การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชันโดยใช้วิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง
The Optimization of Dyestuffs Extraction from Butterfly Pea Petal Using Response Surface Methodology

พรรณทิพย์ แสงสุขเอี่ยม[1*] และ ราตรี ซุ่ยหิรัญ[1]

[1]*สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม*
[*]*sangsukaium@gmail.com*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชัน โดยศึกษาตัวแปรที่เกี่ยวข้อง 3 ตัวแปร ได้แก่ 1) ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_1) คือ 45, 60, 90 และ 120 นาที 2) อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (X_2) คือ 29, 60, 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส และ 3) ปริมาณกลีบดอกอัญชัน (X_3) คือ 0.5, 1, 1.5 และ 2 กรัม จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (RSM) ได้ปัจจัยค่ามุม 8 จุด และปัจจัยค่าแกน 5 ระดับ (1.682, 1, 0, -1 และ -1.682) นำข้อมูลที่วิเคราะห์ด้วย RSM มาออกแบบการทดลองแบบประสมกลาง (CCD) ซึ่งประมวลผลด้วยโปรแกรม RGui 386 version 3.2.0 การประมวลผลข้อมูลทำให้ได้แผนการทดลองที่เหมาะสม ในศึกษาการสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชัน 20 แผนการทดลอง จากนั้นทำการทดลองตามทั้ง 20 แผนการทดลอง เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสีย้อม และนำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร มาใช้ในการสร้างสมการถดถอยกำลังสอง ได้สมการ คือ $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_1X_2 + b_5X_2X_3 + b_6X_1X_3 + b_7X_1^2 + b_8X_2^2 + b_9X_3^2$ *และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์* (R^2) *เท่ากับ 0.94 สภาวะที่มีค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุดที่ได้จากสมการถดถอยกำลังสอง คือ สภาวะที่ใช้ระยะเวลาในการสกัด 88 นาที อุณหภูมิ 78 องศาเซลเซียส และปริมาณกลีบดอกอัญชัน 1.68 กรัม เมื่อเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ได้จากการประมวลผล และจากการทดลองจริง พบว่า ทั้งสองวิธีให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ใกล้เคียงกัน*

คำสำคัญ: สภาวะที่เหมาะสม, การสกัดสีย้อม, กลีบดอกอัญชัน, พื้นที่ผิวตอบสนอง, การทดลองแบบประสมกลาง

Abstract

This research aims to optimize the condition for dyestuff extraction from butterfly pea petal. The three independent variable factors included (1) extraction time (X_1): 45, 60, 90 and 120 seconds, (2) extraction temperature (X_2): 29, 60, 70, 80 and 90 degree Celsius, and (3) amount of butterfly pea petals (X_3): 0.5, 1, 1.5 and 2 gram. From the statistical data analysis by response surface methodology (RMS), the factorial points and axial points can be obtained with 8 points and 5 levels, respectively (1.682, 1, 0, -1 and -1.682). The information from RMS was used to conduct central composite design (CCD), which was processed using RGui386 version 3.2.0. The CCD data suggested the numbers of appropriate experiments to study the dyestuff extraction are 20, therefore using 20 experiments to study the optimum condition for the dyestuff extraction, and using the absorbance of the extract at 575 nanometer to construct the second order regression equation, which was drawn as follows: $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_1X_2 + b_5X_2X_3 + b_6X_1X_3 + b_7X_1^2 + b_8X_2^2 + b_9X_3^2$ *with correlation coefficient* (R^2) *0.94. The optimum condition obtained from the equation is at 88 minutes, 78 degree Celsius and 1.68 grams of butterfly pea petals. Comparing between the absorbance of the extract obtained from the equation and the real experiment, it was found that they were nearly equal.*

Keywords: optimization, dyestuffs extraction, butterfly pea petal, response surface methodology, central composite design

