รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การสกัดสารพรีไบโอติกส์จากเมล็ดขนุนและเปลือกตาลโตนดด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
วิทยาเขตหาดใหญ่

ผู้วิจัย ผศ.ดร.ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์
ผศ.ดร.ราม แย้มแสงสังข์
ผศ.ดร.กุลชนาฐ ประเสริฐสิทธิ์

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย จากเงินรายได้
คณะวิศวกรรมศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2550

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารพรีไบโอติกส์จากพืชเกษตรด้วยเครื่องสกัดแบบแบชท์ ซึ่งพืชที่ใช้ในการทดลองได้แก่เปลือกลูกตาลส่วนที่หุ้มเนื้อและเมล็ดขนุน จากผลการทดลองพบว่า แม้สารสกัดจากเปลือกลูกตาลจะมีความสามารถในส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* แต่เมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วย HPLC พบองค์ประกอบของน้ำตาลที่เป็นพรีไบโอติกส์เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ในขณะที่พบในเมล็ดขนุนมากกว่า ดังนั้นในการทดลองจึงมุ่งเน้นไปที่การใช้เมล็ดขนุน โดยเมล็ดขนุนถูกนำมาสกัดที่สภาวะต่างๆ กันด้วยชุดทดลองขนาดเล็กเพื่อศึกษาผลของชนิดตัวทำละลาย (น้ำกลั่น,เอทานอล 50% และ เอทานอล 95%) ขนาดของเมล็ดขนุน (1.0-2.0, 2.0-2.8 and 2.8-5.6 มม.) และอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลาย (1:2, 1:4, 1:6 และ 1:8 น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยพิจารณาจากผลได้ของสารสกัดเพื่อนำสภาวะดังกล่าวมาทดลองกับเครื่องสกัดแบบแบทช์ พบว่า สภาวะที่เหมาะสมคือตัวทำละลายเอทานอล 50% ขนาดเมล็ดขนุน 1.0-2.0 มม. และอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลาย 1:8 จากนั้นทำการศึกษาผลของอุณหภูมิ (30 และ 60 องศาเซลเซียส) และเวลาในการสกัด (0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 360 และ 480 นาที) ด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ สารที่ได้จากการสกัดถูกนำไปหาผลได้ของสารสกัด น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ซึ่งเป็นส่วนที่คาดว่าน่าจะเป็นสารพรีไบโอติกส์ และตั้งแต่ระยะเวลาในการสกัด 90 นาทีพบว่า ผลได้ของสารสกัดเริ่มเข้าสู่สภาวะสมดุล และที่อุณหภูมิในการสกัด 60 องศาเซลเซียส ให้ผลได้ของสารสกัดมากกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ค่าน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ก็มีค่ามากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองด้วยชุดทดลองขนาดเล็ก ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแบบแบทช์คือ ตัวทำละลายเอทานอล 50% ขนาดเมล็ดขนุน 1.0-2.0 มม. อัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:8 อุณหภูมิในการสกัด 30 องศาเซลเซียส และเวลาในการสกัด 90 นาที

Abstract

This research aims to study the optimum condition of prebiotics extraction from agricultural plants using a batch extractor. The agricultural plants to be studies are sugar palm shells, which cover the palm kernels, and jackfruit seeds. Although the extracted samples from sugar palm shells could promote growth of *Lactobacillus plantarum*, but low amount of the prebiotic sugars determined by HPLC were found. Higher amount of prebiotic sugars were gained from extracted samples of jackfruit seeds. Thus, further experiments were focused on jackfruit seeds. Jackfruit seeds were extracted in a lab scale using beakers to determine the optimal extraction condition. The effects of different solvents (distilled water, 50% ethanol, and 95% ethanol), particle sizes of ground jackfruit seeds (1.0-2.0, 2.0-2.8 and 2.8-5.6 mm), and solid to solvent ratios (1:2, 1:4, 1:6 and 1:8 w/v) were investigated. Based on total solids (%yield) obtained, optimal condition from the lab scale were translated into batch scale study. In this case, the optimal condition of 50% ethanol as a solvent, a jackfruit seed particle size of 1.0-2.0 mm, and a solid to solvent ratio of 1:8, was applied in order to investigate effects of extraction temperature (30 and 60°C) and extraction time (0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 360 and 480 minutes). The resulting extracts were analyzed for total solids, total sugar, reducing sugar and non-reducing sugar. After the extraction time of 90 minutes, extraction equilibrium was reached and that jackfruit seeds extracted at 60°C only had slightly higher percent yield of prebiotics compared to the 30°C. Furthermore, the lower extraction temperature also produced a higher yield of non-reducing sugar which agreed well with the lab scale result. Therefore, optimum conditions for the batch extraction of prebiotics from jackfruit seeds were 50% ethanol as the solvent, particle size of 1.0-2.0 mm, solid to solvent ratio of 1:8, extraction temperature of 30°C and the extraction time of 90 minutes.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณสมคิด จีนาพงศ์ ที่ให้คำแนะนำในการปรับปรุงเครื่องมือ คุณสุพจน์ นวลละออง ผู้ช่วยวิจัย ภาควิชาวิศวกรรมเคมีที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย ขอบคุณทุนวิจัยจากโครงการสมองไหลกลับ สวทช. ที่สนับสนุนทุนวิจัยส่วนหนึ่ง และสุดท้ายขอขอบคุณคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ในการสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์
ราม แย้มแสงสังข์
กุลชนาฐ ประเสริฐสิทธิ์
ผู้จัดทำ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
Abstract	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
รายการตาราง	จ
รายการภาพประกอบ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	2
วัตถุประสงค์	18
ประโยชน์ที่ได้รับ	18
บทที่ 2 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย	19
วัตถุดิบ	19
สารเคมี	19
อุปกรณ์	19
วิธีการทดลอง	20
บทที่ 3 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	28
การสกัดเปลือกลูกตาลในชุดทดลองขนาดเล็ก	28
การสกัดสารพรีไบโอติกส์จากเมล็ดขนุนด้วยชุดทดลองขนาดเล็ก	37
การสกัดเมล็ดขนุนด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง	40
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	51
บรรณานุกรม	53
ภาคผนวก-ผลงานเผยแพร่	55

รายการตาราง

ตารางที่ 1 การคัดเลือกพืชเพื่อใช้เป็นแหล่งของพรีไบโอติกส์ 9
ตารางที่ 2 สถิติการปลูกขนุนหนังแยกรายภาค.....11
ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบโดยใช้เครื่อง HPLC 37
ตารางที่ 4 ผลของอุณหภูมิต่อผลได้ของสารสกัดและน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์.....49

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบที่ 1 ภาพวาด 3 มิติของชุดสกัดแบบแบทช์.....21
ภาพประกอบที่ 2 ชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง 21
ภาพประกอบที่ 3 ผลของอุณหภูมิต่อผลได้ของสารสกัด 29
ภาพประกอบที่ 4 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด.....29
ภาพประกอบที่ 5 ผลของเวลาต่อผลได้ของสารสกัด.....30
ภาพประกอบที่ 6 ผลของเวลาต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด.....31
ภาพประกอบที่ 7 ผลของอัตราส่วนระหว่างเปลือกลูกตาลกับตัวทำละลายต่อผลได้ของสารสกัด 32
ภาพประกอบที่ 8 ผลของอัตราส่วนระหว่างเปลือกลูกตาลกับตัวทำลายต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 32
ภาพประกอบที่ 9 ผลของชนิดของตัวทำละลายต่อผลได้ของสารสกัด.....33
ภาพประกอบที่ 10 ผลของชนิดของตัวทำละลายต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด.....34
ภาพประกอบที่ 11 การเจริญของแบคทีเรียโปรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* เมื่อใช้สารสกัดจากเปลือกลูกตาล.....35
ภาพประกอบที่ 12 การเจริญของแบคทีเรียโปรไบโอติก Lactobacillus acidophilus เมื่อใช้สารสกัดจากเปลือกลูกตาล.....36
ภาพประกอบที่ 13 ผลได้ของสารสกัดเมื่อสกัดด้วยชุดทดลองขนาดเล็กโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย.....38
ภาพประกอบที่ 14 ผลได้ของสารสกัดเมื่อสกัดด้วยชุดทดลองขนาดเล็กโดยใช้เอทานอล 50% เป็นตัวทำละลาย 39
ภาพประกอบที่ 15 ผลได้ของสารสกัดเมื่อสกัดด้วยชุดทดลองขนาดเล็กโดยใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย 39
ภาพประกอบที่ 16 ผลได้ของสารสกัดเมื่อตัวทำละลายเป็นน้ำกลั่น เอทานอล 50% และเอทานอล 95% 40
ภาพประกอบที่ 17 บริเวณของจุดเก็บตัวอย่าง.....41
ภาพประกอบที่ 18 ผลได้ของสารสกัดจากเมล็ดขนุนกับเวลาโดยการสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์เมื่ออุณหภูมิในการสกัดเป็น 30 ^{O}C.....42
ภาพประกอบที่ 19 ผลได้ของสารสกัดจากเมล็ดขนุนกับเวลาโดยการสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์เมื่ออุณหภูมิในการสกัดเป็น 60 ^{O}C.....43
ภาพประกอบที่ 20 ผลได้ของสารสกัดจากเมล็ดขนุนกับเวลาโดยการสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์อุณหภูมิในการสกัด 30 ^{O}C เมื่อมีลูกแก้วและไม่มีลูกแก้ว 44
ภาพประกอบที่ 21 ภาพถ่ายด้านบนในการใช้แผ่นตะแกรงแยกในการบรรจุวัตถุดิบ.....45

ภาพประกอบที่ 22 ภาพถ่ายด้านข้างในการใช้แผ่นตะแกรงแยกในการบรรจุวัตถุดิบ 46
ภาพประกอบที่ 23 ผลได้ของสารสกัดจากเมล็ดขนุนกับเวลาโดยการสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ อุณหภูมิในการสกัด 30 และ 60 ^{o}C เมื่อมีการใช้แผ่นตะแกรง.....46
ภาพประกอบที่ 24 แผ่นตะแกรงและถังตะแกรงสแตนเลส.....47
ภาพประกอบที่ 25 ผลได้ของสารสกัดเมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล 50%.....48
ภาพประกอบที่ 26 ปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล 50%.....49

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปัจจุบันมนุษย์มีปัญหาเกี่ยวกับสุขภาพมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนไป การใช้ชีวิตประจำวันที่สะดวกสบาย ไม่มีเวลาในการออกกำลังกายเพื่อดูแลสุขภาพ รวมไปถึงพฤติกรรมการรับประทานอาหารที่เปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้ร่างกายมีความเสี่ยงในการเกิดโรคต่างๆได้ง่าย เช่น ระบบภูมิคุ้มกันลดลง โรคมะเร็ง ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดสูง รวมไปถึงโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารต่างๆ เช่น ท้องเสีย ท้องร่วง ลำไส้อักเสบ การติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร เป็นต้น ทำให้มนุษย์เล็งเห็นความสำคัญในการดูแลสุขภาพมากขึ้น ซึ่งวิธีการหนึ่งที่สามารถลดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่างๆ เหล่านี้ได้คือ การรักษาสมดุลของจุลชีพที่อยู่ในร่างกาย โดยในร่างกายของเรามีจุลินทรีย์อยู่ 2 ชนิด ได้แก่ จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ (Beneficial microorganisms) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกส์ และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (Pathogenic microorganisms) โดยส่วนใหญ่จะอยู่ในลำไส้ใหญ่ ดังนั้นการเจริญของโปรไบโอติกส์และการส่งเสริมสุขภาพจึงขึ้นอยู่กับอาหารที่รับประทานเข้าไป โดยอาหารที่สามารถส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เรียกว่า พรีไบโอติกส์ มีคุณสมบัติคือ ไม่ถูกย่อยด้วยกรดในกระเพาะอาหารและเอนไซม์ในลำไส้เล็กและสามารถเคลื่อนไปยังลำไส้ใหญ่ในสภาพที่สมบูรณ์ ทั้งนี้การรับประทานอาหารในกลุ่ม พรีไบโอติกส์ จะช่วยกระตุ้น ส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ เช่น *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus* แต่ไม่ส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค พรีไบโอติกส์คือสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีกลุ่ม โมโนแซคคาไรด์ตั้งแต่ 3 หน่วยขึ้นไป ได้แก่ โอลิโกแซคคาไรด์และโพลีแซคคาไรด์ เช่น ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ กาแลกโตโอลิโก-แซคคาไรด์ และอินนูลิน มีประโยชน์ในการช่วยป้องกันและลดอาการท้องเสียที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ป้องกันโรคลำไส้อักเสบ ป้องกันการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ช่วยในการย่อยและการดูดซึมสารอาหารเข้าสู่ร่างกาย และช่วยให้ระบบเมตาบอลิซึมของไขมันดีขึ้น มีผลช่วยลดคอเลสเตอรอลชนิด LDL ได้ พรีไบโอติกส์สามารถสกัดได้จากพืชอาหาร และการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์ แต่อย่างไรก็ตามองค์ประกอบที่ใช้กันแพร่หลายในท้องตลาดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสังเคราะห์ โดยมีการพบและรายงานถึงแหล่งของ

พรีไบโอติกส์ที่ได้จากธรรมชาติในพืชหลายชนิดได้แก่ ชิโครี หัวหอมใหญ่ อาร์ติโชก หน่อไม้ฝรั่ง กล้วย กระเทียม ถั่วเหลือง ขนุน ลูกตาล เงาะ จำปาดะ มะพร้าวอ่อน ฯลฯ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการนำไปสู่การพัฒนาการผลิตพรีไบโอติกส์จากพืชธรรมชาติต่อไป

ปัจจุบันนักวิจัยได้หันมาให้ความสนใจในการสกัดสารอาหารกลุ่มพรีไบโอติกส์จากพืชธรรมชาติมากขึ้นเช่น การสกัดโอลิโกแซกคาไรด์จากถั่วเหลือง (Kim *et al.,* 2003*)* การสกัด Raffinose family oligosaccharides (RFOs) ใน Leguminous vine peas (Ekvall *et al*., 2006) เป็นต้น ซึ่งพบว่าประเทศไทยมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการสกัดพรีไบโอติกส์จากธรรมชาติเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ในขณะที่ประเทศไทยมีพืชที่มีศักยภาพในการเป็นแหล่งพรีไบโอติกส์อยู่หลายชนิด โดยส่วนใหญ่แล้วเป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นไปที่การศึกษาการสกัดสารพรีไบโอติกส์จากพืชเกษตรในขนาดโรงงานจำลอง โดยมีการจัดสร้างเครื่องสกัดแบบแบทช์ขึ้นเพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารพรีไบโอติกส์ รวมไปถึงการคัดเลือกชนิดของพืชที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการทดลองดังกล่าว สามารถนำไปใช้เพื่อเป็นแนวทางในการปรับปรุงและพัฒนาเครื่องสกัดสารพรีไบโอติกส์จากธรรมชาติต่อไป อีกทั้งได้ทราบถึงสภาวะเบื้องต้นในการสกัดสารพรีไบโอติกส์จากพืชธรรมชาติ

การตรวจเอกสาร

1. ฟังชันนัลฟูดส์ (Functional foods)

ในความหมายทางวิทยาศาสตร์อาหาร ฟังชันนัลฟูดส์ คือ อาหารที่มนุษย์บริโภคเข้าไปแล้วให้ประโยชน์หรือคุณสมบัติอื่นๆ ต่อสุขภาพนอกเหนือจากคุณค่าทางโภชนาการพื้นฐาน ซึ่งได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน วิตามินและเกลือแร่ ซึ่งสมบัติพิเศษที่ได้รับนี้มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค ส่วนใหญ่เป็นการช่วยลดอัตราเสียงเสี่ยงต่อการเกิดโรค เช่น ช่วยลดปริมาณคอเลสเทอรอลในเลือด ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคกระดูกพรุน มีผลต่อการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง โรคอ้วน โรคเบาหวาน ตลอดจนมีผลต่อการเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย อาหารหลายชนิดที่จัดเป็นฟังชันนัลฟูดส์และพบได้ในชีวิตประจำวันมีมากมายหลายชนิด เช่น โปรไบโอ-ติกส์ พรีไบโอติกส์ ธัญพืช เส้นใยอาหาร ตลอดจนสารเคมีพืช หรือที่เรียกว่า ไฟโทเคมีคัล (Phytochemicals)

2. โปรไบโอติกส์ (Probiotics)

โปรไบโอติกส์ หมายถึงกลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ มีผลต่อความสมดุลของจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้ สามารถทนต่อสภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะอาหารและทนต่อเกลือน้ำดีในลำไส้ ซึ่งพบได้ในบริเวณลำไส้ที่เรียกว่า Gastrointestinal (GI) Tract และยังรวมถึงจุลินทรีย์ที่เตรียมขึ้นเพื่อใช้เป็นส่วนผสมในอาหารในรูปที่มีชีวิต อาหารประเภทโปรไบโอติกส์โดยทั่วไปมีส่วนผสมของจุลินทรีย์หนึ่งชนิดหรือมากกว่าก็ได้ ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้ต้องได้รับการศึกษาและตรวจสอบอย่างแน่ชัดแล้วว่าไม่มีผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภค จุลินทรีย์ที่เป็นโปรไบโอติกส์ส่วนใหญ่ได้แก่ แบคทีเรียหลายสายพันธุ์ เช่น แลคโทบาซิลลัส (*Lactobacillus*) เมื่อมนุษย์บริโภคเข้าไปแล้วจะเป็นตัวช่วยควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ร่างกายไม่ต้องการให้อยู่ในปริมาณที่ไม่ก่อให้เกิดโรค หรือก่อให้เกิดปัญหาต่าง ๆ ให้แก่ร่างกายได้ เชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ส่วนใหญ่ได้รับจากการบริโภคอาหารที่มีส่วนประกอบของโปรไบโอติกส์ เช่น ผลิตภัณฑ์นมหมักชนิดต่าง ๆ แหนมสด แบคทีเรียที่เป็นโปรไบโอติกส์มีคุณสมบัติปกป้องร่างกายไม่ให้ได้รับอันตรายจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค และยังสามารถผลิตเอนไซม์มาย่อยสารอาหารบางประเภทที่ระบบการย่อยในร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยได้ให้เป็นสารที่มีประโยชน์และร่างกายดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้

2.1 คุณสมบัติของโปรไบโอติกส์

โปรไบโอติกส์เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ โดยจะทำหน้าที่ส่งเสริมสุขภาพของเจ้าบ้านให้ดีขึ้น โดยแบคทีเรียโปรไบโอติกส์จะต้องสามารถเจริญและผ่านไปยังลำไส้ใหญ่ให้ได้ ซึ่งต้องมีคุณสมบัติหลายประการเพื่อสามารถทนต่อสภาวะต่างๆในระบบทางเดินอาหารส่วนบนและผ่านไปยังลำไส้ใหญ่แบบมีชีวิต โดยแบคทีเรียโปรไบโอ-ติกส์ที่ดีต้องมีคุณสมบัติดังนี้

1. แบคทีเรียโปรไบโอติกส์จะต้องสามารถทนต่อความเป็นกรดในกระเพาะอาหารได้ดี เนื่องจากในกระเพาะอาหารจะมี pH อยู่ในช่วง 1-3 ซึ่งเกิดจากการที่ร่างกายมีการหลั่งกรดไฮโดรคลอริกออกมาเพื่อช่วยในกระบวนการย่อยอาหาร ทำให้ค่า pH ในกระเพาะอาหารมีค่าค่อนข้างต่ำ ดังนั้นจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์จะต้องมีความสามารถในการทนต่อ pH ช่วงนี้ได้ จึงจะสามารถมีชีวิตรอดผ่านไปยังลำไส้ใหญ่ได้ (Kontula *et al*., 1998)

2. แบคทีเรียโปรไบโอติกส์ที่ดีจะต้องมีความสามารถในการทนต่อเกลือน้ำดีได้ เนื่องจากในระบบทางเดินอาหารส่วนต้นโดยเฉพาะบริเวณลำไส้เล็ก จะมีเกลือน้ำดีที่หลั่งจากตับอ่อนเพื่อเข้ามาช่วยในกระบวนการย่อยอาหารพวกไขมัน ซึ่งจะมีความเข้มข้นของเกลือน้ำดีอยู่ 0.15-0.3%

(Erkkila และ Petaja, 2000) ความสามารถในการทนต่อเกลือน้ำดีจะให้แบคทีเรียโปรไบโอติกส์สามารถเจริญและผ่านไปถึงลำไส้ใหญ่ได้

3. สามารถยึดเกาะผนังลำไส้ใหญ่ได้ ซึ่งจะช่วยป้องกันไม่ให้แบคทีเรียก่อโรคเกาะ และต่อต้านการเคลื่อนที่ของลำไส้ที่มีการบีบตัวให้อาหารเคลื่อนที่ในลักษณะเป็นลูกคลื่น (peristalsis) การเกาะผนังลำไส้ของแบคทีเรียโปรไบโอติสก์ทำให้การย่อยอาหารและการดูดซึมอาหารเป็นไปอย่างปกติ (Fuller, 1993)

