมีรูปร่างสม่ำเสมอจะลอยตัวได้ง่าย และมีอัตราการทำแห้งสม่ำเสมอ ในทางกลับกัน อนุภาคขนาดใหญ่หรือไม่สม่ำเสมออาจเกิดการจับตัวกัน และลดประสิทธิภาพของการแลกเปลี่ยนความร้อนและมวล

4.5 ปริมาณของวัสดุในเบด (Bed Load or Feed Load) การใส่วัสดุมากเกินไปอาจทำให้ลมร้อนไหลผ่านไม่ทั่วถึง ส่งผลให้การแห้งไม่สม่ำเสมอและระยะเวลาแห้งยาวนานขึ้น

4.6 เวลาในการทำแห้ง (Drying Time) ควรคำนึงถึงช่วงเวลาที่เหมาะสม โดยทั่วไป กระบวนการจะแบ่งเป็นช่วงอัตราคงที่และช่วงอัตราตก การแห้งเกินเวลาจะสิ้นเปลืองพลังงานและอาจลดคุณภาพของผลิตภัณฑ์

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Manzoor *et al.* (2022) ศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนโดยใช้การออกแบบ Box-Behnken สกัดด้วยอัลตราซาวนด์ (UAE) โดยใช้น้ำมันดอกทานตะวันเป็นตัวทำละลาย ปัจจัยที่ใช้ในการศึกษามี ได้แก่ ความเข้มข้นของอัลตราโซนิก อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย และเวลาในการสกัด ปริมาณของสารลูทีนที่สกัดได้สูงสุด 21.23 มก./กรัม โดยใช้ความเข้มข้นของอัลตราโซนิกที่ 70 วัตต์/ตร.ม. เวลาในการสกัด 12.5 นาที และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 15.75% ผลการศึกษาพบว่าอัลตราซาวนด์ไม่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพของสารลูทีน และสามารถสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรืองได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Lara-Abia S *et al.* (2022) ศึกษาการสกัดแคโรทีนอยด์รวมและเอสเทอร์แคโรทีนอยด์ด้วยอัลตราซาวนด์ (UAE) จากเนื้อและเปลือกมะละกอ โดยใช้น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันดอกทานตะวันเป็นตัวทำละลาย ใช้ตัวแปรอิสระสามตัว แอมพลิจูดอัลตราโซนิก เวลา และเปอร์เซ็นต์ตัวทำละลายรวม (เอทานอล) ผลการศึกษาพบว่า การสกัดที่มีค่าแอมพลิจูดสูงอาจเกิดจากการปรากฏของฟองอากาศขนาดเล็กที่มีโพรงอากาศจำนวนมากขึ้น ซึ่งส่งผลต่อสลายของฟองอากาศอย่างมาก ซึ่งนำไปสู่การหยุดชะงักของการแพร่กระจายของตัวทำละลายไปยังผนังเซลล์เนื้อเยื่อที่ ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมสูงสุดสามารถทำได้ด้วยเวลาในการสกัดที่สูงขึ้นและค่าแอมพลิจูดต่ำถึงปานกลางซึ่ง

Song *et al.* (2018) ใช้การสกัดโดยใช้อัลตราซาวนด์ช่วย (UAE) เพื่อสกัดทรานส์ลูทีนและทรานส์แคโรทีนอยด์จากเปลือกฟักทอง (*Cucurbita moschata* Duch.) ผลการวิจัยพบว่าส่วนผสมของเอทานอลและปิโตรเลียมอีเทอร์ (2:1, v/v) เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดทรานส์ลูทีนโดยใช้อัลตราซาวนด์ ขั้วของตัวทำละลายมีผลต่อการสกัดทรานส์ลูทีน และความถี่สูงส่งผลให้เกิดการย่อยสลายออกซิเดชันของทรานส์ลูทีนจากเปลือกฟักทอง เนื่องจากความถี่อัลตราโซนิกเกี่ยวข้องกับปรากฏการณ์การเกิดโพรงอากาศและส่งผลต่อเสถียรภาพออกซิเดชัน เนื่องจากฟองอากาศมีอายุสั้นลงเมื่อความถี่อัลตราโซนิกสูงขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการย่อยสลายของแคโรทีนอยด์จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน

Jaeschke *et al.* (2017) การใช้การสกัดด้วยอัลตราซาวนด์ (UAE) ร่วมกับตัวทำละลายเอทานอลในการสกัดแคโรทีนอยด์จากเฮเทอโรคลอเรลล่า ลูโตวีริดิส พบว่าการสกัดแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของอัลตราซาวนด์และความเข้มข้นของเอทานอลจนได้ค่าสูงสุดประมาณ 80%

Altemimi A *et al.* (2015) รายงานว่าการสกัดลูทีนและเบต้าแคโรทีนจากใบผักขมด้วยอัลตราซาวนด์ (UAE) โดยมีเมทานอลเป็นตัวละลาย อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดคือ 40 °C กำลังการสกัด 40% (28 วัตต์/ลูกบาศก์เซนติเมตร) และเวลาในการสกัด 16 นาที อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะ

ทำให้สัมประสิทธิ์การแพร่เพิ่มขึ้น ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้น แต่ส่งผลต่อการเสื่อมสลายของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์



บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย

ดอกดาวเรือง สายพันธุ์ ดีฟโกลด์ จากเกษตรกร อ.เมืองเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่

อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

- 1) เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze Dryer) (Drawell, DW-50F, China)
- 2) เครื่องอัลตราโซนิกแบบโพรบ (Probe sonicator) (Sonics, VCX750A, U.S.A)
- 3) เครื่องกลั่นระเหยสารแบบแก้วหมุน (Rotary evaporator) (Siripanya trading, R-5L)
- 4) เครื่องวัดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) (LabioMed, Spectro SC series 002416)
- 5) เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) (VCX750A, U.S.A)
- 6) เครื่องหมุนเหวี่ยง (Gemmy Industrial Corp., PLC-012E)
- 7) เครื่องชั่งดิจิตอล แบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Ohaus, PIONEER PA214)
- 8) เครื่องวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ (AquaLab, Series 3TE, U.S.A)
- 9) เครื่องวัดปริมาณความชื้น (Moisture Analyzer) (AND MX-50, Japan)
- 10) เครื่องบดละเอียดขนาดกลาง (Dxfill, DXM-1000)
- 11) เครื่องทำแห้งแบบฟลูอิดไรซ์เบด (Fluidized bed drier)
- 12) ออโตไคลเปต (Autoclavable) (Nichipet EX II)
- 13) กระดาษกรอง เบอร์ 1 (Whatman, United Kingdom)
- 14) ปีกเกอร์ ขนาด 50, 100, 250 และ 1000 (Pyrex, Germany)
- 15) เมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

- 1) Lutein analysis standard (Lab Connection, Thailand)
- 2) 2,2-diphenyl-1- picrylhydrazyl (DPPH) ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) (Aldrich, German)
- 3) Ethanol (C_2H_5OH) (A.R. Grade, Unions Science, Thailand)
- 4) Methanol (CH_3OH) (A.R. Grade, Unions Science, Thailand)

- 5) Acetonitrile (C_2H_3N) (A.R. Grade, Unions Science, Thailand)
- 6) Water (H_2O) (A.R. Grade, Unions Science, Thailand)
- 7) Maltodextrin (DE10-12) (Unions Science, Thailand)

วิธีดำเนินงานวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่าง

ดอกดาวเรืองที่ใช้ในการทดลองนี้ เป็นดอกดาวเรือง สายพันธุ์ดีฟโกลด์ (อ.เมืองเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่) นำดอกดาวเรืองล้างน้ำให้สะอาด ตัดแยกส่วนกลีบดอกและช่อดอกออกจากกัน นำส่วนกลีบดอกไปอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-Drying Machine) รุ่น DW-50F ประเทศจีน ที่อุณหภูมิในการระเหิด -40 องศาเซลเซียส จนมีปริมาณความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 10 จากนั้นนำกลีบดอกดาวเรืองที่อบแห้งแล้วไปบดด้วยเครื่องบดให้ละเอียด ผงดาวเรืองจะถูกร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 เมช และเก็บใส่ถุงทึบแสงที่ปิดผนึกด้วยสุญญากาศเพื่อใช้ในขั้นตอนถัดไป

2. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง ด้วยคลื่นอัลตราโซนิก

นำผงดอกดาวเรืองผสมกับตัวทำละลาย ทำการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิก (Probe sonicator) รุ่น VCX750A ประเทศสหรัฐอเมริกา ที่แอมพลิจูด ร้อยละ 20-60, เวลาในการสกัด 15-35 นาที และความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอล ร้อยละ 40-80 โดยเครื่องอัลตราโซนิก ทำงานที่กำลังขับสูงสุด 400 W, ความถี่ 20 kHz และการทำงานแบบพัลซิงโหมด (เปิด 2 วินาที/ปิด 1 วินาที) ขนาดหัวโพรบเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร ความลึก 2 เซนติเมตรจากตัวอย่าง เมื่อทำการสกัดเสร็จกรองสารสกัดที่ได้โดยการนำไปแยกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (Universal centrifuge) รุ่น PLC-012E ประเทศไต้หวัน ที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที (Narkprasom et al., 2015) เพื่อแยกตะกอนออกจากสารสกัด กรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำไประเหยเอทานอลด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator) รุ่น EVAP-5L ประเทศไทย ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทำการวัดปริมาตรสุดท้ายและเก็บสารสกัดส่วนใสไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

3. การออกแบบพื้นที่ผิวตอบสนอง แบบ Box-Behnken Design

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง โดยเลือกใช้การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken Design: BBD) ด้วยโปรแกรม STATISTICA 64 V.12 ปัจจัยที่ศึกษาทั้งหมด 3 ปัจจัย ได้แก่ แอมพลิจูด (%), เวลาในการสกัด (นาที) และความเข้มข้นของตัวทำละลาย (%) โดยแปรผันค่า X_1 , X_2 , และ X_3 การทดลองจะตั้งค่ารหัสของ

ระดับปัจจัยที่ใช้ในการทดลองเป็น 3 ระดับ คือ ระดับต่ำ (-1) ระดับกลาง (0) และระดับสูง (1) ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริง และค่ารหัสของตัวแปรที่ศึกษา

ปัจจัยที่ต้องการศึกษา	ตัวแปร	ระดับความสำคัญ		
		-1	0	1
แอมพลิจูด (%)	X_1	20	40	60
เวลาในการสกัด (นาท)	X_2	15	25	35
ความเข้มข้นของตัวทำละลาย (%)	X_3	40	60	80

โดยทำการทดลองซ้ำที่จุดกึ่งกลาง 3 การทดลอง รวมทั้งหมด 15 การทดลอง เมื่อทดลองการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การออกแบบพื้นผิวตอบสนองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนและซีแซนทีน โดย Box-Behnken Design

Run	ปัจจัยที่ต้องการศึกษา			ตัวแปรตาม	
	แอมพลิจูด (%)	เวลาในการสกัด (นาท)	ความเข้มข้นของตัวทำละลาย (%)	ปริมาณสารลูทีน (mg/g)	ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (%)
1	40 (0)	15 (0)	60 (0)		
2	40 (0)	15 (0)	60 (0)		
3	60 (1)	15 (0)	40 (-1)		
4	40 (0)	5 (-1)	80 (1)		
5	40 (0)	5 (-1)	40 (-1)		
6	20 (-1)	25 (-1)	60 (0)		
7	40 (0)	25 (-1)	80 (1)		
8	40 (0)	15 (0)	60 (0)		
9	20 (-1)	15 (0)	80 (1)		
10	40 (0)	25 (1)	40 (-1)		
11	20 (-1)	5 (-1)	60 (0)		
12	60 (1)	15 (0)	80 (1)		
13	20 (-1)	15 (0)	40 (-1)		
14	60 (1)	25 (1)	60 (0)		
15	60 (1)	5 (-1)	60 (0)		

จากนั้นได้ทำการวิเคราะห์ผลเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต้นกับตัวแปรตอบสนอง โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอย เพื่อหาสมการที่เหมาะสมที่สุด พร้อมทั้งได้สมการพหุนามซึ่งสามารถอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างค่าการตอบสนองที่วัดได้กับปัจจัยที่ศึกษา โดยสมการพหุนามลำดับที่สอง ได้รับการพิจารณาในงานวิจัยนี้

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 \quad (3.1)$$

เมื่อ Y คือ ค่าการตอบสนองที่วัดได้ (ปริมาณลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ), X_1, X_2, X_3 คือตัวแปรอิสระ, β_0 คือ ค่าคงที่ของสมการ, $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ คือ ค่าสัมประสิทธิ์สมการเส้นตรง, $\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}$ คือ ค่าสัมประสิทธิ์สมการกำลังสอง

4. การวิเคราะห์หาปริมาณสารลูทีนด้วยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)

4.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารลูทีนใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High-Performance Liquid Chromatography: HPLC) รุ่น CM 5260 (ประเทศญี่ปุ่น) ตามวิธีของ Kumar Kashyap et al., 2022 โดยดำเนินการบนระบบ Agilent 1260 HPLC ใช้คอลัมน์ชนิด C18 ขนาด 4.6×150 มม. ขนาดอนุภาค 4 ไมโครเมตร ปริมาตรในการฉีดตัวอย่างเท่ากับ 10 ไมโครลิตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่อยู่ที่ 1 ไมโครลิตรต่อนาที อุณหภูมิของหัวฉีดควบคุมไว้ที่ 4°C และอุณหภูมิของคอลัมน์ที่ 25°C การตรวจวัดลูทีนใช้ความยาวคลื่น 447 นาโนเมตร เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ประกอบด้วย solvent A ซึ่งเป็นส่วนผสมของเมทานอล:อะซิโตน:ไตรคลอโรเอทิลีนในอัตราส่วน 8:1:1 (v/v) และ solvent B ซึ่งเป็นส่วนผสมของเมทานอล:อะซิโตน:ไตรคลอโรเอทิลีนในอัตราส่วน 4:6 (v/v) โดยช่วงความยาวคลื่นที่ใช้ในการตรวจวัดอยู่ระหว่าง 200–700 นาโนเมตร ปริมาณลูทีนทั้งหมดคำนวณจากสมการเชิงเส้นที่ได้จากกราฟมาตรฐาน ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของลูทีนกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน

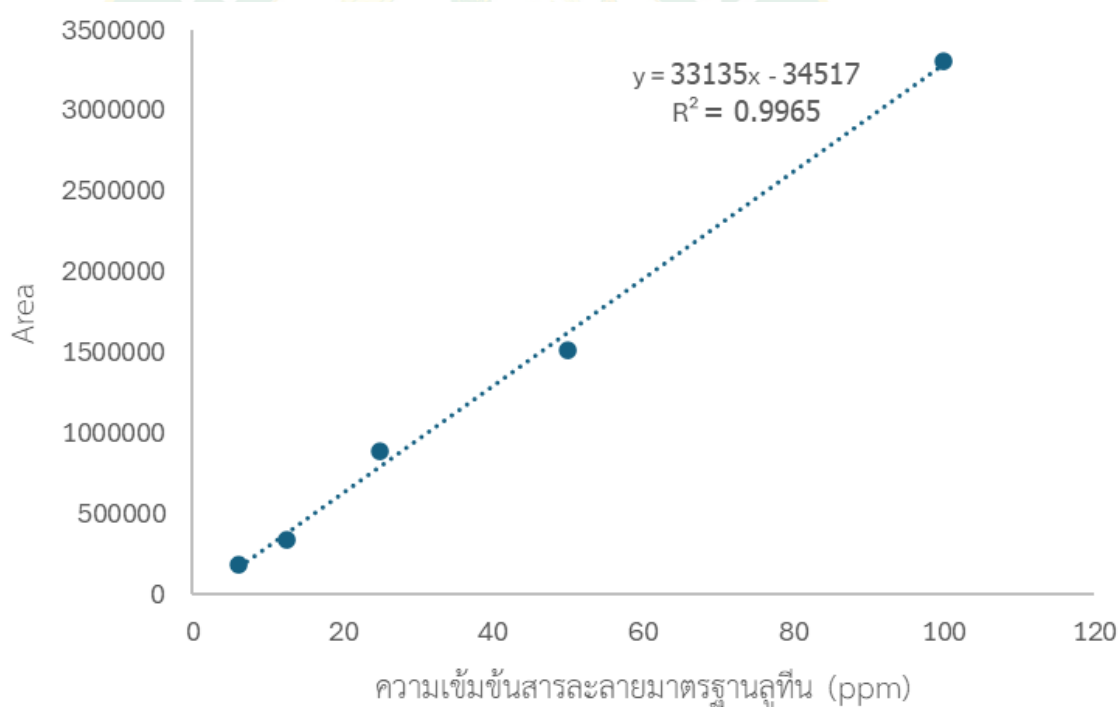
4.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน (Standard curve)

สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ตามที่แสดงในตารางที่ 5 ถูกนำมาวัดการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200–700 นาโนเมตร ตามวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารลูทีนในข้อ 4.1 จากข้อมูลที่ได้ ทำการสร้างกราฟมาตรฐาน (Standard Curve) โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารลูทีน ซึ่งปรากฏผลเป็นกราฟมาตรฐานดังแสดงในภาพที่ 25

สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน คือ Lutein analysis standard (Lab Connection, Thailand)

ตารางที่ 5 ค่าความดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 200-700 นาโนเมตร และความเข้มข้นของสารมาตรฐานลูทีน

ความเข้มข้นสารละลายลูทีน (ppm)	พื้นที่ (Area)
6.25	187,935
12.50	343,156
25	886,928
50	1,517,692
100	3,311,547



ภาพที่ 25 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ที่ความยาวคลื่น 200-700 นาโนเมตร และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานลูทีน

5. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH assay)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากดอกดาวเรืองดำเนินการโดยใช้วิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ (Shimada et al., 1992) โดยเตรียมสารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ในเมทานอล ปริมาตร 2.9 มิลลิลิตร แล้วบรรจุใน

หลอดทดลอง จากนั้นเติมสารสกัดจากดอกดาวเรืองในปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองเดียวกัน เขย่าให้สารผสมเข้ากันอย่างสม่ำเสมอ และปล่อยทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที สำหรับตัวอย่างควบคุม (Control) จะใช้เมทานอลแทนที่สารสกัดในปริมาตรเท่ากัน และดำเนินการตามขั้นตอนเดียวกัน เมื่อครบกำหนดเวลา 30 นาที จึงนำตัวอย่างทั้งสองไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ผลการวิเคราะห์จะแสดงออกมาในรูปของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ (% inhibition) เพื่อแสดงค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตามสมการ

$$\text{ร้อยละของการยับยั้ง (\%inhibition)} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) \times 100}{A_{\text{control}}} \quad (3.2)$$

การเตรียมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ เริ่มต้นโดยชั่ง DPPH ปริมาณ 0.1972 กรัม ละลายด้วยเมทานอลจนละลายสมบูรณ์ จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ หลังจากนั้นให้ปิเปตสารละลายจำนวน 2 มิลลิลิตร เติมเมทานอลเพิ่มเติม และปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร เพื่อเจือจางให้ได้สารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่าง

6. การห่อหุ้มสารสกัดจากดอกดาวเรืองโดยใช้เทคนิคเอนแคปซูเลชัน

ในการเตรียมตัวอย่างสารสกัดจากดอกดาวเรืองสำหรับกระบวนการห่อหุ้ม (Encapsulation) ได้ทำการนำสารสกัดที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส มาวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งละลายหมด จากนั้นจึงนำมาผสมกับสารห่อหุ้มมอลโตเด็คซ์ตริน (Maltodextrin) ในอัตราส่วน 1:5 (มวลต่อปริมาตร) ให้เป็นเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นนำส่วนผสมเข้าสู่กระบวนการทำแห้งแบบฟลูอิดไรซ์เบด (Fluidized Bed Drying) โดยควบคุมอุณหภูมิขาเข้าและขาออกที่ 90 และ 60 องศาเซลเซียสตามลำดับ เพื่อให้ได้ผงสารสกัดดอกดาวเรืองที่ถูกห่อหุ้มด้วยมอลโตเด็คซ์ตริน จากนั้นเก็บรักษาผงที่ได้ในถุงกันความชื้น (Moisture-proof pouch) เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

7. ศึกษาความคงตัวของเอนแคปซูลสารสกัดดอกดาวเรืองในระหว่างการเก็บรักษา

นำผงสารสกัดจากดอกดาวเรือง มาศึกษาความคงตัวโดยบรรจุในถุงพอลิที่ปิดสนิท ภายใต้การรักษาน้ำหนักที่ 4, 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส ทำการศึกษาคุณภาพของสารสกัดดอกดาวเรืองทุก ๆ 7 วัน เป็นเวลา 3 เดือน โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณสารลูทีนด้วยวิธี High performance

liquid chromatography (HPLC) และปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH assay)

8. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ (Water activity: a_w)

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระของผงสารสกัดจากดอกดาวเรือง ใช้เครื่องวัดค่า Water activity รุ่น AquaLab Series 3 TE (AquaLab, U.S.A.) โดยชั่งตัวอย่างผงสารสกัดประมาณ 2 กรัม ใส่ลงในภาชนะสำหรับการวิเคราะห์จนถึงระดับที่กำหนด จากนั้นทำการวัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาประมาณ 10 นาที จนเครื่องแสดงค่าคงที่

9. การวิเคราะห์ปริมาณค่าความชื้น

นำผงสารสกัดดอกดาวเรืองมาวิเคราะห์หาปริมาณค่าความชื้น ด้วยเครื่องวัดความชื้น (Moisture Analyzer) (AND MX-50, Japan) ใช้ผงสารสกัดดอกดาวเรืองในปริมาณ 5 กรัม รอจนค่าความชื้นคงที่ จากนั้นหน้าจอแสดงผลจะแสดงค่าอุณหภูมิและค่าร้อยละความชื้นของตัวอย่าง

