บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

การทดลองที่ 1 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารไซนารินในแต่ละส่วนของอาร์ติโชกพันธุ์อิมพีเรียลสตาร์ (Imperial Star)

จากการทดลองสกัดอาร์ติโชกส่วนดอก ใบ และราก ซึ่งได้จากพื้นที่ส่งเสริมการเพาะปลูก 4 แห่งของมูลนิธิโครงการหลวง โดยนำตัวอย่างสดแต่ละส่วน ปั่นพร้อมกับตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 70 (อัตราส่วนตัวอย่าง:ตัวทำละลายเท่ากับ 1:3) เป็นเวลา 1 นาที แล้วแช่ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ผลวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant capacity; IC_{50}) และปริมาณสารไซนาริน (Cynarin) ในแต่ละส่วนของอาร์ติโชกจากพื้นที่ส่งเสริมการเพาะปลูกของมูลนิธิโครงการหลวง 4 แห่ง

ส่วนของพืช	พื้นที่เพาะปลูก	Total phenolic content (g CA /100 g d.w.)	Antioxidant capacity (IC_{50}) (mg d.w./ml)	Cynarin (g /100 g d.w.)
ดอก	วัดจันทร์	1.99±0.14^{d}*	0.49±0.01^{b}	3.04x10^{-3}±0.0003^{d}
	หนองหอย	1.37±0.17^{e}	0.61±0.05^{a}	4.57x10^{-3}±0.0001^{cd}
	อ่างขาง	2.94±0.04^{bc}	0.34±0.04^{c}	4.51x10^{-3}±0.0001^{cd}
	แม่แฮ	2.67±0.25^{d}	0.38±0.01^{c}	5.03x10^{-3}±0.0001^{c}
ใบ	วัดจันทร์	4.04±0.21^{a}	0.16±0.01^{d}	4.66x10^{-3}±0.0001^{cd}
	หนองหอย	3.07±0.02^{b}	0.38±0.03^{c}	4.84x10^{-3}±0.0001^{cd}
	อ่างขาง	3.75±0.04^{a}	0.20±0.01^{d}	3.85x10^{-3}±0.0003^{cd}
	แม่แฮ	4.02±0.03^{a}	0.16±0.01^{d}	4.63x10^{-3}±0.0003^{cd}
ราก	วัดจันทร์	2.01±0.16^{d}	0.50±0.04^{b}	2.22x10^{-2}±0.0013^{a}
	อ่างขาง	2.16±0.06^{d}	0.51±0.02^{b}	1.20x10^{-2}±0.0002^{b}
	แม่แฮ	2.26±0.04^{d}	0.50±0.01^{b}	1.17 x10^{-2}±0.0016^{b}

* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมภ์เดียวกัน แสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เนื่องจากทางศูนย์พัฒนาโครงการหลวงหนองหอยได้ยกเลิกการเพาะปลูกอาร์ติโชกเชิงการค้า และอุตสาหกรรม ในช่วงของการทดลองศึกษาการกระจายตัวของสารประกอบฟีนอลิกในส่วนดอก ใบ และรากของตัวอย่างอาร์ติโชกสด จึงไม่มีตัวอย่างส่วนรากอาร์ติโชกจากศูนย์พัฒนาโครงการหลวงหนองหอยในการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในการทดลองที่ 1

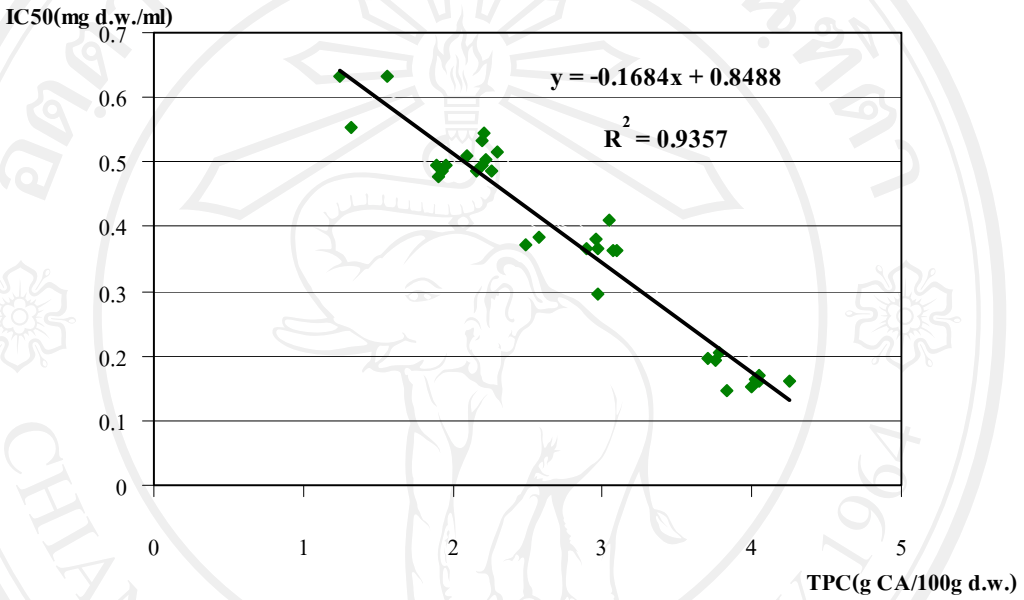
ตารางที่ 4.1 พบว่า ส่วนของอาร์ติโชกในพื้นที่ส่งเสริมการเพาะปลูกที่แตกต่างกันมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารไซนาริน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) โดยใช้สารคลอโรจีนิก (Chlorogenic acid; CA) เป็นสารมาตรฐาน พบว่า ส่วนใบอาร์ติโชกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าส่วนดอกและรากอาร์ติโชก โดยส่วนใบอาร์ติโชกจากศูนย์พัฒนาโครงการหลวงวัดจันทร์, ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่แฮ และสถานีเกษตรหลวงอ่างขางมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงเท่ากับ 4.04±0.21, 4.02±0.03 และ 3.75±0.04 g CA /100 g d.w. ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Wang *et al.* (2003) ได้วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ของส่วนใบอาร์ติโชกพันธุ์อิมพีเรียลสตาร์จากประเทศอเมริกา พบว่า ในส่วนใบมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (9.81 g CA /100 g d.w.) สูงกว่าส่วนดอก (1.78-2.81 g CA /100 g d.w.) สำหรับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของดอกอาร์ติโชกสดพันธุ์ Violetto di Sicilia, Violetto di Provenza, Locale di Mola, Terom และ Grato ในประเทศอิตาลี พบว่า อยู่ในช่วงร้อยละ 7.31-13.05 ของกรดคลอโรจีนิกต่อน้ำหนักตัวอย่างสด (Curadi *et al.,* 2005)

สำหรับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ แสดงในรูปของค่า IC_{50} (The half maximal inhibitory concentration, IC_{50}) ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดที่สามารถดักจับอนุมูล DPPH° ได้ที่ร้อยละ 50 ถ้า IC_{50} มีค่ามากแสดงว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระต่ำ หากค่า IC_{50} มีค่าน้อยแสดงว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง จากผลการทดลองพบว่าส่วนใบอาร์ติโชกมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าส่วนดอกและรากอาร์ติโชก โดยส่วนใบอาร์ติโชกจากศูนย์พัฒนาโครงการหลวงวัดจันทร์, ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่แฮ และสถานีเกษตรหลวงอ่างขางมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (IC_{50}) เท่ากับ 0.16±0.01, 0.16±0.01 และ 0.20± 0.01 mg d.w./ml ตามลำดับ สอดคล้องกับการทดลองของ Wang *et al.* (2003) พบว่า สารสกัดจากส่วนใบอาร์ติโชกมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากส่วนดอกอาร์ติโชก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

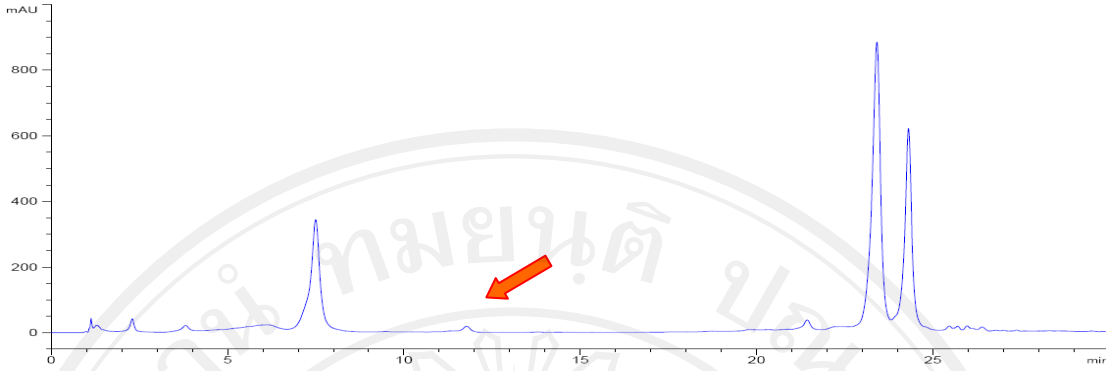
จากการทดลองพบว่า ผลของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสามารถหาความสัมพันธ์เชิงเส้นได้ (R^2=0.9357) เมื่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงขึ้น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะมีแนวโน้มสูงขึ้นด้วย ดังภาพที่ 4.1



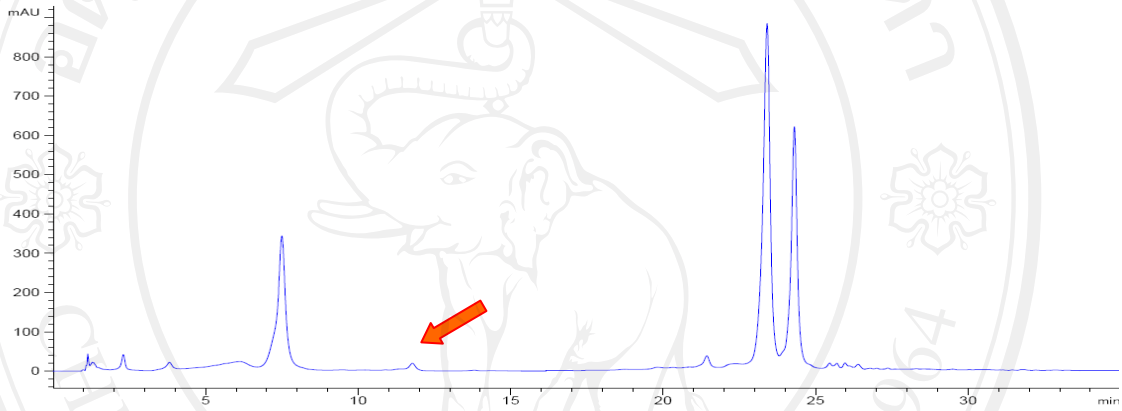
ภาพที่ 4.1 ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของอาร์ติโชกพันธุ์อิมพีเรียลสตาร์ที่เพาะปลูกในประเทศไทย

สำหรับปริมาณสารไซนาริน ในการทดลองนี้ทำการวิเคราะห์โดยใช้โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง เปรียบเทียบสารสกัดของตัวอย่างกับสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน และสารสกัดจากส่วนดอก ใบ ราก แสดงดังภาพที่ 4.2

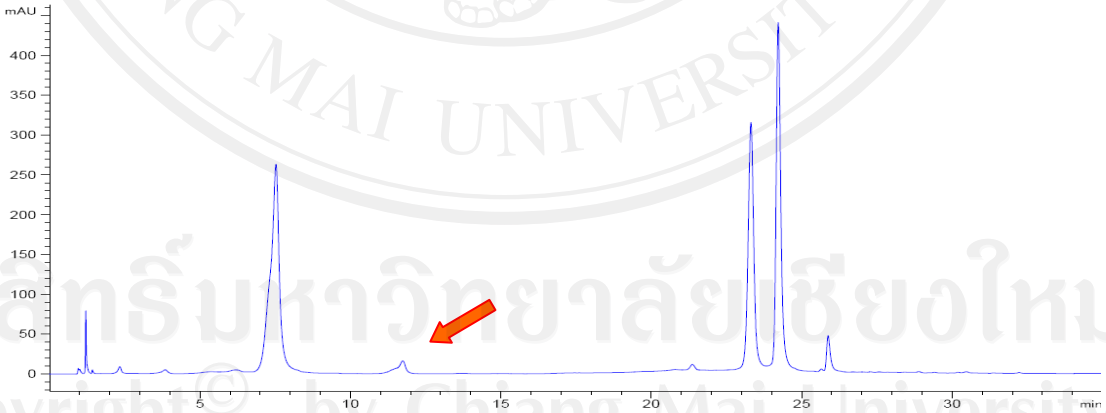
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



(a)



(b)



(c)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 4.2 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารสกัดจากส่วนดอก (a) ใบ (b) และราก (c) ของตัวอย่างอาร์ติโชกสด ลูกศรสีแดงชี้แสดง peak ของสารไซนาริน (1,3-dicaffeoylquinic acid)

ตารางที่ 4.1 พบว่า ส่วนรากอาร์ติโชกมีปริมาณสารไซนารินสูงกว่าส่วนดอกและใบ โดยส่วนรากอาร์ติโชกที่ได้จากศูนย์พัฒนาโครงการหลวงวัดจันทร์มีปริมาณสารไซนารินสูงสุดเท่ากับ $2.22x10^{-2}$ ±0.0013 g/100 g d.w. ทั้งนี้ข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารประกอบฟีนอลิกในส่วนรากอาร์ติโชกยังมีน้อย เนื่องจากต่างประเทศไม่ใช้ประโยชน์จากส่วนรากอาร์ติโชก โดยมีงานวิจัยศึกษาถึงผลของสารสกัดจากรากอาร์ติโชกต่อการสร้างเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายจากเนื้อแท้ ด้วยวิธีเร่งการแบ่งเซลล์ (Regeneration) และเพิ่มน้ำหนักของปริมาณเนื้อตับที่เหลือของหนูที่ผ่านการฆ่ามาแล้ว เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่า สารสกัดจากรากอาร์ติโชกมีศักยภาพน้อยกว่าสารสกัดจากใบอาร์ติโชก (Maros *et al*., 1966) นอกจากนี้ในประเทศบราซิลมีการใช้สารสกัดจากส่วนรากอาร์ติโชกเพื่อลดน้ำหนัก (Dickel *et al.*, 2007)

เมื่อพิจารณาผลการทดลองที่ 1 พบว่า ส่วนใบและรากอาร์ติโชกมีความเหมาะสมในการนำมาเป็นวัตถุดิบในการสกัดสารสกัด โดยส่วนใบอาร์ติโชกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าส่วนดอกและรากอาร์ติโชก ทั้งนี้ส่วนรากอาร์ติโชกนั้นมีปริมาณสารไซนารินสูงกว่าส่วนดอกและใบอาร์ติโชก ซึ่งส่วนดอกอาร์ติโชกเมื่อนำมาจำหน่ายเพื่อการบริโภคจะมีมูลค่าสูง ในขณะที่ส่วนรากและใบอาร์ติโชกไม่สามารถนำมาบริโภคได้และมีราคาต่ำกว่าส่วนดอก 4-5 เท่า เหมาะแก่การนำไปเป็นวัตถุดิบในการสกัดสารสกัด จากเหตุผลดังกล่าวจึงเลือกใช้ส่วนใบและรากอาร์ติโชก ทำการทดลองที่ 2 ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 การศึกษากระบวนการสกัดที่มีผลต่อคุณลักษณะ และคุณสมบัติของสารสกัดธรรมชาติจากพืชอาร์ติโชก

2.1 การศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่มีผลต่อกระบวนการสกัด

เนื่องจากชนิดของตัวทำละลายมีผลต่อกระบวนการสกัด (Llorach *et al.,* 2002; Wang *et al*., 2003) จึงทำการทดลองศึกษาชนิดของตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำ สารละลายเอทานอลในอัตราส่วนร้อยละ 10–90 และเอทานอลในการสกัดอาร์ติโชก โดยใช้ส่วนใบอาร์ติโชกที่ผ่านการอบแห้งเป็นตัวแทนในการสกัด นำมาบดละเอียด ใช้อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:10 ใส่ลงในฟลาส์กเขย่าที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง วิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารไซนารินของสารสกัดที่ได้ ผลดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant capacity; IC_{50}) และปริมาณสารไซนาริน (Cynarin) ของส่วนใบอาร์ติโชกที่ผ่านการอบแห้ง เมื่อทำการผันแปรอัตราส่วนของตัวทำละลาย