4. ส่งเสริมสุขภาพของเจ้าบ้าน (host) ให้ดีขึ้น โดยนอกจากสามารถทนต่อสภาวะต่างๆในระบบทางเดินอาหารได้แล้ว ยังมีคุณสมบัติในการป้องกันการเกิด lactose intolerance ได้ ซึ่งมีสาเหตุมาจากร่างกายมนุษย์ไม่สามารถผลิตเอนไซม์ lactase มาย่อยน้ำตาลแลคโตสได้ ทำให้เกิดอาการท้องอืดหรือท้องเสียเมื่อกินอาหารที่มีน้ำตาลแลคโตสเข้าไป ซึ่งแบคทีเรียโปรไบโอติกส์สามาถผลิตเอนไซม์ lactase ช่วยย่อยน้ำตาลแลตโตสในนมได้ (Fook *et al*., 1999) นอกจากนี้แบคทีเรียโปรไบโอติกส์จะต้องมีคุณสมบัติในการช่วยปรับสมดุลจุลินทรีย์ในร่างกายและป้องกันการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารซึ่งเป็นสาเหตุของอาหารท้องเสีย ท้องร่วง ซึ่งแบคทีเรียโปรไบโอติกส์จะไปยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคโดยการแข่งขันกับแบคทีเรียก่อโรคในการยึดเกาะผนังลำไส้ แย่งอาหารของแบคทีเรียก่อโรค และสร้างสารยับยั้งขึ้นเพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคไม่ให้มีมากเกินไป เช่น กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแบคเทอริโอซิน เป็นต้น (Fuller, 1993)

2.2 ประโยชน์ของโปรไบโอติกส์

โปรไบโอติกส์ เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่มีอันตรายต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิต (Friendly Microorganisms) ช่วยในการปรับสมดุลย์ของจุลินทรีย์ในลำไส้ การบริโภคผลิตภัณฑ์ที่มีโปรไบโอติกส์ทำให้ร่างกายจะได้รับประโยชน์หลายประการ เช่น ช่วยในเรื่องระบบการย่อยอาหารและสร้างภูมิคุ้มกัน ช่วยบรรเทาอาการท้องเสีย ประโยชน์ของโปรไบโอติกส์ที่สำคัญพอกล่าวได้ 3 ประการ คือ

1. มีผลต่อระบบการย่อยอาหาร แบคทีเรียกรดแลคติกที่พบในผลิตภัณฑ์นมจะช่วยให้ผู้ที่มีเอนไซม์แลคเทสไม่ปกติหรือผู้ที่แพ้นมสามารถบริโภคนมได้ง่ายขึ้น เพราะแบคทีเรียกรดแลคติกจะช่วยย่อยน้ำตาลแลคโทสในนมให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวกลูโคสกับกาแลคโทส ซึ่งร่างกายสามารถดูดซึมน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวทั้งสองชนิดไปใช้ประโยชน์ได้ นอกจากนั้นแบคทีเรียกรดแลคติกยังสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นต่อร่างกาย เช่น วิตามินบี 1 บี 2 บี 6 บี 12 ไนอะซิน กรดโฟลิก กรดแพนโททีนิก และยังสังเคราะห์เอนไซม์มาช่วยย่อยสลายโปรตีนให้เป็นประโยชน์ต่อร่างกายได้มากขึ้น

2. ช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย โดยแบคทีเรียกรดแลคติกบางสายพันธุ์ผลิตสารยับยั้งแบคทีเรียที่เรียกกันว่า แบคเทอริโอซินมาช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคได้ นอกจากนั้นการสร้างกรดของแบคทีเรียในบริเวณลำไส้ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ลดต่ำลง ส่งผลให้เกิดสภาวะไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค แบคทีเรียกรดแลคติกมีคุณสมบัติยับยั้งพิษที่จุลินทรีย์อื่นสร้างขึ้นและยับยั้งปฏิกิริยาของสารก่อมะเร็งได้ แบคทีเรียบางสายพันธุ์ผลิตสารที่มีลักษณะเป็นเมือกในลำไส้ซึ่งจะช่วยให้จับกับสารพิษบางอย่างและขับถ่ายออกจากร่างกายได้ ซึ่งประโยชน์ของโปรไบโอติกส์ส่วนนี้จะช่วยให้ผู้ที่บริโภคอาหารที่มีโปรไบโอติกส์มีโอกาสเกิดโรคต่าง ๆ ได้น้อยลง

3. ช่วยลดความอ่อนแอของร่างกายจากการติดเชื้อโรคต่าง ๆ โดยเมแทบอลิซึมของโปรไบโอติกส์มีผลต่อการควบคุมการติดเชื้อในลำไส้ ยับยั้งการเกิดมะเร็ง ลดปริมาณคอเลสเทอรอลในเลือดและเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย (ปิ่นมณี ขวัญเมือง, 2548)

3. พรีไบโอติกส์ (Prebiotics)

พรีไบโอติกส์ เป็นสารประกอบพวกโอลิโกแซกคาไรด์ (Oligosaccharide) ซึ่งเป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อยและไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหารส่วนบนและสามารถผ่านไปสู่บริเวณลำไส้ใหญ่ได้ในสภาพที่สมบูรณ์ มีผลช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกส์ในลำไส้ใหญ่และส่งเสริมสุขภาพของเจ้าบ้าน (Host) (Gibson and Roberfroid, 1995) จากการที่จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ย่อยสารกลุ่มนี้จะได้สารบางชนิดที่เป็นประโยชน์ซึ่งร่างกายนำกลับไปใช้ประโยชน์ได้หลายชนิด เช่น กรดไขมันสายสั้น (Short Chain Fatty Acid, SCFA) และผลจากการย่อยยังทำให้ค่าความเป็นกรดด่างในลำไส้ลดลง ผลดังกล่าวยังช่วยลดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (Morisse *et al*., 1993) ซึ่งในลำไส้ใหญ่มีแบคทีเรียอยู่ 2 กลุ่มด้วยกันคือ กลุ่มแรกเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์ (Beneficial bacteria) เช่น *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus* กลุ่มที่สองคือ กลุ่มจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (Pathogenic bacteria) เช่น *E. coli*, *Salmonella* และ *Clostridium* (เฉลิมขวัญ และมัลลิกา, 2548)

3.1 คุณสมบัติของพรีไบโอติกส์

สารที่สามารถจัดเป็นพรีไบโอติกส์ได้นั้นจะต้องมีคุณสมบัติคือ สารนั้นต้องสามารถทนต่อการย่อยของกรดในกระเพาะอาหาร ไม่ถูกดูดซึมในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก และสามารถเคลื่อนที่ไปจนถึงลำไส้ใหญ่ได้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Gibson, 2004; Kolida *et al*., 2002; Ellegard *et al*., 1997) สามารถที่จะเกิดการหมักในลำไส้ใหญ่โดยแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus* อีกทั้งต้องไปส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในทางเดินอาหาร และไม่ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค (Gibson and Roberfroid,

1995) เพื่อใช้เป็นอาหารให้กับจุลินทรีย์ประจำถิ่น (Microflora) ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ ซึ่งสามารถใช้สารเหล่านี้ในการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวน

3.2 ประเภทของพรีไบโอติกส์ (เฉลิมขวัญ และมัลลิกา, 2548)

1. Alcohol sugar จัดเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีขนาดโครงสร้างหรือดัชนีการสังเคราะห์โพลิเมอร์ (Degree of polymerization, DP) เพียง 1-2 ตัว ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้เช่น Maltitol, Sorbitol, Isomalt และ Xylitol เป็นต้น ในบางครั้งจะเรียกว่า Polyols สามารถเป็นสารให้ความหวานได้ โดยมีความหวานประมาณ 3 ใน 4 หรือครึ่งหนึ่งของน้ำตาลทั่วไป และยังดูดซับได้ช้าในลำไส้เล็กเมื่อเทียบกับน้ำตาล จึงทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ด้วย

2. Resistant starch เป็นแป้งหรือผลิตภัณฑ์แป้งที่ไม่สามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์และดูดซึมภายในลำไส้เล็กของมนุษย์ปกติได้ ซึ่งสามารถแบ่งตามลักษณะและแหล่งที่มาได้ 3 ประเภทคือ แป้งที่มีลักษณะทางกายภาพขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ (Physically inaccessible starch; RS1) โดยเม็ดแป้งอาจถูกห่อหุ้มอยู่ภายในร่างแหของโปรตีนหรือถูกตรึงอยู่ภายในเซลล์หุ้มเมล็ดพืช ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาในเม็ดแป้งได้ ประเภทถัดมาคือ เม็ดแป้งดิบที่ทนทานต่อการทำงานของเอนไซม์ (Raw starch granules; RS2) ได้แก่ เม็ดแป้งมันฝรั่งดิบ เม็ดแป้งกล้วยดิบ และแป้งจากเมล็ดถั่ว โดยความคงทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ขึ้นอยู่กับลักษณะโครงสร้างตามธรรมชาติของเม็ดแป้งที่ไม่มีรูหรือช่องเปิดให้เอนไซม์เข้าไปในเม็ดแป้ง การเกิดเจลาติไนซ์ของแป้งจะช่วยให้เอนไซม์สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยากับเม็ดแป้งได้มากขึ้น และประเภทสุดท้ายคือ แป้งคืนตัว (Retrograded starch; RS3) Resistant starch โดยส่วนใหญ่จะจัดอยู่ในประเภท Retrograded starch ซึ่งได้แก่ อาหารที่ผ่านการให้ความร้อนจนแป้งเกดการเจลาติไนซ์ แล้วถูกทำให้เย็นตัวลง ทำให้ส่วนอะมิโลส (โพลิเมอร์เชิงเส้นของกลูโคส) ในน้ำแป้งที่หลุดออกมาในขณะที่เม็ดแป้งพองตัวเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ ได้เป็นผลึกแป้งที่แข็งแรงและทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ ดังนั้นแป้งที่มีอัตราส่วนของอะมิโลสสูงกว่า จะสามารถเกิดรีโทรเกรเดชั่นได้มากกว่าแป้งที่มีอะมิโลเพกทิน (โพลิเมอร์เชิงกิ่งของกลูโคส) สูง แป้งที่มีปริมาณอะมิโลสสูงก็สามารถผลิต Resistant starch ได้ในระดับสูงเช่นเดียวกัน พืชส่วนใหญ่จะมีอะมิโลสอยู่ประมาณ 20-25%

3. Non-starch polysaccharides เป็นสารที่ได้จากพืช เช่น Pectin, Hemicellulose, Guar Cellulose, และ Xylan

4. Inulin เป็นสาร Polysaccharides ที่สามารถละลายน้ำได้และมีความคงตัวที่อุณหภูมิสูง โดยทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตให้กับพืช พบในพืชมากกว่า 36,000 ชนิด เช่น Chicory root เห็ด หัวหอม หัวกระเทียม กล้วย เป็นต้น โครงสร้างของอินนูลินประกอบด้วย ฟรุกโตส (Fructose) 80% และกลูโคส (Glucose) 20% เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β(2-1) ที่มีความยาวตั้งแต่ 2-60 หน่วย

โดยทั่วไป อินนูลิน มีขนาดโครงสร้างหรือค่าดัชนีการสังเคราะห์โพลิเมอร์ (Degree of polymerization, DP) ประมาณ 10 (ส่วนค่า DP ของ Fructooligosaccharide โดยทั่วไปเท่ากับ 4) และตามโครงสร้างจะมี Oligofructose ประกอบอยู่เป็นโครงสร้างกลุ่มย่อย โดยพืชต่างชนิดกันจะมีปริมาณ Inulin และ Oligofructose ที่แตกต่างกัน และจากการทดลองนำ Inulin และ Oligofructose ให้ผู้ใหญ่จำนวน 8 คน ในปริมาณ 15 กรัมต่อวัน เป็นเวลา 15 วัน พบว่า พรีไบโอติกส์ทั้งสองชนิดสามารถเพิ่มปริมาณ *bifidobacteria* ได้ (Gibson *et al*., 1995)

5. Sugar and Oligosaccharides สำหรับพรีไบโอติกส์ในกลุ่มนี้ จัดเป็น Short-chain polysaccharide ประกอบด้วยน้ำตาลตั้งแต่ 2-20 หน่วย ตัวอย่างเช่น Raffinose, Stachyose, Fructooligosaccharides (FOS) นอกจากนี้ยังมี Lactose, Lactulose, Galacto-oligosaccharides (GOS), Soybean oligosaccharide, Lactosucrose, Isomalto-oligosaccharide, Gluco-oligosaccharide, Xylo-oligosaccharide และ Palatinose

6. Mucin glycoproteins ถูกสร้างโดย Goblet cells ที่อยู่ในเยื่อบุผิวลำไส้และเป็นสารตั้งต้นหลักสำหรับการหมักในลำไส้

7. Related mucopolysaccharides เช่น Chondroitin sulphate, Heparin, Pancreatic และ Bacterial secretions ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารที่มีไว้สำหรับจุลินทรีย์ในลำไส้

8. Protein and peptides สารเหล่านี้สร้างขึ้นในอาหาร สร้างโดยการหลั่งของตับอ่อนหรือสร้างโดยแบคทีเรีย แต่จะมีปริมาณน้อยกว่าพวกคาร์โบไฮเดรต

3.3 ประโยชน์ของพรีไบโอติกส์

ประโยชน์ต่อสุขภาพของพรีไบโอติกส์จะมีความเกี่ยวข้องกันกับประโยชน์ของโปรไบโอติกส์ซึ่งเมื่อมีการเพิ่มการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่มนี้แล้วทั้งแบคทีเรียเองและสารที่เกิดจากกระบวนการในการใช้พรีไบโอติกเป็นแหล่งคาร์บอนก็จะมีบทบาทต่อผู้บริโภค เช่น ช่วยส่งเสริมการทำงานของระบบทางเดินอาหาร มีผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด และมีผลต่อเมแทบอลิซึมของไขมัน โดยสามารถอธิบายได้ดังนี้

1. ผลต่อระบบทางเดินอาหาร

พรีไบโอติกส์จะทนต่อการย่อยในทางเดินอาหารส่วนบนของมนุษย์เมื่อมาถึงลำไส้ใหญ่ก็จะเป็นอาหารให้กับแบคทีเรียในลำไส้ซึ่งเมื่อแบคทีเรียนำไปใช้ก็จะให้พลังงานและสารสำคัญบางอย่างแก่ร่างกาย ตัวอย่าง เช่น Inulin-type fructans ให้กรดแลกติก (Lactic acid) และกรดไขมันชนิดสายสั้น (short-chain fatty acids) ซึ่งเป็นผลิตผลจากกระบวนการหมัก (Fermentation) ซึ่งการหมักนี้จะทำให้มีการกระตุ้นการเจริญของ *Bifidobacteria* ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์สุขภาพ และในสภาวะความเป็นกรดที่เกิดขึ้นจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของ

Clostridium perfringens, *Salmonella spp.* และ *Esherichia coli* ในลำไส้ จึงช่วยป้องกันท้องเสียท้องเดิน โดยเฉพาะจากการติดเชื้อได้ นอกจากนี้ ด้วยคุณสมบัติคล้ายใยอาหารอื่นๆ ก็จะช่วยบรรเทาอาการท้องผูก เนื่องจากผลของการเพิ่มน้ำหนักของอุจจาระและผลต่อการเคลื่อนไหวของลำไส้ จึงช่วยให้ขับถ่ายง่ายขึ้น นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาถึงผลของพรีไบโอติกส์ในการต้านมะเร็ง (Anticarcinogenic effect) ซึ่งก็สามารถนำผลที่มีต่อทางเดินอาหารมาอธิบายได้เช่นกัน

2. ผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด

ปกติพวกใยอาหารหรือพรีไบโอติกส์นี้จะรบกวนการดูดซึมของเกลือแร่ด้วยการไปจับกับแร่ธาตุไว้ในโครงสร้างที่ซับซ้อนของมันทำให้ไม่สามารถถูกดูดซึมได้ที่ลำไส้เล็กก็จะเดินทางมาถึงลำไส้ใหญ่ จากนั้นมันก็จะปลดปล่อยแร่ธาตุเหล่านั้นออกมา เมื่อมีการ หมักโดยแบคทีเรียในลำไส้ได้กรดไขมันชนิดสายสั้น ความเป็นกรดก็จะช่วยในการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิดได้แก่แคลเซียมและแมกนีเซียม นอกจากนี้อาจด้วยกลไกที่ทำให้เกิดแรงดันออสโมติก (Osmoticeffect) มันจะดึงน้ำเข้ามาช่วยในการละลายเกลือแร่ต่าง ๆได้ และแม้ว่าจะมีพรีไบโอติกส์จะช่วยเรื่องการดูดซึมแคลเซียมซึ่งอาจส่งผลลดความเสี่ยงต่อกระดูกพรุน แต่ก็ยังคงต้องการการศึกษามาสนับสนุนมากกว่านี้

3.4 แหล่งของพรีไบโอติกส์

พรีไบโอติกส์ที่พบมีอยู่ 2 กลุ่ม คือ พรีไบโอติกส์ที่พบในธรรมชาติจะพบได้ในผักและผลไม้ เช่น กล้วย หน่อไม้ฝรั่ง ถั่ว กลุ่มธัญพืช และพรีไบโอติกส์ที่ได้จากการสังเคราะห์โดยใช้เอนไซม์ย่อย Polysaccharides เช่น แป้ง (ธารารัตน์, 2542) ซึ่งในปัจจุบันพรีไบโอติกส์ที่นำมาใช้ทางการค้าและในอุตสาหกรรมอาหารส่วนใหญ่ได้มาจากการสังเคราะห์

จากการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการแสดงว่า สามารถสกัดสารพรีไบโอติกส์ได้ด้วยตัวทำละลาย ซึ่งได้ศึกษาพืชที่มีความสามารถในการเป็นสารพรีไบโอติกส์ทั้งหมด 32 ชนิด และเมื่อนำสารสกัดจากพืชเหล่านี้ไปทดสอบความเป็นพรีไบโอติกส์ พบว่ามีแนวโน้มสูงที่สารสกัดนั้นจะเป็นพรีไบโอติกส์ที่ดี โดยสามารถคัดเลือกวัตถุดิบจากพืชได้ทั้งหมด 10 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การคัดเลือกพืชเพื่อใช้เป็นแหล่งของพรีไบโอติกส์

(รายงานความก้าวหน้าโครงการการสกัดสารพรีไบโอติกส์จากพืช คณะอุตสาหกรรมการเกษตร)

ลำดับ	พืช	ส่วนสกัด	ตัวทำละลายที่ใช้สกัด	โพลีแซกคาไรด์ที่ไม่ย่อยในเฟสสกัด %(w/w)	โพลีแซกคาไรด์ที่ไม่ย่อย mg/g extract
1	ลูกตาล	เปลือก	เอทานอล 95%	70.58	705.8
2	ขนุน	เปลือก	เอทานอล 95%	69.81	698.08
3	ขนุน	เนื้อ	เอทานอล 95%	60.58	605.76
4	เงาะ	เนื้อ	เอทานอล 50%	56.68	566.83
5	จำปาดะ	เนื้อ	เอทานอล 95%	54.26	542.56
6	มะพร้าวอ่อน	เนื้อ	น้ำ	51.39	513.87
7	กระเจี๊ยบเขียว	ฝัก	เอทานอล 50%	46.07	460.73
8	จาวตาล	จาวตาล	เอทานอล 50%	40.99	409.85
9	ขนุน	เมล็ด	เอทานอล 50%	40.34	403.44
10	ลูกตาล	เนื้อ	เอทานอล 95%	33.49	334.87

จากตารางที่ 1 เมื่อทำการสกัดเปลือกลูกตาลและขนุน โดยใช้ เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายพบว่า ให้ โพลีแซกคาไรด์ที่ไม่ย่อยเป็น 70.58 และ 69.81 % (w/w) ตามลำดับ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวจึงนำไปสู่การเลือกชนิดของพืชในเบื้องต้น เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

4. ตาลโตนด (Sugar Palm)

ตาลโตนดมีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Borassus flabellifer L.* ชื่อสามัญว่า Palmyra palm หรือ Sugar palm ตาลโตนดเป็นพืชตระกูลปาล์มชนิดหนึ่งจากปาล์ม 20 จีนัส 1,500 สปีชีส์ มีลำต้นสูงชะลูด โดยมีความสูงเฉลี่ยประมาณ 20-30 เมตร มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางใต้ของทวีปเอเชีย โคนต้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เมตร ลำต้นที่สูงขึ้นไปประมาณ 4 เมตร จะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 40 เซนติเมตร และจะขยายออกที่ความสูงประมาณ 10 เมตร ซึ่งจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 50 เซนติเมตร และคงขนาดนี้ไปถึงยอดตาลโตนด เราสามารถนำตาลโตนดไปใช้ประโยชน์ทางเศรษฐกิจได้หลายประการและเกือบทุกส่วนไม่ว่าจะเป็นลำต้น ราก ทางตาล ผล ซึ่งในส่วนของผลตาลโตนดนั้นมีลักษณะเป็นผลอยู่ในทะลายประมาณ 6-12 ทะลาย แต่ละทะลายมี

