การสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุนในระดับโรงงานจำลอง

Extraction of Prebiotic and Phenolic Compounds from Jackfruit Seeds in Pilot Scale

สุพรรณษา ไพศาล

Supansa Paisan

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญา
วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Engineering in Chemical Engineering
Prince of Songkla University
2554

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุนในระดับโรงงานจำลอง

ชื่อผู้เขียน นางสาวสุพรรณษา ไพศาล

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

ปีการศึกษา 2553

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารพรีไบโอติก และสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุนโดยใช้เครื่องสกัดแบบแบทช์ โดยนำเมล็ดขนุนมาสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็กโดยใช้ขวดสกรูแคบแบบมีฝาปิดเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม ปัจจัยที่ศึกษาในการสกัดคือระยะเวลาในการสกัด (30, 75 และ 120 นาที, x_1) อุณหภูมิ (30, 60 และ 90 องศาเซลเซียส, x_2) อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร (1: 10, 1:15 และ 1: 20 กรัมต่อมิลลิลิตร, x_3) และการเตรียมวัตถุดิบสำหรับการสกัด (เมล็ดขนุนสด , เมล็ดขนุนอบที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง และ เมล็ดขนุนอบที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง, x_4) โดยใช้เทคนิค RSM ในการออกแบบการทดลองและหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุน โดยใช้เอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร โดยสารสกัดที่ได้จากการทดลองถูกนำไปหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตา ลรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ ซึ่งคาดว่าเป็นสารพรีไบโอติก และสารประกอบฟีนอลิกส์ พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ การสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลายที่ 1: 20 กรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เมล็ดขนุนสดเป็นวัตถุดิบ และระยะเวลาของการสกัดที่ 30 นาที และจากการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลพบว่า สารสกัดที่ได้เป็นสารโอลิโกแซคคาไรด์ สภาวะที่เหมาะสมจากชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็กถูกประยุกต์ใช้กับชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองและศึกษาอิทธิพลของการเตรียมวัตถุดิบสำหรับการสกัด (เมล็ดขนุนสด, เมล็ดขนุนอบที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง และเมล็ดขนุนอบที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง) และอุณหภูมิ (30, 60 และ 90 องศาเซลเซียส) โดยใช้อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1: 20 กรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าปริมาณน้ำตาลไม่ถูก

รีดิวซ์มากที่สุดได้มาจากการสกั ดที่อุณหภูมิการสกัด 90 องศาเซลเซียส และใช้เมล็ดขนุนสดเป็นวัตถุดิบ แต่ปริมาณฟีนอลิกส์ทั้งหมดสูงสุดได้มาจากการสกัดกับเมล็ดขนุนอบที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงให้ หลังจากเวลา 30 นาทีเป็นต้นไป ปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์และสารประกอบฟีนอลิกส์ทั้งหมดเริ่ม คงที่ จากการสกัดสารพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุนโดยใช้เครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองไม่เหมาะสมทางด้านเชิงเศรษฐศาสตร์ ถ้าหากดำเนินการสกัดด้วยเครื่องสกัดในโรงงานอุตสาหกรรมจริงแบบไม่คิดราคาเมล็ดขนุนพบว่ามูลค่าปัจจุบันสุทธิ (Net Present Value: NPV) มีค่าเป็นบวก และระยะคืนทุน (Payback: PB) ที่ 3 ปี 3 เดือน ตามลำดับ ดังนั้นการลงทุนการสกัดสารพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุนโดยใช้เครื่องสกัดขนาดโรงงานจริงมีความเป็นไปได้

Thesis Title	Extraction of Prebiotic and Phenolic Compounds from Jackfruit Seeds in Pilot Scale
Author	Miss Supansa Paisan
Major Program	Chemical Engineering
Academic Year	2009

ABSTRACT

This research aims to study the extraction of prebiotic and phenolic compounds from jackfruit seeds using a batch extractor. Jackfruit seeds (Artocarpus heterophyllus Lam.) were extracted in a lab scale using screw-caped glass bottles to determine the optimal extraction condition. The investigated extraction parameters were extraction temperatures (30, 60 and 90 ^{o}C, x_1), extraction times (30, 75 and 120 minutes, x_2), solid to solvent ratios (1:10, 1:15 and 1:20 w/v, x_3) and jackfruit seed preparation methods (fresh seed, drying at 60 °C for 12 hours and drying at 60 °C for 24 hours, x_4). Response surface methodology (RSM) was used to optimize the extraction condition of prebiotic and phenolic compounds from jackfruit seeds using 50% (v/v) ethanol as solvent. The resulting extracts were analyzed for total sugar, reducing sugar, non-reducing sugar and total phenolic compounds. The optimum non-reducing sugar contents (26.45 mg glucose/g dried seed) was reached by extraction with fresh seed in a solid to liquid ratio of 1:20 w/v at 90 °C for 30 min. The result of gel permeation chromatography (GPC) showed that the extracted are oligosaccharides. The optimum condition from laboratory scale was applied with a pilot scale extraction unit in order to investigate the effects of extraction temperatures (30, 60 and 90 ∀C) and jackfruit seed preparation methods (fresh seed, drying at 60 °C for 18 hours and drying at 60 °C for 24 hours). The result showed that the maximum non-reducing sugar content was gain by extraction with fresh seed at 90 ∀C. But the maximum total phenolic content was obtained by extraction with the dried seeds at 60 °C for 24 hours. After the extraction time of 30

minutes, extraction equilibrium was reached. The extraction of prebiotic and phenolic compounds from jackfruit seeds using our pilot-scale extraction unit was not economic to operate. However, if the process is operated in the industrial-scale extraction unit with no cost of jackfruit seed, the net present value (NPV) and payback (PB) positive and pay back in three year and three months, respectively. Therefore, the investment of extraction prebiotic and phenolic compounds from jackfruit seeds is possible in the industry.

ชื่อวิทยานิพนธ์ การสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุนในระดับโรงงานจำลอง

ชื่อผู้เขียน นางสาวสุพรรณษา ไพศาล

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

……

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

……..

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ราม แย้มแสงสังข์)

คณะกรรมการสอบ

……..……...ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.กัลยา ศรีสุวรรณ)

…….....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์)

…….....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ราม แย้มแสงสังข์)

…….....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลชนาฐ ประเสริฐสิทธิ์)

.....กรรมการ
(ดร.สันทัด วิเชียรโชติ)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี

….....
(ศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบ ขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร .ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาอุทิศเวลาให้คำแนะนำในการทำวิจัย แนวทางในการค้นคว้าหาข้อมู ลและการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ดำเนินไปอย่างสมบูรณ์ รวมถึงการขัดเกลากระบวนการคิด การแก้ไขปัญหาและแนวทางในการดำเนินชีวิต ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ราม แย้มแสงสังข์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่ได้กรุณาอุทิศเวลาให้คำแนะนำและคำปรึกษาต่างๆ ในการทำวิจัย รวมไ ปถึงรองศาสตราจารย์ ดร .กัลยา ศรีสุวรรณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลชนาฐ ประเสริฐสิทธิ์ และดร .สันทัด วิเชียรโชติ ที่ให้เกียรติสละเวลา มาเป็นกรรมการการสอบ และให้คำแนะนำเพื่อใช้ในการแก้ไขรายงานวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบพระคุณคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานคริ นทร์ที่กรุณาให้ทุนผู้ช่วยวิจัย เพื่อเป็นค่าเล่าเรียนและค่าใช้จ่ายระหว่างการศึกษา ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนในการทำวิจัยครั้งนี้ ขอขอบพระคุณกลุ่มวิจัย SME-OTOP ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรม ศาสตร์ ที่ให้สถานที่ในการทำวิจัย และขอขอบพระคุณสถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ คณะอุตสาหกรรมการเกษตร ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมือในการวิเคราะห์ รวมถึงบุคลากรในสถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพทุกท่านที่ให้การต้อนรับ และให้ คำแนะเพื่อเป็นแนวทางในการวิจัยและการใช้เครื่องมือเป็นอย่างดี

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณป้า และพี่ๆ ที่สนับสนุน ให้กำลังใจ และทุนทรัพย์ในการศึกษามาโดยตลอด ขอขอบพระคุณครูช่างชำนาญการที่คอยช่วยซ่อมแซมและปรับปรุงอุปกรณ์ในการทดลอง รวมทั้งบุค ลากรทุกท่านในภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ตลอดจนขอ ขอบคุณทุกท่านที่มิได้กล่าวนามมา ณ ที่นี้ด้วย ที่มีส่วนช่วยให้ให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

สุพรรณยา ไพศาล

สารบัญ

		หน้า
รายการตาราง		(10)
รายการภาพประกอบ		(16)
บทที่ 1	บทนำ	
	1.1 ความสำคัญละที่มาของปัญหา	1
	1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	2
	1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
	1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย	3
บทที่ 2	ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่กี่ยวข้อง	4
	2.1 อาหารเสริมสุขภาพ	4
	2.2 พรีไบโอติก	5
	2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ	9
	2.4 ขนุน	13
	2.5 กระบวนการสกัด	15
	2.6 การออกแบบพื้นที่ตอบสนอง	19
	2.7 การวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์	22
	2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	26
บทที่ 3	วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย	31
	3.1 วัสดุ	31
	3.2 อุปกรณ์	32
	3.3 วิธีดำเนินการวิจัย	36
บทที่ 4	ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	40
	4.1 ผลการสกัดสารพรีไบโอติกส์และสารประกอบฟีนอลิกส์โดยชุดการสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็ก	40

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2 ผลจากการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของสารสกัด	52
4.3 ผลจากการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของสารสกัด	55
4.4 การพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดใหญ่	56
4.5 ผลของการวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์	68
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	77
5.1 ข้อสรุปผลวิจัย	77
5.2 ข้อเสนอแนะ	78
เอกสารอ้างอิง	79
ภาคผนวก	86
ภาคผนวก ก การปรับปรุงเครื่องสกัดแบบแบทช์	87
ภาคผนวก ข การเตรียมสารเคมีและวิธีการวิเคราะห์	90
ภาคผนวก ค ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง	101
ภาคผนวก ง วิธีการคำนวณเชิงเศรษฐศาสตร์	119
ประวัติผู้เขียน	126

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
2-1	ตัวอย่างของสารที่จัดเป็นอาหารฟังชั่น	4
2-2	ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระกับแหล่งอาหารที่พบ	13
2-3	กลุ่มย่อยต่าง ๆ ของสารประกอบฟีนอลิกในพืช	12
2-4	สถิติการปลูกขนุนหนังในประเทศไทยแยกรายภาค ปี พ.ศ. 2546	15
3-1	แสดงรหัสตัวแปรและขอบเขตของตัวแปรที่ทำการศึกษา	37
4-1	สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดพรีไบโอติกจากเมล็ดขนุนด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็ก	41
4-2	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดลองจากโปรแกรม Essential regression	44
4-3	ฟังก์ชันเป้าหมาย และขอบเขตในการหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อสกัดพรีไบโอติก	50
4-4	สภาวะดำเนินการที่เหมาะสม และปริมาณสารสกัดพรีไบโอติกที่ได้จากการคำนวณ โดยใช้เทคนิค RSM	50
4-5	ผลการทดลองการสกัดพรีไบโอติก ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 (g/ml) โดยใช้เมล็ดขนุนสด ที่เวลาต่างๆ	51
4-6	ผลการวิเคราะห์ด้วย GPC และค่า Degree of polymerization (DP_n) ของสารสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง 20 (w/v) โดยใช้เมล็ดขนุนสด	53
4-7	ผลการวิเคราะห์ด้วย GPC และค่า Degree of polymerization (DP_n) ของสารสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง 20 (w/v) โดยใช้เมล็ด ขนุนอบที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง	54
4-8	เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการสกัดสารพรีไบโอติกส์ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสอัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง 20 (w/v) โดยใช้เมล็ดขนุนสดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองกับชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็ก	55

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4-9	ตัวแปรต่างๆ ของแบบจำลองจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวลของการสกัดสารพรีไบโอติกส์โดยใช้เมล็ดขนุนที่เตรียมที่สภาวะต่างๆ ที่อุณหภูมิสกัด 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1: 20 ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร	62
4-10	ตัวแปรต่างๆ ของแบบจำลองจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวลของการสกัดสารพรีไบโอติกส์โดยใช้เมล็ดขนุนสด อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1: 20 ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร และสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ	65
4-11	ตัวแปรต่างๆ ของแบบจำลองจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวลของการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์โดยใช้เมล็ดขนุนที่เตรียมที่สภาวะต่างๆ ที่อุณหภูมิสกัด 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1: 20 ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร	67
4-12	ตัวแปรต่างๆ ของแบบจำลองจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวลของการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์โดยใช้เมล็ดขนุนสด อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1: 20 ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร และสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ	67
4-13	รายรับ-รายจ่ายจากการสกัดเมล็ดขนุนสด (ราคาเมล็ดขนุน 5 บาท/กิโลกรัม) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1: 10, 1:15 และ 1:20 (g/ml) ที่เวลาการสกัดที่ 30 นาที	70
4-14	ข้อมูลดำเนินการของการสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุนสดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1: 10 (g/ml)	71
4-15	รายรับ-รายจ่าย ของการสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานต่อปี กรณีที่ 1 และกรณีที่ 2	72

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4-16	ข้อมูลดำเนินการของการสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุนสดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1: 10 ด้วยชุดสกัดขนาดโรงงานจริง	74
4-17	รายรับ-รายจ่าย ของการสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจริงต่อปี กรณีที่ 1 และกรณีที่ 2	75
4-18	การคำนวณหาระยะคืนทุน	76
4-19	การคำนวณหามูลค่าปัจจุบันสุทธิของกรณีไม่คิดราคาเมล็ดขนุน	76
ข-1	สภาวะในการตรวจวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี (GC)116	98
ค-1	ปริมาณของสารสกัดหลังทำแห้ง เมื่อศึกษาผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมโดยชุดทดลองขนาดเล็กในการสกัดสารพรีไบโอติกส์และสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุน	101
ค-2	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 และ 575 นาโนเมตร เมื่อศึกษาผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารพรีไบโอติกส์จากเมล็ดขนุนโดยชุดทดลองขนาดเล็ก (สภาวะการทดลองดังแสดงในตาราง ค-1)	103
ค-3	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร เมื่อศึกษาผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุนโดยชุดทดลองขนาดเล็ก (สภาวะการทดลองดังแสดงในตาราง ค-1)	104
ค-4	ปริมาณสารสกัดหลังจากทำแห้ง ค่าการดูดกลืนแสงที่ 492, 575 และ 765 นาโนเมตร เมื่อทำการทดลองสกัดเมล็ดขนุนสด ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิ 90 ∀C ตัวทำละลายเอทานอล 50% และอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 ที่เวลาต่างๆ ด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ (เก็บตัวอย่างครั้งละ 300 มิลลิลิตร)	105

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ค-5	ปริมาณสารสกัดหลังจากทำแห้ง ค่าการดูดกลืนแสงที่ 492, 575 และ 765 นาโนเมตร เมื่อทำการทดลองสกัดเมล็ดขนุนอบที่ 60 ∀C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิ 90 ∀C ตัวทำละลายเอทานอล 50% และอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 ที่เวลาต่างๆ ด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ (เก็บตัวอย่างครั้งละ 300 มิลลิลิตร)	107
ค-6	ปริมาณสารสกัดหลังจากทำแห้ง ค่าการดูดกลืนแสงที่ 492, 575 และ 765 นาโนเมตร เมื่อทำการทดลองสกัดเมล็ดขนุนอบที่ 60 ∀C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิ 90 ∀C ตัวทำละลายเอทานอล 50% และอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 ที่เวลาต่างๆ ด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ (เก็บตัวอย่างครั้งละ 300 มิลลิลิตร)	107
ค-7	ปริมาณสารสกัดหลังจากทำแห้ง ค่าการดูดกลืนแสงที่ 492, 575 และ 765 นาโนเมตร เมื่อทำการทดลองสกัดเมล็ดขนุนสด ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิ 30 ∀C ตัวทำละลายเอทานอล 50% และอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 ที่เวลาต่างๆ ด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ (เก็บตัวอย่างครั้งละ 300 มิลลิลิตร)	108
ค-8	ปริมาณสารสกัดหลังจากทำแห้ง ค่าการดูดกลืนแสงที่ 492, 575 และ 765 นาโนเมตร เมื่อทำการทดลองสกัดเมล็ดขนุนสด ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตรที่อุณหภูมิ 60 ∀C ตัวทำละลายเอทานอล 50% และอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 ที่เวลาต่างๆด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ (เก็บตัวอย่างครั้งละ 300 มิลลิลิตร)	109
ค-9	กำลังไฟฟ้าของอุปกรณ์และเวลาที่ใช้งานต่อครั้งเมื่อสกัดด้วยเครื่องแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส	110

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ค-10	อัตราค่าไฟฟ้าประเภทกิจการขนาดเล็ก ซึ่งมีความต้องการพลังงานไฟฟ้าเฉลี่ยในเวลา 15 นาทีสูงสุดต่ำกว่า 30 กิโลวัตต์ โดยต่อผ่านเครื่องวัดไฟฟ้าเครื่องเดียว (การไฟฟ้าส่วนภูมิภาค, 2548)	110
ค-11	ราคาของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสกัด	110
ค-12	ค่าตัวแปรต่างๆ สำหรับแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งที่ความแตกต่างของการเตรียมวัตถุดิบสารพรีไบโอติก	111
ค-13	ค่าตัวแปรต่างๆ สำหรับแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งที่ความแตกต่างของอุณหภูมิในการสกัดสารพรีไบโอติก	112
ค-14	ค่าตัวแปรต่างๆ สำหรับแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งที่ความแตกต่างของการเตรียมวัตถุดิบในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์	113
ค-15	ค่าตัวแปรต่างๆ สำหรับแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งที่ความแตกต่างของอุณหภูมิในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์	114
ค16	ค่าตัวแปรต่างๆ สำหรับแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของการถ่ายโอนมวลที่ความแตกต่างของการเตรียมวัตถุดิบสารพรีไบโอติก	115
ค-17	ค่าตัวแปรต่างๆ สำหรับแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของการถ่ายโอนมวลที่ความแตกต่างของอุณหภูมิในการสกัดสารพรีไบโอติก	116
ค-18	ค่าตัวแปรต่างๆ สำหรับแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของการถ่ายโอนมวลที่ความแตกต่างของการเตรียมวัตถุดิบในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์	117
ค-19	ค่าตัวแปรต่างๆ สำหรับแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของการถ่ายโอนมวลที่ความแตกต่างของการเตรียมวัตถุดิบในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์	118
ง-1	การคิดหน่วยไฟฟ้าในการสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสต่อการสกัด 1 เดือน (สกัด 1 ครั้ง ต่อ 1 วัน)	121

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ง-2	การคิดหน่วยไฟฟ้าในการสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ต่อการสกัด 1 เดือน (สกัด 8 ครั้ง ต่อ 1 วัน)	122
ง-3	ค่าใช้จ่ายในการใช้พลังงานไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ต่อการสกัด 1 เดือน (สกัด 1 ครั้ง ต่อ 1 วัน)	123
ง-4	ค่าใช้จ่ายในการใช้พลังงานไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ต่อการสกัด 1 เดือน (สกัด 4 ครั้ง ต่อ 1 วัน)	123
ง-5	การคำนวณหน่วยไฟฟ้าของการสกัดด้วยเครื่องสกัดของโรงงาน ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส	124
ง-6	การคำนวณค่าไฟฟ้า (15,115 หน่วย) ของการสกัดด้วยเครื่องสกัด ของโรงงาน ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส	124