ตัวทำละลาย	Total phenolic content (g CA /100 g d.w.)	Antioxidant capacity (IC_{50}) (mg d.w./ml)	Cynarin (g /100 g d.w.)
น้ำ	4.67 ± 0.03^{e}	0.43 ± 0.01^{d}	$1.51\times10^{-2}\pm0.0001^{a}$
เอทานอลร้อยละ 10	3.73 ± 0.03^{g}	0.99 ± 0.01^{b}	$1.56\times10^{-3}\pm0.0001^{ij}$
เอทานอลร้อยละ 20	4.29 ± 0.09^{f}	0.57 ± 0.01^{c}	$6.53\times10^{-3}\pm0.0003^{h}$
เอทานอลร้อยละ 30	4.77 ± 0.07^{e}	0.43 ± 0.01^{d}	$8.86\times10^{-3}\pm0.0002^{fg}$
เอทานอลร้อยละ 40	6.06 ± 0.03^{bc}	0.31 ± 0.01^{e}	$9.40\times10^{-3}\pm0.0001^{df}$
เอทานอลร้อยละ 50	6.19 ± 0.10^{b}	0.18 ± 0.01^{f}	$1.15\times10^{-2}\pm0.0004^{bc}$
เอทานอลร้อยละ 60	7.31 ± 0.04^{a}	0.09 ± 0.01^{g}	$1.25\times10^{-2}\pm0.0004^{b}$
เอทานอลร้อยละ 70	5.78 ± 0.16^{c}	0.40 ± 0.01^{d}	$1.04\times10^{-2}\pm0.0007^{cd}$
เอทานอลร้อยละ 80	5.15 ± 0.14^{d}	0.42 ± 0.01^{d}	$8.11\times10^{-3}\pm0.0002^{g}$
เอทานอลร้อยละ 90	1.36 ± 0.01^{h}	1.52 ± 0.01^{a}	$2.39\times10^{-3}\pm0.0002^{i}$
เอทานอลร้อยละ 100	0.27 ± 0.01^{i}	ND	$7.91\times10^{-4}\pm0.0001^{j}$

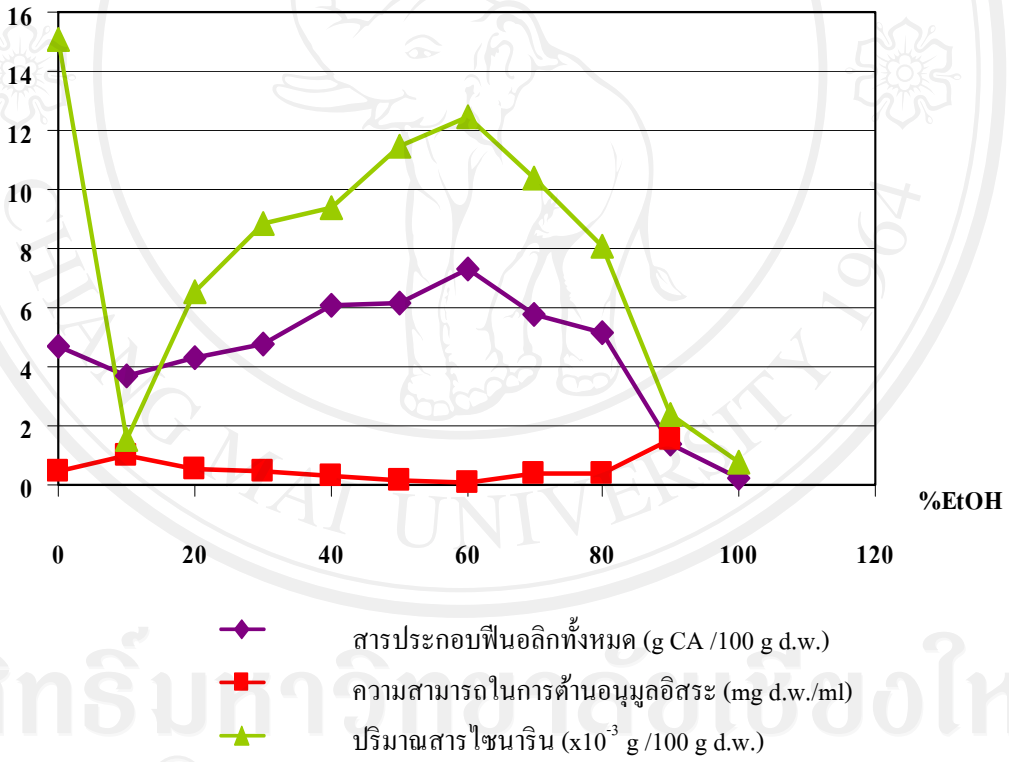
* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมภ์เดียวกัน แสดงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ND ไม่สามารถตรวจสอบผลได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการทดลอง พบว่า ชนิดของตัวทำละลายมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารไซนารินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยการใช้สารละลายเอทานอลร้อยละ 60 สารสกัดที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 7.31±0.04 g CA /100 g d.w. และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ 0.09±0.01 mg d.w./ml แต่สารสกัดที่ได้มีปริมาณสารไซนารินเท่ากับ 1.25×10^{-2}±0.0004 g /100 g d.w. น้อยกว่าการใช้น้ำในการสกัด ซึ่งสารสกัดที่ใช้น้ำในการสกัดจะมีปริมาณสารไซนารินสูงสุดคือ 1.51×10^{-2}±0.0001 g /100 g d.w. ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของใบอาร์ติโชกที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายเท่ากับ 4.67±0.03 g CA / 100 g d.w. และ 0.43±0.01 mg d.w./ml ตามลำดับ



ภาพที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant capacity; IC_{50}) และปริมาณสารไซนาริน (Cynarin) เมื่อใช้ตัวน้ำ (เอทานอลร้อยละ 0) และสารละลายเอทานอลในอัตราส่วนร้อยละ 10-90 ในการสกัด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อใช้สารละลายเอทานอลร้อยละ 60 และน้ำในการสกัดสารสกัด พบว่า สารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่เป็นสารที่มีสมบัติชอบน้ำ (Hydrophilic components) จึงละลายได้ในตัวทำละลายที่มีขั้ว (ภาสกร, 2550) ดังนั้นการเลือกใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วอย่างน้ำ และสารละลายเอทานอลจึงช่วยให้สารประกอบฟีนอลิกละลายอยู่ในสารสกัดได้มาก

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Llorach *et al*. (2002) ในการสกัดอาร์ติโชกเชิงอุตสาหกรรม พบว่า การใช้น้ำ และเมทานอลเป็นตัวทำละลายจะมีประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดอาร์ติโชกที่ใช้น้ำ และเมทานอลในการสกัด พบว่า สารสกัดที่ใช้น้ำในการสกัดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัดที่ใช้เมทานอลในการสกัด ซึ่งการใช้น้ำมีความปลอดภัย และราคาถูกกว่าการใช้เมทานอล ส่วน Mabeau *et al*. (2007) กล่าวถึงการใช้ตัวทำละลายน้ำผสมเอทานอลมีความเหมาะสมในการสกัดสารสกัดจากอาร์ติโชก

ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดจัดเป็นปัจจัยสำคัญหนึ่งที่มีผลต่อกระบวนการสกัด โดยชนิดของตัวทำละลายมีผลต่อความแตกต่างของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัด เนื่องจากความมีขั้วที่แตกต่างกันของตัวทำละลายแต่ละชนิด ซึ่งจะสัมพันธ์กับค่าดัชนีความมีขั้ว (Polarity index) โดยน้ำและเอทานอลมีค่าดัชนีความมีขั้วแตกต่างกัน ดังตารางที่ 4.3 ส่วนค่าดัชนีความมีขั้วของตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลและน้ำที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้แสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.3 คุณสมบัติของตัวทำละลาย

ตัวทำละลาย	ค่าดัชนีความมีขั้ว	ความหนืด	จุดเดือด (องศาเซลเซียส) (1 atm)
น้ำ	9.00	1.00	100.00
เอทานอล	5.20	1.20	78.30

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การใช้ตัวทำละลายน้ำผสมกับเอทานอลค่าดัชนีความมีขั้วของตัวทำละลายผสมมีความแตกต่างกัน สามารถคำนวณได้จากสมการ (Hemwimon *et al.,* 2007)

$$P_m = Ø_1 P_1 + Ø_2 P_2$$

(โดยที่ P_m ค่าดัชนีความมีขั้วของตัวทำละลายผสม; $Ø_1$ และ $Ø_2$ คือสัดส่วนปริมาณของตัวทำละลายที่ 1 และ 2 ตามลำดับ P_1 และ P_2 คือค่าดัชนีความมีขั้วของตัวทำละลายที่ 1 และ 2 ตามลำดับ)

ตารางที่ 4.4 ค่าดัชนีความมีขั้วของตัวทำละลายผสมระหว่างน้ำกับเอทานอลในการทดลอง

เอทานอล (ร้อยละ)	10	20	30	40	50	60	70	80	90
ค่าดัชนีความมีขั้ว	8.62	8.24	7.86	7.48	7.10	6.72	6.34	5.96	5.58

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.2 พบว่า เมื่อใช้เอทานอลร้อยละ 10 มีผลทำให้ปริมาณสารไซนารินในสารสกัดน้อยกว่าการใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติทางเคมีด้านอื่นๆ เช่น ความหนืดของตัวทำละลาย ความแรงของตัวทำละลาย (Solvent strength) เป็นต้น ความแตกต่างทางด้านโครงสร้างและองค์ประกอบของระบบตัวทำละลายกับตัวถูกละลายในระหว่างการสกัด ซึ่งแสดงลักษณะที่แตกต่างกันไป ไม่สามารถทำนายได้ (Pinelo *et al.,* 2004)

ส่วนปัจจัยอื่นที่มีผลในกระบวนการสกัดสารสกัด ได้แก่ อัตราส่วนของตัวทำละลายและตัวถูกละลาย สภาวะในการสกัด อุณหภูมิ เวลาในการสกัด วิธีการสกัด เป็นต้น เนื่องจากมีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อกระบวนการสกัด การศึกษาเพื่อหากระบวนการสกัดเพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในพืชทุกชนิดจึงทำได้ยาก (Naczk and Shahidi, 2004)

การเลือกใช้ตัวทำละลายเป็นสิ่งที่ควรพิจารณาสำหรับการสกัดสารในภาคอุตสาหกรรม ทั้งความปลอดภัย ความสามารถในการสกัดสารที่ต้องการรวมถึงราคา ซึ่งการใช้เอทานอลร้อยละ 60 และการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายนั้นมีความปลอดภัย และมีประสิทธิภาพที่ในการสกัด หากใช้น้ำในการสกัดจะได้สารสกัดที่มีปริมาณสารไซนารินสูงสุด ส่วนการใช้เอทานอลร้อยละ 60 ในการสกัดจะได้สารสกัดที่มีปริมาณสารไซนารินเป็นอันดับสอง แต่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ดังนั้นในการทดลองเพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในกระบวนการสกัดสารสกัดจากอาร์ติโชกจึงเลือกทั้งเอทานอลร้อยละ 60 และน้ำเป็นตัวทำละลาย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2 การศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีผลต่อคุณลักษณะของสารสกัดจากพืชอาร์ติโชก

2.2.1 การสกัดสารสกัดจากส่วนใบอาร์ติโชก

2.2.1.1 ผลการทดลองเมื่อใช้เอทานอลร้อยละ 60 ในการสกัด

การศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อคุณลักษณะ และคุณสมบัติของสารสกัดจากส่วนใบอาร์ติโชกที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 15 ชั่วโมง โดยใช้อัตราส่วนของเอทานอลร้อยละ 60 ต่อใบบดละเอียด คือ 10:1 สกัดในอ่างที่ควบคุมอุณหภูมิ วางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment in Central Composite Design (ไพโรจน์, 2547) สารสกัดที่ได้นำมาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตของสารสกัด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารไซนาริน ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ผลผลิตของสารสกัด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant capacity; IC_{50}) และปริมาณสารไซนาริน (Cynarin) ของส่วนใบอาร์ติโชกที่ผ่านการอบแห้ง ทำการผันแปรอุณหภูมิและเวลาในการสกัด เมื่อใช้เอทานอลร้อยละ 60 เป็นตัวทำละลาย

รหัสปัจจัย	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (ชั่วโมง)	Total phenolic content (g CA /100 g d.w.)	ผลผลิตของสารสกัด (ร้อยละ)	Antioxidant capacity (IC_{50}) (mg d.w. /ml)	Cynarin (g /100 g d.w.)
(1)	34 (-1)	2 (-1)	7.29±0.04	28.25±0.49	0.07±0.01	$6.61x10^{-2}$±0.0005
a	76(+1)	2 (-1)	9.33±0.01	34.54±0.08	0.06±0.01	$9.99x10^{-2}$±0.0001
b	34 (-1)	7 (+1)	7.90±0.08	30.56±0.61	0.07±0.01	$8.02x10^{-2}$±0.0002
ab	76 (+1)	7 (+1)	8.33±0.06	33.10±0.67	0.07±0.01	$8.43x10^{-2}$±0.0001
-αa	25 (-1.414)	4.50 (0)	7.30±0.28	27.82±0.28	0.06±0.01	$6.25x10^{-2}$±0.0004
+αa	85 (+1.414)	4.50 (0)	9.11±0.03	32.92±0.58	0.08±0.01	$9.72x10^{-2}$±0.0001
-αb	55 (0)	1 (-1.414)	7.51±0.05	29.27±0.17	0.09±0.01	$6.46x10^{-2}$±0.0001
+αb	55 (0)	8(+1.414)	7.54±0.05	31.49±0.84	0.08±0.01	$7.10x10^{-2}$±0.0007
Cp1	55 (0)	4.50 (0)	7.86±0.04	32.15±0.22	0.08±0.01	$7.60x10^{-2}$±0.0003
Cp2	55 (0)	4.50 (0)	7.83±0.02	33.97±0.23	0.08±0.01	$7.66x10^{-2}$±0.0001

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากตารางที่ 4.5 พบว่า สิ่งทดลองที่ใช้อุณหภูมิ 76 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในการสกัดสารสกัดจากส่วนใบอาร์ติโชก โดยใช้เอทานอลร้อยละ 60 เป็นตัวทำละลาย ทำให้สารสกัดที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตสารสกัด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารไซนารินสูงสุดคือ 9.33±0.01 g CA /100 g d.w., ร้อยละ 34.54±0.08, 0.06±0.01 mg d.w. /ml และ $9.99x10^{-2}$±0.0001 g /100 g d.w. ตามลำดับ โดยการใช้น้ำร้อนสกัดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกในการสกัดอาร์ติโชก (Llorach *et al*., 2002) ซึ่งอาร์ติโชกที่ผ่านกระบวนการความร้อนจะมีปริมาณของสาร Caffeoylquinic acid ทั้งหมดสูงขึ้น (Ferracane *et al.*, 2008)

จากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์เชิงเส้น พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตของสารสกัด และปริมาณสารไซนารินมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) นั่นคือ อุณหภูมิ และเวลาในการสกัดสารสกัด ภายในช่วงที่ทำการศึกษามีผลต่อค่าคุณภาพดังกล่าว แสดงสมการดังตารางที่ 4.6