1. บทนำ

การสกัดสีย้อมในสมัยโบราณส่วนใหญ่เป็นการสกัดเพื่อนำมาใช้ในการย้อมผ้า โดยใช้วัสดุธรรมชาติมาสกัดสีย้อมตามความต้องการ เช่น สีเหลืองสกัดจากแก่นขนุน สีม่วงสกัดจากผลหว้า สีน้ำเงินจากคราม หรือสีแดงจากตัวครั่ง เป็นต้น ในปีค.ศ. 1856 วิลเลียม เพอร์คิน (William Perkin) ได้พยายามสังเคราะห์ยาควินินเพื่อใช้รักษาโรคมาลาเรีย และพบวิธีการสังเคราะห์สีโดยบังเอิญ (วรภาสดี, ม.ป.ป.) ทำให้มีการพัฒนาสีสังเคราะห์มากขึ้น ซึ่งสีสังเคราะห์ส่วนใหญ่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอเพื่อย้อมผ้าไนลอน หนัง ขนแกะ ผ้าไหม เป็นต้น ความสะดวกในการใช้สีย้อมสังเคราะห์มีมาก ขณะที่สีย้อมธรรมชาติมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ต้องใช้วัตถุดิบปริมาณมากจึงจะได้สีที่เข้ม คุณภาพของสีขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการซึ่งควบคุมยาก และทำให้สีเหมือนเดิมได้ยาก (สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2555) ความต้องการใช้สีย้อมธรรมชาติจึงลดลงตามลำดับ แม้สีสังเคราะห์จะมีประโยชน์มากมาย แต่ผลเสียที่เกิดจากสีสังเคราะห์มีหลายประการ เช่น ผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม ทำให้น้ำเสีย เนื่องจากมีโลหะหนักต่าง ๆ เช่น แคดเมียม ตะกั่ว สารหนู โครเมียม ปรอท ปนเปื้อนในแหล่งน้ำ เมื่อโลหะหนักเหล่านั้นเข้าสู่ร่างกาย จะส่งผลให้เกิดสารก่อมะเร็ง มีผลต่อระบบการทำงานของอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกาย เป็นต้น การหันกลับมาใช้สีที่สกัดจากธรรมชาติจึงเป็นทางหนึ่งที่ช่วยลดปัญหาต่าง ๆ ได้ ผู้วิจัยเห็นว่าอัญชันเป็นพืชท้องถิ่นที่พบทั่วไป ออกดอกทั้งปี สามารถเก็บในรูปดอกสด หรือดอกแห้งได้ สามารถนำมาสกัดสีให้สีฟ้าถึงม่วงนำมาใช้เป็นสีย้อมหรือสีผสมอาหารได้

การสกัดสีย้อมธรรมชาติเพื่อให้ได้ความเข้มของสีที่ดีที่สุด มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายปัจจัย เช่น เวลา อุณหภูมิ ปริมาณสารธรรมชาติที่ใช้ในการสกัด เป็นต้น การศึกษาผลของปัจจัยต่าง ๆ พร้อมกันในเวลาเดียวกัน ทำให้ต้องใช้จำนวนการทดลองเป็นจำนวนมาก ดังนั้นการนำแบบจำลองทางคณิตศาสตร์หรือสมการทางคณิตศาสตร์มาใช้ในการออกแบบการทดลอง เพื่อใช้ในการทำนายและอธิบายความสัมพันธ์ของปัจจัย จะทำให้จำนวนการทดลองน้อยกว่าการศึกษาทีละปัจจัย เนื่องจากการออกแบบการทดลองโดยใช้สมการทางคณิตศาสตร์ช่วยให้การเก็บข้อมูลมีประสิทธิภาพ เป็นการใช้ทรัพยากรในการทดลองคุ้มค่าและมีประสิทธิภาพสูงสุด