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบที่		หน้า
2-1	ส่วนของลำไส้ที่เป็นที่อยู่ของจุลินทรีย์	5
2-2	กลไกการป้องกันทางเดินอาหารของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์	6
2-3	ผนังลำไส้ก่อนและหลังได้รับสารพรีไบโอติก	6
2-4	โครงสร้างทางเคมีของกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์	7
2-5	ลักษณะภายนอกและภายในของขนุน	13
2-6	เนื้อที่เพาะปลูกขนุนหนังในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2546	14
2-7	กระบวนการสกัดแบบ Solid-Liquid Extraction	16
2-8	กลไลของการสกัดด้วยตัวทำละลาย การเคลื่อนที่ของสาร (solute) ในรูพรุน ของของแข็ง	17
2-9	การทดลองถังปฏิกรณ์แบบอนุกรมของถังสกัดจำนวน 3 ถัง สำหรับการสกัดของแข็ง – ของเหลวของคาแฟอีนจากกากชา	26
3-1	ลักษณะภายนอกของเมล็ดขนุน	31
3-2	ภาพวาด 3 มิติ ของชุดสกัดแบบแบทช์	33
3-3	ภาพถ่ายชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง	33
4-1	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ที่ได้จากการทดลองและจากการทำนายโดยใช้แบบจำลอง	44
4-2	อิทธิพลของเวลาในการอบเมล็ดขนุนที่ 60 องศาเซลเซียส ต่ออุณหภูมิของการสกัดปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ โดยทำการสกัดที่อัตราส่วน 1:20 (g/ml) ตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์และเวลาการสกัด 30 นาที	46

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่		หน้า
4-3	อิทธิพลของเวลาในการอบเมล็ดขนุนที่ 60 องศาเซลเซียส ต่ออุณหภูมิของการสกัดปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ โดยทำการสกัดที่อัตราส่วน 1:20 (g/ml) ตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ และเวลาการสกัด 30 นาที	47
4-4	อิทธิพลของอัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย และเวลาในการอบเมล็ดขนุนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ต่อปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ โดยทำการสกัดตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 30 นาที	48
4-5	อิทธิพลของอัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย (g/ml) และเวลาในการอบเมล็ดขนุนที่ 60 °C (hrs) ต่อปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์โดยทำการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ และเวลาการสกัด 30 นาที	49
4-6	โครมาโตแกรมจากการวิเคราะห์สารสกัดด้วยวิธี GPC โดยทำการสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง 20 (w/v) โดยใช้เมล็ดอบที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง	52
4-7	โครมาโตแกรมจากการวิเคราะห์สารสกัดด้วยวิธี GPC โดยทำการสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 (g/ml) โดยใช้เมล็ดขนุนอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	54
4-8	ผลการใช้แบบจำลองทางจลศาสตร์อันดับหนึ่งในการอธิบายการสกัดพรีไบโอติกที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1:20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร โดยการเตรียมเมล็ดขนุนที่สภาวะต่างๆ	57

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่		หน้า
4-9	ผลการใช้แบบจำลองทางจลศาสตร์อันดับหนึ่งในการอธิบายการสกัดพรีไบโอติก โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1:20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิต่างๆ	58
4-10	ผลการใช้แบบจำลองทางจลศาสตร์อันดับหนึ่งในการอธิบายการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1:20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร โดยการเตรียมเมล็ดขนุนที่สภาวะต่างๆ	59
4-11	ผลการใช้แบบจำลองทางจลศาสตร์อันดับหนึ่งในการอธิบายการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์ โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1:20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิต่างๆ	60
4-12	เซลล์พืชที่มีปริมาณน้ำมากแตกต่างกัน	63
4-13	ความเข้มข้นของน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1:20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร โดยการเตรียมเมล็ดขนุนที่สภาวะต่างๆ กับผลจากการใช้แบบจำลองจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวล	64
4-14	ความเข้มข้นของน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1:20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร โดยการสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ กับผลจากการใช้แบบจำลองจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวล	65

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่		หน้า
4-15	ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกส์ที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1:20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร โดยการเตรียมเมล็ดขนุนที่สภาวะต่างๆ กับผลจากการใช้แบบจำลองจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวล	66
4-16	ความเข้มข้นของฟีนอลิกส์ทั้งหมดที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลายที่ 1:20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร โดยใช้เมล็ดขนุนที่เตรียมที่สภาวะต่างๆกับผลจากการใช้แบบจำลองจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวล	68
ก-1	ภาพถ่ายฝาถังสกัดก่อนปรับปรุง	88
ก-2	ภาพถ่ายฝาถังสกัดหลังปรับปรุง	88
ก-3	ภาพถ่ายฝาถังระเหยก่อนปรับปรุง	89
ก-4	ภาพถ่ายฝาถังระเหยหลังปรับปรุง	89
ข-1	กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคสสำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด	91
ข-2	กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคสสำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์	94
ข-3	กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคสสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกส์ทั้งหมด	97
ข-4	กราฟมาตรฐานสารละลายเอทานอลสำหรับวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเอทานอลที่ระเหยได้จากถังระเหยของชุดสกัดแบบแบทช์	99

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัญหาเกี่ยวกับสุขภาพ ของมนุษย์ที่มีมากขึ้น เช่น โรคมะเร็ง ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดสูง ระบบภูมิคุ้มกันลดลง และ โรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร เป็นต้น ทำให้ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสำคัญกับสุขภาพมากขึ้น จึงเป็นจุดกำเนิด ของผลิตภัณฑ์อาหาร เสริมที่เรียกว่าอาหารเพื่อสุขภาพ (functional food) ซึ่งเป็นอาหารที่มีผลต่อก ารทำหน้าที่ต่างๆ ในร่างกาย โดยมีบทบาทในการลดความเสี่ยง และ อัตรา การเกิดโรค อาหารหลายชนิดจัดเป็น อาหารเพื่อสุขภาพ (functional food) และพบได้ในชีวิตประจำวัน โดยเฉพาะกลุ่มพรีไบโอติก (Prebiotic) และโพรไบโอติก (Probiotic) ซึ่งมีผลดีต่อสุขภาพลำไส้ โดยโพรไบโอติก (Probiotic) คืออาหารเสริมที่เป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตสามารถก่อประโยชน์ ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย และพรีไบโอติก เป็นแหล่งอาหารสำหรับจุลินทรีย์กลุ่ม โพรไบโอติก โดยมีประโยชน์ในการช่วยป้องกันและลดอาการท้องเสียที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ป้องกันโรคลำไส้อักเสบ ป้องกันการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ช่วยในการย่อยและการดูดซึมสารอาหารเข้าสู่ร่างกาย และช่วยให้ระบบเมตาบอลิซึมของไขมันดีขึ้น มีผลช่วยลดคอเลสเตอรอลชนิด LDL ได้ การรับประทาน พรีไบโอติก จะช่วยกระตุ้น และส่งเสริมการเจริญเติ บโตและเพิ่มประมาณของจุลินทรีย์ โพรไบโอติก พรีไบโอติก คือสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีกลุ่มโมโนแซคคาไรด์ตั้งแต่ 3 หน่วยขึ้นไป ได้แก่ โอลิโกแซคคาไรด์ และโพลีแซคคาไรด์ เช่น ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ กาแลกโตโอลิโกแซคคาไรด์ และอินนูลิน เป็นต้น พรีไบโอติกจะไม่ถูกย่อยด้วยกรดในกระเพาะอาหารและเอนไซม์ในลำไส้เล็ก จึงเหลือเป็นอาหารให้กับจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้

ส่วนสารประกอบฟีนอลิกส์เป็นสารพฤกษเคมี (Phytochemical) ที่สังเคราะห์โดยพืช จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ประสิทธิภาพสูง มีประโยชน์ในการช่วยลดการเกิดโรค หัวใจ และหลอดเลือด ป้องกัน การเกิดมะเร็ง ควบคุมฮอร์โมนให้เป็นปกติ และป้องกันการติดเชื้อในช่องปาก

ส่วนประเทศไทยนั้นมีพืชเกษตรที่มีสรรพคุณทางยา จำนวนมาก และสารสำคัญที่ยังไม่ได้มีการสกัดออกมาเพื่อใช้ประโยชน์อีกมาก จากสถิติการปลูกขนุนหนังในปี 2546 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข นุน 289,286 ไร่ ผลผลิตรวม 828,611 ตัน ทำให้มีเมล็ดขนุนเหลือทิ้งถึง 120,000 ตัน เมล็ดขนุนจึงเป็นวัตถุดิบที่มีปริมาณมากเพียงพอในการพัฒนาการสกัดสารสำคัญในระดับอุตสาหกรรม ในงานวิจัยของสุพจน์ และคณะ (2552) ได้มีการจัดสร้างเครื่องสกัดแบบแบทช์โดยถังสกัดมีความจุ 60 ลิตร ความจุ 60 ลิตร และได้ศึกษาการสกัดสารสำคัญจากเมล็ดขนุนในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งพบว่าสารสกัดที่ได้มี คุณสมบัติของ พรีไบโอติก และจากงานวิจัย ของวรรณพิชญ์ และคณะ (2553) พบว่าเวลาสกัด 60 นาที อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส และอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:15 กรัมต่อมิลลิลิตร ให้ปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ และสารประกอบฟีนอลิกส์ทั้งหมด สูงสุด งานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดพรีไบโอติกและ สารประกอบฟีนอลิกส์ ด้วยชุดทดลองขนาดเล็ก โดยศึกษาแต่ละปัจจัยที่ครอบคลุมจากงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น และเพิ่มปัจจัยในการเตรียมวัตถุดิบ (เมล็ดขนุนขนาด 1.0-2.0 มิลลิเมตร) สำหรับการสกัด (เมล็ดขนุนสด, เมล็ดขนุนอบที่อุณ หภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และเมล็ดขนุนอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง) โดยใช้เทคนิคพื้นที่ตอบสนอง (Response surface methodology, RSM) เพื่อออกแบบสภาวะในการทดลอง รวมถึงการพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ที่ใช้ในการสกัดมาประยุกต์ใช้ในการสกัดสาร พรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์ด้วย เครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง เพื่อหาค่าสัมประสิทธิ์ ของการถ่ายโอนมวล และวิเคราะห์กระบวนการเชิงเศรษฐศาสตร์ เพื่อเตรียมข้อมูลสำหรับการขยายกำลังการผลิตสู่ระดับอุตสาหกรรมต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1.2.1 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด พรีไบโอติกและ สารประกอบฟีนอลิกส์ด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง

1.2.2 ศึกษากลไกของกระบวนการสกัด

1.2.3 วิเคราะห์กระบวนการเชิงเศรษฐศาสตร์

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ทดลอง หาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด พรีไบโอติก โดยพิจารณาจาก ปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ และสารประกอบฟีนอลิกส์ในชุดสกัดแบบแบทช์ ขนาดเล็ก โดยปัจจัยที่พิจารณาได้แก่ การเตรียมเมล็ดขนุน (เมล็ดขนุนสด, อบเมล็ดขนุนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง และอบเมล็ดขนุน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง) อัตราส่วนระหว่างของแข็งต่อตัวทำละลาย ระยะเวลาในการสกัด และอุณหภูมิในการสกัด

1.3.2 ทดลอง หาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด พรีไบโอติกและ สารประกอบฟีนอลิกส์ในชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง โดยปัจจัยที่พิจารณาได้แก่ การเตรียมเมล็ดขนุน (เมล็ดขนุนสด, อบเมล็ดขนุนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็น เวลา 18 ชั่วโมง และอบเมล็ดขนุนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง) และอุณหภูมิในการสกัด จากนั้นเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ เพื่อนำข้อมูลไปพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ในการสกัดสาร พรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์ด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง

1.3.3 วิเคราะห์ความเป็นไปได้ทางเชิงเศรษฐศาสตร์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้โมเดลเพื่อทำนาย สภาวะที่เหมาะสมในการสกัด พรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์ด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็ก

1.4.2 ได้สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์โดยสามารถทราบถึงอุณหภูมิ ระยะเวลาในการสกัด และการเตรียมเมล็ดขนุน ที่ทำให้ได้ปริมาณสารสกัดที่มากที่สุดในการสกัดแบบแบทช์ในระดับโรงงานจำลอง

1.4.3 ทราบกลไกการสกัด สามารถสร้างสมการเพื่ออธิบายกระบวนการสกัด โดยใช้เครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองได้

1.4.4 มีผลการประเมินความคุ้มทุนในการดำเนินการสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุน

บทที่ 2

ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่กี่ยวข้อง

2.1 อาหารเสริมสุขภาพ

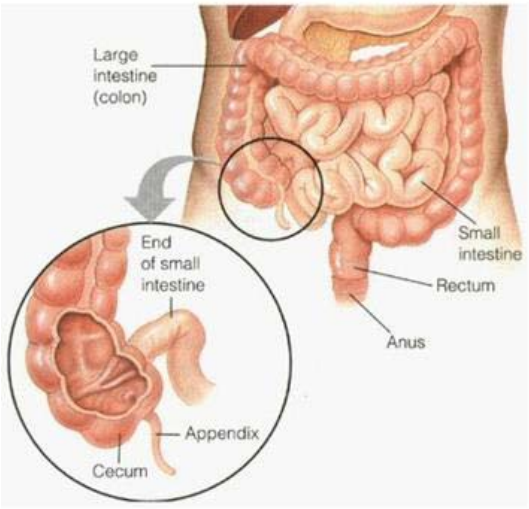
อาหารเสริมสุขภาพ (Functional foods) หมายถึง อาหารที่มนุษย์บริโภคเข้าไปแล้วให้ประโยชน์หรือคุณสมบัติอื่น ๆ ต่อสุขภาพนอกเหนือจากคุณค่าทางโภชนาการ พื้นฐาน คือ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน วิตามินและเกลือแร่ ซึ่งสมบัติพิเศษ ที่ได้รับนี้มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค ส่วนใหญ่เป็นการช่วยลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรค เช่น ช่วยลดปริมาณคอเลสเทอรอลในเลือด ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิ ดโรคกระดูกพรุน (Osteroporosis) และมีผลต่อการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง โรคอ้วน โรคเบาหวาน ตลอดจนมีผลต่อการเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย อาหารหลายชนิดที่จัดเป็น อาหารเสริมสุขภาพ และพบได้ใน ชีวิตประจำวันมีมากมาย เช่น โพรไบโอติก พรีไบโอติก ธัญพืช เส้นใยอาหาร ตลอดจนสารเคมีพืช หรือที่เรียกว่าไฟโทเคมีคัล (Phytochemicals) หลายชนิด ตัวอย่างของกลุ่มอาหารที่จัดเป็น อาหารเสริมสุขภาพ โดยทั่วไปแสดงในตาราง 2-1

ตาราง 2-1 ตัวอย่างของสารที่จัดเป็นอาหารเสริมสุขภาพ (ปิ่นมณี ขวัญเมือง, 2548)

อาหารเสริมสุขภาพ	ตัวอย่าง
โพรไบโอติก	แบคทีเรียกรดแลคติก บิฟีโดแบคทีเรีย
พรีไบโอติก	เส้นใยอาหาร โอลิโกแซคคาไรด์
วิตามิน	วิตามินบี 6 บี 12 วิตามินดี และเค
แร่ธาตุ	แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี
สารต้านอนุมูลอิสระ	วิตามินอี วิตามินซี แคโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ โพลีฟีนอล
โปรตีน	เปบไทด์ และกรดอะมิโน ไตรเปบไทด์จากโปรตีนในนม
ลิปิด	โอเมกาทรี
ไฟโทเคมีคัล	ไฟโทสเตอรอล เบต้ากลูแคน ไอโซฟลาโวน ลิกแนน

2.2 พรีไบโอติก

Gibson และ Roberfroid (1995) ได้ให้คำจำกัดความของ พรีไบโอติก (Prebiotic) ไว้ว่า “เป็นสารอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารแต่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์หรือสัตว์โดยไปกระตุ้นการเจริญและหรือกิจกรรมของจุลินทรีย์บางกลุ่มในลำไส้ใหญ่ ซึ่ง มีผลทำให้สุขภาพของมนุษย์หรือสัตว์นั้นๆ มีสุขภาพดี ” จากคำจำกัดความข้างต้น สารพรีไบโอติกจะต้องทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร ไม่ถูกดูดซึมในลำไส้เล็กและผ่านลงไปในลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้ยังส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ในลำไส้ใหญ่ เช่น ไบฟิโดแบคทีเรีย (Bifidobacteria) และแลคโตบาซิลไล (Lactobacilli) (Roberfroid, 2001) โดยเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้อาศัยอยู่ในลำไส้ แสดงดังภาพประกอบ 2-1



ภาพประกอบ 2-1 ส่วนของลำไส้ที่เป็นที่อยู่ของจุลินทรีย์ (หัสกร แก้วลอย, 2554)

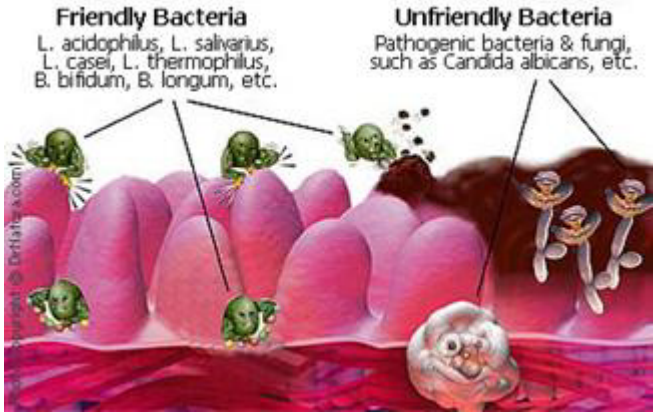
ซึ่งพบว่ากลไกการป้องกันทางเดินอาหารของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ มีดังนี้

1. เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เกาะบนผิวเยื่อบุลำไส้ ไม่ให้เชื้อก่อโรคเกาะจับที่ผิวเยื่อบุลำไส้ แสดงดังภาพประกอบ 2-2

2. การหมักใยอาหาร โอลิโกแซคคาไรด์โดยจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ได้ผลผลิตเป็นกรดอะเซติก และแลคติก ซึ่งหยุดหยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อฉวยโอกาสก่อโรคอื่นๆ

3. เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ปล่อยสารแบคเทอริโอซิน (Bacteriocin) ทำลายเชื้ออื่นๆ

4. เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์กระตุ้นคุ้มกันโดยการสื่อสารกับเนื้อเยื่อน้ำเหลืองในชั้นเยื่อบุลำไส้ (Gut-associated lymphocyte tissue, GALT) ทำให้มีสารป้องกัน และกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้เข้าสู่สภาวะสมดุล นำไปสู่การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย แบบป้องกันมากกว่าการตอบสนองแบบก่ออักเสบ หรือภูมิแพ้ แสดงดังภาพประกอบ 2-3



ภาพประกอบ 2-2 กลไกการป้องกันทางเดินอาหารของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์
(หัสกร แก้วลอย, 2554)

ภาพประกอบ 2-3 ผนังลำไส้ก่อนและหลังได้รับสารพรีไบโอติก
(หัสกร แก้วลอย, 2554)

2.2.1 คุณสมบัติของพรีไบโอติก

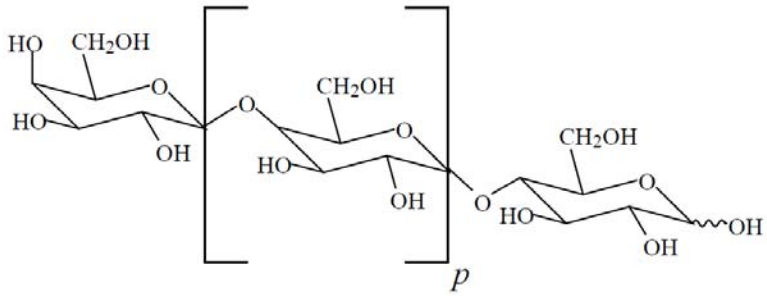
1. เป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น *Bifidobacterium*, *Lactobacilli* และ *Bacteriodes* spp. และแบคทีเรียที่เป็นโทษไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ จึงมีผลในการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ และลดเชื้อแบคทีเรียที่เป็นโทษ (Gibson and Roberfroid, 1995)