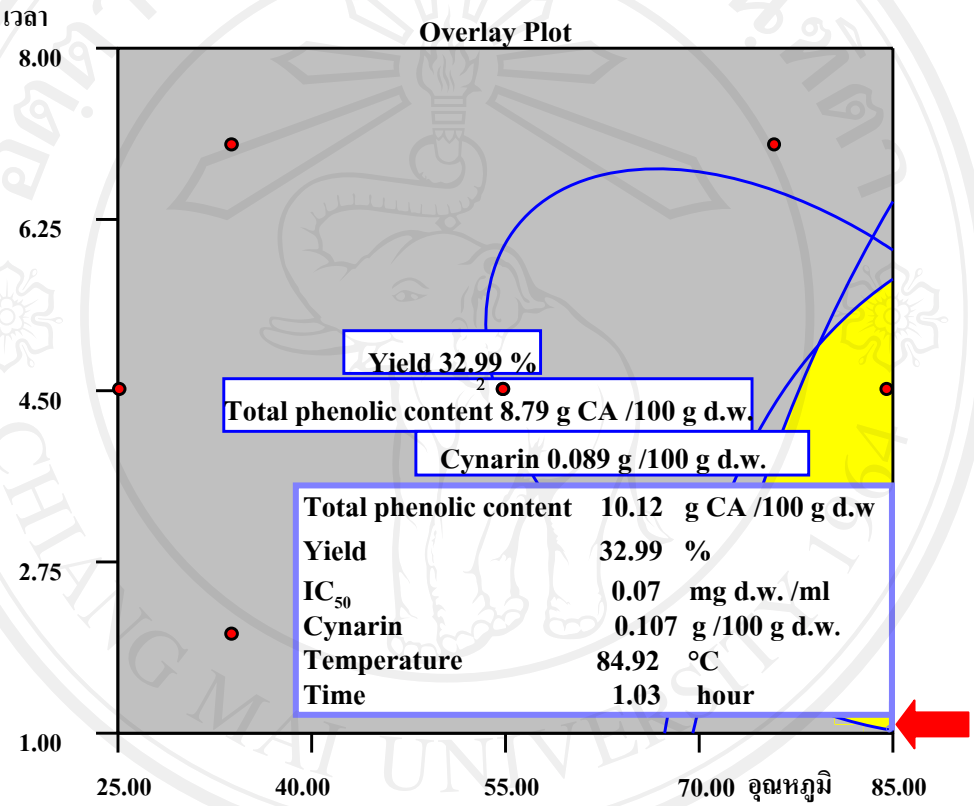
ตารางที่ 4.6 สมการถดถอยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและเวลาต่อค่าคุณภาพด้านต่างๆ ของสารสกัดส่วนใบอาร์ติโชก เมื่อใช้เอทานอลร้อยละ 60 เป็นตัวทำละลาย

สมการถดถอย		R^2	ระดับนัยสำคัญ (p)
Total phenolic content	$=+6.34-9.95x10^{-3}$ (อุณหภูมิ)+0.40(เวลา)+$6.76x10^{-4}$(อุณหภูมิ)^2-$7.67x10^{-3}$(อุณหภูมิ)(เวลา)	0.8866	0.0033
ผลผลิตของสารสกัด	=+12.04+0.43(อุณหภูมิ)+2.70(เวลา)-2.35 (อุณหภูมิ)^2-0.16(เวลา)^2-0.02(อุณหภูมิ)(เวลา)	0.7451	0.0499
Cynarin	$=+0.01+1.15 x10^{-3}$ (อุณหภูมิ)+$8.17 x10^{-3}$ (เวลา) -$1.41x10^{-4}$ (อุณหภูมิ)(เวลา)	0.6669	0.0219

ผลการทดลองดังกล่าว (ตารางที่ 4.5) ทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยคัดเลือกเฉพาะค่าตอบสนองที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เพื่อนำไปทำการหาสภาวะกระบวนการผลิตที่ดีที่สุด (Optimization) สำหรับกระบวนการสกัด โดยวิธีการสร้างพื้นที่ตอบสนอง (Response surface methodology) ของค่าตอบสนองที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

($p \leq 0.05$) ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตของสารสกัดที่ได้ และปริมาณสารไซนาริน สำหรับค่าที่ใช้กำหนดระดับในการหาสภาวะการสกัดที่ดีที่สุด ดังนี้ ช่วงอุณหภูมิระหว่าง 25 ถึง 85 องศาเซลเซียส เวลาในการสกัดระหว่าง 1 ชั่วโมง ถึง 8 ชั่วโมง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าหรือเท่ากับ 8.79 g CA /100 g d.w. ผลผลิตของสารสกัดมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 32.99 และปริมาณไซนารินมากกว่าหรือเท่ากับ 0.089 g /100 g d.w. ผลการหาสภาวะกระบวนการผลิตที่ดีที่สุดโดยวิธีการสร้างพื้นที่ตอบสนองแสดงดังภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 กระบวนการผลิตที่ดีที่สุด (Optimization) สำหรับการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดใบอาร์ติโชกอบแห้งโดยใช้เอทานอลร้อยละ 60 เป็นตัวทำละลาย

ในการหาสภาวะของกระบวนการสกัดที่ดีที่สุด (Optimization) ได้ทำการคัดเลือกสภาวะที่ดีที่สุด สำหรับกระบวนการสกัดสารสกัดจากใบของอาร์ติโชก (ดังลูกศรสีแดงชี้) คือ อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สามารถทำนายค่าตอบสนองต่าง ๆ ได้ดังนี้ คือ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 10.12 g CA /100 g d.w. ผลผลิตของสารสกัดร้อยละ 32.99 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 0.07 mg d.w. /ml และปริมาณไซนาริน 1.07×10^{-1} g /100 g d.w. สามารถนำสภาวะการผลิตนี้ไปใช้ในการผลิตสารสกัดเข้มข้นเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.1.2 ผลการทดลองเมื่อใช้น้ำในการสกัด

การศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อคุณลักษณะ และคุณสมบัติของสารสกัดจากอาร์ติโชกในส่วนใบที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 15 ชั่วโมง โดยใช้อัตราส่วนของน้ำต่อใบอาร์ติโชกแห้งบดละเอียด คือ 10:1 สกัดในอ่างที่ควบคุมอุณหภูมิ วางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment in Central Composite Design (ไพโรจน์, 2547) นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตของสารสกัด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารไซนาริน ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ผลผลิตของสารสกัด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant capacity; IC_{50}) และปริมาณสารไซนาริน (Cynarin) ของใบอาร์ติโชกอบแห้ง ทำการผันแปรอุณหภูมิและเวลาในการสกัด เมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

รหัสปัจจัย	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (ชั่วโมง)	Total phenolic content (g CA /100 g d.w.)	ผลผลิตของสารสกัด (ร้อยละ)	Antioxidant capacity (IC_{50}) (mg d.w. /ml)	Cynarin (g /100 g d.w.)
(1)	34 (-1)	2 (-1)	7.31±0.03	29.48±0.37	0.32±0.01	$7.24x10^{-2}$±0.0001
a	76(+1)	2 (-1)	7.81±0.14	34.90±0.09	0.13±0.01	$1.02x10^{-1}$±0.0003
b	34 (-1)	7 (+1)	5.74±0.07	30.33±0.34	0.87±0.01	$8.02x10^{-2}$±0.0004
ab	76 (+1)	7 (+1)	7.49±0.01	34.92±0.21	0.14±0.01	$1.00x10^{-1}$±0.0008
-αa	25 (-1.414)	4.50 (0)	4.81±0.16	28.92±0.28	0.96±0.01	$6.73x10^{-3}$±0.0001
+αa	85(+1.414)	4.50 (0)	8.18±0.05	35.95±0.16	0.10±0.01	$1.18x10^{-1}$±0.0007
-αb	55 (0)	1 (-1.414)	6.85±0.09	30.67±0.68	0.43±0.01	$1.64x10^{-2}$±0.0001
+αb	55 (0)	8(+1.414)	6.62±0.03	32.21±0.10	0.25±0.01	$3.21x10^{-2}$±0.0002
Cp1	55 (0)	4.50 (0)	6.61±0.05	33.92±0.62	0.22±0.01	$3.32x10^{-2}$±0.0002
Cp2	55 (0)	4.50 (0)	6.63±0.13	31.70±0.32	0.22±0.01	$3.07x10^{-2}$±0.0006

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากตารางที่ 4.7 พบว่า สิ่งทดลองที่ใช้อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง 30 นาที ในการสกัดสารสกัดจากใบอาร์ติโชกโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ทำให้สารสกัดที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตของสารสกัด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและสารไซนารินสูงสุดคือ 8.18±0.05 g CA /100 g d.w., ร้อยละ 35.95±0.16, 0.10±0.01 mg d.w. /ml และ $1.18x10^{-1}$±0.0007 g /100 g d.w. ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาค่าคุณภาพด้านต่างๆของสารสกัด วิเคราะห์หาความสัมพันธ์เชิงเส้นพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตของสารสกัด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ปริมาณสารไซนารินไม่แตกต่างกัน นั่นคืออุณหภูมิและเวลาในสกัดสาร ภายในช่วงที่ทำการศึกษามีผลต่อค่าคุณภาพทั้งสาม แต่ไม่มีผลต่อปริมาณสารไซนาริน โดยสามารถแสดงเป็นสมการความสัมพันธ์ของอุณหภูมิและเวลาในสกัดที่มีผลต่อค่าคุณภาพด้านต่างๆ ดังตารางที่ 4.8

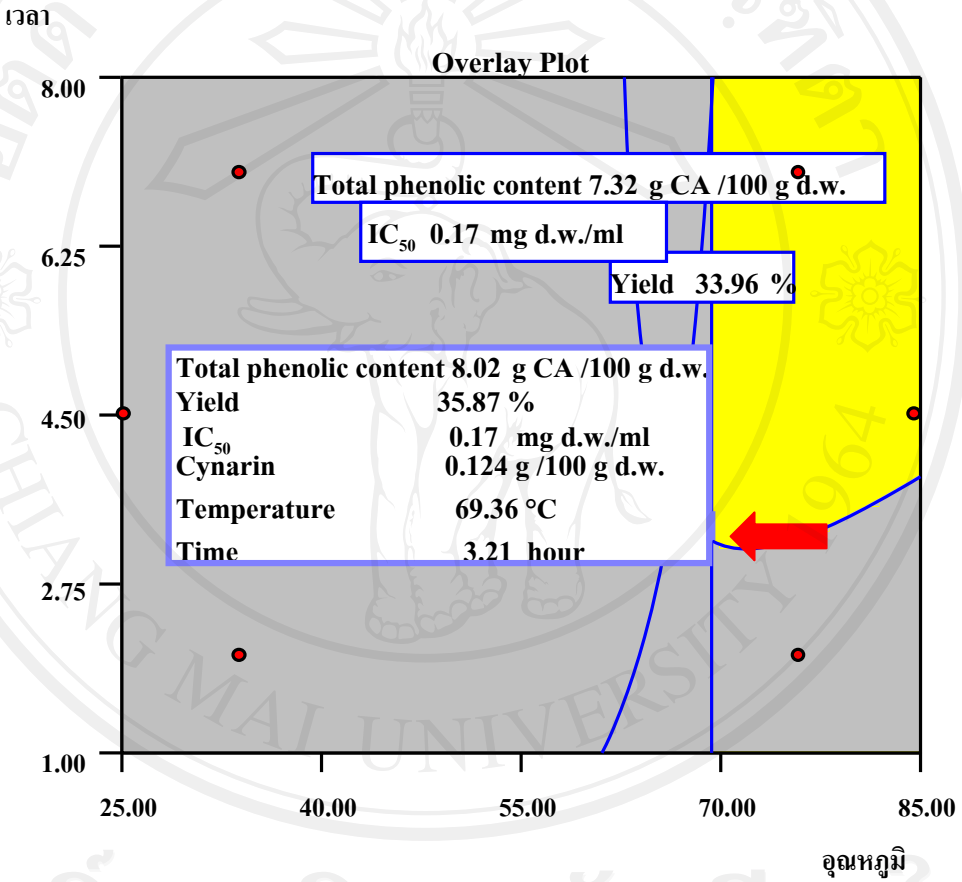
ตารางที่ 4.8 สมการถดถอยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและเวลาต่อค่าคุณภาพด้านต่างๆ ของสารสกัดส่วนใบอาร์ติโชก เมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

สมการถดถอย		R^2	ระดับนัยสำคัญ (p)
Total phenolic content	$=+6.50+0.01$(อุณหภูมิ)-0.44(เวลา)$+5.95x10^{-3}$ (อุณหภูมิ)(เวลา)	0.7139	0.0141
ผลผลิตของสารสกัด	$=+25.83+0.12$(อุณหภูมิ)	0.8773	0.0001
IC_{50}	$=+1.08-0.03$(อุณหภูมิ) $+0.16$(เวลา)$+2.70\ x10^{-4}$ (อุณหภูมิ)$^2-2.57\ x10^{-3}$(อุณหภูมิ)(เวลา)	0.7620	0.0202

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลการทดลองดังกล่าว (ตารางที่ 4.7) นำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ คัดเลือกเฉพาะค่าตอบสนองที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เพื่อหาสภาวะกระบวนการผลิตที่ดีที่สุด (Optimization) สำหรับกระบวนการสกัดสารสกัด โดยวิธีการสร้างพื้นที่ตอบสนอง (Response surface methodology) ของค่าตอบสนองที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตของสารสกัด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ สำหรับ

ค่าที่ใช้กำหนดระดับในการหาสภาวะกระบวนการสกัดที่ดีที่สุด ดังนี้ ช่วงอุณหภูมิระหว่าง 25 ถึง 85 องศาเซลเซียส เวลาในการสกัดระหว่าง 1 ชั่วโมง ถึง 8 ชั่วโมง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าหรือเท่ากับ 7.32 g CA /100 g d.w. ผลผลิตของสารสกัดมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 33.96 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.17 mg d.w./ml ผลการหาสภาวะกระบวนการผลิตที่ดีที่สุดโดยวิธีการสร้างพื้นที่ตอบสนองแสดงดังภาพที่ 4.5



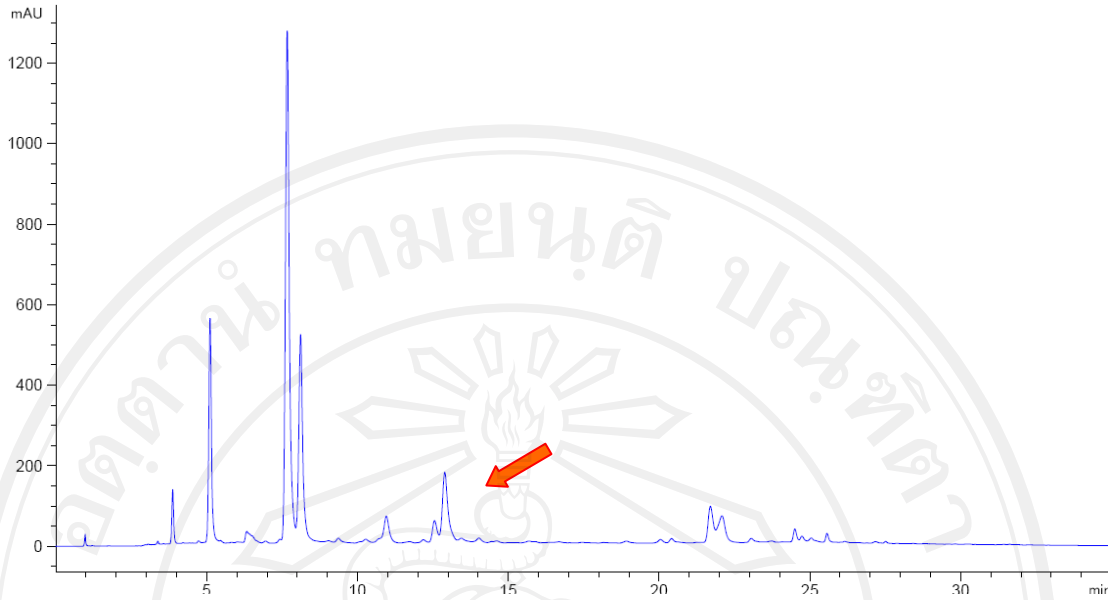
ภาพที่ 4.5 กระบวนการผลิตที่ดีที่สุด (Optimization) สำหรับการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดใบอาร์ติโชกอบแห้ง โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