ประมาณ 10-15 ผลต่อปี ผลอ่อนมีสีเขียว ผลจะเปลี่ยนเป็นสีม่วง เมื่อแก่จัดมีสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำเป็นมัน เส้นผ่านศูนย์กลางของผลประมาณ 10-20 เซนติเมตร ภายในมี 2-4 เมล็ด แต่โดยทั่วไปแล้วมี 3 เมล็ด เมล็ดมีลักษณะแบนยาวประมาณ 3 นิ้ว กว้าง 2 นิ้ว และหนาประมาณครึ่งนิ้ว ซึ่งมีเปลือกแข็งหุ้มอยู่ ภายในเป็นเส้นละเอียดเมื่อสุกจะมีสีเหลืองแก่และมีกลิ่นหอม เนื้อประกอบด้วยแป้งและน้ำตาล นอกจากนี้ยังมีส่วนผสมของแคโรทีนอยด์ซึ่งให้สีเหลือง ใช้แต่งสีอาหารได้ ส่วนประกอบของผลแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ เปลือกชั้นนอก มีผิวเรียบเป็นมัน เปลือกชั้นกลางเป็นส่วนของเส้นใยสด ส่วนเปลือกชั้นในเป็นเปลือกหรือกะลาแข็งหุ้มเมล็ดไว้ ข้างในเมล็ดที่แก่เต็มที่จะเป็นของแข็งสีขาว เรียกว่า จาวตาล ซึ่งมีเนื้อคล้ายมะพร้าวแต่มีความแข็งกว่ามาก เมื่อเป็นผลอ่อนเนื้อเมล็ดจะเป็นโพรง นุ่ม ลักษณะคล้ายเจลลี่ และโปร่งใส ลักษณะคล้ายน้ำแข็ง และข้างในมีของเหลวรสชาติหวาน (สมยศ, 2547)

จากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของเนื้อตาลสุกพบว่าเนื้อผลตาลสุกมีความชื้น ร้อยละ 89.4 โปรตีนร้อยละ 0.7 ไขมันร้อยละ 0.6 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 21 เกลือแร่ร้อยละ 0.7 สารเยื่อใยร้อยละ 0.5 แคลเซียมร้อยละ 7 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัสร้อยละ 22 มิลลิกรัม และธาตุเหล็กร้อยละ 0.9 มิลลิกรัม (จารุณี และชลธิชา, 2545)

การศึกษาเกี่ยวกับปริมาณของตาลโตนดในภาคใต้ที่ปรากฏเป็นเอกสารมักจะอยู่ในแถบคาบสมุทรสทิงพระเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งมีการประมาณว่าในปี พ.ศ. 2526 อำเภอสทิงพระมีจำนวนต้นตาลโตนดถึง 500,000 ต้น (สมยศ, 2547) อย่างไรก็ตามปริมาณการปลูกตาลโตนดก็มีการกระจายไปในพื้นที่อื่นของภาคใต้ สำหรับในจังหวัดสงขลามีต้นตาลโตนดขึ้นอยู่นับตั้งแต่ริมทะเลด้านตะวันออกจนจรดริมทะเลสาบด้านตะวันตก โดยจังหวัดสงขลามีประชากรต้นตาลโตนดจำนวนกว่าสามล้านต้น ครอบคลุมพื้นที่ในจังหวัดจำนวน 6 อำเภอ ได้แก่ อำเภอสทิงพระ อำเภอ สิงหนคร อำเภอกระแสสินธุ์ อำเภอระโนด อำเภอควนเนียง และอำเภอรัตภูมิ นอกจากนี้ยังพบเป็นหย่อมๆบริเวณที่ราบลุ่มทำนาของอำเภอจะนะ อำเภอเทพา อำเภอนาทวี และอำเภอนาหม่อม เป็นต้นเนื้อที่การปลูกตาลโตนดในจังหวัดประมาณ 118,500 ไร่ (www.songkhla.go.th/newweb45/data/snj_songkhla/March48/songkhla48.doc)

5. ขนุน (Jack Fruit)

ขนุนมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Artocarpus heterophyllus* Lam. อยู่ในตระกูล Moraceae มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศอินเดีย ขนุนเป็นไม้ยืนต้น อายุยืน ลำต้นสูงประมาณ 10-25 เมตร ซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้ในทุกสภาพพื้นที่ของประเทศไทย สภาพดินที่เหมาะสมในการใช้ปลูกควรมีค่า pH อยู่ระหว่าง 5.5-7.5 และดินควรเป็นดินร่วนหรือดินร่วนปนทราย มีการระบายน้ำได้ดี อายุการให้ผลจะเริ่มให้ผลเมื่ออายุประมาณ 4 ปี โดยสามารถให้ผลต่อไปได้อย่างต่อเนื่องไม่ต่ำ

กว่า 25 ปี อายุตั้งแต่เริ่มออกดอกถึงดอกบาน 20-25 วัน หลังดอกบานผลจะแก่เมื่ออายุ 120-150 วัน ผลผลิตเฉลี่ยต่อต้นเมื่ออายุประมาณ 10 ปี อยู่ระหว่าง 25-30 ผล ซึ่งฤดูกาลเก็บเกี่ยวนั้น ถ้าเป็นขนุนในฤดูจะเก็บเกี่ยวได้ตั้งแต่เดือน มกราคมถึงพฤษภาคม และถ้าเป็นขนุนนอกฤดูจะเก็บเกี่ยวได้ตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึงตุลาคม พื้นที่ที่มีการปลูกขนุนกันมากได้แก่ ชลบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรี สงขลา กาญจนบุรี เพชรบุรี และนครราชสีมา ขนุนที่ปลูกกันโดยทั่วไปมีอยู่ 2 ประเภท คือ ขนุนหนังและขนุนละมุด แต่ที่นิยมปลูกกันในปัจจุบันเป็นพันธ์ขนุนหนัง สถิติการปลูกขนุนหนังแยกรายภาคแสดงดังตารางที่ 2 จากการสำรวจเมื่อปี 2540 พบว่า พื้นที่เพาะปลูกขนุนทั้งประเทศประมาณ 251,978 ไร่ (ที่มา: http://www.doae.go.th/plant/kanun.htm) และในปี พ.ศ. 2542 ได้มีการสำรวจพื้นที่การปลูกไม้ผลในภาคใต้ซึ่งมีพื้นที่การปลูกทั้งสิ้น 2,096,130 ไร่ ไม้ผลในภาคใต้มีหลายชนิดและบางชนิดก็เป็นพืชที่มีแหล่งกำเนิดในท้องถิ่นโดยเฉพาะได้แก่ ทุเรียน เงาะ กล้วย มังคุด ขนุน มะละกอ เป็นต้น ในส่วนของจังหวัดสงขลามีเนื้อที่ปลูกขนุน 3,585 ไร่ ผลผลิตปีละ 5,801 ตัน มูลค่ารวม 53,311,190 บาท โดยพื้นที่ที่มีการปลูกมากคือ อำเภอเมือง สทิงพระ ควนเนียง หาดใหญ่ รัตภูมิ บางกล่ำ จะนะ นาทวี เทพา สะบ้าย้อย และคลองหอยโข่ง

ตารางที่ 2 สถิติการปลูกขนุนหนังแยกรายภาค

(ฝ่ายข้อมูลส่งเสริมการเกษตร กองแผนงาน กรมส่งเสริมการเกษตร, 2542)

ภาค	พื้นที่เพาะปลูก (ไร่)			ผลผลิต		ราคาขายได้ที่สวน (บาท/กก.)			
						สูงสุด		ต่ำสุด	
	ให้ผลแล้ว	ยังไม่ให้ผล	รวม	ผลผลิตเฉลี่ย (กก./ไร่)	ผลผลิตรวม (ตัน)	ราคา	เดือน	ราคา	เดือน
เหนือ	24,418	12,237	36,655	3,351	81,831.98	6.45	พ.ค.	3.67	มิ.ย.
ตะวันออกเฉียงเหนือ	32,861	32,920	69,781	2,952	106,820.06	8.18	-	4.69	-
กลาง	8,682	4,855	13,537	2,600	22,577.7	7.83	พ.ค.	4.29	ธ.ค.
ตะวันออก	66,981	41,509	108,490	3,382	226,581.08	11.55	มี.ค.	5.09	พ.ค.
ตะวันตก	30,788	20,799	51,567	3,034	93,429	8.46	ธ.ค.	4.26	มิ.ย.
ใต้	13,380	3,835	17,215	2,326	31,152.62	10.99	-	6.64	-
รวมทั้งประเทศ	181,110	116,135	297,245	3,116	564,382.43	8.52	-	4.74	-

6. หลักการสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction) หรือการชะละลาย (Leaching)

สารอินทรีย์ อนินทรีย์ สารเชิงชีวภาพ มักอยู่ในสารผสม โดยมีส่วนประกอบที่แตกต่างกันในของแข็ง ในการแยกตัวละลายที่ต้องการหรือแยกส่วนประกอบตัวละลายที่ไม่ต้องการจากเฟสของแข็ง ของแข็งถูกนำมาสัมผัสกับเฟสของเหลว เฟสทั้งสองจะสัมผัสกันอย่างใกล้ชิดและตัวละลายตัวเดียวหรือหลายตัวสามารถที่จะแพร่จากเฟสของแข็งไปสู่เฟสของเหลว ซึ่งจะเกิดการแยกของส่วนประกอบในของแข็งตั้งต้น กระบวนการนี้เรียกว่า การชะละลายของเหลว-ของแข็งหรือการชะละลาย กระบวนการชะละลายจะเกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนมวลและการแพร่ของตัวละลายในของแข็ง การแทนที่ของเฟสสกัดในช่องว่างระหว่างอนุภาคของแข็ง

กระบวนการชะละลายของสารเชิงชีวภาพ ในอุตสาหกรรมกระบวนการอาหารและชีวภาพนั้น ผลผลิตหลายชนิดถูกแยกจากโครงสร้างธรรมชาติตั้งต้นด้วยการชะละลายของเหลว-ของแข็ง กระบวนการที่สำคัญคือ การชะละลายน้ำตาลจากชูการ์บีท (Sugar beets) ด้วยน้ำร้อน ในกระบวนการผลิตน้ำมันพืช ตัวทำละลายอินทรีย์เช่น เฮกเซน อะซิโตน อีเธอร์ ถูกใช้ในการสกัดน้ำมันจากถั่ว ถั่วเหลือง เมล็ด flax เมล็ดละหุ่ง เมล็ดทานตะวัน เมล็ดฝ้าย ชาละลายได้ถูกผลิตโดยการละลายใบชาด้วยน้ำ แทนนินถูกแยกจากเปลือกไม้ด้วยการละลายด้วยน้ำ

7. ตัวแปรที่มีผลต่ออัตราการสกัด

1. ขนาดอนุภาค (Particle size) ขนาดอนุภาคถ้ามีขนาดเล็กจะทำให้มีพื้นที่ผิวในการถ่ายเทมวลสารมีมากขึ้นและระยะทางของตัวถูกละลายที่อยู่ภายในของแข็งจะแพร่กระจายสู่ตัวทำละลายได้เร็วขึ้น ดังนั้นก่อนทำการสกัดควรนำพืชมาทำให้มีขนาดเล็กลงก่อน

2. ตัวทำละลาย (Solvent) ตัวทำละลายที่ดีควรมีความเป็นขั้ว (Polarity) ที่เหมาะสมกับตัวถูกละลายและมีความหนืด (Viscosity) ต่ำ เพื่อให้มีการไหลเวียนที่ดี โดยทั่วไปจะใช้ตัวทำละลายบริสุทธิ์ซึ่งในการสกัดตัวทำละลายที่บริสุทธิ์ช่วงเริ่มต้นจะไม่มีตัวถูกละลายอยู่เลย เมื่อทำการสกัดความเข้มข้นของตัวถูกละลายจะเพิ่มมากขึ้น จนกระทั่งผลต่างของความเข้มข้นของตัวถูกละลายในตัวทำละลายและในอนุภาคของพืชที่ใช้ในการสกัดน้อยลง ทำให้ตัวถูกละลายสกัดได้น้อยลง

3. อุณหภูมิของตัวทำละลาย (Temperature of solvent) โดยทั่วไปเมื่ออุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้นจะทำให้อัตราการสกัดสูงขึ้นด้วย เนื่องจากว่าอุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้น การแพร่ของตัวถูกละลายและตัวทำละลายสูงกว่าที่อุณหภูมิในการสกัดต่ำ อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์บางชนิดการใช้อุณหภูมิสกัดที่สูง อาจทำให้สารที่ไม่ต้องการออกมาด้วยและอาจทำให้เกิดความเสื่อมสภาพทางเคมีและทางกายภาพของตัวผลิตภัณฑ์ได้ อีกทั้งทำให้สูญเสียตัวทำละลายมากเกินไป

4. เวลาในการสกัด (Extraction time) เวลาในการสกัดมีผลต่อการสกัดคือ ถ้าใช้เวลาในการสกัดน้อยเกินไปสารที่ต้องการสกัดก็ถูกสกัดออกมาได้น้อย ดังนั้นจึงต้องใช้เวลาในการสกัดที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ปริมาณสารสกัดที่ต้องการมากที่สุด

5. การกวน (Agitation) การกวนตัวทำละลายในการสกัดจะช่วยเพิ่มอัตราการสกัดเนื่องจากทำให้เกิดการแพร่ในสภาวะปั่นป่วน ทำให้อัตราการแพร่สูงขึ้นจึงทำให้การถ่ายโอนมวลสารจากผิวสัมผัสของอนุภาคไปยังตัวทำละลายเกิดขึ้นได้ดียิ่งขึ้น

8. การถ่ายโอนมวลและการแพร่ (Mass transfer and diffusion)

การถ่ายโอนมวลเป็นการเคลื่อนย้ายองค์ประกอบภายในเฟสเดียวกันหรือจากเฟสหนึ่งเข้าสู่อีกเฟสหนึ่ง โดยที่เฟสทั้งสองจะเหมือนกันหรือแตกต่างกันก็ได้ ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากความแตกต่างของศักย์เคมีหรือเกรเดียนต์ความเข้มข้นขององค์ประกอบที่มีอยู่ในแต่ละเฟสหรือแต่ละบริเวณในเฟสนั้นๆ ทั้งนี้เพื่อปรับให้ระบบเข้าสู่สภาวะสมดุลนั่นเอง ความสำคัญของการถ่ายโอนมวลในอุตสาหกรรมเคมีมักมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ในการแยกสารเฉพาะเจาะจงออกจากสารผสม กระบวนการแยกได้แก่ การระเหย การตกผลึก การดูดซับ และการสกัด เป็นต้น กลไกการถ่ายโอนมวลแบ่งออกได้หลายแบบ เช่น การถ่ายโอนมวลแบบการแพร่หรือแพร่ซึม ซึ่งโดยทั่วไปแล้วนั้นกระบวนการแพร่จะเป็นการแพร่ที่สภาวะไม่คงตัว กล่าวคือ สมบัติของระบบที่จุดหนึ่งๆ จะมีค่าเปลี่ยนแปลงตามเวลาที่ผ่านไป (Time dependent process) ดังนั้นสภาวะไม่คงตัวของการถ่ายโอนมวลจะมีค่าเกรเดียนต์ความเข้มข้นเปลี่ยนแปลง ส่งผลให้ฟลักซ์การถ่ายโอนมวลขึ้นกับเวลาที่ผ่านไปด้วย สมการดิฟเฟอเรนเชียลของการแพร่ที่สภาวะไม่คงตัวแบบง่ายซึ่งเป็นการแพร่ผ่านของแข็งแสดงดังสมการที่ 1

$$\frac{\partial C_A}{\partial t} = D_{AB}\frac{\partial^2 C_A}{\partial^2 z} \qquad (1)$$

สมการที่ 1 เป็นการแพร่มิติเดียวตามแนวแกนของวัตถุแผ่นแบน เรียกสมการนี้ว่ากฎข้อที่สองของฟิคสำหรับการแพร่ (Fick's second law of diffusion) พิจารณาโดย การละเทอมการไหลบัลค์ของของไหล และไม่มีปฏิกิริยาเคมี ซึ่งการแพร่แบบนี้มักพบได้ในการแพร่ผ่านของแข็ง สำหรับกฎข้อที่สองของฟิคของทรงกระบอกและทรงกลมในมิติเดียวที่มีการแพร่ในแนวรัศมีนั้นแสดงดังสมการที่ 2 และ 3 ตามลำดับ (จุไรวัลย์, 2546)

$$\frac{\partial C_A}{\partial t} = \frac{D_{AB}}{r}\frac{\partial}{\partial r}\left(r\frac{\partial C_A}{\partial r}\right) \qquad (2)$$

$$\frac{\partial C_A}{\partial t} = \frac{D_{AB}}{r^2}\frac{\partial}{\partial r}\left(r^2\frac{\partial C_A}{\partial r}\right) \qquad (3)$$

9. การเตรียมของแข็งสำหรับการชะละลาย (Solid feed preparation)

สารเชิงชีวภาพมีโครงสร้างเป็นแบบเซลล์และส่วนที่ละลายได้มักจะพบภายในเซลล์ อัตราของการชะละลายอาจจะค่อนข้างช้า เพราะผนังเซลล์จะมีความต้านทานต่อการแพร่ อย่างไรก็ตามการบดสารเชิงชีวภาพให้มีขนาดเล็ก จะเพิ่มอัตราการถ่ายโอนการแพร่ของตัวละลายจากของแข็งสู่เฟสสกัด แต่หากใช้ขนาดเล็กเกินไป เฟสสกัดจะไม่สามารถไหลผ่านชั้นหรือเบดของของแข็งได้เท่าที่ต้องการ การเกาะติดของเฟสสกัดบนผิวของแข็งจะมากยิ่งขึ้น ความยากในการแยกแฟสของแข็ง-ของเหลว อาจเพิ่มขึ้น ดังนั้นการใช้ขนาดอนุภาคที่เหมาะสม เป็นสิ่งที่ต้องการอย่างมาก อนึ่งในการชะละลายผลผลิตเชิงเภสัชกรรมจากใบ ต้น และราก การอบแห้งวัตถุดิบก่อนการสกัดจะช่วยทำให้ผนังเซลล์แตก ดังนั้นตัวทำละลายสามารถละลายตัวละลายได้โดยตรง ผนังเซลล์ของถั่วเหลืองและเมล็ดพืชหลายชนิดส่วนมากจะแตกเมื่อลดขนาดจนเหลือ 0.1-0.5 มิลลิเมตร การทำให้เซลล์มีขนาดเล็กลงและผนังเซลล์แตกออกทำให้ตัวทำละลายเข้าถึงน้ำมันพืชได้ง่าย

10. การเลือกตัวทำละลาย (Solvent selection)

ตัวทำละลายที่ดีควรมีความมีขั้ว (Polarity) ที่เหมาะสมกับตัวละลายเนื่องจากตัวละลายจะละลายได้ดีในสารละลายที่มีความมีขั้วที่เหมือนหรือใกล้เคียงกัน และตัวทำละลายควรมีความหนืด (Viscosity) ต่ำ เพื่อให้มีการไหลเวียนของสารละลายที่ดี คุณสมบัติของตัวทำละลายเหล่านี้ มีผลต่อความเหมาะสมและความสามารถในการเลือกจับตัวละลายหรือสภาพการเลือก (Selectivity) เพื่อให้การสกัดตัวละลายที่ต้องการให้ได้บริบูรณ์ และคุ้มค่าในทางเศรษฐศาสตร์ ปริมาณและอัตราของตัวทำละลายต่อตัวละลายที่ต้องการ รวมทั้งสิ่งเจือปนอื่นๆ ในของแข็งมีอิทธิพลอย่างมากต่อขนาดและชนิดของเครื่องสกัด ค่าดำเนินการรวม และต้นทุนในการแยก เช่น เครื่องมือที่ใช้แยกตัวละลายออกจากตัวทำละลาย และนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ และคุณภาพของตัวทำละลายที่ได้ ตัวทำละลายที่ใช้ควรมีความเหมาะสมในการชะละลายหรือสภาพการเลือกสูง มีความสามารถละลายสารที่ต้องการสกัด ปลอดภัย ไม่เป็นพิษ และไม่เป็นอันตราย ราคาไม่แพงจนเกินไปและควรเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถผลิตขึ้นได้ภายในประเทศ และใช้ประโยชน์ได้ทันที

11. อุณหภูมิในการชะละลาย (Temperature of leaching)

โดยทั่วไปกระบวนการสกัด จะกระทำที่อุณหภูมิสูงเท่าที่จะเป็นไปได้ เนื่องจากที่อุณหภูมิสูง ทำให้การละลายของตัวทำละลายเกิดขึ้นได้ดีกว่า (Treybal, 1980) จึงทำให้ความเข้มข้นของตัวละลายในส่วนที่สกัดได้สูงขึ้น อัตราการชะละลายจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากความหนืดของ

ของเหลวลดลง และการแพร่ของตัวละลายและตัวทำละลายสูงกว่าค่าที่อุณหภูมิต่ำ อย่างไรก็ตาม การใช้อุณหภูมิสูงในการผลิตผลิตภัณฑ์ธรรมชาติบางชนิด เช่น กาแฟ และชูการ์บีท จะทำให้วัสดุที่ไม่ต้องการออกมาระหว่างการสกัดมากเกินไป และเกิดการเสื่อมเสียทางเคมีของผลิตภัณฑ์ อนึ่ง การดำเนินการที่อุณหภูมิสูง อาจไม่สามารถทำได้เนื่องจากมีการสูญเสียตัวทำละลายมากเกินไป และด้วยเหตุผลทางด้านความปลอดภัย ดังนั้นจึงต้องอาศัยการพิจารณาความเหมาะสมในหลายๆ ประการในการเลือกอุณหภูมิที่จะใช้