2. สารพรีไบโอติกสามารถทนต่อการย่อย ในปากและกรดในกระเพาะอาหาร ไม่ถูกดูดซึมในกระเพาะอาหารและลำใส้เล็กและสามารถเคลื่อนที่ไปจนถึงลำใส้ใหญ่ได้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Gibson, 2004; Kolida *et al*., 2002; Ellegard *et al*., 1997)

3. การหมักของสาร พรีไบโอติก นั้นควรมีการกระตุ้นที่เป็นประโยชน์ต่อ ร่างกายของเจ้าบ้าน (Host)

2.2.2 พรีไบโอติกที่พบในธรรมชาติ

1. กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Galacto-oligosaccharide, GOS) เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีกาแลคโตสเป็นองค์ประกอบซึ่งโครงสร้างเป็น Gluζ1-4[η Gal 1-6]$_p$ โดยที่ p=2-5 แสดงดังภาพประกอบ 2-4 พบในน้ำนมของมนุษย์ น้ำนมวัว โยเกิร์ต และสังเคราะห์มาจากแลคโตส โดยเอนไซม์ เบต้ากาแลคโตซิเดส (η-galactosidase)



ภาพประกอบ 2-4 โครงสร้างทางเคมีของกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (www.wipidea.com)

2. ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Fructooligosaccharide, FOS) และอินนูลิน (Inulin) อินนูลิน เป็นสารโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide) ที่พืชเก็บไว้เป็นอาหารซึ่งเป็นโมเลกุลขนาดเล็กอยู่ในกลุ่มฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีฟรุคโตส (Fructose) 3-60 โมเลกุลต่อกันด้วยพันธะ ζ, 1-2

และ η,2-1 โครงสร้างประกอบด้วย Gluζ1-2[ηFru(2-1)]$_n$ เมื่อ n=10 และ Fruη2-1Fru$_n$ อินนูลินจะไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ในลำไส้เล็ก แต่บางส่วนถูกย่อยโดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำส้ใหญ่

3. โอลิโกแซคคาไรด์จากถั่วเหลือง (Soybean oligosaccharide, SOS) โดยโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีอยู่ในถั่วเหลืองส่วนใหญ่เป็นกลุ่มแรฟฟิโนส (Raffinose) และสตาคีโอส (Starchyose) (Gibson, 2004) เป็นกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ที่สามารถทนต่อการย่อยโดยกรดในกระเพาะอาหารและเอนไซม์ในลำไส้เล็ก และเหลือไปถึงลำไส้ใหญ่

4. โอลิโกแซคคาไรด์ และคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ ที่มีอยู่ในธรรมชาติ ที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกที่มีอยู่ในธรรมชาติ เส้นใยอาหารที่เป็นส่วนหนึ่งของพืชที่เอนไซม์ในร่างกายไม่สามารถย่อยได้ เส้นใยอาหารไม่มีสารอาหารและไม่ให้พลังงาน แต่มีบทบาทสำคัญ ต่อภาวะโภชนาการ และสุขภาพของมนุษย์ เส้นใยอาหารเป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนที่ไม่ใช่แป้ง เป็นส่วนประกอบของพืชผัก และผลไม้ที่รับประทานไม่ได้ แต่ไม่ถูกย่อยโดยน้ำย่อยในระบบย่อยอาหาร เมื่อผ่านลำไส้ใหญ่จะมีบางส่วนถูกย่อยโดยจุลินทรีย์ สามารถพบได้ในพืชจำ พวก รำข้าว โอ๊ต ถั่วเมล็ดแห้ง ข้าวบาร์เลย์ และแอปเปิ้ล ผักใบเขียว และผลไม้เกือบทุกชนิด จัดเป็นแหล่งอาหารที่ดีของเส้นใยอาหารโดยเฉพาะพวกเส้นใยอาหารกลุ่ม Cellulose, Pectin และ Hemicelluloses

2.2.3 ประโยชน์ต่อสุขภาพของพรีไบโอติก

1. ผลต่อระบบทางเดิ นอาหาร ของลำไส้ใหญ่ พรีไบโอ ติกจะเป็นอาหารให้ กับแบคทีเรีย ซึ่งเมื่อแบคทีเรียนำไปใช้ก็จะให้พลังงาน และสารบางชนิ ด เช่น กรดแลกติกและกรดไขมันชนิดสายสั้น (Short-Chain Fatty Acids) ซึ่งเป็นผลจากกระบวนการหมั ก ซึ่งการหมักนี้จะทำให้มีการกระตุ้นการเจริญของกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ และสภาวะความเป็นกรดที่เกิดขึ้นจะช่วยยับยั้งการเจริ ญเติ บโตของเชื้ อแบคที เรียบางชนิ ดในลำ ไส้ได้ เช่น *Clostridium perfringens, Salmonella* spp. และ *Esherichia coli* เป็นต้น จงมีผลช่วยป้องกันอาการท้องเดินโดยเฉพาะจากการติดเชื้อได้ นอกจากนี้ ด้วยคุณสมบัติเหมือนใยอาหารอื่ นๆ ก็ จะช่วยบรรเทาอาการท้ องผูกได้ด้วย เนื่องจากผลของการเพิ่ มน้ำหนักของอุจจาระและผลต่ อการเคลื่ อนไหวของลำ ไส้จึงช่วยให้ขับถ่ายง่ายขึ้น (Gibson et al., 1995, Chonan et al., 1995) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงผลของพรีไบโอติกในการต้านมะเร็ง ซึ่งก็สามารถนำผลที่มีต่อทางเดินอาหารมาอธิ บายได้เช่นกัน (Hughes and Rowland, 2001)

2. ผลต่อการดู ดซึมแร่ ธาตุบางชนิ ด จากการหมั กพรีไบโอติก โดยแบคที เรียในลำ ไส้ ได้กรดไขมั นชนิ ดสายสั้ น ความเป็ นกรดก็ จะช่ วยในการดู ดซึมแร่ ธาตุ บางชนิ ดได้ เช่ น

แคลเซียม เหล็ก แมกเนเซียม และสังกะสี นอกจากนี้อาจด้วยกลไกที่ทำให้มีการดึงน้ำเข้ามาช่วยในการละลายเกลือแร่ต่างๆ ได้ จึงมีการคาดการว่าน่าจะส่งผลช่วยลดความเสี่ยงต่อกระดูกพรุนได้

3. ผลต่อการเผาผลาญไขมัน มีการศึกษาเกี่ยวกับการช่วยลดระดับไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) แต่ยังไม่มีข้อมูลมากนัก ส่วนเรื่องของการลดคอเลสเตอรอลก็ เช่นกัน อย่างไรก็ตามมีผู้เสนอกลไกที่เป็นไปได้ คือ การที่จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เจริญจำนวนมากขึ้นก็จะช่วยย่อยสลายคอเลสเตอรอล และยับยั้งการดูดซึมผ่านผนังลำไส้ หรืออาจเนื่องจากผลจากกระบวนการหมักที่ได้กรดไขมันสายสั้นบางชนิด โดยเฉพาะกรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) ซึ่งสามารถไปยับยั้งการสังเคราะห์ไขมันรวมทั้งคอเลสเตอรอล ดังนั้นพรีไบโอติกอาจช่วยลดความเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดแข็งซึ่งมีสาเหตุจากไขมันได้

4. ผลต่อระบบภูมคุ้มกันของระบบทางเดินอาหาร พบว่าพรีไบโอติกสามารถช่วยกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โดยมีผลต่อการทำหน้าที่ของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับภูมิต้านทานในลำไส้ มีผลเพิ่มความแข็งแรงของเซลล์เยื่อบุผิวของลำไส้ซึ่งสามารถป้องกันการติดเชื้อได้ดีด้วย รวมถึงมีผลต่อจำนวนและการทำงานของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ และเมื่อพรีไบโอติกและโพรไบโอติกทำงานร่วมกันจะเกิดประโยชน์อย่างมากมาย แสดงดังภาพประกอบ 2-6

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือ สารประกอบที่สามารถป้องกันหรือชะลอกระบวนการเกิดออกซิเดชั่น (Oxidation reaction) กระบวนการออกซิเดชั่นมีได้หลายรูปแบบ เช่น กระบวนการออกซิเดชั่นที่ทำให้เหล็กกลายเป็นสนิม ทำให้แอปเปิ้ลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือทำให้น้ำมันพืชเหม็นหืน หรือกระบวนการออกซิเดชั่นที่เกิดในร่างกาย เช่น การย่อยสลายโปรตีนและไขมันจากอาหารที่กินเข้าไป มลพิษทางอากาศ การหายใจ ควันบุหรี่ รังสียูวี ซึ่งทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายของเรา และสร้างความเสียหายต่อร่างกายได้ ในความเป็นจริงไม่มีสารประกอบสารใดสารหนึ่งสามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นได้ทั้งหมด แต่ละกลไกอาจต้องใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันในการหยุดกระบวนการออกซิเดชั่น เดชั่น ในอีกทางหนึ่ง กระบวนการออกซิเดชั่นเป็นกระบวนการที่สำคัญต่อร่างกาย เช่น เราใช้ออกซิเจนจากอากาศที่หายใจเข้าไปไปเผาผลาญอาหารที่ร่างกายได้รับให้เป็นพลังงานสำหรับการทำงานของเซลล์ต่างๆ แต่ก็ทำให้เกิดอนุมูลอิสระเป็นผลพลอยได้ อนุมูลอิสระต่างๆ ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่ สำคัญในร่างกาย เช่น ไขมัน โปรตีน ดีเอ็นเอ ทำให้เกิดความเสียหายต่อโมเลกุล และแหล่งที่พบในอาหาร แสดงดังตาราง 2-3

ตาราง 2-2 ประเภทของสารต้าน อนุมูลอิสระ กับแหล่งอาหารที่พบ (อรพรรณ สุริยพันธ์ และอรลักษณา แพรัตกุล, 2547)

สาร	แหล่งอาหาร
วิตามินซี (Vitamin C)	ผลไม้ประเภทส้ม ฝรั่ง มะเขือเทศ พริกหวานเขียว/แดง บร็อกโคลี สตรอเบอรี มันฝรั่ง มะม่วง ผักโขม
วิตามินอี (Vitamin E)	ถั่ว เมล็ดธัญพืชต่าง ๆ ผักใบเขียว น้ำมันพืช
แคโรทีนอยด์ (Carotenoid)	มะละกอ มะเขือเทศ มะม่วง แครอท ฟักทอง พริกหวานสีแดง ผักโขม ข้าวโพด แอปริคอท
ลิโมนีน (D-Linomene)	ผลไม้ประเภทส้ม
ไลโคปีน (Lycopene)	แตงโม มะเขือเทศ
แอนโธไซยานิน (Anthocyanins)	บลูเบอรี สตรอเบอรี ราสพ์เบอรี แบล็คเบอรี องุ่น เชอรี กะหล่ำปลีแดง พริกหวานสีแดง
แอลลิลซัลไฟด์ (Allylsulfides)	กระเทียม หอมหัวใหญ่
โมโนเทอร์ปีน (Monoterpenes)	แครอท บร็อกโคลี กะหล่ำปลี แตงกวา พริก มินท์ ผลไม้ประเภทส้ม
ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)	ผลไม้ประเภทส้ม แอปเปิล แครอท บร็อกโคลี แตงกวา กะหล่ำปลี มะเขือเทศ หอมหัวใหญ่ พริกหวานสีแดง ถั่วเหลือง ผลไม้พวกเบอรี ชา ชาเขียว ไวน์แดง
ไอโซฟลาโวนอยด์ (Isoflavonoids)	ถั่วเหลือง เต้าหู้ นม ถั่ว
อินโดล (Indoles)	กะหล่ำปลี บร็อกโคลี
สารประกอบฟีนอลิกส์ (Phenolic compounds)	ผลไม้ประเภทส้ม ผลไม้พวกเบอรี แครอท บร็อกโคลี กะหล่ำปลี มะเขือเทศ พริกหวานเขียวแดง
แคทีชิน (Catechins)	ชาเขียว ผลไม้กลุ่มเบอรี ไวน์แดง
คริปโทแซนทีน (Cryptoxanthins)	พริกหวานสีแดง ฟักทอง มะม่วง
ลูทีน (Lutein)	ผักโขม ข้าวโพด
ทองแดง, แมงกานีส, สังกะสี	นม ถั่ว

2.3.2 สารประกอบฟีนอลิกส์

สารประกอบฟีนอลิกส์ (Phenolic Compounds) คือสาร ต้านอนุมูลอิสระ ที่สูตรโครงสร้างมีหมู่ OH บนวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic ring) ตั้งแต่ 1 กลุ่มขึ้นไป สารในกลุ่มนี้จึงมีคุณสมบัติที่จ ะละลายน้ำได้ดี พบได้ในพืช ผักแล ะผลไม้ทั่วไป อาจแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ สำหรับจำนวนคาร์บอนอะตอมและตัวอย่างของสารประกอบฟีนอลิกส์แต่ละชนิดแสดงดังตาราง 2-4

(1) Simple phenols/phenolic acid และอนุพันธ์เช่น Gallic acid, Ellagic acid, Tannic acid, Vanillin, Catechol, Resorcinol และ Salicylic acid เป็นต้น สารกลุ่มพบใน Raspberry, Blackberry สำหรับโครงสร้างของ Gallic acid

(2) Phenylpropanoids ได้แก่ Phenolic compound ที่วงแหวนอะโรมาติก มี Three-carbon side chain เกาะอยู่ แยกย่อยออกได้หลายกลุ่มได้แก่ Hydroxycinnamic acids (Ferulic acid, Caffeic acid หรือ Coumaric acid), Coumarins (Umbelliferone, Scopoletin, Aesculetin หรือ Psoralen), Lignans (Pinoresinol, Eugenol ซึ่งมีโคร งสร้างแสดงดังภาพประกอบ 2-8 หรือ Myristicin) พบได้ใน แอปเปิล แพร์ และ กาแฟ

(3) Flavonoids เป็นกลุ่มสำคัญของ Phenolic compounds จะได้แก่สารที่มีสูตรโครงสร้างเป็น C6-C3-C6 แยกย่อยออกได้เป็นหลายกลุ่มนี้ได้แก่ Catechins, Proanthocyanins, Anthocyanidins, Flavones, Flavonols, Flavonones และ Isoflavones จากการที่พบ Flavonoids ได้อย่างกว้างขวางทั้งพืช ผัก ผลไม้รวมทั้งเครื่องดื่มที่เตรียมมาจากพืช เช่น ชา ซึ่งพบว่าในใบชาจะมี Catechins อยู่ถึง 30% ของน้ำหนักแห้ง และเชื่อว่าเป็นสารสำคัญ ที่มีการออกฤทธิ์เป็นสา รต้านอนุมูลอิสระและ Chemoprevention Anthocyanins เป็นสารที่มีสีในพืช ส่วนกลุ่ม Flavones, Flavonols และ Isoflavones ก็จะพบได้ทั่วไปและเชื่อว่าเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ซึ่งมีโครงสร้าง แสดงดังภาพประกอบ 2-9 (Pisamai Laupattarakasem., http://www.smj.ejnal.com/e-journal/showdetail/?show_detail=T&art_id=281) และสามารถแบ่งตามจำนวนคาร์บอนได้ดังตาราง 2-4

ตาราง 2-3 กลุ่มย่อยต่าง ๆ ของสารประกอบฟีนอลิกในพืช (Waterman and Mole, 1994)

Basic skeleton	**Class**	**Example**
C_6	Simple phenols	Phenol, Guaiacol
$C_6 - C_1$	Hydroxybenzoic acids	Gallic acid
$C_6 - C_2$	Acetophenone,	3-Acetyl-6- Ethoxybenzaldehyde
$C_6 - C_3$	Hydroxycinnamic acid	Ceffeic, ferulic, p-Coumaric
$C_6 - C_4$	Naphtoquinone	Juglone
$C_6 - C_1 - C_6$	Xanthone	Mangiferin
$C_6 - C_2 - C_6$	Stilbene, Anthrachinone	Resveratrol
$C_6 - C_3 - C_6$	Flavonoids, isoflavonoids	Catechin, Genistein
$(C_6 - C_3)_2$	Lignins	Eusiderin
$(C_6 - C_3 - C_6)_2$	Biflavonoids	Amentoflavone
$(C_6 - C_3)_n$ $(C_6)_n$ $(C_6 - C_3 - C_6)_n$	Catecholmelanine (Condensed Tannins)	-

2.3.1 ประโยชน์ของสารต้านอนุมูลอิระ

1. ป้องกันการเกิดเนื้องอก มะเร็ง ด้วยคุณ สมบัติต่อต้านปฏิกิริยา อนุมูลอิสระ

2. ป้องกันโรคหัวใจและเส้นโลหิตแตกในสมอง เนื่องจากสารโพลีฟีนอลช่วยลดระดับ แอลดีแอลคอเลสเตอรอล (LDL cholesterol) และไตรกลีเซอไรด์ แต่ชวยเพิ่มระดับเอชดีแอลคอเลสเตอรอล (HDL cholesterol) ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลที่ช่วยกำจัดเกร็ดเลือดที่เกาะตามผนังเส้นเลือดใหญ่ออกไป

3. ลดความดันโลหิต สาเหตุที่เกิดความดันโล หิตสูงเพราะไตหลั่งเอนไซม์ Angiotensionconveting enzyme (ACE) สารโพลีฟีนอลจะไปช่วยยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ดังกล่าว

4. ลดระดับน้ำตาลในเลือด โพลีฟีนอลช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะมีเลส (Amylase) ที่ทำหน้าที่เร่งการย่อยโมเลกุลแป้งเป็นน้ำตาล

5. ต่อต้านปฏิกิริยาอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นที่สมอง เช่น โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's desease) โดยรวมกับโลหะที่กระตุ้นให้เกิดการสะสม Amyloid beta peptide ได้แก่ เหล็ก ทองแดง สังกะสี

6. ช่วยต่อต้านเชื้อแบคทีเรียและไวรัสต่างๆ การดื่มชาอาจลดความเสี่ยงของการเกิดอาการเป็นพิษ ฆ่าแบคทีเ รียที่ทำให้เกิดกลิ่นปากและฟันผุ และยังทำลายแบคทีเรียที่เป็นโทษอื่นๆ

7. ช่วยรักษาอาการอักเสบต่างๆ

8. ช่วยทำให้เซลล์ในร่างกายเสื่อมโทรมช้าเพราะมีคุณสมบัติต่อต้านปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ จึงอาจช่วยชะลอความแก่

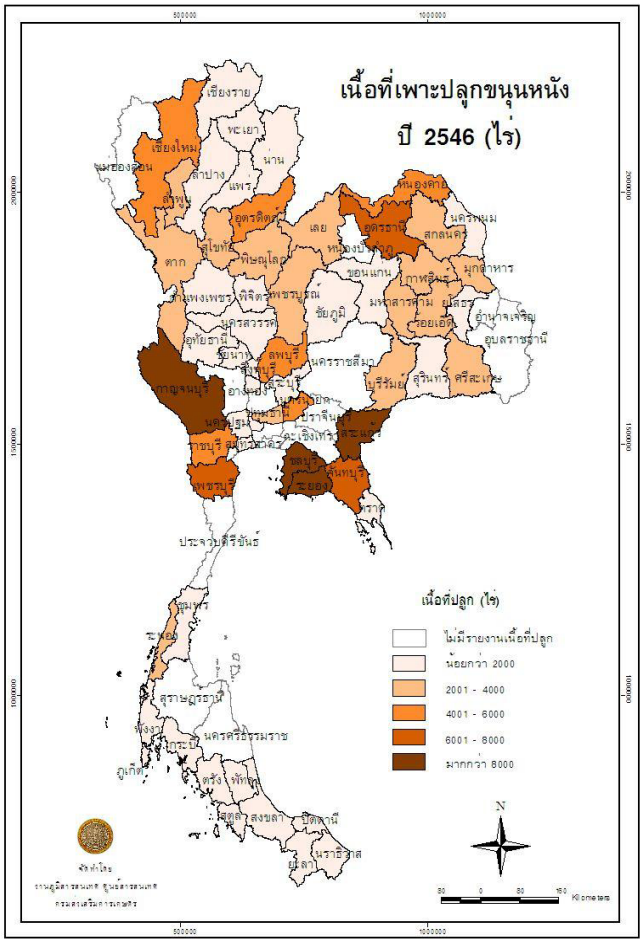
2.4 ขนุน

ขนุนชื่อวิทยาศาสตร์ *Artocarpus heterophyllus* Lam.วงศ์ Moraceae ขนุนเป็นผลไม้ที่มีรูปทรงของผลขนาดใหญ่ เปลือกมีสีเทา และภายในบรรจุไปด้วยกลีบซึ่งเป็นที่อยู่ของเมล็ด มีเนื้อนุ่ม สีเหลือง รสชาติหวานและมีกลิ่นที่หอม ดังแสดงดัง ภาพประกอบ 2-10 ลำต้นมีขนาดใหญ่ สูงประมาณ 15 – 30 เมตร ส่วนของเนื้อที่รับประทานเจริญมาจาก กลีบดอก ส่วนซังคือกลีบเลี้ยง ผล เป็นผลรวมมีขนาดใหญ่