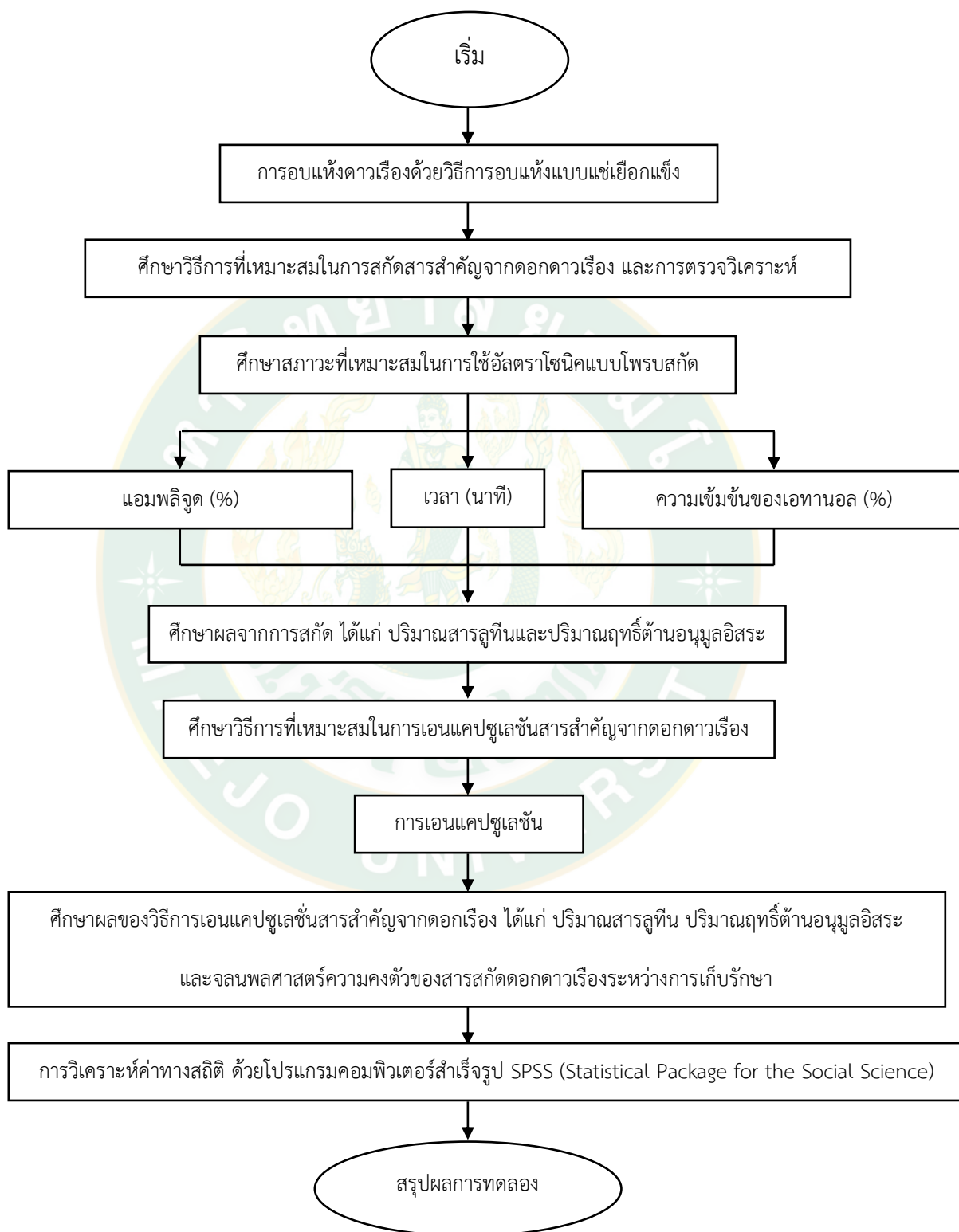
10. การวิเคราะห์ค่าสี

นำผงสารสกัดดอกดาวเรืองมาวัดค่าสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) (Labio Med, Spectro SC series 002416) เลือกค่าคุณสมบัติในการวัดค่าสีโดยเลือกระบบเป็น L^* , a^* , b^* และทำการวัดค่าสีของตัวอย่าง บันทึกผลการวัดของแต่ละค่า เมื่อ L^* คือ ค่าสว่าง (0 = สีดำ, 100 = สีขาว) a^* คือ สีแดง, สีเขียว (+ = สีแดง, - = สีเขียว) และ b^* คือ สีน้ำเงิน, สีเหลือง (+ = สีน้ำเงิน, - = สีเหลือง)

11. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองถูกนำมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) เพื่อทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มตัวอย่าง การทดลองดำเนินการในลักษณะทำซ้ำ 3 ครั้ง โดยการวิเคราะห์จะพิจารณาอัตราส่วนระหว่างความแปรปรวนระหว่างกลุ่มและภายในกลุ่ม พร้อมทั้งใช้ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) ในการตัดสินใจผล ในกรณีที่ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จะดำเนินการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มเพิ่มเติม โดยใช้วิธีทดสอบของ Duncan (Duncan's Multiple Range Test: DMRT)

แผนภาพขั้นตอนการดำเนินงาน (แผนภูมิ)



สถานที่ดำเนินงานวิจัย

ดำเนินการภาคปฏิบัติ ณ อาคารพนม สมิตตานนท์ และห้องปฏิบัติการ E405 อาคารเรียนรวม สาขาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ระยะเวลาดำเนินการ (ตาราง)

ตารางที่ 6 ระยะเวลาดำเนินงานและแผนการทำงาน

[illegible]

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง โดยใช้เทคนิคอัลตราโซนิก โดยพิจารณาปัจจัยที่ส่งผลต่อกระบวนการสกัด ได้แก่ แอมพลิจูด, ระยะเวลาการสกัด และความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลาย การทดลองออกแบบโดยใช้การออกแบบเชิงสถิติแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken Design: BBD) ซึ่งเป็นหนึ่งในรูปแบบของการออกแบบการทดลองแบบตอบสนองพื้นผิว (Response Surface Methodology: RSM) หลังจากการสกัด สารสกัดจากดอกดาวเรืองจะนำไปผ่านกระบวนการห่อหุ้ม (Encapsulation) โดยใช้มอลโตเด็กซ์ตรินเป็นวัสดุในการห่อหุ้ม เพื่อเพิ่มเสถียรภาพของสารสำคัญ จากนั้นทำการศึกษาความคงตัวของผงสารสกัดภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน ได้แก่ 4, 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส เพื่อประเมินอายุการเก็บรักษา โดยใช้ปริมาณสารลูทีนและปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นตัวชี้วัดความคงตัวของผลิตภัณฑ์ตลอดช่วงเวลาการเก็บรักษา

การประเมินสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของตัวอย่าง

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมา พบว่า ดอกดาวเรืองเป็นแหล่งที่มีปริมาณสารลูทีนสูงเมื่อเทียบกับพืชชนิดอื่น โดยมีสารลูทีนเป็นองค์ประกอบประมาณ ร้อยละ 70–79 ของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (Fu et al., 2018) และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงถึงร้อยละ 90 (Marcella et al., 2019) โดยทั่วไปดอกแห้งจะมีความเข้มข้นของสารลูทีนสูงกว่าดอกสด เนื่องจากการระเหยของน้ำทำให้สารสำคัญถูกทำให้เข้มข้นขึ้น ตัวอย่างดอกดาวเรืองสดมีปริมาณสารลูทีน 1.24 mg/g มีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 53.74 และตัวอย่างกลีบดอกดาวเรืองแห้งมีปริมาณสารลูทีน 3.93 mg/g และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 67.47 ซึ่งแสดงถึงศักยภาพในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบทางด้านสุขภาพ การใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดสารลูทีนจากกลีบดอกดาวเรืองเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ โดยสามารถสกัดสารสำคัญได้ในปริมาณที่เหมาะสม อีกทั้งยังไม่มีสารพิษตกค้างที่เป็นอันตราย ส่งผลให้กระบวนการสกัดมีความปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงาน และเหมาะสมสำหรับการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์ที่ต้องการความปลอดภัยในระดับสูง เช่น อาหารเสริมและผลิตภัณฑ์สุขภาพ

ตารางที่ 7 คุณสมบัติทางเคมีของตัวอย่าง

	ปริมาณสารลูทีน (mg/g)	ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (%)
กลีบดอกดาวเรืองสด	1.24	53.74
กลีบดอกดาวเรืองแห้ง	3.93	67.47

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการและตัวทำละลาย

จากการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการสกัด โดยเปรียบเทียบระหว่างเครื่องอัลตราโซนิกแบบโพรบและแบบอ่างภายใต้เงื่อนไขการทดลองเดียวกัน คือ เวลาในการสกัด 20 นาที แอมพลิจูด 40 เปอร์เซ็นต์ และอัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1 ต่อ 10 g/ml โดยใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ น้ำ เอทานอล 25 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ และเอทานอล 75 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารลูทีน และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ผลจากการวิเคราะห์ปริมาณสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบโพรบสามารถสกัดสารลูทีนได้มากกว่าแบบอ่าง ดังแสดงในตาราง 8 และ 9 เนื่องจากหัวโพรบสัมผัสโดยตรงกับสารสกัด ทำให้เกิดการสลายผนังเซลล์ และเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด และเมื่อสกัดร่วมกับตัวทำละลายเอทานอลที่มีความเข้มข้นสูง ทำให้ปริมาณสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสกัดเพิ่มขึ้น โดยตัวอย่างที่สกัดได้จากเครื่องอัลตราโซนิกแบบโพรบใช้ร่วมกับตัวทำละลายเอทานอล 75 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณลูทีนเท่ากับ 6.46 mg/g และมีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 76.58 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากสารลูทีนเป็นสารประกอบในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีโครงสร้างเป็นไขมัน จึงละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยหรือขั้วปานกลาง เช่น เอทานอล, อะซีโตน, หรือ เฮกเซน เป็นต้น การสกัดด้วยน้ำไม่สามารถแทรกซึมเข้าสู่เซลล์ที่มีเยื่อไขมันได้ดี จึงทำให้ประสิทธิภาพในการปลดปล่อยสารลูทีนออกมาได้ปริมาณน้อย (Rao and Agarwal, 1999)

ตารางที่ 8 ผลการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการและตัวทำละลายในการสกัดสารลูทีน

วิธีการสกัด	ปริมาณสารลูทีน (mg/l)			
	ตัวทำละลาย			
	น้ำ	เอทานอล 25%	เอทานอล 50%	เอทานอล 75%
แบบโพรบ	2.92 ^d ± 0.12	4.62 ^c ± 0.38	5.45 ^b ± 0.23	6.46 ^a ± 0.18
แบบอ่าง	1.94 ^c ± 0.36	3.74 ^b ± 0.47	4.60 ^{ab} ± 0.17	5.15 ^a ± 0.17

หมายเหตุ: - ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 - ^{a-d} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

ตารางที่ 9 ผลการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการและตัวทำละลายในการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

วิธีการสกัด	ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (%)			
	ตัวทำละลาย			
	น้ำ	เอทานอล 25%	เอทานอล 50%	เอทานอล 75%
แบบโพรบ	56.75 ^d ± 0.82	63.25 ^c ± 0.64	68.01 ^b ± 0.18	74.46 ^a ± 0.22
แบบอ่าง	41.87 ^d ± 1.58	53.73 ^c ± 0.32	60.06 ^b ± 0.21	71.63 ^a ± 1.83

หมายเหตุ: - ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 - ^{a-d} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันหลังค่าเฉลี่ย หมายถึงค่าดังกล่าวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของตัวทำละลายประเภทต่าง ๆ ในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง พบว่า ปริมาณของสารทั้งสองชนิดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อใช้เอทานอลที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น แสดงถึงประสิทธิภาพของเอทานอลในการละลายสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพ คุณสมบัติของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในดอกดาวเรืองซึ่งประกอบด้วยทั้งองค์ประกอบที่มีขั้วและไม่มีขั้ว ส่งผลให้เอทานอลบริสุทธิ์หรือเอทานอลผสมน้ำเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดสารสำคัญเหล่านี้ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเครื่องอัลตราโซนิกชนิดโพรบและอัลตราโซนิกแบบอ่างภายใต้เงื่อนไขการทดลองเดียวกัน พบว่าเครื่องอัลตราโซนิก ชนิดโพรบให้ผลการสกัดที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งในด้านปริมาณสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งแสดงถึงประสิทธิภาพที่สูงกว่าในการส่งผ่านพลังงานคลื่นเสียงเข้าสู่

ระบบสกัด ดังนั้น เครื่องอัลตราโซนิกแบบโพรบิจึงเหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในขั้นตอนการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อค้นหาสภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่สุดต่อไป

การศึกษาอิทธิพลของปัจจัยที่ต้องการศึกษาในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก

การศึกษาอิทธิพลของแอมพลิจูดและเวลาในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกที่มีผลต่อการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เก็บข้อมูลทุก 10 นาที เป็นเวลา 60 นาที ที่แอมพลิจูดต่างกัน 20-80 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมอัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1 ต่อ 10 g/ml จากนั้นนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารลูทีน และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ผลจากการวิเคราะห์ปริมาณสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จากตารางที่ 10-11 พบว่าปริมาณสารลูทีนที่แอมพลิจูด 60 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาในการสกัด 10, 20 และ 30 นาที สกัดสารลูทีนได้ 4.85, 6.62 และ 5.53 ml/g ตามลำดับ สามารถสรุปได้ว่าเมื่อเวลาในการสกัดผ่านไปนานขึ้น แอมพลิจูดที่เป็นตัวกำหนดระดับพลังงานของคลื่นเสียงที่ส่งเข้าสู่ระบบ ทำให้เกิดปรากฏการณ์ Cavitation ซึ่งช่วยในการทำลายผนังเซลล์ของพืชและเพิ่มการแพร่ของสารออกมาในตัวทำละลาย สามารถเพิ่มปริมาณสารลูทีนที่สกัดได้ในช่วงระยะเวลาในการสกัด 10-30 นาที แต่ถ้าเมื่อเวลาผ่านไปจะส่งผลตรงข้าม เนื่องจากความร้อนสะสมที่ค่อย ๆ เพิ่มขึ้นและปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction) ที่ทำให้สารลูทีนเสื่อมคุณภาพหรือถูกทำลาย

ตารางที่ 10 การศึกษาอิทธิพลของแอมพลิจูดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกที่มีผลต่อการสกัดสารลูทีน

แอมพลิจูด (%)	ปริมาณสารลูทีน (mg/l)					
	เวลาในการสกัด (นาที)					
	10	20	30	40	50	60
20	3.16 ^c ± 0.21	4.01 ^a ± 0.15	3.66 ^b ± 0.06	3.80 ^{ab} ± 0.01	3.15 ^c ± 0.85	2.15 ^d ± 0.03
40	3.31 ^d ± 0.14	5.88 ^a ± 0.07	4.72 ^b ± 0.29	4.29 ^c ± 0.12	3.06 ^d ± 0.09	2.58 ^e ± 0.04
60	4.85 ^c ± 0.48	6.62 ^a ± 0.27	5.53 ^b ± 0.14	4.03 ^d ± 0.17	2.62 ^e ± 0.07	2.76 ^e ± 0.07
80	2.54 ^d ± 0.06	3.21 ^b ± 0.14	3.76 ^a ± 0.08	2.84 ^c ± 0.4	2.25 ^e ± 0.03	1.78 ^f ± 0.02

หมายเหตุ: - ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 - ^{a-f} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันหลังค่าเฉลี่ย หมายถึงค่าดังกล่าวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

ตารางที่ 11 การศึกษาอิทธิพลของแอมพลิจูดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกที่มีผลต่อการสกัดฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระ

แอมพลิจูด (%)	ปริมาณฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระ (%)					
	เวลาในการสกัด (นาที)					
	10	20	30	40	50	60
20	46.49 ^d ± 0.33	53.16 ^b ± 0.33	56.16 ^a ± 0.65	47.58 ^c ± 0.40	44.53 ^e ± 0.00	40.16 ^f ± 0.16
40	54.09 ^d ± 0.16	59.38 ^b ± 0.33	64.27 ^a ± 1.38	58.00 ^b ± 0.65	56.16 ^c ± 0.66	51.32 ^e ± 0.00
60	64.50 ^b ± 0.57	71.12 ^a ± 1.14	73.42 ^a ± 0.16	59.78 ^c ± 0.41	53.45 ^d ± 1.22	49.48 ^e ± 2.92
80	56.10 ^b ± 1.22	58.29 ^b ± 0.24	61.68 ^a ± 1.95	52.01 ^c ± 0.98	46.78 ^d ± 0.90	41.31 ^e ± 0.49

หมายเหตุ: - ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 - ^{a-e} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันหลังค่าเฉลี่ย หมายถึงค่าดังกล่าวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก

1. การคัดเลือกปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง

ในการศึกษานี้ได้ทำการคัดเลือกปัจจัยที่อาจมีผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก โดยพิจารณาจากปัจจัยทั้ง 4 ปัจจัย ได้แก่ แอมพลิจูด, เวลาในการสกัด, ความเข้มข้นของตัวทำละลาย และอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว เพื่อประเมินอิทธิพลของแต่ละปัจจัยที่มีต่อปริมาณสารลูทีนที่ได้จากกระบวนการสกัด การวางแผนการทดลองใช้รูปแบบการทดลองเชิงเศษส่วนของแฟคทอเรียล 2^{4-1} (Fractional Factorial Experiments) ซึ่งเป็นการออกแบบการทดลองสำหรับการประเมินปัจจัยจำนวนมากในจำนวนการทดลองที่จำกัด โดยกำหนดค่าของแต่ละปัจจัยไว้ที่สองระดับ ได้แก่ ระดับต่ำ (-1) และระดับสูง (1) ตามที่แสดงไว้ในตารางที่ 12 และข้อมูลที่ได้จากการทดลองจะนำมาวิเคราะห์แนวโน้มความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต้นและผลลัพธ์โดยใช้การวิเคราะห์ถดถอย (Regression Analysis) เพื่อระบุปัจจัยที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อประสิทธิภาพของการสกัดสารลูทีน

ตารางที่ 12 การทดลองเชิงเศษส่วนแฟคทอเรียล 2^{4-1} (Fractional Factorial Experiments)

การทดลอง	แอมพลิจูด (%)	เวลาในการสกัด (นาทีก)	ความเข้มข้น ของตัวทำ ละลาย (%)	อัตราส่วน ของแข็งต่อ ของเหลว (g/ml)	ปริมาณ สารลูทีน (mg/l)
1	20 (-1)	5 (-1)	40 (-1)	10 (-1)	3.68
2	60 (1)	5 (-1)	40 (-1)	30 (1)	2.70
3	20 (-1)	25 (1)	40 (-1)	30 (1)	5.53
4	60 (1)	25 (1)	40 (-1)	10 (-1)	4.28
5	20 (-1)	5 (-1)	80 (1)	30 (1)	5.78
6	60 (1)	5 (-1)	80 (1)	10 (-1)	4.64
7	20 (-1)	25 (1)	80 (1)	10 (-1)	6.23
8	60 (1)	25 (1)	80 (1)	30 (1)	5.75

ตารางที่ 13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับความถดถอยของสารลูทีนจากดอกดาวเรือง

รูปแบบ	ค่าสัมประสิทธิ์	P-value
Intercept	4.822	0.00006
แอมพลิจูด (x_1)	-0.048	0.0450479
เวลาในการสกัด (x_2)	0.062	0.0231152
ความเข้มข้นของตัวทำละลาย (x_3)	0.078	0.0126273
อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (x_4)	0.115	0.4826609

จากการวิเคราะห์ผลการทดลองตามตารางที่ 13 โดยใช้แบบจำลองการวิเคราะห์ถดถอย พบว่าปัจจัยทั้งหมดที่ศึกษา ได้แก่ อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว, แอมพลิจูด และเวลาในการสกัด มีผลต่อปริมาณสารลูทีนที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อพิจารณาระดับอิทธิพลของแต่ละปัจจัย พบว่าอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวมีอิทธิพลต่อปริมาณสารลูทีนที่สกัดได้น้อยกว่าปัจจัยอื่นใช้ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยเพื่อปรับระดับปัจจัยโดยใช้วิธีการ Steepest ascent เพื่อใช้ในการสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง ผลการวิเคราะห์ข้างต้นชี้ให้เห็นว่าการควบคุมแอมพลิจูด, เวลาในการสกัด และความเข้มข้นของเอทานอลมีความสำคัญต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดลูทีนจากดอกดาวเรืองมากที่สุด ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาเบื้องต้นสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนการทดลองในขั้นต่อไป เพื่อดำเนินการหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับกระบวนการสกัด

2. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก

ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง เลือกออกแบบการทดลอง โดยใช้การทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken Design: BBD) ปัจจัยที่ศึกษาทั้งหมด 3 ปัจจัย ได้แก่ แอมพลิจูด (%), เวลาในการสกัด (นาที) และความเข้มข้นของตัวทำละลาย (%) โดยแปรผันค่า X_1 , X_2 , และ X_3 โดยทำการทดลองซ้ำที่จุดกึ่งกลาง 3 การทดลอง รวมทั้งหมด 15 การทดลอง การทดลองจะตั้งค่ารหัสของระดับปัจจัยที่ใช้ในการทดลองเป็น 3 ระดับ คือ ระดับต่ำ (-1) ระดับกลาง (0) และระดับสูง (1) ดังแสดงในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก

การทดลอง	แอมพลิจูด (%)	เวลาในการสกัด (นาที)	ความเข้มข้นของตัวทำละลาย (%)	ปริมาณสารลูทีน (mg/g)	
				ผลจากการทดลอง	ผลจากการทำนาย
1	40 (0)	15 (0)	60 (0)	6.74	6.89
2	40 (0)	15 (0)	60 (0)	6.87	6.89
3	60 (1)	15 (0)	40 (-1)	5.68	5.78
4	40 (0)	5 (-1)	80 (1)	6.15	6.14
5	40 (0)	5 (-1)	40 (-1)	5.12	5.29
6	20 (-1)	25 (-1)	60 (0)	3.97	4.25
7	40 (0)	25 (-1)	80 (1)	6.59	6.42
8	40 (0)	15 (0)	60 (0)	7.06	6.89
9	20 (-1)	15 (0)	80 (1)	6.01	5.91
10	40 (0)	25 (1)	40 (-1)	5.88	5.89
11	20 (-1)	5 (-1)	60 (0)	3.58	3.69
12	60 (1)	15 (0)	80 (1)	6.21	6.50
13	20 (-1)	15 (0)	40 (-1)	5.53	5.24
14	60 (1)	25 (1)	60 (0)	4.81	4.70
15	60 (1)	5 (-1)	60 (0)	4.65	4.37

2.1. การศึกษาอิทธิพลของแอมพลิจูดต่อการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง

จากการศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง โดยพิจารณาปัจจัยที่มีผล ได้แก่ แอมพลิจูด (X_1), เวลาในการสกัด (X_2) และความเข้มข้นของตัวทำละลาย (X_3)

พบว่าปริมาณของสารลูทีนที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC อยู่ในช่วง 3.58–7.06 mg/g สภาวะที่ให้ผลการสกัดสูงสุด คือ แอมพลิจูดร้อยละ 60, เวลาในการสกัด 15 นาที และความเข้มข้นของสารละลายร้อยละ 60 ซึ่งให้ค่าปริมาณลูทีนสูงสุดที่ 7.06 mg/g การควบคุมระดับของปัจจัยการสกัดอย่างเหมาะสมมีผลต่อประสิทธิภาพในการดึงสารสำคัญ โดยเฉพาะเมื่อใช้ร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิก ซึ่งมีบทบาทในการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด แต่หากใช้ในระดับที่ไม่เหมาะสม อาจส่งผลเสียต่อปริมาณของสารสำคัญที่ได้

จากผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรืองด้วยเทคนิคคลื่นอัลตราโซนิก พบว่าปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดมากที่สุดคือ ความเข้มข้นของตัวทำละลาย โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายแบบกึ่งมีขั้ว จะส่งผลให้ปริมาณสารลูทีนที่สกัดได้เพิ่มสูงขึ้น เพราะคุณสมบัติของเอทานอลที่สามารถจับกับโมเลกุลของสารสำคัญที่มีขั้วได้ดี เช่น กลุ่มแคโรทีนอยด์และกรดฟีนอลิก ทั้งนี้ รายงานของ Rodríguez-Rodríguez et al., 2024 ชี้ให้เห็นว่าความเหมาะสมของความเข้มข้นของตัวทำละลายในการสกัดขึ้นอยู่กับระดับขั้วของสารที่ต้องการสกัด อย่างไรก็ตาม แม้ว่าจะมีงานวิจัยบางฉบับระบุว่าอะซิโตนสามารถละลายสารลูทีนได้ดีกว่าเอทานอลเนื่องจากความสามารถในการแทรกซึมเข้าสู่โครงสร้างพืชได้ดีกว่า แต่ข้อได้เปรียบของเอทานอล เช่น ความเป็นพิษต่ำและความสามารถในการนำกลับมาใช้ซ้ำได้ ทำให้การเลือกใช้เอทานอลในงานวิจัยนี้เป็นทางเลือกที่เหมาะสม โดยสอดคล้องกับงานของ Jaeschke et al., 2017 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้เอทานอลร่วมกับคลื่นอัลตราโซนิกสามารถเพิ่มปริมาณของแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จาก *Heterochlorella luteoviridis* ได้อย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นถึงผลสำคัญของความเข้มข้นของตัวทำละลายในการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดสารชีวภาพ

2.2. การศึกษาอิทธิพลของเวลาต่อการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง

การเพิ่มขึ้นของปริมาณสารลูทีนในการสกัดที่มีค่าแอมพลิจูด เกิดจากความสามารถของคลื่นอัลตราโซนิกในการเพิ่มอัตราการถ่ายโอนมวลสาร เมื่อแทรกซึมผ่านตัวกลางที่เป็นตัวทำละลาย ส่งผลให้สารละลายภายในระบบมีการแพร่กระจายที่ดีขึ้น ฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมากจะถูกสร้างขึ้นภายในของเหลว และเกิดคลื่นกระแทกอย่างรุนแรงส่งผลทำให้ฟองอากาศยุบตัวลงในเวลาอันสั้น ซึ่งส่งผลให้ผนังเซลล์เนื้อเยื่อถูกทำลายเร็วขึ้น (Hemwimol et al., 2006) ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Ye et al., 2011 พบว่าปริมาณสารลูทีนที่ได้จากการสกัดข้าวโพดสูงขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของคลื่นอัลตราโซนิก เนื่องจากการโพรงอากาศที่เกิดจากกระบวนการคาวิเทชันที่รุนแรงช่วยเพิ่มอัตราการแพร่ของโมเลกุลสูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่มากเกินไปนำไปสู่การเกิดความดัน และทำให้อุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้น (Pingret et al., 2013) ทำให้เร่งกระบวนการสลายตัวของสารสำคัญ

2.3 การศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของตัวทำละลายต่อการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง จากผลการทดลองพบว่า ระยะเวลาในการสกัดที่นานขึ้นอาจมีผลต่อปริมาณของสารลูทีนที่สกัดได้ ซึ่งสามารถอธิบายได้จากลักษณะทางเคมีของสารลูทีนที่ไวต่อความร้อน โดยเมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น อุณหภูมิในระบบจะสูงขึ้นตาม ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในสภาวะที่มีออกซิเจนและแสง ซึ่งนำไปสู่การสลายตัวของสารลูทีน (Altemimi A et al., 2015) สอดคล้องกับรายงานของ Manzoor et al., 2022 ที่ระบุว่าการใช้คลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลานานสามารถส่งผลให้สารออกฤทธิ์บางชนิดเกิดการสลายตัวทางเคมี อันเป็นผลมาจากพลังงานกลและความร้อนที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการสกัด ดังนั้น การกำหนดระยะเวลาในการใช้คลื่นอัลตราโซนิกจึงควรอยู่ในระดับที่เหมาะสม เพื่อหลีกเลี่ยงการสูญเสียของสารลูทีนอันเนื่องมาจากการเสื่อมสภาพจากความร้อนและปฏิกิริยาออกซิเดชัน

3. การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับความถดถอยของสารลูทีนจากดอกดาวเรือง

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) สำหรับแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรืองตามตารางที่ 15 แสดงให้เห็นว่า แบบจำลองพหุนามกำลังสองที่นำมาใช้มีความเหมาะสมและสามารถอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต้นกับค่าการตอบสนองได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยแบบจำลองของปริมาณสารลูทีน (Y_1) มีค่า P-value เท่ากับ 0.000 ซึ่งอยู่ในระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ประกอบกับค่า Significance F ที่ต่ำกว่า 0.001 บ่งชี้ว่าแบบจำลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการทำนาย ทั้งนี้ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9691, ค่า Multiple R เท่ากับ 0.9844 และ Adjusted R^2 เท่ากับ 0.9136 ซึ่งอยู่ในระดับสูงและใกล้เคียงกับค่า 1 แสดงถึงความแม่นยำของแบบจำลองในการอธิบายความแปรปรวนของข้อมูล สามารถนำไปใช้ในการทำนายสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารลูทีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังแสดงในสมการที่ 4.1

ตารางที่ 15 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับความถดถอยในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง

Source	ปริมาณสารลูทีน (mg/g)			
	Coefficient Estimate	Standard Error	t-stat	P-value
Intercept	6.890	0.178	38.701	0.000
X ₁	0.283	0.109	2.591	0.049
X ₂	0.219	0.109	2.006	0.101
X ₃	0.344	0.109	3.153	0.025
X ₁ X ₂	-0.058	0.154	-0.373	0.724
X ₁ X ₃	-0.080	0.154	-0.519	0.626
X ₂ X ₃	0.013	0.154	0.081	0.939
X ₁ ²	-1.358	0.160	-8.459	0.000
X ₂ ²	-1.280	0.160	-7.976	0.000
X ₃ ²	0.325	0.160	2.025	0.099
R ²		0.9691		
Multiple R		0.9844		
Adjusted R ²		0.9136		

$$Y_1 \text{ (mg/g)} = 6.890 + 0.283X_1 + 0.219X_2 + 0.344X_3 - 0.058X_1X_2 - 0.080X_1X_3 + 0.013X_2X_3 - 1.358X_1^2 - 1.280X_2^2 + 0.325X_3^2 \quad (4.1)$$

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของสมการถดถอยเชิงเส้นพหุคูณ (multiple linear regression) ที่ใช้แบบจำลองเพื่ออธิบายอิทธิพลของปัจจัยต่าง ๆ ต่อปริมาณสารลูทีน พบว่า ค่าบวกของสัมประสิทธิ์ในสมการแสดงถึงความสัมพันธ์เชิงบวก คือ ปริมาณสารลูทีนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อค่าของตัวแปรต้นเพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่าลบในสมการแสดงถึงแนวโน้มที่ปริมาณสารลูทีนลดลงเมื่อค่าของตัวแปรต้นลดลง โดยผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่า การเพิ่มแอมพลิจูด, เวลาในการสกัด และความเข้มข้นของตัวทำละลายในระดับที่เหมาะสมจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก เมื่อพิจารณาความสำคัญทางสถิติจากค่า P-value พบว่า ตัวแปร X₁ (แอมพลิจูด), X₃ (ความเข้มข้นของตัวทำละลาย), X₁² และ X₂² มีค่า P-value ต่ำกว่า 0.05 ซึ่ง

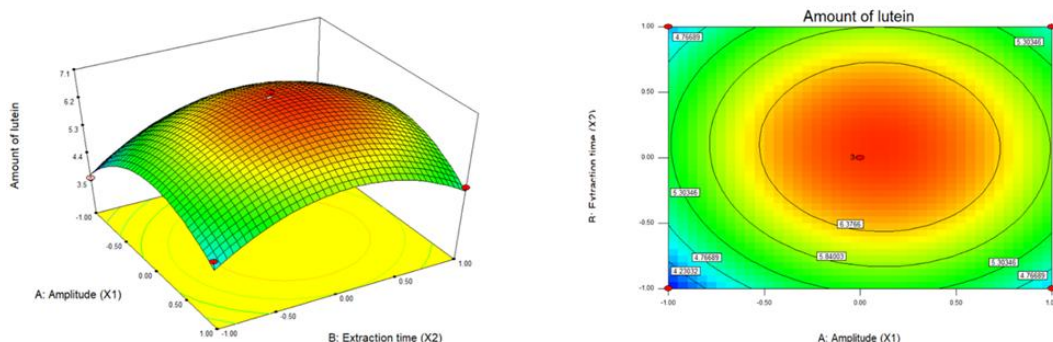
แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อปริมาณสารลูทีนที่สกัดได้ แต่ X_2 (เวลาในการสกัด) X_1X_2 , X_1X_3 , X_2X_3 และ X_3^2 มีค่า P-value มากกว่า 0.05 แสดงว่าไม่มีอิทธิพลต่อกันอย่างมีนัยสำคัญ และไม่ส่งผลต่อความแม่นยำของการทำนายปริมาณสารลูทีนในแบบจำลอง ซึ่งสามารถทำนายปริมาณสารลูทีนไม่ต่างจากสมการที่ 4.1

$$Y_1 \text{ (mg/g)} = 6.890 + 0.283X_1 + 0.344X_3 - 1.358X_1^2 - 1.280X_2^2 \quad (4.2)$$

4. ผลของการสร้างพื้นผิวตอบสนองแบบจำลองทางคณิตศาสตร์

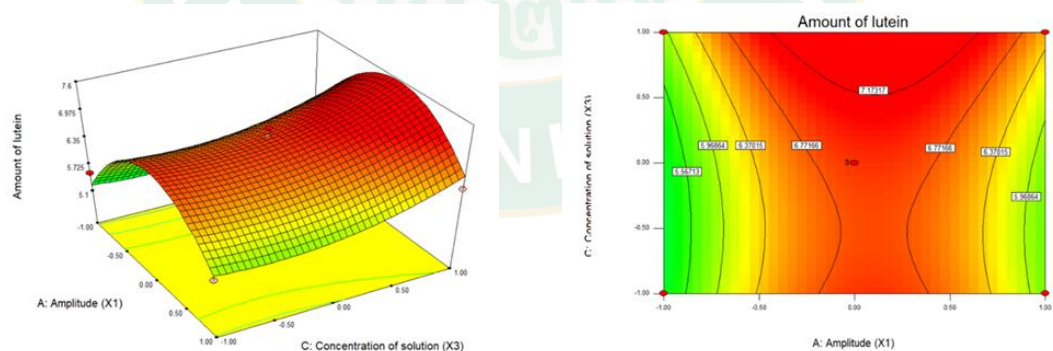
จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในสมการที่ 4.1 และ 4.2 สามารถนำมาพล็อตแผนภาพพื้นผิวตอบสนองสามมิติ (3D-surface plot) และแผนภาพพื้นผิวตอบสนองสองมิติ (2D-surface plot) เพื่ออธิบายถึงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ แอมพลิจูด (X_1), เวลาในการสกัด (X_2) และความเข้มข้นของตัวทำละลาย (X_3) กับค่าตอบสนองที่วัดได้ คือ ปริมาณสารลูทีน (Y_1) แสดงดังภาพที่ 26-28

จากภาพที่ 26 ซึ่งแสดงแผนภาพพื้นผิวตอบสนองสามมิติของอิทธิพลระหว่างแอมพลิจูดและเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารลูทีนจากดอกดาวเรือง พบว่าทั้งสองปัจจัยมีผลต่อกันในลักษณะที่ไม่เป็นเชิงเส้น โดยในช่วงแรก เมื่อเพิ่มระดับของแอมพลิจูดและเวลาในการสกัด จะส่งผลให้ปริมาณสารลูทีนที่สกัดได้เพิ่มสูงขึ้น จนถึงระดับที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งให้ผลการสกัดสูงสุดที่ 6.37 mg/g อย่างไรก็ตาม เมื่อค่าของแอมพลิจูดและเวลาการสกัดเกินระดับที่เหมาะสม ปริมาณสารลูทีนที่ได้กลับลดลงอย่างต่อเนื่อง สะท้อนให้เห็นถึงผลกระทบเชิงลบจากการใช้พลังงานมากเกินไปหรือต่อเวลาสกัดนานเกินไป ซึ่งเป็นปัจจัยก่อให้เกิดการสลายตัวของสารสำคัญ ลักษณะการเปลี่ยนแปลงนี้เห็นได้ชัดจากลำดับของแถบสีในแผนภาพ ซึ่งแถบพื้นที่สีส้มแสดงถึงค่าปริมาณสารลูทีนสูงสุด ขณะที่แถบสีเหลือง สีเขียว สีฟ้า และสีน้ำเงินที่ปรากฏโดยรอบแสดงถึงค่าที่ค่อยๆ ลดลงมากคือ 5.84, 5.30, 4.76 และ 4.23 mg/g ตามลำดับ



ภาพที่ 26 อิทธิพลของแอมพลิจูดและเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารลูทีนจากดอกดาวเรือง ที่ความเข้มข้นของตัวทำละลายร้อยละ 60

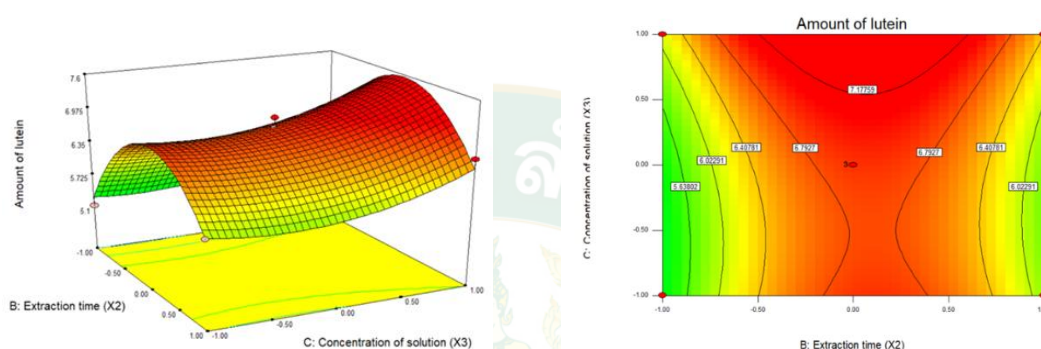
จากภาพที่ 27 ซึ่งแสดงแผนภาพพื้นผิวตอบสนองสามมิติของอิทธิพลระหว่างแอมพลิจูดและความเข้มข้นของตัวทำละลายต่อปริมาณสารลูทีนจากดอกดาวเรือง พบว่าทั้งสองปัจจัยมีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดในลักษณะที่ไม่เป็นเชิงเส้น โดยในช่วงแรกของการเพิ่มระดับแอมพลิจูดและความเข้มข้นของตัวทำละลาย ปริมาณสารลูทีนที่สกัดได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น จนถึงระดับสูงสุดที่ 7.13 mg/g ซึ่งแสดงในแถบพื้นที่สีแดงของแผนภาพ อย่างไรก็ตาม เมื่อเกินระดับที่เหมาะสม ปริมาณลูทีนที่ได้กลับลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสามารถสังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงของแถบสีในแผนภาพ โดยสีส้ม สีเหลือง สีเขียว และสีเขียวอ่อนที่อยู่ถัดออกมา แสดงถึงค่าปริมาณสารลูทีนที่ลดลงเป็นลำดับ ได้แก่ 6.77, 6.37, 5.96 และ 5.56 mg/g ตามลำดับ



ภาพที่ 27 อิทธิพลของแอมพลิจูดและความเข้มข้นของตัวทำละลายต่อปริมาณสารลูทีนจากดอกดาวเรือง ที่เวลาในการสกัด 15 นาที

จากภาพที่ 28 ซึ่งแสดงแผนภาพพื้นผิวตอบสนองสามมิติของอิทธิพลระหว่างเวลาในการสกัดและความเข้มข้นของตัวทำละลายต่อปริมาณสารลูทีนจากดอกดาวเรือง พบว่าเมื่อทั้งสองปัจจัยเพิ่มสูงขึ้นในช่วงแรก จะส่งผลให้ปริมาณสารลูทีนที่สกัดได้เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน จนกระทั่งถึงจุดที่เหมาะสม

ที่สุด ซึ่งพบว่าปริมาณสารลูทีนสูงสุดอยู่ที่ 7.17 mg/g โดยแสดงในแถบพื้นที่สีแดงของแผนภาพ อย่างไรก็ตาม เมื่อเวลาในการสกัดและความเข้มข้นของตัวทำละลายเพิ่มขึ้นเกินกว่าระดับที่เหมาะสม ปริมาณสารลูทีนที่สกัดได้กลับลดลงอย่างต่อเนื่อง สามารถเห็นได้จากลำดับของแถบสีที่เปลี่ยนแปลง ได้แก่ สีส้ม สีเหลือง สีเขียว และสีเขียวอ่อน ซึ่งสอดคล้องกับค่าปริมาณสารลูทีนที่ลดลงคือ 6.79, 6.40, 6.02 และ 5.63 mg/g ตามลำดับ



ภาพที่ 28 อิทธิพลของเวลาในการสกัดและความเข้มข้นของตัวทำละลายต่อปริมาณสารลูทีน จากดอกดาวเรือง ที่แอมพลิจูดร้อยละ 40

ตารางที่ 16 การเปรียบเทียบสารลูทีนที่สภาวะต่าง ๆ ในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง

	แอมพลิจูด	เวลาในการสกัด	ความเข้มข้นของตัวทำละลาย	ปริมาณสารลูทีน
	(%)	(นาทีก)	(%)	(mg/g)
สภาวะที่เหมาะสมจากการทำนาย	41.772	15.805	80	6.89
สภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัด	42	16	80	6.89
ผลจากสภาวะที่เหมาะสมจากการทดลอง	42	16	80	6.94

จากตารางที่ 16 แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของแบบจำลองในการทำนายสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง โดยผลการวิเคราะห์พบว่า ค่าที่ได้จากแบบจำลอง ได้แก่ แอมพลิจูดร้อยละ 41.772, เวลาในการสกัด 15.805 นาที และความเข้มข้นของตัวทำละลายร้อยละ 80 สามารถให้ปริมาณสารลูทีนสูงสุดที่คาดการณ์ไว้ที่ 6.89 มิลลิกรัมต่อกรัม

อย่างไรก็ตาม ในการทดลองจริง ไม่สามารถใช้ค่าดังกล่าวได้อย่างแม่นยำ เนื่องจากข้อจำกัดด้านการควบคุมปัจจัยเชิงปฏิบัติในกระบวนการทดลอง จึงมีการปรับค่าปัจจัยให้อยู่ในช่วงใกล้เคียงที่สุด คือ แอมพลิจูดร้อยละ 42, เวลาในการสกัด 15 นาที และความเข้มข้นของตัวทำละลายร้อยละ 80 ผลการทดลองภายใต้สภาวะที่ปรับแล้วให้ค่าปริมาณสารลูทีนที่ได้อยู่ที่ 6.94 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่งใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการทำนายของแบบจำลอง (6.89 มิลลิกรัมต่อกรัม) อย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่สร้างขึ้นมีความแม่นยำและความน่าเชื่อถือสูงในการทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีน

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก

1. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก

ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง เลือกออกแบบการทดลองโดยใช้การทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken Design: BBD) ปัจจัยที่ศึกษาทั้งหมด 3 ปัจจัย ได้แก่ แอมพลิจูด (%), เวลาในการสกัด (นาที) และความเข้มข้นของตัวทำละลาย (%) โดยแปรผันค่า X_1 , X_2 , และ X_3 โดยทำการทดลองซ้ำที่จุดกึ่งกลาง 3 การทดลอง รวมทั้งหมด 15 การทดลอง การทดลองจะตั้งค่ารหัสของระดับปัจจัยที่ใช้ในการทดลองเป็น 3 ระดับ คือ ระดับต่ำ (-1) ระดับกลาง (0) และระดับสูง (1) ดังแสดงในตารางที่ 17

ตารางที่ 17 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก

การทดลอง	แอมพลิจูด	เวลา	ความเข้มข้นของ	ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	
	(%)	ในการสกัด	ตัวทำละลาย	(%)	
	(%)	(นาที)	(%)	ผลจากการทดลอง	ผลจากการทำนาย
1	40 (0)	15 (0)	60 (0)	79.14	79.22
2	40 (0)	15 (0)	60 (0)	79.82	79.22
3	60 (1)	15 (0)	40 (-1)	67.45	66.36
4	40 (0)	5 (-1)	80 (1)	70.71	70.11
5	40 (0)	5 (-1)	40 (-1)	65.58	66.17
6	20 (-1)	25 (-1)	60 (0)	58.95	58.46
7	40 (0)	25 (-1)	80 (1)	75.69	75.10

8	40 (0)	15 (0)	60 (0)	78.71	79.22
9	20 (-1)	15 (0)	80 (1)	69.65	70.74
10	40 (0)	25 (1)	40 (-1)	67.56	68.16
11	20 (-1)	5 (-1)	60 (0)	55.90	55.41
12	60 (1)	15 (0)	80 (1)	73.44	73.54
13	20 (-1)	15 (0)	40 (-1)	67.14	67.04
14	60 (1)	25 (1)	60 (0)	59.48	59.97
15	60 (1)	5 (-1)	60 (0)	55.54	56.04

ผลการทดลองเพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง ด้วยเทคนิคคลื่นอัลตราโซนิก พบว่า ปัจจัยเวลาของการสกัดและความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอลมีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการสกัดอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลในระดับที่เหมาะสมส่งผลให้ปริมาณฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการสกัดสารกลุ่มอื่นที่มีฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระร่วมด้วย (Pratumyam et al., 2023) ทั้งนี้ แสดงให้เห็นถึงความสามารถของเอทานอลในการดึงสารออกฤทธิ์ที่มีความหลากหลายทางเคมี นอกจากนี้ การเพิ่มระยะเวลาในการสกัดในช่วงต้นส่งผลดีต่อการถ่ายเทมวลและการแพร่ของสารออกฤทธิ์ ทำให้ปริมาณฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม เมื่อเวลาในการสกัดยาวนานเกินไป อุณหภูมิในระบบอาจเพิ่มสูงขึ้นจนส่งผลให้ฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระเกิดการสลายตัว เช่นเดียวกับสารลูทีน ซึ่งเป็นสารที่ไวต่อความร้อน โดยสอดคล้องกับรายงานของ Ibrahim et al. (2015) ที่ชี้ว่าการสกัดในเวลาที่ยาวนานอาจทำให้สารประกอบในตัวทำละลายระเหย ส่งผลให้ประสิทธิภาพการสกัดลดลง เทคนิคการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับเอทานอลในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดทั้งสารลูทีนและฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังช่วยลดเวลาในการสกัด ลดการใช้ตัวอย่างและตัวทำละลายลงได้ จึงมีศักยภาพสูงในการนำไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรม โดยเฉพาะในกลุ่มผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพที่ต้องการสารออกฤทธิ์จากธรรมชาติในปริมาณสูง และกระบวนการผลิตที่ปลอดภัยและยั่งยืน

2. การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับความถดถอยของฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง

จากตารางที่ 18 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) สำหรับแบบจำลองการถดถอยที่ใช้ในการทำนายปริมาณฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองพหุนามกำลังสองที่นำมาใช้มีความเหมาะสมอย่างยิ่ง โดยแบบจำลองมีนัยสำคัญทางสถิติสูง โดยมี P-value เท่ากับ 0.000 และ Significance F < 0.001 ซึ่งบ่งชี้ว่า ความแตกต่างระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองจริงกับ

ค่าที่ทำนายจากแบบจำลองมีความคลาดเคลื่อนน้อย และแบบจำลองสามารถอธิบายความแปรปรวนของข้อมูลได้อย่างแม่นยำ นอกจากนี้ ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9943, ค่า Multiple R เท่ากับ 0.9971 และ Adjusted R^2 เท่ากับ 0.9839 ซึ่งอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับ 1 สะท้อนถึงความแม่นยำและความน่าเชื่อถือของแบบจำลองอย่างชัดเจน ค่าดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าแบบจำลองนี้สามารถนำไปใช้ในการสร้างสมการถดถอยที่มีศักยภาพในการทำนายสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองได้อย่างมีประสิทธิภาพและแม่นยำ ดังแสดงในสมการที่ 4.3

ตารางที่ 18 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับความถดถอยในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรือง

Source	ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (%)			
	Coefficient Estimate	Standard Error	t-stat	P-value
Intercept	79.223	0.599	132.169	0.000
X_1	0.534	0.367	1.454	0.206
X_2	1.744	0.367	4.751	0.005
X_3	2.720	0.367	7.410	0.001
X_1X_2	0.222	0.519	0.429	0.686
X_1X_3	0.750	0.519	1.445	0.208
X_2X_3	0.870	0.519	1.676	0.155
X_1^2	-11.110	0.540	-20.563	0.000
X_2^2	-10.645	0.540	-19.703	0.000
X_3^2	1.307	0.540	2.419	0.060
R^2		0.9943		
Multiple R		0.9971		
Adjusted R^2		0.9839		

$$Y_2 (\%) = 79.223 + 0.534X_1 + 1.744X_2 + 2.720X_3 + 0.222X_1X_2 + 0.750X_1X_3 + 0.870X_2X_3 - 11.110X_1^2 - 10.645X_2^2 + 1.307X_3^2 \quad (4.3)$$

จากการวิเคราะห์ความสำคัญทางสถิติของปัจจัยที่มีผลต่อค่าการตอบสนอง Y_2 ซึ่งเป็นปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง โดยอาศัยค่า P-value เป็นเกณฑ์พบว่า ตัวแปร X_2 (เวลาในการสกัด) และ X_3 (ความเข้มข้นของตัวทำละลาย) มีค่า P-value ต่ำกว่า 0.05 ในรูปแบบเชิงเส้น เช่นเดียวกับพจน์กำลังสองของ X_1X_2 (ปฏิสัมพันธ์ระหว่างแอมพลิจูดและเวลา) และ X_2^2 (เวลาใน

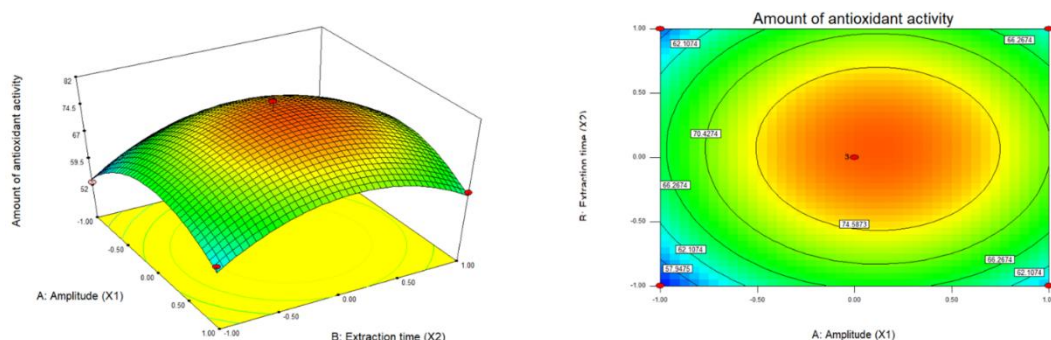
การสกัด) ที่แสดงผลในเชิงสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าปัจจัยเหล่านี้มีอิทธิพลอย่างชัดเจนต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้ แต่ตัวแปร X_1 (แอมพลิจูด) และ X_1X_2 , X_1X_3 , X_2X_3 และ X_3^2 ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\text{-value} > 0.05$) ต่อการตอบสนองของการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระภายใต้สภาวะที่ศึกษา ดังนั้น การคัดเลือกเฉพาะพจน์ที่แสดงนัยสำคัญทางสถิติมาใช้ในการสร้างสมการถดถอย ซึ่งสามารถนำเฉพาะพจน์ที่มีความสำคัญต่อการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมาเขียนสมการที่ 4.4

$$Y_2 (\%) = 79.223 + 1.744X_2 + 2.720X_3 - 11.110X_1^2 - 10.645X_2^2 \quad (4.4)$$

3. ผลของการสร้างพื้นผิวตอบสนองแบบจำลองทางคณิตศาสตร์

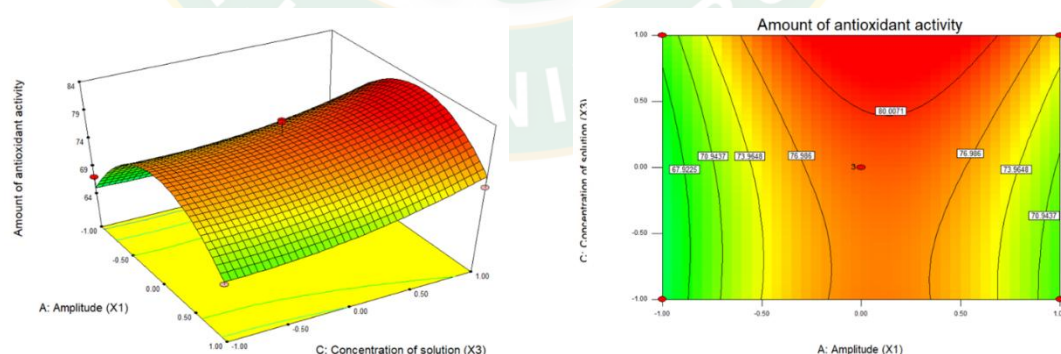
จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในสมการที่ 4.3 และ 4.4 สามารถนำมาพล็อตแผนภาพพื้นผิวตอบสนองสามมิติ (3D-surface plot) และแผนภาพพื้นผิวตอบสนองสองมิติ (2D-surface plot) เพื่ออธิบายถึงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ แอมพลิจูด (X_1), เวลาในการสกัด (X_2) และความเข้มข้นของตัวทำละลาย (X_3) กับค่าตอบสนองที่วัดได้ คือ ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Y_2) แสดงดังภาพที่ 29-31

จากภาพที่ 29 ซึ่งแสดงแผนภาพพื้นผิวตอบสนองสามมิติของอิทธิพลระหว่างแอมพลิจูดและเวลาในการสกัดต่อปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง พบว่าแนวโน้มของผลการสกัดมีลักษณะไม่เป็นเชิงเส้น โดยในช่วงแรกของการเพิ่มแอมพลิจูดและเวลาในการสกัด ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จนถึงจุดสูงสุดที่ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 74.58% (บริเวณแถบพื้นที่สีส้ม) อย่างไรก็ตาม เมื่อระดับของแอมพลิจูดและเวลาในการสกัดเกินกว่าค่าที่เหมาะสม ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกลับลดลงอย่างต่อเนื่อง รูปแบบความเปลี่ยนแปลงนี้แสดงให้เห็นจากลำดับแถบสีที่ปรากฏในแผนภาพ โดยแถบสีเหลือง สีเขียว สีฟ้า และสีน้ำเงินที่ถัดจากแถบสีส้มแสดงถึงการลดลงของปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นลำดับ ได้แก่ ร้อยละ 70.42, 66.26, 62.10 และ 57.94 ตามลำดับ



ภาพที่ 29 อิทธิพลของแอมพลิจูดและเวลาในการสกัดต่อปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
จากดอกดาวเรือง ที่ความเข้มข้นของตัวทำละลาย 60%

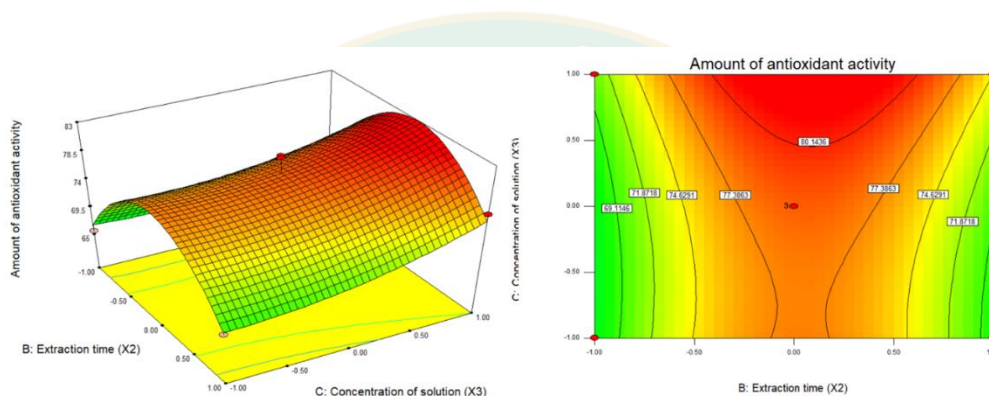
จากภาพที่ 30 ซึ่งแสดงแผนภาพพื้นผิวตอบสนองสามมิติของอิทธิพลระหว่างแอมพลิจูดและความเข้มข้นของตัวทำละลายต่อปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง พบว่าทั้งสองปัจจัยมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อประสิทธิภาพการสกัด โดยลักษณะของผลการสกัดมีแนวโน้มไม่เป็นเชิงเส้น กล่าวคือ เมื่อเพิ่มแอมพลิจูดและความเข้มข้นของเอทานอลในช่วงต้น ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสกัดมีค่าที่เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน จนถึงจุดสูงสุดซึ่งอยู่ในแถบพื้นที่สีแดงของแผนภาพ โดยให้ค่าปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับร้อยละ 80.00 อย่างไรก็ตาม เมื่อค่าของแอมพลิจูดและความเข้มข้นของตัวทำละลายเพิ่มสูงเกินระดับที่เหมาะสม ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้กลับลดลง ซึ่งสะท้อนให้เห็นในแถบสีที่ลดหลั่นกัน ได้แก่ สีเหลือง สีเขียว สีฟ้า และสีน้ำเงิน ซึ่งมีค่าปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงเป็นลำดับ คือร้อยละ 76.98, 73.94, 70.94 และ 67.92 ตามลำดับ



ภาพที่ 30 อิทธิพลของแอมพลิจูดและความเข้มข้นของตัวทำละลายต่อปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
จากดอกดาวเรือง ที่เวลาในการสกัด 15 นาที

จากภาพที่ 31 ซึ่งแสดงแผนภาพพื้นผิวตอบสนองสามมิติของอิทธิพลระหว่างเวลาในการสกัดและความเข้มข้นของตัวทำละลายต่อปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง พบว่าทั้งสอง

ปัจจัยมีผลต่อการสกัดสารอย่างมีนัยสำคัญ โดยลักษณะของผลที่ได้มีแนวโน้มไม่เป็นเชิงเส้น กล่าวคือ ในช่วงที่เพิ่มเวลาในการสกัดและความเข้มข้นของตัวทำละลาย ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน จนถึงระดับที่เหมาะสมที่สุดซึ่งให้ค่าปริมาณสูงสุดเท่ากับร้อยละ 80.14 (บริเวณแถบพื้นที่สีแดง) อย่างไรก็ตาม เมื่อปัจจัยทั้งสองถูกปรับเปลี่ยนเกินค่าที่เหมาะสม ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้กลับลดลงตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นผ่านแถบสีที่ลดหลั่นออกมาจากจุดสูงสุด ได้แก่ สีเหลือง สีเขียว สีฟ้า และสีน้ำเงิน โดยแสดงค่าที่ลดลงอย่างต่อเนื่องคือ ร้อยละ 77.38, 74.62, 71.87 และ 69.11 ตามลำดับ



ภาพที่ 31 อิทธิพลของเวลาในการสกัดและความเข้มข้นของตัวทำละลายต่อปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง ที่แอมพลิจูดร้อยละ 40

ตารางที่ 19 การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสภาวะต่าง ๆ ในการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง

	แอมพลิจูด (%)	เวลา ในการสกัด (นาท)	ความเข้มข้นของ ตัวทำละลาย (%)	ปริมาณฤทธิ์ต้าน อนุมูลอิสระ (ร้อยละ)
สภาวะที่เหมาะสมจากการ ทำนาย	41.772	15.805	80	79.22
สภาวะที่เหมาะสมจากการ ทดลอง	42	16	80	79.22
ผลจากสภาวะที่เหมาะสมจาก การทดลอง	42	16	80	79.82

จากตารางที่ 19 พบว่าผลการทำนายสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง จากปัจจัยที่ใช้ในการศึกษาทั้ง 3 ปัจจัย ดังกล่าวข้างต้น พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุด

จากแบบจำลอง คือ แอมพลิจูด ร้อยละ 41.772, เวลาในการสกัด 15.805 นาทีและความเข้มข้นของตัวทำละลายร้อยละ 80 มีผลทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดอยู่ที่ 79.22 มิลลิกรัมต่อกรัม อย่างไรก็ตาม ในการทดลองจริง ไม่สามารถใช้ค่าดังกล่าวได้อย่างแม่นยำ เนื่องจากข้อจำกัดด้านการควบคุมปัจจัยเชิงปฏิบัติในกระบวนการทดลอง จึงมีการปรับค่าปัจจัยให้อยู่ในช่วงใกล้เคียงที่สุด คือ แอมพลิจูดร้อยละ 42, เวลาในการสกัด 15 นาทีและความเข้มข้นของตัวทำละลายร้อยละ 80 ซึ่งมีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ใกล้เคียงกัน คือ 79.22 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 79.82 มิลลิกรัมต่อกรัม

การแปรรูปผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองด้วยกระบวนการเอนแคปซูเลชัน

หลังจากได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิกแล้ว ขั้นตอนถัดไปคือการประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการแปรรูปสารสกัดในรูปแบบผง โดยเลือกใช้สภาวะการสกัดที่ให้ปริมาณสารลูทีนสูงที่สุดเป็นตัวตั้งต้น จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบแก้วหมุน (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่อยู่ในช่วงปลอดภัย ซึ่งสามารถป้องกันการเสื่อมสลายของสารออกฤทธิ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพในระหว่างการระเหย เพื่อปรับสภาพสารสกัดให้เหมาะสมสำหรับกระบวนการทำแห้ง ได้มีการเติมมอลโตเด็คซ์ตรินในอัตราส่วนร้อยละ 20 ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารช่วยพา (carrier agent) ช่วยป้องกันการจับตัวเป็นก้อน เพิ่มความคงตัว และลดการสูญเสียสารสำคัญระหว่างกระบวนการอบแห้ง จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการอบแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบฟลูอิดไดซ์เบด ซึ่งให้อุณหภูมิเข้า 90 องศาเซลเซียส และขาออก 60 องศาเซลเซียส สภาวะนี้มีความเหมาะสมในการลดความชื้นได้อย่างรวดเร็วโดยไม่ทำลายคุณภาพของสารสำคัญ

ตารางที่ 20 คุณสมบัติทางกายภาพของผงสารสกัดจากดอกดาวเรือง

	L*	a*	b*	ปริมาณน้ำอิสระ (a_w)	ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)
ผงสารสกัด	83.47	-6.31	48.12	0.357	4.01

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองตามตารางที่ 20 พบว่าค่าสีในระบบ CIELAB ได้แก่ ค่า L* เท่ากับ 83.47, ค่า a* เท่ากับ -6.31 และค่า b* เท่ากับ 48.12 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผงสารสกัดมีลักษณะสีเหลืองอ่อน โดยมีค่า L* ที่สูงบ่งชี้ถึงความสว่างของผลิตภัณฑ์ ส่วนค่าลบของ a* สะท้อนถึงแนวโน้มไปทางสีเขียวเล็กน้อย ขณะที่ค่า b* ที่ค่อนข้างสูงแสดงถึงความเข้มของโทนสีเหลือง ลักษณะสีดังกล่าวสามารถสะท้อนถึงองค์ประกอบของสารลูทีนที่ยังคงสภาพได้ดีหลังกระบวนการอบแห้ง นอกจากนี้ การวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) และความชื้นของผงสารสกัด พบว่าค่า a_w เท่ากับ 0.357 และปริมาณความชื้นอยู่ที่ร้อยละ 4.01 ซึ่งอยู่ภายใต้เกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ที่ระบุว่าผงสารสกัดจาก

พืชควรมีค่า a_w ต่ำกว่า 0.6 และค่าความชื้นไม่เกิน 10% เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเชื้อราและแบคทีเรีย จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากระบวนการผลิตผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองที่ใช้ในงานวิจัยนี้สามารถควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งในด้านลักษณะทางกายภาพ เช่น สี และองค์ประกอบความชื้น ซึ่งมีผลต่อความคงตัวของสารสำคัญ อายุการเก็บรักษา รวมถึงความปลอดภัยในเชิงจุลชีววิทยา จึงมีความเหมาะสมสำหรับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรือวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

ตารางที่ 21 ผลของปริมาณสารลูทีน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผงสารสกัดจากดอกดาวเรือง

	ปริมาณสารลูทีน (mg/g)	ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละ)
ผงสารสกัด	6.36 ± 0.0067	73.89 ± 0.0121

หมายเหตุ: ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการศึกษาหาปริมาณสารลูทีนของผงสารสกัดจากดอกดาวเรือง ด้วยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC) และหาปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH assay) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการกักเก็บของผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองโดยเลือกใช้มอลโตเด็คซ์ตรินในอัตราส่วนร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่า ปริมาณสารลูทีน เท่ากับ 6.36 ± 0.0067 และปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 73.89 ± 0.0121 แม้ว่ามอลโตเด็คซ์ตรินจะมีคุณสมบัติด้านความสามารถในการสร้างฟิล์มและความสามารถในการละลายน้ำที่ดี แต่ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ประสิทธิภาพในการกักเก็บสารลูทีนยังไม่สูงมากนัก เมื่อใช้เพียงชนิดเดียว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Kha et al. (2010) ที่พบว่าการใช้มอลโตเด็คซ์ตรินเพียงชนิดเดียวอาจไม่เพียงพอในการปกป้องสารออกฤทธิ์ที่มีความไวต่อสภาวะแวดล้อม เช่น ความร้อนและออกซิเดชัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม จึงควรพิจารณาการใช้ สารห่อหุ้มผสม (composite wall materials) โดยเฉพาะการใช้ มอลโตเด็คซ์ตรินร่วมกับสารอื่น เช่น Gum Arabic, เจลาติน หรือ Sodium caseinate ซึ่งมีคุณสมบัติเสริมที่สามารถช่วยเพิ่มความคงตัวของสารออกฤทธิ์และลดการสูญเสียในกระบวนการ spray drying ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น (Jiménez-González et al., 2021; Bae & Lee, 2008)

ตารางที่ 22 คุณสมบัติทางเคมีและประสิทธิภาพในการกักเก็บของผงสารสกัดจากดอกดาวเรือง

	ปริมาณสารลูทีน (mg/g)	ปริมาณสารลูทีนที่ผิวของ ไมโครแคปซูล (mg/g)	ประสิทธิภาพในการกักเก็บ (ร้อยละ)
ผงสารสกัด	6.32 ± 0.0048	0.93 ± 0.0152	85.38 ± 0.0630

หมายเหตุ: ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การศึกษาจลนพลศาสตร์และความคงตัวของผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองต่อคุณสมบัติทั่วไปทางเคมีและทางกายภาพ

นำผงสารสกัดดอกดาวเรือง ที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบฟลูอิดไดซ์เบด มาศึกษาความคงตัวโดยบรรจุในถุงฟอยล์ที่ปิดสนิท ภายใต้การรักษาอุณหภูมิที่ 4, 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส ทำการศึกษาคุณภาพของสารสกัดดอกดาวเรือง ทุก ๆ 3 วัน เป็นเวลา 30 วัน โดยทำการวิเคราะห์ค่าน้ำอิสระ และปริมาณสารลูทีนด้วยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)

1. ผลจลนพลศาสตร์และความคงตัวของผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองต่อปริมาณน้ำอิสระ (a_w)

ค่าปริมาณน้ำอิสระ (a_w) คือค่าที่แสดงการเปลี่ยนแปลงน้ำที่มีอยู่และสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หรือเกิดปฏิกิริยาเคมีได้ จากการศึกษาการเก็บรักษาผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองที่อุณหภูมิ 4, 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่าค่าปริมาณน้ำอิสระมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษาในทุกระดับอุณหภูมิ โดยเฉพาะในช่วงอุณหภูมิสูง โดยมีค่าปริมาณน้ำอิสระอยู่ระหว่างที่ 0.339-0.354, 0.340-0.362, 0.366-0.403 และ 0.373-0.415 ตามลำดับ ทั้งนี้ พบว่าในอุณหภูมิ 35 และ 45 องศาเซลเซียส ค่าปริมาณน้ำอิสระมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการเก็บรักษา และลดลงในวันหลัง ซึ่งอาจเกิดจากการสูญเสียน้ำบางส่วนจากผิวผงสารสกัด ที่ส่งผลให้ความสามารถในการกักเก็บน้ำลดลงเมื่อเก็บรักษาในอุณหภูมิสูงต่อเนื่อง สภาวะอุณหภูมิที่สูงขึ้นอาจเร่งการระเหยของน้ำอิสระจากผิวหรือช่องว่างระหว่างอนุภาคของผง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมดุลของน้ำในระบบ ส่งผลให้ค่าปริมาณน้ำอิสระผันแปรตามช่วงเวลาและเงื่อนไขการเก็บรักษา ซึ่งสอดคล้องกับสมมติฐานที่ว่าอุณหภูมิส่งผลต่อพฤติกรรมของน้ำอิสระในผลิตภัณฑ์แห้ง ดังแสดงในตารางที่ 20

ตารางที่ 23 ผลของความคงตัวของผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองต่อปริมาณน้ำอิสระ ที่อุณหภูมิ 4, 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส หลังจาก 30 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณน้ำอิสระ (a_w)			
	4 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส	35 องศาเซลเซียส	45 องศาเซลเซียส
0	0.338 ^a ± 0.000	0.338 ^a ± 0.000	0.338 ^a ± 0.000	0.338 ^a ± 0.000
3	0.339 ^a ± 0.001	0.340 ^a ± 0.001	0.375 ^a ± 0.003	0.375 ^b ± 0.001
6	0.342 ^b ± 0.000	0.347 ^b ± 0.002	0.364 ^b ± 0.004	0.380 ^c ± 0.001
9	0.344 ^c ± 0.001	0.347 ^b ± 0.001	0.365 ^b ± 0.003	0.384 ^c ± 0.002
12	0.345 ^{cd} ± 0.001	0.350 ^{bc} ± 0.001	0.381 ^b ± 0.005	0.399 ^d ± 0.002
15	0.347 ^d ± 0.001	0.351 ^{cd} ± 0.001	0.394 ^b ± 0.003	0.409 ^d ± 0.004
18	0.349 ^e ± 0.001	0.353 ^{cd} ± 0.001	0.403 ^b ± 0.002	0.415 ^e ± 0.001
21	0.352 ^f ± 0.001	0.354 ^d ± 0.001	0.379 ^c ± 0.002	0.395 ^e ± 0.001
24	0.353 ^{fg} ± 0.002	0.361 ^f ± 0.003	0.375 ^{cd} ± 0.001	0.393 ^f ± 0.002
27	0.357 ^g ± 0.003	0.362 ^f ± 0.001	0.363 ^e ± 0.001	0.369 ^g ± 0.014
30	0.354 ^h ± 0.001	0.362 ^f ± 0.000	0.366 ^f ± 0.001	0.373 ^h ± 0.003