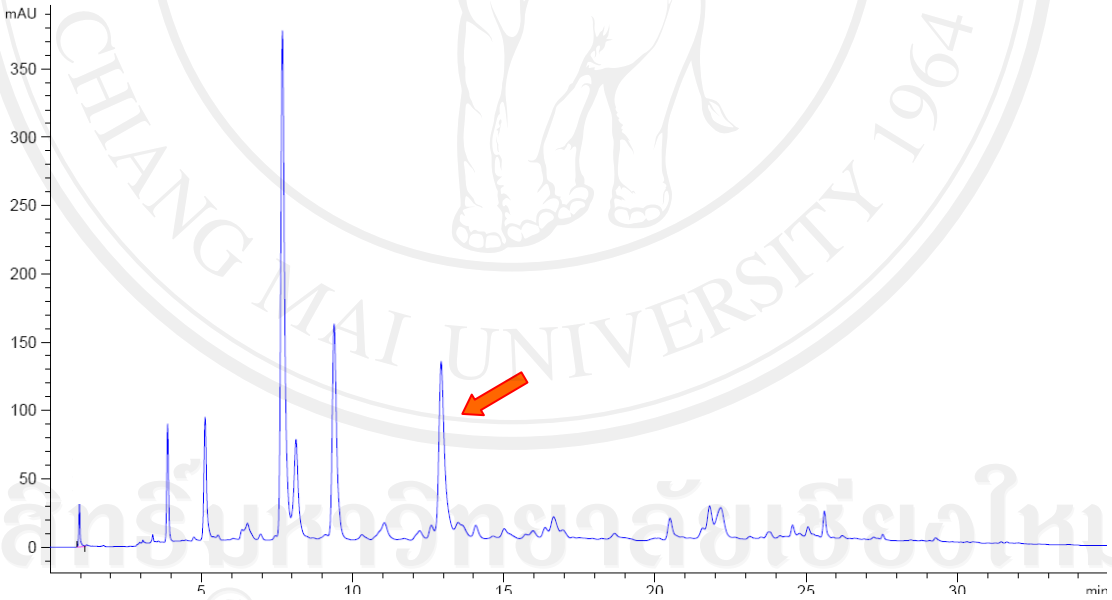
ในการหาสภาวะของกระบวนการสกัดที่ดีที่สุด (Optimization) ได้ทำการคัดเลือกสภาวะที่ดีที่สุดสำหรับกระบวนการสกัดสารสกัดจากใบของอาร์ติโชก เมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย (ดังลูกศรสีแดงชี้) คือ อุณหภูมิ 69.31 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 13 นาที สามารถทำนายค่าตอบสนองต่าง ๆ ได้ดังนี้ คือ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 8.02 g CA /100 g d.w. ผลผลิตของสารสกัดร้อยละ 35.87 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 0.17 mg d.w./ml และปริมาณสารไซนาริน $1.24x10^{-1}$ g /100 g d.w. โดยสามารถนำสภาวะการผลิตนี้ไปใช้ในการผลิตสารสกัดเข้มข้นเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารไซนาริน จะใช้โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดกับสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารสกัดจากส่วนใบแห้ง แสดงดังภาพที่ 4.6

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



(a)



(b)

ภาพที่ 4.6 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารสกัดจากใบอาร์ติโชกอบแห้งเมื่อใช้เอทานอลร้อยละ 60 เป็นตัวทำละลาย (a) และน้ำ เป็นตัวทำละลาย (b)
ลูกศรสีแดงชี้แสดง peak ของสารไซนาริน (1,3-dicaffeoylquinic acid)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.2 การสกัดสารสกัดจากส่วนรากอาร์ติโชก

2.2.2.1 ผลการทดลองเมื่อใช้เอทานอลร้อยละ 60 ในการสกัด

การศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อคุณลักษณะ และคุณสมบัติของสารสกัดจากอาร์ติโชกในส่วนรากที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 15 ชั่วโมง โดยใช้อัตราส่วนของเอทานอลร้อยละ 60 ต่อรากอบแห้งบดละเอียด คือ 10:1 สกัดในอ่างที่ควบคุมอุณหภูมิ วางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment in Central Composite Design (ไพโรจน์, 2547) นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารไซนาริน ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ผลผลิตของสารสกัด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant capacity; IC_{50}) และปริมาณสารไซนาริน (Cynarin) ของรากอาร์ติโชกที่ผ่านการอบแห้ง ทำการผันแปรอุณหภูมิและเวลาในการสกัด เมื่อใช้เอทานอลร้อยละ 60 เป็นตัวทำละลาย

รหัสปัจจัย	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (ชั่วโมง)	Total phenolic content (g CA /100 g d.w.)	ผลผลิตของสารสกัด (ร้อยละ)	Antioxidant capacity (IC_{50}) (mg d.w. /ml)	Cynarin (g /100 g d.w.)
(1)	34 (-1)	2 (-1)	1.50±0.04	13.65±0.02	0.58±0.01	$3.38x10^{-2}$±0.0005
a	76(+1)	2 (-1)	3.21±0.06	18.93±0.15	0.33±0.01	$3.38x10^{-2}$±0.0001
b	34 (-1)	7 (+1)	1.87±0.14	11.87±1.85	0.59±0.02	$3.97x10^{-2}$±0.0002
ab	76 (+1)	7 (+1)	2.86±0.02	18.94±0.12	0.33±0.01	$2.84x10^{-2}$±0.0001
-αa	25 (-1.414)	4.50 (0)	1.54±0.01	12.76±0.32	0.61±0.01	$3.27x10^{-2}$±0.0001
+αa	85(+1.414)	4.50 (0)	3.25±0.27	19.79±0.35	0.43±0.01	$9.98x10^{-2}$±0.0004
-αb	55 (0)	1 (-1.414)	2.25±0.12	15.59±0.09	0.43±0.04	$3.41x10^{-2}$±0.0001
+αb	55 (0)	8(+1.414)	2.67±0.05	16.49±0.23	0.43±0.01	$3.47x10^{-2}$±0.0007
Cp1	55 (0)	4.50 (0)	2.36±0.07	16.51±0.26	0.41±0.02	$3.96x10^{-2}$±0.0003
Cp2	55 (0)	4.50 (0)	2.43±0.04	16.54±2.31	0.38±0.01	$3.82x10^{-2}$±0.0001

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากตารางที่ 4.9 พบว่า สิ่งทดลองที่ใช้อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง 30 นาที ในการสกัดสารสกัดจากรากอาร์ติโชกโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่า สารสกัดที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตของสารสกัด และสารไซนารินสูงสุดคือ 3.25±0.27 g CA /100 g d.w., ร้อยละ 19.79±0.35 และ $9.98x10^{-2}$±0.0004 g /100 g d.w. ตามลำดับ ส่วนค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดพบในสารสกัดที่ใช้อุณหภูมิ 76 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงและ 7 ชั่วโมงเท่ากับ 0.33±0.01 mg d.w. /ml

เมื่อพิจารณาค่าคุณภาพด้านต่างๆของสารสกัด วิเคราะห์หาความสัมพันธ์เชิงเส้น พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตของสารสกัด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ปริมาณสารไซนารินไม่แตกต่างกัน นั่นคือ อุณหภูมิและเวลาในสกัดสารภายในช่วงที่ทำการศึกษามีผลต่อค่าคุณภาพทั้งสาม แต่ไม่มีผลต่อปริมาณสารไซนาริน แสดงเป็นสมการความสัมพันธ์ของอุณหภูมิ และเวลาในสกัดที่มีผลต่อค่าคุณภาพด้านต่างๆ ดังตารางที่ 4.10

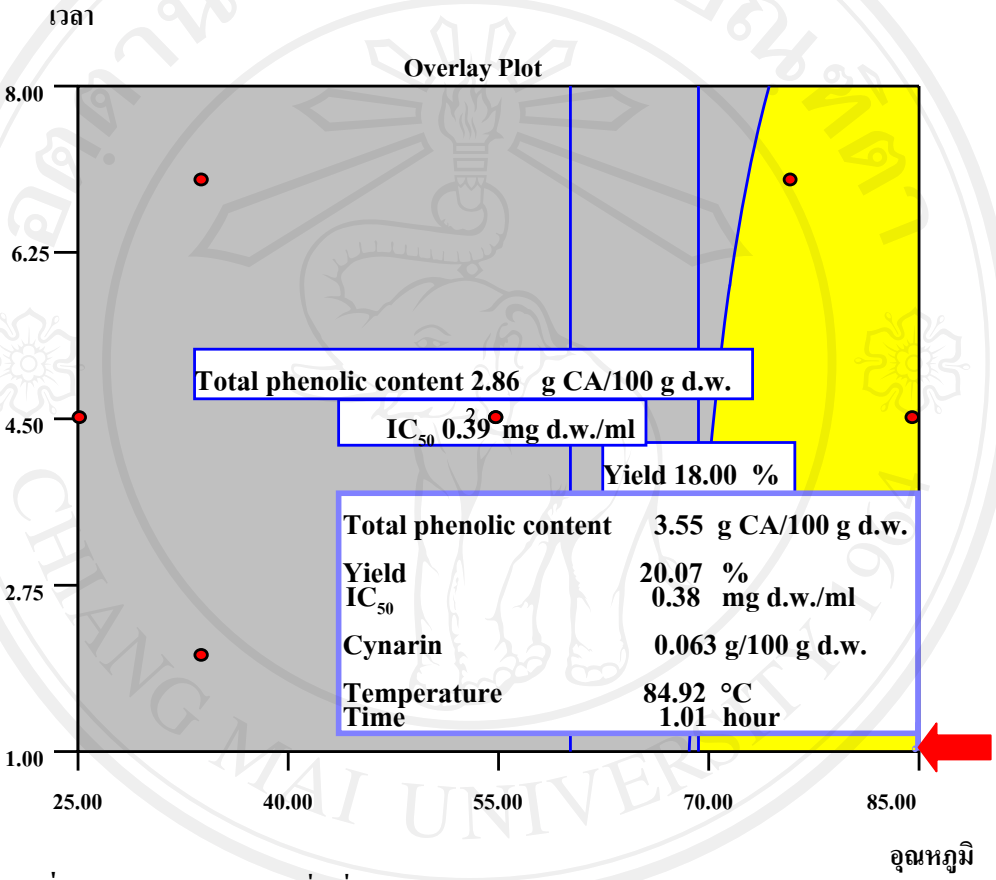
ตารางที่ 4.10 สมการถดถอยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและเวลาต่อค่าคุณภาพด้านต่างๆ ของสารสกัดส่วนรากอาร์ติโชก เมื่อใช้เอทานอลร้อยละ 60 เป็นตัวทำละลาย

	สมการถดถอย	**R^2**	**ระดับนัยสำคัญ (p)**
Total phenolic content	$=-0.26+0.05$(อุณหภูมิ)$+0.22$(เวลา)$-3.38 x10^{-3}$ (อุณหภูมิ)(เวลา)	0.9734	< 0.0001
ผลผลิตของสารสกัด	$=+8.88+0.13$(อุณหภูมิ)	0.9339	< 0.0001
IC_{50}	$=+1.02-0.02$ (อุณหภูมิ)$-1.19 x10^{-4}$ (อุณหภูมิ)^2	0.8784	0.0003

ผลการทดลองดังกล่าว (ตารางที่ 4.9) มาผ่านการวิเคราะห์ผลทางสถิติ คัดเลือกเฉพาะค่าตอบสนองที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เพื่อหาสภาวะกระบวนการผลิตที่ดีที่สุด (Optimization) สำหรับกระบวนการสกัดสารสกัดโดยวิธีการสร้างพื้นที่ตอบสนอง (Response surface methodology) ของค่าตอบสนองที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในแผนการทดลองตอนนี้ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตของสารสกัด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ สำหรับค่าที่ใช้กำหนดระดับในการหาสภาวะกระบวนการสกัดที่ดีที่สุดเป็น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ดังนี้ ช่วงอุณหภูมิระหว่าง 25 ถึง 85 องศาเซลเซียส เวลาในการสกัดระหว่าง 1 ชั่วโมง ถึง 8 ชั่วโมง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าหรือเท่ากับ 2.86 g CA/100 g d.w. ผลผลิตของสารสกัดมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 18 ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.39 mg d.w./ml ผลการหาสภาวะกระบวนการผลิตที่ดีที่สุด โดยวิธีการสร้างพื้นที่ตอบสนองแสดงดังภาพที่ 4.7



ภาพที่ 4.7 กระบวนการผลิตที่ดีที่สุด (Optimization) สำหรับการศึกษาผลของอุณหภูมและเวลาในการสกัดรากอาร์ติโชกอบแห้ง โดยใช้เอทานอลร้อยละ 60 เป็นตัวทำละลาย

ในการหาสภาวะของกระบวนการสกัดที่ดีที่สุด (Optimization) ได้ทำการคัดเลือกสภาวะที่ดีที่สุดสำหรับกระบวนการสกัดสารสกัดจากรากของอาร์ติโชก เมื่อใช้เอทานอลร้อยละ 60 เป็นตัวทำละลาย (ดังศรสีแดงชี้) คือ อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สามารถทำนายค่าตอบสนองต่าง ๆ ได้ดังนี้ คือ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 3.55 g CA /100 g d.w. ผลผลิตของสารสกัดร้อยละ 20.07 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 0.38 mg d.w./ml และปริมาณสารไซนาริน 6.32×10^{-2} g/100 g d.w. สามารถนำสภาวะการผลิตนี้ไปใช้ในการผลิตสารสกัดเข้มข้นเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.2.2 ผลการทดลองเมื่อใช้น้ำในการสกัด

การศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อคุณลักษณะ และคุณสมบัติของสารสกัดจากอาร์ติโชกในส่วนของรากที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 15 ชั่วโมง โดยใช้อัตราส่วนของน้ำต่อรากบดละเอียด คือ 10:1 สกัดในอ่างที่ควบคุมอุณหภูมิ วางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment in Central Composite Design (ไพโรจน์, 2547) นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตของสารสกัด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารไซนาริน ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ผลผลิตของสารสกัด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant capacity; IC_{50}) และปริมาณสารไซนารินของรากอาร์ติโชกที่ผ่านการอบแห้ง ผันแปรอุณหภูมิและเวลาในการสกัด เมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

รหัสปัจจัย	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (ชั่วโมง)	Total phenolic content (g CA /100 g d.w.)	ผลผลิตของสารสกัด (ร้อยละ)	Antioxidant capacity (IC_{50}) (mg d.w. /ml)	Cynarin (g /100 g d.w.)
(1)	34 (-1)	2 (-1)	2.16±0.11	14.71±0.53	0.63±0.01	$9.01x10^{-2}$±0.0009
a	76(+1)	2 (-1)	3.60±0.09	21.29±0.30	0.41±0.04	$1.09x10^{-1}$±0.0001
b	34 (-1)	7 (+1)	2.52±0.07	14.11±1.59	0.61±0.02	$8.76x10^{-2}$±0.0001
ab	76 (+1)	7 (+1)	3.39±0.09	21.17±0.28	0.41±0.01	$1.21x10^{-1}$±0.0015
-αa	25 (1.414)	4.50 (0)	1.68±0.34	13.22±0.60	0.61±0.01	$8.55x10^{-2}$±0.0025
+αa	85(+1.414)	4.50 (0)	3.06±0.06	20.69±0.16	0.43±0.06	$1.42x10^{-1}$±0.0017
-αb	55 (0)	1 (-1.414)	2.72±0.02	17.22±0.09	0.53±0.01	$1.00x10^{-1}$±0.0005
+αb	55 (0)	8(+1.414)	2.78±0.04	15.77±0.41	0.51±0.05	$9.25x10^{-2}$±0.0012
Cp1	55 (0)	4.50 (0)	2.74±0.01	17.77±0.42	0.52±0.01	$1.04x10^{-1}$±0.0005
Cp2	55 (0)	4.50 (0)	2.73±0.14	17.66±0.43	0.53±0.01	$1.02x10^{-1}$±0.0008

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากตารางที่ 4.11 พบว่า สิ่งทดลองที่ใช้อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง 30 นาที ในการสกัดสารสกัดจากรากอาร์ติโชกโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย สารสกัดที่ได้มีปริมาณสารไซนารินสูงสุดคือ $1.42x10^{-1}$±0.0017 g /100 g d.w. ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตของสารสกัด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในสารสกัดที่ใช้อุณหภูมิ 76 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 3.60±0.09 g CA /100 g d.w., ร้อยละ 21.29±0.30 และ 0.14± 0.01 mg d.w. /ml ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์เชิงเส้น พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตของสารสกัด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารไซนารินมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) นั่นคือ อุณหภูมิและเวลาในการสกัดสารสกัดภายในช่วงที่ทำการศึกษามีผลต่อค่าคุณภาพดังกล่าว แสดงดังสมการตารางที่ 4.12