ภาพประกอบ 2-5 ลักษณะภายนอกและภายในของขนุน (http://www.itmstrade.com/)

ขนุนมีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศอินเดีย เป็นพืชเศรษฐกิจเมืองร้อนที่ให้ผลมีขนาดใหญ่ที่สุด สามารถบริโภคได้ทั้งผลดิบและผลสุก นอกจากนี้ยังนำไปแปรรูปเป็นอาหารชนิดต่าง ๆ มีปลูกทั่วทุกภาค ของประเทศไทย ออกดอกปีละ 2 ครั้ง คือช่วงเดือนธันวาคม- มกราคม และเมษายน- พฤษภาคม

มีรายงานผลการวิเคราะห์ผลขนุนอ่อนว่า คุณค าสารอาหารของผลขนุนอ่อนในสวนที่กินได้ 100 กรัม ประกอบด้วย พลังงาน 22 กิโลแคลอรี่น้ำ 88.4 กรัม คาร์โบไฮเดรต 1.7 กรัม โปรตีน 1.6 กรัม ไขมัน 1.0 กรัม เยื่อใยอาหาร 6.7 กรัม เถ้า 0.7 กรัม แคลเซียม 8 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 3 มิลลิกรัม เหล็ก 0.5 มิลลิกรัม วิตามินเอ 1 หน่วยสากล (IU) วิตามินบี 1 0.49 มิลลิกรัม วิตามินบี 2 0.05 มิลลิกรัม วิตามินซี 15 มิลลิกรัม (ดวงจันทร์ เกรียงสุวรรณ, 2535)



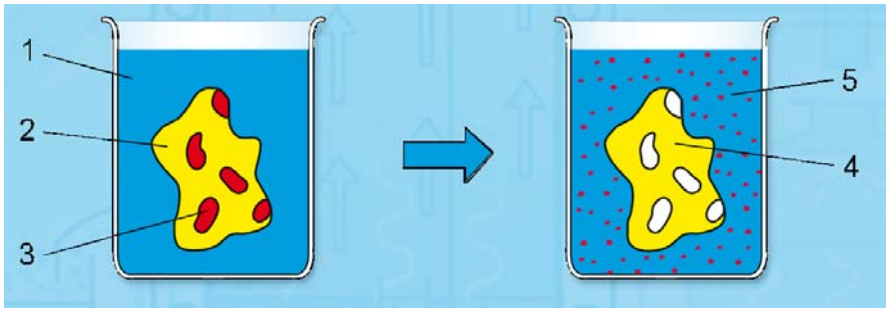
ภาพประกอบ 2-6 เนื้อที่เพาะปลูกขนุนหนังในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2546
(กรมส่งเสริมการเกษตร, 2546)

ตาราง 2-4 สถิติการปลูกขนุนหนังใน ประเทศไทยแยกรายภาค ปี พ.ศ. 2546 (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2546)

ภาค	ปลูกเป็นกลุ่ม			ปลูกปะปนกัน	
	เนื้อที่เพาะปลูก (ไร่)	จำนวนต้นทั้งสิ้น (ต้น)	จำนวนต้นให้ผลแล้ว (ต้น)	จำนวนต้นทั้งสิ้น (ต้น)	จำนวนต้นให้ผลแล้ว (ต้น)
1. กรุงเทพ	65	1,897	1,502	12,485	9,048
2. ภาคกลาง(ไม่รวมกรุงเทพ)	52,575	1,417,618	905,883	1,074,445	771,897
3. ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	11,049	311,940	154,701	189,811	129,645
4. ภาคเหนือ	6,201	169,132	72,743	254,810	172,073
5. ภาคใต้	1,924	54,023	20,153	174,022	91,736

2.5 กระบวนการสกัด

การสกัดด้วยของเหลว (Liquid extraction) บางครั้งเรียกว่า การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction) เป็นกระบวนการถ่ายโอนส่วนประกอบหนึ่งจากของแข็ง หรือของเหลวด้วยตัวทำละลายที่เป็นของเหลว ดังนั้น ในทางเทคนิคจึงแบ่งแยกการสกัดด้วยของเหลวออกเป็นสองประเภท คือ การชะละลาย (Leaching) หรือการสกัดของแข็งด้วยของเหลว (Solid - liquid extraction หรือ liquid - solid extraction) และการสกัดของเหลวด้วยของเหลว (Liquid - liquid extraction) การชะละลาย เป็นการใช้ตัวทำละลายที่เป็นของเหลวไปละลายสารที่อยู่ในของแข็งที่ละลายได้ในตัวทำ ละลาย หรือตัวถูกละลาย (Solute) หรือตัวชะ (Leachant) ออกมาจากของผสมที่เป็นของแข็ง ผลิตภัณฑ์ ที่ได้เรียกว่า ผลการชะละลาย (Leachate) ซึ่งแสดงดังภาพประกอบ 2-12



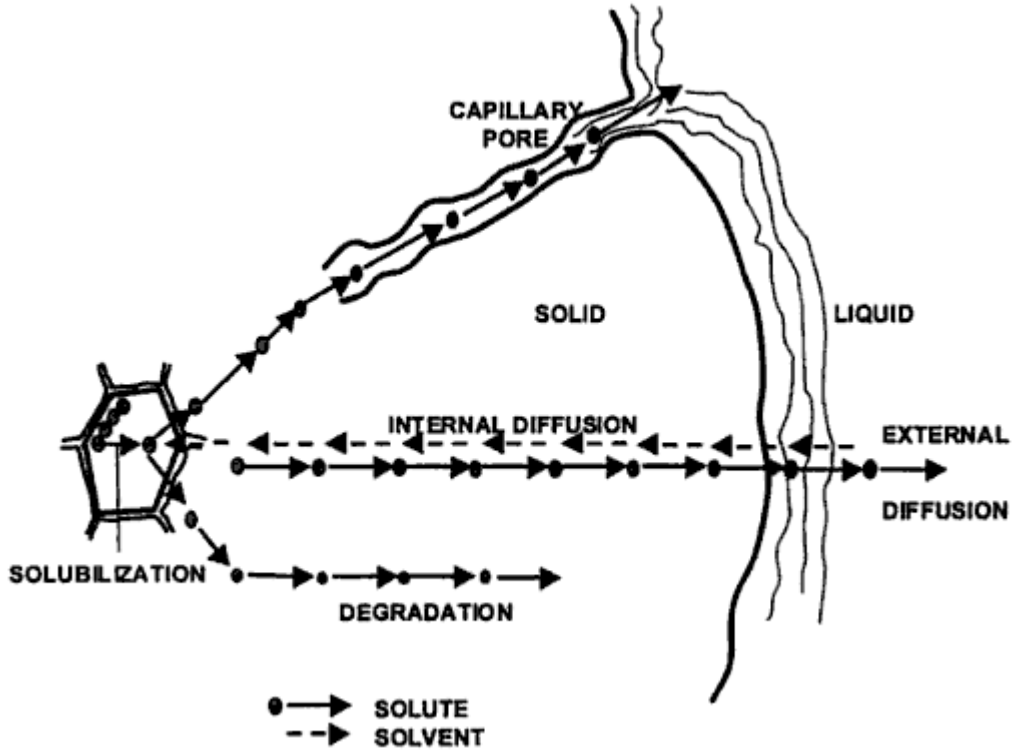
ภาพประกอบ 2-7 กระบวนการสกัดแบบ Solid-Liquid Extraction (Gunt hamburg, 2002)

โดยที่ 1 คือ ตัวทำละลาย (Solvent)
2 คือ วัตถุดิบของการสกัด (Extraction material)
3 คือ สารที่ต้องการ (Transition component)
4 คือ กาก (Depleted solid carrier phase)
5 คือ ตัวถูกละลายละลายในตัวทำละลาย (Solvent with dissolved transition component)

2.5.1 พฤติกรรมของการสกัด

พฤติกรรมของการสกัด (Characteristics of Food Extraction) ในระหว่างการสกัด ความเข้มข้นของสารภายในของแข็ง ที่แตกต่างกัน จนถึงมีลักษณะไม่คงที่ (Nonstationary) หรือมีสภาวะที่ไม่แน่นอน (Unsteady condition) สำหรับขั้นตอนที่เกิดขึ้นระหว่างช่วงของการปฏิสัมพันธ์ (Interaction) ระหว่างสารที่อยู่ในอนุภาคและ ผลของตัวทำละลายในการแยก สามารถแสดงดังภาพประกอบ 2-13 รวมทั้งอธิบายได้ว่า

1) การเข้าไปของตัวทำละลายในรูพรุนของของแข็ง (Solid matrix)
2) เกิดกระบวนการละลายของสารในของแข็ง
3) การเคลื่อนที่ของสารสกัดออกสู่ภายนอกของ Solid matrix
4) การเคลื่อนที่ของสารสกัดออกจากผิวภายในของของแข็งเข้าไปในสารละลาย
5) การเคลื่อนที่ของสารสกัดขึ้นอยู่กับของแข็ง
6) เกิดการแยกและปลดปล่อยสารสกัดออกจากของแข็ง



ภาพประกอบ 2-8 กลไลของการสกัดด้วยตัวทำละลาย การเคลื่อนที่ของสาร (solute) ในรูพรุน ของของแข็ง (Constantina and George, 2003)

จากปรากฏการณ์ ที่เกิดขึ้นนี้ อัตราการสกัดถูกแสดงในเทอมของมวลของตัวถูกละลายที่ถูกชะต่อหน่วยของเวลา เพราะเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของตัวถูกละลายในของแข็งต่อเวลา (dc/dt หรือ dx/dt) อัตราการสกัดสารจากพืช ที่มีองค์ประกอบหลายชนิดจะสัมพันธ์กับอัตราที่สารแต่ละชนิดปลดปล่อยผ่านของแข็ง จากข้อมูลเหล่านี้บ่งชี้ได้ว่า อัตราในการสกัดทั้งกระบวนการจะพิจารณาขั้นตอนที่ช้าที่สุดในการสกัดนั้น ก็คือการเคลื่อนที่ของสารสกัดออกสู่ภายนอกของ Solid matrix เป็นอัตราควบคุมขั้นตอนในการสกัด

2.5.2 คุณสมบัติของการเลือกใช้ตัวทำละลายมีดังนี้

- ตัวทำละลายสามารถละลายสารที่ต้องการสกัดได้
- ตัวทำละลายจะต้องไม่ละลายสารที่เราไม่ต้องการสกัด
- ตัวทำละลายจะต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่เราต้องการสกัด
- ตัวทำละลายสามารถแยกออกจากสารที่เราต้องการสกัดได้ง่าย
- ตัวทำละลายไม่เป็นพิษ และมีราคาถูก

2.5.3 ตัวแปรที่มีผลต่ออัตราการสกัด

1. ขนาดอนุภาค (Particle size) ถ้าอนุภาคมีขนาดเล็กจะทำให้พื้นที่ผิวในการถ่ายเทมวลสารมีมากขึ้นและตัวถูกละลายที่อยู่ภายในของแข็งจะแพร่กระจายสู่ตัวทำละลายได้เร็วขึ้น ดังนั้นก่อนที่จะทำการสกัดควรนำพืชมาทำให้มีขนาดเล็กลงก่อน (ธรณินทร์ ไชยเรืองศรี, 2549)

2. ตัวทำละลาย (Solvent) ตัวทำละลายที่ดีควรมีขั้ว (Polarity) ที่เหมาะสมกับตัวถูกละลายและมีความหนืด (Viscosity) ต่ำ เพื่อที่จะให้มีการหมุนเวียนที่ดี โดยทั่วไปใช้ตัวทำละลายบริสุทธ์ในการสกัดเริ่มต้น เพราะในช่วงเริ่ มต้นจะไม่มีตัวถูกละลายอยู่เลย เมื่อทำการสกัดความเข้มข้นของตัวถูกละลายในอนุภ าคของพืชที่ใช้ในการสกัดน้อยลง ทำให้ตัวถูกละลายสกัดได้น้อยลง (ธรณินทร์ ไชยเรืองศรี, 2549)

3. อัตราระหว่างของแข็งต่อตัวทำละลาย โดย เมื่อใช้อัตราส่วนระหว่างของแข็งต่อตัวทำละลายมาก ความต่างของความเข้มข้นระหว่างของเหลวและของแข็งมีมาก ทำ ให้เกิด Driving force ระหว่างการถ่ายโอนมวลมาก ส่งผลให้สามารถสกัดสารออกจากของแข็งได้มาก และหากใช้อัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายต่อของแข็งน้อยเกินไปจะทำให้ตัวทำละลายไม่เพียงพอต่อการดูดซึมของแข็ง และที่ถ้าใช้อัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายต่อของแข็งมากเกินไปจะทำให้สารละลายมีความเจือจางส่งผลให้ตัวทำละลายมีประสิทธิภาพในการสกัดลดลง (ธรณินทร์ ไชยเรืองศรี, 2549)

4. อุณหภูมิในการสกัด โดยทั่วไปเมื่ออุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้นจะทำให้อัตราการสกัดสูงขึ้นด้วย เนื่องจากอุณหภูมิในการสกัดสูงการแพร่ของตัวถูกละลายและตัวทำละลายสูงกว่าอุณหภูมิในการสกัดที่ต่ำ แต่อย่างไรก็ตามอุณหภูมิการสกัดที่สูงอาจจะทำให้สารที่ไม่ต้องที่ไม่ต้องการออกมาด้วยและอาจจะทำให้เกิดการเสื่อมสภาพทางเคมีและทางกายภาพของตัวผลิตภัณฑ์ อีกทั้งยังสูญเสียตัวทำละลายมากเกินไป (ธรณินทร์ ไชยเรืองศรี, 2549)

5. เวลาในการสกัด (Extraction time) เวลาในการสกัดมีผลต่อการสกัดคือ ถ้าใช้เวลาน้อยเกินไปสารที่ต้องการสกัดก็ถูกสกัดออกมาได้น้อย ดังนั้นจึงต้องใช้ระยะเวลาที่เหม าะสมเพื่อให้ได้สารสกัดในปริมาณมากที่สุด (ธรณินทร์ ไชยเรืองศรี, 2549)

6. การกวน (Agitation) การกวนตัวทำละลายในการสกัดจะช่วยเพิ่มอัตราการสกัดเนื่องจากว่าทำให้เกิดการแพร่ในสภาวะที่ปั่นป่วน ทำให้อัตราการการแพร่สูงขึ้นจึงทำให้การถ่ายโอนมวลสารจากผิวสัมผัสของอนุภาคไปยังตัวทำละลายเกิดขึ้นได้ดียิ่งขึ้น (ธรณินทร์ ไชยเรืองศรี, 2549)

2.5.4 การเตรียมของแข็งสำหรับชะละลายของสารจากพืชและสัตว์

สารชีวภาพมีโครงสร้างแบบเซลล์และส่วนที่ละลายได้มักพบภายในเซลล์ อัตราของการชะละลายอาจค่อนข้างช้า เพราะผนังเซลล์มีความต้านทานต่อการแพร่ อย่างไรก็ตามการบดสารเชิงชีวภาพให้มีขนาดเล็ก ให้เซลล์เปิดออกจะไม่ทำในเชิงปฏิบัติ เช่นชูการ์บีท ถูกตัดเป็นรูปชิ้นของ Wedge-shaped ในการชะละลายเพื่อลดระยะทางของการแพร่ของน้ำไปถึงแต่ละเซลล์ เซลล์ของชูการ์บีทยังอยู่ติดกันและน้ำตาลจะแพร่ผ่านผนังเซลล์แบบเลือกผ่า น (Semipermeable) ในขณะที่ อัลบูมิน (Albumious) และคอลลอยด์ (Collidal) ที่ไม่ต้องการไม่สามารถผ่านผนังเซลล์มาได้ในการชะละลายผลผลิตเชิงเภสัชกรรมจากใบ ต้น และราก การอบแห้งวัตถุดิบก่อนการสกัดจะช่วยทำให้ผนังเซลล์แตก ดังนั้นตัวทำละลายสามารถละลายตัวละลายได้โดยตร ง ผนังเซลล์ของถั่วเหลืองและเมล็ดพืชหลายชนิดส่วนมากจะแตกเมื่อลดขนาดจนเหลือ 0.1-0.5 มิลลิเมตร โดยการบดเซลล์ให้มีขนาดเล็กลงและผนังเซลล์แตกออกทำให้ตัวทำละลายเข้าถึงน้ำมันพืชได้ง่าย

2.6 การออกแบบพื้นที่ตอบสนอง

งานวิจัยนี้ได้นำเทคนิค การออกแบบพื้นที่ตอบสนอง (Response Surface Methodology, RSM) มาใช้ในการออกแบบและวิเคราะห์ผลการทดลองเพื่อศึกษาตัวแปรดำเนินการต่างๆ ตามหลักสถิติ โดยมีรายละเอียดและประโยชน์ของเทคนิค RSM มีดังนี้

2.6.1 ความหมายของ RSM

RSM คือ การรวบรวมข้อมูลทางสถิติและเทคนิคทางคณิตศาสตร์ เพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนา การเพิ่มประสิทธิภาพ และการหาจุดที่เหมาะสมของกระบวนการ ซึ่ง RSM ประกอบด้วยกลุ่มของตัวแปรตามหลักการทางคณิตศาสตร์และสถิติ โดยจะใช้หลักการเหล่านี้ในการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลตอบสนองและตัวแปรอิสระ โดย RSM ประกอบขึ้นมาจากผลของตัวแปรอิสระซึ่งอาจมีเพียงตัวเดียวหรือหลายตัว สำหรับการวิเคราะห์ของตัวแปรอิสระที่ได้จากผลการทดลองนั้นจะถูกนำมาสร้างเป็นสมการทา งคณิตศาสตร์ซึ่งจะอยู่ในรูปแบบของผลตอบสนอง ในรูปแบบของพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface) โดยความสัมพันธ์ระหว่างผลตอบสนองที่ได้กับข้อมูลดิบแสดงดังสมการที่ 2-1

$$y = f(x_1, x_{2,\ldots,} x_n) + \varepsilon \qquad (2\text{-}1)$$

เมื่อ y คือ ผลตอบสนอง (Response) ที่เกิดขึ้น

f คือ ฟังก์ชันการทำงานที่ตัวแปรที่ยังไม่ทราบต่อผลตอบสนอง

$x_1, x_2, \ldots x_n$ คือ ตัวแปรอิสระ ซึ่งจะถูกเรียกว่า ตัวแปรธรรมชาติด้วย

n คือ จำนวนของตัวแปรอิสระ

κ คือ ค่าที่คลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นซึ่งเกิดมาจากแหล่งต่างๆ ซึ่งไม่สามารถถูกรวบรวมเอาไว้ใน f ได้ ซึ่งแหล่งที่ว่านี้ก่อให้เกิดผลกระทบ เช่น ค่าการวัดที่ผิดพลาด โดยที่จะถูกคาดคะเนด้วยค่า κ ซึ่งมีการกระจายตัวด้วยค่าเฉลี่ยศูนย์และค่าความแปรปรวน