จากงานวิจัยของภณิกชา วิชยปรีชา และคณะ (2555) ที่ศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมของยาฟีนาสเตอไรด์ในรูปแบบโปรนิโอโซมด้วยวิธีตอบสนองพื้นผิว โดยศึกษาปัจจัย 3 ปัจจัย คือ ร้อยละของคลอเรสเตอรอล (X_1) ระหว่างร้อยละ 30 -50 ปริมาณไขมันทั้งหมดในตำรับยา (X_2) ระหว่าง 10 – 30 มิลลิโมลาร์ และความเข้มข้นของยาฟีนาสเตอไรด์ (X_3) ระหว่าง 1.5 – 5 มิลลิโมลาร์ พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรนิโอโซมคือ ร้อยละของคลอเรสเตอรอลเท่ากับ 3.39 ปริมาณไขมันทั้งหมดในตำรับเท่ากับ 20.26 มิลลิโมลาร์ และความเข้มข้นของยาฟีนาสเตอไรด์เท่ากับ 3.39 มิลลิโมลาร์ โดยค่าที่ได้จากการศึกษากับค่าที่ได้จากการทำนายมีค่าใกล้เคียงกัน ภณิกชา วิชยปรีชา และคณะ จึงสรุปว่า การออกแบบสูตรตำรับยาฟีนาสเตอไรด์ กักเก็บในโปรนิโอโซมด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง โดยใช้การออกแบบการทดลองแบบประสมกลางเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ ผู้วิจัยจึงเลือกวิธีวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response Surface Design, RSM) ร่วมกับการออกแบบการทดลองแบบประสมกลาง (Central composite design, CCD) ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชัน โดยใช้สมการทางคณิตศาสตร์และการคำนวณทางสถิติมาสร้างสมการถดถอยกำลังสอง (second order regression equation) ซึ่งนำไปสู่การทำนายข้อมูลที่จะนำมาใช้ในการทดลอง เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ของตัวแปรต้นหลายตัวแปรที่ส่งผลต่อตัวแปรตาม ทำให้สามารถทำนายความสัมพันธ์ของตัวแปรต้นหลายตัวแปรในเวลาเดียวกันได้ ช่วยลดความผิดพลาด ลดจำนวนการทดลองจากการศึกษาทีละตัวแปรของวิธีการดั้งเดิมได้ ทำให้ได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาครั้งต่อไป

2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

2.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชัน

2.2 เพื่อใช้วิธีพื้นที่ผิวตอบสนองร่วมกับการออกแบบการทดลองแบบประสมกลาง ในการทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชัน

3. วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

3.1 ดอกอัญชัน

อัญชันมีชื่อภาษาอังกฤษคือ Butterfly pea ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Clitoria ternatea L.* อยู่ในวงศ์ Leguminosae ทางภาคเหนือเรียก แดงชัน หรือเอื้องชัน เป็นไม้เลื้อยเนื้ออ่อน อายุสั้น ใช้ยอดเลื้อยพัน ลำต้นมีขนปกคลุม ลักษณะใบของอัญชันเป็นใบประกอบ

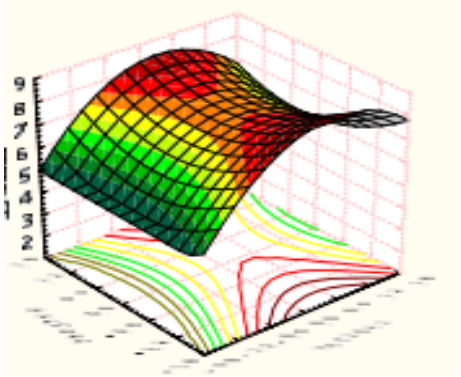
แบบขนนก มีใบย่อยรูปไข่ 5-7 ใบ กว้าง 2-3 เซนติเมตร ยาว 3-5 เซนติเมตร ปลายใบแหลม โคนใบมน ผิวใบด้านล่างมีขนหนาปกคลุม ดอกสีขาว ฟ้า และม่วง ดอกออกเดี่ยว ๆ รูปทรงคล้ายฝาหอยเชลล์ ออกเป็นคู่ตามซอกใบ กลีบดอก 5 กลีบ ดอกบานเต็มที่ยาว 2.5-3.5 เซนติเมตร ดังแสดงในรูปภาพที่ 1

รูปภาพที่ 1 ลักษณะใบและดอกอัญชัน

เนื่องจากดอกอัญชันมีสารแอนโทไซยานินที่ช่วยกระตุ้นให้เลือดเกิดการไหลเวียนไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกายได้ดี คนโบราณนิยมนำน้ำคั้นจากดอกอัญชันไปปลูกผมเพื่อให้ผมดกดำ (สำนักงานหอพรรณไม้, 2553)