หมายเหตุ: - ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 - ^{a-j} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

2. ผลจลนพลศาสตร์และความคงตัวของผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองต่อปริมาณสารลูทีน

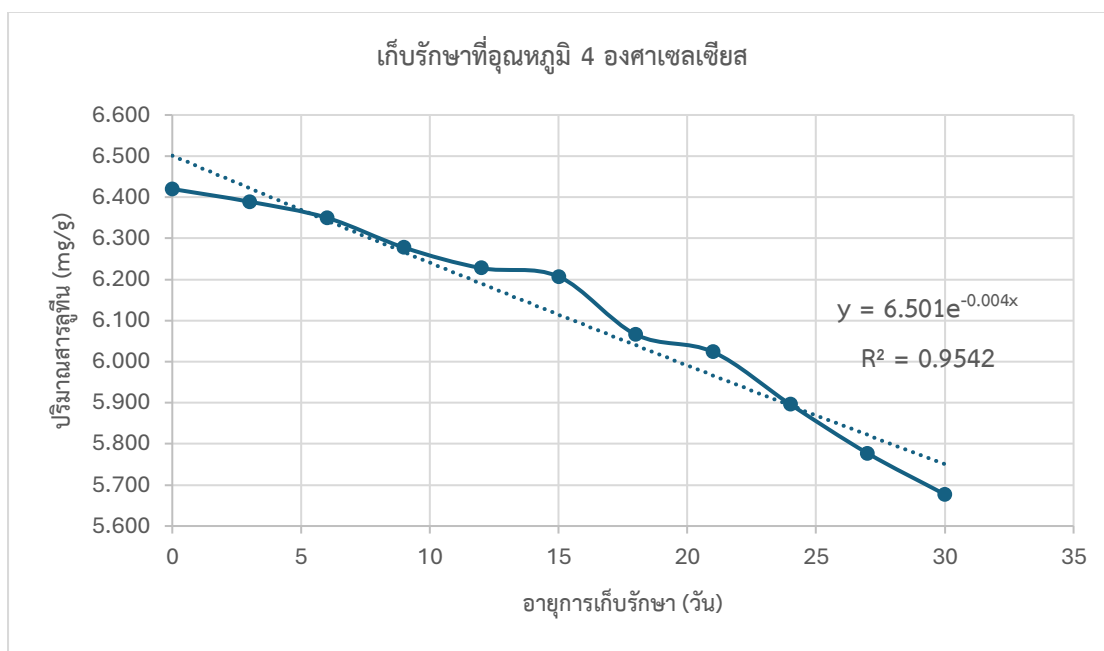
จากการศึกษาจลนพลศาสตร์และความคงตัวของผงสารสกัดจากดอกดาวเรือง พบว่า การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่งผลให้สารลูทีนมีความเสถียรสูงและเสื่อมสลายช้าลง ขณะที่การเก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ปริมาณสารลูทีนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยอัตราการสลายตัวเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนตามระดับอุณหภูมิ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Álvarez-Henao et al. (2018) และ Kha et al. (2010) ที่ระบุว่า สารลูทีนและสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์มีความไวต่อความร้อนและออกซิเดชัน ทำให้เสถียรภาพลดลงเมื่อได้รับอุณหภูมิที่สูงเกิน 35 องศาเซลเซียส ส่งผลให้การใช้งานในผลิตภัณฑ์อาหารหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจำเป็นต้องมีการควบคุมอุณหภูมิอย่างเหมาะสมเพื่อรักษาประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์

ตารางที่ 22 ผลของความคงตัวของผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองต่อปริมาณสารลูทีน ที่อุณหภูมิ 4, 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส หลังจาก 30 วัน

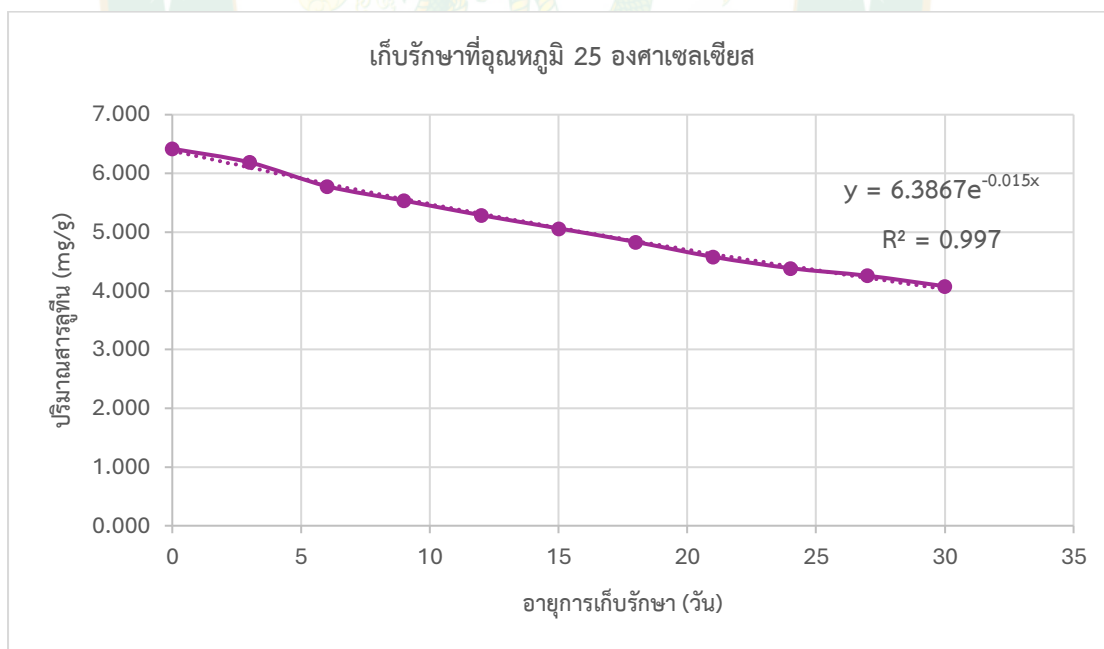
ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณสารลูทีน (mg/g)			
	4 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส	35 องศาเซลเซียส	35 องศาเซลเซียส
0	6.42 ^a ± 0.000	6.42 ^j ± 0.000	6.42 ⁱ ± 0.000	6.42 ^j ± 0.000
3	6.38 ^a ± 0.009	6.15 ⁱ ± 0.037	4.47 ^h ± 0.072	3.32 ⁱ ± 0.032
6	6.35 ^b ± 0.012	5.82 ^h ± 0.104	4.00 ^g ± 0.038	2.91 ^h ± 0.036
9	6.29 ^b ± 0.051	5.64 ^g ± 0.037	3.82 ^f ± 0.111	2.77 ^g ± 0.024
12	6.23 ^b ± 0.002	5.35 ^f ± 0.063	3.56 ^f ± 0.053	2.37 ^f ± 0.010
15	6.19 ^c ± 0.017	5.11 ^e ± 0.042	3.37 ^e ± 0.078	1.94 ^e ± 0.007
18	6.13 ^c ± 0.061	4.80 ^d ± 0.032	3.02 ^d ± 0.032	1.56 ^d ± 0.050
21	6.09 ^b ± 0.067	4.60 ^c ± 0.021	2.80 ^d ± 0.023	1.28 ^c ± 0.013
24	5.91 ^b ± 0.012	4.43 ^b ± 0.042	2.50 ^c ± 0.012	1.22 ^c ± 0.055
27	5.80 ^a ± 0.023	4.30 ^b ± 0.043	2.02 ^b ± 0.167	0.84 ^b ± 0.058
30	5.70 ^a ± 0.025	4.10 ^a ± 0.021	1.95 ^a ± 0.048	0.35 ^a ± 0.031

หมายเหตุ: - ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 - ^{a-j} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

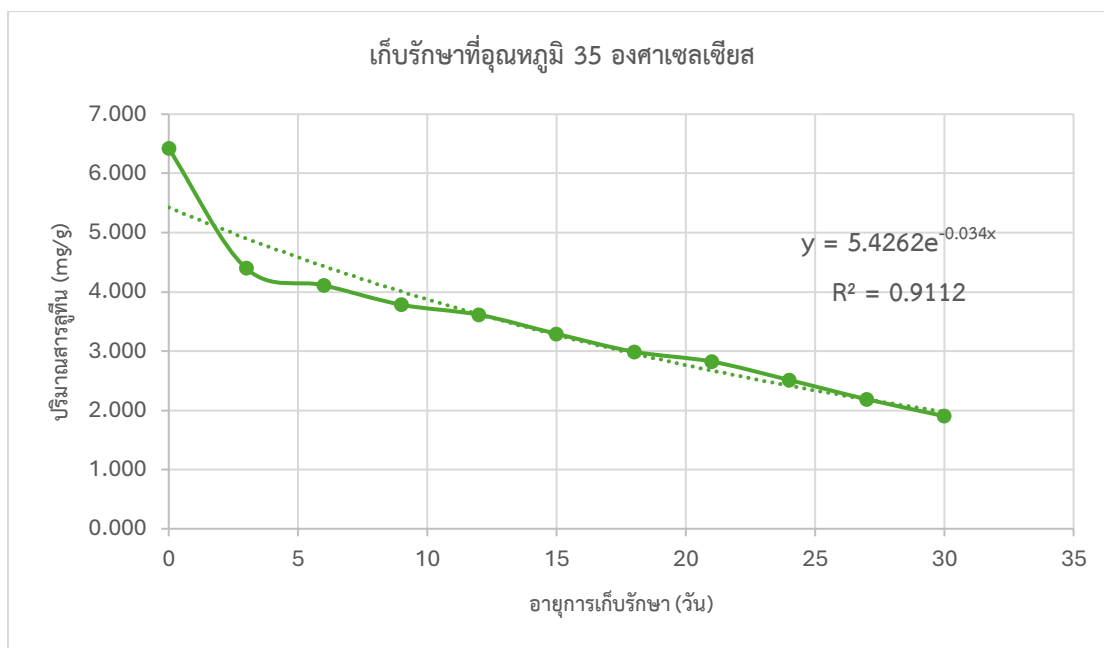
จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารลูทีนกับระยะเวลาในการเก็บรักษา โดยการนำข้อมูลมาสร้างกราฟเพื่อหาลักษณะของปฏิกิริยา พบว่าเมื่อเลือกใช้แบบจำลองปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (First-order kinetics) ซึ่งเป็นแบบจำลองที่ได้รับความนิยมในการศึกษาการเสื่อมของสารสำคัญในผลิตภัณฑ์อาหาร พบว่าแบบจำลองดังกล่าวสามารถอธิบายการสลายตัวของสารลูทีนได้อย่างเหมาะสมโดยการสร้างกราฟระหว่างค่าของ $(-\ln(C_a/C_{a0}))$ กับเวลา (เมื่อ C_a คือ ปริมาณสารลูทีน ณ เวลาใดๆ และ C_{a0} คือปริมาณสารลูทีน ณ เวลาเริ่มต้น) พบว่ากราฟมีลักษณะเป็นเส้นตรง และมีค่าความสอดคล้องเชิงเส้น (R^2) สูงในทุกอุณหภูมิที่ศึกษา แสดงให้เห็นว่าสารลูทีนมีพฤติกรรมการสลายตัวตามปฏิกิริยาอันดับหนึ่งได้อย่างชัดเจน ผลการวิเคราะห์นี้สะท้อนถึงความเหมาะสมในการเลือกใช้ kinetic model ดังกล่าวสำหรับการพยากรณ์อายุการเก็บรักษาของผงสารสกัดที่มีสารลูทีนเป็นสารออกฤทธิ์หลัก โดยเฉพาะเมื่อจำเป็นต้องประเมินเสถียรภาพของสารในสภาวะต่าง ๆ เพื่อการออกแบบระบบบรรจุภัณฑ์หรือควบคุมอุณหภูมิในการจัดเก็บผลิตภัณฑ์ในระดับอุตสาหกรรม



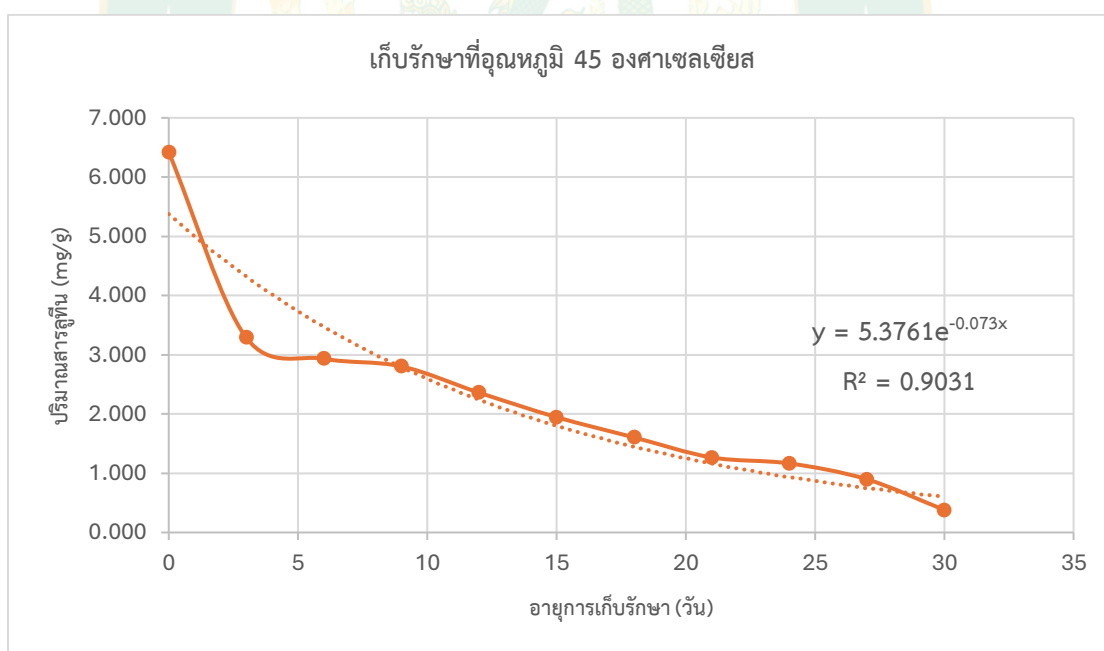
ภาพที่ 32 แสดงปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เมื่อเก็บรักษาผงสารสกัดดอกดาวเรือง
ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 33 แสดงปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เมื่อเก็บรักษาผงสารสกัดดอกดาวเรือง
ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 34 แสดงปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เมื่อเก็บรักษาผงสารสกัดดอกดาวเรือง
ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 35 แสดงปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เมื่อเก็บรักษาผงสารสกัดดอกดาวเรือง
ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

3. ผลของอิทธิพลจลนพลศาสตร์ของผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองที่อุณหภูมิ 4, 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 24 ผลของอิทธิพลจลนพลศาสตร์ของผงสารสกัดจากดอกดาวเรืองที่อุณหภูมิ 4, 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส หลังจาก 30 วัน

Storage condition	Order	R ²	Rate constant (k)	Half-life t _{1/2} (วัน)	Pigment Retention (%)
4 องศาเซลเซียส	1	0.9542	0.004 (วัน ⁻¹)	173.3	88.423
25 องศาเซลเซียส	1	0.9970	0.015 (วัน ⁻¹)	46.2	63.528
35 องศาเซลเซียส	1	0.9112	0.034 (วัน ⁻¹)	20.4	29.626
45 องศาเซลเซียส	1	0.9031	0.073 (วัน ⁻¹)	9.5	5.935

หมายเหตุ: - ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- ^{a-f} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

จาก ตารางที่ 24 พบว่า ผงสารสกัดจากดอกดาวเรือง ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4, 25, 35 และ 45 °C มีค่าครึ่งชีวิต (Half-life; t_{1/2}) เท่ากับ 173.3, 46.2, 20.4 และ 9.5 วัน ตามลำดับ แสดงให้เห็นชัดเจนว่า อัตราการสลายตัวของสารลูทีนมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา กล่าวคือ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ความคงตัวของสารลูทีนจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ สารลูทีนจัดเป็นสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีความไวต่อความร้อน แสง และออกซิเจน โดยเฉพาะในอุณหภูมิที่เกิน 35 °C จะเกิดการเร่งการสลายตัวผ่านกลไกออกซิเดชัน ทำให้โครงสร้างของสารสูญเสียประสิทธิภาพในการทำงานทางชีวภาพ ซึ่งเป็นไปตามลักษณะของ first-order degradation kinetics ที่พบในการศึกษานี้ นอกจากนี้ เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Pal & Bhattacharjee (2018) ที่ศึกษาความคงตัวของสารลูทีนในระบบห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ พบว่า การเก็บในอุณหภูมิต่ำสามารถชะลออัตราการสลายตัวได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะในระบบที่ใช้ผนังห่อหุ้มชนิดมีคุณสมบัติต้านออกซิเดชัน นอกจากนี้ งานวิจัยของ Goula & Adamopoulos (2005) ยังพบว่า ในระบบที่สัมผัสออกซิเจนหรือแสงอย่างต่อเนื่อง สารลูทีนอาจเกิดการเสื่อมอย่างรวดเร็วแม้ที่อุณหภูมิไม่สูงมากนัก แสดงให้เห็นว่าแม้อุณหภูมิจะเป็นปัจจัยหลักในการเร่งการสลายตัว แต่ปัจจัยร่วมอื่น เช่น ความชื้นสัมพัทธ์และแสง ก็มีบทบาทสำคัญต่อความคงตัวของสารลูทีนเช่นกัน ผลการศึกษาโดย กิริตินาฏ พูลเกษตร และคณะ (2010) ซึ่งประเมินอายุการเก็บรักษาของสารป้องกันการเกาะติดภายใต้

สภาวะเร่ง ยังสนับสนุนแนวโน้มดังกล่าว โดยพบว่า อุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลทำให้อายุการเก็บลดลง อันเป็นผลจากการเร่งปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพของสารสำคัญ จากข้อมูลข้างต้น จึงสามารถสรุปได้ว่า การควบคุมอุณหภูมิในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่มีสารลูทีนเป็นองค์ประกอบหลัก เป็นปัจจัยสำคัญต่อความคงตัวและอายุการใช้งานของผลิตภัณฑ์ในระดับอุตสาหกรรม



บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรืองโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิก โดยพิจารณาปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการสกัด หลังจากการสกัด สารสกัดจากดอกดาวเรืองจะถูกนำไปผ่านกระบวนการห่อหุ้มด้วยเทคโนโลยีการเอนแคปซูเลชัน จากนั้นทำการศึกษาความคงตัวของผงสารสกัดโดยเก็บรักษาภายใต้สภาวะที่แตกต่างกันเพื่อประเมินอายุการเก็บรักษา โดยใช้ปริมาณสารสารลูทีนและปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นตัวชี้วัดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ สามารถสรุปผลการวิจัยดังนี้

1. จากผลการทดลองเพื่อสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง พบว่าเงื่อนไขที่ให้ผลการสกัดสูงสุด ได้แก่ การใช้แอมพลิฟิเคชันที่ร้อยละ 42% ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด 16 นาที และความเข้มข้นของเอทานอลที่ร้อยละ 80 ภายใต้สภาวะดังกล่าวสามารถสกัดสารลูทีนได้สูงสุดถึง 7.06 มิลลิกรัมต่อกรัม และให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่ 79.82% ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดและความเข้มข้นของตัวทำละลายเป็นปัจจัยหลักที่มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณของสารออกฤทธิ์ที่ได้ โดยเฉพาะเมื่อใช้ร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิก ซึ่งมีบทบาทในการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด ทำให้สามารถดึงสารสำคัญออกมาได้มากขึ้นภายในระยะเวลาที่สั้นลง ความสามารถในการเร่งกระบวนการสกัดและเพิ่มปริมาณสารที่ได้แสดงให้เห็นถึงความเหมาะสมของเทคโนโลยีนี้สำหรับการพัฒนากระบวนการผลิตที่มีประสิทธิภาพสูง และสามารถประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรือการสกัดสารออกฤทธิ์จากแหล่งธรรมชาติได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2. หลังจากการสกัดเมื่อนำไปผ่านกระบวนการห่อหุ้มด้วยเทคโนโลยีการห่อหุ้ม จนได้ผงสารสกัด และทำการศึกษาจลนพลศาสตร์และความคงตัวของผลิตภัณฑ์ภายใต้สภาวะอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน โดยทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4, 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลาต่าง ๆ เพื่อประเมินผลกระทบต่อคุณสมบัติของผงสารสกัด จากผลการทดลองพบว่า อุณหภูมิการเก็บรักษามีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ต่อคุณสมบัติหลักของผงสารสกัด ได้แก่ ค่าน้ำอิสระ (a_w) และปริมาณสารลูทีน โดยมีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 173.3, 46.2, 20.4 และ 9.5 วันตามลำดับ ซึ่งส่งผลต่อความคงตัวและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายใต้อุณหภูมิที่สูงขึ้นสะท้อนถึงอัตราการเสื่อมสภาพของสารสำคัญที่เพิ่มขึ้น

3. จากผลงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการเพิ่มมูลค่าให้กับดอกดาวเรือง โดยสามารถนำมาพัฒนาและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบผงสารสกัด ซึ่งมีความเหมาะสมต่อการนำไปต่อยอด

เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ อันเนื่องมาจากคุณสมบัติทางชีวภาพที่สำคัญของสารออกฤทธิ์ในดอกดาวเรือง โดยเฉพาะสารลูทีน ซึ่งมีบทบาทในการป้องกันและลดความเสี่ยงของโรคจอประสาทตาเสื่อม รวมถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยลดความเสียหายของเซลล์จากอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ ผลลัพธ์จากงานวิจัยนี้จึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ได้อย่างชัดเจน โดยมีศักยภาพในการขยายกระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรม ช่วยสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับวัตถุดิบทางการเกษตรอย่างดอกดาวเรือง และส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรไทยในเชิงสุขภาพและเศรษฐกิจได้อย่างยั่งยืน

ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองพบว่าการวิเคราะห์สารลูทีนมีความไวต่อแสงและอากาศสูง จึงจำเป็นต้องดำเนินการวัดผลอย่างตรงเวลาและภายใต้สภาวะที่ควบคุมได้อย่างระมัดระวัง เพื่อหลีกเลี่ยงการเสื่อมสภาพของสารก่อนการวิเคราะห์ นอกจากนี้ยังพบข้อจำกัดทางเทคนิคจากเครื่องสกัดคลื่นอัลตราโซนิกที่ไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิระหว่างกระบวนการสกัดได้ ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อความคงตัวของสารสำคัญ และความแปรปรวนของวัตถุดิบ ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อความแม่นยำของผลการทดลอง ดังนั้นควรควบคุมแหล่งที่มาของดอกดาวเรืองให้เป็นแหล่งเดียวกันในแต่ละชุดการทดลอง เพื่อลดความคลาดเคลื่อนของปริมาณสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ทั้งนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความถูกต้องเชิงวิทยาศาสตร์ และสามารถนำไปใช้สนับสนุนการประเมินผลและการพัฒนากระบวนการในระดับอุตสาหกรรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ



วิธีดำเนินงานวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่าง



(32a)



(32b)



(32c)



(32d)



(32e)



(32f)

ภาพที่ 36 การเตรียมตัวอย่าง (32a) ดอกดาวเรือง, (32b) กลีบดอกดาวเรือง, (32c) อบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง, (32d) กลีบดอกดาวเรืองที่ผ่านการอบแห้งแล้ว, (32e) นำไปบด และ (32f) กลีบดอกดาวเรืองแห้งบดละเอียด

2. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง ด้วยคลื่นอัลตราโซนิก



(33a)



(33b)

ภาพที่ 37 เครื่องอัลตราโซนิกแบบโพรบ (Sonics, VCX750A, U.S.A) (33a) และการสกัดสารลูทีน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก (33b)

3. การวิเคราะห์หาปริมาณสารลูทีนด้วยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)



(34a)



(34b)

ภาพที่ 38 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (34a) และการวิเคราะห์หาปริมาณสารลูทีน (34b)

4. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH assay)



ภาพที่ 39 เครื่องวัดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Labiomed, Spectro SC series 002416)

5. การห่อหุ้มสารสกัดจากดอกดาวเรืองโดยใช้เทคนิคเอนแคปซูเลชัน



ภาพที่ 40 ผงสารสกัดจากดอกดาวเรือง

6. ศึกษาความคงตัวของเอนแคปซูลสารสกัดดอกดาวเรืองในระหว่างการเก็บรักษา



ภาพที่ 41 การศึกษาความคงตัวของผงสารสกัดดอกดาวเรือง
ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ

7. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ



(38a)



(38b)

ภาพที่ 42 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ (AquaLab, Series 3TE, U.S.A) (38a)
และการวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ (38b)

8. การวิเคราะห์ปริมาณค่าความชื้น



(39a)



(39b)

ภาพที่ 43 เครื่องวัดปริมาณความชื้น (AND MX-50, Japan) (39a)
และการวิเคราะห์ปริมาณค่าความชื้น (39b)



The 29th Tri-U International Joint Seminar and Symposium
Maejo University, Thailand, 21st - 24th, 2023

Paper Title

Innovation technology for encapsulation of bioactive compounds from marigold extract.