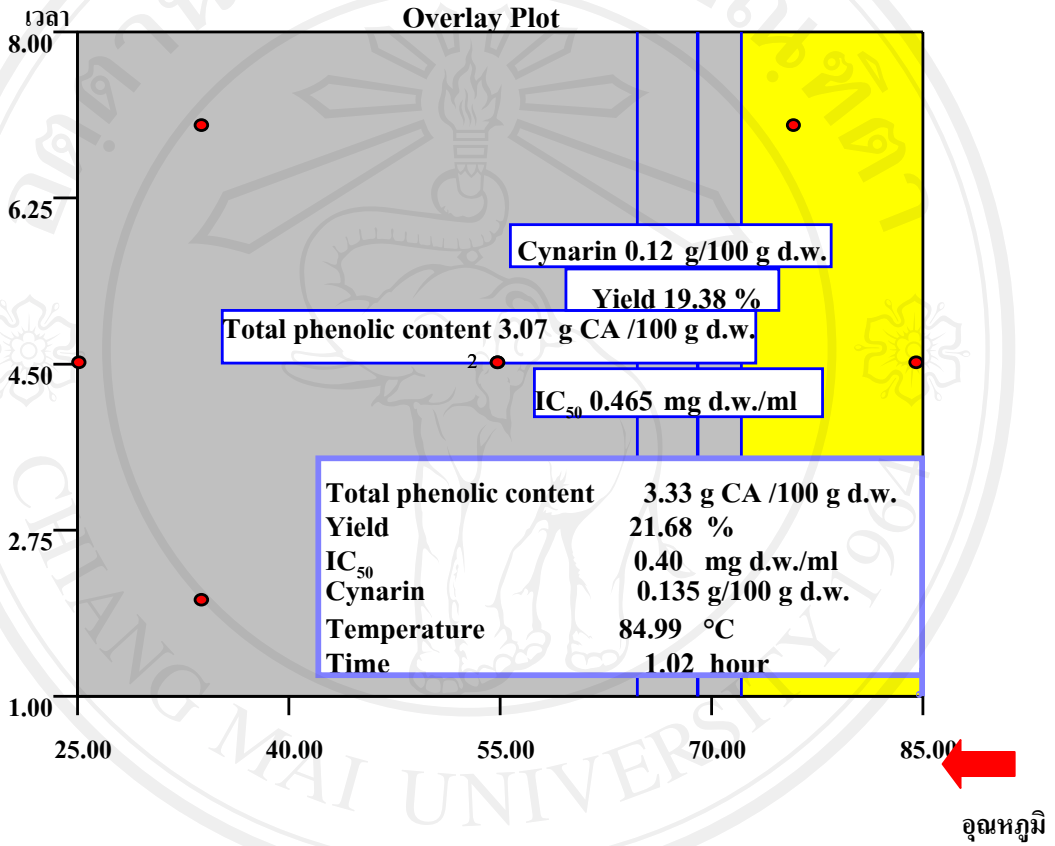
ตารางที่ 4.12 สมการถดถอยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและเวลาต่อค่าคุณภาพด้านต่างๆ ของสารสกัดส่วนรากอาร์ติโชก เมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

สมการถดถอย		R^2	ระดับนัยสำคัญ (p)
Total phenolic content	= +0.51+0.06 (อุณหภูมิ)-3.04 $x10^{-4}$ (อุณหภูมิ)^2	0.8120	0.0012
ผลผลิตของสารสกัด	= +9.44+0.14 (อุณหภูมิ)	0.9234	<0.0001
IC_{50}	= +0.74-3.96$x10^{-3}$(อุณหภูมิ)	0.9200	<0.0001
Cynarin	=+0.09-8.12 $x10^{-4}$ (อุณหภูมิ)+1.45$x10^{-5}$(อุณหภูมิ)^2	0.8527	0.0005

ผลการทดลองดังกล่าว (ตารางที่ 4.11) นำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ คัดเลือกเฉพาะค่าตอบสนองที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เพื่อหาสภาวะกระบวนการผลิตที่เหมาะสมที่สุด (Optimization) สำหรับกระบวนการสกัดสารสกัดโดยวิธีการสร้างพื้นที่ตอบสนอง (Response surface methodology) ของค่าตอบสนองที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในแผนการทดลองตอนนี้ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตของสารสกัด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณไซนาริน สำหรับค่าที่ใช้กำหนดระดับในการหาสภาวะการสกัดที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ดีที่สุดเป็นดังนี้ ช่วงอุณหภูมิมีค่าระหว่าง 25 ถึง 85 องศาเซลเซียส เวลาในการสกัดค่าระหว่าง 1 ชั่วโมง ถึง 8 ชั่วโมง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าหรือเท่ากับ 3.07 g CA /100 g d.w. ผลผลิตของสารสกัดมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 19.38 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.46 mg d.w./ml และปริมาณไซนารินมากกว่าหรือเท่ากับ 0.12 g/100 g d.w. ผลการหาสภาวะกระบวนการผลิตที่ดีที่สุดโดยวิธีการสร้างพื้นที่ตอบสนองแสดงดังภาพที่ 4.8

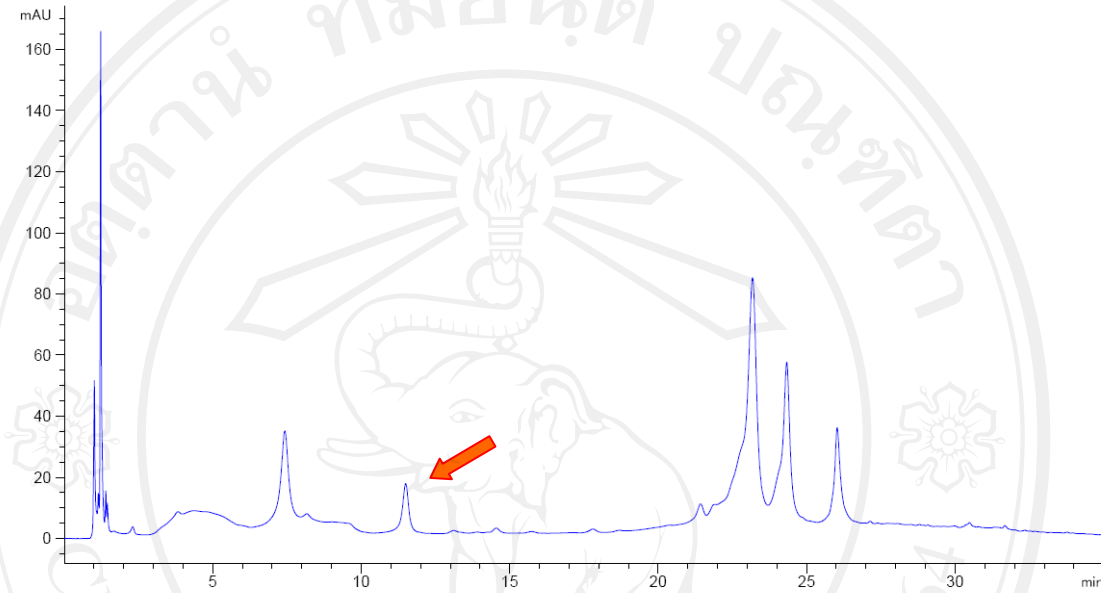


ภาพที่ 4.8 กระบวนการผลิตที่ดีที่สุด (Optimization) สำหรับการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดรากอาร์ติโชกอบแห้งโดยใช้น้ำ เป็นตัวทำละลาย

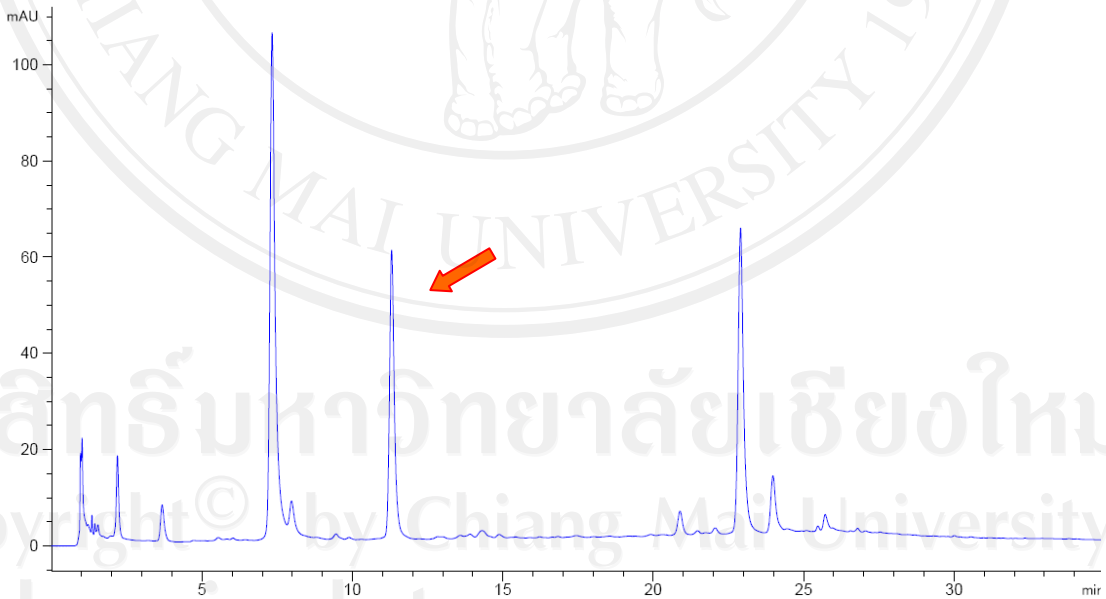
ในการหาสภาวะของกระบวนการสกัดที่ดีที่สุด (Optimization) ได้ทำการคัดเลือกสภาวะที่ดีที่สุดสำหรับกระบวนการสกัดสารสกัดจากรากของอาร์ติโชก (ดังศรสีแดงชี้) คือ อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สามารถทำนายค่าตอบสนองต่าง ๆ จากโปรแกรมทางสถิติ ได้ดังนี้ คือ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 3.33 g CA /100 g d.w. ผลผลิตของสารสกัดร้อยละ 21.68 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 0.40 mg d.w./ml และปริมาณสารไซนาริน $1.35x10^{-1}$ g/100 g d.w. โดยสามารถนำสภาวะการผลิตนี้ไปใช้ในการผลิตสารสกัดเข้มข้นเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารไซนาริน จะใช้โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดกับสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารสกัดจากส่วนรากแห้ง แสดงดังภาพที่ 4.9



(a)



(b)

ภาพที่ 4.9 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารสกัดจากรากอาร์ติโชกอบแห้งเมื่อใช้เอทานอลร้อยละ 60 เป็นตัวทำละลาย (a) และน้ำเป็นตัวทำละลาย (b)
ลูกศรสีแดงชี้แสดง peak ของสารไซนาริน (1,3-dicaffeoylquinic acid)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลการทดลองที่ 2 การสกัดสารสกัดจากใบและรากอาร์ติโชกโดยใช้เอทานอลร้อยละ 60 และน้ำเป็นตัวทำละลาย เมื่ออุณหภูมิในการสกัดสูง 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะทำให้สารสกัดที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตของสารสกัด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) และปริมาณไซนารินมีแนวโน้มสูงขึ้น เมื่อเทียบกับการทดลองที่ 1 อาจเนื่องจากการทดลองที่ 2 ใช้ตัวอย่างแห้งในการสกัดและการใช้อุณหภูมิสูงในการสกัด โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดอาร์ติโชกจากการทดลองนี้ อยู่ในช่วงของงานวิจัยที่เคยศึกษามาก่อน (Wang *et al*., 2003) ส่วนปริมาณสารไซนาริน (1,3 dicaffeoylquinic acid) ในการทดลองนี้มีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับงานวิจัย ซึ่งปริมาณสารไซนารินในส่วนดอกและใบของอาร์ติโชกสายพันธุ์ต่างๆของต่างประเทศอยู่ในช่วงร้อยละ 0.24-1.62 (Wang *et al*., 2003; Lattanzio *et al*., 2009)

อุณหภูมิและเวลาในการสกัดมีผลต่อคุณลักษณะของสารสกัดที่ได้ การใช้อุณหภูมิสูงมีผลต่อประสิทธิภาพการละลาย และค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารที่ต้องการเพิ่มมากขึ้น แต่อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดสูงเกินไปก็มีผลต่อการเสื่อมสลายของสารประกอบฟีนอลิกได้ เวลาในการสกัด การใช้เวลาในการสกัดที่นาน บางครั้งไม่มีผลที่แตกต่างในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกในพืช เมื่อเทียบกับการใช้เวลาสกัดสั้น (Uma *et al.,* 2010)

ในการพิจารณาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารไซนารินของอาร์ติโชกในงานวิจัยต่างๆ มีค่าแตกต่างอาจเนื่องมาจากหลายสาเหตุ ได้แก่ ในส่วนของวัตถุดิบ ส่วนของอาร์ติโชกและสายพันธุ์ของอาร์ติโชกที่แตกต่างกัน มีผลต่อชนิดปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกแตกต่างกัน (Fratianni *et al*., 2007; Romani *et al.,* 2006; Wang *et al*., 2003) อีกทั้งการกระจายตัวของสารประกอบฟีนอลิกในช่วงที่พืชมีการเจริญเติบโตแตกต่างกัน รวมถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกขึ้นอยู่กับยีน และปัจจัยภายนอก เช่น สิ่งแวดล้อม การเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษา (Fratianni *et al*., 2007; Falleh *et al*., 2008) นอกจากนี้วิธีการสกัดและวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่วิเคราะห์ เช่น ความมีขั้วของสารประกอบฟีนอลิกแต่ละชนิดแตกต่างกันทำให้ละลายในตัวทำละลายแตกต่างกัน ระดับของการเกิดโพลีเมอไรเซชันของสาร และความสามารถในการจับตัวกับองค์ประกอบอื่นในพืช ทำให้เกิดเป็นสารที่ละลายได้ยากขึ้น ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ละลายอยู่ในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้ (Schütz *et al*., 2006a; Falleh *et al*., 2008)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.13 อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการสกัดใบและรากอาร์ติโชก

ส่วนของพืช	ใบ		ราก	
ตัวทำละลาย	เอทานอลร้อยละ 60	น้ำ	เอทานอลร้อยละ 60	น้ำ
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	85	69.31	85	85
เวลา (ชั่วโมง)	1	3.21	1	1
Total phenolic content (g CA /100 g d.w.)	10.12	8.02	3.55	3.33
ผลผลิตของสารสกัด (ร้อยละ)	32.99	35.87	20.17	21.68
Antioxidant capacity (IC_{50}) (mg d.w. /ml)	0.07	0.17	0.38	0.40
Cynarin (g /100 g d.w.)	$1.07x10^{-1}$	$1.24x10^{-1}$	$6.32 x10^{-2}$	$1.35x10^{-1}$

ตารางที่ 4.13 แสดงถึงอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการสกัดส่วนใบและรากอาร์ติโชก โดยใช้เอทานอลร้อยละ 60 และน้ำเป็นตัวทำละลาย เมื่อพิจารณาค่าคุณลักษณะของสารสกัดที่ได้ จากการทำนาย พบว่า สารสกัดจากใบอาร์ติโชกที่สกัดด้วยน้ำ และเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ผลผลิตของสารสกัด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากส่วนรากอาร์ติโชก แต่ปริมาณสารไซนารินในสารสกัดจากส่วนรากของอาร์ติโชกมีค่าสูงสุด และสารสกัดจากใบของอาร์ติโชกมีรสชาติขมมาก นิยมนำมาผลิตในรูปแบบของอาหารเสริมอัดเม็ด หรือแคปซูล (Dickel *et al.*, 2007) ซึ่งจะมีสรรพคุณทางยามากกว่านำมาใช้ในเป็นส่วนผสมในอาหาร พิจารณาเลือกรากเป็นวัตถุดิบในการสกัด โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย เพื่อนำไปใช้เป็นส่วนผสมในแผ่นฟิล์มละลายเร็ว

การศึกษาหาวิธีการสกัดสารสกัดจากส่วนรากอาร์ติโชกอบแห้งที่เหมาะสม ด้วยการสกัดแบบใช้ตัวทำละลาย (Solvent extraction, Solid-liquid extraction) จากการศึกษาชนิดของ ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัด โดยวางแผนการ Completely Randomized Design (CRD) ทำให้ทราบว่า การใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย สารสกัดที่ได้มีปริมาณสารไซนารินมากกว่าการใช้เอทานอลร้อยละ 60 จากนั้นทำการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดรากอาร์ติโชกอบแห้ง วางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment in Central Composite Design พบว่า การใช้อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เป็นกระบวนการสกัดสารสกัดจากส่วนรากอาร์ติโชกอบแห้งที่เหมาะสม ทำการทวนสอบผลการทดลอง (Method validation) ได้ผลดังตารางที่ 4.14

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.14 การทวนสอบผลการทดลอง (Method validation) ของการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดสารสกัดจากรากอาร์ติโชกอบแห้ง

