



การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์จากขิง โดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง **Optimization of Total Phenolics and Flavonoids from Ginger Using Response Surface Methodology**

กาญจนา ชันทกะพันธ์*

เยาวภา สุขพรมมา**

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ รวมทั้งผลการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้เทียบกับ DPPH ในพืชขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) โดยใช้การสกัดด้วยตัวทำละลายร่วมกับการเขย่า ออกแบบการทดลองและศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (response surface methodology, RSM) แบบ Box Behnken design ผลการวิจัยสกัดขิงพบว่า สภาวะที่เหมาะสมสามารถสกัดฟีนอลิกได้สูงสุดร้อยละ 2.23 โดยน้ำหนัก คือ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และใช้เอทานอลร้อยละ 77 โดยปริมาตร และสภาวะที่เหมาะสมสามารถสกัดฟลาโวนอยด์จากขิงได้สูงสุดร้อยละ 2.19 โดยน้ำหนัก คือ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เวลาในการสกัด 3 ชั่วโมง ความเข้มข้นเอทานอลร้อยละ 80 โดยปริมาตร ทั้งนี้สารสกัดขิงที่ได้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับร้อยละ 62.52 โดยน้ำหนัก ภายใต้สภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 49 องศาเซลเซียส เวลาในการสกัดนาน 6 ชั่วโมง และความเข้มข้นเอทานอลร้อยละ 74 โดยปริมาตร ค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด (r^2) จากสมการสหสัมพันธ์ที่ใช้ทำนายผลได้การสกัด ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และความสามารถการต้านอนุมูลอิสระ คือ 0.93, 0.94 และ 0.91 ตามลำดับ การวิเคราะห์รูปพื้นผิวตอบสนองพบว่า เวลาในการสกัดเป็นตัวแปรที่มีนัยสำคัญมากที่สุดต่อผลได้การสกัดของฟีนอลิก ส่วนความเข้มข้นของเอทานอลมีผลมากที่สุดต่อฟลาโวนอยด์และความสามารถในการยับยั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากขิง

คำสำคัญ : ขิง ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ พื้นผิวตอบสนอง

*นักวิทยาศาสตร์ประจำคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**ผู้ช่วยศาสตราจารย์ประจำคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



Abstract

This research aimed to study optimal conditions for solvent extraction of total phenolics, flavonoids and antioxidant activities from ginger (*Zingiber officinale*). Response surface methodology, Box Behnken design was applied for the experimental design to investigate the optimal conditions. Ranges of operating conditions including chosen as follow: 40-80 %v/v aqueous ethanol concentrations, 30-60°C extraction temperature and 3-6 hours extraction time were chosen.

The results from ginger extractions were a) the optimal conditions for extraction of phenolics was 77 %v/v aqueous ethanol concentrations, 60°C extraction temperature and 4.2 hours extraction time, b) the extraction of flavonoids was 80 %v/v aqueous ethanol concentrations, 40°C extraction temperature and 3 hours extraction time and C) the antioxidant activity was 74 %v/v aqueous ethanol concentrations, 49°C extraction temperature and 6 hours extraction time. The maximum contents of the total phenolics, flavonoids and antioxidant activity obtained the optimal conditions were 2.23 % ($r^2 = 0.93$), 2.19 % ($r^2 = 0.99$), and 62.52% ($r^2 = 0.91$), respectively. According to the response surface, the ethanol concentration was a significant factor for the total phenolics extraction. However, for flavonoids and antioxidant activities, the ethanol concentration and temperature were the significant factors.

Keywords : Ginger, phenolics, flavonoids, response surface methodology

คำนำ

สารสกัดจากพืชสมุนไพรเป็นสารจากธรรมชาติที่มีคุณสมบัติและประโยชน์มากมาย เช่น เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหาร เครื่องสำอาง (จินดาพร คงเดช, ณัฏฐา เลหากุลจิตต์ และอรพิน เกิดชูชื่น. 2552 : 84) สารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (แบคทีเรีย รา ไวรัส) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคพืช (Liu and Ho. 1999 : 318) บรรเทาอาการอักเสบซึ่งเกิด