**Nipathon Wilailak, Sarunthorn Jaikaew, Nukrob Narkprasom,
Phanat Saengcharoenratt, Kanjana Narkprasom***

Faculty of Engineering and Argo-Industry, Maejo University, Chiang Mai, Thailand

**E-mail: aoikanjana63@gmail.com*

Abstract: The aim of this research was to study the optimal conditions for encapsulation efficiency of phenolic compounds and antioxidant activity effects of marigold (*Tagetes erecta L*) beads by encapsulation technique. The optimal condition for encapsulation efficiency of phenolic compounds and antioxidant activity effects from marigold bead using response surface method. The variables were used to study the optimal conditions of ratio of sodium alginate content to marigold extract, encapsulation frequency, and concentration of calcium chloride. The results showed that all three factors impacted encapsulation efficiency of phenolic compounds and antioxidant activity. Statistical analyses indicated that the experimental data were best fitted to a quadratic polynomial equation with high decision coefficient (R^2) at 0.9174 and 0.9121 for total encapsulation efficiency of phenolic compounds and antioxidant activity, respectively. The optimum conditions were at 1.5% ratio of sodium alginate to marigold extract (w/v%) at 1400 Hz of encapsulation frequency and at 5% of calcium chloride solution concentration (w/v%) resulting in the highest encapsulation efficiency of phenolic compounds and antioxidant activity effects of marigold beads were $49.72 \pm 0.511\%$ and $64.698 \pm 0.375\%$, respectively.

Keywords: *Tagetes erecta L*, Encapsulation, Response surface method, Phenolic compounds, Antioxidant activity

เข้าร่วมงานประชุมวิชาการนานาชาติ The 29th Tri U International Joint Seminar and Symposium ในหัวข้อเรื่อง Innovation Technology for Encapsulation of Bioactive Compounds from Marigold Extract ณ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เมื่อวันที่ 21 ธันวาคม พ.ศ. 2566



ได้รับรางวัลรองชนะเลิศอันดับที่ 2 จากโครงการพัฒนาระบบนิเวศเพื่อสร้างผู้ประกอบการรุ่นใหม่ ปีที่ 2 (Startup Gate Season 2) ซึ่งจัดโดยอุทยานวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ โดยเน้นการเชื่อมโยงงานวิจัยไปสู่การใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์



ได้รับคัดเลือกเป็น 1 ใน 100 ทีม จากกว่า 48 มหาวิทยาลัยทั่วประเทศ ได้เข้าร่วมนำเสนอผลงานในรอบ Demo Day ระดับประเทศ ภายใต้โครงการ Startup Thailand League 2022



ได้รับคัดเลือกโดยโครงการ FOREFOOD ภายใต้การดำเนินงานของ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) และ สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ (องค์การมหาชน) ให้เข้าร่วม แพลตฟอร์มเร่งรัดการเติบโตของธุรกิจนวัตกรรมอาหาร (Food Innovation Accelerator Platform) ซึ่งมุ่งเน้นการต่อยอดผลงานวิจัยด้านอาหารด้วยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเชิงลึก (Deep Tech) สู่การพัฒนาเชิงพาณิชย์



ได้รับทุนสนับสนุนจากโปรแกรม Proof of Concept (POC) ภายใต้ โครงการยูวิสาหกิจเริ่มต้น (TED Youth Startup) โดย กองทุนพัฒนาผู้ประกอบการเทคโนโลยีและนวัตกรรม (TED Fund) เพื่อส่งเสริมการพัฒนาต้นแบบนวัตกรรมและต่อยอดเชิงพาณิชย์จากผลงานวิจัยของนิสิต นักศึกษา และนักวิจัยรุ่นใหม่



ได้รับการคัดเลือกจาก Hong Kong Science and Technology Parks Corporation (HKSTP) เข้าร่วม HK Sandbox Program Cohort 2 เปิดโอกาสให้ได้สำรวจตลาดฮ่องกง และสนับสนุนด้านธุรการและการดำเนินงาน เพื่ออำนวยความสะดวกในการจัดตั้งบริษัท ณ ประเทศฮ่องกง เมื่อวันที่ 20-25 ตุลาคม 2567



แบบ สป/สผ/อสป/001-ก
หน้า 1 ของจำนวน 2 หน้า

 คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ☐ การประดิษฐ์ ☐ การออกแบบผลิตภัณฑ์ ☒ อนุสิทธิบัตร ข้าพเจ้าผู้ลงลายมือชื่อในคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ตามพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2535 และ พระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2542	สำหรับเจ้าหน้าที่	
	วันรับคำขอ	เลขที่คำขอ
	3/09/2567	
	วันยื่นคำขอ	
	สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	
	ใช้กับแบบผลิตภัณฑ์ประเภทผลิตภัณฑ์	
วันประกาศโฆษณา	เลขที่ประกาศโฆษณา	
วันออกสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	เลขที่สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	
ลายมือชื่อเจ้าหน้าที่		
1. ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์ กระบวนการผลิตผสมสารสกัดจากดอกดาวเรืองอินทรีย์โดยใช้การทำแห้งแบบพ่นฝอยฟลูอิดไรเซชัน		

แบบ สป/สผ/อสป/001-ก
หน้า 1 ของจำนวน 2 หน้า

 คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ☐ การประดิษฐ์ ☐ การออกแบบผลิตภัณฑ์ ☒ อนุสิทธิบัตร ข้าพเจ้าผู้ลงลายมือชื่อในคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ตามพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2535 และ พระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2542	สำหรับเจ้าหน้าที่	
	วันรับคำขอ	เลขที่คำขอ
	วันยื่นคำขอ	2403000017
	4 มกราคม 2567	
	สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	
	ใช้กับแบบผลิตภัณฑ์ประเภทผลิตภัณฑ์	
วันประกาศโฆษณา	เลขที่ประกาศโฆษณา	
วันออกสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	เลขที่สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	
ลายมือชื่อเจ้าหน้าที่		
1. ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์ กระบวนการผลิตผสมสารสกัดดอกดาวเรืองโดยใช้เทคโนโลยีเอนแคปซูเลชัน		

ได้มีการยื่นคำขอจดอนุสิทธิบัตรร่วมกับมหาวิทยาลัยแม่โจ้ เพื่อคุ้มครองกระบวนการและเทคโนโลยีที่พัฒนา จำนวน 2 ฉบับ





Burapha Science Journal
 Faculty of Science, Burapha University
 Tambon Saensuk, Amphoe Muang
 Chonburi 20131 Thailand
 Tel : +66 3810 3034

Buu.Sci.J. (2025) – 066

July 7, 2025

Dear Nipathon Wilailak, Nukrob Narkprasom, Yardfon Tanongkankit, Mookarin Nookong,
 Chawakorn Sri-ngernyuang and Kanjana Narkprasom

After reviewing processes, it is my great pleasure to inform you that the manuscript ID714 entitled "Optimization for Lutein Extract and Antioxidant Activity from Marigold Flowers (*Tagetes erecta* L.) Using Ultrasonic Assisted Extraction" has been accepted by the editorial board to publish in Burapha Science Journal. The manuscript will appear as a research article in the journal volume 30 (No.2) May – August 2025 (pp.597-613), <https://i105.tci-thaijo.org/index.php/buuscij/issue/view/35>. On behalf of the editorial board, I would like to express our gratitude for submitting your manuscript to the Burapha Science Journal. We hope you will continue to consider the Burapha Science Journal for any future scientific publications.

Sincerely yours,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Sutin Kingtong', followed by a period.

Associate Professor Dr. Sutin Kingtong
 Chief Editor
 Burapha Science Journal

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองโดยใช้อัลตราโซนิก

Optimization for Lutein Extract and Antioxidant Activity from Marigold Flowers (*Tagetes erecta* L.) Using Ultrasonic Assisted Extraction

นิภาธร วิลัยลักษณ์, นักรบ นาคประสม, หยาดฝน ทนงการกิจ, มุกกรีน นูกอง,
ชวกร ศรีเงินยวง และ กาญจนา นาคประสม*

Nipathon Wilailak, Nukrob Narkprasom, Yardfon Tanongkankit, Mookarin Nookong,
Chawakorn Sri-ngemyuang and Kanjana Narkprasom*

สาขาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประเทศไทย

Graduate Program in Food Engineering, Faculty of Engineering and Agro-Industry, Maejo University, Thailand

Received : 9 April 2025, Received in revised form : 12 June 2025, Accepted : 14 June 2025

Available online : 7 July 2025

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์และที่มา : ดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) เป็นพืชไม้ดอกเศรษฐกิจที่สามารถเพาะปลูกได้ตลอดทั้งปี และเป็นแหล่งสำคัญของสารลูทีน ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีบทบาทในการลดความเสี่ยงของโรคจอประสาทตาเสื่อม และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยปกป้องเซลล์จากความเสียหายที่อาจนำไปสู่โรคเรื้อรัง อย่างไรก็ตาม ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์ลูทีนได้ จึงจำเป็นต้องได้รับจากการบริโภคอาหาร จากการศึกษาพบว่าสารสกัดลูทีนโดยทั่วไปถูกสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน และอะซิโตน ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคนิคการสกัดสารลูทีนและสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง โดยใช้กระบวนการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก (Ultrasonic-assisted extraction: UAE) ร่วมกับเอทานอล ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ปลอดภัยและไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม โดยมุ่งเน้นศึกษาผลของตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัด ได้แก่ แอมพลิจูด, เวลาในการสกัด และความเข้มข้นของตัวทำละลาย เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดและคงคุณสมบัติของสารสำคัญให้ได้สูงสุด

วิธีดำเนินการวิจัย : ดอกดาวเรืองถูกล้างด้วยน้ำที่ผ่านกระบวนการรีเวิร์สออสโมซิส (RO) จำนวน 3 ครั้ง เพื่อลดสิ่งสกปรกและการปนเปื้อน จากนั้นผึ่งแห้งในที่ร่มจนระดับความชื้นลดลงในเบื้องต้น ก่อนแยกกลีบดอกออกจากช่อดอก และนำไปอบแห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -40 °C ที่ความดันไม่เกิน 10 Pa จนกระทั่งมีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 10 หลังจากนั้น นำกลีบดอกดาวเรืองที่อบแห้งแล้วมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดแห้งจนเกล็ดละเอียดที่ความถี่รอบ 25,000 รอบต่อวินาที ผงดอกดาวเรืองที่ได้จะถูกนำไปผสมกับตัวทำละลายเอทานอล และทำการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกเพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง ในการศึกษาใช้การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken Design: BBD) โดยศึกษาปัจจัยทั้งหมด 3 ปัจจัย ได้แก่ แอมพลิจูด (ร้อยละ 20, 40 และ 60), เวลาในการสกัด (5, 15 และ 25 นาที) และความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอล (ร้อยละ 40, 60 และ 80) จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณ

สารลูทีนด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) และวิเคราะห์ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ผลการทดลองถูกนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เพื่อศึกษาผลของปัจจัยต่าง ๆ และความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่มีต่อประสิทธิภาพในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ผลการวิจัย : จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิค พบว่า ความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอล และเวลาในการสกัด เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากเอทานอลมีสมบัติเป็นตัวทำละลายกึ่งมีขั้ว จึงสามารถสกัดสารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชได้ทั้งสารที่มีขั้วและไม่ขั้ว โดยเฉพาะสารในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีพบร่วมกับลูทีนในดอกดาวเรือง และมีบทบาทร่วมในการต้านอนุมูลอิสระ สำหรับเวลาในการสกัด พบว่าการเพิ่มระยะเวลาในระดับที่เหมาะสมสามารถส่งเสริมการแพร่และถ่ายเทมวลของสารออกฤทธิ์จากเนื้อเยื่อพืชเข้าสู่ตัวทำละลายได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตาม หากเวลาในการสกัดยาวนานเกินไป อุณหภูมิภายในระบบจะเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดการสลายตัวของสารลูทีนเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและแสง และในส่วนของแอมพลิจูด พบว่าการเพิ่มแอมพลิจูดมีแนวโน้มช่วยเพิ่มปริมาณสารลูทีนที่สกัดได้ โดยผ่านกลไกของฟองอากาศที่เกิดจากคลื่นอัลตราโซนิค ซึ่งจะยุบตัวอย่างรวดเร็ว ทำให้โครงสร้างผนังเซลล์พืชแตกตัวและสารสำคัญสามารถแพร่ออกมาได้มากขึ้น หากแอมพลิจูดสูงเกินไปอาจก่อให้เกิดความดันและอุณหภูมิสะสมในระบบ ส่งผลให้สารสำคัญสลายตัว และแม้ว่าค่าดังกล่าวจะส่งผลต่อปริมาณลูทีนที่สกัดได้ แต่กลับไม่แสดงนัยสำคัญทางสถิติเมื่อพิจารณาร่วมกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

สรุปผลการวิจัย : ดอกดาวเรืองมีองค์ประกอบของสารลูทีนและสารต้านอนุมูลอิสระในระดับสูง ซึ่งสามารถสกัดได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมโดยวิธีวิเคราะห์ที่ครอบคลุมของ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ แอมพลิจูดร้อยละ 42 เวลาในการสกัด 16 นาที และความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 80 ภายใต้สภาวะนี้สามารถสกัดลูทีนได้สูงสุด 7.06 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดร้อยละ 79.82 ผลการวิเคราะห์ ANOVA แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองที่สร้างขึ้นมีความแม่นยำและเชื่อถือได้ในการทำนาย โดยมีค่า R^2 ของปริมาณสารลูทีน (Y_1) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Y_2) เท่ากับ 0.9691 และ 0.9943 ตามลำดับ และมีค่า Significance F ต่ำกว่า 0.001 แสดงถึงความเหมาะสมของแบบจำลองในการใช้งานเพื่อการทำนายผลการสกัดอย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ : ดอกดาวเรือง ; สารลูทีน ; ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ; การหาสภาวะที่เหมาะสม ; การสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิค

Abstract

Background and Objectives : Marigold (*Tagetes erecta* L.) is an economically valuable flowering plant that can be cultivated year-round. It is recognized as a rich natural source of lutein, a carotenoid compound that plays a significant role in reducing the risk of age-related macular degeneration. Moreover, lutein exhibits antioxidant properties that help protect cells from oxidative damage, potentially reducing the risk of chronic diseases. However, since the human body cannot synthesize lutein, it must be obtained through dietary intake. Conventional methods of lutein extraction typically rely on organic solvents such as hexane and acetone. Although effective, these solvents

are hazardous to both human health and the environment. Therefore, this study aims to develop a safer and more sustainable method for extracting lutein and antioxidant compounds from marigold petals. The proposed method utilizes ultrasound-assisted extraction (UAE) combined with ethanol, a food-grade solvent known for its environmental friendliness and low toxicity. The research specifically focuses on identifying optimal extraction conditions by evaluating three critical parameters: ultrasonic amplitude, extraction time, and ethanol concentration. The goal is to maximize extraction efficiency while preserving the bioactive properties of the target compounds.

Methodology : Fresh marigold flowers were first washed three times with reverse osmosis (RO) water to remove impurities and potential contaminants. The flowers were then air-dried in the shade to reduce initial moisture levels. Once adequately dried, the petals were separated from the calyx and subjected to freeze-drying at -40°C under vacuum pressure not exceeding 10 Pa until the moisture content dropped below 10%. The dried marigold petals were ground into a fine powder using a high-speed multifunctional dry grinder operating at 25,000 rpm. The powder was then mixed with ethanol in varying concentrations and subjected to ultrasound-assisted extraction using a specialized ultrasonic device. The experimental design was based on the Box-Behnken Design (BBD), a response surface methodology that allows for the assessment of multiple variables and their interactions. The study investigated three independent variables: ultrasonic amplitude (20%, 40%, and 60%), extraction time (5, 15, and 25 minutes), and ethanol concentration (40%, 60%, and 80%). The extracted samples were analyzed for lutein content using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) and for antioxidant activity using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging assay. Data from the experiments were subjected to Analysis of Variance (ANOVA) using the SPSS software to identify statistically significant factors and interactions affecting the extraction efficiency.

Main Results : The study revealed that both ethanol concentration and extraction time significantly influenced the efficiency of lutein and antioxidant extraction. Ethanol, being a semi-polar solvent, has the ability to solubilize both polar and non-polar bioactive compounds. This characteristic enables it to co-extract phenolic compounds and flavonoids, which are known to be present alongside lutein in marigold petals. These compounds collectively contribute to the overall antioxidant capacity of the extract. Increasing the extraction time up to an optimal level facilitated better mass transfer and diffusion of bioactive compounds from plant tissues into the solvent. However, prolonged extraction times beyond the optimal range led to increased internal system temperatures, which may promote oxidative degradation, especially in heat-sensitive compounds like lutein. This degradation ultimately results in lower yields. Regarding ultrasonic amplitude, the study found that higher amplitudes generally enhanced the release of lutein from plant tissues. This is attributed to the cavitation effect generated by ultrasonic waves, where microbubbles collapse violently, causing the rupture of plant cell walls and facilitating the release of

intracellular compounds. Nevertheless, excessive amplitude may lead to elevated pressures and temperatures within the extraction medium, which could again result in the degradation of sensitive compounds. Interestingly, while amplitude had a noticeable effect on lutein yield, it did not significantly influence the antioxidant activity of the extracts. This could be due to the insufficient intensity of the ultrasonic treatment to disrupt cellular structures enough to release additional antioxidant compounds beyond those already extracted by ethanol.

Conclusions : Marigold flowers are a valuable botanical source of lutein and antioxidant compounds, both of which can be effectively extracted using ultrasound-assisted extraction techniques. Based on response surface methodology analysis, the optimal extraction conditions were determined to be 42% amplitude, 16 minutes of extraction time, and 80% ethanol concentration. Under these optimized conditions, the maximum lutein yield was 7.06 mg per gram of sample, and the highest antioxidant activity observed was 79.82%. The ANOVA results demonstrated a high degree of model fit and prediction reliability, with R^2 values of 0.9691 for lutein content (Y_1) and 0.9943 for antioxidant activity (Y_2). Furthermore, the Significance F values were found to be less than 0.001, indicating the statistical significance and robustness of the predictive models developed through the Box-Behnken Design. This study underscores the potential of ultrasound-assisted extraction using ethanol as a green, efficient, and scalable technique for extracting valuable bioactive compounds from marigold flowers. Not only does it offer a safer alternative to traditional organic solvents, but it also supports sustainability goals by minimizing environmental impact and reducing extraction time and energy consumption.

