



การนำเสนอโครงงานของนักเรียนโครงการห้องเรียนพิเศษวิทยาศาสตร์ คณิตศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม

โรงเรียนอุทัยวิทยาคม

การเปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp.

A comparison of polyphenol contents extracted from spinach and cocoa beans using different extraction methods and solvents to inhibit the growth of *Salmonella* spp.

คณะผู้จัดทำโครงงาน : นางสาววิชา เกล้าวิกรณ์ นางสาวบัณฑิตริกา รักอู่ นางสาวพัทธจิรา นานาวัน
ครูที่ปรึกษาโครงงาน : นางสาววีรญาดา บางแบ่ง นายภาค อินสิงห์

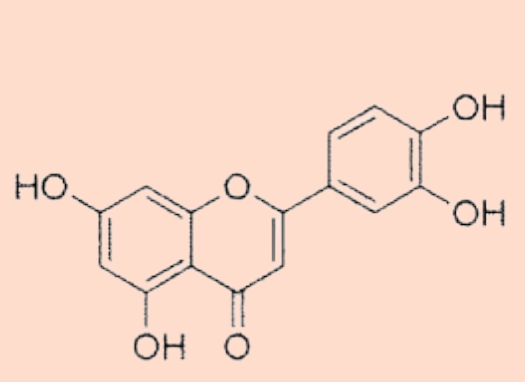
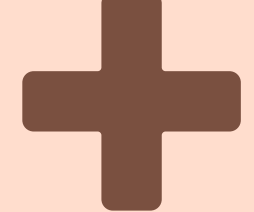
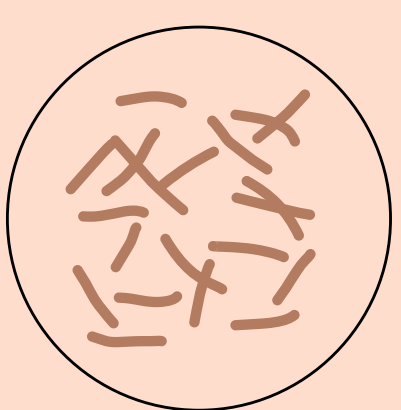
บทคัดย่อ

โครงงานการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1. ศึกษาวิธีการสกัดโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 2. เปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 3. เปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Salmonella* spp. จากโพลีฟีนอลที่ได้ โดยมีวิธีการทดลอง 3 ขั้นตอน คือ นำเนื้อโกโก้มาเพาะเลี้ยงเชื้อ *Salmonella* spp. และเตรียมเมล็ดโกโก้โดยนำเมล็ดโกโก้มาหมักและคั่ว การเตรียมผักโขมให้นำไปอบ และนำพืชทั้งสองชนิดบดจนละเอียดพร้อมนำไปสกัด ซึ่งการสกัดมี 2 วิธี คือ สกัดแบบแช่ (Solking) และสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับ (Reflux extraction) จากนั้นนำไปตรวจสอบหาโพลีฟีนอลด้วยวิธี UV-Vis Spectrophotometer โดยวัดค่าดูดกลืน UV เพื่อนำไปหาค่าปริมาณความเข้มข้นโพลีฟีนอล โดยสร้างกราฟเพื่อเปรียบเทียบผล จากการทดลองวัดค่าการดูดกลืน UV ที่ความยาวคลื่น 190-400 นาโนเมตร ซึ่งโพลีฟีนอลอยู่ในช่วงคลื่นที่ 280 นาโนเมตร โดยจะตรวจสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดย Disc diffusion test ซึ่งเป็นการหา Clear zone โดยเปรียบเทียบกับโพลีฟีนอลที่สกัดได้จากการสกัดแบบแช่และการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน คือ น้ำ เอทานอล 70% และเอ็กเซน