จากเชื้อรา เป็นต้น รวมทั้งสารที่ได้จากธรรมชาติไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพและอนามัยของผู้บริโภค การศึกษาสารสกัดที่ได้จากพืชสมุนไพรเพื่อทดแทนสารกันหืนสังเคราะห์หรือสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) จึงได้รับความสนใจมากยิ่งขึ้น

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) เป็นพืชพื้นเมืองของประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปลูกเพื่อใช้เหง้าทั้งในประเทศอินเดีย จาไมก้า จีน อัฟริกาตะวันตก ไนจีเรีย ซีเรีย ออสเตรเลีย



อินโดนีเซียและไทย ลักษณะเฉพาะของพืชวงศ์นี้ ที่เห็นได้ชัดคือมีลำต้นใต้ดินที่เรียกว่าเหง้าและเป็นไม้ล้มลุกที่มีอายุได้หลายปีพบประมาณ 700 ชนิด จาก 45 สกุล (Zingiber officinale Roscoe) มีชื่ออื่น ๆ ได้แก่ ขิง แกลง ขิงแดง (จันทบุรี) ขิงเผือก (เชียงใหม่) สะเอ (แม่ฮ่องสอน) เป็นพืชในวงศ์ขิงปลูกทั่วทุกภาคของประเทศไทย องค์ประกอบหลักในขิง ได้แก่ น้ำมันชั้น ไขมัน แป้ง วิตามิน เกลือแร่ และสารประกอบทางยา อาทิเช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ฟลาโวนอยด์ และสารต้านมะเร็ง ลักษณะของขิงที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์เมื่อตัดตามขวางพบ cork cell 2 ชั้น ชั้นนอกสุดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ ส่วนชั้นในเรียงตัวตามแนวรัศมี ถัดเข้ามาเป็นชั้น cortex มีเม็ดแป้งรูปไข่ขนาดยาวตั้งแต่ 5-60 ไมโครเมตร และมี oil cell อยู่ภายใน oil cell มีน้ำมันชั้น (oleoresin) สีน้ำตาลเหลืองจำนวนมาก (ถนอมศรี วงศ์รัตนสถิตย์. 2538 : 158) ขิงเป็นเครื่องเทศที่มีกลิ่นหอมรสเผ็ด ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย (essential oil) ร้อยละ 1-3 น้ำมันชั้น ร้อยละ 4-7.5 แป้ง ร้อยละ 40-60 และเมือก สารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิก (phenolic) ซึ่งมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอยด์สามารถให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระที่มีความคงตัวมากขึ้น จึงช่วยยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ได้ สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียและการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยงานวิจัยของ Habsah et al. (2000 : 404) สกัดสารจากพืชวงศ์ขิงจำนวน

13 ชนิด ในสกุล *Alpinia*, *Cortus* และ *Zingiber* พบว่า สารสกัดที่ได้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าเชื้อรา และสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีเมื่อเทียบกับ α -tocopherol ซึ่งเป็นสารกันหืนธรรมชาติที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันโดยที่สารสกัดด้วย dichloromethane มีศักยภาพที่ดีกว่าสารสกัดด้วยเมทานอล (methanol)

Esam and Ali. (2000 : 136-137) พบว่า สารสกัดจากขิงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีเทียบเท่ากับสารกันหืนสังเคราะห์ butylated hydroxytoluene (BHA) คือพบการยับยั้งปฏิกิริยาร้อยละ 77 และ 75 ตามลำดับ ทั้งนี้ยังพบว่า การเก็บสารสกัดไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 5, 25 และ 30 องศาเซลเซียส สามารถคงประสิทธิภาพนาน 21 วัน แต่คุณสมบัติจะสูญเสียไปเมื่อเก็บในที่ที่มีแสงและที่อุณหภูมิห้อง Nguetack et al. (2004 : 330) ได้ประเมินความสามารถของน้ำมันหอมระเหยจากพืช 5 ชนิด ต่อการควบคุมการเน่าเสียของอาหารและการผลิตสารพิษจากเชื้อรา 5 ชนิดด้วย agar dilution method พบว่า สารสกัดที่ได้จากขิงมีประสิทธิภาพป้องกันการเจริญของเชื้อราได้ที่ความเข้มข้นระหว่าง 800 - 2500 ppm และยังพบว่า สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* และ *Salmonellainfantis* ได้ โดยมีค่า MIC (minimum inhibition concentration) ระหว่าง 165 - 650 มิลลิกรัมต่อลิตร