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kim *et al.* (2003) ได้ทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัด Soybean oligosaccharide (SOS) จาก Defatted soybean meal (DSM) โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ตัวแปรที่ทำการศึกษาได้แก่ อัตราส่วนระหว่าง DMS ต่อน้ำ (1:5, 1:7.5 และ 1:10 w/v) เวลาในการสกัด (1, 2, 3 และ 4 ชั่วโมง) ขนาดอนุภาคที่ผ่านการบดและไม่ผ่านการบด และอุณหภูมิในการสกัด (25, 50, 65 และ 80 ^{O}C) นอกจากนี้ยังศึกษาผลของการกวนต่อการสกัดโดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ 50 ^{O}C ผลจากการทดลองพบว่า อัตราส่วนระหว่างน้ำกลั่นต่อ DSM ที่เหมาะสมคือ 5:1 อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 50 ^{O}C การกวนและการใช้ DSM ที่ไม่ผ่านการบดทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดดีขึ้น และการใช้ เอทานอล 10% จะให้ประสิทธิภาพดีกว่าใช้เฉพาะน้ำกลั่นอย่างเดียว

Ekvall *et al.* (2006) ได้ทำการทดลองเพื่อหา Raffinose family oligosaccharides (RFOs) ใน Leguminous vine peas โดยใช้สารละลายเอทานอลเป็นตัวทำละลาย ความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้คือ 50% และ 80% V/V อุณหภูมิในการสกัดคือ อุณหภูมิห้อง (21 ^{O}C) กับอุณหภูมิจุดเดือด (83 ^{O}C) เวลาในการสกัดเป็น 15, 30 และ 60 นาที ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอทานอลต่อประสิทธิภาพในการสกัดโดยควบคุมอุณหภูมิในการสกัดเป็น 21 ^{O}C เวลาในการสกัดเป็น 30 นาที ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพในการสกัดโดยควบคุมความเข้มข้นของเอทานอลเป็น 50 % V/V เวลาในการสกัดเป็น 30 นาที และศึกษาผลของเวลาในการสกัดต่อประสิทธิภาพในการสกัดโดยควบคุมความเข้มข้นของเอทานอลเป็น 50 % V/V อุณหภูมิในการสกัด 21 ^{O}C โดยจากผลการทดลองพบว่า ผลได้ของ Oligosaccharides มีค่าโดยเฉลี่ยประมาณ 2 เท่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอทานอล 50% เปรียบเทียบกับเอทานอล 80% ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับ Oligosaccharides ทั้งสามชนิดคือ Raffinose, Stachyose และ Verbascose ยกเว้น Verbascose ที่ผลได้จะใกล้เคียงกันที่ การสกัดด้วยเอทานอล 50% และเอทานอล 80% และอุณหภูมิในการสกัดมีผลต่อผลได้ของ RFOs น้อยมาก เมื่อสกัดด้วยเอทานอล 50% การเพิ่มอุณหภูมิอาจจะเร่งการสกัด RFOs แต่การดำเนินการที่จุดเดือดอาจส่งผลกับความเข้มข้นของเอทานอลได้และยากต่อการ

ควบคุมการก่อให้เกิดโปรตีน และผลของเวลาในการสกัดพบว่า เมื่อใช้เวลาในการสกัด 15 นาที ให้ผลได้ต่ำกว่าที่ 30 และ 60 นาที (ที่ 30 และ 60 นาที ให้ผลได้ใกลเคียงกัน) นั่นคือ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือที่อุณหภูมิห้อง (21 ^{O}C) เวลาในการสกัด 30 นาที โดยความเข้มข้นของเอทานอลเป็น 50% และการเพิ่มความเข้มข้นเอทานอลเป็น 80% ทำให้ผลได้ลดลง

Herodez *et al*. (2003) ทำการสกัดสาร Antioxidants จาก Balm leaves โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่า การลดขนาดอนุภาค การเพิ่มอุณหภูมิจาก 0-20 ^{O}C และการเพิ่มปริมาณตัวทำละลาย ทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดเพิ่มขึ้น ซึ่งผลได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในตอนเริ่มต้นของการสกัดและจะลดลงหลังจากนั้น โดยกระบวนการที่เกิดอย่างรวดเร็วนั้นเกิดจากการที่ตัวทำละลายละลายตัวถูกละลายที่อยู่บริเวณผิวนอกของอนุภาค และในขั้นตอนที่เกิดช้านั้นจะสอดคล้องกับการสกัดตัวละลายที่อยู่ภายในอนุภาค จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ผลได้ในช่วงต้นของการสกัดไม่ขึ้นอยู่กับขนาดอนุภาค แต่ผลได้ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเมื่อลดขนาดอนุภาคลง และในช่วงท้ายของการสกัด การแพร่ของตัวทำละลายเข้าไปภายในอนุภาคกับการแพร่ออกมาของตัวทำละลาย-ตัวถูกละลายจากอนุภาคเป็นขั้นตอนควบคุมอัตราการสกัดของกระบวนการ โดยสภาวะที่เหมาะสมได้แก่ ขนาดอนุภาคอยู่ระหว่าง 0.2-0.25 มิลลิเมตร ตัวทำลาย 4 dm^{3}/kg Balm leaves และอุณหภูมิ 20 ^{O}C

ยรรยง สุขคล้าย (2547) ทำการทดลองการสกัดสารสำคัญจาก Andrographis paniculata หรือฟ้าทะลายโจร โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95% เป็นตัวทำละลายในถังกวน ซึ่งมีใบพัดกวนแบบพิชด์เบลดเทอร์ไบน์ ที่เข้าด้านข้างถัง และได้ทดสอบหามุมเพลาของใบกวนที่เยื้องจากจุดศูนย์กลางถังที่สามารถให้การกระจายของอนุภาคของแข็งในของเหลวอย่างสม่ำเสมอ การทดสอบทำโดย ใช้เม็ดพลาสติกในน้ำ ผลการทดสอบแสดงว่ามุมที่เหมาะสมที่สุด คือ 15 องศา ค่ามุมนี้ถูกใช้ในการสกัดที่มีอัตราส่วนของวัตถุดิบซึ่งเป็นส่วนของลำต้น และก้านของฟ้าทะลายโจรที่บดแห้ง ต่อตัวทำละลายเป็นอัตราส่วน 1:10 และมีความเร็วของใบกวนเท่ากับ 560, 840 และ 1,120 รอบต่อวินาที ผลการทดลองแสดงว่า การกระจายตัวของอนุภาควัตถุดิบสม่ำเสมอทุกการทดลองและอัตราเร็วของการสกัดใกล้เคียงกันทุกความเร็วของใบกวน การสกัดถือได้ว่าสมดุลย์เมื่อใช้เวลาปฏิบัติการประมาณ 4 ชั่วโมง ซึ่งมีปริมาณสาระสำคัญในวัตถุดิบที่ถูกสกัดได้ประมาณ 80 %

Wongkittipong *et al*. (2004) ทดลองสกัดแอนโดรกราโฟไลด์ในถังกวนขนาด 1 ลิตร โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 60 ถึง 80% พบว่า ความเข้มข้นของเอทิลแอลกอฮอล์ไม่มีผลต่อจลนพลศาสตร์ของการสกัดและขนาดอนุภาคของวัตถุดิบในช่วง 0.1 ถึง 0.8 มิลลิเมตร ไม่มีผลต่อความเร็วในการสกัดหรือปริมาณแอนโดรกราโฟไลด์ที่ถูกสกัดได้

นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิของการสกัดจาก 40 เป็น 60 ^{O}C แอนโดรกราโฟไลด์ที่ถูกสกัดได้มีปริมาณเพิ่มขึ้น

นิรัญญา บุญติ้น (2550) ได้ทำการศึกษาการคัดเลือกโปรไบโอติกส์จากสัตว์ทะเลและการใช้สารสกัดจากพืชหัวเป็นพรีไบโอติกส์พบว่า สารสกัดจากมันเทศสีขาวเปลือกแดง บีทรูท มันฝรั่ง และมันเทศสีม่วงเปลือกเหลือง มีองค์ประกอบของสารสกัดที่ไม่ถูกย่อยเป็น 75.37, 84.25, 74.29 และ 88.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสารสกัดดังกล่าวสามารถส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum และ Enterococcus faecium* โดยสามารถส่งเสริมการเจริญของ *L. plantarum* ได้ดีที่สุด

Siddeshwar *et al*. (2008) ได้ทำการศึกษาการคัดเลือกและการหาปริมาณโอลิโกแซกคาไรด์ในผลไม้ ผัก และรากพืช โดยการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 98 ^{O}C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่า แครอท กระเจี๊ยบ หัวหอม กระเทียม บีทรูท มันแกว ฝรั่ง แอฟเปิ้ล มะเขือเทศ และกล้วย เป็นแหล่งพรีไบโอติกส์ที่ดีในการนำมาสกัดในเชิงการค้า และพบว่าการอบแห้งไม่มีผลต่อกระบวนการ Enzymatic hydrolysis ของโอลิโกแซกคาไรด์แต่ละชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างสด

Xiaoli *et al*. (2008) ทดลองหาความเข้มข้นของโอลิโกแซกคาไรด์ในเมล็ดของ Chickpea จากผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงผลของชนิดตัวทำละลาย (เอทานอล 0, 30, 50, 70 และ 80 % v/v) อุณหภูมิ (อุณหภูมิห้อง, 50 ^{O}C, 70 ^{O}C และอุณหภูมิจุดเดือด) เวลา (15, 30 และ 60 นาที) และอัตราส่วนระหว่าง Defatted chickpea meal (DCM) กับตัวทำละลาย (1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 w/v) ต่อประสิทธิภาพในการสกัด พบว่า การใช้เอทานอล 50% เป็นตัวทำละลาย นำและเอทานอลที่ความเข้มข้นต่ำกว่านี้ จะสกัดน้ำตาลโมเลกุลที่มีขนาดเล็กได้ดี ส่วนที่ความเข้มข้นของเอทานอลมากกว่า 50% ผลได้ของการสกัดลดลงเนื่องจากการสกัดที่ไม่สมบูรณ์และโปรตีนที่มีอยู่อาจเกิดการ denatured ได้ที่ความเข้มข้นของเอทานอลสูงๆ ซึ่งโปรตีนดังกล่าวอาจขัดขวางการแพร่ออกมาของ α-GOS เข้ามาในสารละลาย ส่วนผลของอุณหภูมิต่อการสกัดพบว่า ความสามารถในการสกัดเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจนถึง 50 ^{O}C และจะลดลงทันทีเมื่ออุณหภูมิมากกว่า 50 ^{O}C ทั้งนี้อาจเนื่องมากจากว่า เกิด Heat-denaturation ของโปรตีนที่ละลายได้ของ Chickpea เมื่อพิจารณาเวลาในการสกัดพบว่า เมื่อใช้เวลาในการสกัด 15 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลต่ำกว่าเมื่อใช้เวลาในการสกัด 30 หรือ 60 นาที (เวลาในการสกัด 30 และ 60 นาทีให้ค่าที่ไม่แตกต่างกัน) และการเพิ่มปริมาณของตัวทำละลายทำให้ได้รับโอลิโกแซกคาไรด์มากขึ้น ในขณะที่การเพิ่มอัตราส่วนระหว่าง DCM กับตัวทำละลายมากกว่า 1:10 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น ตัวทำละลายเอทานอล 50% อัตราส่วนระหว่าง DCM กับตัวทำละลาย 1:10 อุณหภูมิการสกัด 50 ^{O}C และเวลาในการสกัด 30 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสม โดยจากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลแต่ละชนิดด้วย HPLC พบว่า

สายพันธ์ 171 ให้ค่า α-GOS สูงที่สุด (8.68%) และน้ำตาลซูโคสที่ต่ำ (2.36%) ซึ่งสามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์โดยปราศจากน้ำตาลซูโคสเพื่อใช้เป็นอาหารส่งเสริมสุขภาพต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อออกแบบและจัดสร้างระบบสกัดสารพรีไบโอติกส์แบบแบทช์
2. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารพรีไบโอติกส์จากพืชเกษตรด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารพรีไบโอติกส์จากพืชเกษตร
2. เป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงและพัฒนาเครื่องสกัดสารพรีไบโอติกส์
3. ส่งเสริมให้มีการนำพรีไบโอติกส์จากธรรมชาติไปใช้ประโยชน์มากขึ้น

บทที่ 2
วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. วัตถุดิบ

1. เปลือกลูกตาลส่วนที่หุ้มวุ้น โดยได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์แปรรูปผลผลิตจากตาลโตนด หมู่ 3 ต. คลองรี อ. สทิงพระ จ. สงขลา 90190
2. เมล็ดขนุนพันธ์ทองประเสริฐ จากร้านสรรพสินค้าคาร์ฟูร์และโลตัส อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา

2. สารเคมี

1. น้ำกลั่น
2. 95%Ethanol (Commercial grade)
3. Phenol (Laboratory grade)
4. 98% Conc. Sulfuric acid (Laboratory grade)
5. Dinitrosalicylic acid (Laboratory grade)
6. Sodium sulfite (Laboratory grade)
7. Sodium hydroxide (Laboratory grade)
8. Potassium sodium tartrate (Laboratory grade)

3. อุปกรณ์

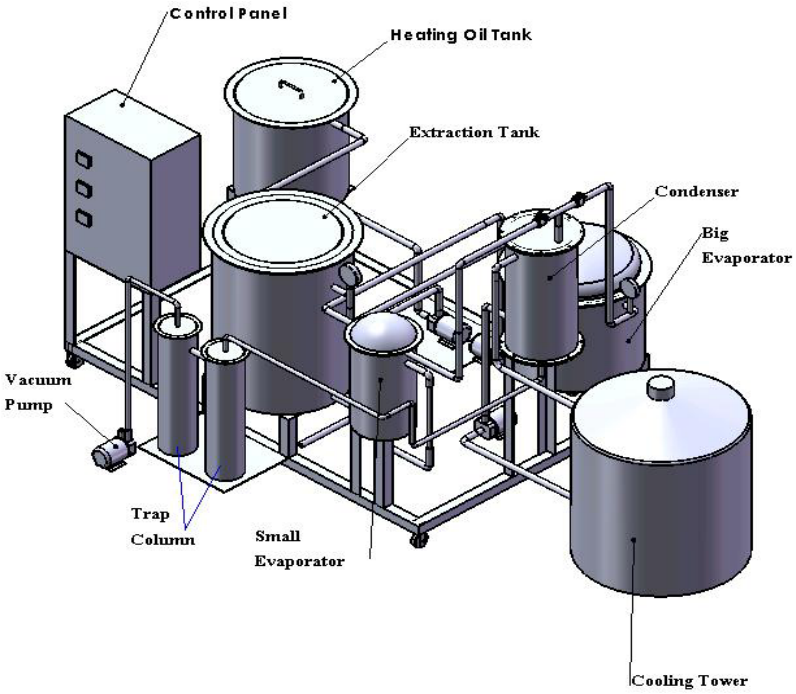
1. ตู้อบความร้อน (Memmert: UNB 400)
2. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Memmert: SV 1422)
3. Microplate 96 หลุม
4. Microplate reader (Biotek: Power Wave XS.)
5. Rotary vacuum evaporator (Buchi: Vacuum pump V-700)
6. หลอดทดลอง
7. เครื่อง UV-visible spectrophotometer (Hewlett Packard 8453)
8. ไมโครปิเปต (ขนาด 20-200 ไมโครลิตร)
9. ไมโครปิเปต (ขนาด 1000ไมโครลิตร)
10. Multichanels pipet (ขนาด 20-200 ไมโครลิตร)

11. เครื่องกรองสุญญากาศ (SIBATA: Circulating Aspirator WJ-20)
12. เครื่องเหวี่ยงแยก
13. เครื่องทำแห้งเยือกแข็ง (Flexi-Dry μP)
14. ตะแกรงร่อนมาตรฐาน
15. Refractometer

4. วิธีการทดลอง

4.1 ชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง

ชุดสกัดแบบแบทช์ต้นแบบโรงงานประกอบด้วยถังสกัด (Extraction tank) ภายในถังสกัดจะมีขดลวดทองแดงไว้ให้น้ำร้อนไหลผ่านเพื่อควบคุมอุณหภูมิในการสกัด สารละลายที่ได้จากการสกัดถูกนำมาระเหยด้วยถังระเหยขนาดใหญ่ (Big Evaporator) และถังระเหยขนาดเล็ก (Small evaporator) ซึ่งถูกทำให้เป็นแบบสุญญากาศเพื่อลดอุณหภูมิในการระเหย โดยถังระเหยขนาดใหญ่จะต้องมีสารละลายอย่างน้อย 14 ลิตร เพื่อจะให้สารละลายท่วม Heater หากมีไม่มีสารละลายท่วม Heater จะทำให้ Heater ไหม้ได้ ไอของตัวทำละลายที่ระเหยจะไปยังถังควบแน่น (Condenser) โดยน้ำหล่อเย็นที่ผ่านถังควบแน่นต่อกับ cooling tower ซึ่งมีพัดลมระบายความร้อนอยู่ด้านบน เพื่อระบายความร้อนน้ำหล่อเย็น ไอของตัวทำละลายที่ควบแน่นถูกเก็บไว้ที่ Trap column ซึ่งรูปชุดสกัดแบบแบทช์แบบ 3 มิติ และ ชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง แสดงดังภาพประกอบที่ 1 และ 2 ตามลำดับ



ภาพประกอบที่ 1 ภาพวาด 3 มิติของชุดสกัดแบบแบทช์

ภาพประกอบที่ 2 ชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง

4.2 การสกัดเปลือกลูกตาลและเมล็ดขนุน

4.2.1 การเตรียมเปลือกลูกตาล

นำเปลือกลูกตาลส่วนที่หุ้มเนื้อมาล้างทำความสะอาด จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 40-45 ^{O}C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เนื่องจากเปลือกลูกตาลมีปริมาณมาก จึงต้องการทำการอบเพื่อไม่ให้เกิดเน่าเสีย ซึ่งเปลือกลูกตาลมีความชื้นเริ่มต้น 98% และเปลือกลูกตาลที่ผ่านการอบแห้งแล้วมีความชื้น 2-4 %

4.2.2 การสกัดเปลือกลูกตาลด้วยชุดทดลองขนาดเล็ก

1. นำเปลือกลูกตาลที่ผ่านการอบแห้งแล้วมาทำให้มีขนาด 2-10 mm. ชั่งเปลือกลูกตาลมา 20 กรัม ทำการสกัดโดยแช่ในตัวทำละลายในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร ที่ใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ
2. ทำการสกัดที่สภาวะต่างๆ กัน โดยศึกษาผลของอุณหภูมิ (30, 50 และ 60 ^{O}C) เวลาในการสกัด (30, 60 และ 120 นาที) อัตราส่วนระหว่างเปลือกลูกตาลกับตัวทำละลาย (1:8, 1:10 และ 1:15 w/v) และชนิดของตัวทำละลาย (น้ำกลั่นและเอทานอล 95%)
3. นำสารละลายที่ได้จากการสกัดมากรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกเปลือกลูกตาลออก จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงแยกเพื่อแยกกากที่ละเอียดออกอีกครั้งหนึ่ง
4. นำสารละลายใสที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary vacuum evaporator จากนั้นนำไปทำเป็นผงแห้งด้วยเครื่อง Freeze dryer
5. คำนวณผลได้ของสารสกัด (Total extracted yield, %) โดยคิดจากน้ำหนักสารที่สกัดได้หลังจากการทำแห้งต่อน้ำหนักแห้งเริ่มต้นของเปลือกลูกตาล
6. นำสารสกัดที่ผ่านการทำแห้งแล้วมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์

4.2.3 การสกัดเมล็ดขนุนด้วยชุดทดลองขนาดเล็ก

เตรียมตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล 50% และเอทานอล 95% จากนั้นนำเมล็ดขนุนมาล้างทำความสะอาดแล้วทำให้แห้ง จากนั้นนำไปบดด้วยเครื่องบดและแยกขนาดด้วยเครื่องแยกขนาดที่ขนาดต่างๆ กัน ชั่งเมล็ดขนุนที่ผ่านการแยกขนาดต่างๆ กัน 100 กรัม มาสกัด โดยตัวทำละลายแต่ละความเข้มข้นจะทำการศึกษาผลของขนาดอนุภาคของเมล็ดขนุน (1.0-2.0, 2.0-2.8 และ 2.8-5.6 mm.) อัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลาย (1:2, 1:4, 1:6 และ

1:8 w/v)โดยแต่ละสภาวะใช้เวลาในการสกัด 1 ชั่วโมง อุณหภูมิในการสกัด 30 ^{O}C (อุณหภูมิห้อง) และมีการควบคุมอัตราการกวนที่ 200 รอบต่อนาที หลังจากทำการสกัดเรียบร้อยแล้ว นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกกาก จากนั้นนำสารละลายที่ได้จากการสกัดกรองด้วยกระดาษกรอง (whatman. No. 1) อีกครั้งเพื่อแยกกากที่มีขนาดเล็ก และนำสารละลายใสที่ได้ไปหาผลได้ของสารสกัด (%yield) จากนั้นเลือกสภาวะเบื้องต้นจากการทดลองด้วยชุดทดลองขนาดเล็กเพื่อนำไปศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ต่อไป