Keywords : marigold, lutein, antioxidant activity, optimization, ultrasonic extraction

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

Introduction

ดอกดาวเรือง (ชื่อสามัญ: Marigold; ชื่อวิทยาศาสตร์: *Tagetes erecta* L.) พันธุ์ไม้พื้นเมืองของประเทศเม็กซิโกและประเทศแถบทวีปอเมริกาใต้ จัดเป็นไม้ล้มลุก ที่นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายทั่วประเทศไทย เนื่องจากแข็งแรง ปลูกง่าย และสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี ดอกดาวเรืองสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่น ๆ เช่น การสกัดเพื่อทำสีธรรมชาติสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอและอาหาร หรือใช้กลีบดอกแห้งผสมในอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มสีของไข่แดงและเนื้อไก่ นอกจากนี้ยังสามารถนำกลีบดอกดาวเรืองมาสกัดสารสำคัญที่ใช้ในการผลิตอาหารเสริมเพื่อสุขภาพ เนื่องจากมีลูทีน (Lutein) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) เป็นองค์ประกอบสูงถึงร้อยละ 90 (Kurniawan *et al.*, 2019)

ลูทีน (Lutein) เป็นสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoids) ที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูง ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคเบาหวาน และโรคเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญในการชะลอความเสื่อมของจอประสาทตา โดยเฉพาะในผู้สูงอายุ (Age-related Macular Degeneration:

AMD) (Nguyen *et al.*, 2023) ในร่างกายมนุษย์ อุทินพบได้ในปริมาณสูงบริเวณเลนส์ตาและจุดรับภาพของจอประสาทตา หรือบริเวณมาคูลา (Macula) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของเรตินา (Retina) โดยทำหน้าที่สำคัญในการกรองแสงสีฟ้าที่มีพลังงานสูงไม่ให้ทะลุเข้าสู่จอประสาทตา ซึ่งอาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์รับแสงได้ อย่างไรก็ตาม ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์สารลูทีนได้เอง จำเป็นต้องได้รับจากอาหารหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเท่านั้น แม้ลูทีนจะมีประโยชน์ทางสุขภาพหลากหลายประการ แต่อย่างไรก็ตาม ลูทีนมีข้อจำกัดด้านคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น การละลายน้ำได้ไม่ดี และมีความไวต่อปัจจัยแวดล้อม ส่งผลต่อความคงตัวในระหว่างกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษา จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาวิธีการสกัดที่เหมาะสมจากแหล่งธรรมชาติที่อุดมไปด้วยสารลูทีน เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้อย่างเหมาะสม

ในปัจจุบัน ประเด็นด้านสิ่งแวดล้อมได้รับความสนใจอย่างแพร่หลาย ทั้งในระดับบุคคลและระดับสังคม โดยมีการส่งเสริมและรณรงค์ให้เกิดการตระหนักรู้และมีส่วนร่วมในการอนุรักษ์และปกป้องสิ่งแวดล้อมของโลกมากยิ่งขึ้น เช่น การประหยัดพลังงาน การลดปริมาณของเสีย (Waste minimization) การใช้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental friendly products) เป็นต้น ดังนั้นการผลิตสินค้าในเชิงพาณิชย์ (Commercialization) ต้องคำนึงถึงปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมเป็นสำคัญ จากการศึกษาพบว่าสารสกัดสารลูทีนโดยทั่วไปถูกสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลเอทิล และอะซิโตน ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อม การสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิค (Ultrasound-assisted extraction: UAE) โดยมีตัวทำละลายเป็นเอทานอล ซึ่งเป็นเทคนิคที่ไม่ใช้ความร้อน สามารถควบคุมตัวแปรต่าง ๆ ได้ เช่น เวลา อุณหภูมิ คลื่นอัลตราโซนิค เป็นต้น สามารถลดการเสื่อมสลายของสารสำคัญจะเสื่อมสลาย กระบวนการที่มีความรวดเร็วสามารถลดเวลาในการสกัดและลดการใช้พลังงานลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังสามารถประยุกต์ใช้ร่วมกับตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความปลอดภัยและเป็นทางเลือกที่เหมาะสมต่อการลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ข้อดีของการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย คือ เอทานอลมีแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลแบบมีขั้ว (Dipole Interactions) และลูทีนเป็นสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่สามารถละลายได้ดีกับตัวทำละลายที่มีขั้ว จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้แสดงการนำคลื่นอัลตราโซนิคใช้ร่วมกับตัวทำละลายที่เป็นเอทานอลเพื่อสกัดสารลูทีน เช่น Jaeschke *et al.* (2017) รายงานว่าการสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย *Heterochlorella luteoviridis* โดยใช้คลื่นอัลตราโซนิค โดยมีตัวทำละลายเป็นเอทานอล ผลจากการสกัดพบว่าที่ ความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 75 และความเข้มข้นของคลื่นอัลตราโซนิคร้อยละ 50 สามารถสกัดสารแคโรทีนอยด์ได้มากถึงร้อยละ 80 นอกจากนี้ Derrien *et al.* (2017) รายงานว่าการสกัดสารลูทีนจากผักโขมโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิค โดยมีตัวทำละลายเป็นเอทานอลและน้ำ พบว่าเอทานอลมีผลต่อการสกัดลูทีน ปริมาณสารลูทีนเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิค โดยศึกษาผลของปัจจัยที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ แอมพลิจูด, เวลาในการสกัด และความเข้มข้นของเอทานอล

Methodology

1. วัตถุดิบ และการเตรียมตัวอย่าง

ดอกดาวเรืองถูกล้างด้วยน้ำบริสุทธิ์ที่ผ่านกระบวนการรีเวิร์สออสโมซิส (RO) จำนวน 3 ครั้ง เพื่อลดสิ่งสกปรกและการปนเปื้อน จากนั้นมึ้งแห้งในที่ร่มจนระดับความชื้นลดลงในเบื้องต้น ตัดแยกส่วนกลีบดอกและขั้วดอกออกจากกัน นำส่วนกลีบดอกไปอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-Drying Machine) ยี่ห้อ SCIENTZ รุ่น DW-50F ประเทศจีน อุณหภูมิในการระเหิด -40 องศาเซลเซียส ที่ความดันไม่เกิน 10 Pa จนมีปริมาณความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 10 หลังจากนั้นนำกลีบดอกดาวเรืองที่อบแห้งแล้วไปบดด้วยเครื่องบดแห้งอเนกประสงค์ ยี่ห้อ NANOTECH รุ่น NT-500D ประเทศไทย ที่ความเร็วรอบ 25,000 รอบต่อนาทีให้ละเอียด ผงดอกดาวเรืองถูกกรองผ่านตะแกรงขนาด 40 ไมครอน เพื่อให้ได้ขนาดอนุภาคที่สม่ำเสมอ และเก็บใส่ถุงที่ปิดผนึกด้วยสุญญากาศเพื่อใช้ในขั้นตอนถัดไป

2. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก

นำผงดอกดาวเรืองผสมกับตัวทำละลาย ทำการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิก (Probe sonicator) ยี่ห้อ Sonics รุ่น VCX750A ประเทศสหรัฐอเมริกา ที่แอมพลิจูด ร้อยละ 20-60, เวลาในการสกัด 15-35 นาที และความเข้มข้นของเอทานอล ร้อยละ 40-80 โดยเครื่องอัลตราโซนิกทำงานที่กำลังขับสูงสุด 400 W, ความถี่ 20 kHz และการทำงานแบบพัลส์โหมด (เปิด 2 วินาที ปิด 1 วินาที) ขนาดหัวโพรบเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร ความลึก 2 เซนติเมตรจากตัวอย่าง จากนั้นกรองสารสกัดที่ได้โดยการนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (Universal centrifuge) ยี่ห้อ Dynamica รุ่น VELOCITY 18R ประเทศออสเตรเลีย ที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที โดยมีค่าแรงเหวี่ยง (Relative Centrifugal Force) เท่ากับ 4,105 เท่าของแรง g เป็นเวลา 15 นาที (Narkprasom et al., 2015) เพื่อแยกตะกอนออกจากสารสกัด กรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator) ยี่ห้อ Quantum รุ่น EVAP-5L ประเทศไทย ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทำการวัดปริมาตรสุดท้ายและเก็บสารสกัดส่วนใสไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

3. การออกแบบพื้นที่การทดลองแบบ Box-Behnken Design

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากดอกดาวเรืองซึ่งออกแบบการทดลองโดยใช้การทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken Design: BBD) ด้วยโปรแกรม STATISTICA 64 V.12 ปัจจัยที่ศึกษาทั้งหมด 3 ปัจจัย ได้แก่ แอมพลิจูด (%), เวลาในการสกัด (นาที) และความเข้มข้นของตัวทำละลาย (%) โดยแปรผันค่า X_1 , X_2 , และ X_3 การทดลองจะตั้งค่ารหัสของระดับปัจจัยที่ใช้ในการทดลองเป็น 3 ระดับ คือ ระดับต่ำ (-1) ระดับกลาง (0) และระดับสูง (1) ดังแสดงใน Table 1 หลังการทดลองการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากดอกดาวเรืองและฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระ โดยทำการทดลองซ้ำที่จุดกึ่งกลาง 3 การทดลอง รวมทั้งหมด 15 การทดลอง ทำการวิเคราะห์ผลที่เกิดจากความสัมพันธ์ของตัวแปรหลายตัวแปร เพื่อหาค่าที่ดีที่สุดของความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร การถดถอยและได้สมการพหุนาม ซึ่งอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองที่วัดได้และปัจจัยที่ต้องการศึกษา ซึ่งสมการพหุนามลำดับที่สองถูกพิจารณาเป็น

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

เมื่อ Y คือ ค่าการตอบสนองที่วัดได้ (ปริมาณลูทีน (Y_1) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Y_2)), X_1, X_2, X_3 คือตัวแปรอิสระ, β_0 คือ ค่าคงที่ของสมการ, $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ คือ ค่าสัมประสิทธิ์สมการเส้นตรง, $\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}$ คือ ค่าสัมประสิทธิ์สมการกำลังสอง

Table 1 Combination of the independent variables selected in the Box-Behnken Design (BBD)

Independent variables	symbols	Level		
		-1	0	1
Amplitude (%)	X_1	20	40	60
Extraction time (minutes)	X_2	5	15	25
Solvent concentration (%)	X_3	40	60	80

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารลูทีนด้วยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)

วิเคราะห์ปริมาณสารลูทีนโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High-Performance Liquid Chromatography: HPLC) ด้วยเครื่องยี่ห้อ Agilent รุ่น CM 5260 ผลิตจากประเทศญี่ปุ่น ตามวิธีการของ Kashyap *et al.* (2022) ใช้ระบบ Agilent 1260 HPLC ร่วมกับคอลัมน์ C18 (4.6*150 มม., 4 ไมโครเมตร) โดยใช้ปริมาตรการฉีด 10 ไมโครลิตร และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1 $\mu\text{L}/\text{min}$ ที่ ภาชนะอุณหภูมิของหัวฉีดและคอลัมน์ไว้ที่อุณหภูมิ 4°C และ 25°C ตามลำดับ ตรวจวิเคราะห์ลูทีนที่มีความยาวคลื่น 447 นาโนเมตร ช่วงความยาวคลื่นที่ใช้สำหรับตรวจวัดสารอยู่ในช่วง 200-700 nm เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่ใช้คือ solvent A (methanol: acetonitrile: water ที่อัตราส่วน 8:1:1 v/v) และ solvent B (methanol: acetonitrile, 4:6, v/v) สารมาตรฐานที่ใช้ในการทำ Standard curve คือ Lutein analysis standard (Lab Connection, Thailand)

5. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH assay)

นำสารสกัดดอกดาวเรืองมาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ตามวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีการของ Shimada *et al.* (1992) ปิเปตสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 0.1 mM ในเมทานอล 2.9 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง นำตัวอย่างสารสกัดดอกดาวเรือง ใส่ในหลอดทดลองลงไป 0.1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที พร้อมทั้งเตรียมตัวอย่างควบคุม (Control) หรือสารละลาย DPPH ที่ไม่มีตัวอย่าง สารสกัด โดยใช้เมทานอลแทนตัวอย่างสารสกัดดอกดาวเรือง ตามวิธีการเดียวกัน เมื่อครบเวลา 30 นาที นำตัวอย่างและตัวอย่างควบคุมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร แล้วคำนวณค่าความสามารถฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นร้อยละของการยับยั้ง (%inhibition) ตามสมการ

$$\text{ร้อยละของการยับยั้ง (\%inhibition)} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) \times 100}{A_{\text{control}}} \quad (2)$$

เมื่อ A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

การเตรียมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) เข้มข้น 0.1mM ในเมทานอล ทำได้โดยชั่ง 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl 0.1972 กรัม ละลายด้วยเมทานอล จนสารละลายหมด จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย DPPH เข้มข้น 5 mM จากนั้นเปิดสารละลายนี้มา 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลจนครบ 100 มิลลิลิตร

6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS (Statistical Package for the Social Science) ซึ่งเป็นวิธีการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษา 3 ซ้ำ ซึ่งเป็นการวิเคราะห์หาอัตราส่วนความแปรปรวนระหว่างกลุ่มของการทดลอง และ ความแปรปรวนภายในกลุ่มของการทดลองค่าที่คำนวณได้ เปรียบความคลาดเคลื่อนที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

Results

1. ผลการศึกษาของสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดต่อปริมาณสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง โดยมีปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ แอมพลิจูด (X_1), เวลาในการสกัด (X_2) และความเข้มข้นของตัวทำละลาย (X_3)

ผลของการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง โดยมีปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ แอมพลิจูด (X_1), เวลาในการสกัด (X_2) และความเข้มข้นของตัวทำละลาย (X_3) จากการทดลองพบว่าปริมาณสารลูทีน (Y_1) เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC มีค่าอยู่ในช่วง 3.58-7.06 mg/g และปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Y_2) เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 52.90-79.82 โดยสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดจากดอกดาวเรือง คือ แอมพลิจูดร้อยละ 60, เวลาในการสกัด 15 นาที และความเข้มข้นของสารละลายร้อยละ 60 ซึ่งให้ปริมาณสารลูทีนและปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด คือ 7.06 mg/g และร้อยละ 79.82 ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 2

2. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน

การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความเหมาะสมของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ โดยใช้ในการตรวจสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการทำนาย เพื่อพิจารณาว่าความคลาดเคลื่อนของแบบจำลองและความน่าเชื่อถือของสมการที่ใช้ในการอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต่างๆ ในการทดลอง แสดงดังใน Table 3 พบว่าค่าของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของปริมาณสารลูทีน (Y_1) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้ (Y_2) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2 , R^2) เท่ากับ 0.9691 และ 0.9943 ตามลำดับ ซึ่งค่า R^2 ใกล้เคียง 1 มาก แสดงถึงความแม่นยำในการทำนายสภาวะที่เหมาะสมได้อย่างแม่นยำ และค่า Significance F น้อยกว่า 0.001 แสดงว่าความแตกต่างจากการทดลองและค่าจากการทำนายมีความคลาดเคลื่อนน้อย โดยมีค่า Multiple R = 0.9844 และ Adjusted R^2 = 0.9136 ของ Y_1 และ, Multiple R = 0.9971 และ Adjusted R^2 = 0.9839 ของ Y_2 ดังนั้นสมการที่ 3 และ 4 สามารถใช้ทำนายสภาวะที่เหมาะสมได้อย่างแม่นยำ

Table 2 Experimentally obtained results of investigated responses

RUN	X_1	X_2	X_3	Y_1		Y_2	
				Exp	Pre	Exp	Pre
1	40 (0)	15 (0)	60 (0)	6.74	6.89	79.14	79.22
2	40 (0)	15 (0)	60 (0)	6.87	6.89	79.82	79.22
3	60 (1)	15 (0)	40 (-1)	5.68	5.78	67.45	66.36
4	40 (0)	5 (-1)	80 (1)	6.15	6.14	70.71	70.11
5	40 (0)	5 (-1)	40 (-1)	5.12	5.29	65.58	66.17
6	20 (-1)	25 (-1)	60 (0)	3.97	4.25	58.95	58.46
7	40 (0)	25 (-1)	80 (1)	6.59	6.42	75.69	75.10
8	40 (0)	15 (0)	60 (0)	7.06	6.89	78.71	79.22
9	20 (-1)	15 (0)	80 (1)	6.01	5.91	69.65	70.74
10	40 (0)	25 (1)	40 (-1)	5.88	5.89	67.56	68.16
11	20 (-1)	5 (-1)	60 (0)	3.58	3.69	55.90	55.41
12	60 (1)	15 (0)	80 (1)	6.21	6.50	73.44	73.54
13	20 (-1)	15 (0)	40 (-1)	5.53	5.24	67.14	67.04
14	60 (1)	25 (1)	60 (0)	4.81	4.70	59.48	59.97
15	60 (1)	5 (-1)	60 (0)	4.65	4.37	55.54	56.04

X_1 = Amplitude (%), X_2 = Extraction time (minutes), X_3 = Solvent concentration (%), Y_1 = Lutein content (mg/g) and Y_2 = Antioxidant activity (%)

$$Y_1 \text{ (mg/g)} = 6.890 + 0.283X_1 + 0.219X_2 + 0.344X_3 - 0.058X_1X_2 - 0.080X_1X_3 + 0.013X_2X_3 - 1.358X_1^2 - 1.280X_2^2 + 0.325X_3^2 \quad (3)$$

$$Y_2 \text{ (%) } = 79.223 + 0.534X_1 + 1.744X_2 + 2.720X_3 + 0.222X_1X_2 + 0.750X_1X_3 + 0.870X_2X_3 - 11.110X_1^2 - 10.645X_2^2 + 1.307X_3^2 \quad (4)$$

จากการวิเคราะห์ด้วยแบบจำลองการถดถอยเชิงเส้นพหุคูณ พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ของสมการสามารถอธิบายอิทธิพลของปัจจัยที่ศึกษาต่อตัวแปรตาม (Y_1 และ Y_2) ได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยจากสมการที่ 3 และ 4 ค่าบวกในสมการแสดงถึงตัวแปรตามที่เพิ่มขึ้นเมื่อค่าของปัจจัยที่ศึกษาเพิ่มขึ้น และค่าลบในสมการแสดงถึงตัวแปรตามที่ลดลงเมื่อค่าปัจจัยที่ศึกษานั้นลดลง ดังนั้นเมื่อต้องการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกจากดาวเรืองเพิ่มขึ้น ควรเพิ่มแอมพลิจูด เวลาในการสกัดและความเข้มข้นของตัวทำละลายสูงขึ้น เมื่อวิเคราะห์ความสำคัญทางสถิติที่มีผลต่อ Y_1 โดยพิจารณา ค่า P-value พบว่า X_1 , X_2 , X_3 และ X_3^2 มีค่า P-value น้อยกว่า 0.05 แสดงว่าระดับของปัจจัยที่กำหนดมีอิทธิพลต่อแอมพลิจูด ความเข้มข้นของตัวทำละลายในรูปแบบเชิงเส้น และมีอิทธิพลต่อแอมพลิจูด เวลาในการสกัดในรูปแบบ

กำลังสอง โดยมีความสำคัญต่อการสกัดปริมาณสารฟีนอลิกจากดอกดาวเรือง แต่ค่าสัมประสิทธิ์ระหว่างตัวแปร X_2 , X_1X_2 , X_1X_3 , X_2X_3 และ X_3^2 มีค่า P-value มากกว่า 0.05 แสดงว่าในแต่ละปัจจัยไม่มีอิทธิพลต่อกัน

การวิเคราะห์ความสำคัญทางสถิติที่มีผลต่อ Y_2 โดยพิจารณา ค่า P-value พบว่า X_2 , X_3 , X_1^2 และ X_2^2 มีค่า P-value น้อยกว่า 0.05 แสดงว่าระดับของปัจจัยที่กำหนดมีอิทธิพลต่อเวลาในการสกัด ความเข้มข้นของตัวทำละลายในรูปแบบเชิงเส้น และมีอิทธิพลต่อแอมพลิจูด เวลาในการสกัดในรูปแบบกำลังสอง โดยมีความสำคัญต่อการสกัดปริมาณฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง แต่ค่าสัมประสิทธิ์ระหว่างตัวแปร X_1 , X_1X_2 , X_1X_3 , X_2X_3 และ X_3^2 มีค่า P-value มากกว่า 0.05 แสดงว่าในแต่ละปัจจัยไม่มีอิทธิพลต่อกัน ซึ่งสามารถนำเฉพาะพจน์ที่มีความสำคัญต่อการสกัดสารฟีนอลิกและฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระมาเขียนอยู่ในรูปสมการที่ 5 และ 6 ได้ ซึ่งสามารถทำนายปริมาณสารฟีนอลิกและฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระไม่ต่างจากสมการที่ 3 และ 4

$$Y_{1 \text{ (mg/g)}} = 6.890 + 0.283X_1 + 0.344X_2 - 1.358X_1^2 - 1.280X_2^2 \quad (5)$$

$$Y_{2 \text{ (\%)}} = 79.223 + 1.744X_2 + 2.720X_3 - 11.110X_1^2 - 10.645X_2^2 \quad (6)$$

Table 3 Variance analysis of regression equations

Source	Y ₁ (mg/g)				Y ₂ (%)			
	C.E.	S.E.	t-stat	P-value	C.E.	S.E.	t-stat	P-value
Intercept	6.890	0.178	38.701	0.000	79.223	0.599	132.169	0.000
X ₁	0.283	0.109	2.591	0.049	0.534	0.367	1.454	0.206
X ₂	0.219	0.109	2.006	0.101	1.744	0.367	4.751	0.005
X ₃	0.344	0.109	3.153	0.025	2.720	0.367	7.410	0.001
X ₁ X ₂	-0.058	0.154	-0.373	0.724	0.222	0.519	0.429	0.686
X ₁ X ₃	-0.080	0.154	-0.519	0.626	0.750	0.519	1.445	0.208
X ₂ X ₃	0.013	0.154	0.081	0.939	0.870	0.519	1.676	0.155
X ₁ ²	-1.358	0.160	-8.459	0.000	-11.110	0.540	-20.563	0.000
X ₂ ²	-1.280	0.160	-7.976	0.000	-10.645	0.540	-19.703	0.000
X ₃ ²	0.325	0.160	2.025	0.099	1.307	0.540	2.419	0.060
R ² =0.9691, Multiple R = 0.9844				R ² =0.9943, Multiple R = 0.9971				
And Adjusted R ² = 0.9136				And Adjusted R ² = 0.9839				
C.E. = Coefficient Estimate and S.E. = Standard Error								

3. ผลการสร้างพื้นผิวตอบสนองแบบจำลองทางคณิตศาสตร์

จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในสมการที่ 1,3 และ 4 สามารถนำมาสร้างแผนภาพพื้นผิวตอบสนองสามมิติ (3D-surface plot) เพื่ออธิบายถึงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ แอมพลิจูด (X_1), เวลาในการสกัด (X_2) และความเข้มข้นของตัวทำละลาย (X_3) กับค่าตอบสนองที่วัดได้ คือ ปริมาณสารลูทีน (Y_1) แสดงดัง Figure 1-3 และดูทิศด้านอนุมูลอิสระ แสดงดัง Figure 4-6

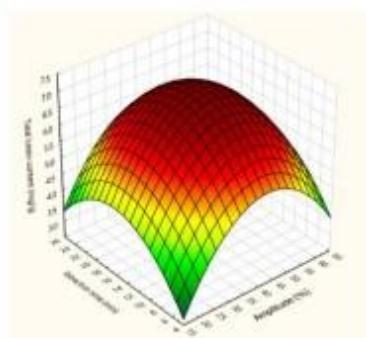


Figure 1 3D response surface plot showing the amplitude (%) and extraction time (minutes) affect lutein content (mg/g) when the solvent concentration is fixed at 60%.

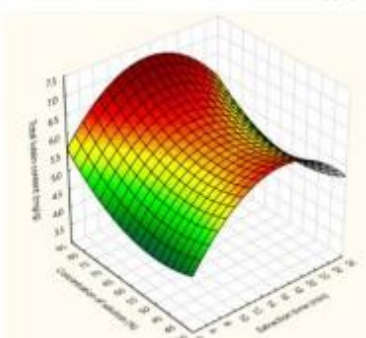


Figure 2 3D response surface plot showing the extraction time (minutes) and solvent concentration (%) affect lutein content (mg/g) when the amplitude is fixed at 40%.

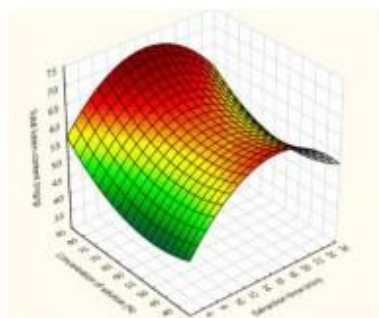


Figure 3 3D response surface plot showing the amplitude (%) and solvent concentration (%) affect lutein content (mg/g) when the extraction times fixed at 15 minutes.

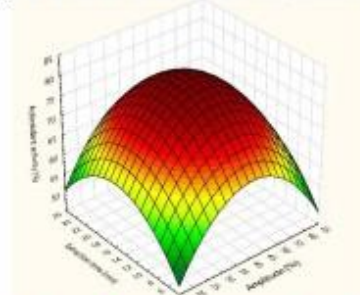


Figure 4 3D response surface plot showing the amplitude (%) and extraction time (minutes) affect antioxidant activity (%) when the solvent concentration is fixed at 60%.

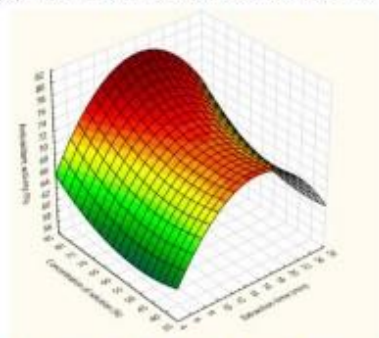


Figure 5 3D response surface plot showing the extraction time (minutes) and solvent concentration (%) affect antioxidant activity (%) when the amplitude is fixed at 40%.