2.6.2 การออกแบบการทดลองโดยใช้เทคนิค RSM

ในการออกแบบการทดลองมีขั้นตอนตามรายละเอียดดังนี้

1. การกำหนดตัวแปรที่จะศึกษา ซึ่งประกอบ ไปด้วยตัวแปรอิสระและตัวแปรตามในกระบวนการทางเคมีและทางชีวเคมีสามารถได้รับผลกระทบจากกระบวนการต่างๆ มากมาย

เพราะเป็นไปไม่ได้ที่จะระบุผลกระทบต่างๆ ที่เกิดขึ้นได้จากทุกตัวแปรที่เกี่ยวข้อง ซึ่งมีความจำเป็นในการเลือกตัวแปรบางตัวที่สร้างผลกระทบได้โดยตรงออกมา การคัดเลือกโดยการการทดลองนั้นมีสำคัญในการระบุตัวแปรอิสระ โดยหลังจากทำการระบุตัวแปรสำคัญต่างๆ และ สามารถกำหนดทิศทางในการพัฒนารูปแบบขึ้น ซึ่งสามารถระบุระดับความสำคัญของตัวแปรต่าๆขึ้นมาได้ การระบุความสำคัญของตัวแปรต่างๆ นั้นมีความสำคัญ เพราะความสำเร็จของกระบวนการหาจุดที่เหมาะสมนั้นเกี่ยวข้องกับสิ่งนี้โดยตรง ซึ่งความผิดพลาดในการระบุระดับความสำคัญนั้นส่งผลถึงความผิดพลาดในการระบุจุดที่เหมาะสมได้

2. กำหนดรหัส (Code) ของตัวแปรอิสระที่เหมะสมเพื่อใช้ในการออกแบบสภาวะที่ใช้ในการทดลองโดยวิธีการ Box-Behnken Design (BBD) และทำการแปลงค่ารหัสตัวแปรอิสระ (Coded variables) ที่ได้ออกแบบไว้เป็นตัวแปรเดิมโดยใช้สมการที่ 3 ซึ่งในการดำเนินการนี้จะต้องทราบถึงค่าสูงสุดและค่าต่ำสุดของตัวแปรอิสระที่สนใจศึกษา ก่อนที่จะทำการแปลงค่ารหัส

$$X = \left[\frac{x - \frac{x_{max} + x_{min}}{2}}{\frac{x_{max} - x_{min}}{2}} \right] \qquad (2\text{-}2)$$

เมื่อ X คือ Coded Variables

x คือ ตัวแปรอิสระ

x_{max} คือ ค่าสูงสุดของตัวแปรอิสระ

x_{min} คือ ค่าต่ำสุดของตัวแปรอิสระ

3. ทำการทดลองตามสภาวะการทดลองที่ได้ออกแบบไว้ด้วยใช้เทคนิค RSM และการแปลงรหัสของตัวแปรอิสระแต่ละตัว เพื่อให้ได้มาซึ่งผลตอบสนองของแต่ละการทดลอง จนครบตามจะนวนการทดลองที่ได้ออกแบบไว้

4. แสดงผลของตัวแปรอิสระต่าๆ ที่ได้จากการทดลองในรูปผลตอบสนองและทำการหาแบบจำลองในรูปกราฟ 3 มิติ (3-D Plot) และ Contour Plot โดยใช้โปรแกรม Regression Analysis ซึ่งแบบจำลองที่ได้จะอยู่ในรูปแบบสมการกำลังสอง (Quadratic equation) ดังแสดงได้สมการที่ 2-3

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} x_i^2 + \left[\sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} \beta_{ij} x_i x_j\right]_{i<j} \quad (2\text{-}3)$$

เมื่อ η_0, η_i, η_{ii} และ η_{ij} คือ สัมประสิทธิ์ถดถอยทั้งแบบเชิงเส้นและแบบกำลังสอง และสัมประสิทธิ์เชิงซ้อน ตามลำดับ

2.6.3 ประโยชน์ของเทคนิค RSM

เทคนิค RSM มีประโยชน์มากถ้าเปรียบเทียบกันระหว่างการหาค่าที่เหมาะสมในการทดลองโดยวิธีดั้งเดิมกับ RSM โดยข้อได้เปรียบที่สำคัญ คือ จำนวนชุดการทดลองที่ออกแบบโดยใช้ RSM นั้นมีจำนวนที่น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการออกแบบการทดลองแบบดั้งเดิม เพราะ RSM นั้นจะนำเสนอข้อมูลจำนวนมากจากการทดลองเพียงไม่กี่ครั้ง ซึ่งจากการทดลองแบบดั้งเดิมที่จะใช้จำนวนการทดลองที่มากกว่า เพื่ออธิบายถึงพฤติกรรมของระบบ และเทคนิค RSM มีความเป็นไปได้ที่จะเจอผลกระทบที่มีลักษณะเป็น Interaction effect จากตัวแปรอิสระ โดยเฉพาะกระบวนการทางชีวเคมี นอกจากนี้สมการแบบจำลองอย่างง่ายของ RSM จะเพิ่มความเข้าใจต่อผลที่เกิดจากการผสมผสานกันของตัวแปรอิสระต่างๆ เมื่อสังเกตุสมการผ่านการทดลองต่างๆ ก็จะพบว่าข้อมูลของตัวแปรต่างๆ ที่ได้กับผลตอบสนองนั้นสอดคล้องกัน จึงกล่าวได้ว่า RSM เป็นเครื่องมือที่เป็นประโยชน์สำหรับการหาจุดที่เหมาะสมของกระบวนการทางเคมีและกระบวนการทางชีวเคมี

2.7 การวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์

หลักเกณฑ์ในการพิจารณาตัดสินใจการลงทุน โดยทั่วไปแล้วการพิจารณาข้อเสนอโครงการลงทุนสามารถแยกพิจารณาได้อย่างกว้าง 2 ประเด็น คือ การประเมินทางเศรษฐกิจ และการประเมินว่าสอดคล้องกับกลยุทธ์การทำธุรกิจของกิจการหรือไม่ การลงทุนมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับผลตอบแทนที่ได้รับต้องคุ้มค่ากับการลงทุนหรือผลตอบแทนเป็นที่น่าพอใจ ซึ่งการคำนวณค่าใช้จ่ายในการสกัด พรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุน จะมีเงินลงทุนเริ่มต้น และส่วนของค่าใช้จ่าย ซึ่งมีหลายเทคนิคในการวิเคราะห์งบประมาณของโครงการในการลงทุนดังนี้

2.7.1 ระยะเวลาคืนทุน

ระยะเวลาคืนทุน (Payback: PB) คือจำนวนระยะเวลาที่กิจการจะได้รับเงินจากการลงทุนคืนทั้งหมดมี หลายๆ กิ จการที่ มีกำหนดระยะเวลาคื นทุนที่แน่นอนไว้เลย ในการพิ จารณาโครงการลงทุน การคิดคำนวณตามวิธีนี้ สมมติให้กิจการได้รับเงินอย่างสม่ำเสมอในช่วงระยะเวลาแต่ละปี

- การพิจารณายอมรับ หรือยกเลิกโครงการลงทุน

โดยการประเมิ นระยะเวลาคื นทุน เมื่อคำ นวณระยะเวลาคื นทุนได้แล้ว จะตีความหมายอย่ างไร หรือมันมีความหมายอย่ างไร กิจการหลายกิ จการที่เหมือนๆ กับกิจการนี้ได้กำหนดระยะเวลาคืนทุนสำหรับการลงทุนประเภทต่างๆ ไว้ล่วงหน้าแล้ว

2.7.2 อัตราผลตอบแทนเฉลี่ย

อัตราผลตอบแทนเฉลี่ ย (Average rate of return: ARR) (หรืออัตราผลตอบแทนทางบัญชี) เป็นอัตราส่ วนระหว่ าง รายได้สุทธิหลังหักภาษีเฉลี่ย กับการลงทุ นเฉลี่ยตลอดอายุ ของโครงการ การคำนวณตามวิธีนี้ไม่ได้คำนวณจากกระแสเงินสด แต่เป็นการใช้ข้อมูลทางบัญชีที่จัดทำขึ้นมา

รายได้สุทธิ (ต่อปี) หลังหักภาษี เฉลี่ย คำนวณหาโดยรวมรายได้ สุทธิทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากโครงการลงทุนหารด้วยจำนวนปี (อายุของโครงการ) ส่วนการลงทุนเฉลี่ยคำนวณได้โดยหารการลงทุนสุทธิด้วย 2 การหาอัตราผลตอบแทนวิธีนี้เป็นการประมาณค่าอย่างหยาบๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณี ที่ใช้วิธีการคิ ดค่าเสื่ อมราคาแบบรวดเร็ ว หรือในกรณี ที่มีการรวบรวมสิ นทรัพย์หมุนเวี ยนที่ ไม่มีการคิ ดค่าเสื่ อมราคาในการลงทุ นด้วย และเมื่ อสินทรั พย์ที่ลงทุ นมีมูลค่าซากเหลืออยู่ อย่างไรก็ตาม ปัญหาของการใช้วิธีอัตราผลตอบแทนเฉลี่ยยังมีอีกมาก

สูตรที่ใช้ในการคำนวณ อัตราผลตอบแทนเฉลี่ย (ARR) คือ

$$ARR = \text{รายได้เฉลี่ย} / (\text{การลงทุน}/2) \qquad (2\text{-}4)$$

- เกณฑ์ในการพิจารณายอมรับ หรือยกเลิกโครงการลงทุน

กิจการที่ ใช้วิธีอัตราผลตอบแทนเฉลี่ ยเป็นเครื่ องมือพิจารณาโครงการลงทุ น จะกำหนดอัตราผลตอบแทนที่ ยอมรับได้ไว้ใช้ตั้งแต่แรก (ล่วงหน้า) ถ้าโครงการลงทุ นที่พิจารณา มีอัตราผลตอบแทนเฉลี่ยสูงกว่า “อัตราที่กำหนด” ก็จะยอมรับโครงการลงทุน ในทางตรงกันข้าม ถ้าอัตราผลตอบแทนเฉลี่ยที่คำนวณได้ต่ำกว่า อัตราที่กำหนด ก็จะยกเลิกโครงการลงทุน

2.7.3 มูลค่าปัจจุบันสุทธิ (Net Present Value: NPV)

วิธีมูลค่าปัจจุบันสุทธิ เป็นวิธีที่เปรียบเทียบมูลค่าปัจจุบันของกระแสเงินสดรับ (Present Value of Cash Inflows: PVCI) กับค่าใช้จ่ายลงทุน (Investment: I) โดยที่ค่าใช้จ่ายลงทุนคือมูลค่าปัจจุบันของกระแสเงินสดจ่ายทั้งหมดที่เกิดขึ้นในโครงการลงทุนนั้น ในที่นี้จะสมมติให้ค่าใช้จ่ายลงทุนทั้งหมดเกิดขึ้น ณ จุดเริ่มต้นของโครงการหรือ ณ จุดที่ t = 0 นอกจากนั้น อาจใช้ค่าหลายค่าปะปนกันแต่มีความหมายเหมือนกัน ได้แก่ “ค่าใช้จ่ายลงทุน” “เงินลงทุนเริ่มแรก” และ “มูลค่าปัจจุบันของกระแสเงินสดจ่าย” มูลค่าปัจจุบันสุทธิ NPV หาได้โดยหักค่าใช้จ่ายลงทุน หรือเงินลงทุนเริ่มแรกออกจากมูลค่าปัจจุบันของกระแสเงินสดรับ จะเห็นได้ว่าวิธีนี้ เน้นที่การคำนวณกระแสเงินสด และมูลค่าปัจจุบันของกระแสเงินสด ทั้งเงินสดรับและเงินสดจ่าย ดังนั้นวิธี NPV จึงเป็นวิธีที่รวมเอาแนวคิดค่าของเงินตามเวลา มารวมไว้ในการคำนวณด้วย

ในการคำนวณหามูลค่าปัจจุบันสุทธิ จะต้องทราบค่าอัตราผลตอบแทนที่ (กิจการ) ต้องการจะได้รับจากการลงทุน(Required Rate of Return) เพื่อจะใช้เป็นอัตราคิดลด (Discounted rate) และจะต้องทราบค่าเงินสดรับ-จ่ายของแต่ละช่วงเวลา และจำนวนช่วงเวลาทั้งหมด ซึ่งถ้าตีความอีกแง่หนึ่ง อัตราผลตอบแทนที่ ต้องการได้รับจากโครงการลงทุน จะเท่ากับต้นทุนของเงินทุน ซึ่งต้นทุนของเงินทุน คืออัตราผลตอบแทนของเงินลงทุนที่เจ้าของกิจการ หรือผลงทุนต้องการจะได้รับ เพื่อจะปล่อยเงินออกมาให้ใช้ในโครงการลงทุน การคำนวณหาต้นทุนของเงินทุนเป็นเรื่องที่ค่อนข้างซับซ้อนและมีความสำคัญต่อคุณภาพของการวเคราะห์โครงการลงทุน ดังนั้นจึงนำมาใช้ในการคำนวณได้ ดังนี้

NPV = มูลค่าปัจจุบันของกระแสเงินสดรับ (PVCI) - เงนลงทนเรมแรก (IO) (2-5)

- การพิจารณายอมรับหรือยกเลิกการลงทุน

ถ้าผลรวบรวมข้อมูลปัจจุบันของกระแสเงินสดรับ มีค่ามากกว่าเงินทุนเริ่มแรก ก็เป็นสิ่งที่ชัดเจนว่าควรจะยอมรับโครงการนั้น หรือในทางตรงกันข้ามถ้าหากผลรวมของมูลค่าปัจจุบันของกระแสเงินสดรับ น้อยกว่าเงินลงทุนเริ่มแรกกควรจะยกเลิกโครงการลงทน หรืออีกนัยหนึ่ง ถ้า NPV มีค่าเป็นบวก ก็พิจารณายอมรับโครงการลงทุน ถ้า NPV มีค่าเป็นลบ ก็พิจารณายกเลิกโครงการลงทุน ถ้า NPV เท่ากับศูนย์ จะเท่ากับเป็นการแลกเปลี่ยนระหว่างเงินสดกับสินทรัพย์ถาวร

2.7.4 ดัชนีกำไร

ดัชนีกำไร (Profitability Index: PI) เป็นตัวชี้ที่ใช้แสดงมูลค่าปัจจุบันของกระแสเงินสดรับต่อเงินทุนเริ่มแรก 1 บาท ดัชนีกำไรหาได้โดย เอาเงินลงทุนเริ่มแรกไปหารมูลค่าปัจจุบันของกระแสเงินสดรับ ซึ่งมีสูตรในการคำนวณ ดังนี้

PI = มูลค่าปัจจุบันของกระแสเงินสดรับ / เงินลงทุนเริ่มแรก (2-4)

2.7.5 อัตราผลตอบแทนจากการลงทุน

อัตราผลตอบแทนของโครงการลงทุน (Internal Rate of Return: IRR) คืออัตราคิดลดที่ทำให้ค่า (ผลรวม) มูลค่าปัจจุบันกระแสเงินสดรับ เท่ากับเงินลงทุนเริ่มแรกพอดี หรืออีกนัยหนึ่ง อัตราผลตอบแทนของการลงทุนคืออัตราคิดลดที่ทำให้ค่า NPV เท่ากับศูนย์ หรือ

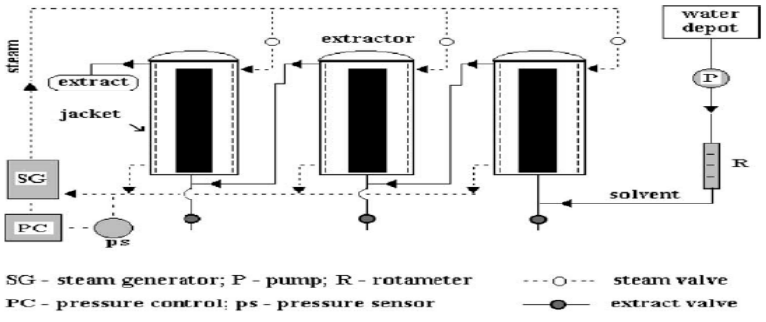
PVCI – I = NPV = 0 (2-5)

- การพิจารณายอมรับหรือยกเลิกการลงทุน

หลักเกณฑ์ในการพิจารณาตามวิธีนี้ คือจะต้องเปรียบเทียบอัตราผลตอบแทนของโครงการ (IRR) กับต้นทุนของเงินทุน (k) โดยอัตราผลตอบแทนของโครงการจะบอกว่าเมื่อลงทุนไปแล้วได้ตอบแทนกลับมาร้อยละเท่าไร ส่วนต้นทุนของเงินทุนจะบอกว่า เงินที่นำมาใช้ลงทุนในโครงการจะต้องจ่ายค่าตอบแทนให้แก่เจ้าของเงินร้อยละเท่าไร ดังนั้นจะพิจารณายอมรับโครงการเมื่อค่า IRR มากกว่าค่า k หรืออัตราผลตอบแทนของโครงการได้ มากกว่าค่าต้นทุนของเงินทุน หรือมากกว่าอัตราผลตอบแทนที่ต้องการจะได้รับในทางตรงกันข้าม ถ้าหาก IRR น้อยกว่าค่า k ก็จะยกเลิกโครงการการลงทุน เพราะอัตราผลตอบแทนของโครงการ น้อยกว่าอัตราผลตอบแทนที่ต้องการได้รับ ถ้าค่า IRR เท่ากับค่า k พอดี กิจการจะยอมรับ หรือยกเลิกโครงการก็ได้ คือได้อัตราผลตอบแทนเท่าที่ต้องการพอดี ดังนั้นจะยอมรับหรือไม่ก็ได้

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Aynur and Ahmet (2005) ศึกษาการสกัดของแข็ง -ของเหลวจากกากชาโดยใช้ปฏิกรณ์แบบอนุกรมเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม โดยใช้กากชาที่มีคาแฟอีน 1000 มิลลิกรัมต่อกากชา 50 กรัมดังนั้นปริมาตรว่าง (หรือ ปริมาตรในการสกัด) โดยใช้ปริมาตรรวม 500 มิลลิลิตร ใช้ตัวทำละลาย คือ น้ำที่อุณหภูมิ 370 องศาเคลวิน และ คลอโรฟอร์มที่อุณหภูมิ 293 องศาเคลวิน การสกัดใช้ที่อุณหภูมิคงที่ และปฏิกรณ์แบบอนุกรม 3 และ 5 ถังต่อกัน แต่ละปฏิกรณ์จะมี Steam jacket ซึ่งจำนวนถังสกัดของแบบอนุกรมจะใกล้เคียงกับจำนวนสเตจของการชะละลาย ระยะเวลาในการสกัด (หรือสามารถควบคุมอัตราไหล) ซึ่งใช้ 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 และ 1.5 ลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งประสิทธิภาพของการสกัดของจำนวนถังสกัดจะใกล้เคียงจำนวนสเตจในการชะละลาย โดยถังแรกความเข้มข้นสะสมของการสกัดด้วยน้ำ ได้ประมาณ 38% ส่วนคลอโรฟอร์มได้ 85.4% ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของการสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 2.5 เท่าของน้ำ และที่ถังที่ 3 การสกัดด้วยน้ำได้ความเข้มข้นสะสมที่ 88.5% ส่วนคลอโรฟอร์มได้ 99.5% เนื่องจากแรงของพันธะไฮโดรเจนของคลอโรฟอร์มกับโครงสร้างของคาแฟอีน ซึ่งเป็นการเพิ่มอัตราถ่ายโอนมวล อาจด้วยเหตุผลคลอโรฟอร์มมีประสิทธิภาพการชะละลายสูงกว่าน้ำเนื่องจากแรงภายในระหว่าง โมเลกุลระหว่างน้ำกับแทนนิน (Polyphenol) การมีขั้วสูงของคลอโรฟอร์มทำให้แทนนินเฉื่อย แต่คลอโรฟอร์มเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งและมีราคาสูงกว่าน้ำทั้งในการสกัดและการนำกลับคืนมาใหม่ ซึ่งถังปฏิกรณ์แบบอนุกรมของถังสกัดจำนวน 3 ถังในการทดลองแสดงดังภาพประกอบ 2-25