3.2 วิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง

วิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology; RSM) เป็นวิธีการทางคณิตศาสตร์และสถิติที่นำมาใช้ในการสร้างแบบจำลอง และวิเคราะห์ปัญหาที่เกิดจากความสัมพันธ์ของตัวแปรหลายตัวแปร เพื่อหาค่าที่ดีที่สุดของความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร ซึ่งจะแสดงความสัมพันธ์ของตัวแปรในรูปกราฟิกสามมิติ ดังแสดงในรูปภาพที่ 2



รูปภาพที่ 2 กราฟิกพื้นที่ผิวตอบสนอง
ที่มา: อิศรพงษ์ พงษ์ศิริกุล, 2550

ทั้งนี้หากกราฟิกที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรตลอดพื้นที่ผิวทั้งหมดมีขนาดใหญ่ การเลือกการออกแบบแผนการทดลองเพื่อให้ครอบคลุมพื้นที่ผิวทั้งหมด สำหรับนำมาใช้ในการหาค่าที่ดีที่สุดของความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรจึงเป็นสิ่งที่ต้องคำนึงถึง

3.3 การออกแบบการทดลองแบบประสมกลาง

การออกแบบการทดลองแบบประสมกลาง (Central composite design; CCD) เป็นการออกแบบการทดลองโดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของตัวแปรต่าง ๆ ที่เมื่อตัวแปรใดตัวแปรหนึ่งเพิ่มหรือลดค่าตัวแปรอื่นอาจเปลี่ยนแปลงไปในลักษณะที่ไม่เป็นเส้นตรง ทำให้ต้องมีการศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นโค้ง (quadratic relationship) การกำหนดสภาวะการทดลองที่จะศึกษาความสัมพันธ์ของตัวแปร ว่าควรมีจำนวนการทดลองกี่การทดลองจึงเหมาะสมและครอบคลุม เช่น ถ้าต้องการศึกษาตัวแปร 3 ตัว จำนวนการทดลองคือ 3^3 = 27 การทดลอง ดังนั้นหากมีการศึกษาตัวแปร 5 ตัวแปร จำนวนการทดลองคือ 3^5 = 234 การทดลอง ซึ่งไม่เหมาะสมกับสถานการณ์ปัจจุบันที่มีทรัพยากรจำกัด ทางออก

ของการแก้ปัญหาคือ การใช้การออกแบบการทดลองแบบประสมกลาง ซึ่งเป็นการออกแบบแผนการทดลองเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของตัวแปรเชิงเส้นโค้ง แต่ใช้จำนวนการทดลองไม่มาก เช่น กรณี 3 ตัวแปรจะใช้เพียง 16 แผนการทดลองเป็นต้น การออกแบบการทดลองแบบประสมกลางเป็นการทดลองที่ 3 ระดับ นิยมแทนด้วยสัญลักษณ์ 10, 0, +1 คือ จะมีการปรับตัวแปรที่ศึกษาตัวแปรละ 3 ค่า โดยทำการเลือกสภาวะการทดลองบางการทดลองที่จำเป็น เพื่อให้ได้ข้อมูลเพียงพอต่อการสร้างแบบจำลองทางสถิติ รูปแบบที่ได้จะยังคงมีผลของตัวแปรหลัก (main effect) ความสัมพันธ์ของตัวแปร (interaction) และสมการกำลังสอง (quadratic terms) โดยใช้ทรัพยากรไม่มาก (จรัล ทรัพย์เสรี, 2552)

ตัวอย่างของการออกแบบการทดลองแบบประสมกลางสำหรับ 3 ตัวแปรประกอบด้วย 3 ส่วน คือ 1. Factorial points เป็นการนำ 2 level full factorial มาเป็นส่วนหนึ่งในการทดลอง 2. Axial points เป็นการปรับค่าตัวแปรใดตัวแปรหนึ่ง โดยให้ตัวแปรอื่นอยู่ที่ค่ากลางคือ 0 และ 3. Center points เป็นการปรับค่าตัวแปรทุกตัวแปรเป็นค่ากลาง ดังแสดงในรูปภาพที่ 3