คุณสมบัติที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบันของสารประกอบฟีนอลิก คือการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagenic) ซึ่งเกิดจากอนุมูลอิสระ (free radical) และการใช้สารประกอบฟีนอลิกในการป้องกันโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือดและมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอลิกจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่น ๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็วดังปฏิกิริยาต่อไปนี้



เมื่อ $ROO^\bullet$, $RO^\bullet$ คือ อนุมูลอิสระ, PPH คือ polyphenolic compound

เมื่อสารประกอบฟีนอลิกให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระไปแล้ว อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลจะค่อนข้างมีเสถียรภาพ ดังนั้น จึงไม่ทำปฏิกิริยาอื่นต่อไป

จินดาพร คงเดช, ญัฐฐา เลหากุลจิตต์ และอรพิน เกิดชูชื่น. (2552 : 83) ศึกษาประสิทธิภาพสารต้านออกซิเดชันในขมิ้นชัน ไพล ชิง ข่า และบัวบก สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล (ethanol) และปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) พบว่า การสกัดชิงด้วยเอทานอล ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลและสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด แต่สารสกัดขมิ้นชันมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ไทโรซิเนส (tyrosinase) ดีที่สุดเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ใน

เครื่องสำอาง และค่า % inhibition ของ DPPH scavenging มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด อย่างไรก็ตาม การสกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน มีผลต่อความสามารถต้านอนุมูลอิสระต่างกัน (Zaeoung, Plubrukarn and Keawpradub. 2005 : 811)

Ghasemzadeh, Jaafar and Rahmat. (2011 : 1149) ศึกษาผลของตัวทำละลายต่อการสกัดสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในชิงอ่อน โดยศึกษาตัวทำละลาย 3 ชนิด พิจารณาจากความเข้มข้นได้แก่ เมทานอล อะซิโตน (acetone) และคลอโรฟอร์ม (chloroform) พบว่า ตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วสูงสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ดีที่สุด

วิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology ; RSM) เป็นวิธีการทางคณิตศาสตร์และสถิติที่เป็นประโยชน์ในการสร้างแบบจำลองและวิเคราะห์ปัญหาซึ่งแสดงผลตอบสนองต่อผลจากตัวแปรต่าง ๆ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาจุดหรือความเหมาะสมต่อผลนั้น ทำให้ง่ายในการจัดการและการอธิบายผลเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่น (Box and Behnken. 1960 : 455) งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในชิงและข่า โดยเลือกวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายร่วมกับการเขย่า และออกแบบการทดลองด้วยโปรแกรมพื้นที่ผิวตอบสนอง วิธี Box Behnken design แบบ 3 ตัวแปร ปัจจัยที่ศึกษา คือ ความเข้มข้นของตัวทำละลาย อุณหภูมิและเวลาใน



การสกัด รวมถึงทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging assay

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในขิงและข่า
2. เพื่อออกแบบการทดลองด้วยโปรแกรมพื้นที่ผิวตอบสนอง วิธี Box Behnken design แบบ 3 ตัวแปร

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมตัวอย่างพืชขิง ขิงขิงจากตลาดพื้นเมือง ในอำเภอบ้านดง จังหวัดสงขลา โดยนำขิง 10 กิโลกรัม มาล้างด้วยน้ำสะอาด หั่นให้ชิ้นเล็ก ๆ ผึ่งให้แห้งและอบแห้งในตู้อบซึ่งใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เพื่อให้ตัวอย่างแห้งสนิท ลดขนาดด้วยเครื่องบด คัดขนาด 3-4 มิลลิเมตร เก็บรักษาในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิห้องและในสภาวะที่ไม่มีแสง