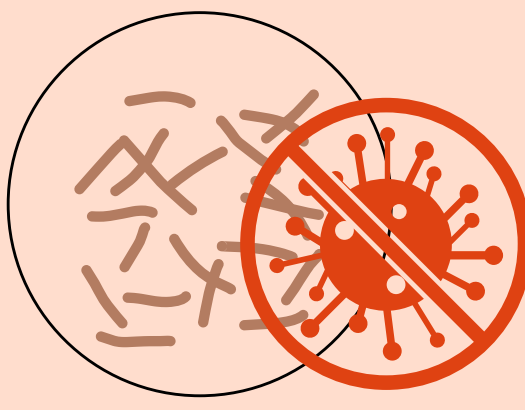
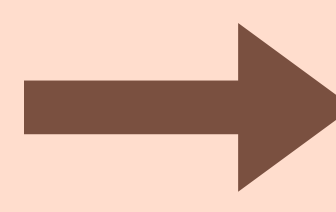
จากการทดลองพบว่า ลักษณะของสารที่สกัดได้จะแตกต่างกันตามวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่ใช้สกัด โดยสารสกัดจากผักโขมด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ในตัวทำละลายน้ำ มีปริมาณความเข้มข้นของโพลีฟีนอลมากที่สุด และประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. สามารถยับยั้งได้ สารสกัดที่สามารถยับยั้งได้มาจากการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอล 70% โดยสารสกัดจากผักโขมด้วยการสกัดแบบแช่ในตัวทำละลายเอทานอล 70% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้มากที่สุด และรองลงมา คือ สารสกัดจากผักโขมด้วยการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับในตัวทำละลายน้ำ

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ



วิธีการสกัดและ
ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน



แบคทีเรีย *Salmonella* spp. สกัดโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ ยับยั้งแบคทีเรีย *Salmonella* spp.

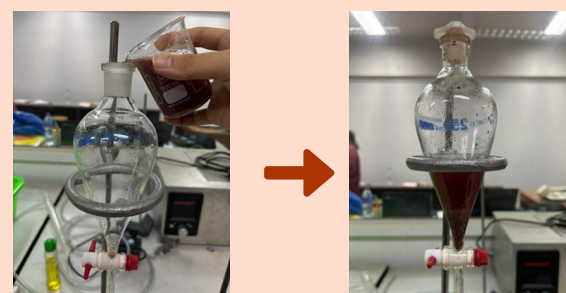
วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน
2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน
3. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. จากโพลีฟีนอลที่ได้

วิธีการทดลอง

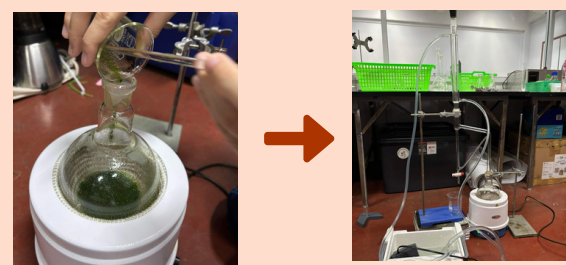
ตอนที่ 1 เพื่อศึกษาวิธีการสกัดโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

1. การสกัดสารแบบแช่



ทำซ้ำโดยเปลี่ยนพืชเป็นผักโขม
จากนั้นทำซ้ำทั้งหมดเปลี่ยน
ตัวทำละลายเป็นเอ็กเซนและน้ำ

2. การสกัดสารแบบร้อนแบบไหลย้อนกลับ



ทำซ้ำโดยเปลี่ยนพืชเป็นเมล็ดโกโก้
จากนั้นทำซ้ำทั้งหมดเปลี่ยน
ตัวทำละลายเป็นเอ็กเซนและน้ำ

การเตรียมตัวอย่างผักโขม

นำเข้าสู่อบแห้ง 60 องศาเซลเซียส
เวลา 3 ชั่วโมง

การเตรียมตัวอย่างเมล็ดโกโก้

หมักโกโก้ในใบตองแบบไม่มีอากาศ 3 วัน และแบบมี
อากาศ 4 วัน จากนั้นตากแดดและนำมาให้ความร้อน

ตอนที่ 2 เพื่อเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

การตรวจสอบหาสารโพลีฟีนอลโดยกระบวนการ UV-Vis spectrophotometer



ตรวจความยาวคลื่นที่ 190 – 400 นาโนเมตร สังเกตผลจากกราฟที่แสดง
จุดพีกของโพลีฟีนอล โดยสังเกตช่วงความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

ตอนที่ 3 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้ง *Salmonella* spp. ของโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้



สังเกต Clear zone ที่เกิดขึ้น
และวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง

Cross streak plate Discs diffusion test

เอกสารอ้างอิง

ปิยะดา พันธุ์สระน้อย. (2561). ปริมาณฟีนอลรวมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของส่วนสกัดจากโสน. สืบค้นเมื่อ 11 กันยายน 2566, จาก http://www.thapra.lib.su.ac.th/objects/thesis/fulltext/snamcn/Arunwan_Rattnadethkamchai/Fulltext.pdf

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 เพื่อสกัดโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน



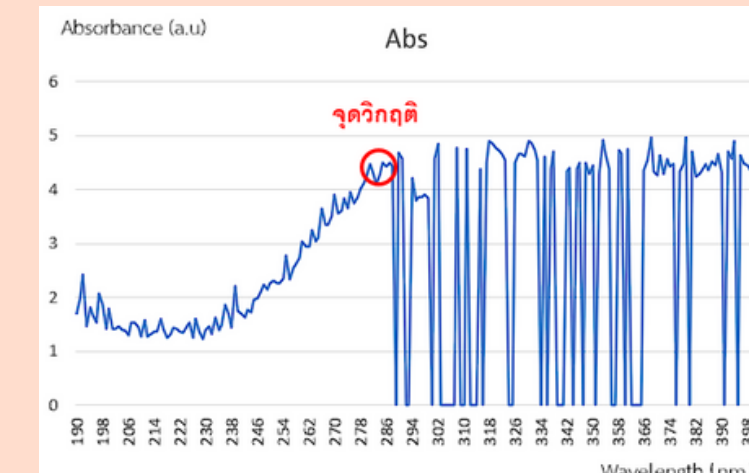
สารที่สกัดด้วยวิธีสกัดแบบแช่
จากผักโขม
ในตัวทำละลายน้ำเปล่า



สารที่สกัดด้วยวิธี
สกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับ
จากเมล็ดโกโก้
ในตัวทำละลายเอทานอล 70%

สารที่สกัดด้วยวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน จะได้ลักษณะสีของสารแตกต่างกัน
และมีกลิ่นเฉพาะตัวของสารนั้น ๆ ตามชนิดของพืชและตัวทำละลายที่ใช้

ตอนที่ 2 เพื่อการเปรียบเทียบความเข้มข้นของโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน



พบว่า กราฟค่าดูดกลืนรังสี UV ในช่วงคลื่น 280 นาโนเมตร สารที่สกัด
จากผักโขมด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ ในตัวทำละลายน้ำ มีปริมาณความเข้มข้น
ของโพลีฟีนอลมากที่สุด ทราบจากการสังเกตกราฟ จะมีจุดวิกฤตที่สูงกว่า
การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 70% และเอ็กเซน

ตอนที่ 3 ผลเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. ของโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้



ตัวทำละลาย
เอทานอล 70%



ตัวทำละลายน้ำ

ขนาดของ Clear zone โดยทราบจากรัศมี สารสกัดจากตัวทำละลาย
2 ชนิด จากตัวทำละลายเอทานอล 70% จะพบว่าสารสกัดจะสามารถยับยั้ง
ได้หลายสารสกัดและยังมีขนาดโดยเฉลี่ยที่มากกว่าสารสกัดจากตัวทำละลาย
น้ำสามารถยับยั้งได้น้อยกว่าและมีขนาดโดยเฉลี่ยที่น้อยกว่า
ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเอทานอล 70% เป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด

สรุปและอภิปรายผล

ตอนที่ 1 จากการสกัดโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีการสกัดแบบแช่และวิธีการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำ เอทานอล 70% และเอ็กเซน โดยสารสกัดที่ได้จะมีลักษณะเป็นของเหลว มีกลิ่นแตกต่างกันไปตามตัวทำละลาย ซึ่งลักษณะของสารที่ได้ก็จะแตกต่างกันไปตามวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่ใช้

ตอนที่ 2 ผลการเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นของโพลีฟีนอลจากสารที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ที่สกัดด้วยวิธีและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน สามารถสรุปได้ว่า โพลีฟีนอลจากผักโขมด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ในตัวทำละลายน้ำ มีกราฟค่าดูดกลืนรังสี UV สูงที่สุดจึงมีปริมาณความเข้มข้นของโพลีฟีนอลมากที่สุด

ตอนที่ 3 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. โดยนำไปทดสอบเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพด้วยวิธี Disc diffusion test แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้มีสารต้านอนุมูลอิสระและสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Salmonella* spp. ได้ โดยโพลีฟีนอลจากผักโขมด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ในตัวทำละลายเอทานอล 70% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้มากที่สุด

ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาเกี่ยวกับการสกัดโพลีฟีนอลด้วยวิธีการอื่นๆให้มีความหลากหลาย
2. สามารถนำข้อมูลเกี่ยวกับการสกัดโพลีฟีนอลไปต่อยอดเกี่ยวกับการทำงานด้านชีวภาพได้

โรงเรียนโครงการห้องเรียนพิเศษวิทยาศาสตร์ คณิตศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม

เครือข่ายภาคกลางตอนบน วันที่ 22- 23 สิงหาคม 2567