ภาพประกอบ 2-9 การทดลองถังปฏิกรณ์แบบอนุกรมของถังสกัดจำนวน 3 ถัง สำหรับการสกัดของแข็ง – ของเหลวของคาแฟอีนจากกากชา (Aynur and Ahmet, 2005)

Ekvall *et al*. (2006) ทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการหาองค์ประกอบพอลี-แซคคาไรด์กลุ่มราฟฟิโนส (RFOs) ในพืชตระกูลถั่วโดยสกัดด้วยสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 50 และ 80% v/v ที่อุณหภูมิห้อง (21 °C) และอุณหภูมิจุดเดือดของตัวทำละลาย (83 °C) เวลาในการสกัด 15, 30 และ 60 นาที พบว่าที่อุณหภูมิในการสกัด 21 °C เป็นเวลา 30 นาทีและความเข้มข้นของเอทานอล 50% v/v ให้ประสิทธิภาพในการสกัดดีที่สุด โดยสารสกัด ที่ได้มีองค์ประกอบหลักสามชนิดคือ Raffinose, Stachyose และ Verbascose

Li. *et al*. (2006) ศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกของพืชตระกูลส้มมะนาว โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล 95% (v/v) และเมทานอล 95% (v/v) พบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอล 95% มีปริมาณฟีนอลิกส์ทั้งหมดสูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอล 95% เล็กน้อย ซึ่งสัมพันธ์กับสภาพขั้วของตัวทำละลาย คือ เมทานอลมีความเป็นขั้วสูงกว่าเอทานอล ทำให้สามารถละลายสารฟีนอลิกส์ออกมาได้ดีกว่าเอทานอล แต่เนื่องจากเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่เป็นพิษซึ่งเป็นอันตรายต่อร่างกาย ดังนั้นหากพิจารณาด้านความเหมาะสมในการนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เอทานอล จึงเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมมากกว่า และจากการศึกษาการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายในการสกัด คือ เอทานอล 0, 20, 50, 72, 85 และ 95% พบว่าการสกัดโดยใช้ เอทานอล 85, 72 และ 50% จะได้สารสกัดที่มีค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างสูงใกล้เคียงกันจากมากไปน้อยตามลำดับ และศึกษาการแยกและทำให้ได้ฟีนอลิกบริสุทธิ์ด้วยวิธี Modification โดยใช้ C18 catridges โดยใช้เมทานอล และ Acidified water กระตุ้นให้สารประกอบฟีนอ ลิก น้ำตาล กรดอินทรีย์ และสารประกอบมีขั้วต่างๆ แยกออกจากสารสกัด จากนั้นเติม Acidified water เพื่อล้างน้ำตาลกรดอินทรีย์ และสารประกอบมีขั้วต่างๆ ออก แล ะใช้ Acidified methanol ในการแยกสารประกอบฟีนอลิกออกจากสารสกัด

Molina *et al.* (2005) ได้ศึกษาสมบัติทางโมเลกุลและผลของสาร พรีไบโอติกของอินนูลินที่ได้จากของเสียอุตสาหกรรมของอาร์ติโชค โดยนำมาสกัดด้วย Aqueous media จากนั้นนำสารสกัดมาทำการวิเคราะห์ Physico-chemistry ของอาร์ติโชค อินนูลิน พบว่าค่า Degree of polymerization (DPn) เท่ากับ 46 และตรวจสอบโครงสร้างของอินนูลินโดยเทคนิค Gas chromatography – Mass spectrometer (GC-MS) หลังจากย่อยด้วยเอนไซม์อินนูลินเนส (Inulinase) พบว่าเป็นกลูโคส และ ฟรักโตสโดยเกิดจากการแตกสลายด้วยเอนไซม์อินนูลินเนส ซึ่งจากการ

ตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิค FT-IR พบว่าเป็นพันธะ β-2,1-fructan bonds และเมื่อเปรียบเทียบกับอินนูลินในชิโครีพบว่าเป็นพันธะชนิดเดียวกัน

Proestos *et al*. (2006) ได้ศึกษาการวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ส์ในพืชอะโรมาติกโดยวิธี RH-HPLC และ GC-MS โดยนำพืชมา 5 ชนิด คือ *Vitex agnus-castus* (Verbenaceae), *Origanum dictamnus* (Lamiaceae), *Teucrium polium* (Lamiaceae), *Lavandura vera* (Lamiaceae) และ *Lippia triphylla* (Verbenaceae) ทำการสกัดกับเมทานอล 62.5 % v/v จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาทำให้เกิดสารอนุพันธ์ ใช้เทคนิค Reverse phase - High performance liquid chromatography (RP-HPLC) เป็นตัวบ่งชี้และหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก ส์ จากนั้นนำสารสกัดมาทำปฏิกิริยาซิลิเวชันและวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS ทั้งสองเทคนิคที่วิเคราะห์ตรวจ พบว่าสารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่ คือ Caffeic acid (0.12-0.93 mg/100 mg dry sample) Ferulic acid (0.34-1.52 mg/100 mg dry sample) และ (+)-Catechin (0.22-0.93 mg/100 mg dry sample)

Xiaoli. *et al*. (2008) ศึกษาการสกัดโอลิโกแซ็คคาร์ไรด์จากถั่ว ที่บดโดยผ่านการกำจัดไขมันออกแล้ว (DCM) ศึกษาความเข้มข้นของตัวทำละลาย 0, 30, 50, 70 และ 90% อุณหภูมิในการสกัด ที่อุณหภูมิห้อง 50 ^{o}C และ 70 ^{o}C และที่อุณหภูมิจุดเดือด ระยะเวลา 15, 30 และ 60 นาที และอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายต่อ DMC 5:1, 10:1, 15:1 และ 20:1 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด คือ อัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายต่อ DCM เป็น 10:1 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที สกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล 50% จะได้สารสกัดที่มีปริมาณโ อลิโกแซคคา ไรด์มากที่สุด และสารสกัดที่ได้จะมีปริมาณ โอลิโกแคคาไรด์ ต่ำ เมื่อใช้น้ำกลั่นหรือเอทานอลที่มีความเข้มข้นต่ำเกินไปในการสกัด ซึ่งตัวทำละลายลักษณะนี้จะเหมาะสำหรับใช้สกัดสารจำพวกน้ำตา ลที่มีมวลโมเลกุลต่ำ และตัวทำละลายนี้จะไวต่อการเกิดปฏิกิริยา อาจส่งผลให้รบกวนการเกิดปฏิกิริยาของสารจำพวกคาร์โบไฮเดรต และ Hydrophilic เช่น โพลีแซคคาไรด์ และโปรตีน ซึ่งอาจมีผลต่อสารสกัดจากพืช เช่น ลดปริมาณแป้ง และ ζ -Galactosides และเมื่อใช้เอทานอลที่มีความเข้มข้นสูงเกินไปในการสกัด จะส่งผลให้ตะกอนภายในเกิดการรวมตัว ไปขัดขวางการแพร่ของ ที่จะเข้าไป โอลิโกแคคาไรด์ ภายในสารละลายเอทานอล ส่งผลให้สารสกัดที่ได้มีปริมาณ โอลิโกแคคาไรด์ ต่ำเช่นกัน

Yin และ Dang (2008) ได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมใน การสกัดพอลีแซคคาไรด์จาก *Lycium Barbarum* โดยใช้เทคนิค RSM ในการออกแบบสภาวะในการทดลอง ซึ่งประกอบด้วยเวลาในการทดลองที่ 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5 และ 6 ชั่วโมง อุณหภูมิที่ 70, 75, 80, 85, 90, 95 และ 100 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของน้ำต่อวัตถุดิบที่ 18:1, 21:1, 24:1, 27:1, 30:1, 33:1 และ 36:1 และ

จำนวนครั้งของการสกัดที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่เวลา 5.5 ชั่วโมง อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของน้ำต่อวัตถุดิบที่ 31.2:1 และจำนวนครั้งของการสกัดที่ 5 ภายใต้สภาวะการทดลองนี้ ทำให้ได้เปอร์เซ็นผลผลิตของโพลีแซคคาร์ไรด์ 23.13 และเมื่อนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วย GC พบว่าสารสกัดที่ได้ประกอบด้วยสาร Xylose, Mannose, Arabinose, Rhamnose, Glucose และ Galactose ในอัตราส่วนเชิงโมล 0.31: 2.05: 0.26: 0.41: 1: 3.14 ตามลำดับ

Sun *et al.* (2010) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโพลีแซคคาไรด์จากดอกเห็ด (Fruiting body) ของ *Pleurotus ostreatus* โดยใช้เทคนิค RSM แบบ BBD ในการออกแบบสภาวะการทดลอง โดยศึกษา 4 ปัจจัย คืออุณหภูมิในการสกัด (90, 95 และ 100 องศาเซลเซียส), อัตราส่วนของน้ำต่อวัตถุดิบ (1:16, 1:19 และ 1:22 น้ำหนักต่อปริมาตร) จำนวนครั้งของการสกัด (2, 3 และ 4 ครั้ง) และเวลาในการสกัดที่ 2, 2.5 และ 3 ชั่วโมง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดพอลี-แซคคาไรด์ คือ อุณหภูมิการสกัดที่ 94.9 องศาเซลเซียส, อัตราส่วนของน้ำต่อวัตถุดิบ 1:22 น้ำหนักต่อปริมาตร, จำนวนของ การสกัด 4 ครั้ง เป็นเวลา 2.7 ชั่วโมง ซึ่งจากพื้นผิวตอบสนองทำให้ได้สมการความสัมพันธ์ดังนี้

$$y = 58.6 + 1.175x_1 + 9.7x_2 + 4.725x_3 + 3.0667x_4 - 3.025x_1^2 - 1.75x_1x_2 - 1.15x_1x_3 + 0.875x_1x_4 - 6.5125x_2^2 - 3.025x_2x_3 - 0.775x_2x_4 - 2.65x_3^2 \quad (2\text{-}6)$$

ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และคณะ (2549) ศึกษาการนำส่วนต่างๆ ของพืชสมุนไพร 8 ชนิดมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ หาปริมาณของสารปร ะกอบฟีนอลรวม และศึกษาว่าสารประกอบฟีนอลเป็นสารหลักที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด จากพืชเหล่านี้หรือไม่ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่จะนำสมุนไพรเหล่านี้ไปศึกษาต่อเพื่อพัฒนาในด้านต่างๆ เช่น เภสัชกรรม อาหารเสริมสุขภาพและเครื่องสำอาง โดยพืชสมุนไพรที่นำมาศึกษาเป็นพืชพบทั่วไปในจังหวัดอุบลราชธานี ได้แก่ เหียง กระบก ตูมกาขาว มะพอก เอนอ้า หูเสือ แมงลักคา และมะสัง โดยนำ ส่วนต่างๆ ที่เก็บได้ของพืชทั้ง 8 ชนิดมาสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซีเตด และเอทานอลได้สารสกัดทั้งหมด 36 สาร จากนั้นนำสารสกัดมาทดสอบการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยใช้ Diphenyl - picrylhydrazyl - free radica (DPPH) จาการทดลอง พบว่าสารสกัดชั้นเอทานอล แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สูงกว่าชั้น ethyl acetate โดยมีเปอร์เซ็นการยับยั้งอยู่ในช่วง 19.8 ± 2.3 ถึง 51.4 ±1.3 เมื่อใช้สารสกัดเข้มข้น 500 ไมโครลิตร /มิลลิลิตร มีสารต้านอนุมูลอิสระสมมูลเทียบกับวิตามินซี (VCEAC) อยู่ในช่วง 4.4 ± 7.2 ถึง 105.9 ± 4.3 มิลลิกรัมวิตามิน C /100 กรัมสารสกัด ส่วนการหา

ปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดชั้นเอทานอล โดยใช้วิธี Folin-ciocalteu พบว่าปริมาณสารฟีนอลรวมในสารสกัดนี้จะอยู่ในช่วง 5.4±0.1 ถึง 41.5±0.3 มิลลิกรัมแกลลิคแอซิด /กรัมสารสกัด เมื่อนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสารฟีนอลรวมกับการมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.6

สุพจน์ นวลละอองและคณะ (2552) ได้ศึกษาการสกัด พรีไบโอติก จากเมล็ดขนุนสดด้วยชุดทดลองแบบแบทช์ขนาดเล็ก โดยใช้น้ำกลั่น , เอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) และเอทานอล 90 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) เป็นตัวทำละลายในการสกัด ศึกษาการสกัดที่อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักเมล็ดขนุนต่อปริมาตรตัวทำละลาย 1:2, 1:4, 1:6 และ 1:8 ที่อุณหภูมิในการสกัด คือที่อุณหภูมิห้อง และ 60 องศาเซลเซียส ที่เวลาในการสกัด 30, 60, 90, 120, 150, 180, 360 และ 480 นาที จากการศึกษานี้ทำให้พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด พรีไบโอติกจากเมล็ดขนุน คือการสกัดโดยใช้เอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย ที่อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักเมล็ดขนุนต่อปริมาตรตัวทำละลาย 1:8 สกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสและเวลาในการสกัด 90 นาที

Soong *et al.* (2004) ศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์จากเนื้อและเมล็ดขนุน พบว่าค่าปริมาณฟีนอลิกส์ทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้จากการสกัดจากส่วนของเมล็ดมีค่ามากกว่าส่วนของเนื้อขนุน

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

3.1 วัสดุ

3.1.1 วัตถุดิบ

(1) เมล็ดขนุนพันธุ์ทองประเสริฐซื้อจากห้างสรรพสินค้าเทสโก้โลตัส สาขาหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ลักษณะภายนอกของเมล็ดขนุนมีเปลือกด้านนอกสีขาว เปลือกภายในมีสีน้ำตาลเข้ม และเนื้อเมล็ดมีสีขาว แสดงดังภาพประกอบ 3-1 มีความชื้นเริ่มต้นประมาณ 50% (โดยน้ำหนักเปียก)

ภาพประกอบ 3-1 ลักษณะภายนอกของเมล็ดขนุน

3.1.2 สารเคมี

(1) น้ำกลั่น

(2) เอทานอล (Commercial Grade) ความบริสุทธิ์ 95% ผลิตโดยบริษัท Sigma-Aldrich

(3) ฟีนอล (Laboratory Grade) ผลิตโดยบริษัท Fisher Scientific

(4) กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Laboratory Grade) ความบริสุทธิ์ 98% ผลิตโดยบริษัท Merck

(5) โซเดียมซัลไฟท์ (Laboratory Grade) ผลิตโดยบริษัท Merck

(6) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Laboratory Grade) ผลิตโดยบริษัท Merck

(7) โซเดียมโปแตสเซียมทาร์เทรต (Laboratory Grade) ผลิตโดยบริษัท Merck

(8) กลูโคส (Laboratory Grade) ผลิตโดยบริษัท Ajex Finechem

(9) Folin ciocalteu's phenol reagent (Laboratory Grade) ผลิตโดยบริษัท R&M Chemicals

(10) โซเดียมคาร์บอเนตปราศจากน้ำ (Laboratory Grade) ผลิตโดยบริษัท R&M Chemicals

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

(1) ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) : ยี่ห้อ Memmert รุ่น UNB 400 ใช้สำหรับอบวัตถุดิบก่อนที่การสกัด

(2) เครื่องปั่น (Blender) : ยี่ห้อ Moulinex รุ่น Delicio ใช้สำหรับบดละเอียดวัตถุดิบ

(3) ตะแกรงร่อนมาตรฐาน (Sieve): ยี่ห้อ Endocotts รุ่น EFL 2000 ใช้สำหรับแยกขนาดวัตถุดิบให้มีขนาด 1.0-2.0 มิลลิเมตร

(4) อ่างน้ำมันเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Oil Bath Shaker) : ยี่ห้อ Memmert รุ่น WNB 45 ใช้สำหรับทดลองสกัดสารพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์โดยชุดทดลองขนาดเล็ก

(5) เครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum Filter): ยี่ห้อ Sibata รุ่น WJ-20 ใช้สำหรับแยกกากวัตถุดิบกับสารสกัด

(6) เครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary Vacuum Evaporator): ยี่ห้อ Buchi Rotavapor รุ่น V-700 ใช้สำหรับระเหยตัวทำละลาย

(7) เครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง (Freeze Dryer): ยี่ห้อ Dura รุ่น Flexi-Dry σP ใช้สำหรับทำแห้งสารสกัดหลังเหวี่ยงแยกสารคอยลอยด์ออกแล้ว

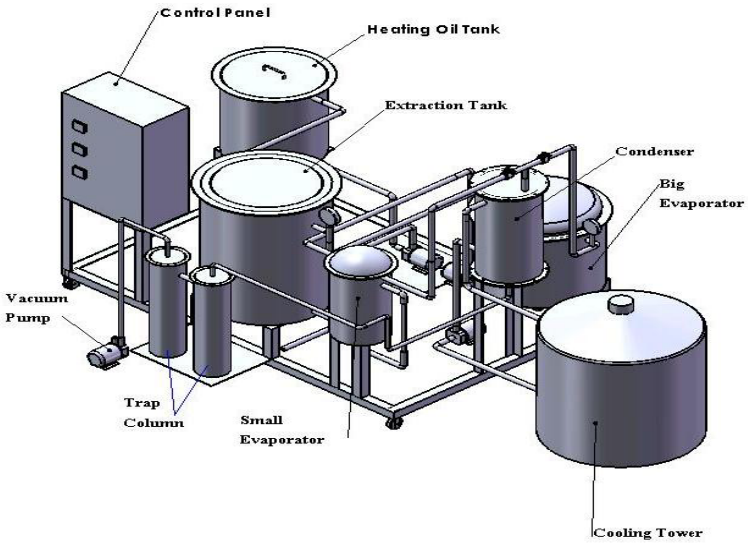
(8) เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง ใช้สำหรับชั่งตัวอย่าง

(9) กระบอกตวง ใช้สำหรับวัดปริมาตรตัวทำละลาย

(10) เครื่องเหวี่ยงแยก (Centrifuge) ใช้สำหรับแยกสารคอลลอยด์ในตัวอย่างหลังจากระเหยตัวทำละลาย

(11) เครื่องเขย่าตะแกรงร่อน (Sieve shaker) ใช้สำหรับร่อนแยกขนาดวัตถุดิบ

(12) ชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง ซึ่งส่วนประกอบของชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองทั้งแบบ 3 มิติ และภาพถ่ายดังแสดงภาพประกอบ 3-2 และ 3-3 ตามลำดับ และส่วนประกอบของชุดสกัดแบบแบทช์มีรายละเอียดดังนี้



ภาพประกอบ 3-2 ภาพวาด 3 มิติ ของชุดสกัดแบบแบทช์

ภาพประกอบ 3-3 ภาพถ่ายชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง

(1) ถังสกัดเป็นถังทรงกระบอก ฝาถังเป็นแบบแบน มีสองชั้น ทำจากสแตนเลส ชั้นนอกมีขดลวดทองแดงสำหรับบรรจุสารให้ความ ร้อน ด้านข้างของถังจะติดตั้งสเปรย์ที่ต่อกับท่อด้านบนซึ่งสารละลายจะถูกปั๊มจากทางด้านล่างของถัง เพื่อให้สารละลายเกิดการไหลเวียน และได้ปรับปรุงตามภาคผนวก ก

(2) ถังระเหยขนาดใหญ่มีฝาถังแบบโค้ง มี Heater ให้ความร้อนติดตั้ งด้านในถัง แสดงดังภาพประกอบ 3-8 ส่วนถังระเหยขนาดเล็กมีฝาถังแบบโค้งเช่นกันและมี Heater ให้ความร้อนติดตั้งด้านนอกตัวถัง