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์และออกแบบการทดลองด้วยวิธี Box Behnken design แบบ 3 ตัวแปร และช่วงของตัวแปรที่ทำการศึกษาคือความเข้มข้นของเอทานอล (40-80 ร้อยละโดยปริมาตร) เวลาในการสกัด (3-6 ชั่วโมง) และอุณหภูมิ (30-60 องศาเซลเซียส)

การสกัดและทำสารสกัดให้เข้มข้น

นำผงขิงที่บดละเอียด 10 กรัม แช่ในเอทานอลกวนด้วยเครื่อง magnetic stirrer (อัตราส่วน 1:15 น้ำหนัก/ปริมาตร) นำส่วนผสมทั้งหมดกวนให้เข้ากันนาน 3-6 ชั่วโมง ในตัวทำละลายเอทานอล 40-80 (ร้อยละโดยปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 30-60 องศาเซลเซียส เมื่อครบกำหนดจึงกรองแยกกากออกด้วยกระดาษกรอง นำส่วนของสารละลายมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator เพื่อนำไปวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อไป

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) ตามวิธี

ของ Ghasemzadeh, Jaafar and Rahmat. (2011 : 1150) โดยนำสารสกัดแต่ละชนิดมาละลายในเอทานอลแล้วเจือจางในน้ำกลั่น จากนั้นเติมสารละลายที่เจือจางปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วผสมกับสารละลาย Folin-Ciocalteu's phenol reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 นาที เติม 35 % Na_2CO_3 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 20 นาที จากนั้นนำมาวัดการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร เทียบกับ blank ซึ่งใช้เอทานอลแทนสารสกัด หาปริมาณโพลีฟีนอลในสารสกัด โดยเปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลาย gallic acid

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์

หาปริมาณฟลาโวนอยด์



โดยประยุกต์ตามวิธีของ Ghasemzadeh, Jaafar and Rahmat (2011 : 1150) โดยนำสารสกัดแต่ละชนิดมาละลายในเอทานอล ตูตสารละลายมา 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรแล้วเติมน้ำกลั่นลงไป 2 มิลลิลิตร จากนั้น จึงเติม 5% NaNO_2 ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเติม 10% $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 6 นาที นำไปเติม 1 M NaOH ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 5 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้มาวัดการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรเทียบกับ blank ซึ่งใช้เมทานอลแทนสารสกัด คำนวณหาปริมาณ

ฟลาโวนอยด์ในสารสกัดโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย catechin

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

นำสารสกัดตัวอย่างที่ได้มา 0.1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 60 ไมโครโมลาร์ ในเอทานอลความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ปริมาณ 3.9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องที่มีดินาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

จากค่าการดูดกลืนแสงสามารถ นำมาหาค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition) ของปฏิกิริยาออกซิเดชันจากสูตร

$$\% \text{ inhibition} = \left\{ \frac{\text{Abs control} - \text{Abs sample}}{\text{Abs control}} \right\} \times 100$$

เมื่อ *Abs control* คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ blank (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)(t = 0 min) และ *Abs sample* คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายของสารสกัดตัวอย่าง (t= 30 min)

การวิเคราะห์ผลโดยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (response surface methodology)
การวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนอง จากตัวแปรที่ศึกษา คือ ความเข้มข้นของเอทานอล เวลา และอุณหภูมิ ในการสกัด สมการที่ได้จากการประมาณพื้นที่ผิวตอบสนองด้วยความสัมพันธ์อันดับสองนั้น

สามารถใช้หาค่าระดับของปัจจัยที่ให้ค่าผลตอบแทนที่เหมาะสมที่สุด หรือพิจารณาจากรูปพื้นที่ผิวตอบสนองและโครงร่างที่สร้างขึ้นจากสมการประมาณที่ได้