ค่าคุณลักษณะทางกายภาพและเคมี	ค่าจากการทำนาย	ค่าจากการทดลอง	ความคลาดเคลื่อน (ร้อยละ)
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (g CA /100 g d.w.)	3.33	3.20±0.10	4.06
ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) (mg d.w. /ml)	0.40	0.40±0.01	0
ปริมาณสารไซนาริน(g /100 g d.w.)	$1.35x10^{-1}$	$1.43 x10^{-1}$±0.0001	5.59
ผลผลิตของสารสกัด (ร้อยละ)	21.68	23.10±1.42	6.15

* ความคลาดเคลื่อน (ร้อยละ) = |(ค่าจากการทดสอบจริง - ค่าจากการทำนาย)/ค่าจากการทดสอบจริง| x 100

ในการทวนสอบผลการทดลองสกัดรากอาร์ติโชกโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย เพื่อใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มละลายเร็ว (ตารางที่ 4.14) พบว่า สารสกัดที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 3.20±0.10 g CA /100 g d.w., ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) 0.40±0.01 mg d.w. /ml, ปริมาณสารไซนาริน $1.43x10^{-1}$±0.0001 g /100 g d.w. และผลผลิตของสารสกัดที่ได้เท่ากับร้อยละ 23.10±1.42 ซึ่งค่าคุณภาพของสารสกัดจากการทดลองมีค่าใกล้เคียงกับค่าจากการทำนายมีความแตกต่างกันต่ำกว่าร้อยละ 10 จึงถือว่าสภาวะในการสกัดที่ใช้อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงเหมาะสมต่อการสกัดรากอาร์ติโชก

นำสารสกัดอาร์ติโชกที่ได้ดังกล่าวมาทำให้เข้มข้น โดยการระเหยภายใต้สุญญากาศด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนเหวี่ยง ควบคุมอุณหภูมิของสารสกัด 50 องศาเซลเซียส วิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของสารสกัดที่ได้ แสดงผลดังตารางที่ 4.15

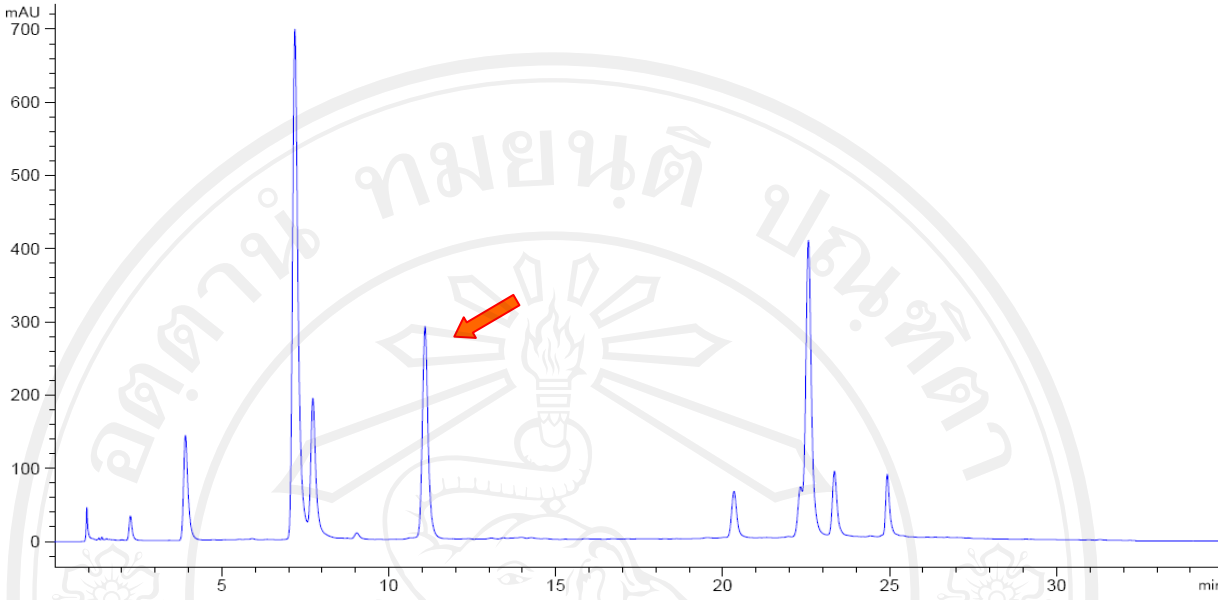
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.15 ค่าคุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของสารสกัดจากรากอาร์ติโชกอบแห้งหลังจากการสกัดและเมื่อผ่านการระเหยภายใต้สุญญากาศเพื่อทำให้เข้มข้น

ค่าคุณลักษณะ ทางกายภาพและเคมี	สารสกัด ก่อนทำให้เข้มข้น	สารสกัด หลังทำให้เข้มข้น
ค่าสี L*	29.12±0.25	26.05±0.09
a*	-0.16±0.04	5.73±0.03
b*	4.89±0.65	8.57±0.14
h° (hue)	4.89±0.32	10.31±0.12
C (chroma)	88.10±0.53	56.24±0.43
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (°Brix)	5.75±0.25	27.80±2.80
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (g CA / 100 g extract)	0.31±0.10	2.49±0.02
ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) (mg extract /ml)	0.44±0.01	0.024±0.01
ปริมาณสารไซนาริน (g /100 g extract)	1.31×10^{-2}±0.0001	1.20×10^{-1}±0.0001

ผลการทดลองเมื่อนำสารสกัดไประเหยภายใต้สุญญากาศ พบว่า สีของสารสกัดหลังทำให้เข้มข้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน ทำให้ค่าความสว่าง (ค่าสี L*) มากกว่าสารสกัดก่อนทำให้เข้มข้นซึ่งเป็นสีดำคล้ำ ปริมาณของแข็งในสารสกัดหลังทำให้เข้มข้นเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีการระเหยน้ำออกจากสารสกัด โดยค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 27.80±2.80 เช่นเดียวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารไซนารินของสารสกัดหลังทำให้เข้มข้นมีค่าสูงขึ้นเท่ากับ 2.49±0.02 g CA / 100 g extract, 0.024±0.01 mg extract /ml และ 1.20×10^{-1}±0.0001 g /100 g extract ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4.10 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารสกัดจากรากอาร์ติโชกอบแห้งเมื่อทำให้เข้มข้น ลูกศรสีแดงชี้แสดง peak ของสารไซนาริน (1,3-dicaffeoylquinic acid)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 3 การศึกษาสูตรในการผลิตแผ่นฟิล์มละลายเร็วผสมสารสกัดจากอาร์ติโชก

การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นของแผ่นฟิล์มละลายเร็วที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.16

ตารางที่ 4.16 คุณสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นของแผ่นฟิล์มที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด

คุณลักษณะกายภาพ	ฟิล์มละลายเร็วรสเปปเปอร์มินต์ ที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด
ค่า a_w	0.410±0.01
ความหนา (ไมครอน)	21.80±1.14
ความชื้น (ร้อยละ)	8.56±0.68
เวลาแตกกระจายตัว (นาที)	2.19±0.23
ค่าการละลาย (วินาที)	14.76±3.26

การศึกษาเพื่อหาส่วนผสมที่เหมาะสม ในการขึ้นรูปฟิล์มละลายเร็วที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากอาร์ติโชก วางแผนการทดลองแบบ Mixture design โดยทำการผันแปรปริมาณ สารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้น แป้งข้าวโพดและซอร์บิทอล ทำการผสมแป้งข้าวโพดและซอร์บิทอลลงในน้ำ ให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พักส่วนผสมให้เย็นลง จนกระทั่งมีอุณหภูมิลดลงถึง 50 องศาเซลเซียส ผสมสารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้น และส่วนผสมอื่นๆ เทใส่พิมพ์เพื่อขึ้นรูปฟิล์ม แล้วอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง แกะฟิล์มออกจากพิมพ์ตัดให้ได้ขนาดตามที่ต้องการเพื่อนำไปวัดค่าทางกายภาพ ดังตารางที่ 4.18

ทั้งนี้ฟิล์มแต่ละสูตรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารไซนารินจากการคำนวณดังตารางที่ 4.17 โดยการบริโภคสารประกอบฟีนอลิกและสารไซนารินไม่ได้มีข้อกำหนดปริมาณการบริโภคต่อวันสำหรับผลิตภัณฑ์อาหาร แต่มีข้อมูลปริมาณการบริโภคของสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่ม Caffeoylquinic acids หากต้องการให้มีสรรพคุณทางยาควรบริโภคอย่างน้อย 12 มิลลิกรัมต่อวัน ส่วนสารไซนารินปริมาณ 5.7 มิลลิกรัมได้มีการทดลองในหนูสามารถช่วยเพิ่มการขับน้ำดีถึงร้อยละ 20 (Schütz *et al.,* 2006a)

ในการผันแปรปริมาณของสารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้นในการทดลองนี้ ปริมาณสูงสุดของสารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้นใกล้เคียงกับปริมาณของแป้งข้าวโพด ซึ่งเป็นสารก่อให้เกิดฟิล์ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หากใช้สารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้นเป็นส่วนผสมปริมาณมาก ทำให้ฟิล์มละลายเร็วที่ได้มีลักษณะไม่ดีทางด้านสี กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ และการขึ้นรูปฟิล์มทำได้ยากขึ้น

ตารางที่ 4.17 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) และปริมาณสารไซนาริน (Cynarin) ของแผ่นฟิล์มละลายเร็วที่ผันแปรส่วนผสมในแต่ละสูตร (จากการคำนวณ)

สูตรที่	สารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้น (กรัม)	แป้งข้าวโพด (กรัม)	ซอร์บิทอล (กรัม)	Total phenolic content (mg CA /1 strip)	Cynarin (mg /1 strip)
1	1.10	0.70	0.20	1.37	$6.60x10^{-2}$
2	0.75	0.45	0.80	0.93	$4.50 x10^{-2}$
3	0.65	0.86	0.50	0.81	$3.90 x10^{-2}$
4	0.20	1.00	0.80	0.25	$1.20 x10^{-2}$
5	0.80	1.00	0.20	1.00	$4.80 x10^{-2}$
6	1.10	0.45	0.45	1.37	$6.60 x10^{-2}$
7	0.47	0.72	0.80	0.59	$2.82 x10^{-2}$
8	0.86	0.58	0.56	1.07	$5.16 x10^{-2}$
9	0.87	0.78	0.34	1.08	$5.22 x10^{-2}$
10	0.50	0.86	0.65	0.62	$3.00 x10^{-2}$
11	0.20	1.00	0.80	0.25	$1.20 x10^{-2}$
12	0.80	1.00	0.20	1.00	$4.80 x10^{-2}$

ทำการวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆของแผ่นฟิล์มละลายเร็วในแต่ละสูตร แล้วนำค่าเฉลี่ยที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติหาสมการถดถอย และวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ Design-Expert Version 7.1.6 ในส่วนของค่าคุณลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์มละลายเร็วทั้ง 12 สูตร พบว่า เมื่อผันแปรปริมาณสารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้น แป้งข้าวโพดและซอร์บิทอล ในช่วงดังกล่าว ทำให้ฟิล์มละลายเร็วมีค่าปริมาณน้ำอิสระ (a_w) อยู่ในช่วง 0.443-0.476 และมีค่าความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 6.82-7.18 ซึ่งค่าดังกล่าวไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ส่วนค่าความหนาของฟิล์มละลายเร็วจากตารางที่ 4.18 เมื่อปริมาณแป้งข้าวโพดเพิ่มขึ้นทำให้แผ่นฟิล์มละลายเร็วหนาเพิ่มขึ้นและค่าการละลายเพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มปริมาณหรือความเข้มข้นของสารที่ก่อให้เกิดฟิล์มจะส่งผลทำให้ฟิล์มหนาเพิ่มขึ้น (ภูริวัฒน์, 2550; Murata *et al.,* 2010)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.18 ค่า a_w ความหนา และความชื้นของแผ่นฟิล์มละลายเร็วผสมสารสกัดจากอาร์ติโชก

สูตรที่	สารสกัดเข้มข้น (กรัม)	แป้งข้าวโพด (กรัม)	ซอร์บิทอล (กรัม)	ค่า a_w	ความหนา[*1] (ไมครอน)	ความชื้น (ร้อยละ)
1	1.10	0.70	0.20	0.443±0.02	24.50±4.74	6.82±0.29
2	0.75	0.45	0.80	0.458±0.01	33.80±4.59	6.96±0.18
3	0.65	0.86	0.50	0.476±0.02	40.90±3.51	6.86±0.08
4	0.20	1.00	0.80	0.475±0.01	51.80±1.75	7.02±0.03
5	0.80	1.00	0.20	0.471±0.01	49.60±2.55	7.07±0.14
6	1.10	0.45	0.45	0.473±0.01	23.80±3.65	7.18±0.08
7	0.47	0.72	0.80	0.475±0.01	37.90±4.58	7.11±0.53
8	0.86	0.58	0.56	0.472±0.01	29.00±4.85	7.06±0.10
9	0.87	0.78	0.34	0.464±0.01	34.90±4.07	7.04±1.04
10	0.50	0.86	0.65	0.468±0.01	41.60±4.03	6.90±0.08
11	0.20	1.00	0.80	0.476±0.01	62.00±3.27	7.07±0.22
12	0.80	1.00	0.20	0.474±0.01	49.20±1.75	6.95±0.20

[*] ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[*1] ค่าเฉลี่ยจากการวัดฟิล์ม 10 จุด

ตารางที่ 4.19 แสดงค่าการแตกกระจายตัวและค่าการละลายของฟิล์มทั้ง 12 สูตร จะอยู่ในช่วง 5.08-20.00 นาที และ 52.00-96.00 วินาที เมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่มีวางจำหน่ายตามท้องตลาด พบว่า แผ่นฟิล์มที่ใช้แป้งข้าวโพดเป็นสารก่อให้เกิดฟิล์มมีค่าการแตกกระจายตัวและค่าการละลายของฟิล์มนานกว่าแผ่นฟิล์มละลายเร็วที่มีวางจำหน่ายตามท้องตลาด (ตารางที่ 4.16) เมื่อสังเกตดูการแตกกระจายตัว และการละลายของฟิล์มที่ใช้แป้งข้าวโพด พบว่า มีลักษณะเป็นแผ่นแป้งเล็ก กระจายตัวอยู่ในน้ำและปาก โดยชนิดของสารก่อให้เกิดฟิล์มมีผลต่อลักษณะการละลายของฟิล์มละลายเร็ว (Murata *et al.,* 2010) อีกทั้งชนิดของสารก่อให้เกิดฟิล์มยังมีผลต่อการกระจายตัวของสารสกัดในส่วนผสมที่ใช้ขึ้นรูปฟิล์มละลายเร็ว และลักษณะปรากฏของฟิล์มละลายเร็ว (อลิษา และพัฒทรา, 2552)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.19 เวลาการแตกกระจายตัวและค่าการละลายของแผ่นฟิล์มละลายเร็วผสมสารสกัดจากอาร์ติโชกที่ผันแปรส่วนผสม

สูตรที่	เวลาแตกกระจายตัว (นาที)	หมายเหตุ	ค่าการละลาย (วินาที)	หมายเหตุ
1	5.08±0.50	แผ่นแป้งขนาดเล็กกระจายในน้ำ	82.00±6.93	เปื่อยออกมาเป็นส่วนๆ
2	10.34±0.12	แผ่นแป้งเล็กๆติดบน Disk เล็กน้อย	57.00±7.13	เปื่อยออกมาเป็นส่วนๆ
3	7.32±0.11	แผ่นแป้งขนาดเล็กกระจายในน้ำ	83.00±5.81	เปื่อยออกมาเป็นส่วนๆ
4	19.05±0.83	แผ่นแป้งขนาดเล็กกระจายในน้ำ	96.00±4.47	เปื่อยออกมาเป็นส่วนๆ
5	13.39±1.61	แผ่นแป้งขนาดเล็กกระจายในน้ำ	86.00±5.94	เปื่อยออกมาเป็นส่วนๆ
6	8.27±0.37	แผ่นแป้งขนาดเล็กกระจายในน้ำ	58.00±8.14	เปื่อยออกมาเป็นส่วนๆ
7	12.19±0.43	แผ่นแป้งขนาดเล็กกระจายในน้ำ	83.00±5.67	เปื่อยออกมาเป็นส่วนๆ
8	10.15±0.09	แผ่นแป้งขนาดเล็กกระจายในน้ำ	52.00±7.08	เปื่อยออกมาเป็นส่วนๆ
9	7.54±0.65	แผ่นแป้งขนาดเล็กกระจายในน้ำ	85.00±6.36	เปื่อยออกมาเป็นส่วนๆ
10	20.00±0.01	แผ่นแป้งเล็กๆติดบน Disk มาก	86.00±6.52	เปื่อยออกมาเป็นส่วนๆ
11	17.18±0.39	แผ่นแป้งขนาดเล็กกระจายในน้ำ	95.00±5.53	เปื่อยออกมาเป็นส่วนๆ
12	6.56±0.01	แผ่นแป้งขนาดเล็กกระจายในน้ำ	87.00±6.69	เปื่อยออกมาเป็นส่วนๆ