รูปภาพที่ 3 การออกแบบการทดลองแบบส่วนประสมกลางสำหรับ 3ตัวแปร
ที่มา: จรัล ทรัพย์เสรี, 2552

4. วิธีการดำเนินการวิจัย

4.1 ประเภทของการวิจัย

ใช้วิธีวิจัยเชิงทดลอง (Experimental Research) โดยการทดลอง ร่วมกับการประยุกต์ใช้วิธีทางคณิตศาสตร์และสถิติในการวิเคราะห์ข้อมูลทำนายผล

4.2 วัสดุและอุปกรณ์ ได้แก่

ดอกอัญชัน น้ำกลั่น เครื่องวัดการดูดกลืนแสง หม้ออังไอน้ำ เครื่องชั่งน้ำหนักแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร กระบอกตวงขนาด 50 มิลลิลิตร ชามระเหย

4.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย มีขั้นตอนดังนี้ คือ

4.3.1 การสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชัน

1) ชั่งกลีบดอกอัญชัน 0.5 กรัม สกัดด้วยน้ำ 50 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 29 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการสกัด 45 นาที จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารสกัดที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-Visible spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร บันทึกผล

2) ทำเช่นเดียวกับข้อ (1) แต่เปลี่ยนอุณหภูมิจาก 29 องศาเซลเซียสเป็น 60, 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการสกัดในทุกอุณหภูมิ คือ 45, 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ

3) ทำเช่นเดียวกับข้อ (1) และ (2) แต่เปลี่ยนปริมาณกลีบดอกอัญชันเป็น 1, 1.5 และ 2 กรัม ตามลำดับ

4.3.2 การวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง มีการดำเนินการ คือ

1) กำหนดระดับปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง

2) ออกแบบการทดลองแบบประสมกลาง โดยใช้โปรแกรม RGui386 version 3.2.0

3) สร้างสมการทำนายค่าการดูดกลืนแสงของสีย้อมที่สกัดได้จากกลีบดอกอัญชัน

4) นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง โดยใช้โปรแกรม RGui386 version 3.2.0

5. ผลการดำเนินงานวิจัย

5.1 การสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชัน

เมื่อทำการสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชัน โดยศึกษาตัวแปร 3 ตัวแปร คือ (1) ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด ที่ 45, 60, 90 และ 120 นาที (2) อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด ที่ 29, 60, 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส และ (3) ปริมาณกลีบดอกอัญชัน ที่ 0.5, 1, 1.5 และ 2 กรัม นำสารสกัดสีย้อมที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง พบว่า สภาวะที่สารสกัดให้ค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุด (3.00) คือระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด 120 นาที ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส และใช้กลีบดอกอัญชัน 2 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชันที่มากที่สุดที่สภาวะต่าง ๆ

ปริมาณกลีบดอก(กรัม)	เวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ค่าการดูดกลืนแสง
0.5	45	90	0.849
	60	90	1.347
	90	70	1.401
	120	70	1.515
1.0	45	90	1.526
	60	90	1.811
	90	70	2.544
	120	90	2.753
1.5	45	90	2.304
	60	90	2.634
	90	70/90	2.504
	120	70/90	2.715
2.0	45	90	2.603
	60	90	2.887
	90/120	70	3.000

จากตารางที่ 1 แสดงว่า สภาวะที่สารสกัดให้ค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุด (3.00) คือระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด 90 และ 120 นาที ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส โดยใช้กลีบดอกอัญชัน 2.0 กรัม

5.2 การวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองร่วมกับการออกแบบการทดลองแบบประสมกลาง

การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชัน โดยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองร่วมกับการออกแบบ การทดลองแบบประสมกลางโดยใช้โปรแกรม RGui386 version 3.2.0 ในการประมวลผล ได้ปัจจัยค่าแกน (ระดับของตัวแปร) 5 ระดับ (1.682, 1, 0, -1 และ -1.682) เมื่อนำปัจจัยค่าแกนทั้ง 5 ระดับ มาใช้ในการกำหนดเป็นค่าของตัวแปรอิสระ โดยค่า 1 และ -1 เป็นค่าสูงสุดและค่าต่ำสุดในการออกแบบการทดลองของแต่ละตัวแปรตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2 ส่วนค่าอื่น ๆ (1.682, 0 และ -1.682) โปรแกรมจะทำการประมวลผล ทำให้ได้แผนการทดลองจำนวน 20 แผนการทดลอง สำหรับใช้ในการเลือกสภาวะที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่มีค่ามากที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 2 ตัวแปรอิสระและระดับของตัวแปรที่ศึกษา จากการออกแบบการทดลองแบบประสมกลาง

ตัวแปรอิสระ	ระดับ				
	1.682	1	0	-1	-1.682
X_1	Q	120	Q	45	Q
X_2	Q	90	Q	29	Q
X_3	Q	2	Q	0.5	Q

หมายเหตุ X_1 หมายถึง ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที)
X_2 หมายถึง อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (องศาเซลเซียส)
X_3 หมายถึง ปริมาณกลีบดอกอัญชัน (กรัม)
Q หมายถึง ค่าที่ได้จากการประมวลผลของโปรแกรม RGui386 version 3.2.0

ตารางที่ 3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากกลีบดอกอัญชันที่ได้จากแผนการทดลอง 20 แผนการทดลอง

การทดลองที่	เวลา(นาที)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณกลีบดอกอัญชัน (กรัม)	ค่าการดูดกลืนแสง
1	45	29	0.5	1.2278
2	120	29	0.5	0.458
3	45	90	0.5	0.839
4	120	90	0.5	1.365
5	45	29	2	1.842
6	120	29	2	1.842
7	45	90	2	1.8443
8	120	90	2	2.6033
9	19	59.5	1.25	2.824
10	146	59.5	1.25	1.2289
11	83	8	1.25	1.460778
12	83	111	1.25	2.068778
13	83	59.5	0.01	0.174778
14	83	59.5	2.5	1.699889
15	83	59.5	1.25	2.769
16	83	59.5	1.25	2.824
17	83	59.5	1.25	2.821
18	83	59.5	1.25	2.8093
19	83	59.5	1.25	2.871
20	83	59.5	1.25	2.854

จากตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่า ผลการประมวลผลของโปรแกรมจากการเปลี่ยนแปลงตัวแปรอิสระทั้ง 3 ตัวแปร ได้ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับการประมวลผลในการทดลองที่ 15 – 20 ซึ่งเป็นการประมวลผล ณ บริเวณ center points ที่ใช้สภาวะเดียวกัน ได้ค่าการดูดกลืนแสงแตกต่างกันประมาณ ± 0.01 – 0.05 และพบว่า โดยส่วนใหญ่ค่าการดูดกลืนแสงจะมากเมื่อใช้ระยะเวลาในการสกัด อุณหภูมิ และปริมาณกลีบดอกมาก

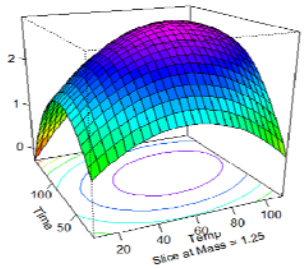
เมื่อนำข้อมูลจากแผนการทดลองที่ได้ มาใช้ในการสร้างสมการถดถอยกำลังสอง (second order regression analysis) เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษาที่มีต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชัน ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.94 ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 สมการถดถอยแบบควบคุมสองตัวแปรที่มีต่อค่าการดูดกลืนแสงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

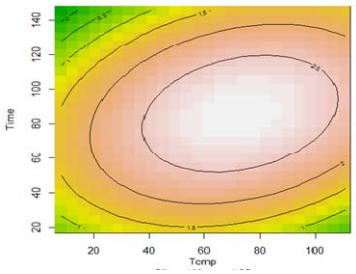
สมการถดถอยแบบควบคุมสองตัวแปร	R^2
$Y = 2.81 - 0.00142X_1 + 0.23923X_2 + 0.565139X_3 + 0.1874306X_1X_2 + 0.0565139X_2X_3 - 0.4782210X_1^2 - 0.2904448X_2^2 - 0.5829906X_3^2$	0.94

หมายเหตุ X_1 หมายถึง ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที)
X_2 หมายถึง อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (องศาเซลเซียส)
X_3 หมายถึง ปริมาณกลีบดอกอัญชัน (กรัม)

หลังจากโปรแกรมสร้างสมการถดถอยกำลังสองและทำการประมวลผล จะแสดงสภาวะที่เหมาะสมที่สุด(stationary point) ในการสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชันที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุด ในรูปกราฟสามมิติ ดังแสดงในรูปภาพที่ 4 และ 5

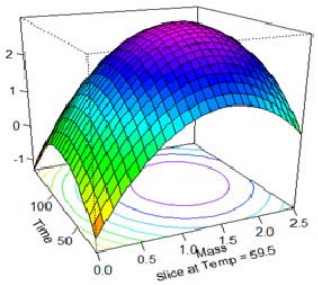


(ก)

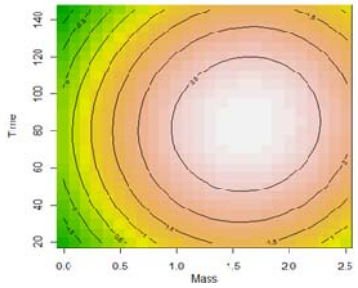


(ข)

รูปภาพที่ 4 กราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาและอุณหภูมิในการสกัด



(ก)



(ข)

รูปภาพที่ 5 กราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาและปริมาณกลีบดอกอัญชันในการสกัด

จากกราฟสามมิติพบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสีย้อมดอกกลีบดอกอัญชัน คือ ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด 88 นาที อุณหภูมิ 78 องศาเซลเซียส และปริมาณกลีบดอกอัญชัน 1.68 กรัม ได้ค่าการดูดกลืนแสงของสีย้อมที่สกัดได้เท่ากับ 3.051

เมื่อนำสภาวะที่ได้จากการประมวลผลของโปรแกรมมาทำการทดลองเพื่อทดสอบซ้ำ 3 ซ้ำ พบว่า ได้ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยจากการทดลองเพื่อทดสอบซ้ำ มีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการประมวลผลด้วยโปรแกรมคือ 2.995 ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ค่าการดูดกลืนแสงจากการทดสอบเพื่อยืนยันการหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัด

เวลา (นาที)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณกลีบดอก (กรัม)	ค่าการดูดกลืนแสง
88	78	1.68	2.986
88	78	1.68	3.000
88	78	1.68	3.000
		เฉลี่ย	2.995

จากการทดสอบซ้ำเพื่อยืนยันการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง แสดงให้เห็นว่าการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชัน โดยประยุกต์ใช้วิธีวิเคราะห์ข้อมูลทางคณิตศาสตร์และสถิติด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (RSM) ร่วมกับการออกแบบการทดลองแบบประสมกลาง (CCD) พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยจากผลการทดสอบซ้ำ (2.995) มีค่าใกล้เคียงกับค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการประมวลผลด้วยโปรแกรม (3.051)

6. บทสรุป

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชัน จากตัวแปรอิสระ 3 ตัวแปร คือ ระยะเวลาในการสกัด (X_1) อุณหภูมิในการสกัด (X_2) และปริมาณกลีบดอกอัญชันที่ใช้ในการสกัด (X_3) ผลของสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชันดูจากค่าที่มากที่สุดในการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร ซึ่งวัดด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-Visible spectrophotometer) โดยประยุกต์ใช้วิธีวิเคราะห์ข้อมูลทางคณิตศาสตร์และสถิติด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (RSM) ร่วมกับการออกแบบการทดลองแบบประสมกลาง (CCD) และประมวลผลด้วยโปรแกรม RGui386 version 3.2.0 พบว่า ตัวแปรทั้ง 3 ตัวแปร มีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน ซึ่งสามารถแสดงในรูปของสมการสำหรับทำนายค่าการดูดกลืนแสงของสีย้อมที่สกัดได้จากกลีบดอกอัญชัน คือความเข้มของแสงที่สกัดได้เท่ากับ $2.81 - 0.00142X_1 + 0.23923X_2 + 0.565139X_3 + 0.1874306X_1X_2 + 0.0565139X_2X_3 - 0.4782210X_1^2 - 0.2904448X_2^2 - 0.5829906X_3^2$ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.94 เมื่อนำมาหาค่าปัจจัยที่เหมาะสมที่สุด (stationary point) พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชันคือ ระยะเวลาในการสกัดที่ 88 นาที อุณหภูมิ 78 องศาเซลเซียส โดยใช้ปริมาณกลีบดอกอัญชัน 1.25 กรัม จะได้ค่าการดูดกลืนของแสงจากสีย้อมที่สกัดได้สูงสุดคือ 2.955 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.94 ซึ่งใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการประมวลผลจากโปรแกรม (3.051) และใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการทดลองจริง (3.000) ที่ใช้ระยะเวลาในการสกัด 120 นาที อุณหภูมิ 90°C ปริมาณกลีบดอกอัญชัน 2 กรัม

7. อภิปรายผลการวิจัย

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชัน โดยประยุกต์ใช้วิธีวิเคราะห์ข้อมูลทางคณิตศาสตร์และสถิติด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (RSM) ร่วมกับการออกแบบการทดลองแบบประสมกลาง (CCD) ทำให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสีย้อมจากกลีบดอกอัญชันคือ ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด 88 นาที อุณหภูมิ 78 องศาเซลเซียส ปริมาณกลีบดอกอัญชัน 1.25 กรัม ให้ค่าการดูดกลืนแสงของสีย้อมที่สกัดได้สูงสุดคือ 3.051 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.94 เมื่อทำการทดสอบซ้ำพบว่า มีค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยคือ 2.995 ซึ่งใกล้เคียงกับค่าประมวลผล ทำให้เชื่อได้ว่าการประยุกต์ใช้วิธีพื้นที่ผิวตอบสนองร่วมกับการออกแบบการทดลองแบบประสมกลาง เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการนำมาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารได้

8. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐมที่ได้สนับสนุนทุนวิจัย (ทุนอุดหนุนวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2557 โครงการวิจัยบูรณาการนักศึกษาและอาจารย์ เพื่อการพัฒนาท้องถิ่นและความเป็นเลิศทางวิชาการ)

9. เอกสารอ้างอิง

จรัล ทรัพย์เสรี. (2552). **DOE Central Composite Design**. ค้นเมื่อ 25 กันยายน 2556 จาก www.tpa.or.th/publisher/pdfFileDownloadS/FQ145_p72-74.pdf

วรภาสดี. (ม.ป.ป.). **ประวัติสีย้อมผ้า**. ค้นเมื่อ 22 กันยายน 2556 จาก http://www.vorabhasd.co.th/Adv_History.htm

ภณิกชา วิชยปรีชา และคณะ. (2555). การหาสภาวะที่เหมาะสมของยาฟีนาสเตอไรด์ในรูปแบบโปรนิโอโซมด้วยวิธีตอบสนองพื้นผิว. **The 4th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2012 "Pharmacy Profession in Harmony" Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University,** 2012 (February 11 - 12), 105 – 111.

สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. (2553). **สารานุกรมพืชในประเทศไทย**. ค้นเมื่อ 25 กันยายน 2556 จาก web3.dnp.go.th/botany/detail.aspx?words=อัญชัน

สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. (2555). **สีจากธรรมชาติ.** ค้นเมื่อ 22 กันยายน 2556 จาก fieldtrip.ipst.ac.th

อิศรพงษ์ พงษ์ศิริกุล. (2550). **การวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปสำหรับอุตสาหกรรมเกษตร**. ค้นเมื่อ 20 กันยายน 2556 จาก 202.28.24.44/e_books/issrapong/stat.html