ผลการวิจัย

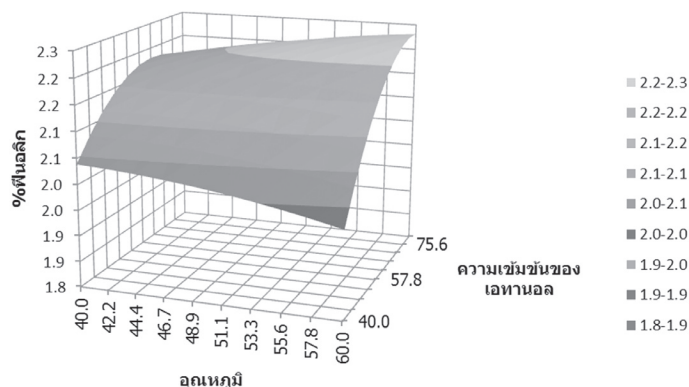
ผลวิเคราะห์สารสำคัญจากการสกัดด้วยตัวทำละลายร่วมกับการเขย่า ผลได้ของการสกัดสารจากขิงและการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สภาวะต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 1



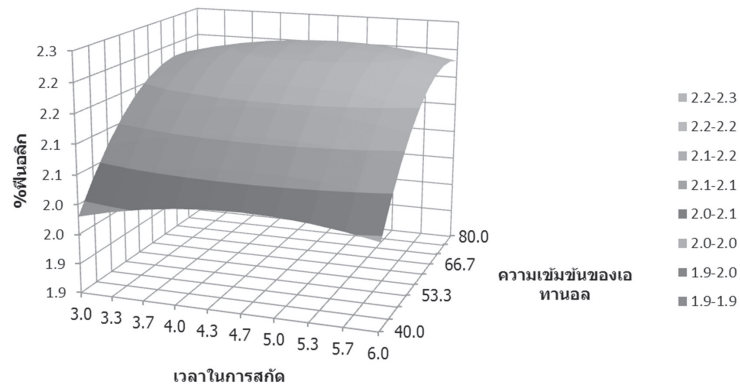
ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในขิง

Experiment No.	Ethanol Concentration (%V)	Time (hr)	Temperature (°C)	% Yield	Phenolic Content (% Dry Wt.)	Flavonoid Content (% Dry Wt.)	Inhibition (%)
1	60	6	40	20.27	2.15	1.31	51.40
2	40	6	50	21.00	1.97	1.34	43.30
3	80	4.5	40	18.71	2.15	2.04	56.70
4	60	3	40	20.41	2.10	1.54	48.60
5	60	3	60	13.11	2.17	1.53	49.30
6	40	3	50	16.29	1.97	1.44	50.90
7	60	4.5	50	24.24	2.23	1.46	60.50
8	80	4.5	60	11.61	2.20	1.95	49.30
9	40	4.5	60	24.45	1.97	1.59	51.50
10	80	3	50	4.45	2.18	2.09	60.00
11	40	4.5	40	24.90	2.07	1.22	16.60
12	60	6	60	24.08	2.15	1.63	58.00
13	80	6	50	17.35	2.20	2.05	57.40
14	60	4.5	50	21.96	2.17	1.51	60.30
15	60	4.5	50	21.12	2.15	1.42	55.90

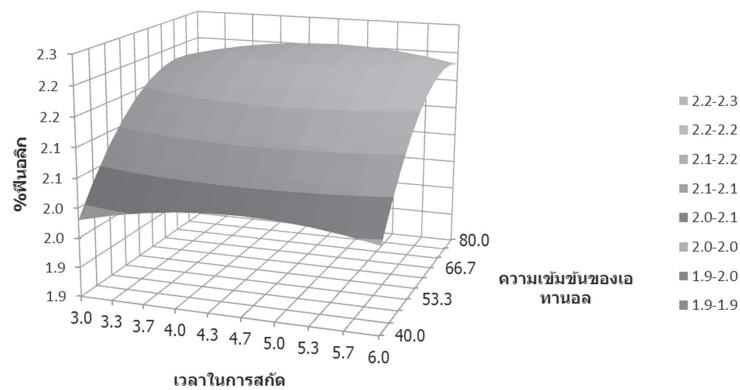
กราฟพื้นที่ผิวตอบสนองที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคู่ตัวแปรต่าง ๆ ที่มีผลต่อปริมาณสารสกัดจากขิงต่อปริมาณ ฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์ที่สกัดได้ รวมทั้งต่อการต้านอนุมูลอิสระ แสดงในภาพที่ 1 ถึง 9