(3) เครื่องควบแน่น เป็นถังทรงกระบอก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 294 มิลลิเมตร ยาว 490 มิลลิเมตร มีขดลวดทองแดงสำหรับบรรจุน้ำหล่อเย็นอยู่ภายใน ยาว 15 เมตร สารละลายสถานะไอจะอยู่ในขดลวดทองแดง ส่วนน้ำหล่อเย็นจะอยู่ภายในถัง กระแสทั้งสองไหลสวนทางกัน

(4) ถังให้ความร้อน เป็นถังสำหรับต้มน้ำมันหรือน้ำเพื่อควบคุมความร้อนในถังสกัด ถังให้ความร้อนจะมีฝาถังแบบแบน โ ดยแหล่งให้ความร้อนคือ Heater 3 เฟส ขนาด 10 กิโลวัตต์ สารให้ความร้อนจะถูกสูบผ่านปั๊มเพื่อให้ไหลวนในขดลวดทองแดงภายในถังสกัด

(5) คอลัมน์กักเก็บตัวทำละลาย เป็นถังพลาสติกใสทรงกระบอก สำหรับกักเก็บตัวทำละลายที่ได้จากการควบแน่น เพื่อนำไปใช้ในการสกัดในครั้งต่อไป โดยลักษณะของคอลัมน์

3.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

(1) ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 2-20 และ 20-200 ไมโครลิตร: ยี่ห้อ Labmate ใช้สำหรับปิเปตสารตัวอย่างและสารที่ใช้ในการวิเคราะห์

(2) มัลติไมเซลเนลปิเปต (Multichannel Pipette) ขนาด 2-20 และ 20-200 ไมโครลิตร: ยี่ห้อ Multimate ใช้สำหรับปิเปตสารตัวอย่างและสารที่ใช้ในการวิเคราะห์

(3) 96 Well Microtiter Plate: รุ่น U-Shapeใช้สำหรับใส่สารที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Microtiter plate reader

(4) Microtiter Plate Reader: ยี่ห้อ Biotex รุ่น Power Wave XS เป็นเครื่องมือที่ใช้วัดค่าความดูดกลืนแสงของสาร ในช่วง 200-999 นาโนเมตร สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ตามต้องการ (ในช่วง 25-50 °C) และสามารถวัดได้ครั้งละ 96 หลุม ใช้สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำผลไม้ สมุนไพร สารยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระและสารในระบบภูมิคุ้มกัน เป็นต้น

(5) เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี (Gas chromatography, GC) ใช้สำหรับตรวจวัดเอทานอลที่ระเหยจากสารสกัด ซึ่งเทคนิค GC เป็นเทคนิคการแยกสารเนื้อเดียวออกจากกัน โดยตัวอย่างที่จะนำเข้าสู่ระบบจะต้องสามารถระเหยกลายเป็นไอได้และมีความเสถียรเมื่อถูกความร้อน ตัวอย่างที่เป็นไอจะถูกพาด้วยก๊าซเฉื่อย (mobile phase) ไปยังคอลัมน์ (stationary phase) เพื่อทำการแยกสารออกจากกัน สารที่แยกได้จะถูกบันทึก เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

(6) เจลเพอร์มีเอชันโครมาโตกราฟี (Gel Permeation Chromatography) เป็นเทคนิคศึกษาการกระจายของน้ำ หนักโมเลกุลของพอลิ เมอร์สังเคราะห์หรือพอลิเมอร์ชีวภาพ ซึ่ง เป็นวิธีการแยกโดยอาศัยขนาดโมเลกุลของพอลิเมอร์ การแยกเกิดขึ้นในคอลัมน์โครมาโตกราฟีที่บรรจุเม็ด (bead) ของแข็งที่มีรูพรุนหรือเจล (gel) โดยทั่วไปมักใช้เม็ดพอลิสไตรีน ที่ผ่านการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล และมีรูพรุน หรือแก้วที่เป็นรูพรุน โดยตัวอย่างของสารละลายพอลิเมอร์เจือจางจะถูกใส่ลงไปในคอลัมน์ และชะด้วยกระแสของตัวทำละลาย โมเลกุลพอลิเมอร์จะผ่านเม็ดรูพรุนและสามารถแพร่เข้าไปในรู ซึ่งลักษณะการแพร่นี้ขึ้นกับขนาดโมเลกุลของพอลิเมอร์และขนาดของรูพรุน โมเลกุลขนาดต่ างๆ จะถูกชะออกมาจากคอลัมน์ตามลำดับขนาด โมเลกุลขนาดใหญ่ที่ไม่สามารถแพร่เข้าไปในรูพรุนได้จะผ่านคอลัมน์ออกมาก่อนเป็นอันดับแรก ส่วนโมเลกุลขนาดเล็กจะติดอยู่ในรูพรุนของเจลและใช้เวลาอยู่ในคอลัมน์นานกว่าและถูกชะออกมาภายหลัง

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.3.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแบบแบทช์ด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็ก โดยใช้เทคนิค RSM

3.3.1.1 ออกแบบการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสม

การออกแบบสภาวะการทดลองทำโดยใช้เทคนิค RSM โดยมีตัวแปรที่ศึกษาคือ เวลาในการสกัด อุณหภูมิการสกัด อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว และการอ บเมล็ดขนุนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสที่เวลาต่างๆ ขั้นตอนการออกแบบการทดลองโดยใช้ RSM มีขั้นตอนดังนี้

1. กำหนดตัวแปรที่จะศึกษาซึ่งประกอบด้วย

1.1 ตัวแปรอิสระ ประกอบด้วย

- เวลาในการสกัด (x_1, 30-120 min)
- อุณหภูมิในการสกัด (x_2, 30-90 ˚C)
- อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (x_3, 1: 10-1:20 w/v)
- การอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสที่เวลาต่างๆ (x_4, 0-24 hrs .

1.2 ตัวแปรตามประกอบด้วย

- ปริมาณน้ำตาลนอนริดิวส์ (มิลลิกรัมกลูโคส / กรัมของเมล็ดขนุนแห้ง) ซึ่งเป็นปริมาณสารที่คาดว่าเป็นพรีไบโอติก
- ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกส์ (มิลลิกรัมกรดแกลลิค /กรัมของเมล็ดขนุนแห้ง)

2. กำหนดรหัส (Code) ของช่วงตัวแปรอิสระที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการออกแบบสภาวะการทดลอง

3. ออกแบบการทดลองตามสภาวะของการทดลองจาก Code ของตัวแปรอิสระที่ได้กำหนดไว้ โดยใช้ วิธีการ Box-Benhken Design (BBD) โดยใช้สภาวะต่างๆ ซึ่งแสดงรหัสตัวแปรและขอบเขตของตัวแปรที่ทำการศึกษา เมื่อแปลงค่ารหัสตัวแปรที่ได้เป็นค่าของตัวแปรดำเนินการจะได้สภาวะการทดลองสำหรับการ ทดลองทั้งหมด 27 การทดลอง ซึ่งแสดงในตาราง 3-1

3.3.1.2 วิธีการทดลอง

1. เตรียมวัตถุดิบโดยนำเมล็ดขนุนมาล้างทำความสะอาดและตากแดดให้เปลือกด้านนอกแห้ง จากนั้นนำมาหั่น แล้วบดละเอียดด้วยเครื่องบด จากนั้นร่อนผ่านตะแกรงให้ได้ขนาด 1.0-2.0 มิลลิเมตร

2. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการคัดขนาดแล้วใส่ ขวดสกรูแคบขนาด 250 มิลลิลิตร เติมเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย สกัดตามสภาวะที่ออกแบบด้วย RSM แสดงดังตารางที่ 3-2 โดยใช้อ่างน้ำมันเขย่าควบคุมอุณหภูมิ และเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที

3. นำสารสกัดมากรองกากของเมล็ดขนุนออกโดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศ และกระดาษกรองเบอร์ 4

4. นำสารสกัดไปทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน

5. นำสารสกัดหลังจากการระเหยไปปั่นเหวี่ยง แยกสารคอยลอยด์ออกจากสารสกัด

6. นำของเหลวไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง

7. นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์เพื่อหาปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวส์ซึ่งจากงานวิจัยของ สุพจน์ นวลละออง (2552) ได้ทำการทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกชนิด Lactobacillus *acidophilus* และ Lactobacillus *Plantarum* ของสารสกัดพบว่า สารสกัดมีคุณสมบัติตามลักษณะของพรีไบโอติก และวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกส์ทั้งหมด แสดงดังภาคผนวก ข

ตาราง 3-1 แสดงรหัสตัวแปรและขอบเขตของตัวแปรที่ทำการศึกษา

การทดลอง	เวลา (min)	อุณหภูมิ (°C)	อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (w/v)	เวลาในการอบที่ 60 °C (hrs)	Response	
1	30	90	15	12	ปริมาณน้ำตาลนอนรีดิวส์ (mg glucose/g dried seed)	ปริมาณฟีนอลิกส์รวม (mg GAE/g dried seed)
2	75	60	20	12		
3	30	60	20	12		
4	75	60	20	24		
5	120	60	15	0		
6	75	60	15	12		

ตาราง 3-1 (ต่อ) แสดงรหัสตัวแปรและขอบเขตของตัวแปรที่ทำการศึกษา

การทดลอง	เวลา (min)	อุณหภูมิ (°C)	อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (w/v)	เวลาในการอบที่ 60 °C (hrs)	Response	Response
7	30	30	15	12	ปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวส์ (mg glucose/g dried seed)	ปริมาณฟีนอลิกส์รวม (mg GAE/g dried seed)
8	75	60	15	12		
9	75	30	15	24		
10	75	30	15	0		
11	75	90	15	24		
12	75	90	15	0		
13	120	60	20	12		
14	120	60	10	12		
15	75	60	10	24		
16	120	30	15	12		
17	75	60	20	0		
18	75	60	10	0		
19	75	90	20	12		
20	75	30	20	12		
21	120	60	15	24		
22	75	90	10	12		
23	120	90	15	12		
24	30	60	15	24		
25	75	30	10	12		
26	30	60	10	12		
27	75	60	15	0		

3.3.2 ศึกษาการสกัดด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง

วิธีการทดลอง

1. นำเมล็ดขนุนพันธุ์ทองประเสริฐมาล้างทำความสะอาดและตากแดดให้เปลือกด้านนอกแห้ง จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องบดแบบหยาบ แล้วบดละเอียดด้วยเครื่องบด จากนั้นร่อนผ่านตะแกรงให้ได้ขนาด 1.0-2.0 มิลลิเมตร

2. นำเมล็ดขนุนสด (ความชื้นประมาณ 50.5%) อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง (ความชื้นประมาณ 13.8%) และอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ความชื้นประมาณ 3.8%)) มาทำการสกัดโดยใช้ 50 เปอร์เซ็นต์เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ใช้สัดส่วนเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิในการสกัด 30, 60 และ 90 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่าง 300 มิลลิลิตร ที่เวลา 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 75, 90 และ 120 นาที กระบวนการสกัดจะเกิดจากการปั๊มสารละลายจากทางด้านล่างถัง ผ่านสเปรย์ทางด้านบน กระบวนการจะเกิดอย่างต่อเนื่องส่งผลให้ตัวทำละลายสัมผัสกับเมล็ดขนุนได้ทั่วถึง

3. กรองกากของเมล็ดขนุนที่อาจตกค้างอยู่ในสารสกัดออกด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 โดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศ

4. นำสารสกัดไปทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน

5. นำสารสกัดซึ่งจะอยู่ในรูปของเหลวไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง

6. นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์เพื่อหาปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวส์ และวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกส์ทั้งหมด จากนั้นนำสารที่ระเหยได้ไปตรวจวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี แสดงดังภาคผนวก ข

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์โดยชุดการสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็ก

จากการศึกษาการสกัด พรีไบโอติก จากเมล็ดขนุนด้วยเอทานอล 50% (v/v) ที่ออกแบบการทดลองด้วยเทคนิค RSM แบบ BBD ซึ่งมีการทดลองทั้งหมด 27 การทดลอง ผลการทดลองแสดงเป็นปริมาณน้ำตาลนอนรีดิวส์ ที่เป็นตัวแทนของสาร พรีไบโอติก ของแต่ละสภาวะการทดลอง แสดงดังตารางที่ 4-1 จากนั้นนำข้อมูลไปวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมโดยโปรแกรม RSM วิเคราะห์ผลการทดลองตามหลักการ Analysis of variance (ANOVA) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์เชิงสถิติ จากนั้น นำมาสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ด้วยโปรแกรม Essential regression ได้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ดังสมการที่ 4-1 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ของตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดปริ มาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ โดยมีค่า R^2_{adj} เท่ากับ 0.773 ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ในการใช้สมการนี้

$$Y_n = 8.174 + 2.002X_2 - 4.709X_4 + 9.590X_4^2 + 3.008X_2X_3 \quad (4\text{-}1)$$

โดยที่ $-1 \le X_2 \le 1, -1 \le X_3 \le 1, -1 \le X_4 \le 1$

$$X_i \mid \frac{x_i \; 4 \; x_0}{\div x_i} \quad (4\text{-}2)$$

เมื่อ X_I คือ ค่าของรหัสตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง

x_i คือ ค่าจริงของตัวแปร

x_0 คือ ค่าจริงของตัวแปรที่จุดกลาง

$\div x_i$ คือ ช่วงของการเปลี่ยนแปลงของการออกแบบการทดลอง

โดยมีข้อจำกัด $30 \leq x_2 \leq 90, 10 \leq x_3 \leq 20, 0 \leq x_4 \leq 24$

เมื่อ Y_n คือ ปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ (mg glucose/g dried seed)

x_2 คือ อุณหภูมิของการสกัด (°C)

x_3 คือ อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย (g/ml)

x_4 คือ เวลาในการอบเมล็ดขนุนที่อุณหภูมิ 60 °C (hrs)

ตาราง 4-1 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัด พรีไบโอติกจากเมล็ดขนุนด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็ก

การทดลอง	**เวลา (min)**	**อุณหภูมิ (°C)**	**อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย (g/ml)**	**เวลาในการอบที่ 60 °C (hrs)**	**น้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ (mg glucose/g dried seed)**
1	75	30	15	0	17.07 ±1.09
2	30	90	15	12	8.48 ±0.64
3	120	60	20	12	5.69 ±3.03
4	120	60	15	0	23.26 ±0.45
5	75	60	15	12	7.65 ±2.40
6	120	30	15	12	3.92 ±1.45
7	75	90	10	12	3.82 ±1.21
8	75	60	15	12	7.15 ±0.78
9	75	30	15	24	5.57 ±2.01
10	30	60	10	12	10.41 ±1.04
11	30	60	20	12	8.92 ±2.64
12	75	60	20	0	22.77 ±0.88
13	75	60	10	24	8.24 ±0.65

ตาราง 4-1 (ต่อ) สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดพรีไบโอติกจากเมล็ดขนุนด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็ก

การทดลอง	เวลา (min)	อุณหภูมิ (°C)	อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย (g/ml)	เวลาในการอบที่ 60 °C (hrs)	น้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ (mg glucose/g dried seed)
14	75	30	20	12	10.34 ±0.81
15	120	60	15	24	14.73 ±0.51
16	75	60	20	24	12.94 ±1.89
17	30	30	15	12	6.25 ±0.58
18	120	60	10	12	5.15 ±0.22
19	75	60	15	12	7.07 ±1.93
20	75	30	10	12	12.50 ±0.10
21	120	90	15	12	11.58 ±1.37
22	30	60	15	24	20.02 ±4.28
23	75	90	15	24	16.86 ±0.15
24	30	60	15	0	23.21 ±0.05
25	75	90	20	12	13.70 ±3.33
26	75	90	15	0	25.25 ±2.01
27	75	60	10	0	23.31 ±3.05

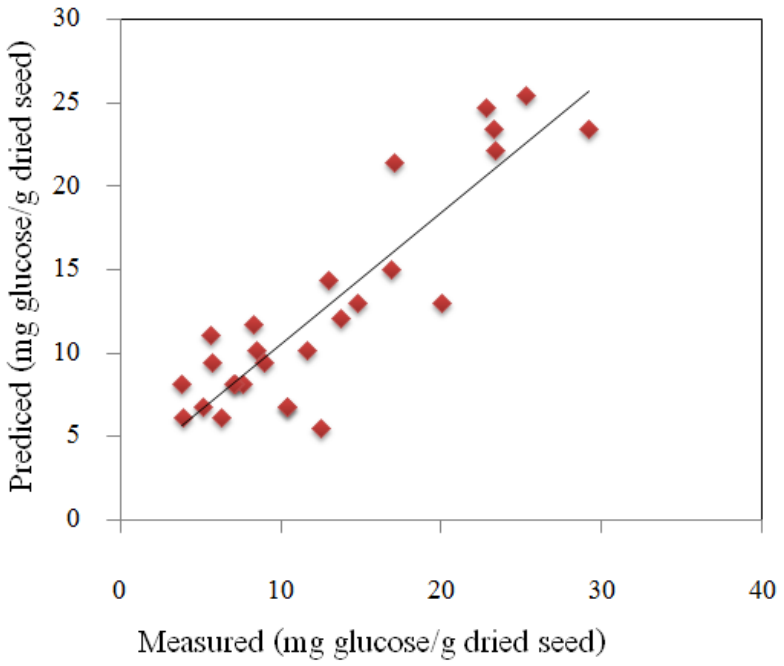
จากสมการที่ 4-1 สัมประสิทธิ์หน้าตัวแปรบ่ งบอกถึงความสำคัญของ ตัวแปรนั้นต่อผลการสกัดสาร พรีไบโอติก โดยหากสัมประสิทธิ์ของตัวแปรใดมีค่าสูงกว่าตัวแปรอื่น (ไม่คิดเครื่องหมายบวกหรือลบ ซึ่งเครื่องหมายแสดงถึงผลของตัวแปรอิสระที่แปรผันตรงหรือแปรผกผันกับตัวแปรตาม ตามลำดับ) แสดงถึงตัวแปรนั้นมีผลต่อค่า Y_n สูงกว่าอีกค่าหนึ่ง แบบจำลองของสมการ Essential regression ที่ได้ในรูปสมการกำลังสอง (Quadratic equation) ประกอบด้วยเทอมผลของตัวแปรเชิงเส้น (x_2) และ (x_4) เทอมของตัวแปรเชิงซ้อน (x_2x_3) เทอมของตัวแปรกำลังสอง (x_4^2) และค่าสัมประสิทธิ์จุดตัด นอกจากนี้การพิจารณาค่า P value ของตัวแปร เป็นการพิจารณาความเหมาะสมของแบบจำลอง โดยเทอ มที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัด พรีไบโอติกจากเมล็ด

ขนุนอย่างมีนัยสำคัญ จะมีค่า P value ต่ำกว่า 0.05 เมื่อพิจารณาค่าของตัวแปร (x_2) (x_4), (x_2x_3) และ (x_4^2) มีค่า P value เท่ากับ 0.043, 4.644 x10^{-05} , 1.173 x 10^{-07} และ 0.048 ตามลำดับ โดยค่า P value ยิ่งน้อยตัวแปรนั้นจะยิ่งมีอิทธิพลมาก ดังนั้นตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดมากที่สุดจะมีค่า P value ของสัมประสิทธิ์ต่ำที่สุดและมีค่าสัมบูรณ์ของสัมประสิทธิ์สูงที่สุด โดยสามารถจัดลำดับความสำคัญของตัวแปรที่มีผลต่อการสกัดน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ คือ เวลาในการอบเมล็ดขนุนที่ 60 °C อุณหภูมิของการสกัด และอัตราส่วนเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย ตามลำดับ โดยการอบเมล็ดขนุนเป็นเวลานาน ทำให้โครงสร้างของโอลิโกแซค คาไรด์หรือ โพลีแซคคาไรด์ ถูกทำลายได้ จึงควรใช้เมล็ดขนุนสดในการสกัด การเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดและเพิ่มอัตราส่วนเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายทำให้ผลได้การสกัดสูงขึ้น ส่วนเวลาในการสกัด ไม่มีผลต่อผลได้การสกัด เนื่องจากการกำหนดช่วงเวลาในการศึกษาที่นานเกินไป (30-120 นาที) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Xiang และคณะ (2008) ที่สกัดสารโอลิโกแซคคาไรด์จากเมล็ดชิคพี (Chickpea seeds) ที่สกัดน้ำมันออกแล้ว พบว่าที่เวลาการสกัด 30 และ 60 นาที ผลการสกัดโอลิโกแซคคาไรด์นั้นมีปริมาณไม่แตกต่างกัน