การทดสอบด้านประสาทสัมผัสของแผ่นฟิล์มละลายเร็วผสมสารสกัดจากอาร์ติโชก ทั้ง 12 สูตร ผลดังตารางที่ 4.20 พบว่า ผู้บริโภคให้ค่าคะแนนความชอบอยู่ในเกณฑ์ไม่ชอบเล็กน้อยจนถึงเฉยๆ โดยเฉพาะคุณลักษณะกลิ่นรสเปปเปอร์มินต์ (4.02-5.22 คะแนน) และการละลาย (3.66-5.22 คะแนน) เนื่องจากกลิ่นรสเปปเปอร์มินต์อยู่ในรูปของน้ำมันไม่สามารถผสมกับส่วนผสมของฟิล์มที่มีน้ำเป็นส่วนผสมหลัก โดยน้ำมันเปปเปอร์มินต์จะลอยอยู่บนผิวหน้าของส่วนผสมที่ใช้ในการขึ้นรูปฟิล์ม ประกอบกับเมื่อนำฟิล์มไปอบแห้งกลิ่นรสเปปเปอร์มินต์จึงระเหย ทำให้ฟิล์มที่ได้มีกลิ่นรสของเปปเปอร์มินต์ลดลง เพื่อเป็นการแก้ปัญหานี้ในการทดลองจึงใช้อิมัลซิไฟเออร์ ได้แก่ เลซิธิน พบว่า เมื่อขึ้นรูปฟิล์ม ลักษณะของฟิล์มไม่สม่ำเสมอ กลิ่นรสของเปปเปอร์มินต์น้อย ส่วนเมื่อใช้ CMC พบว่า เวลาการแตกกระจายตัว และการละลายของฟิล์มนานขึ้น กลิ่นรสเปปเปอร์มินต์น้อย หรือการใช้กระบวนการผลิตเข้าช่วยเพื่อให้ส่วนผสมเกิดอิมัลชัน ได้แก่ การผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ และเครื่องปั่นน้ำผลไม้ไม่สามารถทำให้ฟิล์มมีกลิ่นรสของเปปเปอร์มินต์เพิ่มขึ้นจากเดิม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.20 ผลการประเมินทางด้านประสาทสัมผัสของแผ่นฟิล์มละลายเร็วผสมสารสกัดจากอาร์ติโชก

สูตรที่	ค่าคะแนนความชอบ						
	สี	กลิ่นรสเปปเปอร์มินต์	ความหวาน	รสชาติโดยรวม	การละลาย	ความชอบโดยรวม	ความรู้สึกหลังกลืน
1	5.85±0.91	4.51±1.26	5.88±1.21	6.00±1.10	4.71±1.19	5.24±1.35	5.34±1.06
2	6.02±1.13	5.36±1.22	5.52±1.31	6.00±1.20	3.66±1.00	5.14±1.01	4.96±0.99
3	5.88±1.17	4.76±1.27	5.90±1.16	5.93±1.08	4.63±1.02	5.85±1.26	5.34±1.06
4	5.98±0.94	4.80±1.05	6.22±0.94	6.02±1.08	4.93±1.04	5.34±1.28	5.02±1.23
5	5.92±0.97	5.30±1.20	5.84±1.04	5.96±1.11	4.44±1.18	5.68±1.24	5.02±0.71
6	5.96±1.01	4.56±0.99	5.82±0.98	6.02±1.10	4.16±1.17	5.14±0.86	5.04±0.92
7	5.95±1.18	4.37±1.18	5.95±0.97	5.85±1.22	4.39±1.19	5.05±1.03	5.20±1.42
8	6.02±0.96	4.02±0.94	5.92±1.10	5.82±1.06	4.22±1.07	5.34±1.15	5.24±0.77
9	6.00±1.00	4.83±1.06	6.07±1.08	5.93±1.06	4.63±1.20	5.39±1.37	5.00±1.24
10	5.98±0.98	4.32±1.04	5.86±1.13	6.06±1.06	3.82±0.96	4.72±0.93	4.82±0.96
11	5.92±1.07	5.28±0.78	5.94±1.02	6.10±1.04	5.22±1.17	5.30±1.16	4.98±0.96
12	5.90±0.94	5.71±1.19	5.90±1.11	5.93±1.17	4.49±1.12	5.73±1.06	5.00±0.67

จากการวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อให้ได้สมการถดถอยที่เหมาะสม ซึ่งสมการดังกล่าวจะอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระ (ปริมาณสารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้น แป้งข้าวโพดและซอร์บิทอล) และตัวแปรตาม (คุณภาพด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มละลายเร็ว) ทำการเลือกตัวแปรอิสระเข้ามาในโครงสร้างของสมการ แล้วคัดเลือกเฉพาะตัวแปรอิสระที่มีผลต่อตัวแปรตามอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเท่านั้น ซึ่งตัวแปรอิสระที่ไม่มีผลต่อตัวแปรตามจะถูกตัดออกไป เพื่อให้ได้สมการที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ที่สามารถอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและตัวแปรตามได้อย่างถูกต้อง และมีค่า R^2 (Coefficient of determination) สูง ซึ่งเป็นค่าที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและตัวแปรตามที่ศึกษา ทั้งนี้ เพื่อให้ผลลัพธ์ที่น่าเชื่อถือมากที่สุด และจากการวิเคราะห์หาสมการถดถอย พบว่า สารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้น แป้งข้าวโพดและซอร์บิทอลที่ใช้มีความสัมพันธ์กับบางคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ ดังตารางที่ 4.21

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.21 สมการถดถอยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและค่าตอบสนองด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มละลายเร็วผสมสารสกัดจากอาร์ติโชก

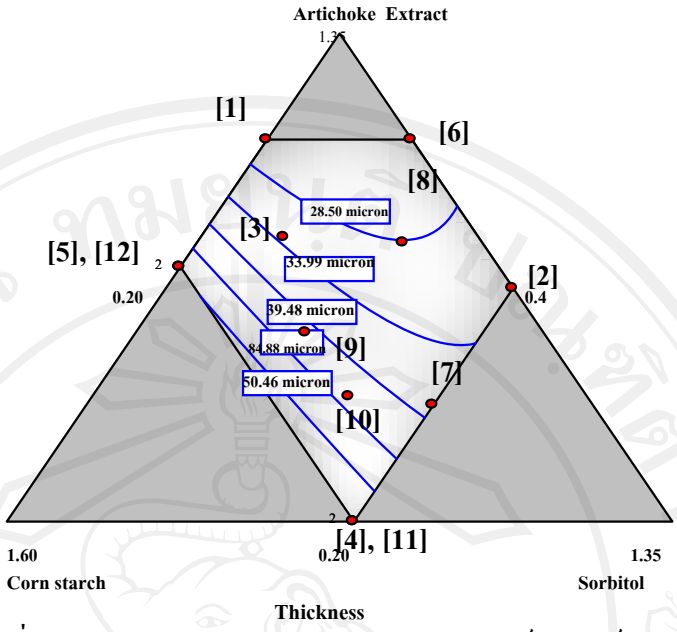
สมการถดถอย		R^2	ระดับนัยสำคัญ (p)
ความหนาของแผ่นฟิล์ม (ไมครอน)	= +11.65(สารสกัด)+126.50(แป้งข้าวโพด) +48.87(ซอร์บิทอล)-91.39(สารสกัด)(แป้งข้าวโพด)+2.86(สารสกัด)(ซอร์บิทอล)-116.94 (แป้งข้าวโพด)(ซอร์บิทอล)	0.9276	0.0004
เวลาแตกกระจายตัว (นาที)	=-2.90(สารสกัด)+9.52(แป้งข้าวโพด)+11.35 (ซอร์บิทอล)	0.5798	0.0082
ค่าการละลาย (วินาที)	=+18.80(สารสกัด)-4.91(แป้งข้าวโพด) +63.03 (ซอร์บิทอล)+85.51(สารสกัด)(แป้งข้าวโพด) - 94.51(สารสกัด)(ซอร์บิทอล) +56.18 (แป้งข้าวโพด)(ซอร์บิทอล)	0.8211	0.0054

เมื่อนำสมการถดถอยของตัวแปรค่าความหนาของแผ่นฟิล์ม เวลาแตกกระจายตัวและค่าการละลาย ไปสร้างกราฟพื้นที่ตอบสนองของส่วนผสม (Mixture Response Surface) ที่ผันแปรปริมาณสารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้น แป้งข้าวโพดและซอร์บิทอล ได้ดังภาพที่ 4.11-4.13

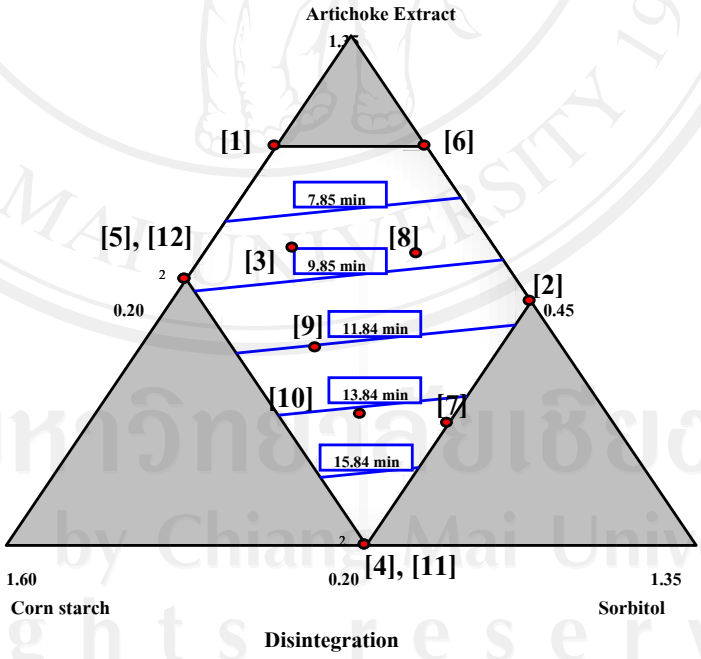
เมื่อพิจารณาพื้นที่ตอบสนองของค่าความหนาของผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มละลายเร็ว พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณของแป้งข้าวโพด แผ่นฟิล์มที่ได้จะมีค่าความหนาเพิ่มมากขึ้น ในสิ่งทดลองที่ 4, 5, 11 และ 12 ซึ่งประกอบด้วยปริมาณแป้งข้าวโพด 1.00 กรัม แผ่นฟิล์มจะมีค่าความหนามาก (49.20-62.00 ไมครอน) ในขณะที่เมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้น แผ่นฟิล์มที่ได้จะบางลง โดยพิจารณาจากสิ่งทดลองที่ 1 และ 6 ซึ่งใช้ปริมาณสารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้น 1.10 กรัม แผ่นฟิล์มจะมีค่าความหนาเท่ากับ 24.50 และ 23.80 ไมครอน ตามลำดับ (ภาพที่ 4.11)

เมื่อพิจารณาพื้นที่ตอบสนองของเวลาแตกกระจายตัว พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้น แผ่นฟิล์มที่ได้จะมีเวลาแตกกระจายตัวลดลง โดยพบว่า ในสิ่งทดลองที่ 1 และ 6 ซึ่งใช้ปริมาณสารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้น 1.10 กรัม แผ่นฟิล์มจะมีเวลาแตกกระจายตัวน้อยเท่ากับ 4.68 และ 8.26 นาที ตามลำดับ (ภาพที่ 4.12)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4.11 พื้นที่การตอบสนองต่อค่าความหนาของผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มละลายเร็ว ผสมสารสกัดจากอาร์ติโชก เมื่อผันแปรปริมาณสารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้น แป้งข้าวโพดและซอร์บิทอล (ตัวเลขในวงเล็บแสดงตำแหน่งของสิ่งทดลองตามตารางที่ 3.3)

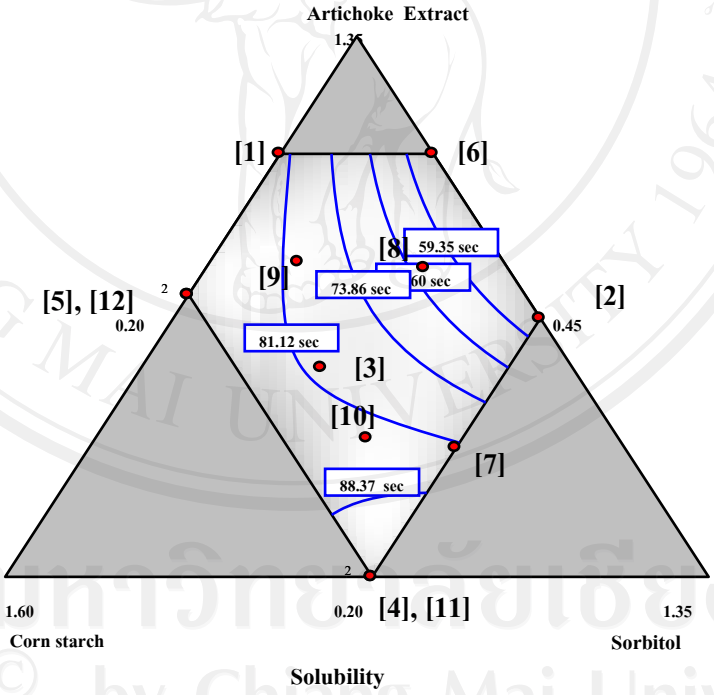


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 4.12 พื้นที่การตอบสนองต่อเวลาแตกกระจายตัวของผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มละลายเร็ว ผสมสารสกัดจากอาร์ติโชก เมื่อผันแปรปริมาณสารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้น แป้งข้าวโพดและซอร์บิทอล (ตัวเลขในวงเล็บแสดงตำแหน่งของสิ่งทดลองตามตารางที่ 3.3)

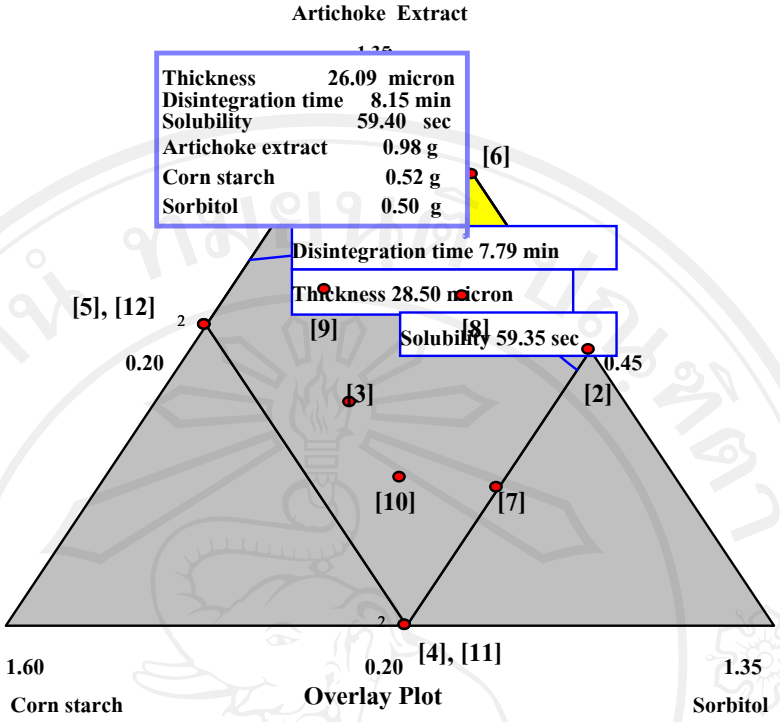
เมื่อพิจารณาพื้นที่ตอบสนองของค่าการละลายของผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มละลายเร็ว พบว่า เมื่อลดปริมาณของแป้งข้าวโพด แผ่นฟิล์มที่ได้จะมีค่าการละลายลดลง ในสิ่งทดลองที่ 2 และ 6 ซึ่งประกอบด้วยปริมาณแป้งข้าวโพด 0.45 กรัม แผ่นฟิล์มจะมีค่าการละลายต่ำคือ 57.00 และ 58.00 วินาที ตามลำดับ (ภาพที่ 4.13)