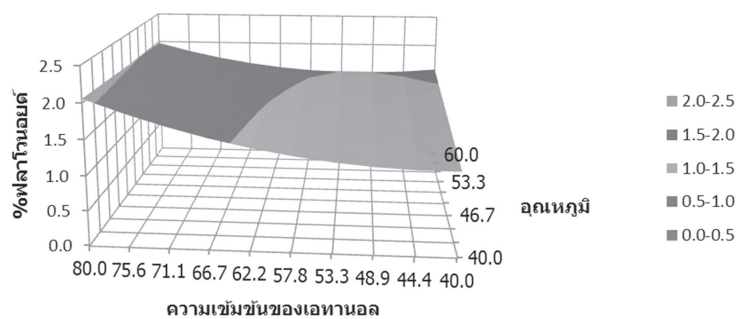
ภาพที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างผลของความเข้มข้นของเอทานอลและอุณหภูมิต่อปริมาณฟีนอลิก



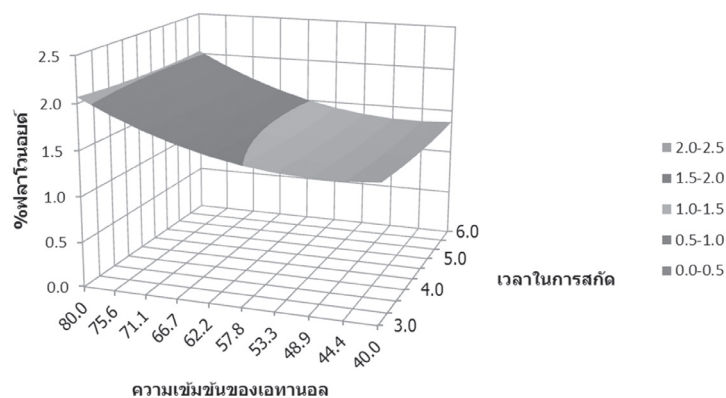
ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างผลของผลของความเข้มข้นของเอทานอลและเวลาในการสกัดต่อปริมาณฟีนอลิก



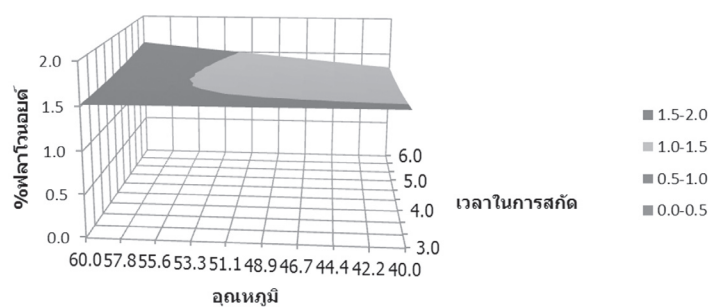
ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดต่อปริมาณฟีนอลิก



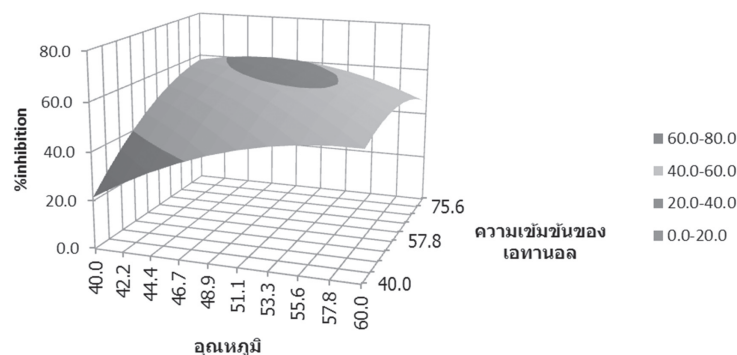
ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างผลของความเข้มข้นของเอทานอลและอุณหภูมิต่อปริมาณฟลาโวนอยด์



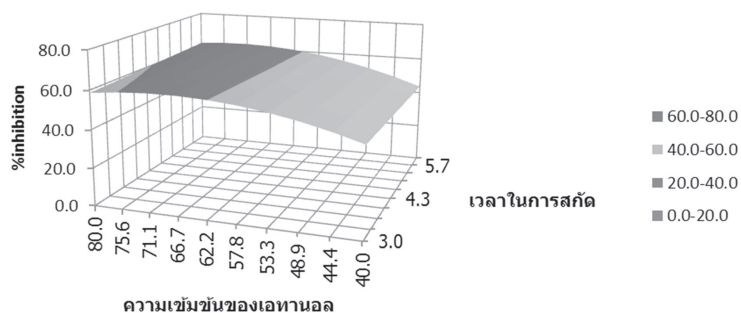
ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างผลของความเข้มข้นของเอทานอลและเวลาต่อปริมาณฟลาโวนอยด์



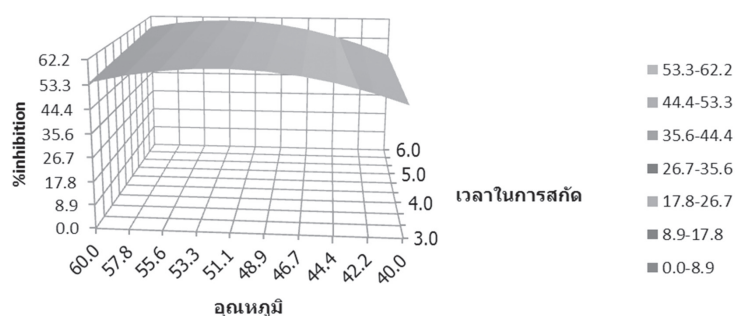
ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างผลของลิกแนนและเวลาในการสกัดมีต่อปริมาณฟลาโวนอยด์



ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างผลของความเข้มข้นของเอทานอลและลิกแนนมีต่อการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดขิง



ภาพที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอทานอลและเวลาในการสกัดมีต่อค่าการต้านอนุมูลอิสระ



ภาพที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างอากะหมี่และเวลาในการสกัดมีต่อค่าการต้านอนุมูลอิสระ

อภิปรายผล

สกัดสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์จากขิงไทย ด้วยการสกัดแบบตัวทำละลายร่วมกับการเขย่า โดยออกแบบการทดลองด้วยโปรแกรมพื้นผิวตอบสนองวิธี Box Behnken design 3 ตัวแปร 3 ระดับ โดยศึกษาผลของทั้ง 3 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของเอทานอล อากะหมี่และเวลา ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัด พิจารณาจากผลได้ และคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสำคัญ

ผลการทำนายสภาวะที่เหมาะสมที่มีผลต่อปริมาณการสกัดฟีนอลิกมากที่สุด คือ การสกัดที่อากะหมี่ 60 องศาเซลเซียส โดยใช้เอทานอลความเข้มข้น 77 ร้อยละโดยปริมาตร เวลาในการสกัด คือ 4.2 ชั่วโมง ค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด (R^2) จากสมการสหสัมพันธ์ที่ใช้ทำนายผลได้การสกัด คือ 0.93 การสกัดภายใต้สภาวะดังกล่าวนี้ พบว่าผลได้การสกัดฟีนอลิกเท่ากับ 2.23 ร้อยละโดยน้ำหนักขิงแห้ง สมการที่ใช้ในการทำนายคือ

$$\%phenolics = 0.949 + 0.018[EtOH] + 0.179*$$



$$\text{time} + 0.006 \cdot \text{temp} + 0.0002 \cdot [\text{EtOH}]^2 - 0.013 \cdot \text{time}^2 + 0.0002 \cdot \text{temp}^2 + 0.0002 [\text{EtOH}] \cdot \text{temp} - 0.001 \cdot \text{time}^2$$

ผลการทำนายสภาวะที่เหมาะสมที่มีผลต่อปริมาณการสกัดฟลาโวนอยด์มากที่สุด คือ การสกัดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เอทานอลความเข้มข้น 80 ร้อยละโดยปริมาตร และเวลาในการสกัด คือ 3 ชั่วโมง ผลได้การสกัดฟลาโวนอยด์เท่ากับ 2.19 ร้อยละโดยน้ำหนัก ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด (R^2) จากสมการสหสัมพันธ์ที่ใช้ทำนายผลได้การสกัด คือ 0.94 สมการที่ใช้ในการทำนาย $\% \text{flavonoids} = -0.08182 + 0.01 \cdot [\text{EtOH}] - 0.639 \cdot \text{time} + 0.09 \cdot \text{temp} + 0.0004 \cdot [\text{EtOH}]^2 + 0.034 \cdot \text{time}^2 - 0.0005 \cdot \text{temp}^2 + 0.0005 \cdot [\text{EtOH}] \cdot \text{time} - 0.001 \cdot [\text{EtOH}] \cdot \text{temp} + 0.006 \cdot \text{time}^2$

ผลการวิจัยโครงร่างพื้นผิวที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอุณหภูมิ ความเข้มข้นของเอทานอลและเวลาในการสกัด ค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด (R^2) จากสมการสหสัมพันธ์ที่ใช้ทำนายผลได้การสกัด คือ 0.91 พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสำคัญในซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ การสกัดที่เอทานอลความเข้มข้น 73 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร อุณหภูมิ

49 องศาเซลเซียส และเวลาในการสกัด คือ 6 ชั่วโมง การสกัดภายใต้สภาวะดังกล่าวพบว่า สารสกัดในซึ่งมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 62.52 เปอร์เซ็นต์เทียบกับสารมาตรฐาน DPPH สมการที่ใช้ในการทำนาย $\% \text{inhibition} = -383.78 + 5.01 \cdot [\text{EtOH}] - 7.308 \cdot \text{time} + 11.48 \cdot \text{temp} + 0.02 \cdot [\text{EtOH}]^2 + 0.08 \cdot \text{temp}^2 + 0.04 \cdot [\text{EtOH}] \cdot \text{time} + 0.05 \cdot [\text{EtOH}] \cdot \text{temp} + 0.098 \cdot \text{time}^2$

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปี 2555 ขอขอบคุณอาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พγμαมาศ เจษฎ์พัฒนานนท์ ที่ได้ให้คำแนะนำ ตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ มาโดยตลอด ขอขอบคุณภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ วัสดุอุปกรณ์ และสุดท้ายขอขอบคุณ คุณธเนศ วัชรสุวรรณ วิศวกรอาวุโส สถานวิจัยและพัฒนาพลังงานทดแทนจากน้ำมันปาล์มและพืชน้ำมัน ในการให้คำปรึกษาแนะนำและเพื่อนร่วมงานในภาควิชาวิศวกรรมเคมีที่ให้งานกำลังใจตลอดมา





เอกสารอ้างอิง

- จินดาพร คงเดช ญัฐฐา เลหากุลจิตต์ และอรพิน เกิดชูชื่น. (2552) “ประสิทธิภาพของการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากพืช 5 ชนิด” **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**. 40 : (1 พิเศษ) หน้า 83-86.
- ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิต. (2538) **ตำราเอกลักษณ์สมุนไพร**. กรุงเทพมหานคร : ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยมหิดล.
- Box, G. E. P. and Behnken, D. W. (1960) “Some new three level designs for the study of quantitative variables” **Technometrics**. 2 page 455-475.
- Esam, H. M. and Ali, H. K. (2000) “Evaluation of antioxidant of some plant extracts and their application to ground beef patties” **J. Food Chemistry**. (69) page 135-141.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. and Rahmat A. (2011) “Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in two varieties of young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracts” **J. Medicinal Plants Research**. 5 (7) page 1147-1154.
- Habsah, M. et al. (2000) “Screening of Zingiberaceae extracts for antimicrobial and antioxidant activities” **J. Ethnopharmacology**. 72 page 403-410.
- Liu, Z. L. and Ho, S. H. (1999) “Bioactivity of the essential oil extracted from *Evodia rutaecarpa* Hook f. et Thomas against the grain storage insects, *Sitophilus zeamais* Motsch. And *Tribolium castaneum* (Herbst)” **J. Stored Products Research**. 35 page 317-328.
- Nguefack, J. et al. (2004) “Evaluation of five essential oil from aromatic plant of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi” **International Journal of Food Microbiology**. 94 page 329-334.
- Zaeoung, S., A Plubrukarn and N. Keawpradub. (2005) “Cytotoxic and free radical scavenging activities of Zingiberaceous rhizomes” **J. Songklanakarin Sci. Technol**. 27(4) page 799-812.