4.2.4 การสกัดเมล็ดขนุนด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง

ในการทดลองด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ได้มีการศึกษาถึงจุดเก็บตัวอย่างที่เหมาะสมเพื่อศึกษาผลของเวลาในการสกัด รวมไปถึงการปรับปรุงระบบการไหลเวียนของสารละลายภายในถังสกัดเนื่องจากในตอนเริ่มต้นการไหลเวียนของสารละลายเป็นแบบไหลล้นทำให้ต้องใช้วัตถุดิบทั้งในส่วนของเมล็ดขนุนและตัวทำละลายในปริมาณที่มาก ดังนั้นจึงได้มีการปรับเปลี่ยนระบบการไหลเวียนของสารละลายให้เกิดขึ้นเฉพาะภายในถังสกัดเพียงอย่างเดียว และการเพิ่มพื้นที่ในการสัมผัสกันระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลายโดยการใช้แผ่นตะแกรงแบ่งเมล็ดขนุนออกเป็นชั้นๆ ก่อนจะบรรจุในถังตะแกรง ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. นำเมล็ดขนุนมาล้างทำความสะอาดแล้วทำให้แห้ง จากนั้นนำไปบดด้วยเครื่องบดและแยกขนาดให้ได้ขนาดอยู่ในช่วง 1.0-2.0 mm. โดยเมล็ดขนุนในช่วงขนาดอนุภาค 1.0-2.0 mm. มีความหนาแน่น 1.088 g/cm^{3}
2. เตรียมสารละลายเอทานอล 50% ใส่ในถังสกัดในอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลายเป็น 1:8
3. นำเมล็ดขนุนขนาด 1.0-2.0 mm. บรรจุในถังตะแกรงโดยมีแผ่นตะแกรงแบ่งเมล็ดขนุนออกเป็นชั้นๆ นำไปแช่ในถังสกัด 12 ชั่วโมง ก่อนเริ่มทำการสกัด
4. ทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง (30 ^{O}C) และ 60 ^{O}C โดยที่อุณหภูมิ 60 ^{O}C ได้ตั้งค่าอุณหภูมิของถังให้ความร้อนไว้ที่ 60 ^{O}C หลังจากอุณหภูมิในถังสกัดเป็น 60 ^{O}C ให้ลดอุณหภูมิของถังให้ความร้อนลงมาประมาณ 57 ^{O}C และทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 360 และ 480 นาที โดยเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ ประมาณ 220 มิลลิลิตร
5. นำสารสกัดที่ได้ที่เวลาในการสกัดต่างๆ มากรองด้วยกระดาษกรอง whatman no.1
6. นำสารละลายใสที่ผ่านการกรองไปหาผลได้ของสารสกัดซึ่งใช้ประมาณ 20 มิลลิลิตร และนำสารละลายใสส่วนที่เหลือไประเหยด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นมากขึ้นโดยความดันในการระเหยมีค่าอยู่ในช่วง 16-26 cmHg

7. นำสารสกัดที่ผ่านการระเหยเอาตัวทำละลายออกแล้วไปทำแห้งด้วยเครื่อง freeze dry
8. นำสารสกัดที่ผ่านการทำแห้งแล้วมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์

5. วิธีการวิเคราะห์

5.1 การคำนวณหาผลได้ของสารสกัด (%yield)

1. นำถ้วยเซรามิคอบที่อุณหภูมิ 105 ^{O}C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
2. นำถ้วยเซรามิคที่อบแล้วใส่โถดูดความชื้นประมาณ 20-30 นาที
3. นำมาชั่ง บันทึกน้ำหนักถ้วย จากนั้น นำสารสกัดปริมาณ 10 มิลลิลิตร ใส่ในถ้วยเซรามิค
4. นำไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยอ่างควบคุมความร้อนที่อุณหภูมิ 80 ^{O}C จนกระทั่งตัวทำละลายเริ่มแห้ง
5. นำไปอบต่อที่อุณหภูมิ 105 ^{O}C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
6. เอาตัวอย่างที่อบใส่โถดูดความชื้นประมาณ 15- 20 นาที จากนั้นนำมาชั่งและบันทึกน้ำหนัก และนำไปอบต่ออีก 1 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนัก ทำเช่นนี้จนกระทั่งน้ำหนักที่ได้คงที่ จากนั้นนำมาคำนวณหาค่าผลได้ของสารสกัด (%yield) โดยหาจากอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักของสารสกัดหลังจากทำแห้งต่อน้ำหนักเริ่มต้นของพืชก่อนเริ่มทำการสกัด

$$Total\ extracted\ yield\ (\%) = \frac{weight\ of\ extracted\ after\ ovened}{wieght\ of\ plant\ before\ extracting}$$

5.2 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี Modified dinitrosalicylic acid (Miller, 1959)

1. เตรียมสารสกัดให้มีความเข้มข้น 1% w/v จากนั้นเจือจางให้อยู่ในช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม
2. ดูดตัวอย่างสารละลายที่เจือจางเหมาะสมปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ใน microplate 96 หลุม
3. เติมสารละลาย Dinitrosalicylic acid ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าเบาๆ ให้สารละลายผสมกัน ประมาณ 30 วินาที
4. ปิด microplate ด้วยถุงซิปล็อค และนำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 ^{O}C เป็นเวลา 30 นาที

5. ทำให้เย็นและนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร
6. เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานและคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารสกัดในหน่วย mg/g สารสกัด

5.3 การวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด โดยวิธี Modified phenol sulfuric method (Fox and Robyt, 1991)

1. เตรียมสารสกัดให้มีความเข้มข้น 1% w/v จากนั้นเจือจางให้อยู่ในช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม
2. ดูดตัวอย่างสารละลายที่เจือจางเหมาะสมปริมาตร 25 ไมโครลิตร ใส่ใน microplate 96 หลุม
3. เติมสารละลาย 5%phenol ปริมาตร 25 ไมโครลิตร เขย่า microplate เบาๆ เพื่อให้สารผสมกันประมาณ 30 วินาที
4. วางแผ่น microplate บนน้ำแข็ง ค่อยๆ เติม Conc. Sulfuric acid ปริมาตร 125 ไมโครลิตร จากนั้นเขย่าเบาๆ เพื่อให้สารผสมกันประมาณ 30 วินาที
5. ปิด microplate ด้วยถุงซิปล็อคและนำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 ^{O}C เป็นเวลา 30 นาที
6. ทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง และนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร
7. เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานและคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดในหน่วย mg/g สารสกัด

5.4 การหาปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์

ปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ (Non-reducing sugar) คือน้ำตาลในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์และโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นที่เป็นพรีไบโอติกส์ โดยสามารถคำนวณได้จาก

Non-reducing sugar = Total sugar – Reducing sugar

5.5 การทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของโปรไบโอติกส์

ทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ของสารสกัด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียกลุ่ม Lactobacilli และ Bifidobacteria เนื่องจากแบคทีเรียเหล่านี้สามารถหมักกรดแลคติกและเป็นจุลินทรีย์ที่พบในทางเดินอาหารของมนุษย์ ในการทดสอบนี้ใช้แบคทีเรีย 2 ชนิดคือ *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus plantarum* โดยนำแบคทีเรีย

โปรไบโอติกส์มาเลี้ยงในอาหารเหลว De Man Rogosa Sharpe (MRS) ซึ่งประกอบด้วย Proteose peptone 10 g/l, Beef extract 10 g/l, Yeast extract 5 g/l, Dextrose 20 g/l, Polysorbate 80 1 mg/l, Ammonium citrate 2 g/l, Sodium acetate 5 g/l, Magnesium sulphate 0.1 g/l, Manganese sulphate 0.05 g/l และ Dipotassium phosphate 2g/l จากนั้นทำการถ่ายเชื้อลงใน minimal medium ซึ่งประกอบด้วย Peptone water 2 g/l, Yeast extract 2 g/l, NaCl 0.1 g/l, K_2HPO_4 0.04 g/l, KH_2PO_4 0.04 g/l, $CaCl_2$.6H2O 0.01 g/l, $MgSO_4.7H_2O$ 0.01 g/l, $NaHCO_3$ 2 g/l, Tween 80 2 mg/l, Cysteine-HCl 0.5 g/l และ Bile salt 0.5 g/l โดยใส่สารที่สกัดได้เพื่อเป็นแหล่งของคาร์บอนเปรียบเทียบกับการใช้น้ำตาลกลูโคส โดยในการทดสอบความสามารถในการเจริญของโปรไบโอติกส์จะทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 6, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง เพื่อนำมาวัดการเจริญของแบคทีเรียโปรไบโอติกส์

5.6 วิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบโดยใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

สารเคมี

1. Acetonitrile HPLC grade
2. Water HPLC grade
3. Iso-propanol HPLC grade
4. H_2SO_4 concentration
5. 1 N NaOH

เครื่องมือ

Column: Agilent Zorbax LC- NH_2, 4.6 mm x 250 mm, 5µm

Mobile phase: acetonitrile : water, 75:25

Flow rate: 1 ml/min

Temp.: ambient

Detector: RI

Inject. 20 µl

วิธีการเตรียมสารละลายสารสกัด

การเตรียมตัวอย่าง โดยการละลายสารสกัดด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตร นำมาแบ่งเป็น 2 หลอด

หลอดที่ 1 เจือจางสารละลายสารสกัดด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นในช่วงของสารละลายมาตรฐาน

หลอดที่ 2 ย่อย (Hydrolyze) สารละลายสารสกัดโดยการเติมกรดซัลฟูริกให้มีความเข้มข้นของกรดสุดท้ายในสารละลายเป็น 2 N ต้มใน water bath อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และทำให้เป็นกลางด้วย 1 N NaOH เจือจางสารละลายสารสกัดด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นในช่วงของสารละลายมาตรฐาน นำสารละลายสารสกัดทั้งสองหลอดกรองด้วยตัวกรองขนาด 0.2 µm ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ปริมาณ 20 ไมโครลิตร

การหาความเข้มข้นของเอทานอลที่ระเหยได้

หาความเข้มข้นของเอทานอลที่ระเหยได้ด้วยเครื่อง Refractometer โดยนำเอทานอลที่ได้จากการระเหยมาเตรียมให้ได้ความเข้มข้นอยู่ในช่วงที่เหมาะสม จากนั้นนำไปวัดค่าดัชนีหักเหด้วยเครื่อง Refractometer นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

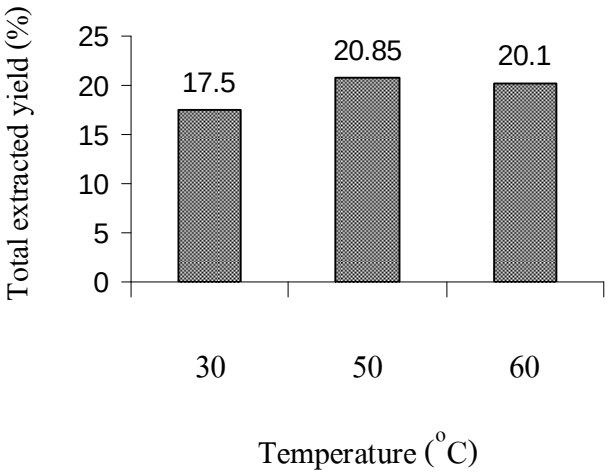
บทที่ 3

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

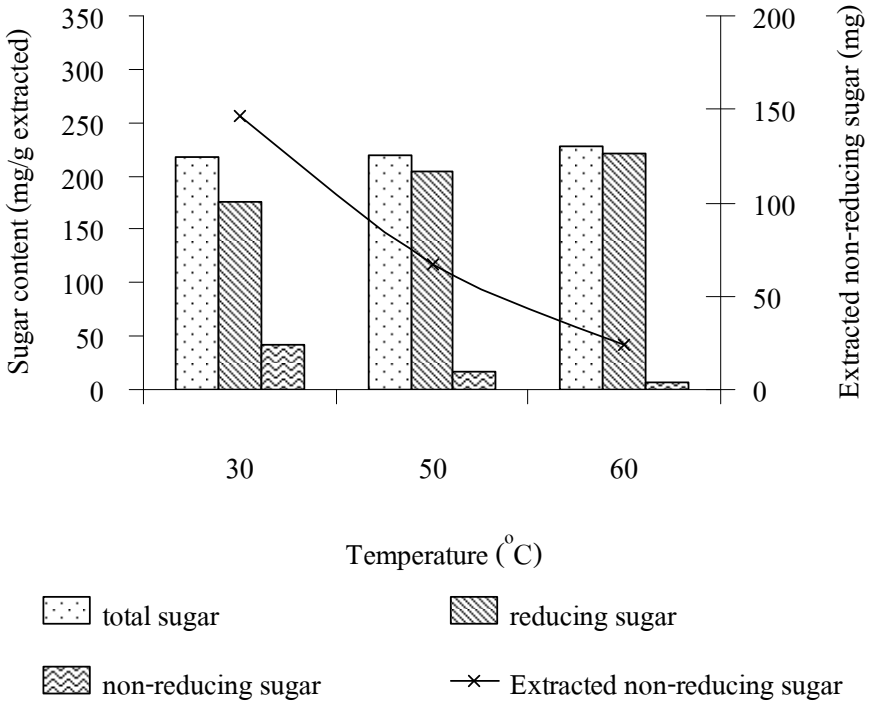
1. การสกัดเปลือกลูกตาลในชุดทดลองขนาดเล็ก

1.1 ผลของอุณหภูมิในการสกัดเปลือกลูกตาล

ทำการสกัดโดยใช้อัตราส่วนระหว่างเปลือกลูกตาลกับน้ำกลั่น 1:10 w/v และเวลาในการสกัด 60 นาที จากภาพประกอบที่ 3 พบว่า ที่อุณหภูมิ 50 และ 60 ^{O}C ให้ผลได้ของสารสกัดที่ใกล้เคียงกัน ส่วนที่อุณหภูมิ 30 ^{O}C ให้ผลได้ของสารสกัดน้อยกว่า เมื่อนำสารสกัดดังกล่าวไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์พบว่าที่อุณหภูมิ 60 ^{O}C มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมากที่สุดคือ 227.01 mg/g extracted ทั้งนี้เนื่องจากที่อุณหภูมิสูงตัวทำละลายสามารถละลายน้ำตาลได้ดีกว่าที่อุณหภูมิต่ำ (Treybal, 1980) ความเข้มข้นของน้ำตาลในส่วนที่สกัดได้จึงสูง อย่างไรก็ตามการใช้อุณหภูมิที่สูงเกินไปอาจทำให้ได้น้ำตาลโมเลกุลเล็กออกมาในปริมาณที่มากด้วย ดังจะเห็นได้ว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก็มีค่าสูง คือ 220.99 mg/g extracted ซึ่งจะเหลือปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ซึ่งเป็นส่วนของน้ำตาลที่น่าจะเป็นพรีไบโอติกส์เพียง 6.03 mg/g extracted ในขณะที่อุณหภูมิในการสกัดเป็น 30 ^{O}C จะได้ปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์สูงกว่า (ภาพประกอบที่ 4) ดังนั้นการสกัดสารพรีไบโอติกส์จึงไม่ควรทำที่อุณหภูมิสูงเกินไป และเมื่อพิจารณาในแง่ของพลังงานที่ใช้แล้วการสกัดพรีไบโอติกส์ที่อุณหภูมิ 30 ^{O}C จึงน่าจะเป็นทางเลือกที่เหมาะสม



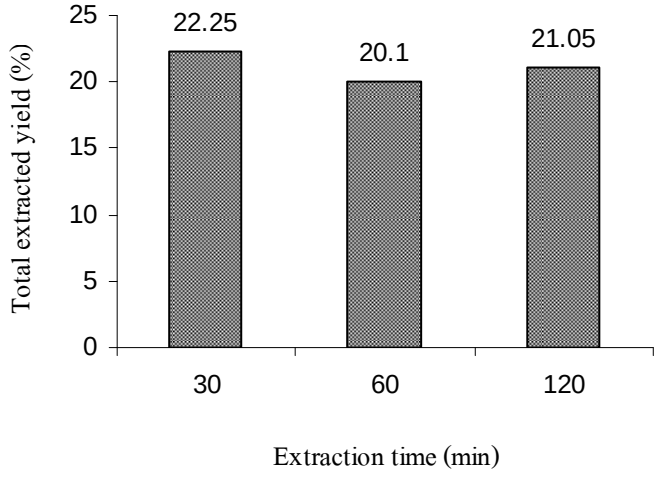
ภาพประกอบที่ 3 ผลของอุณหภูมิต่อผลได้ของสารสกัด โดยสกัดเปลือกลูกตาลอบแห้งโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย เวลาในการสกัด 60 นาที และอัตราส่วนระหว่างเปลือกตาลกับตัวทำละลาย 1:10 w/v



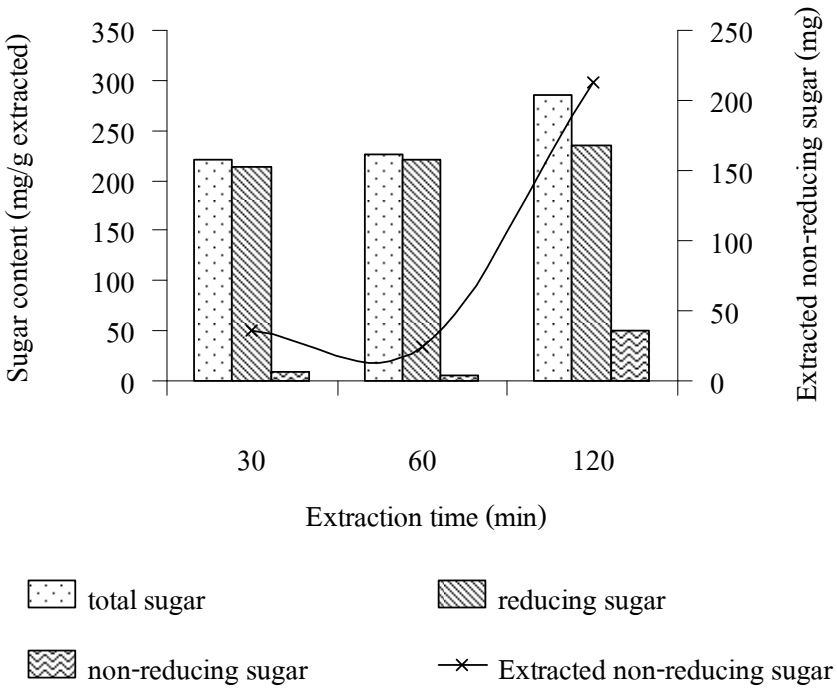
ภาพประกอบที่ 4 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์และ น้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ ทำการสกัดเปลือกลูกตาลอบแห้ง โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย เวลาในการสกัด 60 นาที และอัตราส่วนระหว่างเปลือกตาลกับตัวทำละลาย 1:10 w/v

1.2 ผลของเวลาในการสกัดเปลือกลูกตาล

ทำการทดลองโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย อุณหภูมิในการสกัด 60 ^{O}C และอัตราส่วนระหว่างเปลือกลูกตาลกับตัวทำละลาย 1:10 w/v จากภาพประกอบที่ 5 พบว่าเมื่อเวลาในการสกัดนานขึ้นผลได้ของสารสกัดไม่มากขึ้นแต่กลับลดลงเล็กน้อย แต่เมื่อนำสารสกัดมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าเมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้น่าจะเป็นผลจากระยะเวลาในการสัมผัสระหว่างตัวละลายและตัวทำละลายที่เพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเวลาผ่านไปจนสารละลายอิ่มตัวด้วยตัวละลาย อัตราการสกัดก็จะลดลง (Herodez, 2003) เมื่อพิจารณาในส่วนของน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ พบว่าที่เวลาในการสกัด 120 นาที มีปริมาณมากที่สุดคือ 50.51 mg/g extracted (ภาพประกอบที่ 6) ซึ่งจากการศึกษากระบวนการสกัดที่ผ่านมา พบว่าการสกัดที่อุณหภูมิสูงจะทำให้ใช้ระยะเวลาในการสกัดที่น้อยลง (Kim *et al*., 2003; Lee *et al*., 1987) ซึ่งในการทดลองนี้ได้ทำการสกัดที่อุณหภูมิสูง 60 ^{O}C ซึ่งได้ระยะเวลา 120 นาทีเป็นเวลาที่เหมาะสม ดังนั้นถ้าทำการสกัดที่อุณหภูมิ 30 ^{O}C อาจต้องใช้เวลาในการสกัดที่นานขึ้น



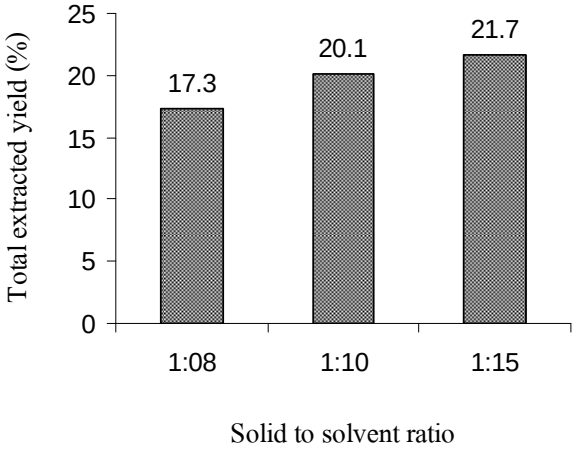
ภาพประกอบที่ 5 ผลของเวลาต่อผลได้ของสารสกัด ที่ได้จากการสกัดเปลือกลูกตาลอบแห้ง โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย อุณหภูมิในการสกัด 60 ^{O}C และ อัตราส่วนระหว่างเปลือกตาลกับตัวทำละลาย 1:10 w/v



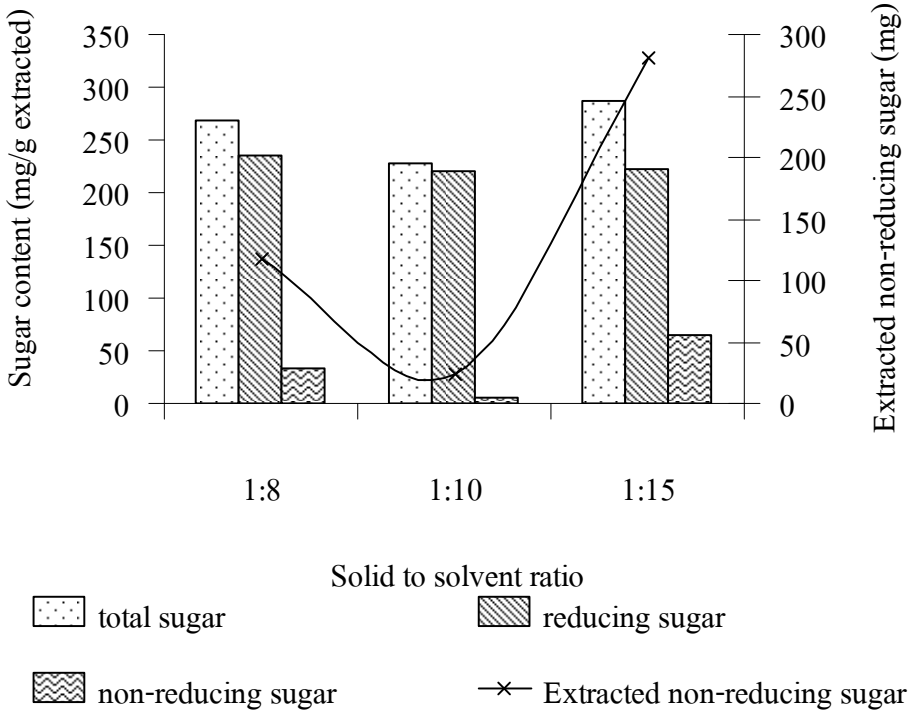
ภาพประกอบที่ 6 ผลของเวลาต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และ น้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ ทำการสกัดเปลือกลูกตาลอบแห้ง โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย อุณหภูมิในการสกัด 60 ^{O}C และอัตราส่วนระหว่างเปลือกตาลกับตัวทำละลาย 1:10 w/v

1.3 ผลของอัตราส่วนระหว่างเปลือกลูกตาลกับตัวทำละลายในการสกัดเปลือกลูกตาล

ทำการสกัดโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย อุณหภูมิ 60 ^{O}C และเวลาในการสกัด 60 นาที จากภาพประกอบที่ 7 พบว่าที่อัตราส่วนระหว่างเปลือกลูกตาลกับตัวทำละลายเพิ่มขึ้นผลได้ของสารสกัดจะเพิ่มขึ้น และเมื่อนำสารสกัดมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ พบว่าจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนระหว่างเปลือกลูกตาลกับตัวทำละลายเพิ่มขึ้น ดังแสดงในภาพประกอบที่ 8 ส่วนการสกัดที่อัตราส่วนระหว่างเปลือกลูกตาลกับตัวทำละลาย 1:2 และ 1:4 ทำให้เกิดการดูดซับตัวทำละลายเข้าไปภายในเปลือกลูกตาลจนเหลือปริมาณตัวทำละลายอยู่น้อยมาก ในขณะที่ถ้าใช้ตัวทำละลายมากเกินไปจะทำให้เกิดภาวะเจือจางที่จะทำให้เกิดการสกัดได้น้อยลง (Kim *et al*., 2003) ซึ่งในการทดลองของเราที่ใช้อัตราส่วนระหว่างเปลือกลูกตาลกับตัวทำละลาย 1:15 ยังไม่เกิดภาวะเจือจาง และถ้าเพิ่มปริมาณของตัวทำละลายอาจได้พรีไบโอติกส์มากขึ้นหรือน้อยลงก็ได้ เมื่อพิจารณาในเชิงเศรษฐศาสตร์ทั้งในส่วนของค่าใช้จ่ายของวัตถุดิบและพลังงานที่ต้องใช้ในขั้นตอนการระเหย อัตราส่วน 1:15 จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสม



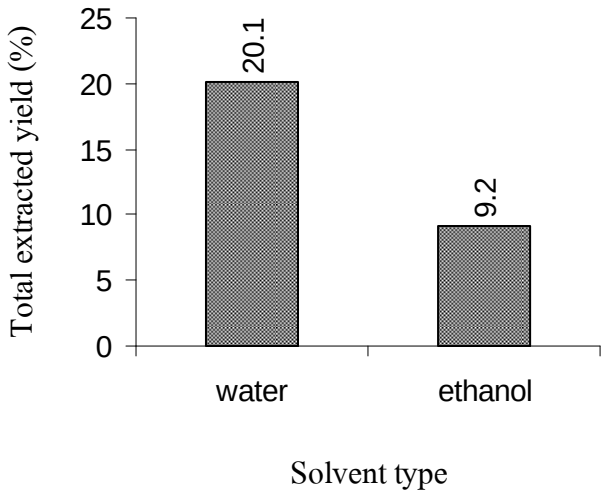
ภาพประกอบที่ 7 ผลของอัตราส่วนระหว่างเปลือกลูกตาลกับตัวทำละลายต่อผลได้ของสารสกัด ทำการสกัดเปลือกลูกตาลอบแห้ง โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย อุณหภูมิในการสกัด 60 ^{O}C และเวลาในการสกัด 60 นาที



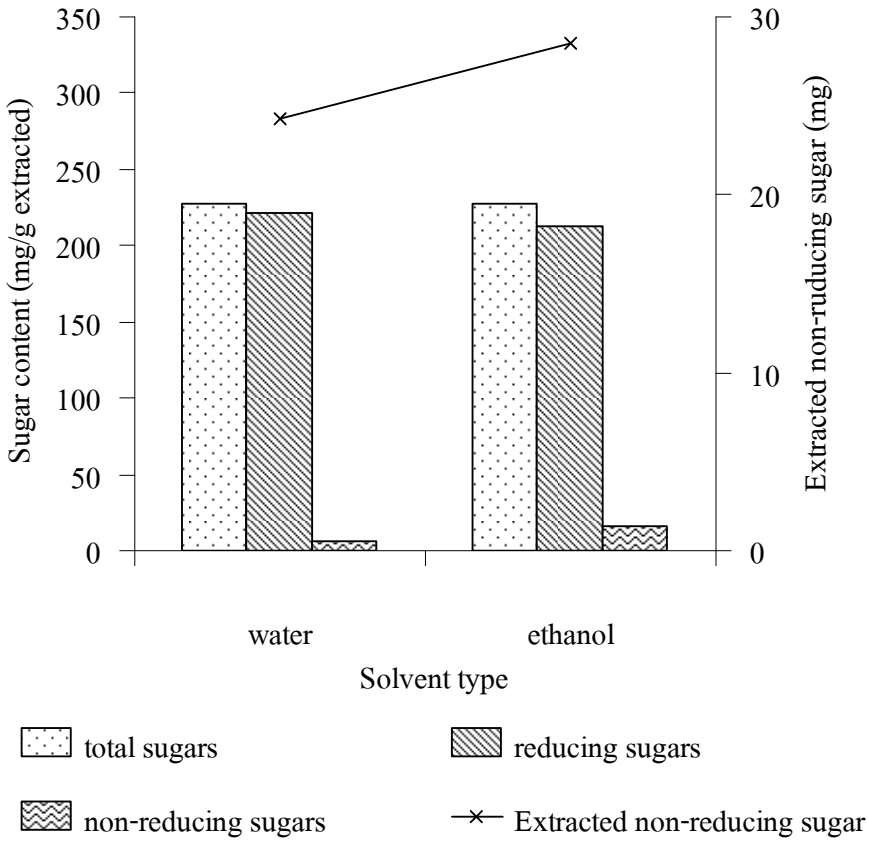
ภาพประกอบที่ 8 ผลของอัตราส่วนระหว่างเปลือกลูกตาลกับตัวทำลายต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ ทำการสกัดเปลือกลูกตาลอบแห้ง โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย อุณหภูมิในการสกัด 60 ^{O}C และ เวลาในการสกัด 60 นาที

1.4 ผลของชนิดตัวทำละลายในการสกัดเปลือกลูกตาล

ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 60 ^{O}C เวลาในการสกัด 60 นาที อัตราส่วนระหว่างเปลือกลูกตาลกับตัวทำละลาย 1:10 w/v โดยใช้น้ำกลั่นและเอทานอลเข้มข้น 95% เป็นตัวทำละลาย จากภาพประกอบที่ 9 พบว่าเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจะได้ผลได้ของสารสกัดมากกว่า เอทานอลอย่างชัดเจน แต่เมื่อพิจารณาภาพประกอบที่ 10 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์จะใกล้เคียงกัน ซึ่งการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจะมีข้อเด่นกว่าการใช้เอทานอลในแง่ของต้นทุนวัตถุดิบที่ถูกลง แต่ก็มีข้อด้อยในขั้นตอนของการระเหยตัวทำละลายที่จะต้องใช้พลังงานมากกว่า และจากข้อมูลการสกัด Soybean oligosaccharides การสกัดด้วยเอทานอล 10% จะให้ประสิทธิภาพที่ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นอื่นๆ ของเอทานอลและน้ำกลั่น (Kim *et al*., 2003) จึงควรมีการทดลองโดยใช้เอทานอลเข้มข้น 10% เป็นตัวทำละลายต่อไป



ภาพประกอบที่ 9 ผลของชนิดของตัวทำละลายต่อผลได้ของสารสกัด เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 60 ^{O}C เวลาในการสกัด 60 นาที และอัตราส่วนระหว่างเปลือกลูกตาลกับตัวทำละลาย 1:10 w/v

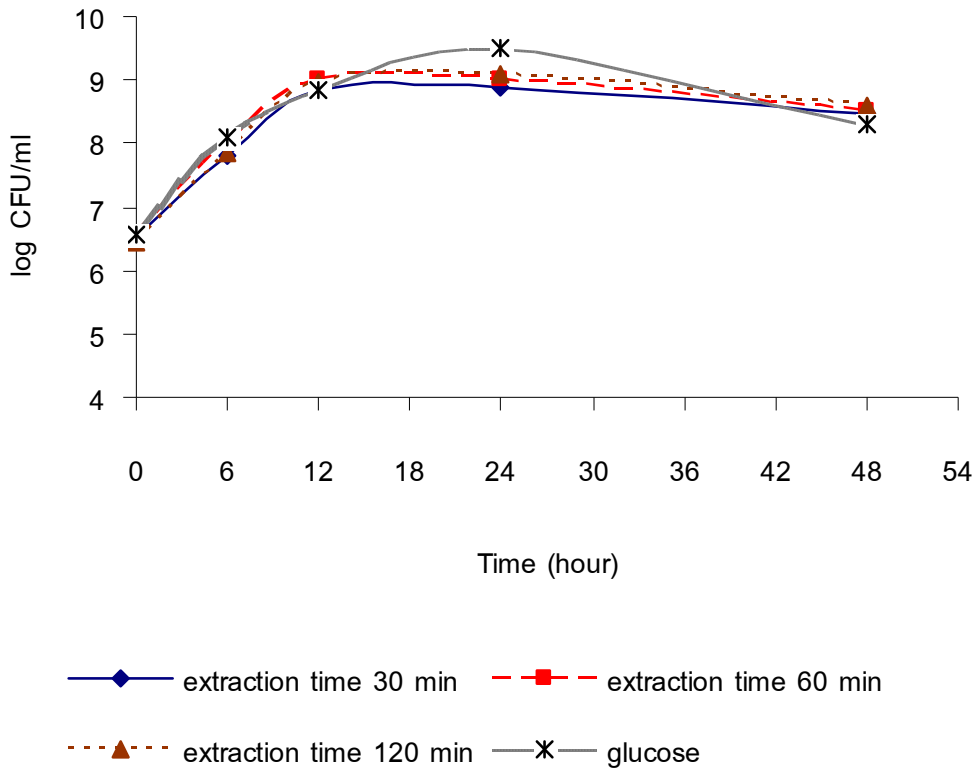


ภาพประกอบที่ 10 ผลของชนิดของตัวทำละลายต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 60 ^{O}C เวลาในการสกัด 60 นาที และอัตราส่วนระหว่างเปลือกลูกตาลกับตัวทำละลาย 1:10 w/v

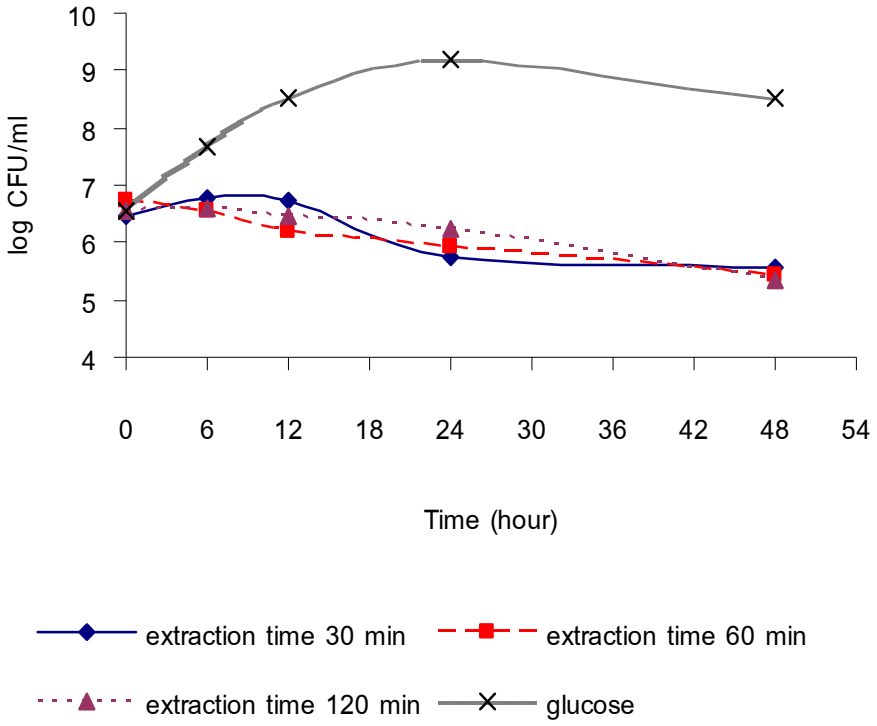
1.5 ผลการทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของโปรไบโอติกส์ของสารสกัดจากเปลือกลูกตาล

เมื่อนำสารที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 60 ^{O}C อัตราส่วนระหว่างเปลือกลูกตาลกับน้ำกลั่น 1:10 w/v และเวลาในการสกัด 30 60 และ 120 นาที มาใช้เป็นแหล่งของคาร์บอนของแบคทีเรีย โปรไบโอติกส์ *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus plantarum* เปรียบเทียบกับน้ำตาลกลูโคส พบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดที่เวลาต่างๆ กันส่งเสริมการเจริญของ *L. plantarum* ได้ใกล้เคียงกันและใกล้เคียงกับน้ำตาลกลูโคส ดังแสดงในภาพประกอบที่ 11 แต่ไม่ส่งเสริมการเจริญของ *L. acidophilus* ดังแสดงในรูปที่ 12 ซึ่งโดยปกติพรีไบโอติกส์ที่ใช้อยู่ในท้องตลาดก็ไม่สามารถส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ได้ทุกตัว จะส่งเสริมการเจริญ

เพียงบางตัวเท่านั้น (นิรัญญา, 2550) จึงมีแนวโน้มว่าสารสกัดที่ได้จากเปลือกตาลมีคุณสมบัติตามลักษณะของพรีไบโอติกส์ แต่ทั้งนี้จะต้องยืนยันผลด้วยการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี HPLC



ภาพประกอบที่ 11 การเจริญของแบคทีเรียโปรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* เมื่อใช้สารสกัดจากเปลือกลูกตาล



ภาพประกอบที่ 12 การเจริญของแบคทีเรียโปรไบโอติก Lactobacillus acidophilus เมื่อใช้สารสกัดจากเปลือกลูกตาล

1.6 ผลการวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลด้วย HPLC ของสารสกัดจากเปลือกลูกตาล

จากการวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลด้วย HPLC ไม่พบปริมาณ Oligosaccharides ในสารสกัดจากเปลือกลูกตาลอบแห้ง และพบเพียงเล็กน้อยเท่านั้นในสารสกัดจากเปลือกลูกตาลสด และพบว่าสารสกัดจากเมล็ดขนุน เมื่อสกัดด้วยเอทานอล 50% จะมี Polysaccharide content อยู่ดังตารางที่ 3 ดังนั้นจึงเปลี่ยนวัตถุดิบในการสกัดมาเป็นเมล็ดขนุน

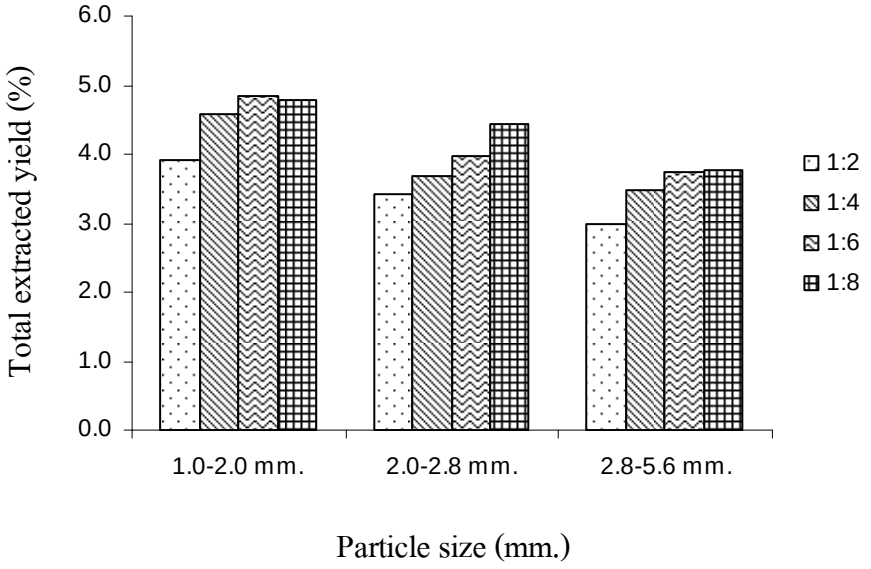
ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบโดยใช้เครื่อง HPLC

ตัวอย่าง	สารที่ใช้สกัด	Polysaccharide content mg/g extracted
เปลือกลูกตาลสด	เอทานอล 95%	0.00
เปลือกลูกตาลแห้ง	เอทานอล 95%	0.00
เปลือกลูกตาลสด	น้ำกลั่น	1.14
เปลือกลูกตาลแห้ง(รอบแรก)	น้ำกลั่น	0.00
เปลือกลูกตาลแห้ง(รอบสอง)	น้ำกลั่น	0.00
เมล็ดขนุน (ก่อนตกตะกอน)	เอทานอล 50%	29.35
เมล็ดขนุน (หลังตกตะกอน)	เอทานอล 50%	155.44

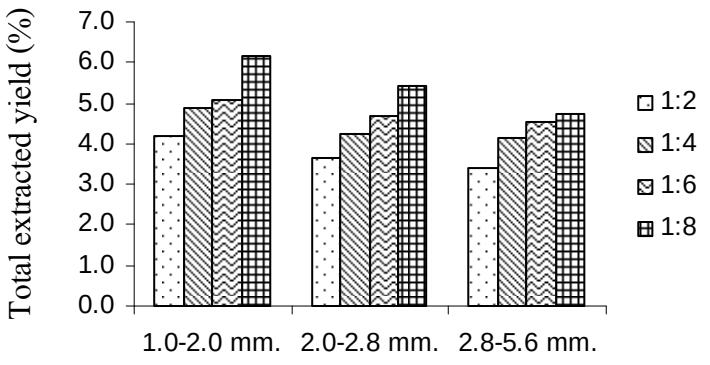
2. การสกัดสารพรีไบโอติกส์จากเมล็ดขนุนด้วยชุดทดลองขนาดเล็ก

ทดลองหาตัวแปรเบื้องต้นด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็กเพื่อนำค่าที่ได้ไปใช้ในการสกัดสารพรีไบโอติกส์ด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง โดยความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล 50% และเอทานอล 95% ตัวทำละลายแต่ละความเข้มข้นจะทำการศึกษาผลของขนาดเมล็ดขนุน (2.0-1.0, 2.0-2.8 และ 2.8-5.6 mm) อัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลาย (1:2, 1:4, 1:6 และ 1:8) แต่ละสภาวะทำการทดลองที่อุณหภูมิ 30 ^{O}C (อุณหภูมิห้อง) และเวลาในการสกัด 60 นาที โดยมีการกวนที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที จากนั้นนำสารที่ได้จากการสกัดไปหาผลได้ของสารสกัด (% extracted yield) จากการทดลองพบว่าขนาดของเมล็ดขนุนที่มีขนาดเล็กกว่าจะให้ผลได้ของสารสกัดที่สูงกว่า ดังแสดงในภาพประกอบที่ 13, 14 และ 15 ทั้งนี้เนื่องจากพื้นที่สัมผัสระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลายมีมากขึ้น และในขั้นตอนของการลดขนาดจะช่วยทำลายผนังเซลล์ที่หุ้มสารที่ต้องการสกัด ทำให้สารที่ต้องการสกัดเกิดการแพร่สู่ตัวทำละลายได้ง่ายขึ้น ทำให้อัตราการสกัดที่ได้เพิ่มขึ้น และเมื่อพิจารณาถึงอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลายพบว่า ผลได้ของสารสกัดเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลายเพิ่มขึ้น การเพิ่มอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลายมากกว่า 1:8 อาจ

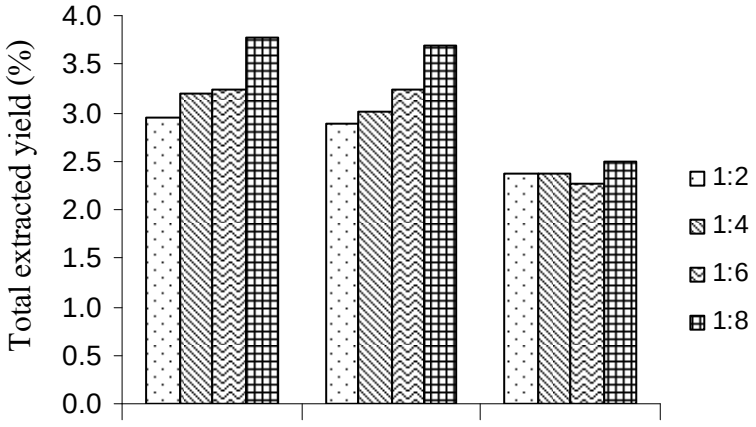
ทำให้ได้ผลได้ของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น แต่ถ้าใช้ปริมาณของตัวทำละลายมาก ก็จะเป็นการเพิ่มต้นทุนวัตถุดิบ อีกทั้งพลังงาน และเวลาที่ใช้ในการระเหยตัวทำละลายก็จะมากขึ้น จึงเลือกใช้อัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำลาย 1:8 ผลได้ของสารสกัดเมื่อใช้เอทานอล 50% เป็นตัวทำละลายให้ผลได้ของสารสกัดมากกว่าการใช้น้ำกลั่นและเอทานอล 95% ดังแสดงในภาพประกอบที่ 16 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากว่าที่ เอทานอล 50% จะมีสภาพความเป็นขั้วสูงกว่าเอทานอลที่มีความเข้มข้นต่ำ (Ekvall et al., 2007) ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ (Xiaoli *et al*., 2008) ซึ่งได้ทำการสกัด Oligosaccharides จาก Chickpea พบว่าเมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล 50% จะให้ประสิทธิภาพมากกว่าตัวทำละลายตัวอื่นๆ และผลได้ของ oligosaccharides น้อยกว่าเมื่อสกัดโดยใช้น้ำกลั่นหรือเอทานอล 30% และการใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอลมากกว่า 50% ทำให้ผลได้ของ Oligosaccharides ลดลงอย่างชัดเจนเนื่องจากการสกัดที่ไม่สมบูรณ์ในขณะที่โปรตีนอาจเกิดการ Denatured ได้ที่ความเข้มข้นของเอทานอลสูง นอกจากนี้การใช้น้ำกลั่นหรือ เอทานอลที่ความเข้มข้นต่ำเหมาะสมกับการสกัดน้ำตาลที่มีมวลโมเลกุลต่ำ (Xiaoli *et al*., 2008) ซึ่งสารพรีไบโอติกส์เป็นสารที่มีมวลโมเลกุลสูง



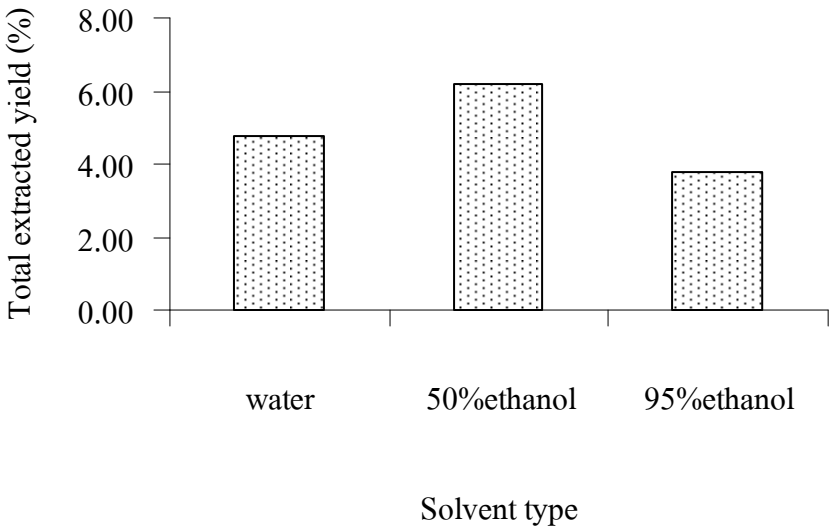
ภาพประกอบที่ 13 ผลได้ของสารสกัดเมื่อสกัดด้วยชุดทดลองขนาดเล็กโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย อุณหภูมิในการสกัด 30 ^{O}C (อุณหภูมิห้อง) เวลาในการสกัด 60 นาที ขนาดเมล็ดขนุน 1.0-2.0, 2.0-2.8 และ 2.8-5.6 mm และอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลาย 1:2, 1:4, 1:6 และ 1:8



ภาพประกอบที่ 14 ผลได้ของสารสกัดเมื่อสกัดด้วยชุดทดลองขนาดเล็กโดยใช้เอทานอล 50% เป็นตัวทำละลาย อุณหภูมิในการสกัด 30 ^{O}C (อุณหภูมิห้อง) เวลาในการสกัด 60 นาที ขนาดเมล็ดขนุน 1.0-2.0, 2.0-2.8 และ 2.8-5.6 mm และอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลาย 1:2, 1:4, 1:6 และ 1:8



ภาพประกอบที่ 15 ผลได้ของสารสกัดเมื่อสกัดด้วยชุดทดลองขนาดเล็กโดยใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย อุณหภูมิในการสกัด 30 ^{O}C (อุณหภูมิห้อง) เวลาในการสกัด 60 นาที ขนาดเมล็ดขนุน 1.0-2.0, 2.0-2.8 และ 2.8-5.6 mm และอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลาย 1:2, 1:4, 1:6 และ 1:8



ภาพประกอบที่ 16 ผลได้ของสารสกัดเมื่อตัวทำละลายเป็นน้ำกลั่น เอทานอล 50% และเอทานอล 95% อุณหภูมิในการสกัด 30 ^{O}C (อุณหภูมิห้อง) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 mm และอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลาย 1:8

ดังนั้นสภาวะเบื้องต้นที่นำไปใช้ทดลองสกัดสารพรีไบโอติกส์ด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์คือ ตัวทำละลายเอทานอล 50% ขนาดของเมล็ดขนุน 1.0-2.0 mm และอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลาย 1:8

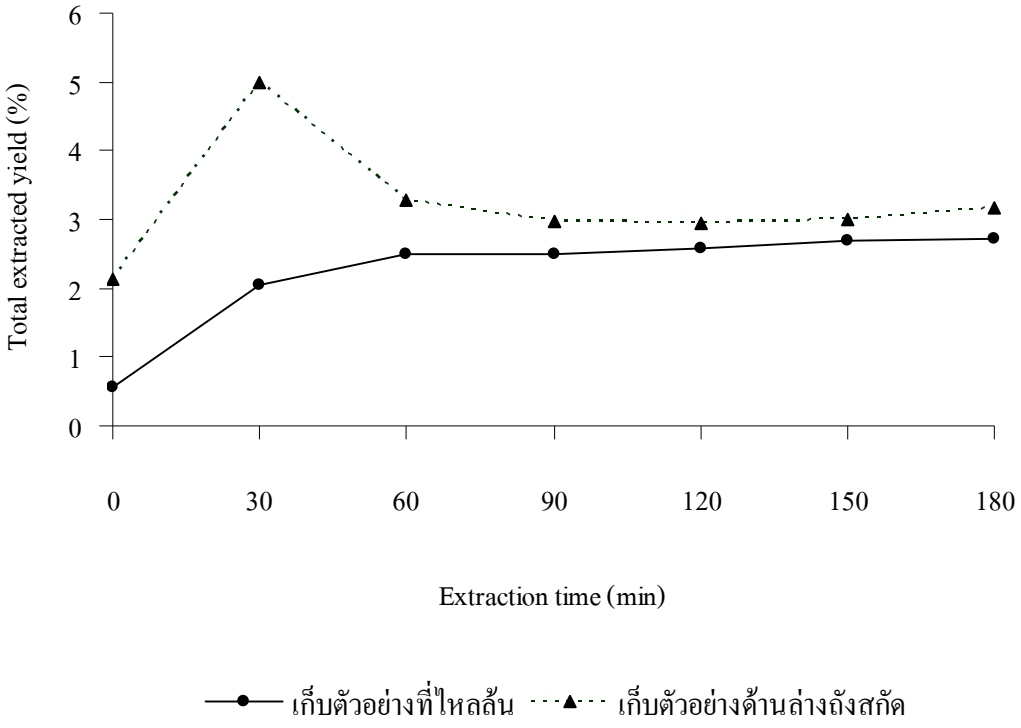
3. การสกัดเมล็ดขนุนด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง

3.1 การศึกษาจุดเก็บตัวอย่างสารสกัด

เนื่องจากเครื่องสกัดแบบแบทช์สามารถเก็บตัวอย่างได้หลายจุด ในการศึกษาผลของเวลาในสกัดจึงจำเป็นต้องเลือกจุดเก็บตัวอย่างที่เหมาะสมโดยได้ทำการสกัดเมล็ดขนุนด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์โดยอุณหภูมิในการสกัดเป็น 30 ^{O}C (อุณหภูมิห้อง) ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 % อัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลายเป็น 1:8 และขนาดอนุภาค 1.0-2.0 mm เก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที โดยทำการเก็บตัวอย่าง 2 จุด คือ บริเวณด้านบนของถังสกัดในส่วนที่ไหลล้น และบริเวณด้านล่างของถังสกัด ดังแสดงในภาพประกอบที่ 17 เพื่อเปรียบเทียบจุดที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่าง จากภาพประกอบที่ 18 จะเห็นว่าผลได้ของ

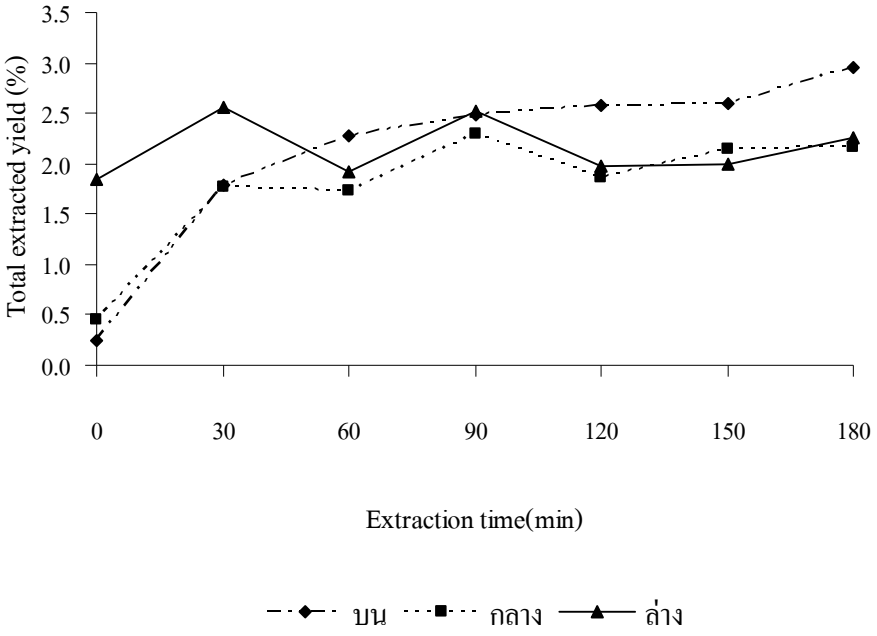
การเก็บตัวอย่างบริเวณส่วนด้านบนของถังสกัดในส่วนที่ไหลล้นจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเวลาในการสกัดผ่านไป 30 นาที เมื่อเวลาในการสกัดนานกว่า 60 นาที ผลได้มีแนวโน้มคงที่ แต่ผลได้ยังมีค่าค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยบีกเกอร์ (ผลได้จากการสกัดด้วยบีกเกอร์ประมาณ 6 %) ทั้งนี้น่าจะเกิดจากการสัมผัสกันระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลายได้ไม่ดีพอ เพราะเมล็ดขนุนจะอัดแน่นกันอยู่ในถังตะแกรง การเข้าถึงของตัวทำละลายทำได้ยาก การถ่ายโอนมวลจากเมล็ดขนุนมายังตัวทำละลายจึงเกิดขึ้นได้ไม่ดี ส่วนการเก็บตัวอย่างบริเวณด้านล่างของถังสกัดพบว่า ณ เวลาเริ่มต้นการสกัดให้ค่าผลได้ที่สูงกว่า และจะเพิ่มขึ้นอย่างรวด และหลังจากเวลาในการสกัด 45 นาทีเป็นต้นไป %yield ที่ได้กลับลดลงอย่างมาก ซึ่งอาจจะเกิดจากการที่สารละลายมีการผสมไม่ทั่วถึงเพราะการผสมจะเกิดจากการปั๊มตัวทำละลายจากด้านล่างของถังสกัด อย่างไรก็ตามเวลาในการสกัดเข้าสู่สมดุลเป็น 60 นาที เช่นเดียวกัน

ภาพประกอบที่ 17 บริเวณของจุดเก็บตัวอย่าง



ภาพประกอบที่ 18 ผลได้ของสารสกัดจากเมล็ดขนุนกับเวลาโดยการสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ เมื่ออุณหภูมิในการสกัดเป็น 30 ^{O}C

เมื่อทำการสกัดเมล็ดขนุนด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ที่อุณหภูมิ 60 ^{O}C โดยสภาวะอื่นๆ เหมือนกับการสกัดที่อุณหภูมิห้อง ทำการเก็บตัวอย่าง 3 จุด คือ บริเวณด้านบนของถังสกัดในส่วนที่ไหลล้น บริเวณด้านล่างของถังสกัด และบริเวณภายในถังสกัด พบว่า การเก็บตัวอย่างบริเวณด้านบนของถังสกัดยังคงให้ผลได้ที่มีแนวโน้มที่ดีกว่าบริเวณอื่นๆ โดยในช่วงเริ่มต้นของการสกัดอัตราการสกัดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและหลังจากเวลาในการสกัด 60 นาทีเป็นต้นไปพบว่า การแพร่ของตัวทำละลายเข้าสัมผัสกับตัวละลายเป็นกลไกควบคุมการสกัด ดังภาพประกอบที่ 19 ซึ่งดังนั้นจึงควรเก็บตัวอย่างบริเวณด้านบนของถังสกัดในส่วนที่ไหลล้น



ภาพประกอบที่ 19 ผลได้ของสารสกัดจากเมล็ดขนุนกับเวลาโดยการสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ เมื่ออุณหภูมิในการสกัดเป็น 60 ^{O}C

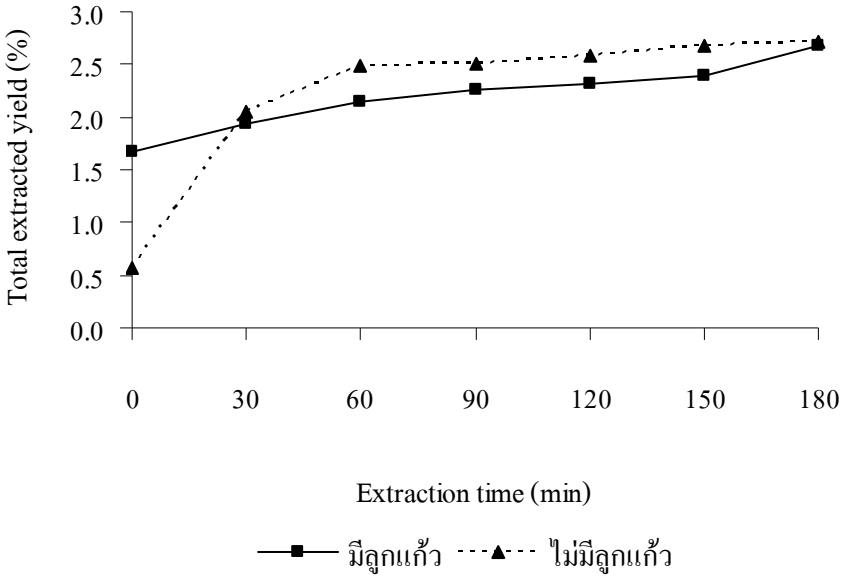
จากการทดลองหาจุดเก็บตัวอย่างที่เหมาะสมพบว่า ในทุกๆ จุดของการเก็บตัวอย่าง ผลได้ของสารสกัดยังมีค่าน้อยเมื่อเปรียบเทียบการสกัดด้วยชุดสกัดขนาดเล็ก ทั้งนี้เนื่องจากเกิดการอัดแน่นของเมล็ดขนุน โอกาสในการได้สัมผัสกันระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลายมีน้อย ผลได้ของสารสกัดจึงมีค่าน้อยด้วย จึงควรมีการปรับปรุงกระบวนการสกัด

3.3 การปรับปรุงกระบวนการสกัด

3.3.1 การใช้ลูกแก้วแทรกระหว่างวัตถุดิบ

เนื่องจากผลได้ยังมีค่าต่ำ จึงได้หาวิธีการในการเพิ่มพื้นที่การสัมผัสระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลาย โดยการเพิ่มชั้นลูกแก้วระหว่างเมล็ดขนุนเพื่อไม่ให้เมล็ดขนุนอัดแน่นจนเกินไป และเนื่องจากกลไกการแพร่ของตัวทำละลายเข้าสัมผัสกับตัวละลายเป็นกลไกควบคุมการสกัด ก่อนการสกัดจึงได้แช่เมล็ดขนุนในตัวทำละลายนาน 30 นาที จากผลการทดลองพบว่าการเพิ่มชั้นลูกแก้วไม่ได้ทำให้ผลได้เพิ่มขึ้นแต่กลับทำให้ลดลงเล็กน้อย ดังแสดงในภาพประกอบที่

20 ทั้งนี้เนื่องมาจากลูกแก้วมีน้ำหนักมาก ทำให้เมล็ดขนุนอัดแน่นมากขึ้น จึงไม่น่าจะเป็นวิธีการที่เหมาะสม และการแช่เมล็ดขนุนก่อนการสกัด 30 นาที ยังไม่นานพอ ดังนั้นในการสกัดจึงควรมีการแช่เมล็ดขนุนในตัวทำละลายก่อนเริ่มกระบวนการสกัดที่นานขึ้น เพื่อลดระยะเวลาในการสกัด ดังจะเห็นได้ว่า เมื่อเวลาในการสกัดเป็น 180 นาที ผลได้ยังมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น



ภาพประกอบที่ 20 ผลได้ของสารสกัดจากเมล็ดขนุนกับเวลาโดยการสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ อุณหภูมิในการสกัด 30 ^{O}C เมื่อมีลูกแก้วและไม่มีลูกแก้ว

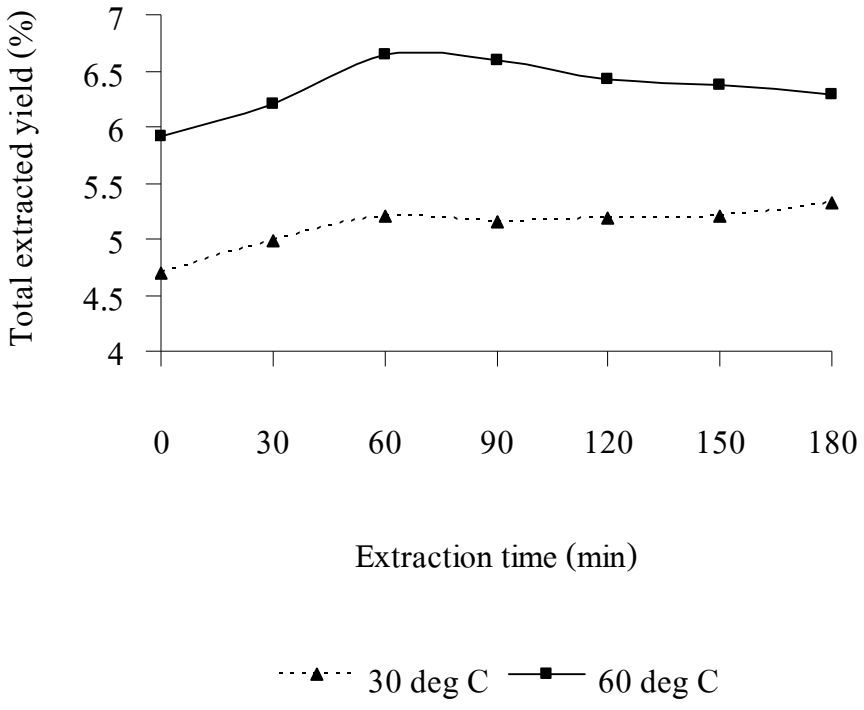
3.3.2 การใช้แผ่นตะแกรงแยกในการบรรจุวัตถุดิบ

ดัดแปลงการบรรจุวัตถุดิบให้มีช่องว่างและการสัมผัสระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลายให้มากขึ้นโดยใช้เส้นลวดร้อยเป็นฐานจากนั้นนำแผ่นตะแกรงวางข้างบนเส้นลวด โดยแบ่งออกเป็น 4 ชั้น คั่นระหว่างการบรรจุวัตถุดิบทุกๆ 2 กิโลกรัม ดังแสดงในภาพประกอบที่ 21-22 และทำการแช่วัตถุดิบในตัวทำละลายนาน 12 ชั่วโมง พบว่าผลได้มีค่าเพิ่มขึ้นประมาณ 2 เท่า ดังแสดงในภาพประกอบที่ 23 และด้วยวิธีการดังกล่าว เมื่อทำการทดลองที่อุณหภูมิ 30 และ 60 ^{O}C พบว่า ที่อุณหภูมิในการสกัด 60 ^{O}C ให้ผลได้มากกว่า 30 ^{O}C ดังนั้นจึงใช้แนวทางนี้ในการทดลองต่อไป ทั้งนี้ได้ทำแผ่นตะแกรงชนิดถาวรขึ้นมาเพื่อความสะดวกในการทำการทดลอง ดังแสดงในภาพประกอบที่ 24

เนื่องจากในการทดลองแต่ละครั้งจะที่ผ่านมา จะทำการเก็บตัวอย่างบริเวณที่ไหลล้น ซึ่งทำการปั๊มสารละลายจากถังสกัดไปยังถังระเหยซึ่งใช้เป็นถังพักสารละลายด้วย จากนั้นจึงปั๊มสารละลายจากถังพักเข้าทางด้านล่างของถังสกัด แล้วให้ไหลล้นมายังถังพัก วิธีการนี้ต้องใช้ปริมาณของเมล็ดขนุนและตัวทำละลายในปริมาณมาก โดยจะต้องใช้เมล็ดขนุน 8 กิโลกรัม และตัวทำละลาย 64 ลิตร ทำให้มีความสิ้นเปลืองในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด ดังนั้นจึงได้มีการดัดแปลงระบบการไหลเวียนของสารละลายให้ดำเนินการอยู่เฉพาะภายในถังสกัดเพียงอย่างเดียว โดยการปรับเปลี่ยนระบบท่อจากการปั๊มสารละลายไปยังถังพักก่อนเป็นการปั๊มสารละลายจากด้านล่างของถังสกัดเข้าทางด้านบนของถังสกัดแทน ซึ่งทำให้สามารถลดปริมาณเมล็ดขนุนและตัวทำละลายที่ใช้ลงได้

ภาพประกอบที่ 21 ภาพถ่ายด้านบนในการใช้แผ่นตะแกรงแยกในการบรรจุวัตถุดิบ

ภาพประกอบที่ 22 ภาพถ่ายด้านข้างในการใช้แผ่นตะแกรงแยกในการบรรจุวัตถุดิบ



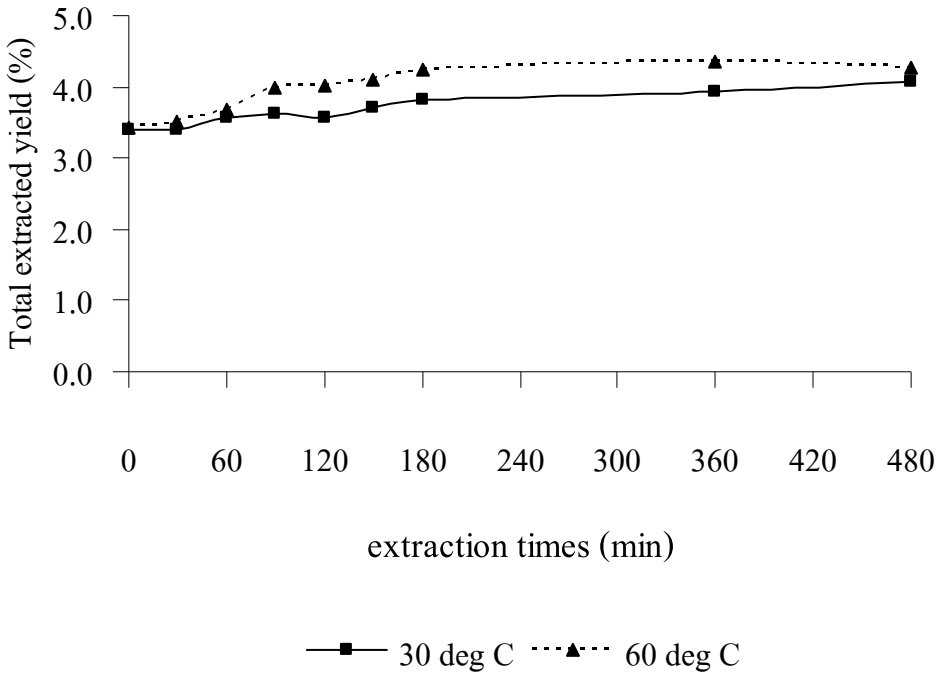
ภาพประกอบที่ 23 ผลได้ของสารสกัดจากเมล็ดขนุนกับเวลาโดยการสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ อุณหภูมิในการสกัด 30 และ 60 ^{O}C เมื่อมีการใช้แผ่นตะแกรง

ภาพประกอบที่ 24 แผ่นตะแกรงและถังตะแกรงสแตนเลส

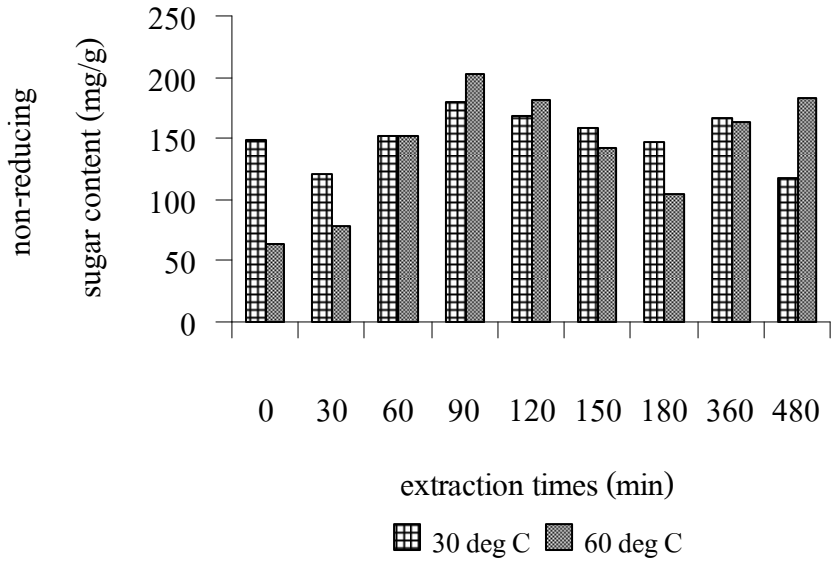
3.4 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดเมื่อทดลองสกัดด้วยเครื่องกสัดแบบแบทช์

ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 30 และ 60 ^{O}C โดยใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล 50% ขนาดเมล็ดขนุน 1.0-2.0 mm อัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลายเป็น 1:8 ที่เวลาในการสกัดเป็น 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 360 และ 480 นาที โดยมีการแช่เมล็ดขนุนในตัวทำละลายก่อนการสกัด 12 ชั่วโมง จากภาพประกอบที่ 25 พบว่าเมื่อระยะเวลาในการสกัดนานขึ้นผลได้ของสารสกัดเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยและหลังจากเวลาในการสกัด 90 นาที ผลได้ของสารสกัดเริ่มมีค่าคงที่โดยการสกัดที่อุณหภูมิ 60 ^{O}C มีค่าผลได้สูงกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 30 ^{O}C อย่างไรก็ตาม ผลได้ของสารสกัดจากเครื่องสกัดแบบแบทช์ยังมีค่าน้อยกว่าการสกัดด้วยชุดทดลองขนาดเล็ก เนื่องจากระบบปั๊มไหลเวียนของสารละลายภายในถังสกัดขนาดโรงงานจำลอง ยังไม่ดีเท่าระบบการกวนของชุดทดลองขนาดเล็ก ซึ่งจะต้องมีการปรับปรุงระบบการไหลเวียนต่อไป เมื่อนำสารสกัดไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ซึ่งเป็นส่วนที่คาดว่าน่าจะเป็นพรีไบโอติกส์นั้นพบว่า ที่เวลา 90 นาที เป็นเวลาสมดุลย์ของการสกัด การสกัดที่อุณหภูมิ 30 ^{O}C จะให้ปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์สูงกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 60 ^{O}C ดังภาพประกอบที่ 26 ทั้งนี้อาจเนื่องจากโปรตีนที่อยู่ภายในเมล็ดขนุนเกิดการ Denatured ที่อุณหภูมิ 60 ^{O}C ทำให้เกิดการขัดขวางการสัมผัสกันของตัวละลายกับตัวทำละลาย เช่นเดียวกับการศึกษาของ Kim *et al.* (2003) ที่ศึกษาการสกัด Oligosaccharides จาก Defatted

soybean meal ที่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัด เป็น 65 ^{O}C ผลได้ของการสกัดจะลดลง เนื่องมาจากการสกัดที่อุณหภูมิสูง อาจทำให้เกิดการ heat-denatured ของโปรตีนในเมล็ดขนุนทำให้ไม่สามารถสกัด oligosaccharides ออกมาได้ (Kim *et al.*, 2003) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Xiaoli *et al.* (2008) (Xiaoli *et al.*, 2008) และเมื่อทำการทดลองด้วยชุดสกัดขนาดเล็กเพื่อยืนยันผลอีกครั้งพบว่า ผลได้ของสารสกัดที่อุณหภูมิ 30 และ 60 ^{O}C มีค่าเป็น 6.57 และ 7.27 % ตามลำดับ และในส่วนของน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์พบว่าที่อุณหภูมิ 30 และ 60 ^{O}C มีค่าเป็น 522.36 และ 236.92 mg/g สารสกัด ตามลำดับดังแสดงผลในตารางที่ 4 ดังนั้นควรสกัดสารพรีไบโอติกส์ที่อุณหภูมิ 30 ^{O}C



ภาพประกอบที่ 25 ผลได้ของสารสกัดเมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล 50% ขนาดเมล็ดขนุน 1.0-2.0 mm อัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุน 1:8 เวลาในการสกัด 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 360, 480 นาทีและอุณหภูมิในการสกัด 30 และ 60 ^{O}C



ภาพประกอบที่ 26 ปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล 50% ขนาดเมล็ดขนุน 1.0-2.0 mm อัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุน 1:8 เวลาในการสกัด 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 360, 480 นาทีและอุณหภูมิในการสกัด 30 และ 60 ^{O}C

ตารางที่ 4 ผลของอุณหภูมิต่อผลได้ของสารสกัดและน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล 50% ขนาดเมล็ดขนุน 1.0-2.0 mm อัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุน 1:8 เวลาในการสกัด 60 นาที

อุณหภูมิสกัด (^{O}C)	Total extracted yield (%)	Non-reducing sugar (mg/g extracted)
30	6.57	522.36
60	7.27	236.92

3.5 ผลการหาวิเคราะห์หาความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของเอทานอลที่ระเหยได้

จากการนำเอทานอลที่ระเหยได้ ซึ่งมีอัตราการระเหยประมาณ 76 มิลลิลิตรต่อนาที มาหาความเข้มข้นด้วยเครื่อง Refractive index พบว่า หากทำการระเหยตัวทำละลายหนึ่งรอบ สารละลายเอทานอลที่ได้มีความเข้มข้นประมาณ 63% และเมื่อทำการระเหยซ้ำพบว่าสารละลายเอทานอลมีความเข้มข้นมากขึ้นคือประมาณ 85% และเมื่อนำเอทานอลที่ได้จากการระเหยมาทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบเพื่อตรวจสอบความปนเปื้อนด้วยเครื่อง GC พบว่าสารละลายเอทานอลมีองค์ประกอบเช่นเดียวกับเอทานอลบริสุทธิ์ 99% จึงสามารถนำเอทานอลที่ระเหยได้นำกลับมาใช้ในการสกัดต่อไปได้

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

การสกัดเปลือกลูกตาลในชุดทดลองขนาดเล็ก

จากการศึกษาการสกัดสารพรีไบโอติกส์จากเปลือกลูกตาลพบว่า สารสกัดจากเปลือกลูกตาลยังไม่มีคุณสมบัติในการเป็นพรีไบโอติกส์เนื่องจากไม่พบน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบของพรีไบโอติกส์ ดังนั้นจึงได้เปลี่ยนพืชที่ใช้ในการทดลองมาเป็นเมล็ดขนุน ซึ่งในเมล็ดขนุนมีคุณสมบัติดังกล่าว

เครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง

ชุดสกัดประกอบด้วยอุปกรณ์หลักๆ คือ ถังสกัดขนาด 60 ลิตร หน่วยระเหยตัวทำละลายภายใต้สภาวะสุญญากาศขนาด 55 ลิตร ถังให้ความร้อนเพื่อควบคุมอุณหภูมิในการสกัด และถังน้ำหล่อเย็นสำหรับควบแน่นตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ จากการทดลองพบว่า ผลได้ของการสกัดเมื่อทดลองด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองยังมีค่าค่อนข้างต่ำ เนื่องจากการสัมผัสกันระหว่างของแข็งกับตัวทำละลายไม่ทั่วถึง ทำให้ตัวทำละลายไม่สามารถเข้าไปละลายน้ำตาลออกมาได้ เพราะปริมาณของวัตถุดิบและตัวทำละลายที่มากเกินไป และวัตถุดิบอัดกันแน่น อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้จากการทดลองดังกล่าว สามารถนำไปใช้เพื่อเป็นแนวทางในการปรับปรุงและพัฒนาเครื่องสกัดสารพรีไบโอติกส์จากธรรมชาติต่อไป อีกทั้งได้ทราบถึงสภาวะเบื้องต้นในการสกัดสารพรีไบโอติกส์จากพืชธรรมชาติ

การสกัดเมล็ดขนุนด้วยชุดสกัดแบบแบทช์

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารพรีไบโอติกส์พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ ตัวทำละลายเป็นเอทานอล 50% ขนาดของเมล็ดขนุน 1.0-2.0 มิลลิเมตร อัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลาย 1:8 หลังจากเวลาในการสกัด 90 นาทีการสกัดเริ่มเข้าสู่สภาวะสมดุลย์ และพบว่าการสกัดที่อุณหภูมิสูงเกินไปอาจทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดลดลง เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงโมเลกุลของโปรตีนภายในเมล็ดขนุนมาเคลือบผิวของเมล็ดขนุนไว้ ทำให้ไม่สามารถสกัดสารที่ต้องการออกมาได้ ดังนั้นเมื่อพิจารณาในแง่พลังงานที่ใช้ อุณหภูมิใน

การสกัดที่เหมาะสมคือ 30 ^{o}C ซึ่งยืนยันผลการทดลองด้วยค่าน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์เมื่อทดลองด้วยชุดทดลองขนาดเล็กอีกครั้งหนึ่ง

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากค่าผลได้จากการสกัดด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ยังมีค่าต่ำ ซึ่งอาจเกิดจากระบบปั๊มไหลเวียนของสารละลายหรือการสัมผัสระหว่างตัวทำละลายกับเมล็ดขนุนยังไม่ดีพอ ดังนั้นควรปรับปรุงระบบและ/หรือกระบวนการสกัดให้ดีขึ้น โดยอาจทำเป็นระบบหัวฉีด (Nozzle) จากด้านบนของถังสกัดเพื่อเพิ่มการสัมผัสระหว่างวัตถุดิบและสารละลาย
2. เนื่องจากในงานวิจัยนี้ยังไม่ได้ทำการทดสอบเกี่ยวกับคุณภาพของสารที่สกัดได้ ดังนั้นน่าจะมีการศึกษารายละเอียดต่อไป
3. สารสกัดที่ได้ยังไม่มีความบริสุทธิ์พอ ดังนั้นจึงควรศึกษาในส่วนของการกำจัดสิ่งเจือปนต่างๆ และทำให้ได้สารที่ต้องการมีความบริสุทธิ์มากขึ้น
4. การสกัดสารโดยเลือกเฉพาะพรีไบโอติกส์ ยังไม่คุ้มค่าในการลงทุน แต่การสกัดอาจได้สารชนิดอื่น เช่นสารประกอบฟีนอลิก หรือ Pectin ซึ่งเป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีประโยชน์ด้วย จึงควรมีการศึกษาและวิเคราะห์ปริมาณสารชนิดอื่นร่วมด้วย

บรรณานุกรม

จารุณี มาสมจิตร, ชลธิชา เทพรักษ์. 2545. การศึกษาขบวนการผลิตตาลผง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี.

จุไรวัลย์ รัตนะพิสิฐ. 2546. การถ่ายโอนมวลและหลักการปฏิบัติเฉพาะหน่วยพื้นฐาน. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เฉลิมขวัญ ดำคำ, มัลลิกา ชมนาวัง. 2548. คุณรู้จัก Prebiotics แล้วหรือยัง, ว.อาหาร ปีที่ 35 ฉ. 2 เมษายน- มิถุนายน 2548: น. 96-102

ธารารัตน์ ศุภศิริ. 2542. Probiotic แบคทีเรียเพื่อสุขภาพ, ว.วิทยาศาสตร์ ปีที่ 53 ฉ. 4-6. พฤศจิกายน-ธันวาคม: 357-360.

นิรัญญา บุญติ้น. 2550. การคัดเลือกโปรไบโอติกจากสัตว์ทะเลและการใช้สารสกัดจากพืชหัวเป็นพรีไบโอติก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. ฟังชันนัลฟูดส์: อาหารเพื่อสุขภาพ (Functional Food: Food for Health), ว.ครุศาสตร์อุตสาหกรรม ปีที่ 4 ฉ.2 เมษายน-กันยายน 2548: น. 44-50

ฝ่ายข้อมูลส่งเสริมการเกษตร กองแผนงาน กรมส่งเสริมการเกษตร. สถิติการปลูกไม้ผลไม้ยืนต้น ปี 2538. กรุงเทพฯ: กองแผนงาน กรมส่งเสริมการเกษตร, 2542

ยรรยง สุขคล้าย. 2547. การสกัดสาระสำคัญจากสมุนไพรฟ้าทะลายโจรโดยใช้ถังกวน, วิศวกรรมศาสตร์ มก. 18,52 (เม.ย.- ก.ค. 2547): 10-18

รายงานความก้าวหน้าโครงการการสกัดสารพรีไบโอติกส์จากพืช คณะอุตสาหกรรมการเกษตร, 2550

สมยศ ทุ่งหว้า 2547. โครงการแผนที่ภูมิทัศน์ภาคใต้: ฐานเศรษฐกิจและทุนวัฒนธรรม. ตาลโตนด : พันธุ์ไม้. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย : สกว.

Ellegard, L. Andersson, H. and Bosaeus, I. 1997. Inulin and oligofructose do not influence the absorption of cholesterol, or the excretion of cholesterol, Ca, Mg, Zn, Fe or bile acids but increases energy excretion in ileostomy subjects. European Journal of Clinical Nutrition, 51: 1-5

Erkkila, S and Petaja, E. 2000. Screening of commercial meat starter cultures at low pH in the presence of bile salts for potential probiotic use. Meat Science, 55: 297-300

Fuller, R. 1993. Probiotic food current use and future developmenteds. IFI NR. 3: 23-26

Gibson, G. R. 2004. Prebiotic. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, 18: 287-298

Gibson, G. R. and Roberfroid, M. B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition, 125: 1401-1412

Herodez, S., Hadolin, M., Skerget, M., Knez, Z., 2003. Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis L.*) leaves. Food Chemistry, 80: 275-282

Kim, S., Kim, W., & In K. Hwang. 2003. Optimization of the extraction and purification of oligosaccharides from defatted soybean meal. International Journal of food Science and technology, 38: 337-342

Kolida, S., Tuohy, K. and Gibson, G. R. 2002. Prebiotic effects of inulin and oligosaccharide. British Journal of Nutrition, 87: S193-S197

Kontula, P., Jaskali, J., Nollet, L., Smet, I. D., Wright, A. V., Poutanan, K. and Sandholm, T. M. 1998. The colonization of a simulator of the human intestinal microbial ecosystem by a probiotic strain fed on fermented oat bran product effect on gastrointestinal microbiota. Applied of Microbiology and Biotechnology, 50: 246-252

Lee, Y.H., Jung, H.O., and Rhee, C.O., 1987. Solids Loss with Water Uptake During Soaking of Soybeans. Korean Journal of Food Science and Technology, 19: 492-498.

Pongnaravan, B., 2004. Subcritical water extraction of anthraquinones from roots of morinda citrifolla. Chulalongkorn University

Siddeshwar, S., 2008. Screening and Estimation of Pre-biotic Oligosaccharides in Fruits and Vegetables. Biotechnology and Pharmacy, 2(1): 183-191

Treybal, R.E. 1980. Mass-transfer operation. 3rd ed. McGraw-Hill Book Company.

Wongkittipong, R., Prat, L., Damronglerd, S., Gourdon, C., (2004). Solid - liquid extraction of andrographolide from plants-experimental study, kinetic reaction and model. Separation and Purification Technology, 40: 147-154

Xiaoli, X., 2008. Determination of oligosaccharide contents in 19 cultivars of chickpea (Cicer arietinum L) seeds by high performance liquid chromatography. Food Chemistry, 111: 215-219

www.songkhla.go.th/newweb45/data/snj_songkhla/March48/songkhla48.doc

(Accessed on 13 March 2007)

http://www.doae.go.th/plant/kanun.htm

(Accessed on 13 March 2007)

ภาคผนวก

ผลงานเผยแพร่