จากพื้นที่ตอบสนองของค่าความหนา เวลาแตกกระจายตัว และค่าการละลายของแผ่นฟิล์มละลายเร็ว (ภาพที่ 4.11-4.13) เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพเหมาะสมจึงกำหนดให้ค่าดังกล่าวข้างต้นมีค่าต่ำสุด ทำนายสูตรที่เหมาะสม พบว่า ประกอบด้วยสารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้น แป้งข้าวโพดและซอร์บิทอลในปริมาณ 0.98, 0.52 และ 0.50 กรัม ตามลำดับ ทำให้ค่าความหนา เวลาแตกกระจายตัว และค่าการละลายของแผ่นฟิล์มละลายเร็วเท่ากับ 26.08 ไมครอน, 8.15 นาที และ 59.00 วินาที ตามลำดับ ดังภาพที่ 4.14 แสดงช่วงที่เหมาะสม (บริเวณพื้นที่สีเหลือง) ของส่วนผสมที่ใช้ในการทำฟิล์มละลายเร็ว ซึ่งช่วงดังกล่าวทำให้ค่าความหนา เวลาแตกกระจายตัว และค่าการละลายของแผ่นฟิล์มละลายเร็วมีค่าต่ำ



ภาพที่ 4.13 พื้นที่การตอบสนองต่อค่าการละลายของผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มละลายเร็ว ผสมสารสกัดจากอาร์ติโชก เมื่อผันแปรปริมาณสารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้น แป้งข้าวโพดและซอร์บิทอล (ตัวเลขในวงเล็บแสดงตำแหน่งของสิ่งทดลองตามตารางที่ 3.3)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4.14 กราฟการซ้อนทับของส่วนผสมในการผลิตผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มละลายเร็วผสมสารสกัดจากอาร์ติโชก จากการศึกษาทั้ง 12 สิ่งทดลอง ที่ได้จากการวางแผนแบบ Mixture design (ตัวเลขในวงเล็บแสดงตำแหน่งของสิ่งทดลองตามตารางที่ 3.3)

การศึกษาชนิดของสารก่อให้เกิดฟิล์มและคุณภาพของผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มละลายเร็วผสมสารสกัดอาร์ติโชก

จากการทดลองผันแปรส่วนผสมของฟิล์ม โดยใช้แป้งข้าวโพดเป็นสารก่อให้เกิดฟิล์ม พบว่า ฟิล์มที่ได้มีลักษณะของการละลายและแตกตัวเกิดแผ่นแป้งนาน ทำให้ค่าการละลาย และเวลาการแตกกระจายตัวของฟิล์มนาน อีกทั้งฟิล์มที่พัฒนาทั้ง 12 สูตรเมื่อนำไปทดสอบความชอบของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ พบว่า ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบด้านกลิ่นรสเปปเปอร์มินต์และการละลายอยู่ในช่วงไม่ชอบเล็กน้อยจนถึงเฉยๆ

ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาหาข้อมูลเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว พิจารณาถึงสารก่อให้เกิดฟิล์มตัวอื่นทดแทนการใช้แป้งข้าวโพด ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี ได้แก่ มอลโทเดกซ์ทริน (Cilurzo *et al.*, 2008) โซเดียมอัลจิเนต (Murata *et al.*, 2010) จากการทดลองพบว่า ฟิล์มจากมอลโทเดกซ์ทริน และฟิล์มจากโซเดียมอัลจิเนต เมื่อทำการขึ้นรูปฟิล์มที่ได้มีลักษณะเปราะ แตกหัก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ได้ง่าย และเหนียวเมื่อละลายอยู่ในปาก จึงมีการใช้ Microcrystalline cellulose ซึ่งปริมาณของสารก่อให้เกิดฟิล์มมอลโทเดกซ์ทริน โซเดียมอัลจิเนต และ Microcrystalline cellulose ที่ใช้ทดแทนแป้งข้าวโพดในสูตรของผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มละลายเร็ว คือ 1.76, 0.68 และ 0.34 กรัม หากมีการใช้มอลโทเดกซ์ทริน โซเดียมอัลจิเนต และ Microcrystalline cellulose ในอัตราส่วนเท่ากันกับ ปริมาณของส่วนผสมได้จากการทดลองเบื้องต้น รวมปริมาณให้ได้เท่ากับการใช้แป้งข้าวโพด (0.52 กรัม) พบว่า ฟิล์มที่ได้ไม่สามารถแกะออกจากพิมพ์ได้ จึงมีการใช้มอลโทเดกซ์ทริน โซเดียมอัลจิเนต และ Microcrystalline cellulose ปริมาณรวมเท่ากับ 2.79 กรัม ในขณะที่ส่วนผสมของวัตถุดิบที่ใช้ในการขึ้นรูปฟิล์มมีดังนี้ กรดซิตริก น้ำมันเปปเปอร์มินต์ Sucralose สารสกัดจากอาร์ติโชกเข้มข้น ซอร์บิทอล และน้ำเท่ากับ 0.0090, 0.68, 0.0068, 0.98, 0.49 และ 95.07 ตามลำดับและสีผสมอาหารสีฟ้า 20 ไมโครลิตร ทำการขึ้นรูป อบจนแห้ง แกะออกจากพิมพ์ ตัดแผ่นฟิล์มทั้งสอง นำไปวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ เคมี และทำการทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์กับผู้บริโภค (N=200) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.22

ตารางที่ 4.22 คุณภาพด้านกายภาพ เคมี และค่าคะแนนความชอบของผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มละลายเร็วผสมสารสกัดจากอาร์ติโชก

คุณลักษณะทางกายภาพของฟิล์มละลายเร็วผสมสารสกัดจากอาร์ติโชก	**ชนิดของสารก่อให้เกิดฟิล์ม**	
	แป้งข้าวโพด	**มอลโทเดกซ์ทริน โซเดียมอัลจิเนต และ Microcrystalline cellulose**
ค่า a_w	0.484 ± 0.10^{ns}	0.472 ± 0.02^{ns}
ความหนา (ไมครอน)	23.10 ± 4.56^{ns}	27.00 ± 4.50^{ns}
เวลาแตกกระจายตัว (นาที)	8.51 ± 0.50^{a}	3.35 ± 0.44^{b}
หมายเหตุ	แผ่นแป้งขนาดเล็กกระจายในน้ำ	-
ค่าการละลาย (วินาที)	56.00 ± 6.08^{a}	34.00 ± 6.13^{b}
หมายเหตุ	เปื่อยออกเป็นส่วนๆ	-

หมายเหตุ ตัวอักษร ns (non-significant) ที่กำกับค่าของข้อมูลในแนวนอนของแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของข้อมูล ($P>0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.22 คุณภาพด้านกายภาพ เคมี และค่าคะแนนความชอบของผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มละลายเร็วผสมสารสกัดจากอาร์ติโชก (ต่อ)

คุณลักษณะทางเคมีของฟิล์มละลายเร็วผสมสารสกัดจากอาร์ติโชก	**ชนิดของสารก่อให้เกิดฟิล์ม**	
	แป้งข้าวโพด	**มอลโทเดกซ์ทริน โซเดียมอัลจิเนต และ Microcrystalline cellulose**
ความชื้น (ร้อยละ)	7.44 ± 0.95^{ns}	6.90 ± 0.58^{ns}
Cynarin (mg /1 strip)	$6.49\times10^{-2}\pm0.01^{ns}$	$6.75\times10^{-2}\pm0.01^{ns}$
ค่าคะแนนความชอบของฟิล์มละลายเร็วผสมสารสกัดจากอาร์ติโชก		
สี	5.92 ± 0.96^{ns}	6.12 ± 1.14^{ns}
กลิ่นรสเปปเปอร์มินต์	4.82 ± 1.57^{b}	6.07 ± 0.72^{a}
ความหวาน	5.53 ± 1.20^{a}	5.11 ± 1.04^{b}
รสชาติโดยรวม	5.66 ± 0.90^{ns}	5.62 ± 1.00^{ns}
การละลาย	4.09 ± 1.65^{b}	6.02 ± 1.09^{a}
ความชอบโดยรวม	5.26 ± 1.37^{b}	5.96 ± 0.96^{a}
ความรู้สึกหลังกลืน	5.02 ± 0.82^{b}	6.06 ± 1.23^{a}

หมายเหตุ ตัวอักษร ns (non-significant) ที่กำกับค่าของข้อมูลในแนวนอนของแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของข้อมูล ($P>0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบฟิล์มละลายเร็วจากสารก่อให้เกิดฟิล์มคือ มอลโทเดกซ์ทริน โซเดียมอัลจิเนต และ Microcrystalline cellulose ในการทดลองนี้กับฟิล์มละลายเร็วรสเปปเปอร์มินต์ที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด (ตารางที่ 4.16) พบว่า ฟิล์มละลายเร็วในการทดลองนี้มีความหนา ความชื้น และค่าการละลายมากกว่าฟิล์มละลายเร็วรสเปปเปอร์มินต์ที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด แต่ค่าการแตกกระจายตัวของฟิล์มไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$)

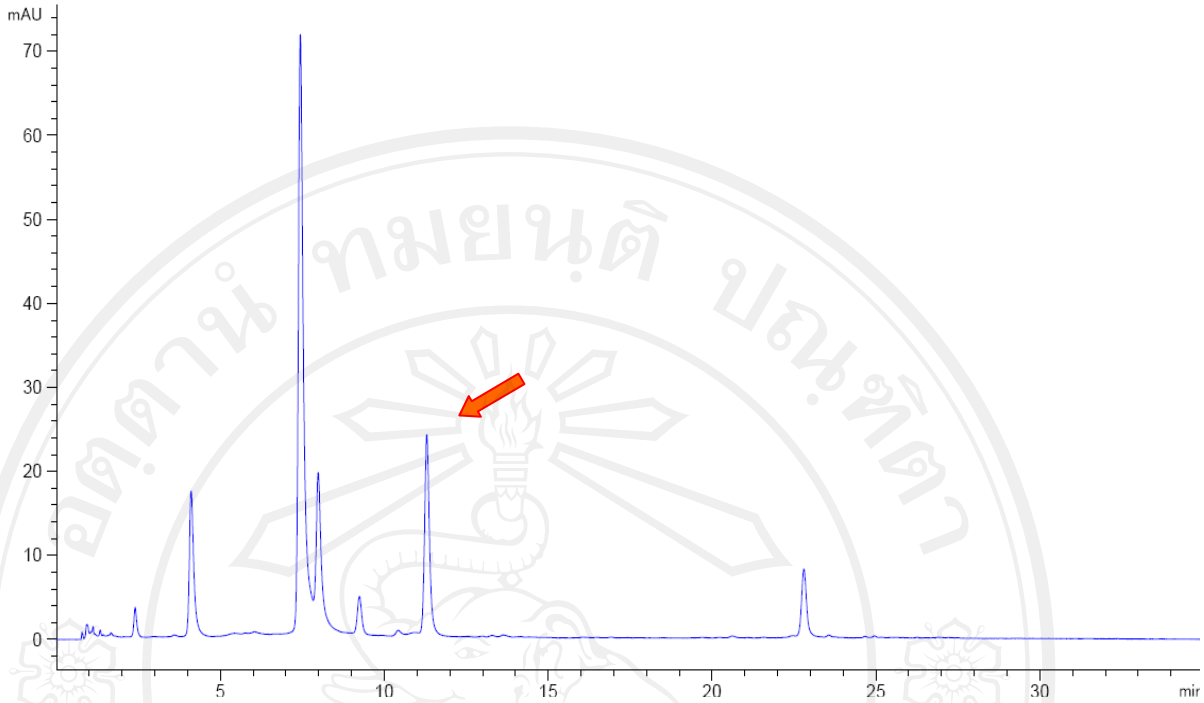
การใช้มอลโทเดกซ์ทริน โซเดียมอัลจิเนต และ Microcrystalline cellulose ทดแทนแป้งข้าวโพดในสูตรพบว่า ฟิล์มละลายเร็วจากมอลโทเดกซ์ทริน โซเดียมอัลจิเนต และMicrocrystalline cellulose มีเวลาแตกกระจายตัวและค่าการละลาย (3.35±0.44 นาที และ 34.00±6.13 วินาที ตามลำดับ) ดีกว่าฟิล์มละลายเร็วจากแป้งข้าวโพด เมื่อนำฟิล์มทั้งสองไปทดสอบกับผู้บริโภค พบว่า ฟิล์มละลายเร็วจากมอลโทเดกซ์ทริน โซเดียมอัลจิเนต และ Microcrystalline cellulose

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผู้บริโภคให้ค่าคะแนนความชอบด้านกลิ่นรสเปปเปอร์มินต์ และการละลาย (6.07±0.72 และ 6.02±1.09 คะแนน ตามลำดับ) สูงกว่าฟิล์มละลายเร็วจากแป้งข้าวโพดอยู่ในเกณฑ์ชอบเล็กน้อย โดยที่สารไซนารินในฟิล์มละลายเร็วจากมอลโทเดกซ์ทริน โซเดียมอัลจิเนต และ Microcrystalline cellulose มีปริมาณเท่ากับ 0.07±0.01 mg /1 strip

ถึงแม้ว่าแผ่นฟิล์มละลายเร็วต้นแบบจากมอลโทเดกซ์ทริน โซเดียมอัลจิเนต และ Microcrystalline cellulose ที่ทำการพัฒนาขึ้นนี้จะมีค่าคะแนนความชอบอยู่ในเกณฑ์เฉยๆ ด้านความหวาน รสชาติโดยรวม และความชอบโดยรวม อาจเนื่องมาจากส่วนผสม ได้แก่ Sucralose ที่ผู้บริโภคให้ความเห็นว่าหวานมากเกินไป เกิดรสหวานหลงเหลืออยู่ในปาก รวมถึงการใช้น้ำมันเปปเปอร์มินต์เพียงชนิดเดียวเพื่อให้เกิดกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ผู้บริโภคให้ความคิดเห็นว่าควรมีการเพิ่มกลิ่นรสอื่นๆ เพื่อให้ผลิตภัณฑ์น่ารับประทานมากขึ้น ซึ่งแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์นี้เพิ่มเติมจึงควรลดปริมาณการใช้ Sucralose และอาจเพิ่มสารให้กลิ่นรสตัวอื่นทั้งกลิ่นรสประเภทน้ำมันหอมระเหย และกลิ่นรสสังเคราะห์ เช่น Citrus oils, Fruit essences, Spearmint oils, Clove oils, Oil of wintergreen, Anise และกลิ่นรสประเภทน้ำมันที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียในปาก ได้แก่ Menthol, Eucalyptol, Thymol เป็นต้น แต่หากพิจารณาค่าคุณภาพสำคัญของผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มละลายเร็วต้นแบบ โดยใช้สารก่อให้เกิดฟิล์มมอลโทเดกซ์ทริน โซเดียมอัลจิเนต และ Microcrystalline cellulose ได้แก่ ค่าการละลาย และเวลาแตกกระจายตัวดีกว่าฟิล์มละลายเร็วจากแป้งข้าวโพด ทั้งนี้เวลาแตกกระจายตัวของฟิล์มละลายเร็วจากมอลโทเดกซ์ทริน โซเดียมอัลจิเนต และ Microcrystalline cellulose ไม่แตกต่างกับฟิล์มละลายเร็วรสเปปเปอร์มินต์ที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด เมื่อพิจารณาลักษณะของแผ่นฟิล์ม พบว่า มีการกระจายตัวของสารสกัดในแผ่นฟิล์มเป็นอย่างดีและมีลักษณะเนื้อฟิล์มที่ดีด้วย (อลิษาและพัฒทรา, 2552)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4.15 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของฟิล์มละลายเร็วผสมสารสกัดจากอาร์ติโชก ลูกศรสีแดงชี้แสดง peak ของสารไซนาริน (1,3-dicaffeoylquinic acid)

ภาพที่ 4.16 ผลิตภัณฑ์ฟิล์มละลายเร็วผสมสารสกัดจากอาร์ติโชก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved