การสกัดใบบัวบก (*Centella asiatica*) ด้วยไมโครเวฟและการประยุกต์ใช้สารสกัดเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาแผ่นแป้งโรตี

Microwave-assisted extraction of *Centella asiatica* and application of extracted on shelf-life extension of Roti sheets

กษิดิศ กุฎีศรี

Kasidis Kudeesri

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาการจัดการความปลอดภัยอาหาร

คณะอุตสาหกรรมอาหาร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2568

KMITL-2025-FI-M-054-505

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Microwave-assisted extraction of *Centella asiatica* and application of extracted on shelf-life extension of Roti sheets

KASIDIS KUDEESRI

THE THESIS STUDY SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENDE IN FOOD SAFETY MANAGEMENT

SCHOOL OF FOOD INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2025

KMITL-2025-FI-M-054-505

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2025
SCHOOL OF FOOD INDUSTRY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิทยานิพนธ์	การสกัดใบบัวบก (*Centella asiatica*) ด้วยไมโครเวฟและการประยุกต์ใช้สารสกัดเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาแผ่นแป้งโรตี
นักศึกษา	กษิดิศ กุฎีศรี
รหัสประจำตัว	66086002
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	การจัดการความปลอดภัยอาหาร
พ.ศ.	2568
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.วิภาวดี สงัดกิจ

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบบัวบกด้วยไมโครเวฟเพื่อประยุกต์ใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาแผ่นแป้งโรตี โดยนำสมุนไพรใบบัวบกมาสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave-assisted extraction) ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย และออกแบบการทดลองด้วยวิธีบ๊อกซ์-เบ็นเกน (Box-Behnken design, BBD) เพื่อศึกษาอิทธิพลของเวลาในการสกัด (30 – 180 วินาที) อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (1:3 – 1:15) ความเข้มข้นของเอทานอล (20 – 95 % v/v) และกำลังวัตต์ของไมโครเวฟ (100 – 800 วัตต์) พบว่าสภาวะการสกัดที่ให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงในกลุ่มของปริมาณฟีนอลิก (Total Phenolic Content) เป็นการสกัดด้วยไมโครเวฟกำลัง 597.07 W เวลาในการสกัด 116.70 s อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:11 ความเข้มข้นของเอทานอล 61.28 % v/v ให้ปริมาณฟีโนลิก 93.73 mg GAE/g extract ปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid ที่สูงเป็นการสกัดด้วยไมโครเวฟกำลัง 344.31 W เวลาในการสกัด 139.523 s อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:7 ความเข้มข้นของเอทานอล 86.0441 % v/v ให้ปริมาณ Asiatic acid 105.953 mg/mL ปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside ที่สูงเป็นการสกัดด้วยไมโครเวฟกำลัง 342.57 W เวลาในการสกัด 130.761 วินาที อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:12 ความเข้มข้นของเอทานอล 94.1677 % v/v ให้ปริมาณ Asiaticoside 29.6864 mg/mL และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ที่สูงเป็นการสกัดด้วยไมโครเวฟกำลัง 596.47 W เวลาในการสกัด 110.96 s อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:11 ความเข้มข้นของเอทานอล 94.72 % v/v ให้ปริมาณไตรเทอปีนอยด์ 372.39 mg Ursolic acid/g extract จากนั้นนำสารสกัดที่ได้จากสภาวะการสกัดที่เหมาะสมทั้ง 4 สภาวะไปศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคด้วยวิธี Disc diffusion technique พบว่าสารสกัดใบบัวบกที่ให้ปริมาณไตรเทอปีนอยด์สูงสามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Typhimurium, *S.* Enteritidis, *S.* Choleraesuis, *E. coli*, *S. aureus, L. monocytogenes, B. cereus* และ *C. albicans* ได้ดีที่สุด ในการศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal inhibitory concentration, MIC) ด้วยวิธี Broth dilution technique ได้ค่า MIC ที่ 250 mg/mL สำหรับทุกเชื้อ และศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ด้วยวิธี Agar dilution technique ได้ค่า MBC ที่ 125 mg/mL สำหรับทุกเชื้อ จากนั้นนำสารสกัดจากใบบัวบกไปประยุกต์ใช้เป็นสารกันเสียจากธรรมชาติในแผ่นแป้งโรตี โดยแบ่งผลิตแป้งโรตีออกเป็น 3 สูตร คือ แผ่นแป้งโรตีชุดควบคุม (ไม่ได้เติมสารสกัด), แผ่นแป้งโรตีเติมสารกันเสียสังเคราะห์ (โซเดียมเบนโซเอท 0.1%) และแผ่นแป้งโรตีเติมสารสกัดใบบัวบกความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ดี โดยแต่ละสูตรจะบรรจุในถุงโพลิโพรพิลีนภายใต้สภาวะบรรยากาศและการดึงอากาศออกจากบรรจุภัณฑ์ จากนั้นเก็บรักษาที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วันเพื่อตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด ปริมาณยีสต์/รา ปริมาณน้ำอิสระทุก ๆ วัน พบว่าผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีที่มีส่วนประกอบของสารสกัดใบบัวบกที่เก็บรักษาภายใต้การดึงอากาศออกสามารถเก็บรักษาได้ 4 วันจากปกติแผ่นแป้งโรตีชุดควบคุมเก็บรักษาได้ 2 วัน การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสพบว่าคะแนนเฉลี่ยความชอบด้านสี ลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัสของแผ่นแป้งโรตีที่ไม่เติมสารสกัดและเติมสารสกัดใบบัวบกทั้ง 2 สูตรไม่มีความแตกต่างกันในระดับความเชื่อมั่น 95% ($P>0.05$) ในขณะที่คะแนนเฉลี่ยด้านกลิ่น รสชาติและความชอบโดยรวมมีความแตกต่างกันในระดับความเชื่อมั่น 95% ($P<0.05$) โดยผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีที่ไม่เติมสารสกัดใบบัวบกให้คะแนนเฉลี่ยด้านกลิ่น รสชาติ ความชอบรวมสูงกว่าแผ่นแป้งโรตีที่มีการเติมสารสกัดใบบัวบก

คำสำคัญ : ใบบัวบก, สารสกัด, ไมโครเวฟ, แผ่นแป้งโรตี, การยืดอายุการเก็บ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Microwave-assisted extraction of *Centella asiatica* and application of extracted on shelf-life extension of Roti sheets
Student	Kasidis Kudeesri
Student ID	66086002
Degree	Master of Science
Program	Food Safety Management
Year	2025
Thesis advisor	Asst.Prof.Dr. Wipavadee Sangadkit

ABSTRACT

This study optimized microwave-assisted extraction conditions for obtaining bioactive compounds from *Centella asiatica* leaves for use in extending the shelf life of roti dough sheets. Extraction variables included time (30–180 s), solid-to-solvent ratio (1:3–1:15), ethanol concentration (20–95% v/v), and microwave power (100–800 W), using a Box–Behnken design. The highest total phenolic content (93.73 mg GAE/g extract) was achieved at 597.07 W, 116.70 s, 1:11 ratio, and 61.28% ethanol. The maximum yields of asiatic acid (105.953 mg/mL), asiaticoside (29.6864 mg/mL), and total triterpenoids (372.39 mg/g extract as ursolic acid equivalents) were obtained under different optimized conditions. Extracts obtained from the four optimized extraction conditions were evaluated for antimicrobial activity using the disc diffusion technique. The extract with the highest triterpenoid content exhibited the most effective inhibition against *S.* Typhimurium, *S.* Enteritidis, *S.* Choleraesuis, *E.* coli, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, and *C. albicans*. *Centella asiatica* extract exhibited antimicrobial activity with a MIC of 250 mg/mL and an MBC of 125 mg/mL against all tested microorganisms. The extract was applied as a natural preservative in roti sheets and compared with control and synthetic preservative (0.1% sodium benzoate) formulations. Samples were stored at 25°C under vacuum and atmospheric conditions. Roti with *C. asiatica* extract under vacuum conditions showed an extended shelf life of 4 days, compared to 2 days in the control. Sensory evaluation showed no significant differences ($P > 0.05$) in color, appearance, and texture among samples, while aroma, taste, and overall acceptability were significantly higher ($P < 0.05$) in the control group.

Key words: *Centella asiatica*, extracted, microwave, Roti sheets, shelf-life extension

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้จัดทำวิทยานิพนธ์ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.วิภาวดี สงัดกิจ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้ความรู้ แนวคิด คำปรึกษา และข้อเสนอแนะในการดำเนินงานวิจัยตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.ทรงศักดิ์ วัฒนชัยเสรีกุล และ รศ.ดร.ศริษฐา อิ่มเอิบ อาจารย์คณะอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และ รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ ที่ได้ให้เกียรติเป็นกรรมการสอบปกป้องวิทยานิพนธ์ และได้กรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติมที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งตลอดจนตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความถูกต้องยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ธุรการทุกท่าน รวมถึงเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ นักศึกษา คณะอุตสาหกรรมอาหารทุกท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือให้คำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ และให้กำลังใจในการทำวิจัยนี้ตลอดมา

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ครอบครัวของข้าพเจ้าที่สนับสนุนและช่วยเหลือทางด้านการศึกษาและเป็นกำลังใจอยู่เสมอทำให้ข้าพเจ้าทำงานวิจัยนี้จนสำเร็จ ประโยชน์อันใดที่ได้จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของทุกท่านดังกล่าวข้างต้น ผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบพระคุณทุกท่านไว้ ณ โอกาสนี้

กษิดิศ กุฎีศรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	IV
สารบัญ	V
สารบัญตาราง	IX
สารบัญรูป	X
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	3
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 บัวบก (Centella asiatica (L.))	4
2.2 แผ่นแป้งโรตี	5
2.3 การสกัดแบบต่างๆ	7
2.4 สารประกอบฟีนอลิก	11
2.5 วัตถุกันเสีย	12
2.6 จุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่างๆ	12
2.7 การประเมินอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร	18
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	18
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	20
3.1 วัตถุดิบและสารเคมี	20
3.1.1 วัตถุดิบ	20
3.1.2 สารเคมี	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ 20
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ 20
3.2.1 อุปกรณ์ 20
3.2.2 เครื่องมือ 21
3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง 22
3.3.1 การเตรียมวัตถุดิบใบบัวบกผง 22
3.3.2 การศึกษาการสกัดใบบัวบกผงที่สภาวะต่างๆ โดยออกแบบการทดลองแบบ Single factors 22
3.3.3 การศึกษาการสกัดใบบัวบกผงที่สภาวะต่างๆ โดยออกแบบการทดลองแบบ Box–Behnken design 22
3.3.4 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดใบบัวบกด้วยไมโครเวฟ 23
3.3.5 การวิเคราะห์สาระสำคัญในใบบัวบกที่สกัดได้จากสภาวะต่างๆ 23
3.4 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดใบบัวบก 24
3.5 การประยุกต์ใช้สารสกัดใบบัวบกในผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีร่วมกับการปรับสภาพบรรยากาศในบรรจุภัณฑ์ระหว่างเก็บรักษาเพื่อยืดอายุการเก็บ 26
3.6 การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส (Sensory test) 28
3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ 29
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 30
4.1 ผลของปัจจัยเดี่ยวที่มีผลต่อปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์ในสารสกัดใบบัวบกที่สกัดด้วยไมโครเวฟ 30
4.1.1 ผลของเวลาในการสกัด 30
4.1.2 ผลของอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 31
4.1.3 ผลของความเข้มข้นเอทานอล 32
4.1.4 ผลของกำลังวัตต์ไมโครเวฟ 33
4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดใบบัวบกด้วยไมโครเวฟ 34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด (Total triterpenoids content)..... 34
4.2.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Content)..... 42
4.2.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid ในสารสกัดใบบัวบก..... 50
4.2.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside ในสารสกัดใบบัวบก..... 57
4.3 ผลของการใช้สารสกัดจากสมุนไพรใบบัวบกในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค..... 64
4.3.1 การศึกษาการใช้สารสกัดจากสมุนไพรใบบัวบกในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคโดยใช้วิธี Disc diffusion technique..... 64
4.3.2 การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของสารสกัดจากใบบัวบก ด้วยวิธี Broth dilution technique และการศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ด้วยวิธี Agar dilution technique..... 66
4.4 การประยุกต์ใช้สารสกัดใบบัวบกร่วมกับการควบคุมบรรจุภัณฑ์ในในผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มโรตีเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา..... 68
4.4.1 การประยุกต์ใช้สารสกัดใบบัวบกในผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มโรตีร่วมกับการปรับสภาพแวดล้อมการเก็บรักษาที่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) ในระหว่างเก็บรักษา..... 70
4.4.2 การประยุกต์ใช้สารสกัดใบบัวบกในผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มโรตีร่วมกับการปรับสภาพแวดล้อมการเก็บรักษาที่มีผลต่อปริมาณยีสต์/รา (Yeast/Mold) ในระหว่างเก็บรักษา..... 71
4.4.3 การประยุกต์ใช้สารสกัดใบบัวบกในผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มโรตีร่วมกับการปรับสภาพแวดล้อมการเก็บรักษาที่มีผลต่อ Aw ในระหว่างเก็บรักษา..... 73
4.4.4 การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส..... 74
4.5 แนวทางการจัดการความปลอดภัยในกระบวนการผลิตแผ่นแป้งโรตีเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา..... 76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ 82

5.1 สรุปผล 82

5.2 ข้อเสนอแนะ 83

บรรณานุกรม 84

ประวัติผู้เขียน 88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	สูตรส่วนผสมการผลิตแป้งโรตีและการเก็บแผ่นแป้งโรตีที่สภาวะต่างๆ	27
3.2	การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์แป้งโรตี	29
4.1	ผลการวิเคราะห์ปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากใบบัวบก	34
4.2	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด	35
4.3	ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดของสารสกัดจากใบบัวบก	42
4.4	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด	43
4.5	ค่าปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid ในสารสกัดใบบัวบก	50
4.6	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid ในสารสกัดใบบัวบก	51
4.7	ค่าปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside ในสารสกัดใบบัวบก	57
4.8	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside	58
4.9	การทดสอบสารสกัดจากสมุนไพรใบบัวบกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคด้วยวิธี Disc diffusion technique โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 1.5×10^8 CFU/mL	65
4.10	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดใบบัวบกจากสภาวะการสกัดด้วยไมโครเวฟที่ 600 W, 110 s, 1:11, ความเข้มข้นเอทานอล 95% ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC)	67
4.11	การเปลี่ยนแปลงของปริมาณยีสต์/รา (Yeast/Mold) ในแผ่นแป้งโรตีระหว่างการเก็บรักษา 5 วัน (Log CFU/g)	72
4.12	การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส	75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ลักษณะสมุนไพรใบบัวบก	5
3.1	แสดงการทดลองหาค่า MIC โดยวิธี 96-well plate method	26
4.1	ผลของเวลาในการสกัดใบบัวบกที่เวลา 30, 60, 90, 120, 150, 180 วินาทีด้วยไมโครเวฟ กำลังวัตต์ 450 วัตต์ อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:9 ที่ความเข้มข้นของเอทานอล 60 เปอร์เซ็นต์ที่มีต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ (mg Ursolic acid/g extract)	30
4.2	ผลของอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ 1:3, 1:6, 1:9, 1:12, 1:15 ในการสกัดใบบัวบก ที่เวลา 120 วินาที ด้วยไมโครเวฟกำลังวัตต์ 450 วัตต์ ที่ความเข้มข้นของเอทานอล 60 เปอร์เซ็นต์ ที่มีต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ (mg Ursolic acid/g extract)	31
4.3	ผลของความเข้มข้นเอทานอลที่ 20, 40, 60, 80 และ 95% ในการสกัดใบบัวบกที่เวลา 120 วินาที ด้วยไมโครเวฟกำลังวัตต์ 450 วัตต์ ที่อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:9 ที่มีต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ (mg Ursolic acid/g extract)	32
4.4	ผลของกำลังวัตต์ไมโครเวฟที่ 100, 180, 300, 450, 600 และ 800 วัตต์ในการสกัดใบบัวบก ที่เวลา 120 วินาที ที่อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:9 ความเข้มข้นของเอทานอล 60 เปอร์เซ็นต์ที่มีต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ (mg Ursolic acid/g extract)	33
4.5	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากการทำนายกับค่าจริงที่ได้จากการทดลองของปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด	37
4.6	กราฟแสดงปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด	37
4.7	แสดงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดในรูปแบบ 2 มิติ (ซ้าย) และรูปแบบ 3 มิติ (ขวา)	38
4.8	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากการทำนายกับค่าจริงที่ได้จากการทดลองของปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด	45
4.9	กราฟแสดงปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด	45
4.10	แสดงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดในรูปแบบ 2 มิติ (ซ้าย) และรูปแบบ 3 มิติ (ขวา)	46
4.11	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากการทำนายกับค่าจริงที่ได้จากการทดลองของปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid ในสารสกัดใบบัวบก	52
4.12	กราฟแสดงปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.13	แสดงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid ในรูปแบบ 2 มิติ (ซ้าย) และ รูปแบบ 3 มิติ (ขวา)	54
4.14	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากการทำนายกับค่าจริงที่ได้จากการทดลองของ ปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside	59
4.15	กราฟแสดงปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside	60
4.16	แสดงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside ในรูปแบบ 2 มิติ (ซ้าย) และ รูปแบบ 3 มิติ (ขวา)	61
4.17	การทำแป้งโรตีให้สุกบนกระทะแบน	68
4.18	แผ่นแป้งเมื่อสุกแล้วมาวางเรียงซ้อนกัน ก่อนบรรจุใส่ถุงหรือกล่องโฟม	68
4.19	ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์/ราบนแผ่นแป้งโรตีที่เก็บไว้ 2 วัน	69
4.20	การเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) ในแผ่นแป้งโรตีสูตรต่างๆ ที่เก็บรักษา 5 วัน (log CFU/g) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	70
4.21	การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำอิสระ (A_w) ในแผ่นแป้งโรตีสูตรต่างๆที่เก็บรักษา 5 วัน (log CFU/g) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	73
4.22	แป้งสาลีที่ใช้ในการผลิตแผ่นแป้งโรตี	76
4.23	แนวทางการจัดวางไลน์กระบวนการผลิตแผ่นแป้งโรตี	77
4.24	การนวดแป้งสาลีที่มีการผสมส่วนประกอบอื่นๆ	78
4.25	ก้อนแป้งสาลีที่ผ่านการนวดจะถูกนำมาปาดให้เป็นแผ่นบนกระทะร้อน เมื่อแผ่นแป้งสุก แผ่นแป้งจะถูกแซะออกจากเตาและวางเก็บในภาชะเพื่อให้แผ่นแป้งพักเย็น	79
4.26	แผ่นโรตีที่ไม่ได้มีการพักให้เย็น เมื่อนำมาบรรจุในบรรจุภัณฑ์จะทำให้มีไอน้ำเกาะที่ผิวภายในถุง เสี่ยงต่อการเกิดเชื้อราได้ง่าย	79
4.27	การบรรจุแผ่นแป้งโรตีในบรรจุภัณฑ์ภายใต้สภาวะสุญญากาศ	80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

แผ่นแป้งโรตีเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีอายุการเก็บรักษาสั้นมาก ภายในเวลา 2 วัน แผ่นแป้งจะเสื่อมเสียจนบริโภคไม่ได้ (ทศพร, 2555) เนื่องจากมีความชื้นร้อยละ 46.99 และมีปริมาณน้ำอิสระ (A_w) มากกว่าหรือเท่ากับ 0.9 ทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เน่าเสีย (microbial food spoilage) และจุลินทรีย์ก่อโรค (foodborne pathogen) ได้ง่าย ซึ่งส่วนใหญ่นิยมใช้กรดเบนโซอิกเป็นวัตถุกันเสียเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา ทำให้เมื่อผู้บริโภคได้รับกรดเบนโซอิกในปริมาณสะสมมากขึ้นในร่างกาย อาจทำให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพ เช่น ทำให้เกิดอาการปวดท้อง ท้องเสีย คลื่นไส้ อาเจียน นอกจากนั้นยังทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของตับและไตลดลง หรืออาจพิการได้ (นันทพัทธ์และฐิติกร, 2563) ดังนั้นผู้บริโภคจึงต้องการบริโภคแผ่นแป้งโรตีที่ปราศจากการเติมสารเคมีลงในส่วนผสม ซึ่ง Hurdle technology ก็เป็นหนึ่งในเทคนิคการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารที่น่าสนใจ โดยได้ถูกพัฒนากันมาหลายปีแล้ว เพื่อผลิตอาหารที่ปลอดภัย ประหยัดและคงคุณค่าทางโภชนาการไว้ ซึ่ง Hurdle technology เป็นเทคนิคที่นำวิธีการถนอมต่างๆ มารวมกันเพื่อไม่ให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ วิธีการเหล่านี้คือการควบคุมอุณหภูมิ ควบคุมปริมาณน้ำอิสระหรือวอร์เตอร์แอคทีวิตี้ ควบคุมความเป็นกรดด่าง เป็นต้น โดยการใช้แนวคิดนี้ในการถนอมอาหารนอกจากช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์แล้ว ยังช่วยรักษาคุณสมบัติทางโภชนาการและประสาทสัมผัสของอาหารไว้ด้วย (ทศพร, 2555) ด้วยเหตุนี้ในงานวิจัยนี้จึงนำ Hurdle technology ซึ่งได้แก่ การใช้สารสกัดจากใบบัวบกเป็นส่วนประกอบในการผลิตแผ่นแป้งโรตี ร่วมกับการบรรจุในถุงสภาวะสุญญากาศเพื่อจำกัดอากาศในการเจริญของจุลินทรีย์ มาช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาแผ่นแป้งโรตี

ปัจจุบันบัวบกก็ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในรูปของสารสกัดมากมาย รวมถึงการใช้เป็นสารยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร เนื่องจากมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ซึ่งได้แก่ สารประกอบกลุ่มไตรเทอร์ปีน (Triterpene Compound) เป็นหลัก โดยพบว่า สารประกอบไตรเทอร์ปีนเป็นสารประกอบที่พบมากที่สุดในใบบัวบก ซึ่งสารประกอบหลักของไตรเทอร์ปีน ได้แก่ มาเดคาสโซไซด์ (Madecassoside) อะเซียติโคไซด์ (Asiaticoside) กรดมาเดคาสสิก (Madecassic Acid) และกรดอะเซียติก (Asiatic Acid) (มานพ, 2559) โดยสารสำคัญในกลุ่มไตรเทอร์ปีนที่มีบทบาทเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ คือ อะเซียติโคไซด์และกรดอะเซียติก (Wan-Joo Kima et al., 2009) ซึ่งสารสกัดบัวบกเหล่านี้ก็มีฤทธิ์ต้านเชื้อราและแบคทีเรียมากมาย เช่น สารสกัดบัวบกทั้งต้นที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio vulnificus* และ *Steptococcus sp.* นอกจากนี้การสกัดต้นบัวบกและใบด้วยน้ำ สารสกัดที่ได้จะมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

aureus, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Shigella exneri* และ *Pseudomonas aeruginosa* และมีการศึกษาพบว่าอนุพันธ์บางชนิดของ asiaticoside สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อวัณโรค และลดรอยโรคที่เกิดจากเชื้อวัณโรคในตับ ปอด และปมประสาทของหนูตะเภา (ธีรารัตน์, 2563) ด้วยเหตุผลดังกล่าว ในงานวิจัยนี้จึงได้เลือกใช้สารสกัดใบบัวบกในการยืดอายุการเก็บรักษาของแผ่นแป้งโรตี

โดยการได้มาซึ่งสารสกัดเพื่อให้ได้ปริมาณที่เพียงพอในการนำไปประยุกต์ใช้ ทำให้เทคนิคการสกัดเข้ามามีส่วนสำคัญเพื่อดึงหรือสกัดเอาสารที่มีประโยชน์ออกมาจากพืชที่ต้องการ ทำให้เข้มข้นและนำไปใช้ประโยชน์ในรูปแบบต่างๆ วิธีการสกัดที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญต่อการสกัดสารที่มีประโยชน์มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ทั้งนี้วิธีการสกัดแบบดั้งเดิมทั่วไป ได้แก่ การต้ม ซึ่งข้อเสียของวิธีนี้ต้องใช้ความร้อนสูงและใช้ตัวทำละลายมาก การหมัก (Maceration) เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการสกัดโดยทั่วไป แต่มีข้อเสีย คือการสกัดมักไม่ค่อยสมบูรณ์เนื่องจากไม่มีการเคลื่อนที่ของตัวทำละลาย อีกทั้งใช้เวลาในการสกัดและใช้ตัวทำละลายมาก (อารีรัตน์, 2560) การสกัดแบบซอกห์เลต (Soxhlet Extraction) เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องเหมาะสำหรับการสกัดองค์ประกอบที่ทนต่อความร้อน ซึ่งไม่เหมาะกับการสกัดองค์ประกอบที่ไม่ทนความร้อน และมีข้อจำกัดคือตัวทำละลายที่ใช้ไม่ควรเป็นของผสม อีกทั้งวิธีนี้ใช้เวลาในการสกัดค่อนข้างนาน (อารีรัตน์, 2560) การสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical - Fluid Extraction) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพแต่มีค่าใช้จ่ายสูง ส่วนใหญ่นิยมใช้กับการสกัดที่ต้องการความบริสุทธิ์มากๆ การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave Assisted Extraction, MAE) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากกว่าการสกัดแบบดั้งเดิม ซึ่งช่วยลดระยะเวลาการสกัดและใช้ตัวทำละลายน้อยกว่าวิธีการต้มและวิธีการหมัก ช่วยเพิ่มผลผลิตจากการสกัด (Subhash et al., 2015) ซึ่งการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟมีหลักการคือ จะใช้ความร้อนจากคลื่นไมโครเวฟทำให้โมเลกุลน้ำในเซลล์พืชสั่นสะเทือน ทำให้เซลล์แตกจากการได้รับความร้อนยิ่งยวด และปล่อยสารสำคัญที่อยู่ภายในออกมา (วรัญญา, 2560) ในงานวิจัยนี้จึงได้เลือกใช้การสกัดด้วยไมโครเวฟในการสกัดสารจากใบบัวบก แล้วนำสารสกัดใบบัวบกที่ได้จากสภาวะการสกัดที่เหมาะสมมาประยุกต์ใช้กับแผ่นแป้งโรตี ร่วมกับการบรรจุแผ่นแป้งโรตีในถุงซีลสุญญากาศ ซึ่งแผ่นแป้งโรตีที่ได้ดังกล่าวจะมีอายุการเก็บรักษานานขึ้นและมีความปลอดภัยในการบริโภคมากขึ้น เนื่องจากคุณสมบัติของสารสกัดที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ อีกทั้งการบรรจุในถุงซีลสุญญากาศก็เป็นวิธีการถนอมอาหารหนึ่งใน Hurdle technology ที่ช่วยจำกัดอากาศ ลดปริมาณออกซิเจนที่ใช้ในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (ทศพร, 2555)

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้ คือ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดใบบัวบกในการยืดอายุการเก็บรักษาของแผ่นแป้งโรตี โดยในการทดสอบนั้นจะใช้แผ่นแป้งโรตีที่ไม่เติมสารสกัดเป็นชุดควบคุมเปรียบเทียบกับแผ่นแป้งโรตีที่เติมโซเดียมเบนโซอิก 0.1 % และแผ่นแป้งโรตีที่มีการเติมสารสกัดใบบัวบก เพื่อเป็นต้นแบบในการลดการใช้วัตถุเจือปนอาหารกลุ่มสารเคมีสังเคราะห์ที่เกินมาตรฐานความปลอดภัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มของไตรเทอร์ปีน ฟีนอลิก สารสำคัญเอเชียติโคไซด์และกรดอะเซียติกจากสมุนไพรใบบัวบกด้วยวิธีการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ

1.2.2 ศึกษาสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรใบบัวบก

1.2.3 ศึกษาการประยุกต์ใช้สารสกัดจากสมุนไพรใบบัวบกในแผ่นแป้งโรตีเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา

1.2.4 ศึกษาการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีที่มีการเติมสารสกัดสมุนไพรใบบัวบก

1.2.5 นำเสนอแนวทางการจัดการความปลอดภัยที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตแผ่นแป้งโรตี

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1.3.1 ใช้วิธีการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟเพื่อหาสภาวะการสกัดที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสมุนไพรใบบัวบก

1.3.2 วิเคราะห์สารประกอบกลุ่มไตรเทอปีน วิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด การตรวจสอบวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณของสารสำคัญอะเซียติโคไซด์และกรดอะเซียติกด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

1.3.3 วิเคราะห์การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration: MIC) ด้วยวิธี Broth dilution technique และการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration: MBC) ด้วยวิธี Agar dilution technique

1.3.4 ประยุกต์ใช้สารสกัดจากสมุนไพรใบบัวบกในแผ่นแป้งโรตีและทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการยืดอายุการเก็บรักษา

1.3.5 ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสโดยใช้แบบประเมิน 9-point Hedonic scale

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสมุนไพรใบบัวบก

1.4.2 ได้ข้อมูลประสิทธิภาพสารออกฤทธิ์จากสารสกัดสมุนไพรใบบัวบก

1.4.3 แนวโน้มการใช้สารสกัดสมุนไพรใบบัวบกเป็นวัตถุกันเสียจากธรรมชาติทดแทนการใช้วัตถุกันเสียสังเคราะห์ในผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตี

1.4.4 เพื่อสร้างองค์ความรู้และเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรใบบัวบก และเป็นการสร้างรายได้ให้กับเกษตรกร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 บัวบก (Centella asiatica (L.))

บัวบก (*Centella asiatica* (L.)) เป็นสมุนไพรในวงศ์ Apiaceae (Umbelliferae) เป็นที่รู้จักกันทั่วไปว่า pegaga, pegagan, man-dukaparni, ab-boshghabi, luei gong gen, Indian pennywort และ gotu kola พืชนี้มีถิ่นกำเนิดในอินเดีย มาเลเซีย แอฟริกาใต้ ศรีลังกา และมาดากัสการ์ และยังแพร่หลายในออสเตรเลีย จีน และอเมริกา อีกด้วย ซึ่งตลอดหลายศตวรรษที่ผ่านมา *C. asiatica* ถูกนำมาใช้ในการรักษาปัญหาสุขภาพต่างๆ นอกจากนั้นยังบริโภคเป็นผักใบเขียวที่มีกลิ่นหอมและรสฉุนเล็กน้อย องค์ประกอบหลักของ *C. asiatica* คือ triterpenoids ซึ่ง ประกอบด้วย asiaticoside, madecassoside, กรด asiatic และกรด madecassic (Faiznur and Masrina, 2023) โดยสารที่เป็นองค์ประกอบเหล่านี้มีหน้าที่หลักต่อกิจกรรมทางชีววิทยาของ *C. asiatica* ซึ่งสารสกัด *C. asiatica* ได้แสดงคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่ดีเยี่ยมผ่านฤทธิ์ขับอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านจุลชีพต่อจุลินทรีย์ต่างๆ ยิ่งไปกว่านั้น สารสกัดนี้ยังสามารถใช้เป็นยาธรรมชาติสำหรับรักษาบาดแผล โรคผิวหนังภูมิแพ้ และอาการลำไส้ใหญ่บวมเป็นแผลได้ เนื่องจากมีคุณสมบัติต้านการอักเสบ (Faiznur and Masrina, 2023) ใบของ *C. asiatica* กินได้เป็นสีเขียว เรียว สลับกับก้านใบยาวและมีรูปวงรีเจ็ดใบ พืชเติบโตในแนวนอนผ่านหินสีเขียวถึงสีแดง ซึ่งรวมกับรากใต้ดิน *C. asiatica* ถูกนำมาใช้เป็นพืชเพื่อการทดลองเนื่องจากพืชมีสารพฤกษเคมีที่มีคุณค่าทางยาหลายชนิด สามารถปลูกได้ง่ายภายใน 3-4 เดือน และไม่จำเป็นต้องได้รับการดูแลเป็นพิเศษเพื่อการเจริญเติบโต (Soubhagya et al., 2022) *C. asiatica* มี BAC หลายชนิดตามธรรมชาติ รวมถึงอัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ฟีนอล แทนนิน และเทอร์พีนอยด์ Centellosides ซึ่งประกอบด้วย triterpene saponins เช่น กรดเอเชียติก, เอเชียติโคไซด์, กรดมาเดคาสซิก และมาเดคาสโซไซด์ เป็นสาร BAC สำคัญที่มีส่วนช่วยต่อคุณสมบัติในการรักษาโรค บราห์โมไซด์ เซนเทลโลไซด์ ไกลโคไซด์ และอัลคาลอยด์เป็น BAC ประเภทอื่นที่ไม่ใช่ซาโปนิน ซึ่งพบในปริมาณเล็กน้อยใน *C. asiatica* ในปริมาณเล็กน้อย นอกจากนี้ยังพบฟลาโวนอยด์ เช่น apigenin, catechin, kaempferol, naringin, quercetin และ rutin ใน *C. asiatica* ซึ่งมีส่วนทำให้เกิดปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกิดจาก BAC ดังกล่าวรวมถึงคุณสมบัติต้านมะเร็ง การสมานแผล และคุณสมบัติทางผิวหนังอื่นๆ ลักษณะต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเบาหวาน ต้านการอักเสบ และต่อต้านอนุมูลอิสระ (Soubhagya et al., 2022) ส่วนประกอบสำคัญของ *C. asiatica* ได้แก่ ไตรเทอร์พีน เรียกว่าเป็นส่วนผสมของตัวชี้วัดทางชีวภาพ อย่างไรก็ตาม ส่วนประกอบของไตรเทอร์พีนจะแตกต่างกันไปตามเงื่อนไขของการเจริญเติบโตและอิทธิพลของสภาพแวดล้อม กรดเอเชียติกได้รับการพิจารณาอย่างมากในไตรเทอร์พีนอยด์ทั้งหมด เนื่องจากมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็ง ต้านอาการซึมเศร้า ต้านเบาหวาน ต้านการอักเสบ ต่อต้านจุลินทรีย์ ปกป้องระบบประสาท สมานแผลและเสริมความจำ (Soubhagya et al., 2022)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.1 ลักษณะสมุนไพรใบบัวบก
ที่มา : จันทรพร (2556)

2.2 แผ่นแป้งโรตี

2.2.1 ส่วนประกอบของแผ่นแป้งโรตี (ทศพร, 2555)

แผ่นแป้งโรตีจะมีส่วนประกอบ คือ แป้งสาลี เกลือ และน้ำสะอาด

2.2.1.1 แป้งสาลี เป็นแป้งที่ทำมาจากข้าวสาลี ใช้ทำขนมและอาหารได้หลายอย่าง เช่น ปาท่องโก๋ ขนมปัง โรตี เค้ก พาย คุกกี้ เกี๊ยว บะหมี่ ซาลาเปา ขนมเปี๊ยะ ฯลฯ ในปัจจุบัน แป้งสาลีที่ผลิตและออกจำหน่ายในท้องตลาดมีอยู่ด้วยกันหลายตรา หลายยี่ห้อ แล้วแต่บริษัทผู้ผลิตจะกำหนด

แต่ถ้าจะแบ่งชนิดของแป้งสาลีออกเป็นประเภทใหญ่ๆ แบ่งได้ 3 ชนิด คือ

1. แป้งขนมปัง เป็นแป้งชนิดหนักมีโปรตีนสูงต้องใช้ยีสต์หรือแป้งเชื้อเป็นตัวทำให้ขึ้นฟู เนื้อแป้งหยาบ เหมาะที่จะใช้ทำขนมปังหรือขนมที่มีลักษณะคล้ายขนมปัง เช่น โดนัทยีสต์ พิซซ่า ปาท่องโก๋ โรตี หรือผลิตภัณฑ์จากพวกเส้นบะหมี่ แผ่นเกี๊ยว แป้งขนมปังที่มีจำหน่ายในท้องตลาด เช่น แป้งตรานกอินทรี แป้งตราห่าน แป้งตรากำแพงเมืองจีน

2. แป้งเค้ก เป็นแป้งชนิดเบา เนื้อแป้งละเอียด มีโปรตีนต่ำกว่าแป้งขนมปัง เหมาะที่จะใช้ทำขนมเค้กและขนมที่มีเนื้อละเอียด เบา ฟู เช่น ขนมปุยฝ้าย ซาลาเปา แยมโรลขนมไข่ แพนเค้ก ฯลฯ แป้งชนิดนี้ใช้ผงฟูเป็นตัวทำให้ฟู แป้งเค้กที่มีจำหน่ายในท้องตลาด เช่น แป้งตรากิเลนแดง แป้งตรากิเลนเขียว แป้งตราพัดโบก แป้งตราบัวแดง

3. แป้งสาลีธรรมดาหรือแป้งอเนกประสงค์ เป็นแป้งที่ทำมาจากข้าวสาลีชนิดเบาและหนักผสมกัน จึงเป็นแป้งที่ทำขนมจากแป้งสาลีได้ทุกอย่าง แต่ลักษณะของเนื้อขนมที่ได้จะต่างกับที่ใช้แป้งเฉพาะอย่างบ้างเล็กน้อย เช่น ถ้าใช้ทำขนมปัง ความหนืดของเส้นใยขนมปังจะไม่ดีเท่ากับใช้แป้งขนมปังโดยตรง หรือเค้กที่ทำจากแป้งอเนกประสงค์จะได้เนื้อขนมไม่นุ่มหรือเนื้อละเอียดเท่ากับใช้แป้งเค้ก แต่แป้งชนิดนี้จะราคาถูกและหาซื้อง่ายกว่าแป้งชนิดอื่น แป้งอเนกประสงค์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด เช่น แป้งตราหัวกวาง แป้งตรากบ แป้งตราว่าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.2 คุณค่าทางอาหารของแป้งสาลี

แป้งสาลีประกอบด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรท ไขมัน และวิตามินหลายชนิด ได้แก่ วิตามินบีรวม วิตามินบี 1 ซึ่งช่วยป้องกันโรคเหน็บชาและระบบประสาท วิตามินบี 2 ซึ่งมีความจำเป็นต่อผิวหนัง และเส้นผม ไนอะซิน (Nicin) ป้องกันโรคปากนกกระจอก (Pelagra) โรคเรื้อรังที่เกี่ยวกับผิวหนัง และมีผลต่อระบบประสาทด้วย และธาตุเหล็กจะช่วยป้องกันโรคโลหิตจาง (Anemia)

2.2.1.3 เกลือ

เกลือ เป็นแร่ธาตุทางโภชนาการชนิดหนึ่ง โดยหลักแล้วคือ โซเดียมคลอไรด์ (เกลือแกง) ซึ่งสามารถสกัดได้จากสัตว์และพืช แต่เกลือจากพืชบางครั้งอาจเป็นพิษ เกลือบริโภคสามารถผลิตได้จากน้ำทะเลหรือดินเค็ม เป็นเครื่องปรุงอาหารที่ให้รสเค็มที่มีมาตั้งแต่โบราณ สามารถใช้ถนอมอาหารได้

1. ประเภทของเกลือ

(1) เกลือสมุทร (Sea salt) คือ เกลือที่ได้จากสูบน้ำทะเลเข้ามาขังไว้ในที่นา ผึ่งแดดและลมจนน้ำระเหยเหลือแต่ผลึกเกลือสีขาว

(2) เกลือสินเธาว์หรือเกลือหิน คือเกลือที่ได้จากดินเค็ม โดยการปล่อยน้ำลงไปละลายหินเกลือที่อยู่ใต้ดิน แล้วจึงสูบน้ำกลับขึ้นมาตากหรือต้มให้น้ำระเหยไป

2. ลักษณะของเกลือ

(1) เกลือเม็ด ผลิตโดยชาวนาเกลือทะเลและผู้ผลิตเกลือสินเธาว์ด้วยวิธีตาก นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การดองผักผลไม้ และไอศกรีม

(2) เกลือป่น ผลิตโดยโรงงานเกลือป่นที่ซื้อเกลือเม็ดจากชาวนาเกลือมาแปรรูปเป็นเกลือป่นและผู้ผลิตเกลือสินเธาว์ด้วยวิธีการต้ม เกลือป่นที่ไม่ต้องผ่านการแปรรูปนิยมทำเป็นเกลือบริโภคตามบ้านเรือน

2.2.1.4 น้ำสะอาด

น้ำเป็นสารที่ไม่มีรส กลิ่น และสี มีความจำเป็นกับชีวิตทุกชีวิตในโลก เพราะน้ำเป็นตัวนำและตัวพาของน้ำตาล สารที่ให้รสชาติ แก๊ส กรด สี แร่ธาตุ วิตามิน จุลินทรีย์หรือสารแปลกปลอมอื่นๆ สำหรับน้ำที่นำมาใช้ทำเครื่องดื่ม จะต้องมีความบริสุทธิ์ให้มากที่สุด จะต้องมีการแยกเอาส่วนต่างๆ ที่ไม่ต้องการออก เพราะมากกว่า 85% ของปริมาณทั้งหมดของเครื่องดื่มเป็นน้ำ น้ำที่นำมาทำการผลิตจะต้องมีคุณภาพดีพอ เพื่อจะไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

2.2.2 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนแผ่นแป้งโรตี (มผช. 458/2547)

แผ่นแป้งโรตีตามมาตรฐานจุลินทรีย์ประกอบไปด้วยรายละเอียดต่อไปนี้

- จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องไม่เกิน 1×10^4 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- บาซิลัส ซีเรียส (*Bacillus cereus*) ต้องน้อยกว่า 100 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม
- สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) ต้องไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม
- เอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*) โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (MPN) ต้องไม่เกิน 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม
- ยีสต์และราต้องน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

2.3 การสกัดแบบต่างๆ (อารีรัตน์, 2560)

1. การหมัก (Maceration Extraction) เป็นการนำผงสมุนไพรที่ผ่านการบดแล้วใส่ลงในภาชนะปิด จากนั้นเติมด้วยด้วยตัวทำละลายที่ต้องการสกัดแล้วตั้ง ทิ้งไว้เป็นเวลา 3-7 วัน หมั่นกวนหรือคนสารสกัดบ่อย ๆ เพื่อให้ได้สารสำคัญออกมาจากสารสกัด เมื่อครบกำหนดเวลา จึงค่อยๆกรองน้ำสารสกัดออก ถ้าต้องการให้สกัดสารออกมาได้มากที่สุดอาจสามารถสกัดซ้ำได้หลายครั้ง

2. การใช้ตัวทำละลายให้ไหลผ่านผงสมุนไพร (Percolation extraction) เป็นการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยเครื่อง percolator โดยการนำสมุนไพรมาหมักกับตัวทำละลายให้พองตัวเต็มที่พอชื้นประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วค่อย ๆ ใส่ผงสมุนไพรไปทีละน้อย จากนั้นจึงเติมตัวทำละลายลงไปให้สูงเหนือระดับสมุนไพร แล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงไขเพื่อนำสารที่สกัดไว้ออกมา แล้วจึงเติมตัวทำละลายลงไปเช่นเดิมเพื่อสกัดซ้ำ ควรระวังอย่าให้ตัวทำละลายแห้ง

3. การชง (infusion) เป็นการสกัดสมุนไพรโดยใช้ระยะเวลาช่วงสั้นๆ ร่วมกับการใช้น้ำร้อนหรือน้ำเย็น

4. การตุ๋น (digestion) เป็นการสกัดสมุนไพรโดยใช้ความร้อน แต่ใช้ระยะเวลานานกว่าการต้มโดยปริมาตรของตัวทำละลายอาจจะเหลือเพียง 1 ส่วนจาก 3 ส่วน

5. การต้ม (decoction) เป็นการต้มเพื่อสกัดสมุนไพรที่ละลายในน้ำได้ดีและทนความร้อนได้ดี ต้มหลังจากที่น้ำเดือดไปอีกประมาณ 15 นาที

6. hot continuous extraction (Soxhlet extraction) เป็นการสกัดแบบต่อเนื่องโดยการใช้ตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำร่วมกับการใช้ความร้อนเพื่อทำให้ตัวทำละลายในภาชนะบรรจุตัวทำละลายระเหยขึ้นไปกระทบกับ condenser ด้านบนแล้วถูกควบแน่นกลั่นตัวลงมาใน thimble ที่บรรจุผงสมุนไพรไว้ (สมุนไพรไม่ได้สัมผัสกับโดยตรงแต่จะอยู่ใน thimble ซึ่งทำมาจากกระดาษกรอง ที่มีความแข็งแรงหรือพวก cellulose) โดยตัวทำละลายใน chamber จะเพิ่มสูงขึ้นจนถึงระดับกาลักน้ำ และไหลกลับลงไปภาชนะบรรจุตัวทำละลายด้านล่าง จากนั้นตัวทำละลายจะระเหยขึ้นไปกระทบกับ condenser แล้วถูกควบแน่น กลั่นตัวทำละลายลงมาใน thimble อีกครั้ง ซึ่งการสกัดจะวนเวียนซ้ำไปเช่นนี้เรื่อย ๆ จนได้การสกัดที่สมบูรณ์

7. Heat reflux extraction (HRE) เป็นการสกัดสารสำคัญของสมุนไพรกับตัวทำละลายโดยใช้ความร้อน โดยจะสัมผัสกับความร้อนโดยตรงและถูกต้มให้ความร้อนจนเดือด จากนั้นตัวทำละลายจะระเหยขึ้นไปด้านบน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

condenser แล้วจะถูกควบแน่นกลับลงมาเพื่อสกัดอย่างต่อเนื่อง และวนเวียนเช่นนี้ไปเรื่อยๆ จนได้การสกัดที่สมบูรณ์ ซึ่งสารสกัดจะเข้มข้นขึ้น

8. Ultrasound extraction (UAE) หรือ Sonication เป็นการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงในช่วง 20 กิโลเฮิร์ตซ์ ถึง 2,000 กิโลเฮิร์ตซ์ เพื่อทำให้เกิดการสั่นสะเทือนหรือเสียดสีกันเป็นความร้อน ทำให้เกิดการสกัดและเกิดการปลดปล่อยสารสำคัญจากสมุนไพรออกมา

9. Microwave extraction (MAE) เป็นวิธีการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ซึ่งคลื่นนี้จะเปลี่ยนไปเป็นความร้อนโดยการทำให้อนุภาคหรือโมเลกุลที่มีขั้วเสียดสีกันและเกิดความร้อนขึ้น หรืออาจกล่าวได้ว่าเมื่อนำสารที่จะสกัดไปวางอยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า และด้วยคุณสมบัติความเป็นขั้วของโมเลกุลภายในสารที่จะสกัด จะเกิดแรงต้านการเคลื่อนที่หรือเสียดสีกัน ทำให้เกิดความร้อนขึ้นซึ่งมีผลต่อเซลล์พืชและเกิดการสกัดออกมาของสารสำคัญ ในปัจจุบันการสกัดโดยการใช้ MAE เป็นวิธีที่มีความนิยมมากขึ้น เนื่องจากเป็นวิธีที่มีความสะดวก รวดเร็ว สามารถลดช่วงระยะเวลาและปริมาณการใช้ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีดั้งเดิม เช่น การหมักและการสกัดด้วย และช่วยลดค่าใช้จ่าย ในการสกัดได้ (โดยหากพิจารณา ถึงปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดแบบดั้งเดิม วิธีการนี้จะสามารถช่วยลดค่าใช้จ่ายของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้)

ซึ่งได้มีการใช้ MAE เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการสกัดสารจากธรรมชาติในกลุ่มต่างๆ ได้แก่ glycosides, alkaloids, carotenoids, terpenoids, polyphenols และ essential oils ซึ่งวิธีการนี้เหมาะสำหรับสารในกลุ่ม phenolic compounds ที่มีโมเลกุลเล็กๆ เช่น phenolic acids (gallic acid และ ellagic acid), quacertin, isoflavin และ trans-resveratrol เพราะโมเลกุลของสารเหล่านี้จะมีความคงตัวที่ภายใต้สภาวะความร้อนของคลื่นไมโครเวฟที่ 100 °C เป็นเวลา 20 นาที แต่ในการเพิ่มจำนวนรอบของการสกัด (เช่น จาก 2 รอบ, 10 วินาที ไปเป็น 3 รอบ, 10 วินาที) จะทำให้ปริมาณของสารกลุ่ม phenolics และ flavanones และหรือ dihydroflavonols ลดลงอย่างมาก ซึ่งสาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสาร ส่วนสารกลุ่ม tannins และ anthocyanins อาจจะไม่เหมาะกับวิธีการสกัดนี้เนื่องจากอาจจะเกิดการสลายตัวที่อุณหภูมิที่สูงได้

2.3.1 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการสกัดสารโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ มีดังนี้ (ธนภัทร, ม.ป.ป.)

2.3.1.1 ระบบตัวทำละลายและสัดส่วนของตัวทำละลายต่อผงสมุนไพร (S/F ratio)

ปัจจัยสำคัญที่สุดที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดสารจากพืชสมุนไพรด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟ คือการคัดเลือกตัวทำละลายที่ใช้ การคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมจะส่งผลให้สามารถสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรได้มากตามไปด้วย การคัดเลือกตัวทำละลายขึ้นอยู่กับการละลายของสารสำคัญที่ต้องการสกัดออกมา การซึมผ่านของตัวทำละลาย และอันตรกิริยาระหว่างแมทริกซ์ของตัวอย่างสมุนไพร ค่า dielectric constant ของตัวทำละลาย และจลนศาสตร์การถ่ายเทมวลของสาร ตัวทำละลายที่ดีควรจะมีความจำเพาะต่อสารสำคัญที่สนใจ ในขณะที่สามารถสกัดสารที่ไม่ต้องการออกมาได้น้อยที่สุด การคัดเลือกตัวทำละลายที่นำมาใช้ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสกัดสารด้วยคลื่นไมโครเวฟจะต้องพิจารณาความสามารถของตัวทำละลายในการดูดซึมพลังงานไมโครเวฟเพื่อทำความร้อน

ผลผลิต (yield) ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรจะเพิ่มขึ้นเมื่อแช่พืชสมุนไพรในตัวทำละลายที่มีค่า tan δ สูง โดย ether linkages ของเซลลูโลสจะถูกไฮโดรไลซ์และเปลี่ยนไปเป็นส่วนที่ละลายได้ (soluble fraction) ในเวลาไม่กี่นาที หากต้องการผลผลิตที่มากขึ้น สามารถทำได้โดยการเพิ่มอุณหภูมิ จะช่วยให้ตัวทำละลายสามารถซึมผ่านเข้าไปในผนังเซลล์ของพืชได้ดีขึ้น หากเปรียบเทียบกับการรีฟลักซ์ (reflux) ด้วยความร้อน พบว่าการสกัดเกิดจากการซึมผ่าน (permeation) และการละลาย (solubilization) ของสารออกจากพืชสมุนไพร แต่กรณีของการสกัดสารด้วยคลื่นไมโครเวฟนั้น กระบวนการสกัดเกิดจากการสัมผัสของสารกับตัวทำละลายที่เกิดจากการแตกของเซลล์ ส่งผลให้สามารถสกัดสารออกมาจากพืชสมุนไพรได้ คลื่นไมโครเวฟทำให้เกิดความร้อน โมเลกุลของน้ำที่อยู่ในเซลล์พืชจะเกิดการขยายตัวเฉพาะที่และเกิดการขยายตัวของผนังเซลล์ ส่งผลให้สามารถสกัดสารในพืชสมุนไพรออกจาก เซลล์ได้ ในกรณีที่สารสำคัญจากพืชสมุนไพรสลายตัวได้ง่ายเมื่อโดนความร้อน การแช่พืชสมุนไพรในตัวทำละลายที่โปร่งใส (transparent) ต่อไมโครเวฟ เช่น เฮกเซน จะช่วยลดการสลายตัวได้ บางครั้งมีการเติมน้ำ เอทานอล หรือตัวทำละลายอื่นๆ ลงไปในเฮกเซนเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารด้วย โดยทั่วไปนิยมใช้เฮกเซนในการสกัดน้ำมันระเหยง่าย (volatile oil) ออกจากพืชสมุนไพร ปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟโดยที่ไม่ต้องใช้ตัวทำละลาย ในกรณีนี้ความชื้นในผงสมุนไพรจะเป็นตัวช่วยในการสกัดสาร จึงไม่จำเป็นที่จะต้องใช้ตัวทำละลายแต่อย่างใด

สัดส่วนของตัวทำละลายต่อผงสมุนไพร เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ต้องคำนึงถึง ปริมาตรของตัวทำละลายจะต้องมากพอที่สามารถท่วมผงสมุนไพรได้ตลอดเวลาการสกัด เนื่องจากตัวอย่างสมุนไพรบางชนิดมีการพองตัวมากขึ้นเมื่อแช่อยู่ในตัวทำละลาย วิธีการสกัดแบบดั้งเดิมนั้น หากใช้ตัวทำละลายปริมาตรมากย่อมสกัดสารสำคัญออกมาได้มาก การสกัดสารสำคัญด้วยคลื่นไมโครเวฟนั้นมีสัดส่วนที่เหมาะสมของตัวทำละลายต่อตัวอย่างสมุนไพรอยู่ที่ 10:1 จนถึง 30:1 (มิลลิลิตรของตัวทำละลายต่อกรัมของผงสมุนไพร) แต่มีบางงานวิจัยที่รายงานการใช้สัดส่วนตัวทำละลายต่อตัวอย่างสมุนไพรแตกต่างไปจากสัดส่วนนี้ไปบ้าง

2.3.1.2 ระยะเวลาการสกัดและจำนวนรอบในการสกัด

การสกัดสารด้วยคลื่นไมโครเวฟเป็นวิธีที่ใช้เวลาน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม โดยทั่วไปจะใช้เวลาต่ำกว่า 30 นาที จึงสามารถช่วยหลีกเลี่ยงการสลายตัวของสารที่ไวต่อความร้อนหรือปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ การเพิ่มระยะเวลาการสกัด มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มผลผลิตของสารสกัด จากการศึกษาของ Wang และคณะ (2008) พบว่า การเพิ่มระยะเวลาการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟจาก 2 นาที เป็น 30 นาที ช่วยเพิ่มการสกัดสาร Ginsenoside จาก Panax ginseng ได้ แต่อย่างไรก็ตาม การเพิ่ม ระยะเวลาการสกัดส่งผลเล็กน้อยต่อปริมาณสารสกัดหรือสารสำคัญที่ได้จากพืชบางชนิด จากการศึกษา ของ Guo และคณะ (2001) พบว่าการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ 30 วินาที สามารถสกัดสาร puerarin จาก Radix puerariae ได้ร้อยละ 5.44 และเมื่อเพิ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะเวลาเป็น 180 วินาที สามารถสกัดสาร puerarin ได้ ร้อยละ 6.05 ซึ่งเพิ่มขึ้นไม่มากนัก นอกจากนี้ การเพิ่มจำนวนรอบในการสกัดสามารถเพิ่มผลผลิตจากการสกัดได้เช่นกัน แต่โดยทั่วไป เมื่อเพิ่มถึงระดับหนึ่งแล้ว ปริมาณสารสกัดจะคงที่ คือไม่สามารถสกัดเพิ่มได้มากกว่านั้นแล้ว

2.3.1.3 กำลังไมโครเวฟ (Microwave power) และอุณหภูมิ

กำลังของไมโครเวฟและอุณหภูมิจะแปรผันตามกัน กำลังไมโครเวฟที่เพิ่มสูงขึ้นจะทำให้อุณหภูมิของระบบเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้ผลผลิตจากการสกัดเพิ่มมากขึ้นจนกระทั่งคงที่และลดลงในที่สุด Yan และคณะ (2010) รายงานว่าการเพิ่มอุณหภูมิจาก 50 ºC เป็น 70 ºC สามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตจากการสกัดสาร astragalosides จากตำรับสมุนไพร Radix Astragali ได้ และเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 70 ºC ปริมาณผลผลิต astragalosides จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและลดลงในที่สุด อุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นจะทำให้ระบบ การสกัดมีความหนืดและแรงตึงผิวลดลง ทำให้ตัวทำละลายสามารถละลายสารได้ดีขึ้น ดังนั้นการเพิ่มกำลังไมโครเวฟจะช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตจากการสกัดและลดระยะเวลาการสกัดสารได้ แต่อย่างไรก็ตาม การเพิ่มกำลังไมโครเวฟอาจทำให้สารสำคัญบางชนิดสลายตัวได้

2.3.1.4 พื้นที่ผิวสัมผัสและปริมาณน้ำของผงสมุนไพร

ประสิทธิภาพในการสกัดสารด้วยคลื่นไมโครเวฟไม่ได้ขึ้นอยู่กับสภาวะของการสกัดเท่านั้น พืชสมุนไพรเองก็ส่งผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดเช่นกัน พื้นที่ผิวของผงสมุนไพรที่เพิ่มสูงขึ้น จะทำให้ประสิทธิภาพของการสกัดสูงขึ้นด้วย เนื่องจากผงสมุนไพรที่มีขนาดเล็กทำให้คลื่นไมโครเวฟผ่านได้มากขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม ขนาดอนุภาคที่เล็กเกินไป อาจทำให้การกรองหรือการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกกาก สมุนไพรออกจากสารละลายเป็นไปได้ยาก ในบางกรณีจะมีการแช่ผงสมุนไพรในตัวทำละลาย (pre leaching extraction) ก่อนที่จะสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟจะช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตจากการสกัดได้ ความชื้นในผงสมุนไพรยังสามารถทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายในการสกัดสารด้วยคลื่นไมโครเวฟได้ การเพิ่มความมีขั้วของตัวทำละลาย เช่น การเติมน้ำลงไปในระบบตัวทำละลาย สามารถเพิ่มความสามารถในการดูดซึมไมโครเวฟ ซึ่งส่งผลต่อกระบวนการทำความร้อน นอกจากนี้การเติมน้ำจะช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสำคัญจากสมุนไพรได้

2.3.1.5 การคนหรือการเขย่าสาร

การคนหรือการเขย่าสารเกี่ยวข้องกับกระบวนการถ่ายเทมวลสาร การคนสารจะช่วยเพิ่มอัตราเร็วในการสกัด เนื่องจากช่วยเพิ่มการละลายของสารออกมาจากแมทริกซ์สมุนไพร นอกจากนี้การคนสารจะช่วยลดการใช้ตัวทำละลายลง กล่าวคือสามารถลด S/F ratio ลงได้

การสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ อาจเรียกได้ว่าเป็น Green extraction โดยเป็นเทคนิคการสกัดสารที่ช่วยลดการใช้ตัวทำละลาย ลดระยะเวลาของการสกัด อีกทั้งเป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยาก ทำให้การใช้ไมโครเวฟช่วยในการสกัด เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการเตรียมสารสกัดสมุนไพรที่มีปริมาณสูงและคุณภาพดีทดแทนวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมได้ (กรองกาญจน์, 2566)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 สารประกอบฟีนอลิก (วรานนท์ และคณะ, 2557)

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เป็นวงแหวนอะโรมาติก มีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อย 1 หมู่ สารฟลาโวนอยด์จัดเป็นสาระสำคัญของกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูง แต่ยังไม่มีรายงานยืนยันที่ชัดเจนถึงกลไกการออกฤทธิ์ของสารต่างชนิดกัน กลไกหลักในการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มนี้มีหลายกลไก เช่น

2.4.1 เป็นสารคีเลต (chelating agent)

สารที่มีโครงสร้างเป็น ortho-dihydroxyl group ทำหน้าที่จับกับโลหะทรานซิชัน เช่น Fe^{2+} และ Cu^{2+} ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการเกิดอนุมูลอิสระ กลไกในการจับโลหะของสารฟีนอลิกหรือฟลาโวนอยด์

2.4.2 ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging)

สารฟลาโวนอยด์และสารฟีนอลิกหลายชนิดสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้โดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ เกิดอนุมูลอิสระใหม่ที่มีความเสถียรขึ้นเนื่องจากโครงสร้างสามารถเกิดการเรโซแนนท์ของอิเล็กตรอนได้

$$R^{\circ} + \text{Phenolic-OH} \rightarrow \text{Phenolic-O}^{\bullet} + RH$$

2.4.3 เสริมฤทธิ์ (synergism) ของวิตามินอี

เมื่อวิตามินอี (α-tocopherol) ให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ เช่น อนุมูลเปอร์ออกซิล ($ROO^{\bullet}$) จะเปลี่ยนเป็นอนุมูลวิตามินอี

$$\alpha\text{-Tocopherol} + ROO^{\bullet} \rightarrow \alpha\text{-Tocopheryl-O}^{\circ} + ROOH$$

2.4.4 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิก

การหาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total phenolic content) มีหลักการคือเป็นการวัดปริมาณความเข้มข้นของสารประกอบทั้งหมดที่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่อยู่ในโมเลกุล โดยไม่คำนึงถึงน้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกนั้นๆ ดังนั้นการวิเคราะห์ในรูปแบบนี้จึงไม่มีการระบุชนิดและโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง โดยนิยมใช้วิธีโฟลิน-ซิโอแคลตู (Folin-Ciocalteu method) ในการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม (Total phenolic content) ซึ่งจะใช้หลักการการแตกตัวของฟีนอลิก (Phenolic) เป็นโปรตอนและไอออนลบของฟีนอลเลท (Phenolate) ซึ่งไอออนลบจะไปรีดิวซ์โฟลิน-ซิโอแคลตูรีเอเจนท์ (Folin-Ciocalteu reagent) ได้เป็นสารละลายสีน้ำเงิน การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกจึงเป็นการวัดความสามารถของการรีดิวซ์ในลักษณะเดียวกับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การศึกษาส่วนใหญ่จึงพบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับปริมาณฟีนอลิก อย่างไรก็ตามยังมีสารชนิดอื่นที่ไม่ใช่ฟีนอลิก เช่น น้ำตาลอะโรเมติกเอมีน กรดแอสคอร์บิก กรดอินทรีย์ และอื่นๆ อีกมากที่สามารถรีดิวซ์โฟลิน-ซิโอแคลตู รีเอเจนท์ ได้สีน้ำเงินเช่นเดียวกัน จึงทำให้การรายงานผลนั้นอาจสูงเกินจริงได้ การวิเคราะห์นี้จะใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐานแล้วรายงานอยู่ในรูปของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gallic Acid Equivalent (GAE) ในหน่วยของมิลลิกรัมแกลลิก/กรัมตัวอย่างและคำนวณจากสมการ Gallic Acid Equivalent (GAE) = มิลลิกรัมกรดแกลลิก (mg galic acid)/กรัมของสารสกัดตัวอย่าง (g extract)

2.5 วัตถุกันเสีย

วัตถุกันเสีย (preservative) อาจเรียกว่าสารกันเสียหรือสารกันบูด เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) ที่ใช้เพื่อการถนอมอาหาร (food preservation) ซึ่งอาจได้จากธรรมชาติ หรือเป็นสารสังเคราะห์ สามารถช่วยยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ เช่น จุลินทรีย์ (bacteria) ยีสต์ (yeast) รา (mold) ที่ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสีย (microbial spoilage) หรือยับยั้งปฏิกิริยาทางเคมีที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย (food spoilage) ช่วยยืดอายุการวางจำหน่าย (shelf life) ของอาหาร ซึ่งผลของสารกันเสียต่อจุลินทรีย์ คือ สารกันเสียจะทำงานโดยไปควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ หรือไปทำลายส่วนหนึ่งส่วนใด หรือเซลล์ของจุลินทรีย์ เช่น ทำลายผนังเซลล์ (cell wall) เยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) หรือไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme) หรือไปทำลายสารควบคุมพันธุกรรม ทำให้เซลล์ไม่สามารถเพิ่มจำนวนหรือสืบพันธุ์ได้ตามปกติ

2.5.1 ชนิดของสารกันเสีย

2.5.1.1 สารกันเสียที่ได้จากธรรมชาติ อาจเป็นสารที่พบในอาหารเอง หรือสร้างขึ้นด้วยจุลินทรีย์ระหว่างการหมัก (fermentation) ได้แก่ กรดอินทรีย์ต่างๆ เช่น กรดฟอร์มิก กรดแอซีติก และกรดแล็กทิก เป็นต้น

2.5.1.2 สารกันเสียที่สังเคราะห์ขึ้น เพื่อใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร เช่น เกลือเบนโซเอต เกลือซอร์เบต เกลือไนไตรท์ และเกลือซัลไฟต์ เป็นต้น (พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, ม.ป.ป.)

2.6 จุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่างๆ

2.6.1 *Salmonella*

ซาลโมเนลลา (*Salmonella*) เป็นชื่อสกุล (genus) ของแบคทีเรียในวงศ์ (family) Enterobacteriaceae ซึ่งก่อให้เกิดโรค (pathogen) ซึ่งมีอาหารเป็นสื่อกลาง ซาลโมเนลลามีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) ย้อมติดสีแกรมลบ (Gram negative bacteria) จัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobe คือเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ แต่ในสภาวะที่มีอากาศเจริญได้ดีกว่า และไม่สร้างสปอร์

กลุ่มอาหารที่พบเชื้อ *Salmonella* ได้แก่ เนื้อสัตว์ (meat) สัตว์ปีก (poultry) ไข่ (egg) น้ำนม (milk) และผลิตภัณฑ์จากนม (dairy product) ปลา กุ้ง ขากบ ยีสต์ (yeast) coconut น้ำสลัด (salad dressing) แป้งเค้กผสม (cake mixes) ขนมหวานที่มีหน้าหรือไส้ครีม (cream-filled desserts and toppings) เจลาตินแห้ง (dried gelatin) เนยถั่ว (peanut butter) โกโก้ (cocoa) และช็อกโกแลต (chocolate) หอยแมลงภู่ (green mussel) ปลาหมึก กุ้งแห้ง กุ้งจ่อม เป็นต้น (พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, ม.ป.ป.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Salmonella เป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophilic bacteria) และเจริญได้ในอุณหภูมิร่างกายของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 30-45 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดที่เจริญได้คือ 5.2 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เคยมีรายงานการเจริญเติบโตคือ 54 องศาเซลเซียส ค่า water activity ต่ำสุด ที่เจริญได้ คือ 0.94 ช่วงค่า pH ที่เจริญได้อยู่ระหว่าง 3.7-9.5 และเจริญได้ทั้งภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ จึงพบได้ในอาหารที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ (vacuum packaging) (พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, ม.ป.ป.)

เชื้อซาลโมเนลลาสามารถทำให้เกิดการอักเสบอย่างเฉียบพลันในลำไส้ใหญ่ และส่งผลให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง มีไข้สูง หรือที่เรียกว่าอาหารเป็นพิษ ผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันปกติจะสามารถหายได้เองจากการรักษาแบบประคับประคอง แต่หากเป็นผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น ผู้ป่วย Human immunodeficiency virus (HIV) ผู้ป่วยโรคเรื้อรังต่างๆ เป็นต้น การติดเชื้ออาจรุนแรงถึงขั้นติดเชื้อในกระแสเลือดและอาจส่งผลถึงชีวิต ซึ่งจะเห็นได้ว่าการติดเชื้อในผู้ป่วยแต่ละกลุ่มจะมีความรุนแรงที่แตกต่างกันออกไป (พินิจน์พงษ์และคณะ, 2563)

2.6.2 *E. coli*

Escherichia coli เขียนย่อว่า *E.* coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) รูปร่างเป็นแท่ง (rod shape) ไม่สร้างสปอร์เป็น facultative anaerobe เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae และเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliform) ประเภท fecal coliform ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น จึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะของอาหารและ น้ำ ตัวอย่างอาหารที่เกี่ยวข้องเช่น ผัก ผลไม้ สัตว์น้ำ สมุนไพร ผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น กุ้งจ่อมกุ้งแห้ง กระชายดำผงสำเร็จรูป ซึ่ง *E. coli* ส่วนใหญ่ไม่ใช่จุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) แต่บางชนิดที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, ม.ป.ป.)

โดยเชื้อเอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*) เป็นแบคทีเรียที่พบได้เป็นปกติในลำไส้ของคนและสัตว์บางชนิด ปกติจะไม่ก่อโรค และยังมีประโยชน์บางอย่างต่อร่างกายด้วย แต่ก็มีบางกรณีที่เชื้ออีโคไลสามารถก่อโรคได้ โดยโรคที่พบบ่อยในมนุษย์ ได้แก่ โรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะและโรคท้องเดิน

สำหรับโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะนั้นเกิดจากการได้รับเชื้ออีโคไลจากทางเดินอาหารที่ปนเปื้อนอยู่บริเวณปากท่อปัสสาวะ และโรคท้องเดินได้รับเชื้อจากการรับประทานอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อ โดยปกติสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคท้องเดินส่วนใหญ่นั้น จะก่อโรคไม่รุนแรงและสามารถหายเองได้ แต่ก็มีบางสายพันธุ์ส่วนน้อยที่สามารถทำให้เกิดอาการรุนแรงได้ เช่น ถ่ายอุจจาระเป็นมูกเลือด ถ่ายอุจจาระมีเลือดปน ถ่ายอุจจาระมากจนเกิดภาวะขาดน้ำหรือไตวายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาการของผู้ป่วยที่ติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะนั้น ผู้ป่วยจะมีอาการปัสสาวะแสบขัด ปัสสาวะบ่อย มีความรู้สึกเหมือนปัสสาวะไม่สุด ในบางครั้งอาจมีอาการปวดท้องน้อยร่วมด้วย ในบางรายอาจมีอาการรุนแรง ได้แก่ มีไข้สูงหนาวสั่น ปวดหลังหรือสีข้างระดับเอว ซึ่งบ่งถึงการติดเชื้อที่กรวยไต

ส่วนโรคท้องเดินนั้น เชื้อสายพันธุ์ก่อโรคที่พบบ่อยนั้น จะทำให้เกิดอาการ ได้แก่ ท้องเดิน ปวดท้อง ท้องอืด คลื่นไส้หรืออาเจียน เบื่ออาหาร อ่อนเพลีย มีไข้ต่ำ จะมีอาการอยู่ประมาณ 3 - 7 วัน ก็จะค่อย ๆ ดีขึ้นและหายได้เอง แต่หากมีอาการรุนแรง เช่น ถ่ายปริมาณมาก ถ่ายเป็นมูกเลือด ปวดท้องมาก มีไข้สูง ให้รีบพบแพทย์ เพราะอาจติดเชื้อสายพันธุ์ที่ก่อโรครุนแรง และอาจมีภาวะแทรกซ้อนได้ ซึ่งจำเป็นต้องได้รับการรักษาที่ถูกต้องจากแพทย์

อย่างไรก็ตาม ผู้ติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจะต้องมาพบแพทย์ เพื่อทำการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ เพราะในบางรายเชื้อสามารถลุกลามไปตามทางเดินปัสสาวะ จากกระเพาะปัสสาวะขึ้นไปถึงไต ทำให้มีการติดเชื้อที่กรวยไตซึ่งอาจทำให้มีการลุกลามเข้าสู่กระแสเลือด และเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดตามมาได้

ส่วนผู้ป่วยโรคท้องเดินนั้นส่วนใหญ่จะรักษาตามอาการ เช่น ถ้าผู้ป่วยมีอาการปวดท้องก็จะให้ยาแก้ปวดท้องและมีการทดแทนสารน้ำที่เสียไปจากการท้องเดินหรืออาเจียน โดยการรับประทานผงเกลือแร่ ยาปฏิชีวนะไม่มีความจำเป็น แต่ในส่วนของผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง เช่น ท้องเสียหรืออาเจียนมากจนเกิดภาวะขาดน้ำ ถ่ายอุจจาระเป็นมูกเลือด ควรพบแพทย์และเข้ารับการรักษาที่ถูกต้องในโรงพยาบาลต่อไป แต่ก็มีเชื้อบางสายพันธุ์สามารถทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนและมีภาวะไตวายได้แต่ก็พบไม่บ่อย

การหลีกเลี่ยงการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะที่สำคัญที่สุด คือ หลีกเลี่ยงการอั้นปัสสาวะ เพราะการปัสสาวะสม่ำเสมอ ที่เป็นปกติจะเป็นการขับเชื้อออกจากท่อปัสสาวะ และควรรักษาความสะอาดบริเวณปากท่อปัสสาวะ เช่น หลังถ่ายอุจจาระเวลาทำความสะอาด ควรเช็ดจากด้านหน้าไปด้านหลัง เพื่อหลีกเลี่ยงการนำเชื้อจากทวารหนักไปปนเปื้อนบริเวณปากท่อปัสสาวะได้

สำหรับโรคท้องเดินมีวิธีการป้องกันง่าย ๆ คือ การรักษาสุขอนามัยในการรับประทานอาหารทั่วไป เช่น ล้างมือก่อนปรุงหรือรับประทานอาหารทุกครั้ง รับประทานอาหารที่ปรุงสุก (ไอยฤทธิ์, 2562)

2.6.3 S. aureus

Staphylococcus aureus เป็นจุลินทรียใน Family Micrococcus ซึ่งมีคุณสมบัติย้อมติดแกรมบวก เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะกลม (0.5 – 1.0 ไมครอน) เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น แต่อาจจะพบเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ (โดยมากไม่เกิน 4 เซลล์) อยู่ปะปนด้วยกันเสมอเวลาย้อมแกรม

แหล่งที่พบเชื้อ *S. aureus* เป็นเชื้อที่สามารถพบได้ที่ผิวหนัง โพรงจมูก เยื่อบุทางเดินหายใจ ทางเดินอาหาร และบาดแผลที่เป็นฝีหนอง รวมถึงในดินฝุ่นละออง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารที่มักพบเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อน ได้แก่ เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ เนื้อสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์จากไข่ อาหารประเภทสลัด เช่น ไข่ ทูน่า เนื้อไก่ มันฝรั่ง และมักกะโรนี ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ครีมพาย เอแคลร์ ช็อกโกแลต แซนวิช และผลิตภัณฑ์นม ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม และเก็บไว้เป็นเวลานานก่อนรับประทาน

การทำให้เกิดโรค เชื้อ *S. aureus* ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งเกิดจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนสารพิษ แม้ในปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม ก็สามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ สารพิษชนิดนี้จะมีปริมาณสูงมาก เมื่อมีเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร 100,000 เซลล์ต่อกรัมอาหาร ทำให้เกิดโรค Acute infection (ฝี หนอง แผลติดเชื้อ septicemia) และ Acute toxemias (heat stable enterotoxin)

อาการ หลังจากรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไปประมาณ 1 – 6 ชั่วโมง จะมีอาการคลื่นไส้อาเจียน ท้องร่วงอย่างรุนแรงจนอ่อนเพลียมาก ปวดท้องและเป็นตะคริว ส่วนมากไม่มีไข้ ในรายที่มีอาการรุนแรงอาจช็อคได้ อาจมีอาการอื่นแทรกซ้อนในผู้สูงอายุ เด็กแรกเกิด และผู้ป่วยโรคเบาหวาน แต่ส่วนใหญ่อาการจะดีขึ้นใน 8 – 24 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานของร่างกายและปริมาณของสารพิษที่ได้รับเข้าไปในร่างกาย

การป้องกัน 1. รับประทานอาหารที่ปรุงสุกใหม่ๆ 2. หากยังไม่รับประทานในทันที ให้นำอาหารที่ปรุงสำเร็จแล้วไปเก็บที่อุณหภูมิต่ำอย่างรวดเร็ว เพราะที่อุณหภูมิต่ำๆ เชื้อจะหยุดแบ่งตัวและไม่สร้างสารพิษ 3. อุ่นอาหารให้ร้อนก่อนรับประทานทุกครั้ง 4. ไม่ควรให้ผู้ที่ติดเชื้อ *S. aureus* บริเวณมือ หรือแขน ทำหน้าที่เกี่ยวกับอาหาร

การควบคุม 1. ป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* โดยมีการจัดการด้านสุขลักษณะ และการควบคุมกระบวนการผลิตที่ดี 2. ป้องกันการเจริญและการสร้างสารพิษ enterotoxin โดยควบคุมอุณหภูมิและระยะเวลาในการประกอบอาหาร 3. ทำลายเชื้อ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนในอาหารโดยการใช้ความร้อน (ศิวาพร, 2542)

2.6.4 *L. monocytogenes*

เชื้อ *Listeria monocytogenes* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ในสภาพที่มีหรือไม่มีออกซิเจน เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 30 – 37 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญเติบโตได้ในอุณหภูมิต่ำ เช่นในตู้เย็น เชื้อ *Listeria monocytogenes* จัดอยู่ใน อาณาจักร Firmicutes เช่นเดียวกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* และ *Staphylococcus* เชื้อ *Listeria monocytogenes* อยู่ในตระกูล Listeriaceae แบ่งย่อยได้ 6 สปีชีส์ คือ *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, และ *L. grayi* โดยสปีชีส์ที่ก่อให้เกิดโรคในคนคือ *L. monocytogenes* แบ่งย่อยออกเป็น 13 ซีโรทัยป์ ร้อยละ 90 ของเชื้อ *L. monocytogenes* ที่แยกได้จากคนคือ ซีโรทัยป์ 1/2a, 1/2b, และ 4b และที่พบรายงานว่า เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษในคนที่พบในหลายภูมิภาคของโลก (ร้อยละ 33-50) คือ ซีโรทัยป์ 4b

เชื้อ *L. monocytogenes* พบได้ทั่วไปในดิน น้ำ มูลสัตว์ปีกและสัตว์กีบคู่ ในน้ำนมดิบและอาหารที่ประกอบจากน้ำนมดิบ เชื้อทำให้เกิดโรค Listeriosis กลุ่มผู้ที่ติดเชื้อที่เสี่ยงมีอาการรุนแรง คือหญิงมีครรภ์ ทารก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้สูงอายุ และผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง หญิงมีครรภ์ที่ติดเชื้ออาจทำให้แท้งบุตร ทารกตายในครรภ์ คลอดก่อนกำหนด หรือคลอดแล้วตาย อัตราป่วยตายคือร้อยละ 24 มักไม่ค่อยเกิดโรคในคนปกติที่สุขภาพแข็งแรง เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิต่ำในตู้เย็น แต่เชื้อตายได้เมื่อปรุงอาหารให้สุกหรือผ่านขบวนการพาสเจอร์ไรซ์ คำแนะนำสำหรับกลุ่มเสี่ยงคือ ปรุงอาหารให้สุกก่อนการรับประทาน (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2558)

2.6.5 *B. cereus*

Bacillus cereus เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก รูปแท่ง สร้างสปอร์ ผลิตสารพิษ (toxin) ได้ มักพบเชื้อในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน น้ำ เป็นต้น เชื้อ *B. cereus* เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษร้อยละ 1.2 ของการระบาดทั่วโลก และพบว่าเชื้อ *B. cereus* เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในกระแสเลือด หรือเยื่อหุ้มสมองอักเสบได้ด้วย โดยทั่วไปผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษส่วนใหญ่จะมีอาการไม่รุนแรงและสามารถหายได้เอง อย่างไรก็ตามผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการรุนแรงต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล และอาจมีผลกระทบระยะยาวจากโรคอาหารเป็นพิษ (long-term effects from food poisoning) เช่น ข้ออักเสบเรื้อรัง (chronic arthritis) เป็นต้น

เชื้อ *Bacillus cereus* ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ 2 แบบ คือ

1. แบบที่มีอาการอาเจียน (emetic syndrome) เกิดจากร่างกายได้รับสารพิษ (emetic toxin) ของแบคทีเรียที่สร้างขึ้นระหว่างเจริญเติบโตในอาหาร ได้แก่ cereulide toxin สารพิษนี้ทนต่ออุณหภูมิสูงและความเป็นกรดในกระเพาะอาหารได้ดี ผู้ป่วยจะเกิดอาการคลื่นไส้และอาเจียน ภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไปประมาณ 1/2 - 5 ชั่วโมง และมีอาการไม่เกิน 6 - 24 ชั่วโมง แต่ในผู้ป่วยบางรายอาจเสียชีวิตได้ หรือเรียกว่า Chinese restaurant syndrome เนื่องจากส่วนมากพบในผู้รับประทานอาหารจีน เช่น ข้าวผัดที่ทำจากข้าวสุกที่หุงค้างไว้นานก่อนนำมาปรุงหรือทำให้ร้อนใหม่ ซึ่งความร้อนไม่สามารถทำลายสารพิษนี้ได้

2. แบบที่มีอาการถ่ายเหลว (diarrhea syndrome) เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีเซลล์แบคทีเรีย ซึ่งสามารถเพิ่มจำนวนในลำไส้ของมนุษย์ และผลิตสารพิษ (diarrheal toxins หรือ enterotoxins) ออกมาได้ เชื้อใช้เวลาฟักตัวประมาณ 8- 16 ชั่วโมง ทำให้เกิดอาการการปวดเกร็งที่ท้อง และถ่ายอุจจาระเหลว โดยทั่วไปจะมีอาการไม่เกิน 14 ชั่วโมง

Bacillus cereus เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อปัญหากับอุตสาหกรรมอาหารหรือการบริโภคในครัวเรือน ที่ต้องมีการเตรียมอาหารจำนวนมาก หรือต้องจัดเตรียมอาหารขึ้นล่วงหน้าเป็นเวลานานก่อนนำไปบริโภค เพราะหากในระหว่างการปรุงหรือการเก็บรักษามีการปฏิบัติที่ไม่ถูกสุขลักษณะหรือไม่สะอาด จะทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อชนิดนี้ได้ ซึ่งกว่าที่จะนำอาหารไปบริโภคเชื้ออาจเพิ่มจำนวนในอาหารมากขึ้น และผลิตสารพิษที่ทนความร้อนได้ ดังนั้นในขั้นตอนของการจัดเตรียม การปรุง การเก็บรักษา และการขนส่งอาหาร ต้องกระทำอย่างระมัดระวัง และรักษาความสะอาด อาหารที่ทำให้สุกแล้วไม่ควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนานเกินควร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในฤดูร้อนหรือในสถานที่ที่มีอุณหภูมิห้องสูง (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ม.ป.ป.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.6 *C. albicans* (จรัสศรี, 2560)

เชื้อแคนดิดาเป็นเชื้อยีสต์ที่พบอยู่ตามส่วนต่างๆ ของร่างกายของคนปกติ เช่น ในช่องปาก ในช่องคลอด เชื้อจะอยู่ปะปนกับจุลินทรีย์ประจำถิ่นชนิดอื่นๆ เชื้อแคนดิดาสามารถก่อโรคได้ถ้ามีสภาวะที่เหมาะสมให้เชื้อเติบโตแบ่งจำนวนมากขึ้น

ปัจจัยที่มีผลต่อการก่อโรคของเชื้อแคนดิดา

1. ลักษณะทางกายวิภาคของผิวหนังในส่วนต่างๆ ของร่างกายที่ต่างกัน เช่น ผิวหนังบริเวณที่อับชื้น เช่น ซอกพับของผิวหนังและเยื่อบุ เป็นบริเวณที่มักพบโรคแคนดิดามากกว่าผิวหนังบริเวณที่แห้ง

2. ภูมิต้านทานของร่างกายเป็นส่วนสำคัญในการก่อโรค ผู้ป่วยโรคเบาหวาน โรคติดเชื้อเอชไอวี/โรคเอดส์ ผู้ที่ใช้ยากลุ่มคอร์ติโคสเตอรอยด์หรือยาฆ่าเชื้อติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษามะเร็งด้วยรังสีบำบัดหรือเคมีบำบัด จะส่งผลให้ภูมิคุ้มกันต่ำลงและเกิดโรคแคนดิดาได้มากขึ้น

3. ลักษณะของผู้ป่วย เช่น เด็กทารกและผู้สูงอายุ (> 65 ปี), สตรีที่ตั้งครรภ์, ผู้ที่มีน้ำหนักมาก หรือผู้ที่ชอบใส่เนื้อผ้ารัดแน่นอับชื้นจะมีความเสี่ยงสูงในการเกิดโรค

อาการและอาการแสดง

ผิวหนัง: ผื่นแดง คัน ลามออกเป็นวงเล็กๆ บริเวณที่พบผื่นได้บ่อยคือ ใต้ราวนม ขาหนีบ ซอกก้น ซอกรักแร้ ซอกคอและซอกนิ้ว บางครั้งพบรูขุมขนอักเสบและตุ่มหนองร่วมด้วย

ช่องปาก: ฝ้าขาวที่ลิ้นหรือกระพุ้งแก้มสามารถขูดออกได้ง่ายโดยไม่กดลิ้น ในผู้ที่ใส่ฟันปลอมอาจพบผื่นแดงอักเสบเรื้อรังบริเวณที่สัมผัสกับฟันปลอมหรือแผลแดงแตกบริเวณมุมปาก

ช่องคลอด: อาการตกขาวร่วมกับอาการคันหรือแสบที่บริเวณช่องคลอด

อวัยวะเพศชาย: ผื่นสีขาวหรือตุ่มหนองที่ปลายของอวัยวะเพศ อาจพบเป็นแผลร่วมด้วยได้

การวินิจฉัย

สามารถทำได้โดยการขูดผิวหนังหรือเยื่อบุที่มีผื่นมาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะพบลักษณะยีสต์และสายราเทียม

การรักษา

การรักษาโรคแคนดิดาประกอบด้วย

1. การใช้ยาต้านเชื้อรา เช่น ยา ketoconazole หรือ clotrimazole เป็นต้น ยามีหลายรูปแบบ ได้แก่ ยาทาซึ่งสามารถใช้รักษาได้ในผู้ป่วยที่มีผื่นที่ผิวหนังหรืออวัยวะเพศชาย ยาเหน็บจะใช้ในผู้ป่วยติดเชื้อที่ช่องคลอด ยารูปแบบอมใช้ในการรักษาการติดเชื้อในช่องปาก และยารับประทานใช้ในผู้ป่วยที่มีรอยโรคบริเวณกว้างกระจาย ซึ่งควรปรึกษาแพทย์ก่อนรับประทานยาเนื่องจากยามีผลข้างเคียงที่รุนแรง

2. การปรับเปลี่ยนพฤติกรรม เช่น การลดน้ำหนัก การเลือกเสื้อผ้าที่หลวมโปร่งสบาย เป็นสิ่งสำคัญที่จะช่วยลดสภาวะที่ส่งเสริมการก่อโรคของเชื้อและลดการเกิดโรคซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 การประเมินอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร

การประเมินอายุการเก็บรักษาอาหาร วิธีการประเมินอายุการเก็บรักษาอาหาร อาจทำได้ดังนี้

1. การประเมินอายุการเก็บรักษาโดยสภาวะเร่ง เพื่อใช้ในการทำนายอายุการเก็บรักษาก่อนการนำสินค้าไปจำหน่าย โดยพิจารณาว่าปัจจัยคุณภาพใดที่เปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาการเก็บรักษา และมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคหรือความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ เช่น

- คุณภาพทางประสาทสัมผัส ได้แก่ สี กลิ่นรส รสชาติ หรือเนื้อสัมผัส
- คุณภาพทางเคมี เช่น pH, water activity การออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation)
- คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์

โดยจะนำปัจจัยหลักของการเสื่อมเสียมาพิจารณาเพื่อหาอายุการเก็บรักษาในสภาวะเร่ง แล้วนำค่าที่ได้มาเข้าสมการคณิตศาสตร์ พิจารณาจากกราฟของการเสื่อมเสีย จะสามารถคำนวณอายุการเก็บรักษาได้

2. การหาอายุการเก็บรักษาตามระยะเวลาจริง (พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, ม.ป.ป.)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เกศสุคนธ์และนิตยา (2561) ได้ทำการศึกษาสกัดใบพลูด้วยน้ำโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ (microwave - assisted extraction, MAE) สภาวะที่ใช้ในการสกัดคือใบพลูแห้ง 20 กรัม ใบพลูสด 20 และ 30 กรัม ในน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร สภาวะไมโครเวฟที่ใช้คือ กำลังไมโครเวฟ 500 และ 300 วัตต์ เป็นระยะเวลา 30 และ 50 วินาที ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ ใบพลูสด 20 กรัม ใช้กำลังไฟ 500 วัตต์ เป็นเวลา 30 วินาที โดยให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงสุดจากการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay (419.72 ± 8.55 µmol TEAC/mL crude extract) FRAP assay (265.53 ± 10.46 µmol $FeSO_4$ /mL crude extract) การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (77.65 ± 2.84 %) และสารสกัดที่ได้ยังพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด (1565.53 ± 87.70 µmol GEA /mL crude extract) โดยแตกต่างกับสภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญอย่างมาก ($P < 0.01$) แสดงให้เห็นว่า การสกัดสมุนไพรโดยใช้เทคนิค MAE นี้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ ใช้ขั้นตอนและเวลาในการสกัดน้อย

อาทิตย์และคณะ (2565) ได้ทำการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีโนลิกโดยเทคนิคการสกัดแบบไมโครเวฟร่วม อิทธิพลของปัจจัยที่ศึกษาประกอบด้วยอัตราส่วนของตัวทำละลาย (น้ำกลั่น) ต่อวัตถุดิบ เวลาในการสกัด และกำลังไมโครเวฟ การออกแบบแฟกทอเรียล 2 ระดับ การออกแบบทางไต่ระดับสูงสุด และการออกแบบพื้นผิวการตอบสนอง นำไปใช้และวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อกำหนดสภาวะที่เหมาะสม การศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีโนลิกทั้งหมดสูงสุด (69.70 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง) ที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ 435 มิลลิลิตรต่อกรัม เวลาในการสกัด 50 นาที และกำลังไมโครเวฟ 450 วัตต์ พบว่างานวิจัยนี้สามารถนำไปผลิตสารสกัดจากเฉาก๊วยที่มีคุณภาพซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพซึ่งสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาจากสารสกัดจากผลผลิตทางการเกษตรได้

น้ำอ้อยและบุณยกฤต (2568) ศึกษาผลของกำลังไฟฟ้าและเวลาที่เหมาะสมในการใช้เครื่องไมโครเวฟสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากกากกาแฟ โดยใช้กำลังไฟฟ้าที่ 200 400 และ 600 วัตต์ และสกัดที่เวลา 60 90 และ 120 วินาที แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ วิธี DPPH และ FRAP และเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้สกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ ผลการทดลองพบว่าที่กำลังไฟฟ้า 600 วัตต์ เวลา 120 วินาที ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH และ FRAP เท่ากับ 5.53 ± 0.24 mMGAE/gDW 52.09 ± 1.23 mMT.E/gDW และ 3.07 ± 0.12 mMT.E/gDW ตามลำดับ

กาญจนาและนิรมล (2560) ศึกษาผลของการใช้เทคนิคไมโครเวฟช่วยในการสกัดเคอร์คูมินอย์จากขมิ้นชัน โดยผันแปรกำลังไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัดที่ 400 และ 800 วัตต์ และระยะเวลาการสกัดที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 นาที วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล พบว่ากำลังไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อร้อยละผลผลิตของสารสกัด ปริมาณสารฟีโนลิกทั้งหมด ค่าการต้านอนุมูลอิสระ (EC50) ปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ทั้งหมด ซึ่งประกอบไปด้วย เคอร์คูมิน เดเมทอกซี่เคอร์คูมิน และบิสเดเมทอกซี่เคอร์คูมิน โดยกำลังไฟฟ้าในการสกัดที่ 800 วัตต์ ให้ปริมาณสารเคอร์คูมินทั้งหมดที่มากกว่า 400 วัตต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนระยะเวลาในการสกัดที่เพิ่มขึ้น ทำให้สารเคอร์คูมินอยด์มีปริมาณที่สูงขึ้นและมีแนวโน้มคงที่ สภาวะที่เหมาะสมคือการสกัดที่กำลังไฟฟ้า 800 วัตต์ ระยะเวลา 3 นาที โดยมีร้อยละผลผลิตที่ได้เท่ากับ 21 ปริมาณเคอร์คูมิน เดเมทอกซี่เคอร์คูมิน และบิสเดเมทอกซี่เคอร์คูมิน เท่ากับ 227.86, 136.26 และ 67.08 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ จึงสรุปว่าการสกัดด้วยเทคนิคไมโครเวฟจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการสกัดเคอร์คูมินอยด์จากขมิ้นชันได้

ทศพร (2555) ศึกษาการยืดอายุการเก็บรักษาแผ่นแป้งโรตีสายไหมโดยใช้หลายๆ วิธีร่วมกัน เช่น การลดความชื้นแผ่นแป้งด้วยการเป่าลมเป็นเวลา 30 60 และ 90 นาที ซึ่งพบว่าการเป่าลมเป็นเวลา 60 และ 90 นาที ทำให้แผ่นแป้งมีความชื้นลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับแผ่นแป้งเริ่มต้น (แผ่นแป้งเริ่มต้นมีความชื้นร้อยละ 46.99 และค่า A_w เท่ากับ 0.98 เสื่อมเสียจนบริโภคไม่ได้เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นวันที่ 3) จากนั้นศึกษาต่อโดยนำมาบรรจุในถุงสุญญากาศและถุงธรรมดา พร้อมกับการเก็บรักษาในอุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น พบว่าการลดความชื้นด้วยการเป่าลมเป็นเวลา 60 นาทีขึ้นไป พร้อมกับเก็บในถุงสุญญากาศและเก็บในอุณหภูมิตู้เย็น สามารถเก็บรักษาได้มากกว่า 3 วันโดยที่ไม่มีลักษณะปรากฏของการเสื่อมเสียทางจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 ใบบัวบก

3.1.1.2 แป้งสาลี

3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 Distilled water (D H2O)

3.1.2.2 Ethanol 95 percent (C2H6O) (food grade)

3.1.2.3 Sodium bicarbonate (KemAus, Australia)

3.1.2.4 Folin-Ciocalteu's Reagent (Loba, India)

3.1.2.5 Dimethyl Sulfoxide (DMSO) (Qrec, Newzealand)

3.1.2.6 Gallic acid (Merck, Germany)

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.3.1 PDA

3.1.3.2 TPC

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.2.1 อุปกรณ์

3.2.1.1 กระดาษกรองเบอร์ 1 (Filter Papers)

3.2.1.2 กระดาษฟอยด์ (Aluminium foil)

3.2.1.3 กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 100, 500, และ 1,000 mL

3.2.1.4 กรรไกร (Scissors)

3.2.1.5 กรวยกรองบุชเนอร์ (Buchner funnel)

3.2.1.6 ขวดดูแรน (Duran bottle) 500 mL

3.2.1.7 ขวดระเหยกลั่นสาร (Evaporation flask) ขนาด 500 mL

3.2.1.8 ขวดรูปชมพู่รองรับสาร (Suction flask) ขนาด 500 mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.1.9 ขวดรองรับตัวทำละลาย (Collection flask) ขนาด 1,000 mL

3.2.1.10 ช้อนตักสาร (Dispensing spoon)

3.2.1.11 ถุงมือยางไม่มีแป้ง (Rubber gloves)

3.2.1.12 แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)

3.2.1.13 แร็ควางหลอดทดลอง (Test tube rack stainless)

3.2.1.14 หลอดแก้วทดลอง (Test tube)

3.2.1.15 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 100, 250, 500 และ 1,000 mL

3.2.1.16 ขวดแก้วพร้อมฝาปิด (glass bottle with lid)

3.2.1.17 ผ้าขาวบาง (Cheese cloth)

3.2.1.18 ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump)

3.2.1.19 อ่างล้างอัลตร้าโซนิค (Ultrasonic Bath)

3.2.1.20 จานเพาะเชื้อ (Petri dish)

3.2.2 เครื่องมือ

3.2.2.1 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Precision balance 2 digits) (Mettler Toledo, germany)

3.2.2.2 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Precision balance 4 digits) (Mettler Toledo, germany)

3.2.2.3 ตู้ชีวนิรภัย (Biological safety cabinet) (Bosstech, Thailand)

3.2.2.4 ตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส (Incubator) (Sanyo, Thailand)

3.2.2.5 ตู้เย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (Fridge) (Mitsubishi electric, Thailand)

3.2.2.6 ตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส (Hot air over) (Heraeus, germany)

3.2.2.7 ไมโครเวฟ (Microwave) (Electrolux, China)

3.2.2.8 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) (Tommy, Japan)

3.2.2.9 ตู้แช่แข็ง อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

3.2.2.10 ตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมวัตถุดิบใบบัวบกผง

นำตัวอย่างใบบัวบกผงบรรจุในภาชนะ เติมตัวทำละลายลงในตัวอย่างที่ต้องการสกัด จากนั้นนำเข้าเครื่องไมโครเวฟ เปิดเครื่อง ตั้งค่ากำลังวัตต์และเวลา เริ่มการทำงานเครื่อง เมื่อครบกำหนดเวลาที่ใช้ในการสกัดที่สภาวะต่างๆ นำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำส่วนที่กรองได้ไประเหยโดยใช้เครื่อง Rotary Evaporator ที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C ระเหยจนตัวอย่างแห้ง นำสารสกัดที่ได้ไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.3.2 การศึกษาการสกัดใบบัวบกผงที่สภาวะต่างๆ โดยออกแบบการทดลองแบบ Single factors

3.3.2.1 การศึกษาปัจจัยเดี่ยวของการสกัดที่สภาวะต่างๆ

- เวลาในการสกัดใบบัวบกที่ 30, 60, 90, 120, 150, 180 วินาที อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:9 (w/v), ความเข้มข้นของเอทานอล 60%, กำลังวัตต์ไมโครเวฟ 450 วัตต์
- อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ 1:3, 1:6, 1:9, 1:12, 1:15 g/ml ในการสกัดใบบัวบก เวลาในการสกัด 120 วินาที, ความเข้มข้นของเอทานอล 60%, กำลังวัตต์ไมโครเวฟที่ 450 วัตต์
- ความเข้มข้นเอทานอลที่ 20, 40, 60, 80 และ 95% ในการสกัดใบบัวบก เวลาในการสกัด 120 วินาที, อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:9 (w/v), กำลังวัตต์ไมโครเวฟ 450 วัตต์
- กำลังวัตต์ไมโครเวฟที่ 100, 180, 300, 450, 600 และ 800 วัตต์ในการสกัดใบบัวบก เวลาที่ใช้ในการสกัด 120 วินาที, อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:9 (w/v), ความเข้มข้นเอทานอลที่ 60 %

3.3.2.2 การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในสารสกัดที่ได้จากสภาวะต่างๆ

สารสกัดที่ได้จากสภาวะต่างๆ จะถูกนำไปวิเคราะห์ Total triterpenoids content (mg Ursolic acid/g extract)

3.3.3 การศึกษาการสกัดใบบัวบกผงที่สภาวะต่างๆ โดยออกแบบการทดลองแบบ Box–Behnken design

การกำหนดช่วงขอบเขตของเวลาในการสกัด, อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย, ความเข้มข้นเอทานอล, กำลังวัตต์ไมโครเวฟ ได้มาจากระดับของปัจจัยที่ใช้ในการสกัดที่ให้ค่า Total triterpenoids content (mg Ursolic acid/g extract) อยู่ในช่วงปริมาณสูง เมื่อได้ช่วงขอบเขตที่เหมาะสมในแต่ละปัจจัย จะถูกนำมาออกแบบการทดลองแบบ Box–Behnken design และใช้พื้นที่ผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology) ในการทำนายสภาวะการสกัดที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.4 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดใบบัวบกด้วยไมโครเวฟ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดใบบัวบกด้วยไมโครเวฟ ออกแบบการทดลองด้วย Box-Behnken design (BBD) และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (RSM) โดยปัจจัยหลักในการศึกษา ได้แก่ A: กำลังไมโครเวฟ (W), B:เวลาในการสกัด (s), C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย, D:ความเข้มข้นของเอทานอล (เปอร์เซ็นต์ v/v)

3.3.5 การวิเคราะห์สารสำคัญในใบบัวบกที่สกัดได้จากสภาวะต่างๆ

3.3.5.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิก

ดัดแปลงจากวิธีของ Follin และคณะ (1927) โดยชั่งสารตัวอย่าง 1 mg ละลายด้วย 80% เอทานอล 1 mL นำสารละลายตัวอย่าง 0.5 mL ใส่ในขวดปรับปริมาตรสีชา เติมสารละลาย 0.2 N Folin-Ciocalteau,s phenol reagent 2.5 mL ตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 7.5% ปริมาตร 2 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 10 mL ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 760 nm ปริมาณฟีนอลิกรวมหาได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก ปริมาณที่ได้แสดงในหน่วย mg/g extract as gallic acid equivalent.

3.3.5.2 การวิเคราะห์ Total triterpenoids content

ดำเนินการตามวิธีของดำรงศักดิ์ (2559) การหาปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์ในสารสกัด โดยใช้หลักการเกิดสีจากปฏิกิริยาระหว่าง Vanillin-acetic solution และสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์ ซึ่งหากสารสกัดมีสารประกอบกลุ่มไตรเทอพีนอยด์จะให้ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 573 nm โดยสารมาตรฐานคือ ursolic acid มีวิธีการทดสอบดังต่อไปนี้

3.3.5.2.1 การเตรียม Stock solution ต่างๆ ที่ใช้ในการทดสอบ

1. การเตรียม stock solution ของสารตัวอย่าง โดยชั่งสารตัวอย่าง 2 mg เติม acetic acid จนครบปริมาตร 2 mL (ได้ความเข้มข้นของ Stock solution ของสารตัวอย่าง คือ 1 mg/mL หรือ 1 μg/μL)

2. การเตรียม 5% vanillin-acetic solution (ในการทดสอบจะใช้ freshly preparation) โดยชั่ง vanillin 5 กรัม แล้วเติม acetic acid จนครบปริมาตร 100 mL

3.3.5.2.2 การทำ calibration curve ของสารมาตรฐาน ursolic acid

เตรียมสารละลายมาตรฐานของ ursolic acid ความเข้มข้น 1 mg/mL ให้มีปริมาณ ursolic acid 0, 2, 4, 8, 20 และ 40 μg ตามลำดับ เติม acetic acid จนครบปริมาตร 100 μL เติม 5% vanillin-acetic solution 200 μL (ได้ความเข้มข้นของ reaction mixture 0, 2, 4, 8, 20 และ 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

μg/mL ตามลำดับ) เติม sulfuric acid 400 μL แล้วนำไป incubated ที่ 70°C นาน 30 นาที หลังจากนั้น เติม acetic acid 300 μL นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง UV-visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 573 nm

3.3.5.2.3 การทำ calibration curve ของสารมาตรฐาน ursolic acid

นำ Stock solution ของสารตัวอย่างใส่ในขวดแก้วมีฝา 100 μL เติม 5% vanillin-acetic solution 200 μL เติม sulfuric acid 400 μL incubated ที่อุณหภูมิ 70°C รอทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 30 นาที เติม acetic acid 300 μL นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง uv-visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 573 nm คำนวณกลับหาปริมาณของ total triterpenoid content ในหน่อวย mg ursolic acid equivalent/g extract

3.3.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในใบบัวบก ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Nilufar M. Inamdar. 1996)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน เอเซียติโคไซด์ (AS) และกรดเอเซียติก (AA) stock ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ชั่งสารมาตรฐาน 1 mg ละลายด้วยเมทานอล จากนั้นนำมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 1-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วไปวิเคราะห์ปริมาณสารด้วยเครื่อง HPLC โดยการใช้ระบบโครมาโตรกราฟีของเหลว รุ่น Ultimate 3000 ที่ประกอบด้วย ปั๊ม เครื่องเก็บตัวอย่างอัตโนมัติช่องคอลัมท์ที่ควบคุมอุณหภูมิ และเครื่องตรวจจับอาร์เรย์ไดโอด คอลัมม์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ BDS Hypersil C18 (250 x 4.6นาโนเมตร, 5 ไมโครเมตร) ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ตัวทำละลายที่ใช้สำหรับการแยก คือ อะซิโตไนไตรล์ (ตัวชะ A) และน้ำ (ตัวชะ B) อัตราส่วนของตัวทำละลายในการแยกคือ 0-30 นาที โดยใช้ 80 เปอร์เซ็นต์ (ตัวชะ B) 30-35 นาที โดยใช้ 45 เปอร์เซ็นต์ (ตัวชะ B) อัตราการไหลคือ 1.4 มิลลิลิตรต่อนาที ความยาวคลื่นที่ใช้ในการตรวจจับคือ 220 นาโนเมตร ปริมาตรในการฉีดตัวอย่างคือ 20 ไมโครลิตร พีคโครมาโตกราฟีของสารมาตรฐานที่ได้นำมาเปรียบเทียบกับเวลาและสเปกตรัมยูวีของสารมาตรฐาน

3.4 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดใบบัวบก

3.4.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

โดยนำเชื้อจุลินทรีย์แกรมบวก (Gram positive bacteria) ได้แก่ *Staphylococcus aureus* (TISTR 808), *Listeria monocytogenes* (DMST 17303), *Bacillus cereus* (ATCC 11778) และจุลินทรีย์แกรมลบ (Gram negative bacteria) ได้แก่ *Salmonella* Typhimurium (DMST 292), *Salmonella* Choleraesuis (DMS T8014), *Salmonella* Enteritidis (DMST 1567), *Escherichia coli* (DMST 4609) และ *Candida albicans* (DMST 8684) มาเลี้ยงในอาหารเหลว Tryptone Soya Broth (TSB) เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นนำเชื้อจุลินทรีย์ไปวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความขุ่นของสารแขวนลอยด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ปรับค่าโอดี (optical density) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่าความขุ่นของเชื้อจุลินทรีย์เทียบเท่า McFarland No. 0.5 โดยเจือจางสารแขวนลอยให้มีค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.1-0.2 ซึ่งจะมีจำนวนเชื้อเท่ากับ 1.5×10^8 CFU/mL (วนิดา, 2563)

3.4.2 การศึกษาความสามารถของสารสกัดจากใบบัวบกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

เมื่อได้สภาวะการสกัดที่เหมาะสมจากข้อ 3.3.4 แล้ว จะถูกนำมาทดสอบดังต่อไปนี้

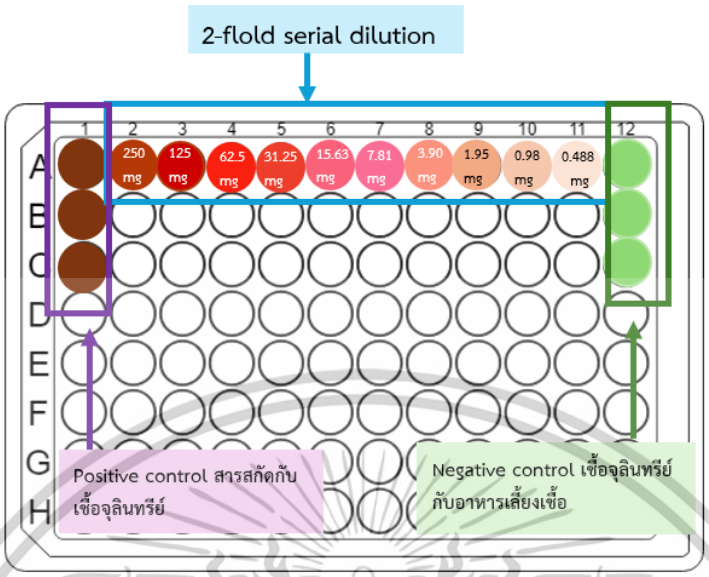
3.4.2.1 ศึกษาผลการใช้สารสกัดจากใบบัวบกในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (Inhibition zone) ด้วยวิธี Disc diffusion technique

จากข้อ 3.4.1 ใช้ปิเปต ปิเปตเชื้อจุลินทรีย์ 0.1 mL ลงในจานอาหาร Tryptone Soya Agar (TSA) จากนั้นใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยเชื้อจุลินทรีย์ให้ทั่วหน้าอาหาร จากนั้นหยดสารสกัดจากใบบัวบก ที่ความเข้มข้น 500 mg/mL โดยใช้ 1% DMSO เป็นตัวทำละลายสารสกัดจากใบบัวบก แล้วทำการปิเปต 20 µL ของสารสกัดใบบัวบกที่ได้จากสภาวะต่างๆ ตัวทำละลายเอทานอล 60 และ 90 เปอร์เซ็นต์ v/v ลงบนกระดาษที่ปราศจากเชื้อ (sterile disc) โดยกระดาษมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm รวมทั้งหมด 4 ตำแหน่ง โดยมี 1% DMSO บนกระดาษทำหน้าที่เป็นตัวควบคุม (control) และมียาปฏิชีวนะใช้เป็น Positive control คือ Ciprofloxacin 5 mg, Ampicillin 10 mg และ Tetracyclines 10 mg วางบนจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อภายใต้อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง แล้วทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งจุลินทรีย์ (inhibition zone) ที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยวัดหน่วยเป็นมิลลิเมตร (mm) (นัยนา, 2546)

3.4.2.2 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของสารสกัดด้วยวิธี Broth dilution technique

นำสารสกัดใบบัวบกที่ให้ผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบที่ความเข้มข้น 500 mg/mL มาทดสอบหาค่า MIC ในช่วง 0.488-250 mg/mL โดยปิเปตอาหารเหลว TSB ใส่ลงใน sterile 96-well microtiter plate หลุมละ 50 µL ตั้งแต่หลุมที่ 2-12 แล้วปิเปตสารสกัดใบบัวบกใส่ sterile 96-well microtiter plate ในหลุมที่ 1 ปริมาตร 100 µL จากนั้นปิเปตสารสกัดใบบัวบกจากหลุมที่ 1 ปริมาตร 50 µL ใส่ในหลุมที่ 2 และเจือจางแบบ 2-fold dilution เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของสารสกัดใบบัวบก 0.488-250 mg/mL แล้วปิเปตอาหารและสารสกัดที่ความเข้มข้นสุดท้ายทิ้ง 50 µL โดยทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ จากนั้นปิเปตเชื้อที่มีความเข้มข้น 1.5×10^8 CFU/mL ที่เตรียมไว้ใส่ใน sterile 96-well microtiter plate หลุมละ 50 µL จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนด อ่านผลการทดสอบ บันทึกค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดใบบัวบกที่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบได้ เป็นค่า MIC (นัยนา, 2546)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.1 แสดงการทดลองหาค่า MIC โดยวิธี 96-well plate method

3.4.2.3 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ของสารสกัดด้วยวิธี Agar dilution technique

จากค่า MIC สามารถนำมาหาค่า MBC ได้โดยนำหลอดที่ไม่มีความขุ่นจากการทดสอบหาค่า MIC ไปเทและเกลี่ย (spread plate) ลงบนอาหาร การอ่านผลการหาค่า MBC หรือความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้คือ จะสังเกตไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว (นัยนา, 2546)

3.5 การประยุกต์ใช้สารสกัดใบบัวบกในผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีร่วมกับการปรับสภาพบรรยากาศในบรรจุภัณฑ์ระหว่างเก็บรักษาเพื่อยืดอายุการเก็บ

3.5.1 การผลิตแผ่นแป้งโรตี

นำแป้งสาลี (ตรามงกุฎฟ้า) น้ำกรองและส่วนผสมอื่นๆ ตามสูตรในตารางที่ 3.1 ผสมให้เข้ากัน แล้วนวดในกะละมังสแตนเลสให้เข้ากันเป็นเวลา 4-5 นาที จากนั้นพักแป้งไว้ 15 นาที เมื่อครบเวลาให้นวดแป้งต่ออีก 1 นาที นำกระทะ (Migecon product) ตั้งไฟให้ร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นำแป้งที่ผสมไว้ปริมาณ 100 กรัมทาบนกระทะ เมื่อแป้งสุกเป็นแผ่นเกาะตัวกัน ให้ใช้ไม้พายตักแป้งขึ้นจากกระทะ พักไว้ให้เย็นแล้วนำแผ่นแป้งโรตีบรรจุถุงโพรพิลีน (PP) จำนวน 3 แผ่น แล้วซีลแบบดึงอากาศ (vacuum seal) กับซีลแบบสภาพบรรยากาศทั่วไป จัดเก็บที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส ติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านจุลินทรีย์ เช่น ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) ยีสต์/รา (Yeast/mold) ค่าปริมาณน้ำอิสระ เป็นระยะเวลา 5 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 สูตรส่วนผสมการผลิตแป้งโรตีและการเก็บแผ่นแป้งโรตีที่สภาวะต่างๆ

Day	ผลิตภัณฑ์เก็บในถุงโพรพิลีนซีลปิดสนิท			ผลิตภัณฑ์เก็บในถุงโพรพิลีนดึงอากาศออกแล้วซีลปิดสนิท		
	control[1]	วัตถุกันเสีย[2]	สารสกัด[3]	control[1]	วัตถุกันเสีย[2]	สารสกัด[3]
0						NA
1						
2						
3						
4						
5						

หมายเหตุ : 1: control แผ่นแป้งโรตีไม่เติมสารใดๆ

2: แผ่นแป้งโรตีมีการเติมวัตถุกันเสียโซเดียมเบนโซเอท 0.1%

3: แผ่นแป้งโรตีเติมสารสกัดใบบัวบก

3.5.2 การตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์ของแผ่นแป้งโรตี

การตรวจวัดจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา (BAM, 2001)

3.5.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

ทำการชักตัวอย่าง โดยการนำตัวอย่างมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ โดยใช้กรรไกรจุ่มแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ลนไฟ รอให้เย็น แล้วตัดตัวอย่างแผ่นแป้งโรตีเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ในถุงตีปั่น ชั่งน้ำหนักตัวอย่างให้ได้ 25 g เติม Peptone Water 0.1 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 225 mL ในถุงตีปั่น นำไปตีปั่นด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 1 นาที ใช้ไมโครปิเปตดูดตัวอย่างที่ตีปั่นแล้วมา 1 mL เจือจางด้วยสารละลาย Peptone Water 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 9 mL ในหลอดทดลอง ระดับการเจือจาง 1:10, 1:100, 1:1,000, 1:10,000 และ 1:100,000

3.5.2.2 การตรวจปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด

ใช้ไมโครปิเปตดูดแต่ละระดับการเจือจางมา 0.1 mL ลงบนจานเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) ใช้สามเหลี่ยมแท่งแก้วจุ่มแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ลนไฟ รอให้แห้ง แล้วเกลี่ยตัวอย่างบนอาหารให้แห้ง นำจานเลี้ยงเชื้อซ้อนกันไม่เกิน 3 จาน ใส่ถุงพลาสติก มัดปากถุงด้วยหนังยาง แล้วนำจานเลี้ยงเชื้อที่ใช้อาหาร PCA ให้นำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาบ่มเชื้อ บันทึกผลจำนวนโคโลนีที่พบ และถ่ายรูปจานเลี้ยงเชื้อทุกจาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2.3 การตรวจปริมาณยีสต์และรา (BAM, 2001)

ใช้ไมโครปิเปตดูดแต่ละระดับการเจือจางมา 0.1 mL ลงบนจานเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) ใช้สามเหลี่ยมแท่งแก้วจุ่มแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ลนไฟ รอให้แห้ง แล้วเกลี่ยตัวอย่างบนอาหารให้แห้ง นำจานเลี้ยงเชื้อซ้อนกันไม่เกิน 3 จาน ใส่ถุงพลาสติก มัดปากถุงด้วยหนังยาง แล้วนำจานเลี้ยงเชื้อที่ใช้อาหาร PDA ให้นำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อรา 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เมื่อครบเวลาบ่มเชื้อ บันทึกผลจำนวนโคโลนีที่พบ และถ่ายรูปจานเลี้ยงเชื้อทุกจาน

3.5.3 การวัดปริมาณน้ำอิสระ (water activity, Aw)

ตัวอย่างแผ่นแป้งโรตีทั้ง 6 ชุดการทดลองในแต่ละวันที่เก็บรักษา มาวัดค่า A_w ด้วยเครื่อง Lab Master-aw Neo (Novasina, Switzerland) ที่สภาวะอุณหภูมิห้อง

3.6 การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส (Sensory test)

ผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบบัวบกฝางความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจิญเติบโตของเชื้อที่ดี จะถูกนำมาทดสอบการชิม ก่อนชิม ให้อาสาสมัครที่เป็นนักศึกษาคณะอุตสาหกรรมอาหารไม่น้อยกว่า 30 คน มองดูผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีที่เสิร์ฟในจานรอง เพื่อประเมินลักษณะปรากฏและสี จากนั้นให้อาสาสมัครสูดดมเพื่อประเมินกลิ่น และสุดท้ายทำการชิมแบบคายทิ้งเพื่อประเมินรสชาติและเนื้อสัมผัส โดยผู้วิจัยจะทำการเสิร์ฟแผ่นแป้งโรตีพร้อมสายไหมทั้งหมด 2 สูตร ประกอบด้วย สูตรควบคุมไม่มีส่วนผสมของสารสกัดใบบัวบก (หมายเลข 1) และสูตรที่มีส่วนผสมสารสกัดใบบัวบก (หมายเลข 2) และมีการสุ่มลำดับการชิมแผ่นแป้งโรตีทั้ง 2 สูตร โดยอาสาสมัครไม่ทราบว่าแผ่นแป้งโรตีแต่ละชนิดที่ตนเองชิมนั้นเป็นแผ่นแป้งโรตีสูตรใด ในการทดสอบชิมแผ่นแป้งโรตีแต่ละสูตร ผู้วิจัยให้อาสาสมัครชิมจนรู้สึกถึงรสชาติแล้วตัดสินใจได้ หลังชิมแผ่นแป้งโรตีสูตรแรก อาสาสมัครสามารถคายทิ้งได้และต้องบ้วนปากด้วยน้ำสะอาดก่อนชิมแผ่นแป้งโรตีสูตรถัดไป โดยมีระยะห่างของการชิมแต่ละสูตรประมาณ 3 นาที โดยหลังจากที่อาสาสมัครทดสอบชิมแผ่นแป้งโรตีแต่ละสูตร ผู้วิจัยให้อาสาสมัครทำแบบประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยให้คะแนนหัวข้อประเมินประกอบด้วย ลักษณะปรากฏ (appearance) กลิ่น (aroma) รสชาติ (flavor) เนื้อสัมผัส (texture) และการยอมรับรวม (overall acceptability) สเกลเป็นตัวเลขให้เลือก 9 ระดับ ตั้งแต่ 1 ถึง 9 โดย 1 คือ ไม่ชอบไม่ชอบเป็นพิเศษ (dislike extremely) 2 คือ ไม่ชอบมาก (dislike very much) 3 คือ ไม่ชอบปานกลาง (dislike moderately) 4 คือ ไม่ชอบเล็กน้อย (dislike slightly) 5 คือ เฉยๆ (neither like nor dislike) 6 คือ ชอบเล็กน้อย (like slightly) 7 คือ ชอบปานกลาง (like moderately) 8 คือ ชอบมาก (like very much) และ 9 คือ ชอบเป็นพิเศษ (like extremely)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์แป้งโรตี

คุณลักษณะ	ตัวอย่างแผ่นแป้งโรตีไม่เติมสารสกัดใบบัวบก	ตัวอย่างแผ่นแป้งโรตีเติมสารสกัดใบบัวบก
สี		
กลิ่น		
ลักษณะปรากฏ		
เนื้อสัมผัส		
รสชาติ		
ความชอบโดยรวม		

โดยการศึกษาการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสได้รับ การรับรองจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เลขที่ EC-KMITL_68_047 โดยก่อนเข้าร่วมการศึกษา อาสาสมัครได้รับคำอธิบายเกี่ยวกับรายละเอียดและขั้นตอนในการศึกษา และความเสี่ยงที่อาจจะเกิดขึ้นจากการศึกษา โดยอาสาสมัครได้เซ็นใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัยก่อนเข้าร่วมการศึกษา

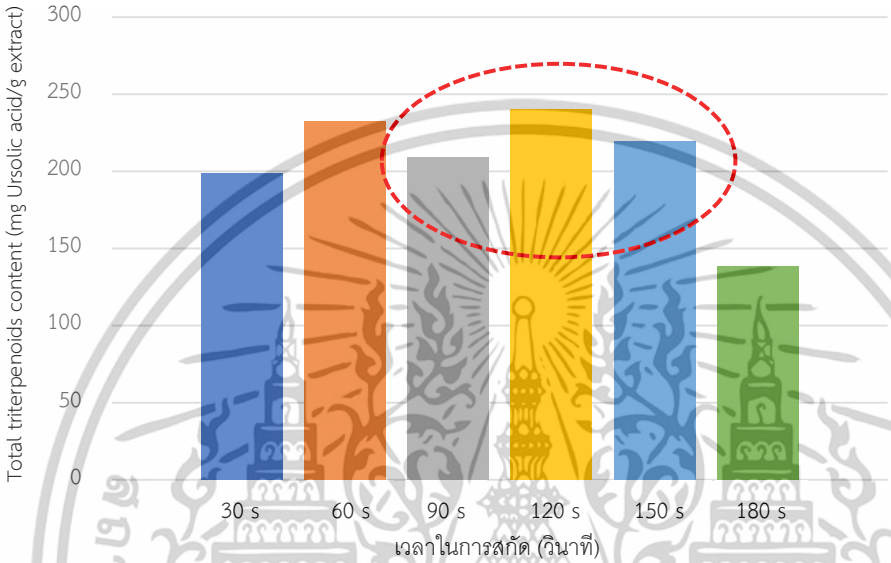
3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) นำข้อมูลทั้งหมดของการวิจัยมาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดย ANOVA และวิเคราะห์ค่าความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s multiple range test (DMRT) ในระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรม SPSS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลของปัจจัยเดี่ยวที่มีผลต่อปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์ในสารสกัดใบบัวบกที่สกัดด้วยไมโครเวฟ

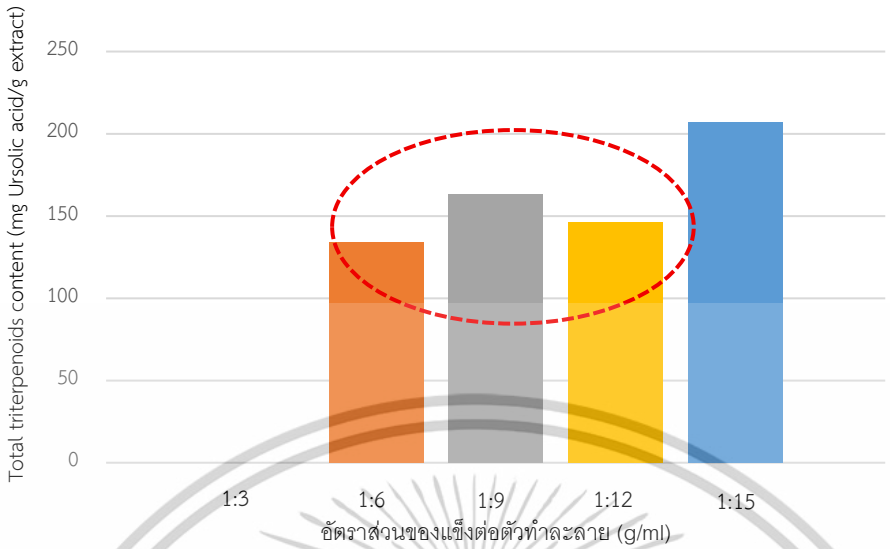


รูปที่ 4.1 ผลของเวลาในการสกัดใบบัวบกที่เวลา 30, 60, 90, 120, 150, 180 วินาทีด้วยไมโครเวฟกำลังวัตต์ 450 วัตต์ อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:9 ที่ความเข้มข้นของเอทานอล 60 เปอร์เซ็นต์ที่มีต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ (mg Ursolic acid/g extract)

4.1.1 ผลของเวลาในการสกัด

อิทธิพลของเวลาในการสกัดต่าง ๆ ที่มีผลต่อปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์แสดงดังรูปที่ 4.1 โดยทดลองที่กำลังวัตต์ไมโครเวฟ 450 วัตต์ อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:9 ความเข้มข้นของเอทานอล 60 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์ค่าสูงที่สุด หลังจาก 120 วินาทีของการสัมผัสกับรังสีไมโครเวฟ ซึ่งอาจเนื่องจากมาจากระยะเวลาการสัมผัสนี้ไปทำลายผนังเซลล์ ทำให้โมเลกุลที่ละลายน้ำได้จากภายในเซลล์ถูกปลดปล่อยออกสู่ตัวกลางโดยรอบ (Alara and Abdurahman, 2019) และไม่พบการเพิ่มขึ้นของสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์ที่ถูกสกัดออกมาได้อีก เมื่อใช้เวลาในการสกัดเกิน 120 วินาที จากผลการทดลองที่ได้จะเห็นว่าช่วงเวลาในการสกัด 90 – 150 วินาที ให้ค่าปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์แนวโน้มที่สูงขึ้น (ไม่เลือกเวลาในการสกัดช่วง 60 – 120 วินาที ไปออกแบบการทดลองด้วย Box-Behnken design เนื่องจากช่วง 60 – 120 วินาที ปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์มีปริมาณที่ผันผวน; ลดลงและเพิ่มขึ้นอย่างมาก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

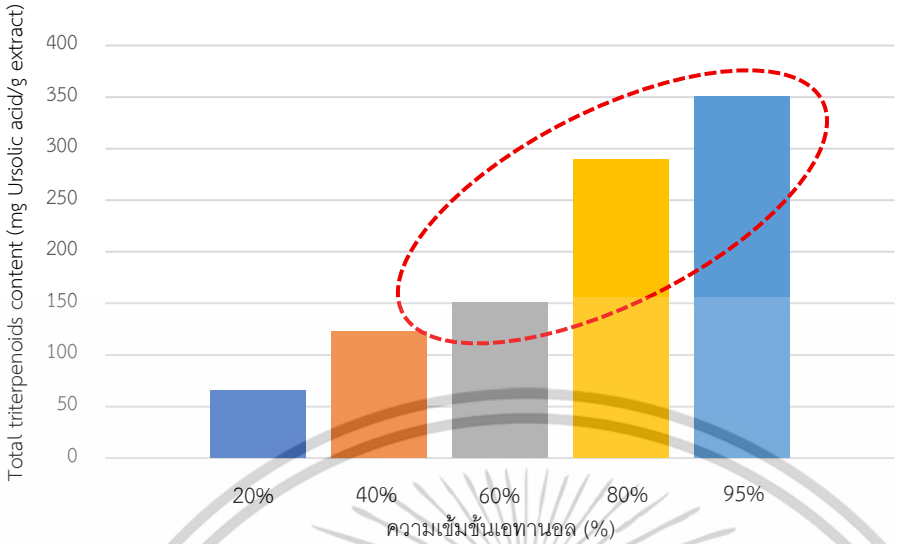


รูปที่ 4.2 ผลของอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ 1:3, 1:6, 1:9, 1:12, 1:15 g/ml ในการสกัดใบบัวบกที่เวลา 120 วินาที ด้วยไมโครเวฟกำลังวัตต์ 450 วัตต์ ที่ความเข้มข้นของเอทานอล 60 เปอร์เซ็นต์ที่มีต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ (mg Ursolic acid/g extract)

4.1.2 ผลของอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย

อิทธิพลของอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่มีผลต่อปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์ แสดงดังรูปที่ 4.2 โดยทดลองที่เวลาในการสกัด 120 วินาที ความเข้มข้นของเอทานอล 60 เปอร์เซ็นต์ กำลังวัตต์ไมโครเวฟ 450 วัตต์ ในขณะที่อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย ทดลองตั้งแต่ 1:3 – 1:15 g/ml พบว่าปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์มีค่าสูงขึ้นอย่างสม่ำเสมอเมื่อทดลองที่อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:6 – 1:12 g/ml และเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อทดลองที่อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:12 – 1:15 g/ml ซึ่งอาจเนื่องมาจากความสามารถในการละลายที่เพียงพอของสารประกอบเป้าหมายในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดซึ่งมีปริมาณมากขึ้น (Alara and Abdurahman, 2019) จากผลการทดลองที่ได้จะเห็นว่าช่วงอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ 1:6 – 1:12 g/ml เป็นสภาวะที่ให้ปริมาณไตรเทอพีนอยด์แนวโน้มที่สูงขึ้น (ไม่เลือกอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายช่วง 1:9 - 1:15 g/ml ไปออกแบบการทดลองด้วย Box-Behnken design เนื่องจากที่อัตราส่วน 1:15 g/ml มีปริมาณตัวทำละลายมาก ทำให้ใช้ระยะเวลาในการระเหยตัวทำละลายที่นาน ไม่คุ้มกับปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์ที่ได้ อีกทั้งยังอาจส่งผลต่อคุณภาพของสารสกัดที่ได้อีกด้วย)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

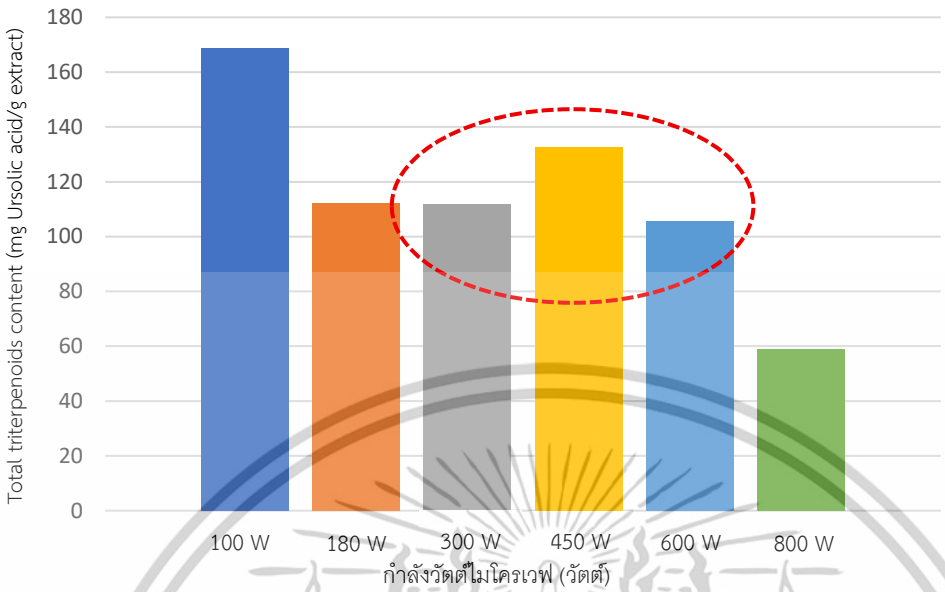


รูปที่ 4.3 ผลของความเข้มข้นเอทานอลที่ 20, 40, 60, 80 และ 95% ในการสกัดใบบัวบกที่เวลา 120 วินาที ด้วยไมโครเวฟกำลังวัตต์ 450 วัตต์ ที่อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:9 ที่มีต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ (mg Ursolic acid/g extract)

4.1.3 ผลของความเข้มข้นเอทานอล

อิทธิพลของความเข้มข้นเอทานอลต่างๆ ที่มีผลต่อปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์แสดงดังรูปที่ 4.3 โดยทดลองที่เวลาในการสกัด 120 วินาที อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:9 กำลังวัตต์ไมโครเวฟ 450 วัตต์ พบว่าปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์มีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นเอทานอลสูงขึ้น เนื่องจากการรวมกันของน้ำและเอธานอลมีแนวโน้มที่จะเพิ่มความสามารถในการละลายของกรดไตรเทอร์ปีนด้วยสภาวะความมีขั้วที่มากขึ้น (Nabet et al., 2019) และจากผลการทดลองที่ได้จะเห็นว่าช่วงความเข้มข้นของเอทานอลที่ 60 – 95 เปอร์เซ็นต์ให้ปริมาณไตรเทอพีนอยด์แนวโน้มที่สูงขึ้นมากกว่าช่วงอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 ผลของกำลังวัตต์ไมโครเวฟที่ 100, 180, 300, 450, 600 และ 800 วัตต์ในการสกัดใบบัวบกที่เวลา 120 วินาที อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:9 ความเข้มข้นของเอทานอล 60 เปอร์เซ็นต์ที่มีต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ (mg Ursolic acid/g extract)

4.1.4 ผลของกำลังวัตต์ไมโครเวฟ

อิทธิพลของกำลังวัตต์ไมโครเวฟต่างๆ ที่มีผลต่อปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์แสดงดังรูปที่ 4.4 โดยทดลองที่เวลาในการสกัด 120 วินาที อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:9 ความเข้มข้นของเอทานอล 60 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์มีแนวโน้มสูงในช่วงกำลังวัตต์ไมโครเวฟ 300 วัตต์ ถึง 600 วัตต์ เนื่องจากการเพิ่มกำลังวัตต์ไมโครเวฟช่วยปรับปรุงความสามารถในการละลายและการแพร่ของสารกลุ่มเป้าหมายออกจากเมทริกซ์ของพืช นอกจากนี้แรงดันที่สูงขึ้นภายในผนังเซลล์ยังช่วยกระตุ้นให้เกิดการระเบิดที่ปลดปล่อยสารประกอบเป้าหมายออกมา (Yingngam and Brantner, 2018) และเมื่อใช้กำลังวัตต์ไมโครเวฟเกิน 450 วัตต์ จะพบว่ามีปริมาณไตรเทอร์ปีนลดลง ซึ่งอาจเกิดจากการสลายตัวของสารกลุ่มเป้าหมายเมื่อเจอกับกำลังวัตต์ไมโครเวฟที่สูง (Bancha et al., 2020) จากผลการทดลองที่ได้จะเห็นว่าช่วงกำลังวัตต์ของไมโครเวฟ 300 – 600 วัตต์ ให้ปริมาณไตรเทอพีนอยด์แนวโน้มที่สูงขึ้น (ไม่เลือกกำลังวัตต์ไมโครเวฟช่วง 100 - 300 วัตต์ ไปออกแบบการทดลองด้วย Box-Behnken design เนื่องจากปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์มีแนวโน้มลดลง อีกทั้งที่ช่วง 180 – 300 วัตต์ ปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์มีค่าคงที่ ซึ่งแสดงว่าในช่วงนี้ กำลังวัตต์ไมโครเวฟแทบไม่มีผลต่อปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์ที่ได้)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดใบบัวบกด้วยไมโครเวฟ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดใบบัวบกด้วยไมโครเวฟ โดยทำการเลือกสภาวะของแต่ละปัจจัยที่มีแนวโน้มให้ค่าปริมาณสารกลุ่มไตรเทอพีนอยด์สูง ซึ่งได้แก่ เวลาในการสกัด 90 – 150 s, อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:6 – 1:12, ความเข้มข้นเอทานอล 60 – 95 % และกำลังวัตต์ไมโครเวฟ 300 – 600 W ไปออกแบบการทดลองด้วย Box-Behnken design (BBD และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (RSM) โดยปัจจัยหลักในการศึกษา ได้แก่ A:กำลังไมโครเวฟ (W), B:เวลาในการสกัด (s), C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย, D:ความเข้มข้นของเอทานอล (เปอร์เซ็นต์ v/v) โดยผลการศึกษาแสดงดังต่อไปนี้

4.2.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด (Total triterpenoids content)

ตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากใบบัวบก

Run	กำลัง (Watt)	Extraction time (s)	Material-to-solvent ratio	Ethanol concentration (% v/v)	Total triterpenoids content (mg Ursolic acid/ g extract)
1	300	120	1:12	77.5	262.97
2	450	120	1:06	60	179.46
3	600	120	1:12	77.5	302.3
4	450	120	1:12	60	161.15
5	450	90	1:09	95	327.4
6	300	150	1:09	77.5	225.44
7	450	120	1:09	77.5	150.53
8	450	120	1:06	95	183.19
9	450	120	1:09	77.5	180.28
10	450	120	1:09	77.5	159.74
11	450	90	1:09	60	178.77
12	600	120	1:06	77.5	207.39
13	450	120	1:09	77.5	195.83
14	600	120	1:09	95	289
15	600	150	1:09	77.5	265.56
16	450	150	1:12	77.5	317.9
17	450	120	1:12	95	336.63
18	450	90	1:06	77.5	171.82
19	450	150	1:09	95	318.73
20	300	120	1:09	95	282.94

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

21	450	90	1:12	77.5	279.66
22	450	150	1:06	77.5	245.19
23	600	120	1:09	60	170.62
24	300	120	1:06	77.5	189.6
25	450	120	1:09	77.5	200.98
26	450	150	1:09	60	188.44
27	300	90	1:09	77.5	289.5
28	300	120	1:09	60	262.91
29	600	90	1:09	77.5	216.23

จากตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากใบบัวบก พบว่าสภาวะที่ให้ค่าปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด ได้แก่ Run 17: กำลังวัตต์ไมโครเวฟ 450 วัตต์ เวลาในการสกัด 120 วินาที อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:12 ความเข้มข้นของเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด 336.63 mg Ursolic acid /g extract รองลงมา ได้แก่ Run 5: กำลังวัตต์ไมโครเวฟ 450 วัตต์ เวลาในการสกัด 90 วินาที อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:09 ความเข้มข้นของเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และ Run 19: กำลังวัตต์ไมโครเวฟ 450 วัตต์ เวลาในการสกัด 150 วินาที อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:09 ความเข้มข้นของเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ให้ค่าปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด 327.4 mg Ursolic acid /g extract และ 318.73 mg Ursolic acid /g extract ตามลำดับ

4.2.1.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด

ตารางที่ 4.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด

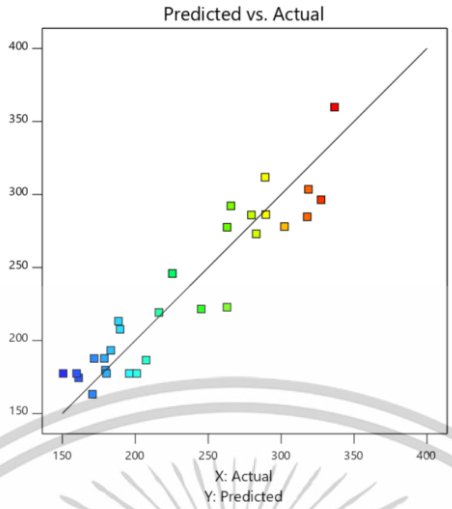
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	84709.88	14	6050.71	7.31	0.0003	significant
A-กำลังไมโครเวฟ (W)	323.03	1	323.03	0.3900	0.5423	
B-เวลาในการสกัด (s)	798.37	1	798.37	0.9640	0.3429	
C-อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL)	19518.11	1	19518.11	23.57	0.0003	
D-ความเข้มข้นของเอทานอล (%, v/v)	29655.00	1	29655.00	35.81	< 0.0001	
AB	3214.32	1	3214.32	3.88	0.0689	
AC	115.99	1	115.99	0.1401	0.7138	
AD	2418.18	1	2418.18	2.92	0.1096	
BC	308.53	1	308.53	0.3725	0.5514	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BD	84.09	1	84.09	0.1015	0.7547	
CD	7374.52	1	7374.52	8.90	0.0099	
A^2	9344.23	1	9344.23	11.28	0.0047	
B^2	13415.27	1	13415.27	16.20	0.0013	
C^2	3155.13	1	3155.13	3.81	0.0713	
D^2	4835.14	1	4835.14	5.84	0.0299	
Residual	11595.14	14	828.22			
Lack of Fit	9657.32	10	965.73	1.99	0.2643	not significant
Pure Error	1937.82	4	484.46			
Cor Total	96305.03	28				
Std. Dev.	28.78		**R^2**	0.8796		
Mean	232.42		**Adjusted R^2**	0.7592		
C.V. %	12.38		**Predicted R^2**	0.3910		
			Adeq Precision	9.4971		

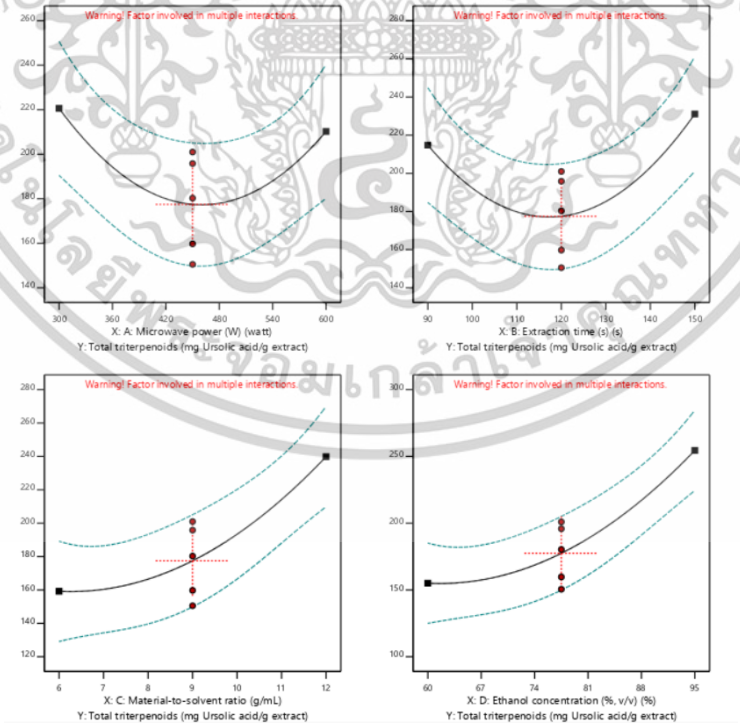
การวิเคราะห์สัมประสิทธิ์การถดถอยของแต่ละปัจจัยเป็นการทดสอบว่าปัจจัยแต่ละปัจจัยในแบบจำลองทางคณิตศาสตร์มีอิทธิพลหรือไม่ต่อค่าตอบสนอง ด้วยการเปรียบเทียบค่า P-value ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ดังแสดงในตารางที่ 4.2 พบว่าพจน์เชิงเส้นของปัจจัยหลักคือ อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (C) และความเข้มข้นของเอทานอล (D) มีอิทธิพลต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่พจน์กำลังสองของอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (C^2) เป็นพจน์กำลังสองพจน์เดียว ซึ่งพบว่า แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และพจน์อิทธิพลร่วมระหว่างอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายกับความเข้มข้นเอทานอล (CD) เป็นพจน์อิทธิพลร่วมพจน์เดียว ซึ่งมีอิทธิพลต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากการทำนายกับค่าจริงที่ได้จากการทดลองของปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด

ค่าสัมประสิทธิ์ในการตัดสินใจ (coefficient of determination, R^2) มีค่าเท่ากับ 0.8796 และค่า R^2-adj มีค่าเท่ากับ 0.7592 ที่เข้าใกล้ 1 ดังแสดงในรูปที่ 4.5 แสดงค่าที่ได้จากแบบจำลองมีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงสามารถนำมาใช้ในการทำนายปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากสมุนไพรใบบัวบกสูงสุดได้



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

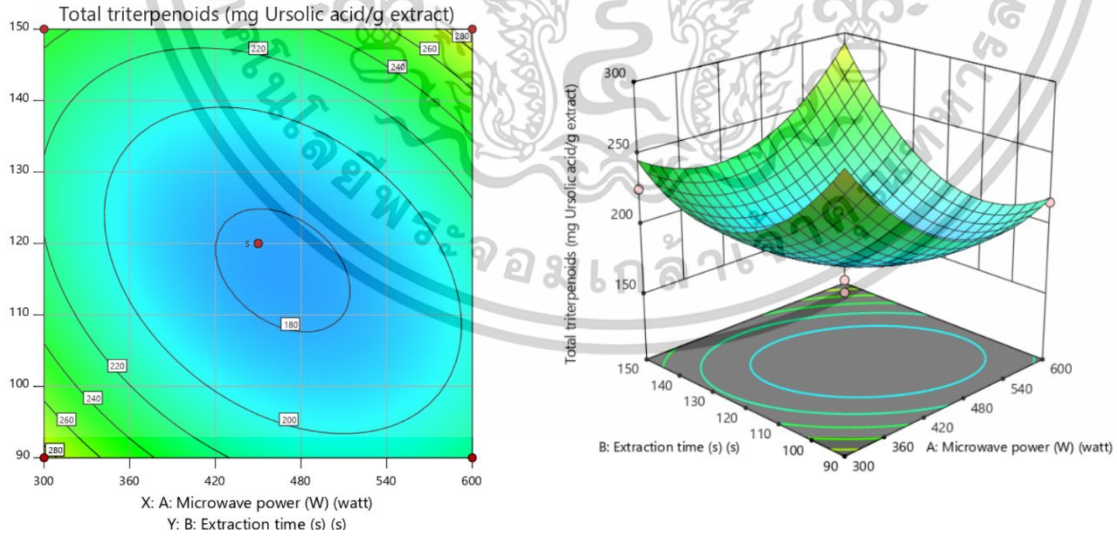
จากรูปที่ 4.6 (A) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของกำลังวัตต์ไมโครเวฟต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด จะเห็นว่า เมื่อกำลังวัตต์ไมโครเวฟสูงขึ้นอาจมีผลทำให้ปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รูปที่ 4.6 (B) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด จะเห็นว่า เมื่อเวลาในการสกัดสูงขึ้นอาจมีผลทำให้ปริมาณไตรเทอพีนอยด์ต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รูปที่ 4.6 (C) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด จะเห็นว่า เมื่ออัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายสูงขึ้นอาจมีผลทำให้ปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รูปที่ 4.6 (D) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของความเข้มข้นของเอทานอลต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด จะเห็นว่า เมื่อความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้นอาจมีผลทำให้ปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.2.1.2 การออกแบบพื้นผิวตอบสนองต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง สามารถทำนายปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดใบบัวบกที่สภาวะต่างๆ โดยมีปัจจัยหลักคือ A:กำลังไมโครเวฟ (W), B:เวลาในการสกัด (s), C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย, D:ความเข้มข้นของเอทานอล (เปอร์เซ็นต์ v/v)

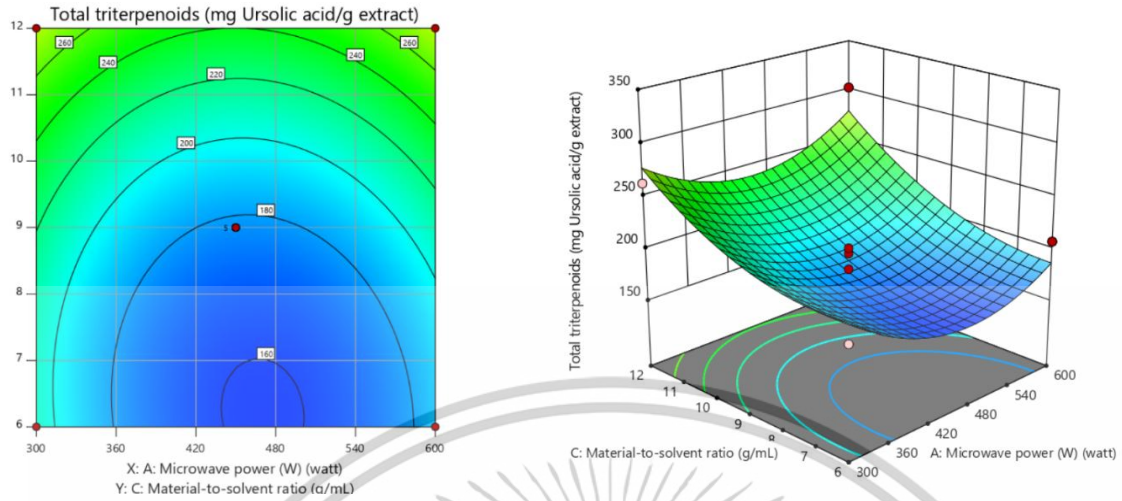
แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ดังแสดงสมการที่ (1)

ปริมาณ Total triterpenoids content = $177.47 + 40.33C + 49.71D + 42.94CD + 37.95A^2 + 45.48B^2 + 27.3D^2$ (1)

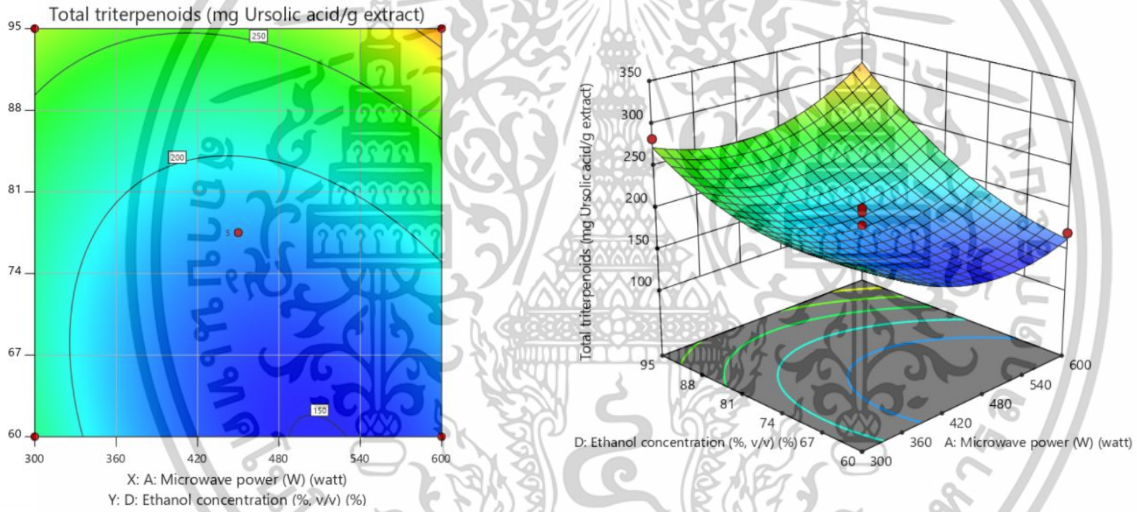


(a) พื้นผิวตอบสนองของ A:กำลังไมโครเวฟ (W) และ B:เวลาในการสกัด (s)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

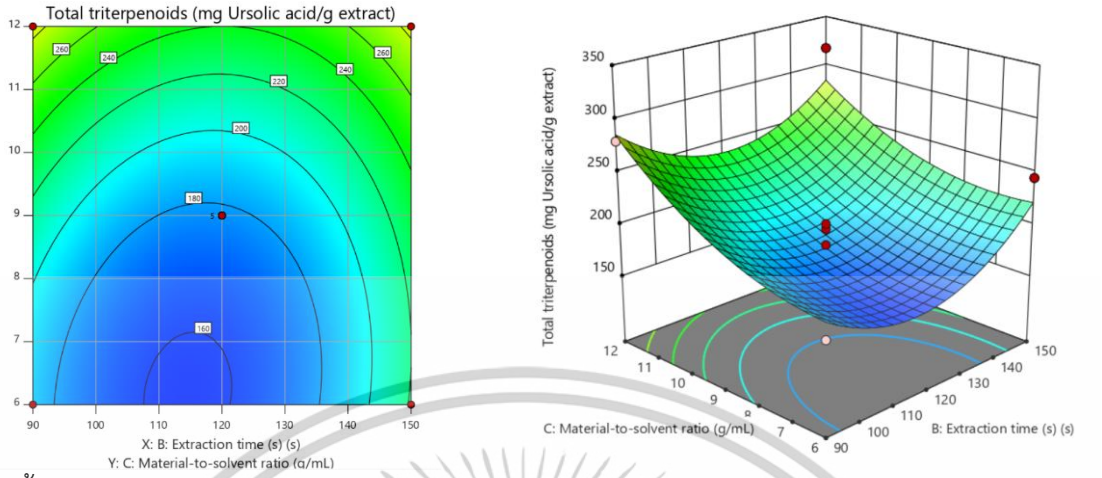


(b) พื้นผิวตอบสนองของ A:กำลังไมโครเวฟ (W) และ C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL)

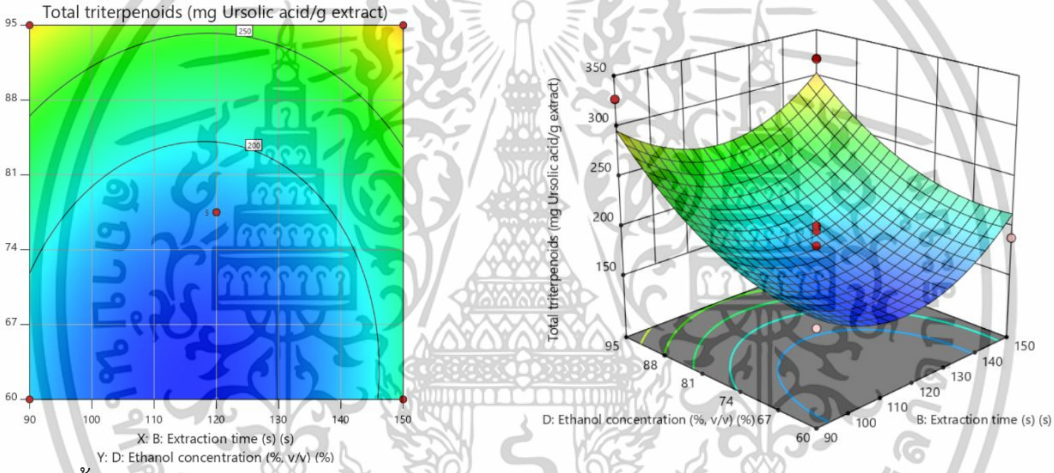


(c) พื้นผิวตอบสนองของ A:กำลังไมโครเวฟ (W) และ D:ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v)

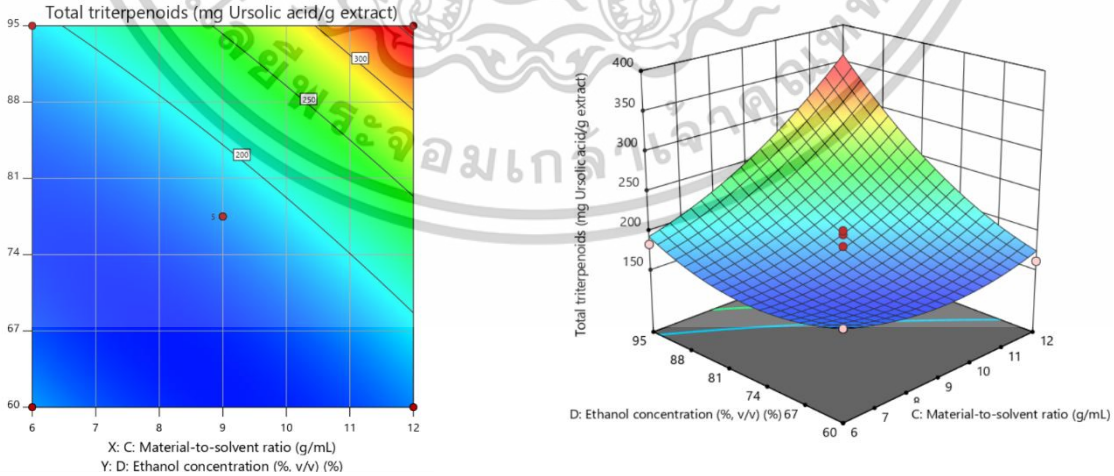
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(d) พื้นผิวตอบสนองของ B:เวลาในการสกัด (s) และ C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL)



(e) พื้นผิวตอบสนองของ B:เวลาในการสกัด (s)และ D:ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v)



(f) พื้นผิวตอบสนองของ C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL) และ D:ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.7 แสดงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดในรูปแบบ 2 มิติ (ซ้าย) และรูปแบบ 3 มิติ (ขวา)

รูปที่ 4.7 (a) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ กำลังไมโครเวฟ และเวลาในการสกัด พบว่าปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้กำลังไมโครเวฟในการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการสกัดที่กำลังไมโครเวฟสูง อุณหภูมิก็จะมีค่าสูง ส่งผลให้ไตรเทอพีนอยด์เสื่อมสภาพทางความร้อน จึงทำให้ปริมาณลดลง (วราภรณ์และมานพ, 2556) และมีแนวโน้มจะเพิ่มขึ้นเมื่อทำการสกัดโดยใช้เวลาในการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก ซึ่งอาจเนื่องมาจากระยะเวลาการสัมผัสนี้ไปทำลายผนังเซลล์ ทำให้โมเลกุลที่ละลายน้ำได้จากภายในเซลล์ถูกปลดปล่อยออกสู่ตัวกลางโดยรอบ (Alara and Abdurahman, 2019) โดยพบว่าปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดมีปริมาณสูงที่ช่วงกำลังไมโครเวฟ 540 - 600 วัตต์ และเวลาในการสกัด 140 - 150 วินาที

รูปที่ 4.7 (b) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ กำลังไมโครเวฟ และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย พบว่าปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้กำลังไมโครเวฟในการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ และมีแนวโน้มจะเพิ่มขึ้นเมื่อทำการสกัดโดยใช้อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก โดยพบว่าปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดมีปริมาณสูงที่ช่วงกำลังไมโครเวฟ 300 - 360 วัตต์ และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:11 – 1:12

รูปที่ 4.7 (c) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ กำลังไมโครเวฟ และความเข้มข้นของเอทานอล พบว่าปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้กำลังไมโครเวฟในการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ และมีแนวโน้มจะเพิ่มขึ้นเมื่อทำการสกัดโดยใช้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก โดยพบว่าปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดมีปริมาณสูงที่ช่วงกำลังไมโครเวฟ 540 - 600 วัตต์ และความเข้มข้นของเอทานอล 88 - 95 %

รูปที่ 4.7 (d) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ เวลาในการสกัด และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย พบว่าปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อใช้เวลาในการสกัดสูงขึ้นและใช้อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก โดยพบว่าปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดมีปริมาณสูงที่ช่วงเวลาในการสกัด 140 – 150 วินาที และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:11 – 1:12

รูปที่ 4.7 (e) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ เวลาในการสกัด และความเข้มข้นของเอทานอล พบว่าปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อใช้เวลาในการสกัดสูงขึ้นและใช้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก โดยพบว่าปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดมีปริมาณสูงที่ช่วงเวลาในการสกัด 140 – 150 วินาที และความเข้มข้นของเอทานอล 88 - 95 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.7 (f) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย และความเข้มข้นของเอทานอล พบว่าปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อใช้อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก ซึ่งอาจเนื่องมาจากความสามารถในการละลายที่เพียงพอของสารประกอบเป้าหมายในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดซึ่งมีปริมาณมากขึ้น (Alara and Abdurahman, 2019) และเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก โดยอาจเกิดจากการรวมกันของน้ำและเอทานอลมีแนวโน้มที่จะเพิ่มความสามารถในการละลายของกรดไตรเทอร์ปีนด้วยสภาวะความมีขั้วที่มากขึ้น (Nabet et al., 2019) โดยพบว่าปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดมีปริมาณสูงที่ช่วงอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:11 – 1:12 และความเข้มข้นของเอทานอล 88 - 95 %

การทำนายสภาวะที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยในการสกัดใบบัวบกด้วยไมโครเวฟ ที่ให้ปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมดสูงสุด (ค่าการตอบสนองสูงสุด) ด้วยฟังก์ชั่น response optimizer คือ กำลังไมโครเวฟ 596.47 W เวลาในการสกัด 110.96 วินาที อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:11 ความเข้มข้นของเอทานอล 94.72 % v/v ให้ปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด 372.39 mg Ursolic acid/g extract

4.2.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดของสารสกัดจากใบบัวบก

Run	กำลัง (Watt)	เวลาในการสกัด (s)	ของแข็ง:ตัวทำละลาย	ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v)	ปริมาณฟีโนลิก (mg GAE/g extract)
1	300	120	1:12	77.5	67.2
2	450	120	1:06	60	71.25
3	600	120	1:12	77.5	72.21
4	450	120	1:12	60	75.85
5	450	90	1:09	95	57.87
6	300	150	1:09	77.5	67.78
7	450	120	1:09	77.5	63.41
8	450	120	1:06	95	55.91
9	450	120	1:09	77.5	63.26
10	450	120	1:09	77.5	55.3
11	450	90	1:09	60	60.25
12	600	120	1:06	77.5	58.31
13	450	120	1:09	77.5	54.5
14	600	120	1:09	95	46.78
15	600	150	1:09	77.5	59.27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

16	450	150	1:12	77.5	68.38
17	450	120	1:12	95	68.14
18	450	90	1:06	77.5	55.27
19	450	150	1:09	95	48.54
20	300	120	1:09	95	73.88
21	450	90	1:12	77.5	72.22
22	450	150	1:06	77.5	46.35
23	600	120	1:09	60	94.43
24	300	120	1:06	77.5	65.19
25	450	120	1:09	77.5	54.19
26	450	150	1:09	60	66.32
27	300	90	1:09	77.5	65.44
28	300	120	1:09	60	67.89
29	600	90	1:09	77.5	72.25

จากตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดของสารสกัดจากใบบัวบก พบว่า สภาวะที่ให้ค่าปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดสูงที่สุด ได้แก่ Run 23: กำลังวัตต์ไมโครเวฟ 600 วัตต์ เวลาในการสกัด 120 วินาที อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:09 ความเข้มข้นของเอทานอล 60 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด 94.43 mg GAE/g extract รองลงมา ได้แก่ Run 4: กำลังวัตต์ไมโครเวฟ 450 วัตต์ เวลาในการสกัด 120 วินาที อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:12 ความเข้มข้นของเอทานอล 60 เปอร์เซ็นต์ และ Run 20: กำลังวัตต์ไมโครเวฟ 300 วัตต์ เวลาในการสกัด 120 วินาที อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:09 ความเข้มข้นของเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ให้ค่าปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด 75.85 mg GAE/g extract และ 73.88 mg GAE/g extract ตามลำดับ

4.2.2.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด

ตารางที่ 4.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	2496.05	14	178.29	6.85	0.0005	significant
A-กำลังไมโครเวฟ (W)	1.42	1	1.42	0.0546	0.8186	

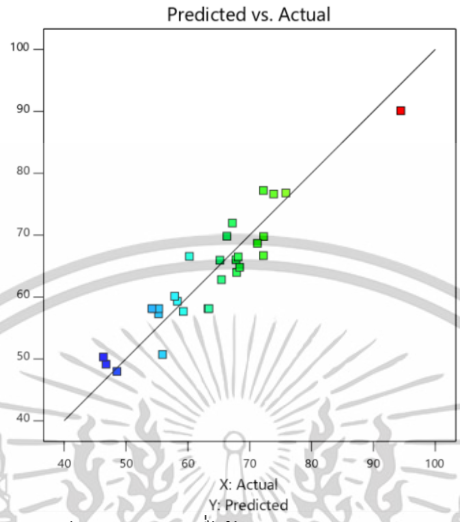
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

B-เวลาในการสกัด (s)	59.23	1	59.23	2.28	0.1536	
C-อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL)	428.65	1	428.65	16.48	0.0012	
D-ความเข้มข้นของเอทานอล (%, v/v)	600.24	1	600.24	23.07	0.0003	
AB	58.68	1	58.68	2.26	0.1554	
AC	35.34	1	35.34	1.36	0.2633	
AD	719.31	1	719.31	27.65	0.0001	
BC	6.45	1	6.45	0.2480	0.6262	
BD	59.29	1	59.29	2.28	0.1534	
CD	14.55	1	14.55	0.5595	0.4669	
A^2	354.10	1	354.10	13.61	0.0024	
B^2	13.59	1	13.59	0.5226	0.4817	
C^2	62.13	1	62.13	2.39	0.1446	
D^2	128.37	1	128.37	4.93	0.0433	
Residual	364.20	14	26.01			
Lack of Fit	273.30	10	27.33	1.20	0.4651	not significant
Pure Error	90.90	4	22.73			
Cor Total	2860.25	28				
Std. Dev.	5.10		**R^2**	0.8727		
Mean	63.71		**Adjusted R^2**	0.7453		
C.V. %	8.01		**Predicted R^2**	0.4000		
			Adeq Precision	11.4821		

การวิเคราะห์สัมประสิทธิ์การถดถอยของแต่ละปัจจัยเป็นการทดสอบว่าปัจจัยแต่ละปัจจัยในแบบจำลองทางคณิตศาสตร์มีอิทธิพลหรือไม่ต่อค่าตอบสนอง ด้วยการเปรียบเทียบค่า P-value ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ดังแสดงในตารางที่ 4.4 พบว่าพจน์เชิงเส้นของปัจจัยหลักคือ อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (C) และความเข้มข้นของเอทานอล (D) มีอิทธิพลต่อปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่พจน์กำลังสองของกำลังไมโครเวฟ (A^2) และพจน์กำลังสองของความเข้มข้นของเอทานอล (D^2) มีอิทธิพลต่อปริมาณฟีโนลิก

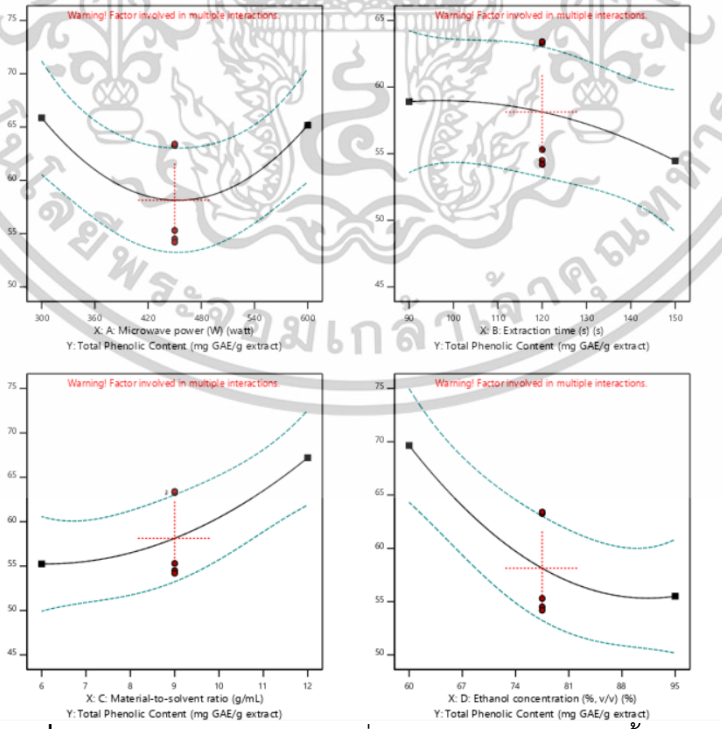
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และพจน์อิทธิพลร่วมระหว่างกำลังไมโครเวฟกับความเข้มข้นเอทานอล (AD) เป็นพจน์อิทธิพลร่วมพจน์เดียว ซึ่งมีอิทธิพลต่อปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากการทำนายกับค่าจริงที่ได้จากการทดลองของปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด

ค่าสัมประสิทธิ์ในการตัดสินใจ (coefficient of determination, R^2) มีค่าเท่ากับ 0.8727 และค่า R^2-adj มีค่าเท่ากับ 0.7453 ที่เข้าใกล้ 1 ดังแสดงในรูปที่ 4.8 แสดงค่าที่ได้จากแบบจำลองมีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงสามารถนำมาใช้ในการทำนายปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดของสารสกัดจากสมุนไพรใบบัวบกสูงสุดได้



รูปที่ 4.9 กราฟแสดงปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

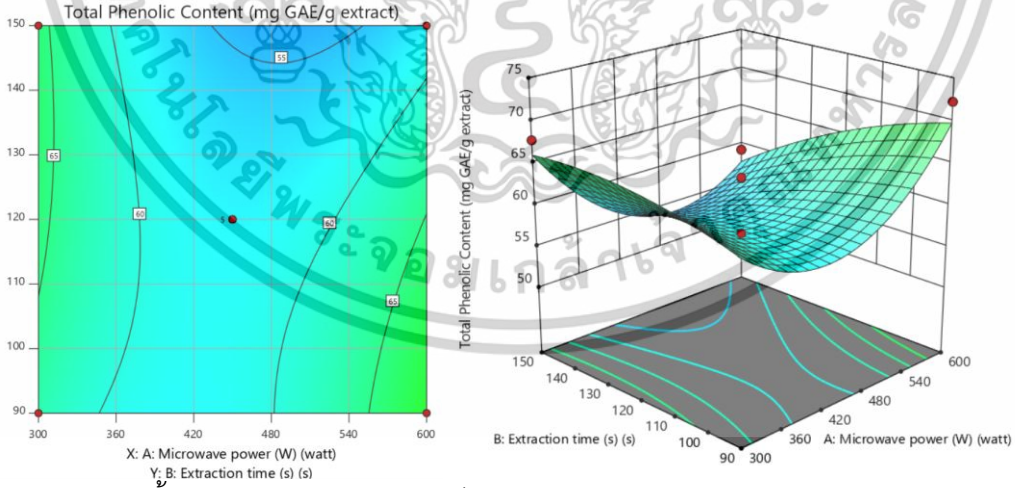
จากรูปที่ 4.9 (A) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของกำลังวัตต์ไมโครเวฟต่อปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด จะเห็นว่า เมื่อกำลังวัตต์ไมโครเวฟสูงขึ้นอาจมีผลทำให้ปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รูปที่ 4.9 (B) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด จะเห็นว่า เมื่อเวลาในการสกัดสูงขึ้นอาจมีผลทำให้ปริมาณฟีโนลิกต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รูปที่ 4.9 (C) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายต่อปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด จะเห็นว่า เมื่ออัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายสูงขึ้นอาจมีผลทำให้ปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รูปที่ 4.9 (D) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของความเข้มข้นของเอทานอลต่อปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด จะเห็นว่าเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้นอาจมีผลทำให้ปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.2.2.2 การออกแบบพื้นผิวตอบสนองต่อปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง สามารถทำนายปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดของสารสกัดใบบัวบกที่สภาวะต่างๆ โดยมีปัจจัยหลักคือ A:กำลังไมโครเวฟ (W), B:เวลาในการสกัด (s), C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย, D: ความเข้มข้นของเอทานอล (เปอร์เซ็นต์ v/v)

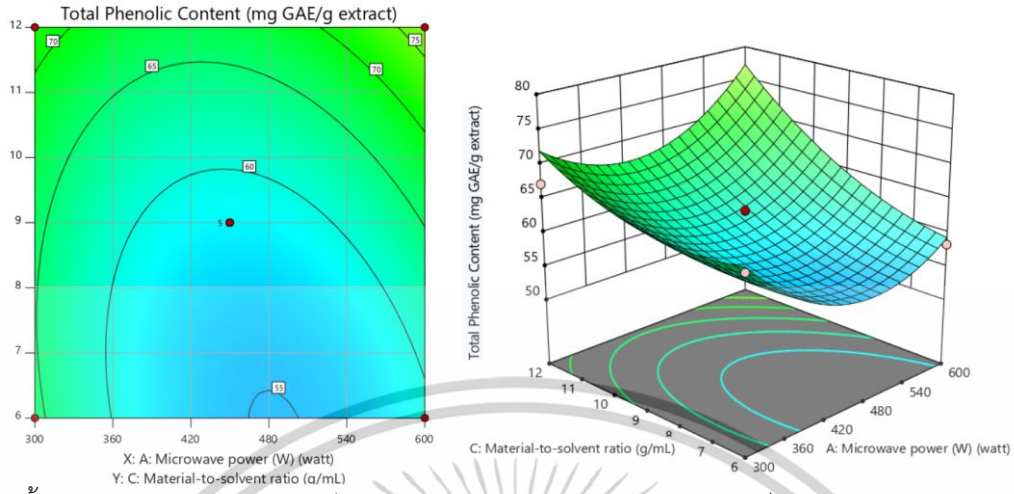
จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ดังแสดงสมการ (2)

ปริมาณของฟีโนลิก = $58.13 + 5.98C - 7.07D - 13.41AD + 7.39A^2 + 4.45D^2$ (2)

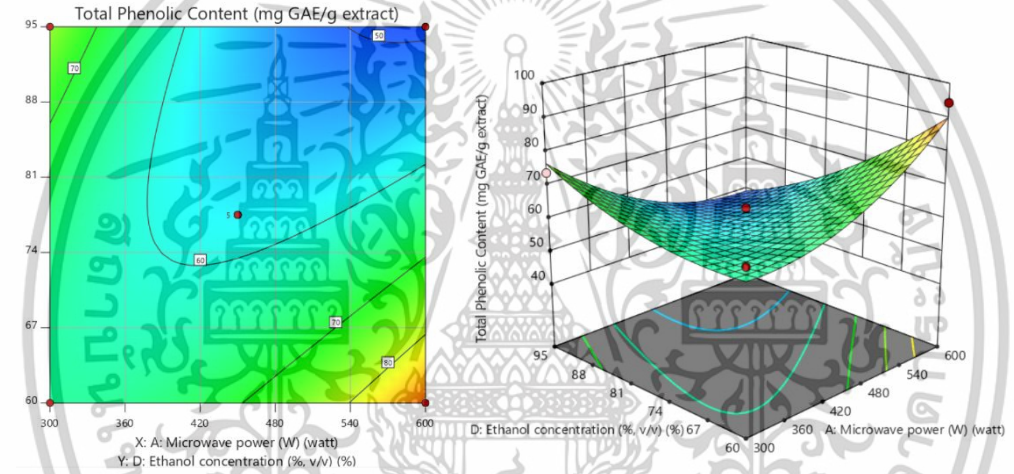


(a) พื้นผิวตอบสนองของ A:กำลังไมโครเวฟ (W) และ B:เวลาในการสกัด (s)

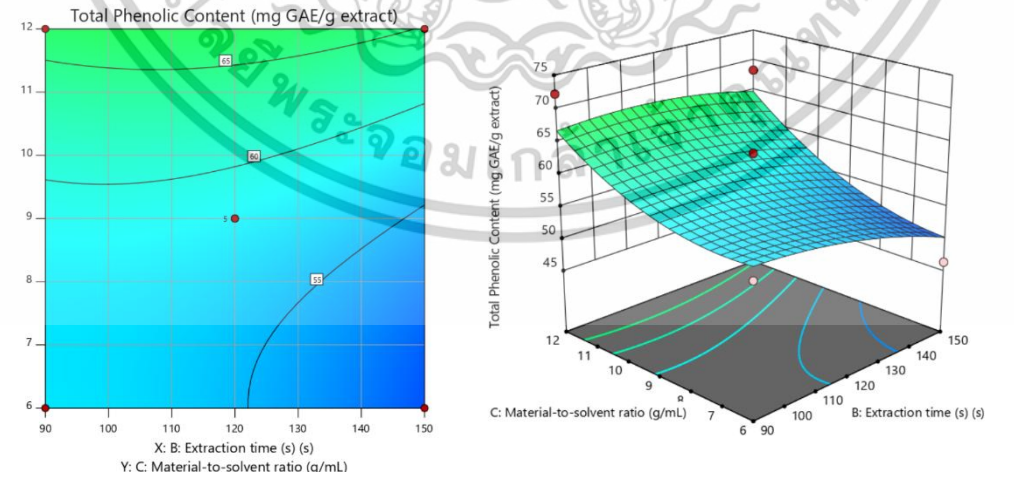
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(b) พื้นผิวตอบสนองของ A:กำลังไมโครเวฟ (W) และ C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL)

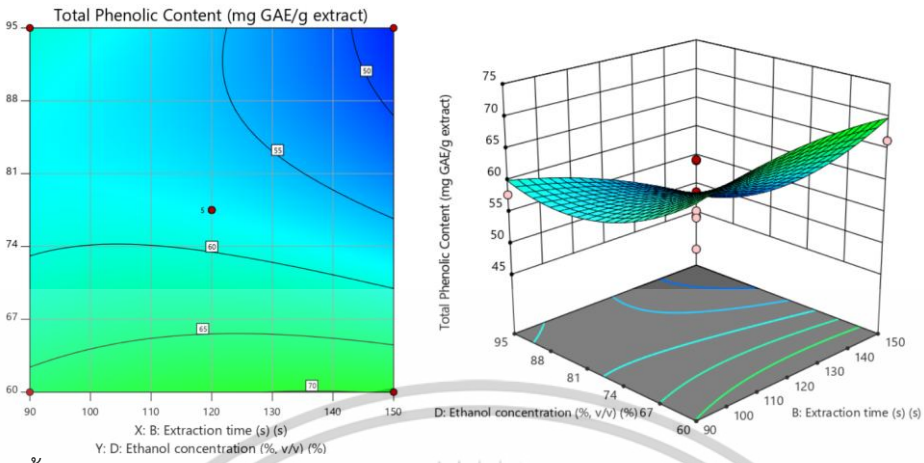


(c) พื้นผิวตอบสนองของ A:กำลังไมโครเวฟ (W) และ D:ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v)

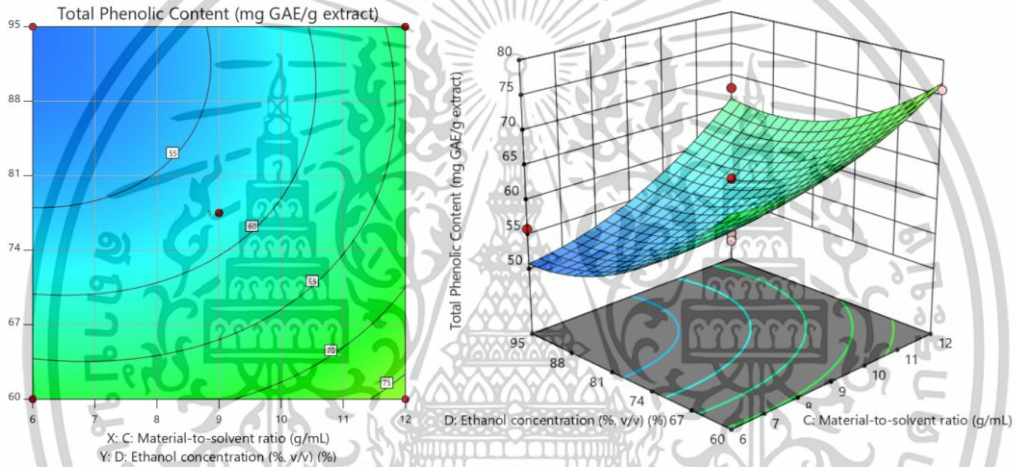


(d) พื้นผิวตอบสนองของ B:เวลาในการสกัด (s) และ C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(e) พื้นผิวตอบสนองของ B:เวลาในการสกัด (s) และ D:ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v)



(f) พื้นผิวตอบสนองของ C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL) และ D:ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v)

รูปที่ 4.10 แสดงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดในรูปแบบ 2 มิติ (ซ้าย) และรูปแบบ 3 มิติ (ขวา)

รูปที่ 4.10 (a) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ กำลังไมโครเวฟ และเวลาในการสกัด พบว่าปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้กำลังไมโครเวฟและเวลาในการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ โดยพบว่าปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดมีปริมาณสูงที่ช่วงกำลังไมโครเวฟ 540 - 600 วัตต์ และเวลาในการสกัด 90 - 100 วินาที ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ อาทิตย์และคณะ (2565) ที่ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเฉาก๊วยโดยการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ ซึ่งศึกษาพบว่าการใช้กำลังไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เมื่อคลื่นไมโครเวฟเข้าไปในสารละลาย โมเลกุลในสารละลายที่มีทั้งโมเลกุลประจุบวกและประจุลบ จะถูกเหนี่ยวนำและหมุนขั้วเพื่อจัดเรียงตัวในสนามไฟฟ้าของคลื่น และทำให้คลื่นเกิดการเปลี่ยนแปลงสลับไปมา ส่งผลต่อโมเลกุลน้ำให้เกิดการหมุนไปมาเกิดความร้อนขึ้นอย่างฉับพลัน แต่ในขณะเดียวกันการใช้กำลังไมโครเวฟที่สูงจะทำให้สารละลายเกิดความร้อนจากภายในโมเลกุล ด้วยเหตุนี้กำลังไมโครเวฟจึงส่งผลให้สารสกัดมีปริมาณสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลง เนื่องจากถูกทำลายด้วยความร้อน ทำให้การเสื่อมสภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของผลผลิตและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Koonchanok และคณะ (2012) ที่ศึกษาพบว่า สภาวะที่เหมาะสมของการใช้การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ ในการสกัดใบผักบุ้งสด (Ipomoea aquatic var. aquatic) คือ ใช้อัตราส่วนตัวอย่างต่อสารสกัดเท่ากับ 1:5 ใช้กำลังไฟของไมโครเวฟ 850 วัตต์เป็นเวลา 60 วินาที และในการศึกษานี้ได้ปรับสภาวะที่กำลังไฟสูง ให้มีระยะเวลาในการรับคลื่นไมโครเวฟน้อย และปรับให้กำลังไฟต่ำ แต่มีระยะเวลาในการสัมผัสคลื่นนานขึ้น เนื่องจากการที่ให้ความร้อนสูงเกินไปอาจส่งผลต่อกลุ่มของสารออกฤทธิ์โดยเฉพาะสารที่เสื่อมสภาพเมื่อได้รับความร้อนสูงหรือนานเกินไป (Tatke and Y. Jaiswal, 2011)

รูปที่ 4.10 (b) แสดงพื้นผิวตอบสนองของกำลังไมโครเวฟ และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย พบว่าปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้กำลังไมโครเวฟในการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ และมีแนวโน้มจะเพิ่มขึ้นเมื่อทำการสกัดโดยใช้อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก โดยพบว่าปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดมีปริมาณสูงที่ช่วงกำลังไมโครเวฟ 300 - 360 วัตต์ และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:11 – 1:12 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของอาทิตย์และคณะ (2565) ที่ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเฉาก๊วย โดยการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ ซึ่งศึกษาพบว่าเมื่อใช้อัตราส่วนที่เพิ่มขึ้น จะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สูงขึ้น โดยปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมของตัวทำละลายที่ใช้ขึ้นอยู่กับขั้วของสารสำคัญ ซึ่งความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ ทำให้ขั้วของตัวทำละลาย ความสามารถในการละลายสารสกัด และความสามารถในการถ่ายเทมวลสารแตกต่างกัน ทั้งนี้เมื่อตัวทำละลายมากจะส่งผลทำให้การสกัดสารฟีนอลิกเพิ่มมากขึ้น สอดคล้องกับงานของ Katsuwan (2018) ที่ศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดน้ำมันจากเมล็ดมะละกอด้วยไมโครเวฟ ซึ่งพบว่าการใช้อัตราส่วนเมล็ดมะละกอต่อตัวทำละลายที่ต่ำให้ปริมาณผลผลิตน้ำมันเมล็ดมะละกอที่สูงกว่าการใช้อัตราส่วนที่สูงและช่วยให้การสกัดมีประสิทธิภาพและสิ้นเปลืองพลังงานน้อย

รูปที่ 4.10 (c) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ กำลังไมโครเวฟ และความเข้มข้นของเอทานอล พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้กำลังไมโครเวฟและความเข้มข้นของเอทานอลในการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ โดยพบว่าปริมาณฟีโนลิคทั้งหมดมีปริมาณสูงที่ช่วงกำลังไมโครเวฟ 540 - 600 วัตต์ และความเข้มข้นของเอทานอล 60 - 67 %

รูปที่ 4.10 (d) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ เวลาในการสกัด และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย พบว่าปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้เวลาในการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ และมีแนวโน้มจะเพิ่มขึ้นเมื่อทำการสกัดโดยใช้อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก โดยพบว่าปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดมีปริมาณสูงที่ช่วงเวลาในการสกัด 100 – 120 วินาที และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:11 – 1:12

รูปที่ 4.10 (e) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ เวลาในการสกัด และความเข้มข้นของเอทานอล พบว่าปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้เวลาในการสกัดสูงขึ้นและใช้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ โดยพบว่าปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดมีปริมาณสูงที่ช่วงเวลาในการสกัด 120 – 130 วินาที และความเข้มข้นของเอทานอล 60 - 67 %

รูปที่ 4.10 (f) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย และความเข้มข้นของเอทานอล พบว่าปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อใช้อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก และมีแนวโน้มจะลดลงเมื่อทำการสกัดโดยใช้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ โดยพบว่าปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดมีปริมาณสูงที่ช่วงอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:11 – 1: 12 และความเข้มข้นของเอทานอล 60 - 67 %

การทำนายสภาวะที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยในการสกัดใบบัวบกด้วยไมโครเวฟ ที่ให้ได้ปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดสูงสุด (ค่าการตอบสนองสูงสุด) ด้วยฟังก์ชั่น response optimizer คือ กำลังไมโครเวฟ 597.07 W เวลาในการสกัด 116.70 วินาที อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:11 ความเข้มข้นของเอทานอล 61.28 % v/v ให้ปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด 93.73 mg GAE/g extract

4.2.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid ในสารสกัดใบบัวบก

ตารางที่ 4.5 ค่าปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid ในสารสกัดใบบัวบก

Run	กำลัง (Watt)	เวลาในการสกัด (s)	ของแข็ง:ตัวทำละลาย	ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v)	Asiatic acid (mg/mL)
1	300	120	1:12	77.5	76.44
2	450	120	1:06	60	85.58
3	600	120	1:12	77.5	82.625
4	450	120	1:12	60	84.19
5	450	90	1:09	95	77.6
6	300	150	1:09	77.5	90.59
7	450	120	1:09	77.5	78.92
8	450	120	1:06	95	93.3
9	450	120	1:09	77.5	94.38
10	450	120	1:09	77.5	89.87
11	450	90	1:09	60	91.04
12	600	120	1:06	77.5	95.775
13	450	120	1:09	77.5	87.245
14	600	120	1:09	95	0
15	600	150	1:09	77.5	58.16
16	450	150	1:12	77.5	80.21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

17	450	120	1:12	95	76.62
18	450	90	1:06	77.5	87.185
19	450	150	1:09	95	80.195
20	300	120	1:09	95	70.16
21	450	90	1:12	77.5	83.345
22	450	150	1:06	77.5	98.095
23	600	120	1:09	60	98.525
24	300	120	1:06	77.5	81.28
25	450	120	1:09	77.5	82.32
26	450	150	1:09	60	74.73
27	300	90	1:09	77.5	0
28	300	120	1:09	60	0
29	600	90	1:09	77.5	84.835

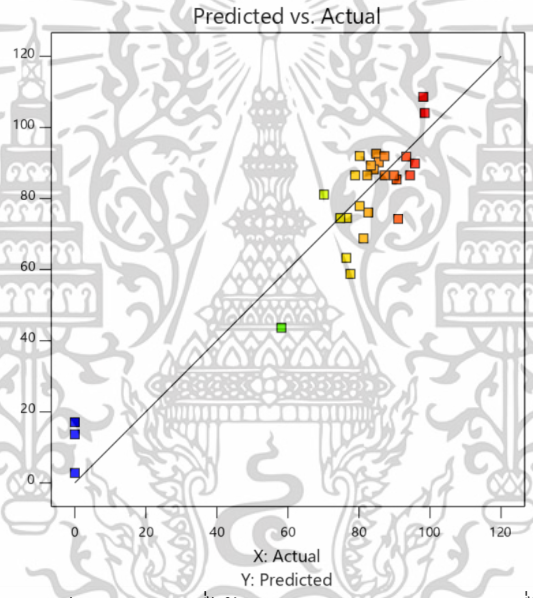
4.2.3.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid ในสารสกัดใบบัวบก

ตารางที่ 4.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid ในสารสกัดใบบัวบก

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	18541.23	14	1324.37	7.47	0.0003	significant
A-กำลังไมโครเวฟ (W)	857.68	1	857.68	4.84	0.0451	
B-เวลาในการสกัด (s)	280.09	1	280.09	1.58	0.2294	
C-อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL)	278.26	1	278.26	1.57	0.2308	
D-ความเข้มข้นของเอทานอล (%, v/v)	109.14	1	109.14	0.6156	0.4458	
AB	3437.77	1	3437.77	19.39	0.0006	
AC	17.26	1	17.26	0.0974	0.7596	
AD	7113.66	1	7113.66	40.12	< 0.0001	
BC	49.32	1	49.32	0.2782	0.6062	
BD	89.35	1	89.35	0.5040	0.4894	
CD	58.45	1	58.45	0.3297	0.5750	
A^2	3708.69	1	3708.69	20.92	0.0004	
B^2	56.91	1	56.91	0.3210	0.5800	
C^2	914.00	1	914.00	5.16	0.0395	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

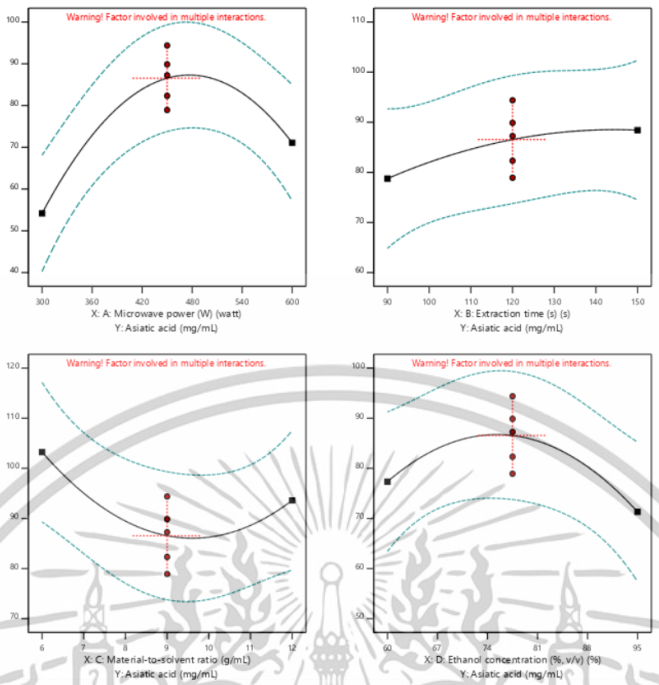
D^2	968.25	1	968.25	5.46	0.0348	
Residual	2482.15	14	177.30			
Lack of Fit	2333.22	10	233.32	6.27	0.0459	significant
Pure Error	148.92	4	37.23			
Cor Total	21023.37	28				
Std. Dev.	13.32		**R^2**	0.8819		
Mean	75.28		**Adjusted R^2**	0.7639		
C.V. %	17.69		**Predicted R^2**	0.3497		
Std. Dev.	13.32		**R^2**	0.8819		



รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากการทำนายกับค่าจริงที่ได้จากการทดลองของปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid ในสารสกัดใบบัวบก

ค่าสัมประสิทธิ์ในการตัดสินใจ (coefficient of determination, R^2) มีค่าเท่ากับ 0.8819 และค่า R^2-adj มีค่าเท่ากับ 0.7639 ที่เข้าใกล้ 1 ดังแสดงในรูปที่ 4.11 แสดงค่าที่ได้จากแบบจำลองมีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงสามารถนำมาใช้ในการทำนายปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid ของสารสกัดจากสมุนไพรใบบัวบกสูงสุดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 กราฟแสดงปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid

จากรูปที่ 4.12 แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของกำลังวัตต์ไมโครเวฟต่อปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid จะเห็นว่า เมื่อกำลังวัตต์ไมโครเวฟสูงขึ้นอาจมีผลทำให้ปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รูปที่ 4.12 แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid จะเห็นว่า เมื่อเวลาในการสกัดสูงขึ้นอาจมีผลทำให้ปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รูปที่ 4.12 (C) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายต่อปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid จะเห็นว่า เมื่ออัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายสูงขึ้นอาจมีผลทำให้ปริมาณสารสำคัญ Asiatic acidต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รูปที่ 4.12 (D) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของความเข้มข้นของเอทานอลต่อปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid จะเห็นว่า เมื่อความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้นอาจมีผลทำให้ปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid ต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

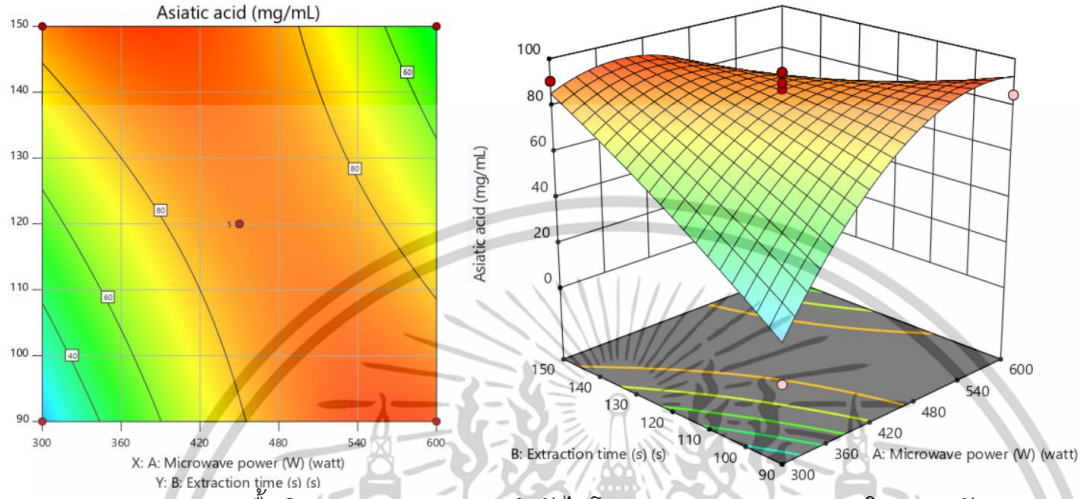
4.2.3.2 การออกแบบพื้นผิวตอบสนองต่อปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid

จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง สามารถทำนายปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid ของสารสกัดใบบัวบกที่สภาวะต่างๆ โดยมีปัจจัยหลักคือ A:กำลังไมโครเวฟ (W), B:เวลาในการสกัด (s), C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย, D:ความเข้มข้นของเอทานอล (เปอร์เซ็นต์ v/v)

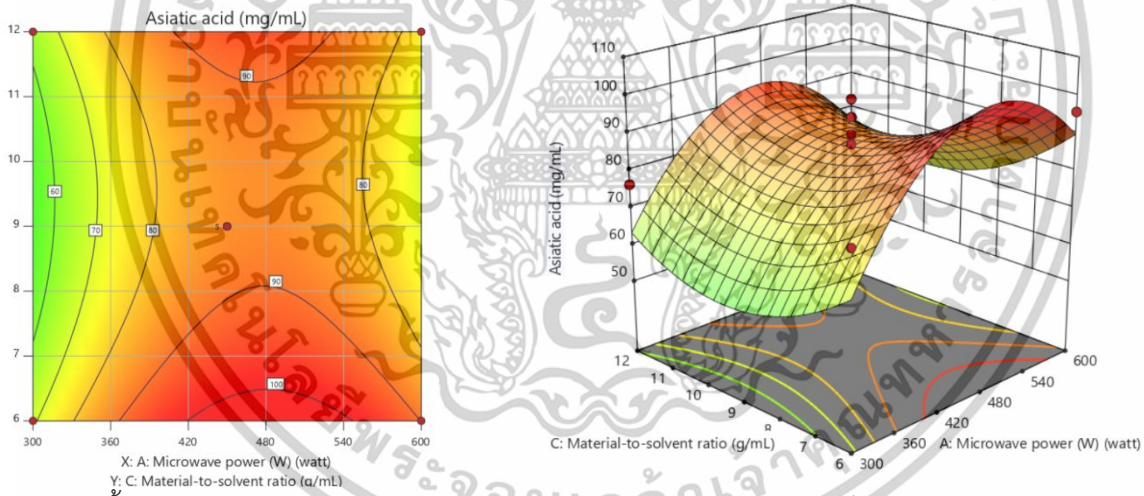
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ดังแสดงสมการ (3)

ปริมาณ Asiatic acid (mg/mL) = 86.55 + 8.45A - 29.32AB - 42.17AD - 23.91A^2 + 11.87C^2 - 12.22D^2 (3)

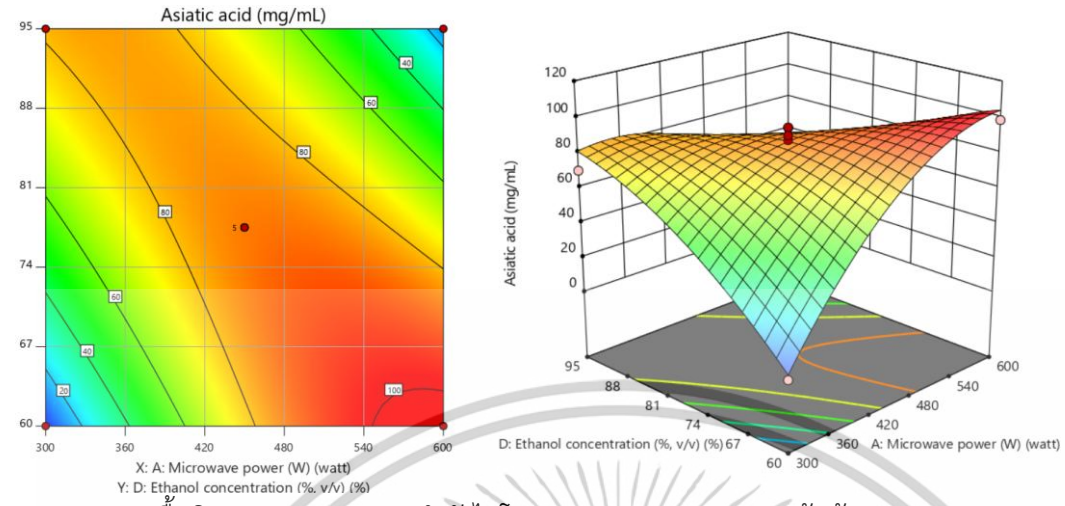


(a) พื้นผิวตอบสนองของ A:กำลังไมโครเวฟ (W) และ B:เวลาในการสกัด (s)

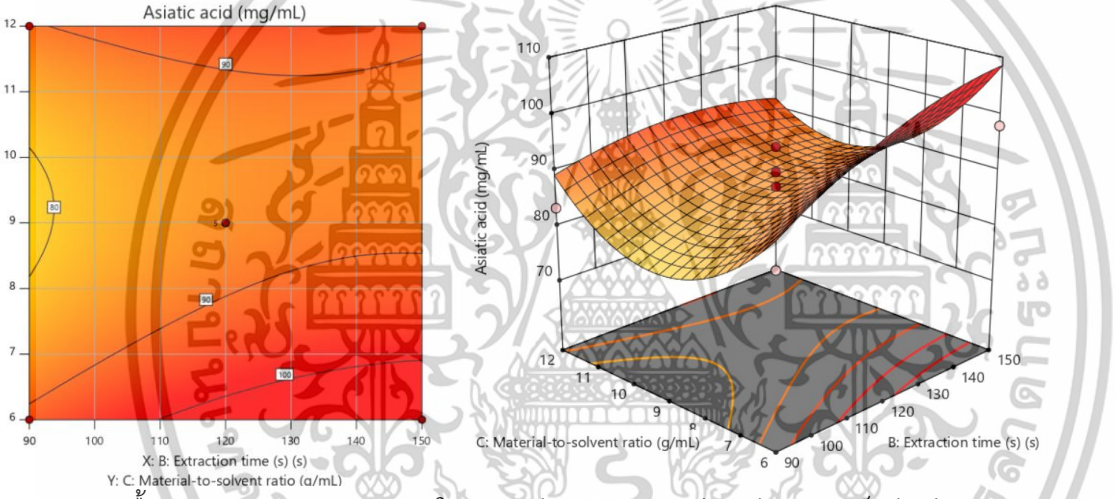


(b) พื้นผิวตอบสนองของ A:กำลังไมโครเวฟ (W) และ C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL)

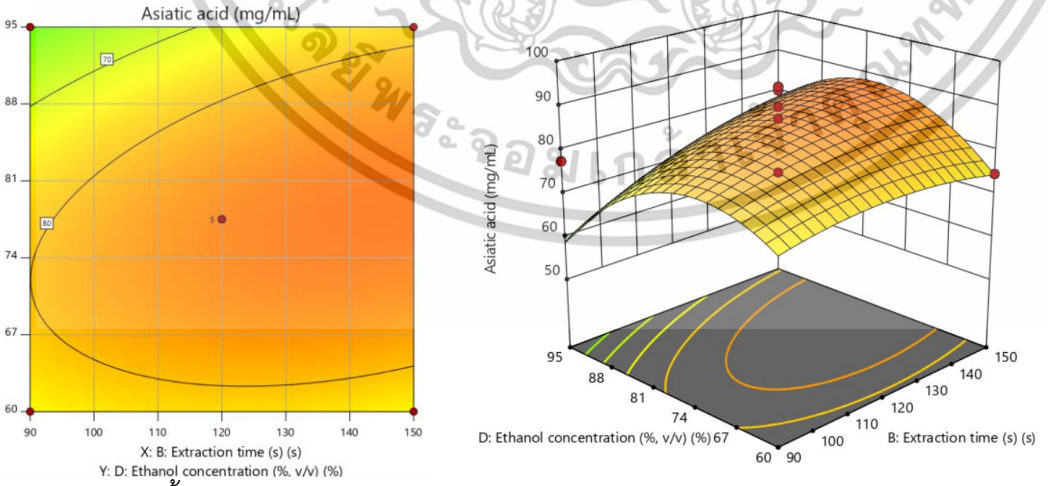
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(c) พื้นผิวตอบสนองของ A:กำลังไมโครเวฟ (W) และ D:ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v)

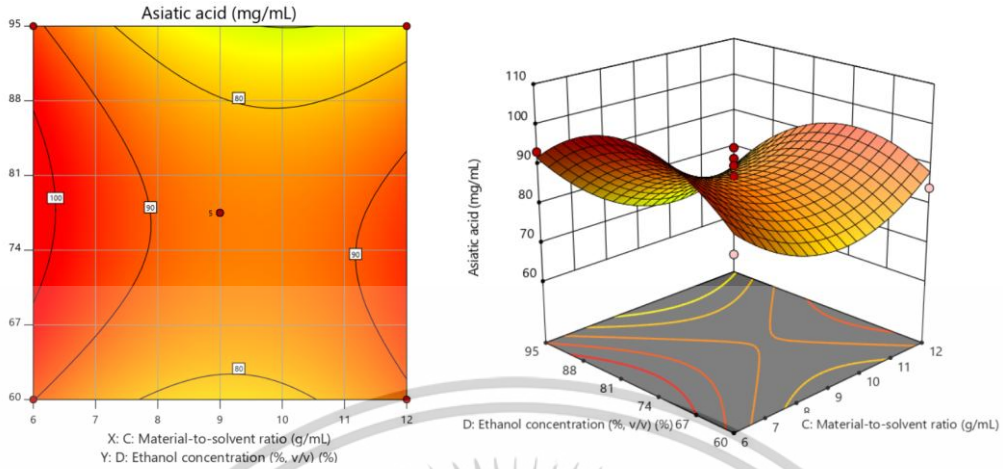


(d) พื้นผิวตอบสนองของ B:เวลาในการสกัด (s) และ C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL)



(e) พื้นผิวตอบสนองของ B:เวลาในการสกัด (s) และ D:ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(f) พื้นผิวตอบสนองของ C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL) และ D:ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v)

รูปที่ 4.13 แสดงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญ Asiatic acidในรูปแบบ 2 มิติ (ซ้าย) และรูปแบบ 3 มิติ (ขวา)

รูปที่ 4.13 (a) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ กำลังไมโครเวฟ และเวลาในการสกัด พบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid จะมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อใช้กำลังไมโครเวฟและเวลาในการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก โดยพบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid มีปริมาณสูงที่ช่วงกำลังไมโครเวฟ 360 – 480 W และเวลาในการสกัด 140 – 150 วินาที กับ ช่วงกำลังไมโครเวฟ 480 – 600 W และเวลาในการสกัด 90 – 100 วินาที

รูปที่ 4.13 (b) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ กำลังไมโครเวฟ และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย พบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid จะมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อใช้กำลังไมโครเวฟสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก และมีแนวโน้มจะลดลงเมื่อทำการสกัดโดยใช้อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ โดยพบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid มีปริมาณสูงที่ช่วงกำลังไมโครเวฟ 420 – 540 W และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:06 – 1:07

รูปที่ 4.13 (c) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ กำลังไมโครเวฟ และความเข้มข้นของเอทานอล พบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid จะมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อใช้กำลังไมโครเวฟสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก และมีแนวโน้มจะลดลงเมื่อทำการสกัดโดยใช้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ โดยพบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid มีปริมาณสูงที่ช่วงกำลังไมโครเวฟ 540 – 600 W และความเข้มข้นของเอทานอล 60 – 67 %

รูปที่ 4.13 (d) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ เวลาในการสกัด และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย พบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid จะมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อใช้เวลาในการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก และมีแนวโน้มจะลดลงเมื่อทำการสกัดโดยใช้อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ โดยพบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid มีปริมาณสูงที่ช่วงเวลาในการสกัด 140 – 150 วินาที และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:6 – 1:7

รูปที่ 4.13 (e) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ เวลาในการสกัด และความเข้มข้นของเอทานอล พบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid จะมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อใช้เวลาในการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก และมีแนวโน้มจะลดลงเมื่อทำการสกัดโดยใช้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ โดยพบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid มีปริมาณสูงที่ช่วงเวลาในการสกัด 120 – 150 วินาที และความเข้มข้นของเอทานอล 67 – 88 %

รูปที่ 4.13 (f) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย และความเข้มข้นของเอทานอล พบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย และความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ โดยพบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid มีปริมาณสูงที่ช่วงอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:6 -1:7 และความเข้มข้นของเอทานอล 74 – 81 %

การทำนายสภาวะที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยในการสกัดสมุนไพรใบบัวบกด้วยไมโครเวฟที่ให้ปริมาณ Asiatic acid สูงสุด (ค่าการตอบสนองสูงสุด) ด้วยฟังก์ชั่น response optimizer คือที่กำลังไมโครเวฟ 344.31 W เวลาในการสกัด 139.523 วินาที อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:7 ความเข้มข้นของเอทานอล 86.0441 % v/v ให้ปริมาณ Asiatic acid 105.953 mg/mL

4.2.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside ในสารสกัดใบบัวบก

ตารางที่ 4.7 ค่าปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside ในสารสกัดใบบัวบก

Run	กำลัง (Watt)	เวลาในการสกัด (s)	ของแข็ง:ตัวทำละลาย	ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v)	ปริมาณ Asiaticoside (mg/mL)
1	300	120	1:12	77.5	22.555
2	450	120	1:06	60	22.95
3	600	120	1:12	77.5	21.36
4	450	120	1:12	60	9.295
5	450	90	1:09	95	13.355
6	300	150	1:09	77.5	6.85
7	450	120	1:09	77.5	5.525
8	450	120	1:06	95	13.965
9	450	120	1:09	77.5	13.58
10	450	120	1:09	77.5	5.485
11	450	90	1:09	60	6.235

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12	600	120	1:06	77.5	11.15
13	450	120	1:09	77.5	12.445
14	600	120	1:09	95	15.56
15	600	150	1:09	77.5	3.525
16	450	150	1:12	77.5	12.6
17	450	120	1:12	95	29.45
18	450	90	1:06	77.5	0
19	450	150	1:09	95	12.75
20	300	120	1:09	95	11.97
21	450	90	1:12	77.5	10.34
22	450	150	1:06	77.5	4.115
23	600	120	1:09	60	0
24	300	120	1:06	77.5	16.27
25	450	120	1:09	77.5	9.615
26	450	150	1:09	60	0
27	300	90	1:09	77.5	0
28	300	120	1:09	60	9.295
29	600	90	1:09	77.5	9.915

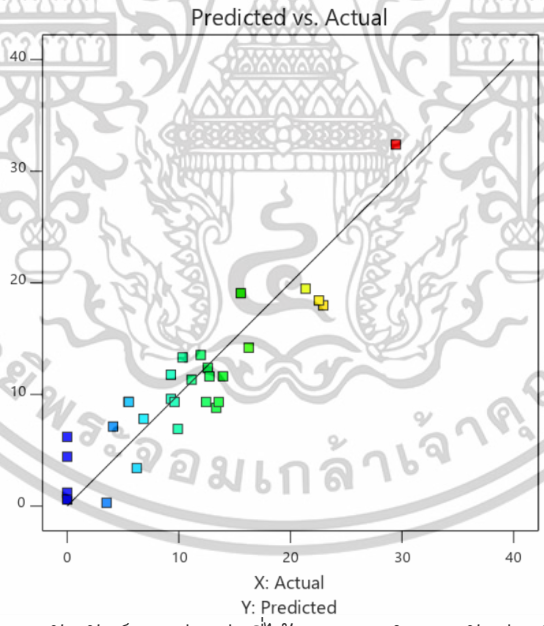
4.2.4.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside

ตารางที่ 4.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	1226.55	14	87.61	4.54	0.0038	significant
A-กำลังไมโครเวฟ (W)	2.46	1	2.46	0.1274	0.7265	
B-เวลาในการสกัด (s)	2.083E-06	1	2.083E-06	1.080E-07	0.9997	
C-อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL)	115.01	1	115.01	5.96	0.0285	
D-ความเข้มข้นของเอทานอล (%, v/v)	202.34	1	202.34	10.49	0.0059	
AB	43.82	1	43.82	2.27	0.1539	
AC	3.85	1	3.85	0.1997	0.6618	
AD	41.51	1	41.51	2.15	0.1645	
BC	0.8603	1	0.8603	0.0446	0.8358	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

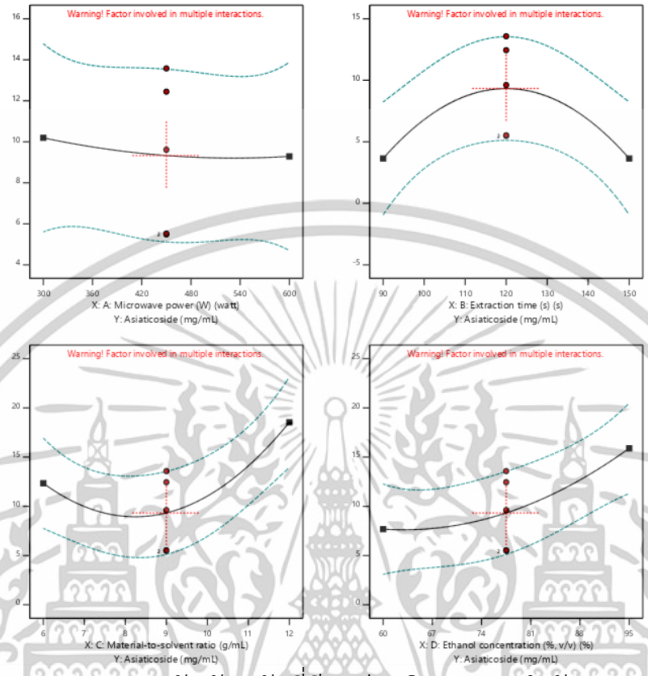
BD	7.92	1	7.92	0.4109	0.5319	
CD	212.28	1	212.28	11.01	0.0051	
A^2	1.10	1	1.10	0.0571	0.8147	
B^2	209.55	1	209.55	10.87	0.0053	
C^2	242.30	1	242.30	12.56	0.0032	
D^2	39.21	1	39.21	2.03	0.1758	
Residual	269.98	14	19.28			
Lack of Fit	212.87	10	21.29	1.49	0.3730	not significant
Pure Error	57.11	4	14.28			
Cor Total	1496.53	28				
Std. Dev.	4.39		**R^2**	0.8196		
Mean	10.69		**Adjusted R^2**	0.6392		
C.V. %	41.06		**Predicted R^2**	0.1210		
			Adeq Precision	10.1614		



รูปที่ 4.14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากการทำนายกับค่าจริงที่ได้จากการทดลองของปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าสัมประสิทธิ์ในการตัดสินใจ (coefficient of determination, R^2) มีค่าเท่ากับ 0.8196 และค่า R^2-adj มีค่าเท่ากับ 0.6392 ที่เข้าใกล้ 1 ดังแสดงในรูปที่ 4.14 แสดงค่าที่ได้จากแบบจำลองมีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงสามารถนำมาใช้ในการทำนายปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside ของสารสกัดจากสมุนไพรใบบัวบกสูงสุดได้



รูปที่ 4.15 กราฟแสดงปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside

จากรูปที่ 4.15 (A) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของกำลังวัตต์ไมโครเวฟต่อปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside จะเห็นว่า เมื่อกำลังวัตต์ไมโครเวฟสูงขึ้นอาจมีผลทำให้ปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside ต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รูปที่ 4.15 (B) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside จะเห็นว่า เมื่อเวลาในการสกัดสูงขึ้นอาจมีผลทำให้ปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รูปที่ 4.15 (C) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายต่อปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside จะเห็นว่า เมื่ออัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายสูงขึ้นอาจมีผลทำให้ปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รูปที่ 4.15 (D) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของความเข้มข้นของเอทานอลต่อปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside จะเห็นว่า เมื่อความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้นอาจมีผลทำให้ปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

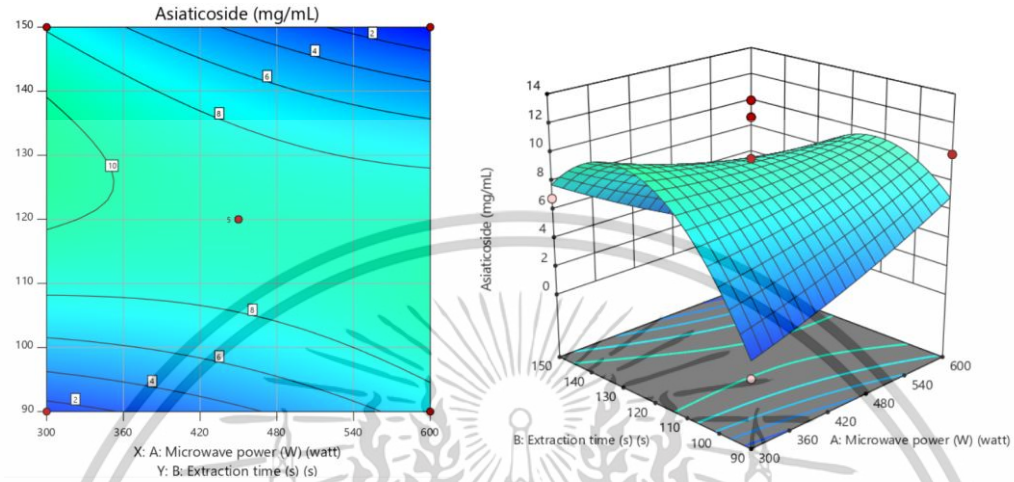
4.2.4.2 การออกแบบพื้นผิวตอบสนองต่อปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside

จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง สามารถทำนายปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside ของสารสกัดใบบัวบกที่สภาวะต่างๆ โดยมีปัจจัยหลักคือ A:กำลังไมโครเวฟ (W), B:เวลาในการสกัด (s), C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย, D:ความเข้มข้นของเอทานอล (เปอร์เซ็นต์ v/v)

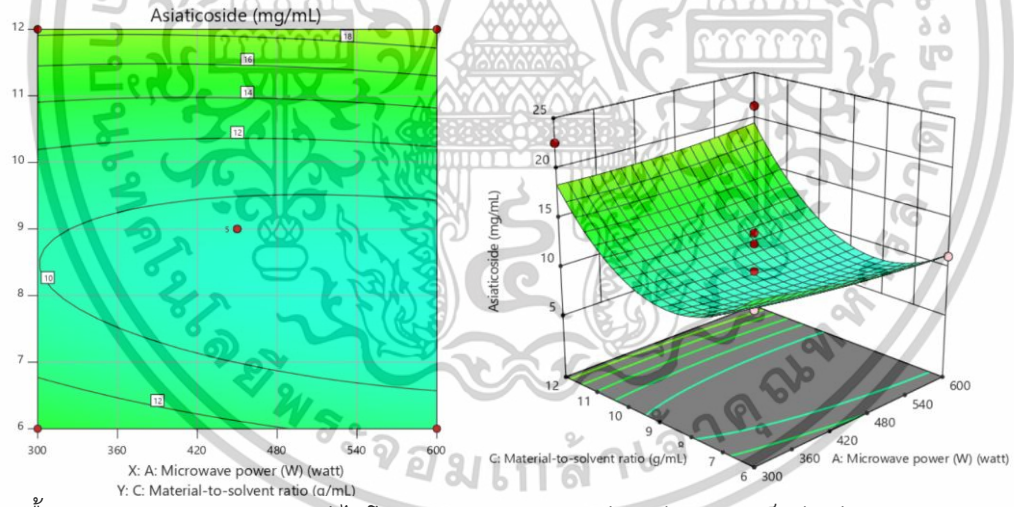
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ดังแสดงสมการ (4)

ปริมาณ Asiaticoside = $9.33 + 3.1C + 4.11D + 7.28CD - 5.68B^2 + 6.11C^2$ (4)

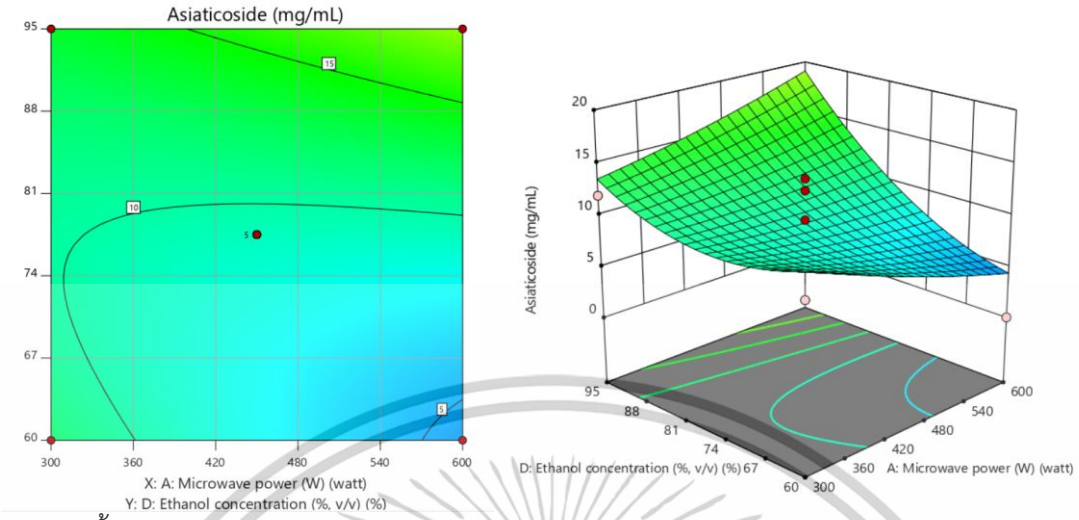


(a) พื้นผิวตอบสนองของ A:กำลังไมโครเวฟ (W) และ B:เวลาในการสกัด (s)

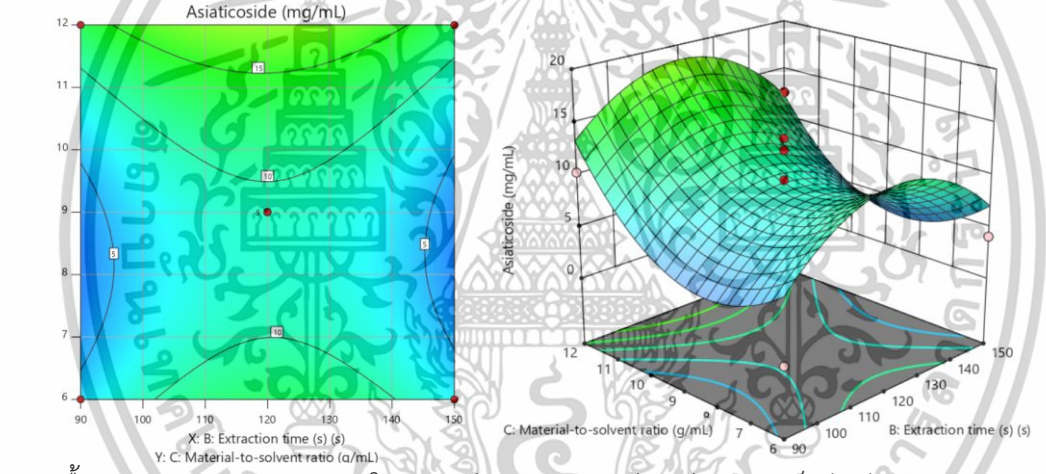


(b) พื้นผิวตอบสนองของ A:กำลังไมโครเวฟ (W) และ C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL)

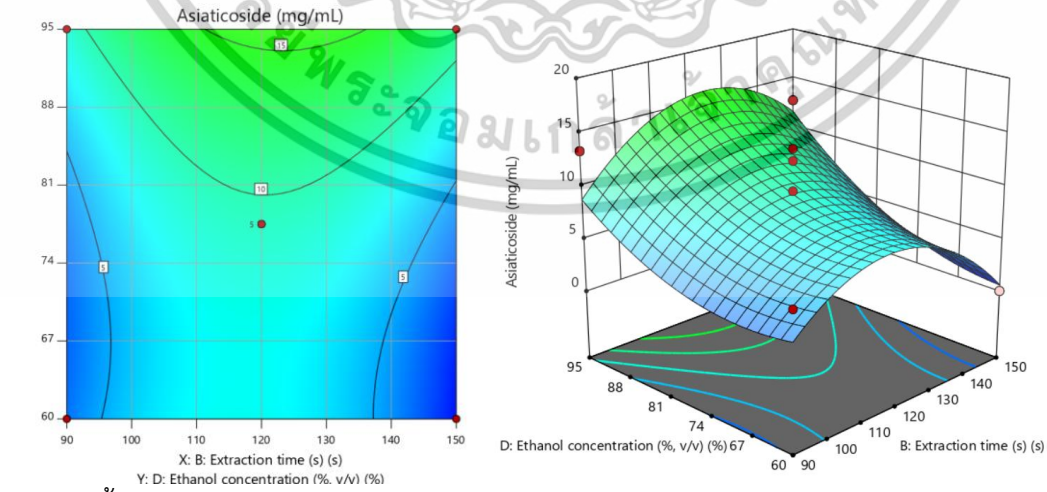
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(c) พื้นผิวตอบสนองของ A:กำลังไมโครเวฟ (W) และ D:ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v)

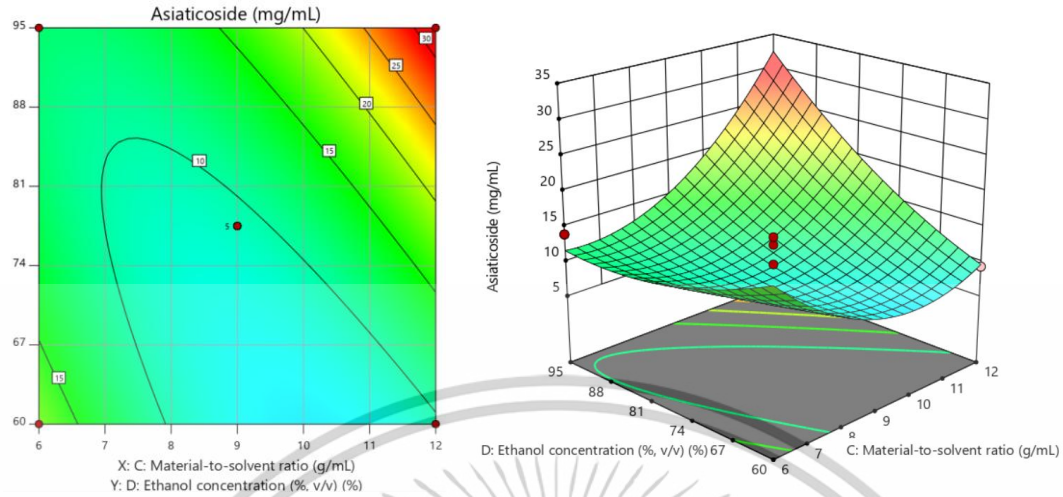


(d) พื้นผิวตอบสนองของ B:เวลาในการสกัด (s) และ C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL)



(e) พื้นผิวตอบสนองของ B:เวลาในการสกัด (s) และ D:ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(f) พื้นผิวตอบสนองของ C:อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL) และ D:ความเข้มข้นของเอทานอล (% v/v)

รูปที่ 4.16 แสดงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside ในรูปแบบ 2 มิติ (ซ้าย) และรูปแบบ 3 มิติ (ขวา)

รูปที่ 4.16 (a) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ กำลังไมโครเวฟ และเวลาในการสกัด พบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้กำลังไมโครเวฟและเวลาในการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ โดยพบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside มีปริมาณสูงที่ช่วงกำลังไมโครเวฟ 300 – 360 W และเวลาในการสกัด 120 – 140 วินาที ซึ่งเกิดจากเมื่อใช้กำลังไมโครเวฟและเวลาในการสกัดสูงขึ้น จะทำให้อุณหภูมิสูงขึ้น ส่งผลให้ปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside ลดลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ วราภรณ์และมานพ (2556) ที่ศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์สำคัญจากบัวบกโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตที่มีตัวทำละลายร่วม แล้วพบว่าปริมาณของ Asiaticoside จะมีปริมาณลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของอุณหภูมิมีค่าเป็นลบ ทั้งนี้เป็นเพราะการสกัดที่อุณหภูมิสูงส่งผลให้ Asiaticoside เสื่อมสภาพทางความร้อน จึงทำให้ปริมาณลดลง

รูปที่ 4.16 (b) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ กำลังไมโครเวฟ และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย พบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้กำลังไมโครเวฟสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ และจะมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อใช้อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก โดยพบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside มีปริมาณสูงที่ช่วงกำลังไมโครเวฟ 540 – 600 W และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:11 – 1:12

รูปที่ 4.16 (c) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ กำลังไมโครเวฟ และความเข้มข้นของเอทานอล พบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้กำลังไมโครเวฟสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ และจะมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นบวก โดยพบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside มีปริมาณสูงที่ช่วงกำลังไมโครเวฟ 540 – 600 W และความเข้มข้นของเอทานอล 88 – 95 %

รูปที่ 4.16 (d) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ เวลาในการสกัด และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย พบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้เวลาในการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ และจะมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อใช้อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก โดยพบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside มีปริมาณสูงที่ช่วงเวลาในการสกัด 110 – 130 วินาที และอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:11 – 1:12

รูปที่ 4.16 (e) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ เวลาในการสกัด และความเข้มข้นของเอทานอล พบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้เวลาในการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นลบ และจะมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก โดยพบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside มีปริมาณสูงที่ช่วงเวลาในการสกัด 120 – 130 วินาที และความเข้มข้นของเอทานอล 88 – 95 %

รูปที่ 4.16 (f) แสดงพื้นผิวตอบสนองของ อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย และความเข้มข้นของเอทานอล พบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside จะมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อใช้อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายและความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้น เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยมีค่าเป็นบวก โดยพบว่าปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside มีปริมาณสูงที่ช่วงอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:11 – 1:12 และความเข้มข้นของเอทานอล 88 – 95 % การทำนายสภาวะที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยในการสกัดใบบัวบกด้วยไมโครเวฟที่ให้ปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside สูงที่สุด (ค่าการตอบสนองสูงสุด) ด้วยฟังก์ชั่น response optimizer คือ กำลังไมโครเวฟ 342.57 W เวลาในการสกัด 130.761 วินาที อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:12 ความเข้มข้นของเอทานอล 94.1677 % v/v ให้ปริมาณ Asiaticoside 29.6864 mg/mL

จากสภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่ให้ ปริมาณฟีโนลิก (A:597.07 W, 116.70 s, 1:11, 61.28 % v/v) ปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid (B: 344.31 W, 139.52 s, 1:7, 86.0441 % v/v) ปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside (C:342.57 W, 130.761 s, 1:12, 94.1677 % v/v) และปริมาณไตรเทอปีน (D:596.47 W, 110.96 s, 1:11, 94.72 % v/v) ที่สูง สารสกัดที่ได้จากทั้ง 4 สภาวะจะถูกนำไปศึกษาความสามารถในการการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค

4.3 ผลของการใช้สารสกัดจากใบบัวบกในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค

4.3.1 การศึกษาการใช้สารสกัดจากสมุนไพรใบบัวบกในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคด้วยวิธี Disc diffusion technique

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาผลการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (Inhibition zone) ด้วยวิธี Disc diffusion technique เป็นวิธีการทดลองทางชีววิทยาที่ใช้ในการทดสอบความสามารถในการยับยั้งหรือฆ่าจุลินทรีย์โดยสารสกัดจากสมุนไพรหรือสารต่าง ๆ ซึ่งวิธีนี้มักจะใช้ในงานวิจัยทางการแพทย์ การพัฒนายา หรือการคัดเลือกสารเคมีที่มีฤทธิ์ต่อเชื้อจุลินทรีย์ โดยผลการทดลองจะแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการยับยั้งหรือฆ่าจุลินทรีย์ของสารสกัดใบบัวบกที่สกัดได้จากทั้ง 4 สภาวะและมีการวัดค่า Inhibition zone ซึ่งเป็นพื้นที่ที่จุลินทรีย์ไม่เจริญหรือบริเวณใสรอบ sterile disc เพื่อบอกถึงลักษณะการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้เชื้อ *Salmonella* Typhimurium (DMST 292), *Salmonella* Choleraesuis (DMST 8014), *Salmonella* Enteritidis (DMST 1567), *Escherichia coli* (DMST4 609), *Staphylococcus aureus* (TISTR 808), *Listeria monocytogenes* (DMST 17303), *Bacillus cereus* (ATCC 11778) และ *Candida albicans* ในการทดสอบ ดังแสดงผล clear zone ในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 การทดสอบสารสกัดจากสมุนไพรใบบัวบกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคด้วยวิธี Disc diffusion technique โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 1.5×10^8 CFU/mL

สภาวะ	*S.* Typhimurium	*S.* Enteritidis	*S.* Choleraesuis	*E. coli*	*S. aureus*	*L. monocytogenes*	*B. cereus*	*C. albicans*
A	7.50±0.00^{c}	8.25±1.06e	8.50±0.71e	10.50±0.71e	9.50±0.71e	9.25±0.35b	8.50±0.71g	7.50±0.00f
B	7.50±0.00^{c}	8.25±1.06e	7.75±0.35f	10.00±0.00e	9.50±0.71e	9.50±0.71b	10.00±0.00e	7.50±0.00f
C	7.50±0.00^{c}	7.50±0.00f	8.00±0.00e	11.50±0.71d	9.50±0.71e	9.50±0.71b	8.50±0.71g	7.50±0.00f
D	9.00±0.00^{d}	8.50±0.00e	9.00±0.00d	12.00±0.00c	10.25±1.06d	9.00±0.00b	8.50±0.71g	7.75±0.35f
S, 50%, 2 h	8.50±0.71^{e}	8.00±0.00e	8.00±0.00e	7.50±0.00g	11.00±1.41c	8.25±1.06c	7.50±0.00h	7.50±0.00
S, 95%, 2 h	7.50±0.00^{c}	7.50±0.00f	7.50±0.00f	7.50±0.00g	9.50±0.71e	7.75±0.35d	8.00±0.00g	7.50±0.00ff
C, 50%, 24 h	7.50±0.00^{c}	9.50±0.71d	9.50±0.71d	9.00±0.00f	9.00±1.41e	8.50±0.71c	10.50±0.71e	7.50±0.00f
C, 95%, 24 h	8.00±0.00^{b}	8.50±0.71e	9.00±0.00d	9.00±0.00f	9.50±0.71e	7.75±0.35d	9.00±1.41f	7.75±0.35f
C, 50%, 7 d	7.50±0.00^{c}	9.50±0.71d	11.50±0.71c	11.00±0.00d	12.00±0.00b	8.00±0.00c	12.50±0.71c	7.75±0.35f
C, 95%, 7 d	7.75±0.35^{c}	9.50±0.71d	8.00±0.00e	10.00±0.00e	8.25±1.06f	7.50±0.00d	8.50±0.71g	7.50±0.00f
Ciprofloxacin	31±0.00^{a}	30±0.00a	35±0.00a	-	-	-	-	45±0.00a
Ampicillin	-	-	-	16±0.00a	36±0.00a	29±0.00a	-	30±0.00b
Tetracyclines	-	-	-	-	-	-	27±0.00a	33±0.00c
Alcohol 60%	11±0.00^{c}	12±0.00c	11±0.00c	10±0.00e	8±0.00f	7.5±0.00d	11±0.00d	14±0.00e
Alcohol 90%	15±0.00^{b}	14±0.00b	13±0.00b	14±0.00b	9±0.00e	8±0.00c	14±0.00b	16±0.00d
1% DMSO	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : A - การสกัดด้วยไมโครเวฟที่ 600 W, 110 s, 1:11, ความเข้มข้นเอทานอล 60%

B - การสกัดด้วยไมโครเวฟที่ 350 W, 140 s, 1:7, ความเข้มข้นเอทานอล 85%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

C - การสกัดด้วยไมโครเวฟที่ 350 W, 130 s, 1:12, ความเข้มข้นเอทานอล 95%

D - การสกัดด้วยไมโครเวฟที่ 600 W, 110 s, 1:11, ความเข้มข้นเอทานอล 95%

S – การสกัดด้วยซอกห์เลต (Soxhlet); C – การสกัดแบบแช่ (Conventional method)

จากตารางที่ 4.9 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรใบบัวบก พบว่า การสกัดด้วยไมโครเวฟที่สภาวะ D:600 W, 110 s, 1:11, ความเข้มข้นเอทานอล 95% ซึ่งเป็นสภาวะที่ให้ปริมาณไตรเทอปีนสูง มีความสามารถในการเกิด clear zone ที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดี ซึ่งมีแนวโน้มพื้นที่มีปริมาณมาก เมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยไมโครเวฟที่สภาวะอื่น การสกัดแบบซอกห์เลต และการสกัดแบบแช่ โดยการสกัดด้วยไมโครเวฟที่สภาวะดีที่สุดนี้ (600 W, 110 s, 1:11, ความเข้มข้นเอทานอล 95%) มีบริเวณการยับยั้งเชื้อที่ดีที่สุดคือเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* มีบริเวณการยับยั้ง 12.00 mm. รองลงมาคือ *S. aureus, S.* Typhimurium, *S.* Choleraesuis, *L. monocytogenes, S. Enteritidis, B. cereus* และ *C. albicans* มีบริเวณยับยั้ง 10.25, 9.00, 9.00, 9.00, 8.50, 8.50 และ 7.75 mm. ตามลำดับ การสกัดใบบัวบกด้วยไมโครเวฟที่สภาวะ 600 W, 110 s, 1:11, ความเข้มข้นเอทานอล 95% สารสกัดที่ได้จะถูกนำไปศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal inhibitory concentration, MIC) และศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ดังแสดงรายละเอียดผลการทดลองข้อ 4.3.2

4.3.2 การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของสารสกัดจากใบบัวบกด้วยวิธี Broth dilution technique และการศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ด้วยวิธี Agar dilution technique

จากการศึกษาการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum inhibitory concentration; MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum bactericidal concentration; MBC) โดยวิธี Broth dilution technique เป็นการทดสอบเชิงปริมาณที่สามารถบอกค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้เพื่อใช้ยืนยันผลต่อจากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี disc diffusion สำหรับวิธีการทดสอบแบบ Broth dilution technique จะทำใน microtiter plate 96-well (รูปที่ 3.1) โดยเจือจางตัวอย่างด้วยอาหารเหลวในแบบ 2-fold serial dilution จากนั้นเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบที่ได้ปรับความขุ่นให้ใกล้เคียงกับ 0.5 McFarland Standard อ่านผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) โดยสังเกตหลุมสุดท้ายที่ใสและไม่มีตะกอนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก้นหลุม สำหรับการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) จะทำต่อจากการหาค่า MIC โดยดูดอาหารในหลุมที่ใสมาหยดลงบน agar plate แล้วบ่มในสภาวะที่เหมาะสมจากนั้นจึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อ่านผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) ซึ่งคือความเข้มข้นต่ำสุดของตัวอย่างที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ (ความเข้มข้นของตัวอย่างที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์บนผิวหน้าอาหาร)โดย ช่อง (A) *S.* Typhimurium (B) *S*. Choleraesuis (C) S. Enteritidis (D) *L. monocygenes* (E) *S. aureus* (F) *E. coli* (G) *B. cereus* และ (H) *C. albicans* โดยเรียงลำดับความเข้มข้นของสารสกัดจากความเข้มข้น 500 mg/mL ถึง 0.488 mg/mL เริ่มจากช่องที่ 2 จนถึงช่องที่ 11 ส่วนช่องที่

ตารางที่ 4.10 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดใบบัวบกจากสภาวะการสกัดด้วยไมโครเวฟที่ 600 W, 110 s, 1:11, ความเข้มข้นเอทานอล 95% ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC)

เชื้อจุลินทรีย์	MIC mg/mL	MBC mg/mL
S. Typhimurium	125	250
S. Choleraesuis	62.5	250
S. Enteritidis	62.5	250
L. monocygenes	62.5	250
S. aureus	31.25	250
E. coli	15.62	250
B. cereus	31.25	250
C. albicans	15.62	250

จากตารางที่ 4.10 ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดใบบัวบกที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) พบว่า *E. coli* และ *C. albicans* มีค่าความเข้มข้นของสารสกัดจากใบบัวบกน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เท่ากับ 15.62 mg/mL และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้เท่ากับ 250 mg/mL รองมาคือ *S.* aureus และ *B. cereus* มีค่าความเข้มข้นของสารสกัดจากสมุนไพรฝางต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เท่ากับ 31.25 mg/mL และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้เท่ากับ 250 mg/mL รองลงมาคือ *S.* Choleraesuis, *S.* Enteritidis และ *L. monocytogenes* มีค่าความเข้มข้นของสารสกัดใบบัวบกต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เท่ากับ 62.5 mg/mL และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้เท่ากับ 250 mg/mL และ *S.* Typhimurium มีค่าความเข้มข้นของสารสกัดใบบัวบกต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เท่ากับ 125 mg/mL และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้เท่ากับ 250 mg/mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การประยุกต์ใช้สารสกัดใบบัวบกร่วมกับการควบคุมสภาวะบรรจุภัณฑ์ในผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา

เนื่องจากองค์ประกอบของแผ่นแป้งโรตีประกอบด้วย แป้ง น้ำ เกลือ นวดผสมเข้าด้วยกัน แล้วทำให้สุกบนกะทะแบน ดังรูปที่ 4.17 เมื่อสุกแล้วแป้งจะถูกเก็บวางเรียงซ้อนกันแล้วบรรจุใส่บรรจุภัณฑ์เพื่อรอการจำหน่าย ดังรูปที่ 4.18 ซึ่งอุณหภูมิที่เก็บ และองค์ประกอบของแผ่นแป้งเหมาะต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เป็นอย่างมาก ทำให้อายุการเก็บรักษาของแผ่นแป้งสั้นภายในเวลา 2 วันที่เก็บ แผ่นแป้งจะเสื่อมเสียจากการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์โดยเฉพาะเชื้อยีสต์/ราซึ่งสามารถเห็นได้ชัดบนแผ่นแป้งโรตี (รูปที่ 4.19) จนผู้บริโภคไม่สามารถบริโภคได้ ซึ่งทำให้แป้งโรตีมีการสูญเสียก่อนถึงมือผู้บริโภค

รูปที่ 4.17 การทำแป้งโรตีให้สุกบนกระทะแบน

รูปที่ 4.18 แผ่นแป้งเมื่อสุกแล้วมาวางเรียงซ้อนกัน ก่อนบรรจุใส่ถุงหรือกล่องโฟม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

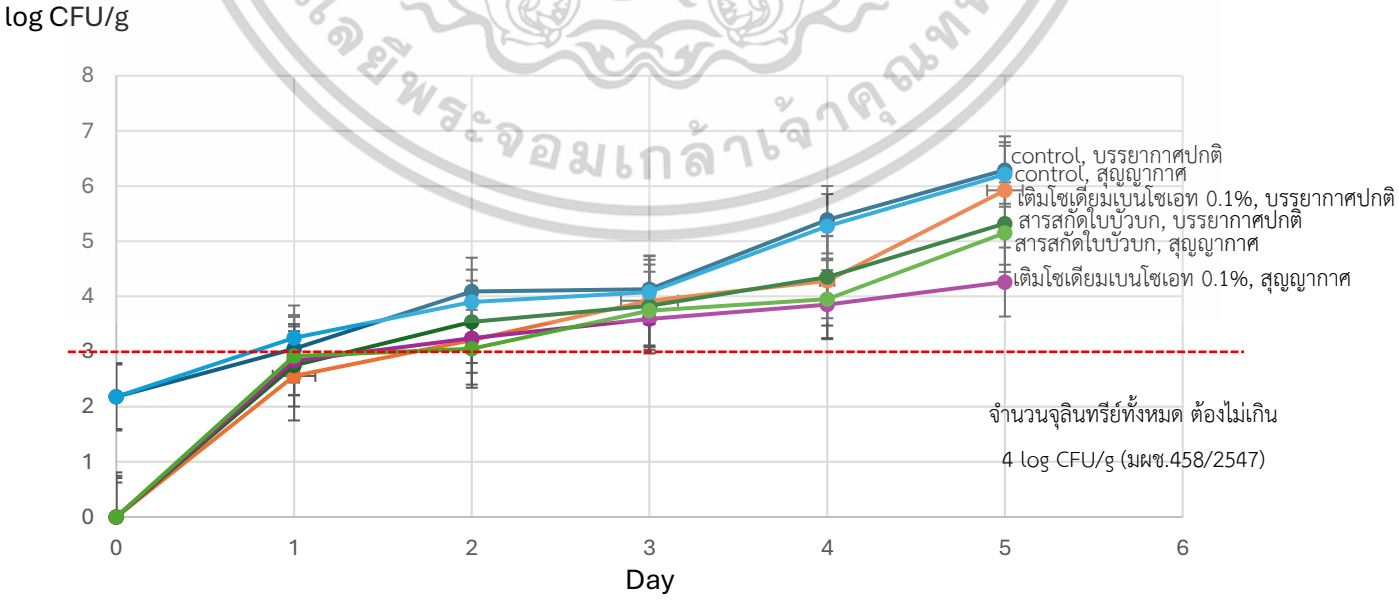
รูปที่ 4.19 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์/ราบนแผ่นแป้งโรตีที่เก็บไว้ 2 วัน

ดังนั้นแนวทางการเก็บรักษาแผ่นโรตีให้อยู่ได้นานผู้ประกอบการอาจมีการใส่วัตถุกันเสียลงในแป้งที่ผสม แต่ปัจจุบันแนวโน้มของผู้บริโภคต้องการบริโภคอาหารที่ปราศจากการเติมสารเคมีลงในส่วนผสม ดังนั้นการยืดอายุการเก็บรักษาด้วยการใช้วิธีการต่างๆ ร่วมกัน เช่น การแช่เย็น การจำกัดอากาศ การลดความชื้น การใช้สารสกัดจากธรรมชาติ วิธีการร่วมกันเหล่านี้เรียก Hurdle technology ซึ่ง Hurdle technology ได้ถูกพัฒนากันมาหลายปีแล้ว เพื่อผลิตอาหารที่ปลอดภัย ประหยัดและคงคุณค่าทางโภชนาการไว้ Hurdle technology จึงเป็นเทคนิคที่นำวิธีการถนอมต่างๆ มารวมกันเพื่อไม่ให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ ซึ่งวิธีการเหล่านี้คือการควบคุมอุณหภูมิ ควบคุมปริมาณน้ำอิสระหรือวอร์เตอร์แอคทีวิตี้ ควบคุมความเป็นกรดด่าง เป็นต้น เนื่องจากเป็นการใช้หลายๆวิธีร่วมกัน ดังนั้นความเข้มข้นของแต่ละวิธีจึงไม่มากเท่าการใช้วิธีใดวิธีหนึ่งแต่เพียงอย่างเดียว ซึ่งมีผลเสียต่อรสชาติและคุณภาพทางประสาทสัมผัส จากแนวคิดดังกล่าวผู้วิจัยจึงนำ Hurdle technology มาประยุกต์ใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาแผ่นแป้งโรตีให้นานขึ้นโดยการใช้วัตถุกันเสียซึ่งเป็นสารสกัดใบบัวบกจากธรรมชาติร่วมกับการปรับสภาวะการเก็บรักษาแผ่นแป้งโรตีสายไหมภายใต้สุญญากาศ รวมถึงนำเสนอแนวทางการจัดการการผลิตแผ่นแป้งโรตีที่ถูกสุขลักษณะ เพื่อลดการปนเปื้อนระหว่างกระบวนการผลิตที่จะส่งผลทำให้แผ่นแป้งโรตีเก็บรักษาได้ไม่นาน โดยรายละเอียดผลการทดลองแสดงดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1 การประยุกต์ใช้สารสกัดใบบัวบกในผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีร่วมกับการปรับสภาวะแวดล้อมการเก็บรักษาที่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) ในระหว่างเก็บรักษา

สารสกัดใบบัวบกความเข้มข้น 125 mg/mL ที่ได้จากสภาวะการสกัดด้วยไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 600 W, 110 s, 1:11, ความเข้มข้นเอทานอล 95% สารสกัดที่ความเข้มข้นดังกล่าวเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด เช่น *S.* Typhimurium, *S.* Choleraesuis, *S.* Enteritidis, *L. monocygenes*, *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus* และ *C. albicans* ที่จะส่งผลช่วยยืดอายุการเก็บรักษา ดังนั้นในการทดลองการประยุกต์ใช้สารสกัดใบบัวบกในผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา ความเข้มข้นของสารสกัดใบบัวบกดังกล่าวถูกนำมาเป็นส่วนผสมในการผลิตแผ่นแป้งโรตี โดยจากการทดลองผลิตแผ่นแป้งโรตีที่ความเข้มข้น 125 mg/mL พบว่าแผ่นแป้งโรตีที่ผลิตได้มีกลิ่นของใบบัวบกที่ค่อนข้างชัดเจนที่อาจจะส่งผลต่อการรับรสของผู้บริโภค อีกทั้งในกระบวนการยืดอายุการเก็บรักษาเป็นการใช้ Hurdle Technology ซึ่งเป็นการใช้หลายๆ วิธีร่วมกัน ดังนั้นความเข้มข้นของแต่ละวิธีจึงไม่มากเท่าการใช้วิธีใดวิธีหนึ่งแต่เพียงอย่างเดียว ดังนั้นผู้วิจัยจึงลดความเข้มข้นของสารสกัดใบบัวบกลงครึ่งหนึ่งเป็น 62.5 mg/mL ในการผลิตแผ่นแป้งโรตี โดยในการทดลองจะผลิตแผ่นแป้งโรตีที่ไม่เติมสารสกัดใบบัวบกจัดเป็นสภาวะควบคุม (control) แผ่นแป้งโรตีที่มีการเติมวัตถุกันเสียโซเดียมเบนโซเอทไม่เกิน 0.1% และแผ่นแป้งโรตีที่มีการเติมสารสกัดใบบัวบกความเข้มข้น 62.5 mg/mL ผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีที่ได้จะถูกเก็บรักษา 2 แบบ คือเก็บในถุงบรรจุภัณฑ์โพพิลีนแล้วซีลปิดสนิทกับเก็บในถุงบรรจุภัณฑ์โพพิลีนแล้วดึงอากาศออกก่อนซีลปิดสนิท โดยผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีทั้งหมดเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน โดยระหว่างเก็บรักษามีการสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจสอบคุณภาพด้านจุลินทรีย์ และด้านกายภาพแสดงดังผลการทดลองต่อไปนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.20 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) ในแผ่นแป้งโรตีสูตรต่างๆ ที่เก็บรักษา 5 วัน (log CFU/g) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

จากกราฟรูปที่ 4.20 จะพบว่าแผ่นแป้งโรตีที่ไม่เติมสารใด ๆ ที่เก็บในถุงโพรพิลีนซีลปิดสนิทและเก็บในถุงโพรพิลีนดึงอากาศออกแล้วซีลปิดสนิทมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) เพิ่มจำนวนใกล้เคียงกัน สามารถเก็บรักษาได้เพียง 2 วัน เนื่องจากปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดเกิน 4 log CFU/g ซึ่งตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 458/2547 ของโรตีสายไหม จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องไม่เกิน 4 log CFU/g และเมื่อทำการเก็บรักษาในระยะเวลา 5 วัน พบว่าผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีทุกสูตรที่เก็บในถุงโพรพิลีนดึงอากาศออกแล้วซีลปิดสนิท ปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) เพิ่มขึ้นช้ากว่าแผ่นแป้งโรตีที่เก็บในถุงโพรพิลีนบรรยากาศธรรมดาปิดสนิท ทำให้สามารถเก็บรักษาได้นานกว่า (พิจารณาปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด ที่มีค่าไม่เกิน 4 log CFU/g) และเมื่อพิจารณาแผ่นแป้งโรตีทั้ง 3 สูตร พบว่าแผ่นแป้งโรตีมีการเติมวัตถุกันเสียโซเดียมเบนโซเอทและแผ่นแป้งโรตีเติมสารสกัดใบบัวบกมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) เพิ่มขึ้นช้ากว่า แผ่นแป้งโรตีไม่เติมสารใดๆ ทำให้สามารถเก็บรักษาได้นานกว่าเช่นกัน ดังนั้นแผ่นแป้งโรตีที่เก็บได้นานที่สุดจึงเป็นแผ่นแป้งโรตีที่มีการเติมวัตถุกันเสียโซเดียมเบนโซเอท 0.1% และแผ่นแป้งโรตีเติมสารสกัดใบบัวบก ที่เก็บในถุงโพรพิลีนดึงอากาศออกแล้วซีลปิดสนิท โดยสามารถเก็บรักษาได้ 4 วันจากปกติแผ่นแป้งโรตีไม่เติมสารสกัดเก็บรักษาได้ 2 วัน

4.4.2 การประยุกต์ใช้สารสกัดใบบัวบกในผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีร่วมกับการปรับสภาวะแวดล้อมการเก็บรักษาที่มีผลต่อปริมาณยีสต์/รา (Yeast/Mold) ในระหว่างเก็บรักษา

ในการบริโภคแผ่นแป้งโรตีสายไหมตามปกติผู้บริโภคจะสังเกตลักษณะปรากฏภายนอกแผ่นแป้งโรตีว่ามีเชื้อยีสต์หรือราขึ้นหรือไม่ ซึ่งเป็นลักษณะการเสื่อมเสียที่สามารถสังเกตได้จากรูปลักษณ์ภายนอก ดังนั้นในระหว่างเก็บรักษาแผ่นแป้งโรตีที่สภาวะต่างๆ ผู้วิจัยจึงได้มีการบันทึกลักษณะปรากฏของเชื้อราควบคู่กับการหาปริมาณเชื้อยีสต์และราด้วยอาหาร Potato Dextrose Agar โดยรายละเอียดผลการทดลองแสดงดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณยีสต์และรา (Yeast/Mold) ในแผ่นแป้งโรตีระหว่างการเก็บรักษา 5 วัน (log CFU/g)

Day	ผลิตภัณฑ์เก็บในถุงโพลีโพรพิลีนซีลปิดสนิท			ผลิตภัณฑ์เก็บในถุงโพลีโพรพิลีนดึงอากาศออกแล้วซีลปิดสนิท		
	control[1]	วัตถุกันเสีย[2]	สารสกัด[3]	control[1]	วัตถุกันเสีย[2]	สารสกัด[3]
0	<1	<1	<1	<1	<1	<1
1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
2	<1	<1	<1	<1	<1	<1
3	2.89	<1	<1	2.56	<1	<1
4	3.45	2.60	2.70	3.42	<1	<1
5	5.03	4.65	4.92	5.18	3.89	4.12

จำนวนยีสต์และราต้องน้อยกว่า 1 log CFU/g ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนโรตีสายไหม (มผช.458/2547)

หมายเหตุ : 1: control แผ่นแป้งโรตีไม่เติมสารใดๆ

2: แผ่นแป้งโรตีมีการเติมวัตถุกันเสียโซเดียมเบนโซเอท 0.1%

3: แผ่นแป้งโรตีเติมสารสกัดใบบัวบก

ตารางที่ 4.11 แสดงปริมาณยีสต์และราในแผ่นแป้งโรตีสูตรต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสจะเห็นได้ว่าแผ่นแป้งโรตีที่มีการเก็บในถุงโพรพิลีนดึงอากาศออกแล้วซีลปิดสนิทให้แนวโน้มปริมาณเชื้อยีสต์และราเพิ่มขึ้นช้ากว่าแผ่นแป้งโรตีที่เก็บในถุงโพรพิลีนซีลบรรยากาศปกติ เนื่องจากอากาศเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เมื่อมีปริมาณของอากาศน้อยแบคทีเรียจะชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทำให้สามารถเก็บรักษา โดยแนวโน้มการเพิ่มปริมาณเชื้อยีสต์และราในแผ่นแป้งโรตีที่สภาวะต่างๆ เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (รูปที่ 4.20) ที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 458/2547 ของโรตีสายไหม กำหนดจำนวนยีสต์และราต้องไม่เกิน 1 log CFU/g โดยจากตารางที่ 4.11 พบว่าแผ่นแป้งโรตีที่มีการเติมวัตถุกันเสียโซเดียมเบนโซเอท 0.1% และแผ่นแป้งโรตีเติมสารสกัดใบบัวบกที่เก็บในถุงโพรพิลีนดึงอากาศออกแล้วซีลปิดสนิท สามารถเก็บรักษาได้ 4 วันจากปกติแผ่นแป้งโรตีไม่เติมสารสกัดเก็บรักษาได้ 2 วัน

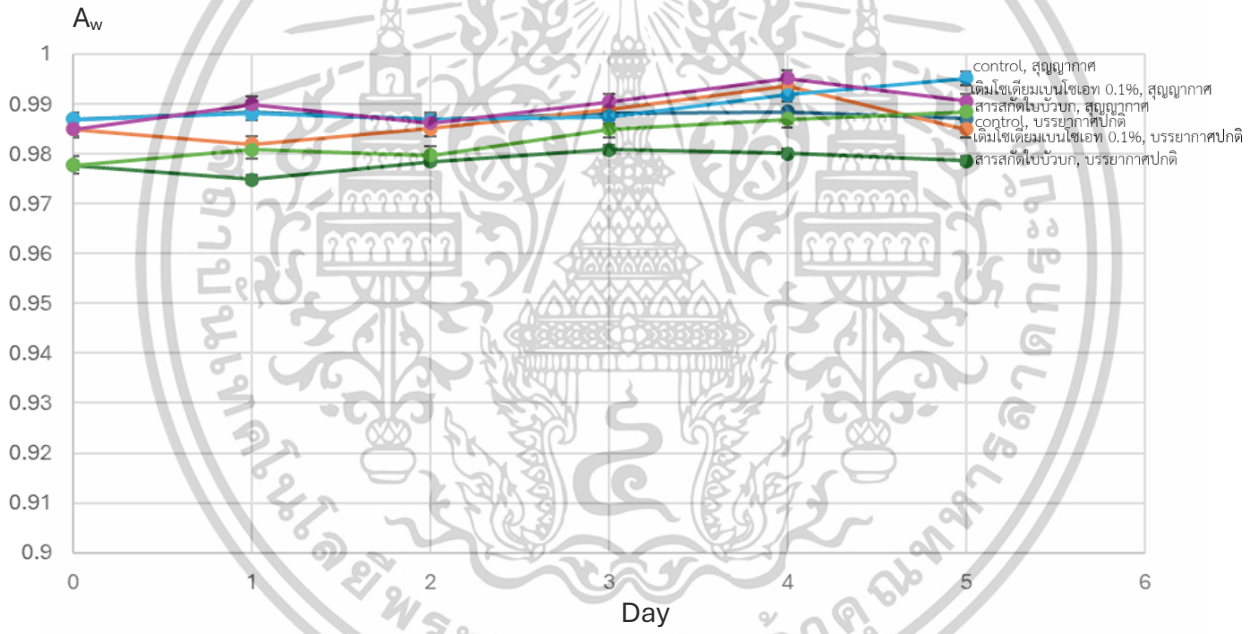
จากผลการทดลองแสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรีย ยีสต์/รา พบว่าแผ่นโรตีที่ใส่วัตถุกันเสียโซเดียมเบนโซเอท 0.1% และแผ่นแป้งโรตีเติมสารสกัดใบบัวบก ที่เก็บในถุงโพรพิลีนดึงอากาศออกแล้วซีลปิดสนิทให้ประสิทธิภาพความสามารถในการยืดอายุการเก็บรักษาได้ 4 วันจากปกติแผ่นแป้งโรตีไม่เติมสารสกัดเก็บรักษาได้ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัน ซึ่งจะเห็นได้ว่าแผ่นแป้งโรตีที่มีการเติมสารสกัดใบบัวบกให้ประสิทธิภาพการยืดอายุการเก็บรักษาได้ใกล้เคียงกับวัตถุกันเสียที่เป็นสารเคมี ดังนั้นสารสกัดใบบัวบกจึงสามารถนำมาใช้ทดแทนวัตถุกันเสียที่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ได้ ซึ่งสอดคล้องกับความต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบันที่ต้องการหลีกเลี่ยงอาหารที่มีการใช้วัตถุกันเสียที่จะส่งผลต่อสุขภาพของผู้บริโภคระยะยาว

4.4.3 การประยุกต์ใช้สารสกัดใบบัวบกในผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีร่วมกับการปรับสภาวะแวดล้อมการเก็บรักษาที่มีผลต่อค่า A_w ในระหว่างเก็บรักษา

ค่า A_w เป็นค่าที่บ่งบอกถึงปริมาณน้ำอิสระที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโต ซึ่งโดยปกติแผ่นแป้งโรตีจะมีปริมาณ A_w ค่อนข้างสูงดังนั้นจึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเสี่ยงต่อการเสื่อมเสียได้ง่าย โดยในระหว่างการเก็บรักษาแผ่นแป้งโรตีที่สภาวะต่างๆ แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า A_w ดังกราฟรูปที่ 4.21



รูปที่ 4.21 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำอิสระ (A_w) ในแผ่นแป้งโรตีสูตรต่างๆ ที่เก็บรักษา 5 วัน (log CFU/g) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ : ผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีโดยทั่วไปมีค่า A_w = 0.9694±0.0037

ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ (A_w) ดังกราฟรูปที่ 4.21 พบว่าแผ่นแป้งโรตีทั้ง 6 ชุดการทดลองที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ค่าปริมาณน้ำอิสระมีแนวโน้มคงที่ในระหว่างการเก็บรักษา ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าชุดการทดลองของแผ่นโรตีที่มีการเติมสารสกัดใบบัวบกทั้งที่เก็บ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในถุงโพรพิลีนซีลปิดสนิทและเก็บในถุงโพรพิลีนดึงอากาศออกแล้วซีลปิดสนิทให้ค่า A_w ที่น้อยกว่าชุดการทดลองที่เป็นสภาวะควบคุมและแผ่นแป้งโรตีที่มีการเติมวัตถุกันเสีย การที่ค่า A_w ของแผ่นโรตีสูตรบางตัวมีแนวโน้มลดลงเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยารีโทรเกรเดชัน (retrogradation) เมื่อแป้งผ่านการเจลาติไนซ์แล้วปล่อยให้เย็นตัวลง โมเลกุลอะไมโลสและอะไมโลเพกทินซึ่งเคยรวมตัวกับน้ำแล้วเกิดเป็นเจล จะเคลื่อนที่จับกับน้ำตาลกลูโคสในโครงสร้าง และขับน้ำที่เคยจับอยู่ออกจากโมเลกุล เมื่อแป้งที่ผ่านการทำให้สุกและปล่อยทิ้งไว้ระยะเวลานานขึ้น อัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันจะเพิ่มขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารแข็งขึ้น (Tako et al., 2014)

อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าแผ่นแป้งโรตีมีค่า A_w ค่อนข้างสูงดังนั้นผลิตภัณฑ์จึงมีความเสี่ยงต่อการเสื่อมเสียได้ง่าย การควบคุมกระบวนการผลิตตลอดจนการเก็บรักษาจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่จะช่วยยืดอายุการเก็บรักษา เนื่องจากปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์มีทั้งออกซิเจน ปริมาณความชื้น แหล่งของอาหาร ดังนั้นการควบคุมปริมาณออกซิเจนด้วยการเก็บแผ่นแป้งโรตีภายใต้สภาวะสุญญากาศจึงเป็นแนวทางหนึ่งจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาแผ่นแป้งโรตี

4.4.4 การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

เนื่องจากการเติมสารสกัดใบบัวบกในแผ่นแป้งโรตีอาจส่งผลต่อ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส หรือแม้แต่รูปลักษณ์ของแผ่นแป้งโรตี ซึ่งอาจทำให้ผู้บริโภครับรู้ถึงความแตกต่าง และอาจไม่ชอบได้แม้ว่าสารสกัดจะมีประโยชน์ต่อสุขภาพ เพื่อเป็นการประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัส ดูความเป็นไปได้ในการยอมรับของผู้บริโภคที่สามารถต่อยอดขยายออกสู่ตลาด และเพื่อให้ได้ข้อมูลจากการทดสอบการยอมรับช่วยให้สามารถปรับปรุงสูตรเพื่อสมดุลระหว่างประโยชน์ทางสุขภาพกับความอร่อย ได้ดียิ่งขึ้น และนอกจากนี้การมีข้อมูลสนับสนุนด้านการยอมรับของผู้บริโภคจะช่วย ยืนยันคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นในงานวิจัยจึงได้ทำการทดสอบการยอมทางประสาทสัมผัสกับนักศึกษาคณะอุตสาหกรรมอาหารจำนวน 25 คน ในการทดสอบชิมตัวอย่างแบบคายทิ้ง โดยก่อนชิม ให้อาสาสมัครดูผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีพร้อมไส้สายไหมที่เสิร์ฟในจานรอง เพื่อประเมินลักษณะปรากฏและสี จากนั้นให้อาสาสมัครสูดดมเพื่อประเมินกลิ่น และสุดท้ายทำการชิมแบบคายทิ้งเพื่อประเมินรสชาติและเนื้อสัมผัส โดยผู้วิจัยจะทำการเสิร์ฟแผ่นแป้งโรตีทั้งหมด 2 สูตร ประกอบด้วย สูตรควบคุมไม่มีส่วนผสมของสารสกัดใบบัวบก (หมายเลข 1) และสูตรที่มีส่วนผสมสารสกัดใบบัวบก (หมายเลข 2) โดยอาสาสมัครไม่ทราบว่าแผ่นแป้งโรตีแต่ละชนิดที่ตนเองชิมนั้นเป็นแผ่นแป้งโรตีสูตรใดโดยหลังจากที่อาสาสมัครทดสอบชิมแผ่นแป้งโรตีแต่ละสูตร ผู้วิจัยให้อาสาสมัครทำ แบบประเมินความชอบแบบ9-point hedonic scale โดยให้คะแนนหัวข้อประเมินประกอบด้วย ลักษณะปรากฏ (appearance) กลิ่น (aroma) รสชาติ (flavor) เนื้อสัมผัส (texture) และการยอมรับรวม (overall acceptability) สเกลเป็นตัวเลขให้เลือก 9 ระดับ ตั้งแต่ 1 ถึง 9 โดย 1 คือ ไม่ชอบไม่ชอบเป็นพิเศษ (dislike

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

extremely) 2 คือ ไม่ชอบมาก (dislike very much) 3 คือ ไม่ชอบปานกลาง (dislike moderately) 4 คือ ไม่ชอบเล็กน้อย (dislike slightly) 5 คือ เฉยๆ (neither like nor dislike) 6 คือ ชอบเล็กน้อย (like slightly) 7 คือ ชอบปานกลาง (like moderately) 8 คือ ชอบมาก (like very much) และ 9 คือ ชอบเป็นพิเศษ (like extremely) โดยรายละเอียดผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสแสดงดังต่อไปนี้

ตารางที่ 4.12 ผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตี

การยอมรับทางประสาทสัมผัสด้าน	**ผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตี สูตรควบคุม**	**ผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีสูตรเติมสารสกัดใบบัวบก**
สี	6.40 ± 1.12^{a}	6.48 ± 1.85^{a}
กลิ่น	6.52 ± 1.42^{a}	4.28 ± 1.70^{b}
ลักษณะปรากฏ	6.56 ± 1.23^{a}	6.08 ± 1.44^{a}
เนื้อสัมผัส	6.00 ± 1.58^{a}	6.08 ± 1.47^{a}
รสชาติ	6.64 ± 2.21^{a}	4.36 ± 2.36^{b}
ความชอบโดยรวม	6.64 ± 1.32^{a}	5.32 ± 1.77^{b}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D;
ตัวอักษร a,b ในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีสูตรควบคุม (ไม่เติมสารสกัด) และผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีที่มีการเติมสารสกัดใบบัวบกพบว่าคะแนนความชอบด้านสี ลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 สูตรไม่มีความแตกต่างกัน ในขณะที่คุณสมบัติด้านกลิ่น รสชาติและความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 สูตรมีความแตกต่างกัน โดยผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีสูตรควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดใบบัวบกให้คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสสูงกว่าตัวอย่างที่มีการเติมสารสกัดใบบัวบก ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารสกัดใบบัวบกมีกลิ่นฉุนสมุนไพรเฉพาะตัวที่ค่อนข้างแรง และรสชาติอาจขมเล็กน้อยหรือมี aftertaste ที่ไม่กลมกล่อม ทำให้ไม่สอดคล้องกับรสชาติของผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคคุ้นเคย เช่น ของหวานหรือเครื่องดื่ม โดยถึงแม้ผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีที่มีการเติมสกัดใบบัวบกคะแนนความชอบด้านกลิ่น รสชาติและความชอบโดยรวมจะน้อยกว่าผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีที่ไม่เติมสารสกัด แต่ในด้านคุณประโยชน์ของร่างกาย มีส่วนช่วยในเรื่องของการบำรุงสมอง ลดการอักเสบ หรือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) ซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกายเป็นอย่างมาก เนื่องจากช่วยปกป้องเซลล์จากความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเรื้อรังและการเสื่อมของร่างกาย การให้ข้อมูลประโยชน์ต่อร่างกายเหล่านี้ผู้บริโภคจะเห็น “คุณค่าเพิ่ม” ที่ทำให้ยอมรับรสหรือกลิ่นแปลกใหม่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 แนวทางการจัดการความปลอดภัยในกระบวนการผลิตแผ่นแป้งโรตีเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา

จากผลการทดลองในงานวิจัยการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดใบบัวบกร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาแผ่นแป้งโรตี โดยการดำเนินการดังกล่าวสามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาแผ่นแป้งโรตีได้ 4 วันจากปกติที่สามารถเก็บได้ 2 วัน ในการบรรจุแผ่นแป้งโรตีลงในบรรจุภัณฑ์โพพิลีนจะทำการบรรจุ 3 แผ่นต่อบรรจุภัณฑ์แล้วดึงอากาศด้วยเครื่อง Vacuum seal ผลิตภัณฑ์ที่ได้ก็จะเพียงพอต่อการบริโภค 1 ครั้ง หรือ 1 หน่วยบริโภค นอกจากแนวทางดังกล่าวแล้ว การควบคุมกระบวนการผลิตแผ่นแป้งโรตีที่ถูกสุขลักษณะก็จะช่วยลดการปนเปื้อนทำให้สามารถเก็บรักษาแผ่นแป้งโรตีได้เช่นกัน โดยรายละเอียดของแนวทางการจัดการความปลอดภัยในการผลิตแผ่นแป้งโรตีแสดงดังต่อไปนี้

4.5.1 การควบคุมวัตถุดิบ (Raw material control)

ในการผลิตแผ่นแป้งโรตี วัตถุดิบหลักที่ใช้จะเป็นแป้งและน้ำ ซึ่งผู้ประกอบแต่ละรายก็จะมีสูตรจำเพาะในการผลิตที่อาจมีการใส่น้ำมัน เนย สีผสมอาหาร กลิ่นรสต่างๆ ซึ่งวัตถุดิบเหล่านี้ควรจะซื้อจากแหล่งที่น่าเชื่อถือ ตรวจเช็คว่ามีเครื่องหมาย อย.ที่แสดงเลขสารบบ 13 ตัวหรือไม่

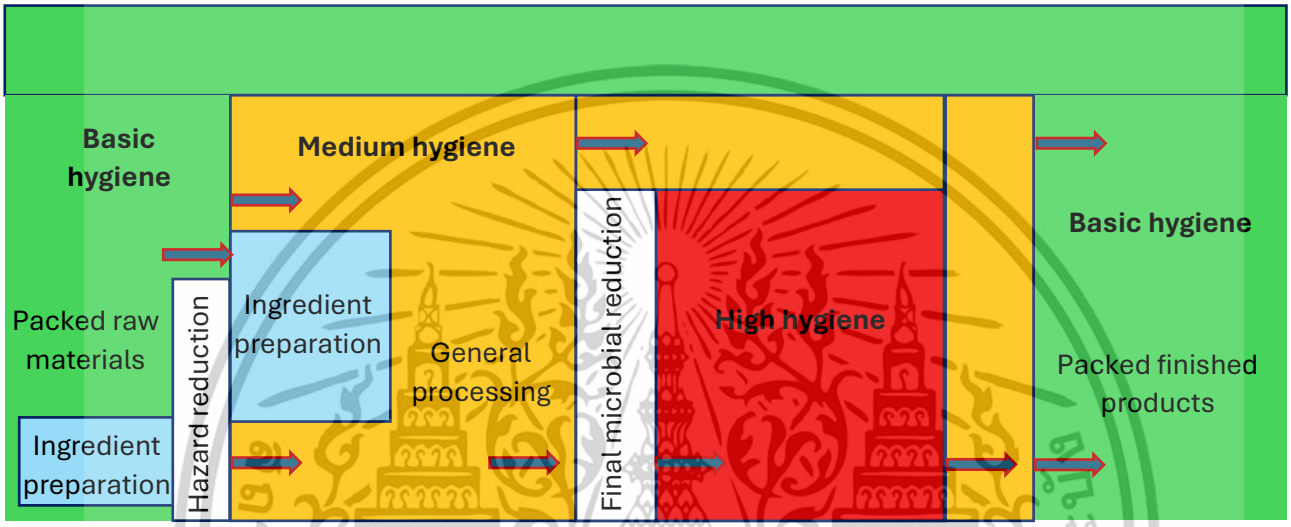
รูปที่ 4.22 แป้งสาลีที่ใช้ในการผลิตแผ่นแป้งโรตี

นอกจากนี้ในการรับเข้าวัตถุดิบ ก่อนนำมาเก็บจำเป็นต้องมีการตรวจสภาพบรรจุภัณฑ์ยังคงสมบูรณ์ ไม่มีการฉีกขาดของถุงแป้ง เก็บในอุณหภูมิและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม สะอาดไม่อับชื้น น้ำที่ใช้ในกระบวนการนวดแป้งควรเป็นน้ำที่ผ่านการรับรองคุณภาพมีคุณภาพเทียบเท่ากับน้ำบริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.2 สุขลักษณะของสถานที่ผลิต (Facility Sanitation)

บริเวณพื้นที่ผลิตสามารถทำความสะอาดได้ง่าย ไม่มีการสะสมของฝุ่นละอองที่อาจจะปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ ระหว่างกระบวนการผลิตหรือบรรจุในผลิตภัณฑ์ มีการแยกพื้นที่เตรียมแป้งหรือนวดแป้งที่ชัดเจน ออกจากบริเวณทำแผ่นแป้งโรตีบนกะทะร้อน ซึ่งบริเวณเตรียมแป้งจัดเป็น low risk area และพื้นที่ทำแผ่นแป้งบนกะทะร้อนจัดเป็น high risk area



รูปที่ 4.23 แนวทางการจัดวางไลน์กระบวนการผลิตแผ่นแป้งโรตี

เนื่องจากเมื่อแผ่นแป้งสุกจะต้องมีการแซะแผ่นแป้งออกจากเตาแล้วนำมาวางบนภาชนะสะอาด ดังนั้นพื้นที่บริเวณดังกล่าวจะต้องมีการใส่ใจเป็นพิเศษในเรื่องของความสะอาด มีระบบระบายอากาศที่ดีในห้อง จะต้องควบคุมให้มีการระบายอากาศที่ดี เนื่องจากห้องทำแผ่นแป้งโรตีเป็นห้องที่มีกะทะร้อนเพื่อทำให้แผ่นแป้งสุก ที่ผิวหน้าของกะทะร้อนจะมีการถ่ายเทความร้อนแบบการนำความร้อนส่งผ่านแผ่นแป้ง น้ำหรือความชื้นในแผ่นแป้งเมื่อได้รับความร้อนจะเกิดการระเหยออกสู่บรรยากาศ ดังนั้นในห้องทำแผ่นแป้งโรตีจึงมีความชื้นที่ระเหยออกมาปริมาณมาก ควรมีระบบระบายอากาศที่มีการถ่ายเทที่ดี เพื่อป้องกันการสะสมของความชื้นที่อาจจะทำให้เกิดเชื้อราที่ผนังได้

4.5.3 สุขลักษณะของผู้ปฏิบัติงาน (Personal Hygiene)

พนักงานผู้ผลิตแผ่นแป้งโรตีควรที่จะมีการแต่งกายให้ถูกสุขลักษณะมีการสวมหมวกคลุมผม หน้ากาก ถุงมือ และล้างมือทุกครั้งก่อนสัมผัสอาหาร นอกจากนี้ควรจะมีการอบรมสุขลักษณะและความรู้ด้านความปลอดภัยอาหารแก่ผู้ประกอบการอย่างต่อเนื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.4 กระบวนการผลิตที่ปลอดภัย (Safe Production Process)

ในขั้นตอนการผสมแป้งกับน้ำเพื่อนวดแป้ง การดำเนินการดังกล่าวไม่ควรใช้เวลาในการเตรียมนาน หรือไม่ควรปล่อยทิ้งแป้งที่นวดไว้เป็นเป็นเวลานาน อาจจะทำให้แป้งเกิดการหมัก เนื่องจากจุลินทรีย์ในแป้งจะมีการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล นอกจากนี้ในขั้นตอนการนวดแป้งส่วนใหญ่จะเป็นการนวดด้วยมือ พนักงานจะต้องมีการสวมถุงมือทุกครั้งในขั้นตอนนี้

รูปที่ 4.24 การนวดแป้งสาลีที่มีการผสมส่วนประกอบอื่นๆ

การให้ความร้อนกับแผ่นแป้งเพื่อให้แผ่นแป้งสุก อุณหภูมิที่ใช้ในการให้ความร้อนควบควบคุมให้อยู่ในช่วงที่ฆ่าเชื้อได้ ($\geq 75^{\circ}C$) แผ่นแป้งที่สุกแล้วจะถูกนำออกจากกะทะแล้วใส่ในภาชนะเพื่อลดอุณหภูมิของแผ่นแป้ง ซึ่งถ้าแผ่นแป้งที่พึ่งขึ้นจากกะทะร้อนจะยังคงมีไอความชื้นระเหยออกมา ถ้าบรรจุแผ่นแป้งขณะที่ยังร้อนอยู่ ไอระเหยของความชื้นจะควบแน่นแล้วเกาะภายในบรรจุภัณฑ์ ทำให้เสี่ยงที่จะเสื่อมเสียได้เร็วเนื่องจากเชื้อรา ดังนั้นแผ่นแป้งที่ผลิตได้จะต้องมีการพักให้เย็นก่อนที่จะบรรจุใส่ผลิตภัณฑ์ในภาชนะที่สะอาด เพื่อป้องกันการปนเปื้อนข้าม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

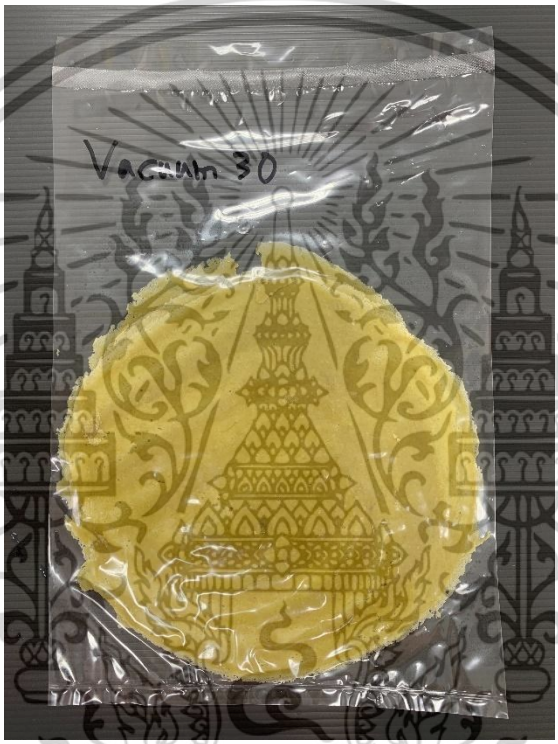
รูปที่ 4.25 ก้อนแป้งสาลีที่ผ่านการนวดจะถูกนำมาปาดให้เป็นแผ่นบนกระทะร้อน เมื่อแผ่นแป้งสุก แผ่นแป้งจะถูกแซะออกจากเตาและวางเก็บในภาชะเพื่อให้แผ่นแป้งพักเย็น

รูปที่ 4.26 แผ่นโรตีที่ไม่ได้มีการพักให้เย็น เมื่อนำมาบรรจุในบรรจุภัณฑ์จะทำให้มีไอน้ำเกาะที่ผิวภายในถุงเสี่ยงต่อการเกิดเชื้อราได้ง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.5 การบรรจุและเก็บรักษา (Packaging and Storage)

แผ่นแป้งโรตีที่ผลิตเสร็จหลังจากพักให้เย็นในบริเวณพื้นที่สะอาด ซึ่งจากแนวทางการศึกษาวิจัยการใช้สารสกัดใบบัวบกในแผ่นแป้งโรตีและเก็บรักษาแผ่นแป้งในบรรจุภัณฑ์ในสภาวะดึงอากาศออกแล้วซีลปิดสนิท การเก็บที่สภาวะดังกล่าวช่วยให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาแผ่นแป้งโรตีได้ 4 วัน จากปกติเก็บได้เพียง 2 วัน โดยในการบรรจุแผ่นแป้งโรตี ผู้วิจัยออกแบบการบรรจุแผ่นแป้งโรตีที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบบัวบก 3 แผ่นต่อ 1 ถุงโพพิลีน จากนั้นดึงอากาศด้วยเครื่อง vacuum seal ลักษณะของแผ่นแป้งโรตีที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบบัวบกที่ผ่านการบรรจุแบบดึงอากาศแสดงดังรูปที่ 4.5.7



รูปที่ 4.27 การบรรจุแผ่นแป้งโรตีในบรรจุภัณฑ์ภายใต้สภาวะสุญญากาศ

การบรรจุแผ่นโรตีลักษณะดังกล่าวนอกจากจะช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาแล้ว ยังเป็นการสะดวกในการบริโภคเนื่องจากปกติผู้บริโภคจะรับประทานแผ่นโรตีพร้อมสายไหม 3 แผ่นซึ่งก็เพียงพอต่อการบริโภค ซึ่งบรรจุภัณฑ์ที่บรรจุแผ่นแป้งโรตีมีการบรรจุ 3 แผ่น หลังจากที่ผู้บริโภคเปิดบรรจุภัณฑ์ ความเป็นสุญญากาศจะเสียสภาพไป แต่อย่างไรก็ตามผู้บริโภคก็สามารถรับประทานแผ่นป้งโรตีพร้อมสายไหมทั้ง 3 แผ่นได้หมดพอดี ไม่มีแผ่นแป้งโรตีที่ต้องเก็บต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.5 การควบคุมจุดเสี่ยง (Critical Control Points: CCPs)

ขั้นตอนการให้ความร้อนแผ่นแป้งโรตีจัดเป็นจุด CCP ที่จะต้องมีการเฝ้าระวังติดตามอุณหภูมิขณะให้ความร้อน โดยอุณหภูมิแผ่นแป้งขณะให้ความร้อนจะต้องมากกว่า $\geq 75^{\circ}C$ ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่อยู่ในระดับที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค จุดเสี่ยงอีกหนึ่งจุดที่จะต้องมีการควบคุม พนักงานที่ทำหน้าที่ผลิตแผ่นแป้งโรตีจะต้องมีการสวมถุงมือเนื่องจากขณะปฏิบัติงาน มือของพนักงานจะสัมผัสกับก้อนแป้งโดยตรง ดังนั้นพนักงานจึงจำเป็นต้องมีการสวมถุงมือเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากที่มือที่อาจจะปนเปื้อนลงแผ่นแป้งโรตีที่สุกแล้ว รวมถึงวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิต ควรจะมีการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้ออุปกรณ์อย่างสม่ำเสมอ รวมถึงบันทึกข้อมูลการผลิต เช่น วันที่ผลิตและหมดอายุ เพื่อทำให้เห็นแนวโน้มอายุการเก็บรักษาแผ่นโรตีส่วนใหญ่อยู่ที่กี่วัน แล้วช่วงไหนที่อายุการเก็บรักษาแผ่นแป้งโรตีน้อยกว่าปกติ ผู้ประกอบการจะต้องหาสาเหตุเพื่อหาแนวทางการแก้ปัญหา และจะต้องป้องกันไม่ให้เกิดซ้ำ

4.5.6 การติดตามและตรวจสอบ (Monitoring and Verification)

ผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีที่ผลิตได้แต่ละ lot ควรจะมีการทดสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เป็นระยะ เพื่อตรวจสอบสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ยังคงเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์ชุมชนโรตีสายไหมซึ่งมีการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา แบคทีเรีย *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ตามวิธีการของ FDA-BAM, 2001 นอกจากนี้ควรมีระบบบันทึกและตรวจสอบย้อนกลับการได้มาซึ่งวัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนการผลิต สามารถตรวจสอบย้อนกลับไปได้ว่าซื้อมาจากที่ไหน เมื่อไร ปริมาณเท่าไร สามารถผลิตสินค้าแผ่นแป้งโรตีได้กี่กิโลกรัม ผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตี lot นี้ผลิตโดยใช้วัตถุดิบแป้งสาลี lot ไหน รวมถึงควรมีตรวจสอบความสะอาดของสถานที่และอุปกรณ์ทุกวัน

ในการควบคุมการยืดอายุการเก็บรักษาของแผ่นแป้งโรตี นอกจากจะหาสภาวะการสกัดใบบัวบกที่เหมาะสมแล้ว เพื่อนำสารสกัดที่มีฤทธิ์ความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์มาประยุกต์ใช้ในแผ่นแป้งโรตีเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาแล้ว การควบคุมสุขลักษณะกระบวนการผลิตแผ่นแป้งก็เป็นแนวทางในการช่วยลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ทำให้ผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีสามารถเก็บรักษาได้นานขึ้น ซึ่งปกติแผ่นแป้งโรตีเมื่อเก็บไว้ 2 วันจะเกิดการเสื่อมเสียที่เห็นได้ชัดจากเชื้อราทำให้มีการเหลือของเส้นสายไหมที่ไม่ได้บริโภคต่อ เนื่องจากไม่มีแผ่นแป้งโรตี ทำให้ต้องทิ้งส่วนของเส้นสายไหมนั้นทำให้ผู้บริโภคไม่ได้รับการบริโภคที่คุ้มค่ากับราคาที่เสียไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

5.1.1 สภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่ให้ปริมาณไตรเทอปีนสูงเป็นการสกัดด้วยไมโครเวฟที่กำลังวัตต์ 596.47 W เวลาที่ใช้ในการสกัด 110.96 s ที่อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:11 ความเข้มข้นของเอทานอล 94.72 % v/v สารสกัดที่ให้ปริมาณฟีโนลิกสูงเป็นการสกัดด้วยไมโครเวฟกำลังวัตต์ 597.07 W เวลาที่ใช้ในการสกัด 116.70 s อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:11 ความเข้มข้นของเอทานอล 61.28 % v/v สำหรับปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid ที่สูงได้จากสภาวะการสกัดด้วยไมโครเวฟกำลังวัตต์ 344.31 W เวลาในการสกัด 139.52 s อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:7 ความเข้มข้นของเอทานอล 86.0441 % v/v) และปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside ที่สูงได้จากสภาวะการสกัดด้วยไมโครเวฟกำลังวัตต์ 342.57 W เวลาที่ใช้ในการสกัด 130.761 s อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:12 ความเข้มข้นของเอทานอล 94.1677 % v/v

5.1.2 สารสกัดใบบัวบกที่ได้จากสภาวะการสกัดด้วยไมโครเวฟกำลังวัตต์ 600 W ใช้เวลาสกัด 110 s อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:11 ความเข้มข้นเอทานอล 95% ให้ปริมาณสารสำคัญที่มีฤทธิ์สามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Typhimurium, *S.* Enteritidis, *S.* Choleraesuis, *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus* และ *C. albican* ได้ดีที่สุด

5.1.3 การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของสารสกัดจากใบบัวบกด้วยวิธี Broth dilution technique ได้ค่า MIC ที่สามารถยับยั้งเชื้อทุกตัวได้คือ 250 mg/mL และ ศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ของสารสกัดจากใบบัวบกด้วยวิธี Agar dilution technique ได้ค่า MBC ที่สามารถยับยั้งเชื้อทุกตัวได้คือ 125 mg/mL

5.1.4 การผลิตแผ่นแป้งโรตีที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบบัวบกความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ 62.5 mg/mL แผ่นแป้งโรตีที่ผลิตได้เมื่อเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์โพลีโพรพิลีนภายใต้สภาวะสุญญากาศ ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จากเดิม 2 วันเป็น 4 วันที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

5.1.5 การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสพบว่าคะแนนเฉลี่ยความชอบด้านสี ลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 สูตรไม่มีความแตกต่างกัน ในขณะที่คะแนนเฉลี่ยด้านกลิ่น รสชาติและความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 สูตรมีความแตกต่างกัน โดยผลิตภัณฑ์แผ่นแป้งโรตีที่ไม่เติมสารสกัดใบบัวบกให้คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสสูงกว่าแผ่นแป้งโรตีที่มีการเติมสารสกัดใบบัวบก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการปรับรสชาติและกลิ่นให้กลมกลืนลดกลิ่นเขียวหรือกลิ่นหญ้า ที่เป็นลักษณะเฉพาะของใบบัวบกด้วยการใช้เทคนิคต่าง ๆ เช่น ใช้ร่วมกับ flavor masking agents โดยผสมกับรสชาติหรือกลิ่นที่ผู้บริโภคนิยม เช่น กลิ่นมะนาว น้ำผึ้ง เบอร์รี ชาเขียว หรือเครื่องเทศที่มีกลิ่นหอมอ่อน ๆ

5.2.2 อาจจะต้องเน้นจุดขายด้านสุขภาพ โดยสื่อสารให้ชัดเจนว่าแผ่นแป้งโรตีที่ผลิตมีสารสกัดใบบัวบกที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยบำรุงสมอง ฟื้นฟูเซลล์ผิวหรือลดการอักเสบ มีการใช้คำว่า “Natural Extract” บนบรรจุภัณฑ์เพื่อดึงดูดความสนใจของผู้บริโภคสายรักสุขภาพ

5.2.3 ปรับรูปลักษณ์ให้น่าสนใจจากสีของผลิตภัณฑ์ควรมีความน่ารับประทาน เช่น สีเขียวธรรมชาติที่ดูสดใสไม่หม่น อาจใช้สารให้สีจากธรรมชาติ เช่น คลอโรฟิลล์ หรือผงมัทฉะเพื่อเสริมภาพลักษณ์

5.2.4 ควบคุมความขมของสารสกัดโดยใช้วิธีแยกสารประกอบบางตัวออก เช่น ผ่านเทคนิค fractionation เพื่อแยกส่วนที่มีประโยชน์สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีแต่ไม่ขม

5.2.5 ทำการทดสอบการยอมรับกับผู้บริโภคหลายกลุ่มเป้าหมาย เช่น กลุ่มวัยทำงานหรือผู้สูงอายุที่ใส่ใจสุขภาพ

5.26 จากงานวิจัยในครั้งนี้ เพื่อการต่อยอดและพัฒนา สามารถทำการศึกษาประเด็นต่างๆเหล่านี้เพิ่มเติมได้

-คุณสมบัติของสารสกัดในการยับยั้งเชื้ออื่นๆที่เกี่ยวข้องกับแผ่นแป้งโรตี ชนิดของยีสต์และราที่ขึ้นในแผ่นแป้งโรตี

-การยืดอายุการเก็บรักษาของแผ่นแป้งโรตีที่ใส่วัตถุกันเสียชนิดโพแทสเซียมซอร์เบต

-วัดปริมาณไตรเทอปีนและจุลินทรีย์ทั้งหมด 3 ช่วง คือ หลังผสมแป้งโรตีเสร็จ หลังนวดแป้งโรตี และหลังจากนำแป้งโรตีที่นวดไว้ไปให้ความร้อน

-หาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยไมโครเวฟและวิธีอื่นๆที่ให้ค่าปริมาณไตรเทอพีนอยด์ทั้งหมด ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารสำคัญ Asiatic acid และปริมาณสารสำคัญ Asiaticoside สูงทั้ง 4 ค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2558. *Listeria monocytogenes* [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://nih.dmsc.moph.go.th/data/data/fact_sheet/5_58.pdf. 22 มิถุนายน 2568.

กรองกาญจน์ กิ่งแก้ว. 2566. การสกัดสารด้วยคลื่นไมโครเวฟ. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 38(3): 22-23.

กาญจนา ซิงห์ และนิรมล อุตมอ่าง. 2560. ผลของการใช้ไมโครเวฟต่อการสกัดเคอคูมินอย์จากขมิ้นชัน. สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 53.

เกศสุคนธ์ มณีวรรณ และนิตยา คอนสาร. 2561. การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบพลูด้วยคลื่นไมโครเวฟ. แก่นเกษตร. 46(1): 1230-1235.

จรัสศรี ฬียาพรรณ. 2560. การติดเชื้อแคนดิดาที่ผิวหนังและเยื่อบุ. ภาควิชาตจวิทยา. คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล.

จันทรพร ทองเอกแก้ว. 2556. บัวบก: สมุนไพรมากคุณประโยชน์. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 15(3): 70-75.

ทศพร นามโฮง. 2555. การยืดอายุการเก็บรักษาแผ่นแป้งโรตีสายไหม. โครงการวิจัย. สถาบันวิจัยและพัฒนา. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ.

ธนภัทร ทรงศักดิ์. ม.ป.ป. การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรด้วยคลื่นไมโครเวฟ. กลุ่มวิชาเภสัชเวท. คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยรังสิต.

ธีรารัตน์ ภุมรินทร์. 2563. การพัฒนาแผ่นแปะผิวหนังจากสารสกัดบัวบก. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์. คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

นันทพัทธ์ บุญคุ้ม และฐิติกร มหิสนันท์. 2563. ผลของน้ำขมิ้นและน้ำสะระแหน่ต่อคุณภาพของแผ่นแป้งโรตี. *Thai Science and Technology Journal*, 29(5). 791-798.

น้ำอ้อย บุญมาก และบุณยกฤต รัตนพันธุ์. 2568. ผลของกำลังไฟฟ้าและเวลาต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากกากกาแฟโดยเครื่องไมโครเวฟ. รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติครั้งที่ 5. สถาบันวิจัยและพัฒนา. มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.

พินิจพงศ์ สริชัย, ทรงพล พุทธศิริ, บรรยง คันธวะ, ทัตตวรรณ แก้วสาคร และปารเมศ เทียนนิมิตร. 2563. การศึกษาพยาธิกำเนิดของโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลันจากเชื้อแบคทีเรียซาลโมเนลลาไทฟิมูเรียมที่คัดแยกได้จากผู้ป่วยโดยใช้โมเดลหนูทดลอง. การประชุมวิชาการระดับชาติครั้งที่ 7. วิทยาลัยนครราชสีมา. 2020(12): 1048-1057.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. Escherichia coli. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1125/escherichia-coli-e-coli. 12 มิถุนายน 2568.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. Salmonella. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1123/salmonella. 12 มิถุนายน 2568.

มานพ เจริญหไชยตระกูล. 2559. รู้คุณค่าสารสำคัญจากใบบัวบก. โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี. คณะวิศวกรรมศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วรัญญา เฟื่องชุ่ม. 2560. การสกัดสีธรรมชาติจากแก่นฝางโดยใช้เทคนิคไมโครเวฟร่วม. ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร. บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

วรานนท์ ทองอินลา, ชลธิชา วรณวิมลรักษ์ และภารดี ช่วยบำรุง. 2557. ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลไม้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DMPD กับปริมาณฟีนอลิก วิตามินซี วิตามินอี แลเบต้าแคโรทีน. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 19(2): 93-104.

วราภรณ์ กิตติพันธุ์วรกุล และมานพ เจริญไชยตระกูล. 2556. การสกัดสารออกฤทธิ์สำคัญจากบัวบกโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตที่มีตัวทำละลายร่วม. งานประชุมสหวิทยาการระดับชาติสถาบันเทคโนโลยีไทย-ญี่ปุ่น ครั้งที่ 2. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วาสนา ประภาเลิศ, วิมลรัตน์ พจน์ไตรทิพย์ และกิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์. 2561. การศึกษาฤทธิ์ของสารพฤกษเคมีในกล้วยไม้ป่าและแนวทางการขยายพันธุ์สำหรับชุมชน. โครงการวิจัย. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่. หน้า 16 -17.

ศิวาพร ศิวาเวช. 2542. การสุขาภิบาลโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สิวลี รัตนปัญญา. 2564. การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งจากมะม่วง (เมล็ดในและเปลือกมะม่วง) เพื่อใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพในการลดระดับน้ำตาลในเลือด ของกลุ่มวิสาหกิจชุมชนพัฒนาผลิตภัณฑ์ตำบลบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน. โครงการวิจัย. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่. หน้า 15.

อาทิตย์ ดุเจโต๊ะ, ชนวัฒน์ นิทัศน์วิจิตร, กาญจนา นาคประสม, หยาดฝน ทนงการกิจ และนักรบ นาคประสม. 2565. การหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยเทคนิคไมโครเวฟร่วมของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเฉาก๊วย. วิทยาศาสตร์บูรพา. 27(3): 1765-1781.

อารีรัตน์ ซื่อดี. 2560. การใช้คลื่นไมโครเวฟสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย. 11(1): 1-14.

ไอยฤทธิ์ ไทยพิสุทธิกุล. มารู้จัก...เชื้ออีโคไล. 2562. ภาควิชาจุลชีววิทยา. คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล. มหาวิทยาลัยมหิดล.

Alara, O. R., & Abdurahman, N. H. 2019. Microwave-assisted extraction of phenolics from Hibiscus sabdariffa calyces: Kinetic modelling and process intensification. *Industrial Crops and Products*, *137*(2019). 528-535.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bancha, Y., & Adelheid, B. 2018. Boosting the essential oil yield from the rhizomes of cassumunar ginger by an eco-friendly solvent free microwave extraction combined with central composite design. *Journal of Essential Oil Research*, *30*(6). 409-420.

Boonnet, K., Cheunchob, T., Saewan, N., & Thitipramote, N. 2012. Optimization of microwave-assisted extraction of bioactive compounds from leaves and stems of Thai water spinach (Ipomoea aquatic var. aquatic). 1st Mae Fah Luang University International Conference 2012, Thailand.

Faiznur, M. F., Masrina M. N. 2023. Ultrasound-assisted extraction of asiaticoside from *Centella asiatica* using betaine-based natural deep eutectic solvent. *Industrial Crops & Products*, *Vol.192*, 116096, ISSN 0926-6690.

Fuad, F. M. & Nadzir, M. M. 2023. Ultrasound-assisted extraction of asiaticoside from *Centella asiatica* using betaine-based natural deep eutectic solvent. *Industrial Crops & Products*, *192*(2023). 1-14.

Guo, Z., Jin, Q., Fan, G., Duan, Y., Qin, C., & Wen, M. 2001. Microwave-assisted extraction of effective constituents from a Chinese herbal medicine Radix puerariae. *Analytica Chimica Acta*, *436*(1). 41-47.

Katsuwan, P. 2018. Optimization of microwave-assisted extraction of papaya seed oil by response surface methodology. *Srinakharinwirot University Journal of Sciences and Technology*, *10*(20). 76-88.

Masakuni, T., Yukihiro, T., Takeshi, T., & Yasuhito, T. 2014. The Principles of Starch Gelatinization and Retrogradation. *Food and Nutrition Sciences*. *5*(3). 280-291.

Nabet, N., Bienvenida, G. L., Khodir, M., Miguel, H., Elena, I., & Jose A. M. 2019. Optimization of microwave-assisted extraction recovery of bioactive compounds from *Origanum glandulosum* and *Thymus fontanesii*. *Industrial Crops and Products*, *129*(2019). 395-404.

Soubhagya, T., Deepak, K. V., Mamta, T., Nishant, C., Smita, S. & Prem, P. S. 2022. Recent trends in extraction, identification and quantification methods of *Centella asiatica* phytochemicals with potential applications in food industry and therapeutic relevance: A review. *Food Bioscience*, *49*(2022). 1-25.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Subhash, C. M., 2015. Effect of Process Parameters of Microwave Assisted Extraction (Mae) On Natural Product Yield from Onion Peel. *International Journal of Pharmaceutical Sciences And Research*, *6*(8). 3260-3275.

Tako, M., Tamaki, Y., Teruya, T. and Takeda, Y., 2014, The principles of starch gelatinization and retrogradation, *Food and Nutrition Sciences*, *5*: 280-291.

Tatke, P., and Y. Jaiswal. 2011. An Overview of Microwave Assisted Extraction and its Applications in Herbal Drug. *Research Journal of Medicinal Plant*, *5*(1). 21-31.

Wang, Y., You, J., Yu, Y., Qu, C., Zhang, H., Ding, L., Zhang, H., & Li, X. 2008. Analysis of ginsenosides in Panax ginseng in high pressure microwave-assisted extraction. *Food Chemistry*, *110*(1). 161-167.

Wan-Joo, K., Jaehoon, K., Bambang, V., Jae-Duck, K., Youn-Woo, L., Seong-Geun, O., & Raymond, R. T. 2009. Extraction of bioactive components from *Centella asiatica* using subcritical water. *Journal of Supercritical Fluids*, *48*(2009). 211–216.

Yan, M. M., Liu, W., Fu, Y. J., Zu, Y. G., Chen, C. Y., & Luo, M. 2010. Optimization of the microwave-assisted extraction process for four main astragalosides in Radix Astragali. *Food Chemistry*, *119*(4). 1663-1670.

Yingngam, B., Chiangsom, A., & Brantner, A. 2020. Modeling and optimization of microwave-assisted extraction of pentacyclic triterpenes from Centella asiatica leaves using response surface methodology. *Industrial Crops & Products*, *147*(2020). 1-12.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นาย กษิดิศ กุฎีศรี
วัน เดือน ปีเกิด	5 มกราคม 2544
ที่อยู่	42/427 ถนนนิมิตใหม่ 40 แขวง สามวาตะวันออก เขต คลองสามวา กทม.10510
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2556 จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายที่โรงเรียนนวมินทราชินูทิศ สตรีวิทยา 2
	พ.ศ. 2562 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
	พ.ศ. 2568 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการจัดการความปลอดภัยอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้