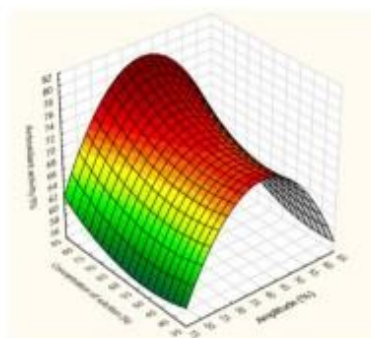


Figure 6 3D response surface plot showing the amplitude (%) and solvent concentration (%) affect antioxidant activity (%) when the extraction time is fixed at 15 minutes.

Table 4 Compare the experimentally obtained lutein and antioxidant content with the values predicted by the response surface methodology (RSM) equation.

	X_1	X_2	X_3	Y_1	Y_2
Optimum condition prediction equation	41.77	15.81	80	6.89	79.22
Actual experimental conditions (adapted from the equation).	42	16	80	6.89	79.22
Experimental results from the actual conditions.	42	16	80	6.74	79.82

X_1 = Amplitude (%), X_2 = Extraction time (minutes), X_3 = Solvent concentration (%), Y_1 = Lutein content (mg/g) and Y_2 = Antioxidant activity (%)

แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของสามมิติ Figure 1-6 แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงค่าของ 2 ปัจจัย โดยปัจจัยที่ 3 ถูกกำหนดไว้คงที่ที่จุดศูนย์หรือค่าจริงที่จุดกึ่งกลาง (แอมพลิจูดร้อยละ 40, เวลาในการสกัด 20 และ ความเข้มข้นของตัวทำละลายร้อยละ 60) ในการสกัดอัลตราโซนิกที่ส่งผลกระทบต่อปริมาณสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากสมการที่ 3-4 และ Figure 4-6 สามารถทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยอัลตราโซนิก โดยที่สภาวะที่ทำให้สามารถสกัดได้สูงสุด คำนวณจากวิธีกำหนดเชิงเส้น โดยกำหนดให้แอมพลิจูดร้อยละ 20-60, เวลาในการสกัด 5-25 นาที และความเข้มข้นของตัวทำละลายร้อยละ 40-80 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดปริมาณลูทีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือ แอมพลิจูดร้อยละ 41.77, เวลาในการสกัด 15.81 นาทีและความเข้มข้นของตัวทำละลายร้อยละ 80 แต่เนื่องจากการทดลองไม่สามารถทำตามค่าที่กำหนดได้ด้วยข้อจำกัดของเครื่องมือจึงปรับค่าที่ใช้ในการทดลองตามสภาวะการทดลอง ที่แสดงดัง Table 4 ที่แอมพลิจูดร้อยละ 42, เวลาในการสกัด 15 นาทีและความเข้มข้นของตัว

ทำลายลายร้อยละ 80 จากผลการทดลองพบว่าภายใต้สภาวะนี้มีสีกัดสารลูทีน 6.98 มิลลิกรัมต่อกรัมและฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระร้อยละ 79.22 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าจากการทำนาย

Discussion

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารลูทีนจากดอกดาวเรืองด้วยคลื่นอัลตราโซนิก พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดมากที่สุดคือ ความเข้มข้นของตัวทำละลายเมื่อใช้อัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นจะได้ปริมาณสารลูทีนที่เพิ่มสูงขึ้น ตัวทำละลายเอทานอลที่เป็นสารละลายชนิดกึ่งมีขี้ผึ้งสามารถจับได้ดีกับโมเลกุลของสารสำคัญที่เป็นโมเลกุลมีขี้ผึ้งได้ง่าย เช่น แคโรทีนอยด์ กรดฟีนอลิก โดยปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับขี้ผึ้งของสารสำคัญ (Abia *et al.*, 2022) ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Jaeschke *et al.* (2017) ที่ศึกษาการใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการสกัดแคโรทีนอยด์และไขมันจาก *Heterochlorella luteoviridis* ด้วยตัวทำละลายเอทานอล ซึ่งพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายส่งผลให้ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงถึงประสิทธิภาพของกระบวนการสกัดที่ดีขึ้น

สารลูทีนมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อสกัดด้วยค่าแอมพลิจูดที่สูงขึ้น เนื่องจากแอมพลิจูดที่สูงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายเทมวลของสารออกฤทธิ์จากเนื้อเยื่อพืชเข้าสู่ตัวทำละลายได้มากยิ่งขึ้น ฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมากจะถูกสร้างขึ้นภายในของเหลว และเกิดคลื่นกระแทกอย่างรุนแรงส่งผลทำให้ฟองอากาศยุบตัวลงในเวลาอันสั้น ซึ่งส่งผลให้ผนังเซลล์เนื้อเยื่อถูกทำลายเร็วขึ้น (Hemwimol *et al.*, 2006) ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Ye *et al.* (2011) พบว่าปริมาณสารลูทีนที่ได้จากการสกัดข้าวโพดสูงขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของแอมพลิจูด เนื่องจากโพรงอากาศที่เกิดจากกระบวนการคavitเทชันที่รุนแรงช่วยเพิ่มอัตราการแพร่ของโมเลกุลลูทีนจากโครงสร้างเซลล์เข้าสู่ตัวทำละลาย แต่อย่างไรก็ตามการใช้แอมพลิจูดที่มากเกินไปนำไปสู่การเกิดความดัน และทำให้อุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้น ทำให้เร่งกระบวนการสลายตัวของสารสำคัญ (Pingret *et al.*, 2013)

สารลูทีนเป็นสารที่มีโมเลกุลที่ไวต่อความร้อน เวลาในการสกัดที่นานขึ้นส่งผลให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างการทำให้ความร้อนในสภาวะที่มีออกซิเจนและแสง ส่งผลให้ปริมาณของสารลูทีนลดลงจากการสลายตัว (Altemimi *et al.*, 2015) ตามการศึกษาของ Manzoor *et al.* (2022) การใช้คลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลานานสามารถส่งผลกระทบต่อเสถียรภาพของสารออกฤทธิ์บางชนิด ความร้อนที่เกิดขึ้นส่งผลให้เกิดการสลายตัวหรือสูญเสียความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง พบว่า เวลาในการสกัด และความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอล เป็นสองปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อปริมาณฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ แอมพลิจูด ไม่แสดงแนวโน้มอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับปัจจัยอื่น อาจเนื่องมาจากคลื่นอัลตราโซนิกที่เพิ่มขึ้นตามระดับแอมพลิจูดอยู่ในระดับที่สูงที่จะส่งเสริมการทำลายโครงสร้างเซลล์พืชหรือเพิ่มประสิทธิภาพการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ได้อย่างมีนัยสำคัญ ส่งผลให้การเพิ่มแอมพลิจูดไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในเชิงปริมาณของฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระที่วัดได้ โดยฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระมีปริมาณสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอลสูงขึ้น เนื่องจากเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีสมบัติเป็นสารกึ่งมีขี้ผึ้ง จึงสามารถสกัดสารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชได้ทั้งสารที่มีขี้ผึ้งและไม่ขี้ผึ้ง โดยเฉพาะสารในกลุ่มฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารที่พบร่วมกับลูทีนในดอกดาวเรือง และมีบทบาทในการต้าน

อนุมูลอิสระร่วมกัน ดังนั้น การใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดอาจทำให้สามารถดึงสารประกอบที่มีฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระกลุ่มอื่นออกมาได้พร้อมกับลูทีน ส่งผลให้ค่าฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระโดยรวมที่วิเคราะห์ได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (Pratumyarn *et al.*, 2023) และการเพิ่มเวลาในการสกัดทำให้เกิดการแพร่และการถ่ายเทมวลของสารออกฤทธิ์จากเนื้อเยื่อพืชเข้าสู่ตัวทำละลายได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นทำให้ฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระถูกสกัดออกมามาก แต่เมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น ส่งผลให้อุดมภูมิภายในระบบเพิ่มขึ้นจากพลังงานที่เกิดจากคลื่นอัลตราโซนิก ส่งผลทำให้สารด้านอนุมูลอิสระเกิดการสลายตัว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ibrahim & Sriherfyna (2015) ที่รายงานว่าอุณหภูมิที่สูงเกินไปสามารถเร่งการเสื่อมสลายของฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระในสารสกัด นอกจากนั้นเวลาในการสกัดที่นานเกินไป ทำให้เอทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายเกิดการระเหย ส่งผลให้ปริมาณตัวทำละลายลดลง ทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระอยู่ในระดับต่ำ จากผลการทดลองจะเห็นว่าการใช้คลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับตัวทำละลายเอทานอลแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการสกัดสารลูทีนและสารที่มีฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรืองได้ในระดับสูง สามารถลดเวลาในการสกัดได้ โดยใช้เวลาประมาณ 25 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการสกัดแบบ Soxhlet ซึ่งเป็นวิธีการแบบดั้งเดิมที่ใช้เวลาประมาณ 138 นาทีในการสกัดสารแคโรทีนอยด์ ทั้งนี้ยังพบว่าปริมาณสารลูทีนที่ได้จากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกมีค่าใกล้เคียงหรือสูงกว่าวิธีการแบบดั้งเดิม แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของเทคนิคดังกล่าวในการเพิ่มประสิทธิผลของกระบวนการสกัด (Janepinich *et al.*, 2023)

Conclusions

จากผลการทดลองพบว่า ดอกดาวเรืองมีองค์ประกอบของสารลูทีนและสารที่มีฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระในระดับสูง ซึ่งสามารถสกัดได้อย่างมีประสิทธิภาพด้วยเทคนิคการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโดยใช้วิธีวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนอง พบว่า สภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ แอมพลิจูดร้อยละ 42 เวลาในการสกัด 16 นาที และความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 80 โดยภายใต้สภาวะดังกล่าวสามารถสกัดลูทีนได้สูงสุด 7.06 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง และมีฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระสูงสุทธ้อยู่ที่ 79.82 ผลการวิเคราะห์ ANOVA แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองมีความเหมาะสมสำหรับการทำนาย โดยมีค่า R^2 ของปริมาณสารลูทีน (Y_1) และฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระ (Y_2) เท่ากับ 0.9691 และ 0.9943 ตามลำดับ และมีค่า Significance F ต่ำกว่า 0.001 สะท้อนถึงความแม่นยำและความน่าเชื่อถือของแบบจำลองในการทำนายสภาวะที่เหมาะสม

Acknowledgments

ขอขอบคุณคณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่สนับสนุนอุปกรณ์ ครุภัณฑ์และเครื่องมือในงานวิจัยนี้

References

- Abia, S., Chanes, J., & Cano, M. (2022). Effect of Ultrasound-Assisted Extraction of Carotenoids from Papaya (*Carica papaya* L. cv. Sweet Mary) Using Vegetable Oils. *Molecules*, 27, 638

- Altamimi, A., Lightfoot, D., Kinsel, M., & Watson, D. (2015). Employing Response Surface Methodology for the Optimization of Ultrasound Assisted Extraction of Lutein and β -Carotene from Spinach. *Molecules*, 20, 6611-6625.
- Dernien, M., Badr, A., Gosselin, A., Desjardins, Y., & Angers, P. (2017). Optimization of a green process for the extraction of lutein and chlorophyll from spinach by-products using response surface methodology (RSM). *Food Science and Technology*, 79, 170-177.
- Hemwimol, S., Pavasant, P., & Shotipruk, A. (2006). Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13, 543-548.
- Ibrahim, A., & Sriherfyna, F. (2015). Effect of Temperature and Extraction Time on Physicochemical Properties of Red Ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) Extract with The Additional of Honey Combination as Sweetener for Functional Drink. Volume 3, 530-541.
- Jaeschke, D., Rech, R., Marczak, L., & Mercali, G. (2017). Ultrasound as an alternative technology to extract carotenoids and lipids from *Heterochlorella luteoviridis*. *Bioresource Technology*, 224, 753-757.
- Janepinich, P., Satirapipathkul, C., Kasetsomboon, N., & Yongphet, P. (2023). Enhancing lutein extraction from marigolds through ultrasound-assisted optimization using response surface methodology. *Maejo International Journal of Energy and Environmental Communication*, 5(1), 14-19.
- Kashyap, P., Singh, S., Singh, M., Gupta, A., Tandon, S., Shanker, K., Verma, R., & Verma, R. (2022). An efficient process for the extraction of lutein and chemical characterization of other organic volatiles from marigold (*Tagetes erecta* L.) flower. *Food Chemistry*, 396, 133647.
- Kumiawan, J., Yusuf, M., Azmi, S., Salim, K., Prihastyanti, M., Indrawati, R., Heriyanto., Shioi, Y., Limantara, L., & Brotosudarmo, T. (2019). Effect of drying treatments on the contents of lutein and zeaxanthin in orange- and yellow-cultivars of marigold flower and its application for lutein ester encapsulation. In *Proceeding Conference Series: Materials Science and Engineering*. 509.
- Manzoor, S., Rashid, R., Panda, B., & Sharma, V. (2022). Green extraction of lutein from marigold flower petals, process optimization and its potential to improve the oxidative stability of sunflower oil, *Ultrasonics Sonochemistry*, 85, 105994.

- 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.
- Nguyen, D., Thrimawithana, T., Piva, T., Grando, D., & Huynh, T., (2023). Benefits of plant carotenoids against age-related macular degeneration. *Journal of Functional Foods*, 106.
- Pingret, D., Tixier, A., & Chemat, F. (2013). Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control*, 31, 593-606.
- Pratumyam, P., Lairungruang, K., Thimkom, P., Obhasi, S., & Sangvichien, S. (2023). Antioxidant Activities and Total Phenolic Contents of Plook Fai Thatu Remedy. *Journal of Traditional Thai Medical Research*, 9 (1), 13-27. (in Thai)
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura T. (1992). Antioxidative properties of xanthone on the auto oxidation of soybean in cyclodextrin emulsion. *Agr. Food Chem*, 40, 945-948.
- Ye, J., Feng, L., Xiong, J., & Xiong, Y. (2011). Ultrasound-assisted extraction of corn carotenoids in ethanol. *Food Science and Technology*, 46, 2131-2136.

บรรณานุกรม

- Aguere, S. & Gernand, A. D. 2019. An efficient method for measuring plasma volume using indocyanine green dye. **MethodsX**, 6(1072-1083).
- Al-Ashwal, B., Husain, M., Gupta, A. & Soubam, T. 2021. Strategies using of Design of Experiments (DOE) techniques: In view of a Review. **Maejo International Journal of Energy and Environmental Communication**, 3(1-5).
- Altemimi A, Lightfoot DA, Kinsel M & DG., W. 2015. Employing Response Surface Methodology for the Optimization of Ultrasound Assisted Extraction of Lutein and β -Carotene from Spinach. **Molecules**, 15(
- Awad, T. S., Moharram, H. A., Shaltout, O. E., Asker, D. & Youssef, M. M. 2012. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. **Food Research International**, 48(2), 410-427.
- Bermudez. 2017. **Ultrasound: Advances in Food Processing and Preservation**.
- Boonnoun, P., Tunyasitkun, P., Clowutimon, W. & Shotipruk, A. 2017. Production of free lutein by simultaneous extraction and de-esterification of marigold flowers in liquefied dimethyl ether (DME)-KOH-EtOH mixture. **Food and Bioproducts Processing**, 106(193-200).
- Derrien, M., Badr, A., Gosselin, A., Desjardins, Y. & Angers, P. 2017. Optimization of a green process for the extraction of lutein and chlorophyll from spinach by-products using response surface methodology (RSM). **LWT - Food Science and Technology**, 79(170-177).
- Ellis-Davies, G. 2007. Caged compounds: Photorelease technology for control of cellular chemistry and physiology. **Nature methods**, 4(619-628).
- Estevinho, B. N., Damas, A. M., Martins, P. & Rocha, F. 2014. Microencapsulation of β -galactosidase with different biopolymers by a spray-drying process. **Food Res Int**, 64(134-140).
- Frizzell, L. A. 1988. Threshold dosages for damage to mammalian liver by high intensity focused ultrasound. **IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control**, 35(5), 578-581.

- Fu, X.-Q., Ma, N., Sun, W.-P. & Dang, Y.-Y. 2018. Microwave and enzyme co-assisted aqueous two-phase extraction of polyphenol and lutein from marigold (*Tagetes erecta* L.) flower. **Industrial Crops and Products**, 123(296-302).
- Gupta, S., Khan, S., Muzafar, M., Kushwaha, M., Yadav, A. & Gupta, A. (2016). Encapsulation: entrapping essential oil/flavors/aromas in food. In (pp. 229-268).
- Hemwimol, S., Pavasant, P. & Shotipruk, A. 2006. Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. **Ultrasonics Sonochemistry**, 13(6), 543-548.
- Iheaturu, N., Aharanwa, B., Chike, K., Ezeamaku, E. D. U., Nnorom, O., Chima, C. & Nnorom, O. 2019. Advancements in Textile Finishing. 6(23-31).
- Jaeschke, D. P., Rech, R., Marczak, L. D. F. & Mercali, G. D. 2017. Ultrasound as an alternative technology to extract carotenoids and lipids from *Heterochlorella luteoviridis*. **Bioresource Technology**, 224(753-757).
- Jana, D. K., Roy, S., Dey, P. & Bej, B. 2022. Utilization of a linguistic response surface methodology to the business strategy of polypropylene in an Indian petrochemical plant. **Cleaner Chemical Engineering**, 2(100010).
- Kumar Kashyap, P., Singh, S., Kumar Singh, M., Gupta, A., Tandon, S., Shanker, K., Kumar Verma, R. & Swaroop Verma, R. 2022. An efficient process for the extraction of lutein and chemical characterization of other organic volatiles from marigold (*Tagetes erecta* L.) flower. **Food Chemistry**, 396(133647).
- Lara-Abia S, Welti-Chanes J & MP, C. 2022. Effect of Ultrasound-Assisted Extraction of Carotenoids from Papaya (*Carica papaya* L. cv. Sweet Mary) Using Vegetable Oils. **Molecules**, 19(
- Lipkens, B., Dionne, J., Costolo, M., Stevens, A. & Rietman, E. 2010. Separation of bacterial spores from flowing water in macro-scale cavities by ultrasonic standing waves. **The Journal of the Acoustical Society of America**, 128(
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J. & Desobry, S. 2006. Flavour Encapsulation and Controlled Release - a Review. **International Journal of Food Science & Technology**, 41(1-21).
- Manzoor, S., Rashid, R., Prasad Panda, B., Sharma, V. & Azhar, M. 2022. Green extraction of lutein from marigold flower petals, process optimization and its

- potential to improve the oxidative stability of sunflower oil. **Ultrasonics Sonochemistry**, 85(105994).
- Marcella, J., Yusuf, M., Azmi, S., Salim, K., Prihastyanti, M., Indrawati, R., Heriyanto, H., Shioi, Y., Limantara, L. & Brotosudarmo, T. 2019. Effect of drying treatments on the contents of lutein and zeaxanthin in orange- and yellow-cultivars of marigold flower and its application for lutein ester encapsulation. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, 509(012060).
- Mason. 1998. **Ultrasound in Food Processing**. Blackie Academic and Professional.
- 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(302-309).
- Nguyen, D., Thrimawithana, T., Piva, T. J., Grando, D. & Huynh, T. 2023. Benefits of plant carotenoids against age-related macular degeneration. **Journal of Functional Foods**, 106(105597).
- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A.-S. & Chemat, F. 2013. Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. **Food Control**, 31(2), 593-606.
- Rao, A. V. & Agarwal, S. 1999. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: A review. **Nutrition Research**, 19(2), 305-323.
- Rodríguez-Rodríguez, E., Herrero-Lodares, C., Sánchez-Prieto, M., Olmedilla-Alonso, B., Sánchez-Moreno, C. & de Ancos, B. 2024. Sustainable extraction methods of carotenoids from mango (*Mangifera indica* L. 'Kent') pulp: Ultrasound assisted extraction and green solvents. **Food Chemistry**, 450(139253).
- Sala, F. J., Burgos, J., Condón, S., Lopez, P. & Raso, J. (1995). Effect of heat and ultrasound on microorganisms and enzymes. In G. W. Gould (Ed.), **New Methods of Food Preservation** (pp. 176-204). Boston, MA: Springer US.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. & Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 40(6), 945-948.

- Skřivan, M., Englmaierová, M., Skřivanová, E. & Bubancová, I. 2015. Increase in lutein and zeaxanthin content in the eggs of hens fed marigold flower extract. **Czech Journal of Animal Science**, 60(87-96).
- Song, J., Yang, Q., Huang, W., Xiao, Y., Li, D. & Liu, C. 2018. Optimization of trans lutein from pumpkin (*Cucurbita moschata*) peel by ultrasound-assisted extraction. **Food and Bioproducts Processing**, 107(104-112).
- Suslick. 1988. **Ultrasound: its chemical, physical and biological effects.**: VCH Publishers.
- Vishwakarma, G., Gautam, N., Babu, N., Mittal, S. & Jaitak, V. 2016. Polymeric Encapsulates of Essential Oils and Their Constituents: A Review of Preparation Techniques, Characterization, and Sustainable Release Mechanisms. **Polymer Reviews**, 56(00-00).
- Vo, T. P., Pham, T. V., Tran, T. N. H., Vo, L. T. V., Vu, T. T., Pham, N. D. & Nguyen, D. Q. 2023. Ultrasonic-Assisted and Microwave-Assisted Extraction of Phenolics and Terpenoids from *Abelmoschus sagittifolius* (Kurz) Merr Roots Using Natural Deep Eutectic Solvents. **ACS Omega**, 8(32), 29704-29716.
- Wang, L., Lu, W., Li, J., Hu, J., Ding, R., Lv, M. & Wang, Q. 2019. Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction and Purification of Zeaxanthin and Lutein in Corn Gluten Meal. **Molecules**, 24(16).
- Wang, S., Zhang, L., Li, J., Gao, F. & Zhou, G. H. 2016. Effects of Dietary Marigold Extract Supplementation on Growth Performance, Pigmentation, Antioxidant Capacity and Meat Quality in Broiler Chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 30(
- Ye, J., Feng, L., Xiong, J. & Xiong, Y. 2011. Ultrasound-assisted extraction of corn carotenoids in ethanol. **International Journal of Food Science & Technology**, 46(2131-2136).
- จันทร์สุวรรณ, ว. 2020. เคมีวิเคราะห์ : วัดและเทคนิคการคำนวณปริมาณ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ประไพศรี สุทัศน์ ณ อยุธยา & พงศ์ชนัน เหลืองไพบูลย์. 2008. การออกแบบและวิเคราะห์การทดลอง. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ท็อป.
- ม่วงรัตน์, ร. 2013. พื้นฐานการสกัดในอุตสาหกรรม. ม.ป.พ.

สมเพียร เกษมทรัพย์. 2540. การปลูกดาวเรือง: เอกสารเผยแพร่ อันดับที่ 65. กรุงเทพฯ:
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.



ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นิภาธร วิลัยลักษณ์
เกิดเมื่อ	13 พฤศจิกายน 2542
ประวัติการศึกษา	พ.ศ.2561 วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต (ระดับปริญญาตรี) สาขาวิศวกรรมอาหาร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ พ.ศ.2558 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนรุ่งอรุณวิทยา จังหวัดนครราชสีมา
ประวัติการทำงาน	-