จากสมการที่ 4-1 แสดงให้เห็นถึงตัวแปรดำเนินการที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณพรีไบโอติกที่ ได้จากการสกัด ซึ่งตัวแปรดำเนินการสามารถพิจารณาความเหมาะสมของแบบจำลองได้จากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ซึ่งมีรายละเอียดในการวิเคราะห์สมการแบบจำลองด้วยวิธี ANOVA ของแบบจำลองนั้น อธิบายได้ในตาราง 4-2 โดยค่า F significant หรือ P value เท่ากับ 5.07516x10^{-08} แสดงว่าตัวแปรที่ศึกษามีผลอย่างมีนัยสำคัญ เพราะค่า P value ของแบบจำลองต่ำกว่า 0.05 มาก และเมื่อนำค่าที่ได้จากการทำนายและค่าจากการทดลองมาพล็อตกราฟแสดงดังภาพประกอบที่ 4-1 ได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.792 และค่า R^2 ที่เข้าใกล้ 1 แสดงว่าค่าที่ได้จากการทำนายโดยแบบจำลองมีค่ าที่ใกล้เคียงกับค่าการทดลองจริง ซึ่ง R^2_{adj} เท่ากับ 0.765 ซึ่งบ่งบอกถึงความน่าเชื่อถือของแบบจำลอง ส่วนค่า R^2_{adj} หากมีค่าที่ใกล้เคียงกับค่า R^2 แสดงว่าแต่ละตัวแปรในแบบจำลองที่ได้ล้วนส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการสกัดพรีไบโอติก

ตาราง 4-2 แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดลองจากโปรแกรม Essential regression

ANOVA						
Source	**SS**	**SS%**	**MS**	**F**	**F Signif**	**df**
Regression	964.16	81	241.04	23.12	1.30532E-07	4
Residual	229.37	19	10.43			22
LOF Error	130.97	11 (57)	16.37	2.3293	0.07959	8
Pure Error	98.40	8 (43)	7.028			14
Total	1193.5	100				26



ภาพประกอบ 4-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ที่ได้จากการทดลองและจากการทำนายโดยใช้แบบจำลอง

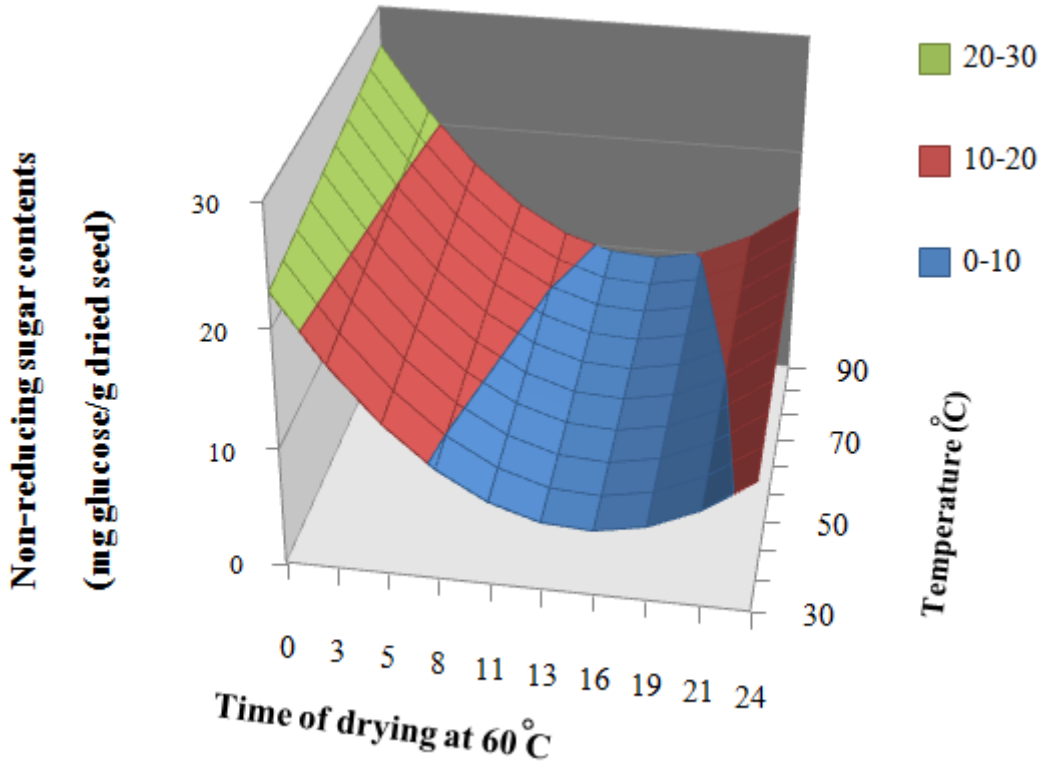
4.1.1 พื้นผิวตอบสนองผลของตัวแปรดำเนินการต่อปริมาณการสกัดพรีไบโอติก

จากข้อมูลแบบจำลอง ตามสมการที่ 4-1 สามารถพล็อตกราฟพื้นผิวสามมิติ (Surface plot) และพล็อตกราฟโครงร่าง (Contour plot) ของความสัมพันธ์ตัวแปรต่างๆ เพื่อคาดคะเนสภาวะที่เหมาะสม การพล็อตค่าจะพิจารณาได้ครั้งละสองตัวแปร ซึ่งในการศึกษานี้สนใจ 4 ตัวแปร ดังนั้นจะให้ตัวแปรหนึ่งมีค่าคงที่เ ป็นค่ากลางของตัวแปร แล้วพิจารณาค่าตัวแปรอีกสองตัวที่เหมาะสมได้ กราฟพื้นผิวสามมิติและกราฟโครงร่างจะแบ่งช่วงของผลการทดลองออกเป็นส่วนๆ ตามช่วงของข้อมูล โดยในที่นี้คือ แบ่งตามปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์

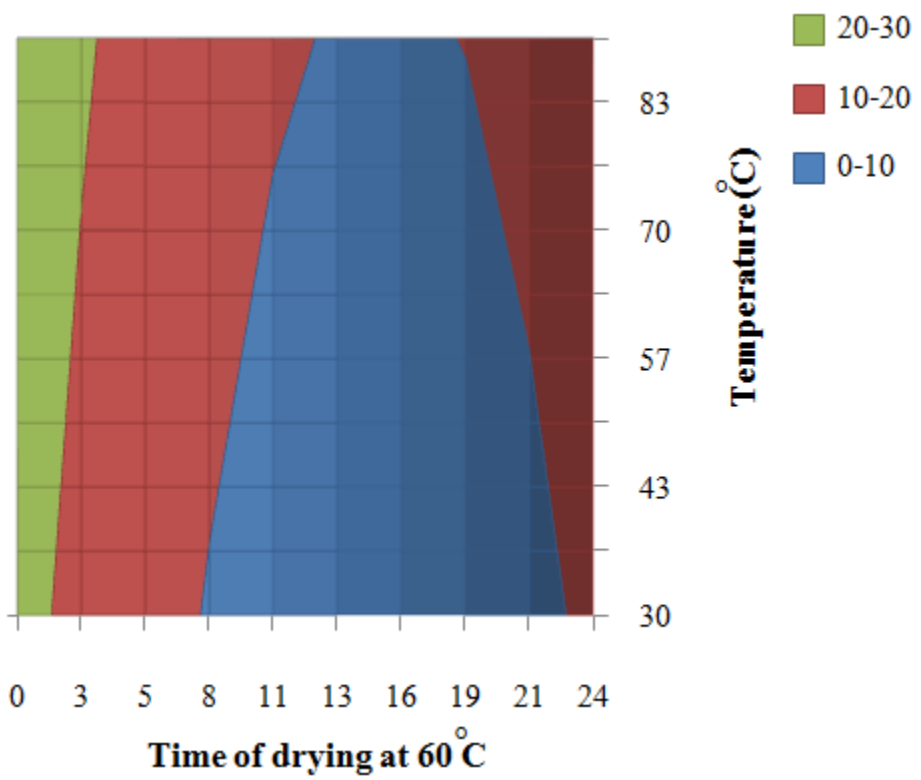
4.1.1.1 ผลของเวลาในการอบเมล็ดขนุนที่ 60 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของการสกัด

ผลของเวลาในการอบเมล็ดขนุนที่ 60 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของการสกัดต่อปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์แสดงด้วยกราฟพื้นผิวและกราฟโครงร่างดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-2 และ 4-3 ตามลำดับ พบว่า ปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ ที่ได้จากการสกัดเมล็ดขนุนสดมีปริมาณมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดขนุนที่ผ่านการอบที่ 60 องศาเซลเซียส เนื่องมาจากเวลาและอุณหภูมิในการอบเมล็ดขนุน ทำให้คาร์โบไฮเดรตเกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น ปฏิกิริยา ไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่คาร์โบไฮเดรตทำ ปฏิกิริยากับน้ำและมีความร้อนเป็นตัวเร่ง ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลของแป้ง (Browning) เป็นต้น โดยจากการทดลองพบว่าเมล็ดขนุนที่ผ่านการอบที่ 60 องศาเซลเซียส มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณที่สูงเมื่อเทียบกับเมล็ดขนุนสด รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ค และเมื่อเปรียบเทียบป ริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ที่สกัดจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการอบที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (ความชื้น 27.7% โดยน้ำหนักเปียก) และที่ 24 ชั่วโมง (ความชื้น 3.5% โดยน้ำหนักเปียก) พบว่าเมล็ดขนุนที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงได้ปริ มาณสารสกัดมากกว่าเมล็ดขนุนที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แม้ว่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งเกิดมาจากความชื้นในเมล็ดขนุนที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมงมีมากจนทำให้เกิดเจล (Gelatinization) ซึ่งเมื่อแป้งได้รับความร้อน เม็ดแป้งจะเริ่มพองตัวและ หนืด ทำให้เม็ดแป้งที่พองตัวนั้นขัดขวางการสัมผัสระหว่างตัวทำละลายกับเมล็ดขนุน ซึ่ง

สอดคล้องกับ Lui และคณะ (2002) ที่ศึกษาการเกิดเจลที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ของแป้งจากมันฝรั่งที่ระดับความชื้นสูง



ภาพประกอบ 4-2 อิทธิพลของเวลาในการอบเมล็ดขนุนที่ 60 องศาเซลเซียส ต่ออุณหภูมิของการสกัดปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ โดยทำการสกัดที่อัตราส่วน 1:20 (g/ml) ตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ และเวลาการสกัด 30 นาที

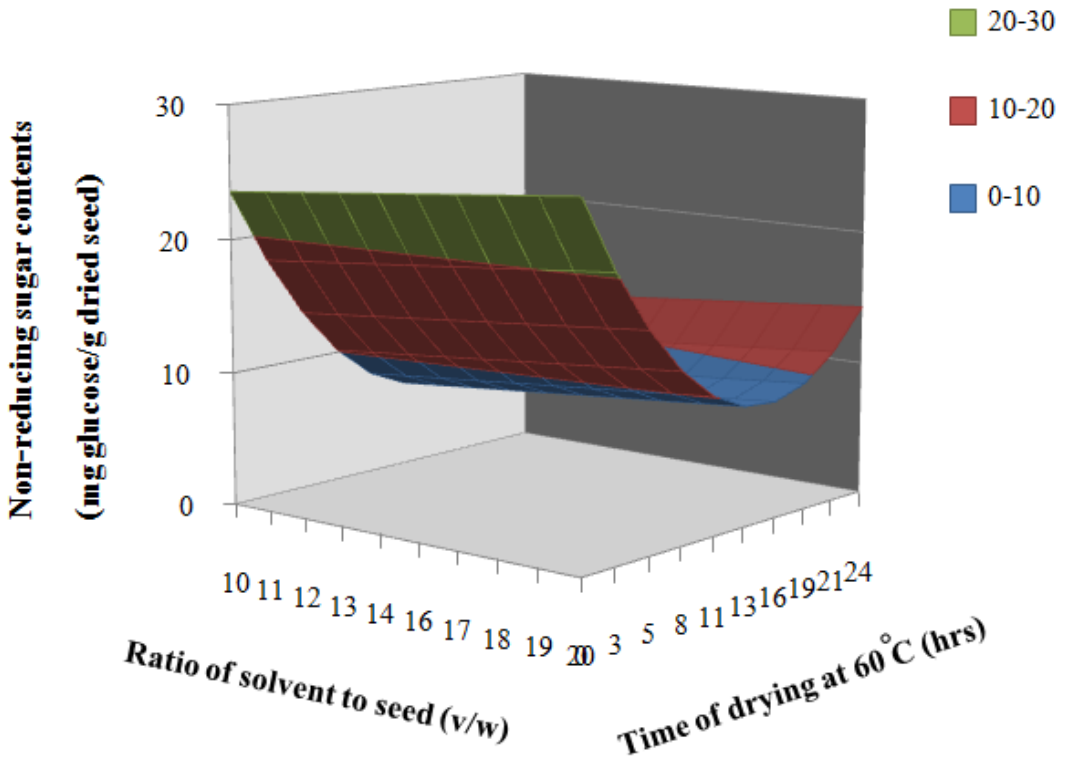


ภาพประกอบ 4-3 อิทธิพลของเวลาในการอบเมล็ดขนุนที่ 60 องศาเซลเซียส ต่ออุณหภูมิของการสกัดปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ โดยทำการสกัดที่อัตราส่วน 1:20 (g/ml) ตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ และเวลาการสกัด 30 นาที

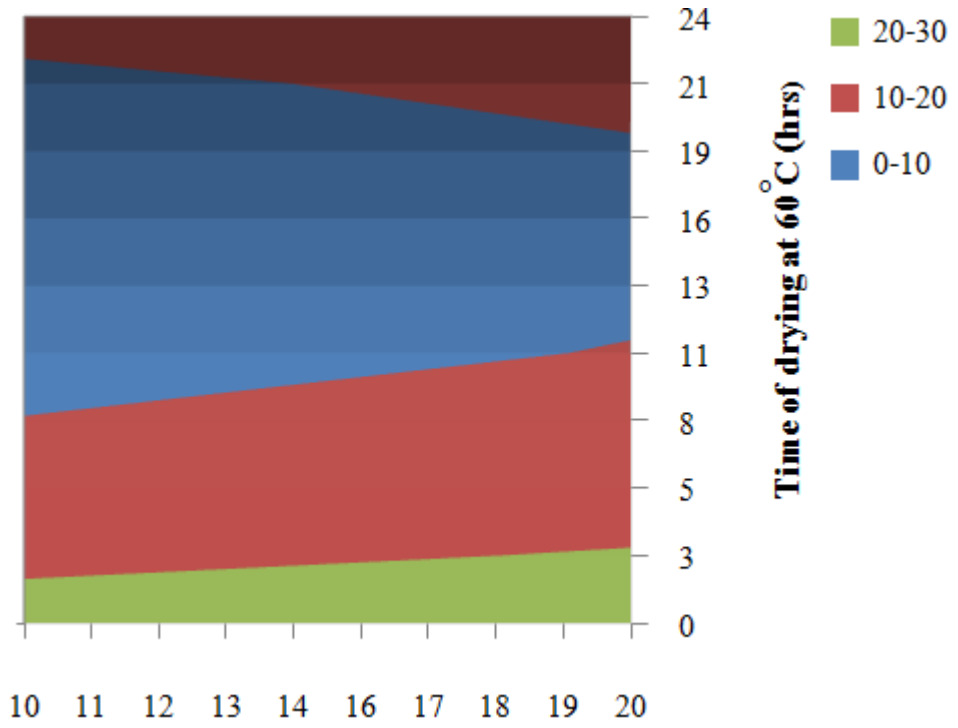
การเพิ่ม อุณหภูมิ ในการสกัด ทำให้น้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวรรณพิชญ์ และคณะ (2553) ซึ่งศึกษาการสกัดพรีไบโอติกจากเมล็ดขนุนด้วยเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 50-90 องศาเซลเซียส พบว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ทำให้ได้พรีไบโอติก สูงที่สุด เนื่องมาจากการเพิ่มอุณหภูมิทำให้อัตราการไฮเดรชัน (Hydration rate) เพิ่มขึ้น และ อุณหภูมิสูงทำให้เกิดการถ่ายโอนมวลและความสามารถการละลายของสารสกัดในตัวทำละลายเกิดได้ดียิ่งขึ้น

4.1.1.2 ผลของ อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย (g/ml) และเวลาในการอบ เมล็ดขนุนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ผลของอัตราส่วนเมล็ดขนุนต่อเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ และเวลาในการอบที่ 60 องศาเซลเซียส ต่อปริมาณการสกัดพรีไบโอติกแสดงด้วยกราฟพื้นผิวและกราฟโครงร่างดังแสดงในภาพประกอบ 4-4 และ 4-5 ตามลำดับ



ภาพประกอบ 4-4 อิทธิพลของอัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย และเวลาในการอบเมล็ดขนุนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ต่อปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ โดยทำการสกัดตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 30 นาที



ภาพประกอบ 4-5 อิทธิพลของอัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย (g/ml) และเวลาในการอบเมล็ดขนุนที่ 60 °C (hrs) ต่อปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์โดยทำการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ และเวลาการสกัด 30 นาที

จากภาพประกอบที่ 4-4 และ 4-5 พบว่าการเพิ่มอัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายทำให้ปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ที่สกัดได้มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Xiaoli และคณะ (2008) ซึ่งได้ทำการสกัดโอลิโกแซคคาไรด์จากเมล็ดชิคพี พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของเมล็ดชิคพีต่อตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ได้ปริมาณของโอลิโกแซคคาไรด์เพิ่มขึ้น เนื่องจากอัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายทำให้เกิดการถ่ายโอนมวลได้ดีขึ้น

จากภาพประกอบที่ 4-2, 4-3, 4-4 และ 4-5 เมื่อพิจารณาผลของอัตราส่วนของของเหลวต่อของแข็ง ผลของอุณหภูมิ และผลของเวลาในการอบเมล็ด ขนุนที่ 60 องศาเซลเซียส ต่อการสกัดปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ พบว่าการอบเมล็ดขนุนที่ 60 องศาเซลเซียส มีผลต่อการสกัด

ปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์อย่างชัดเจน และปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์รองลงมาคือ อุณหภูมิ และอัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย ตามลำดับ

4.1.2 การคำนวณสภาวะดำเนินการที่เหมาะสมสำหรับการสกัดพรีไบโอติก

การหาค่าสภาวะดำเนินการที่เหมาะสมของตัวแปรดำเนินการต่างๆ เพื่อให้ได้ปริมาณสารสกัดพรีไบโอติกจากกระบวนการสกัดสูงที่สุด ทำได้โดยควบคุมตัวแปรต่างๆ ขอบเขตสูงสุดและต่ำสุดที่ตั้งไว้ และกำหนดฟังก์ชันเป้าหมาย (Objective function) แสดงดังตาราง 4-3 ผลจากการคำนวณหาสภาว ะดำเนินการที่เหมาะสม และปริมาณสารสกัดพรีไบโอติกสูงสุดที่ได้จากแบบจำลอง แสดงดังตาราง 4-3

ตาราง 4-3 ฟังก์ชันเป้าหมาย และขอบเขตในการหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อสกัดพรีไบโอติก

Objective function	$Y_n = 8.174 + 2.002X_2 - 4.709X_4 + 9.590X_4^2 + 3.008X_2X_3$
Subject to	**Boundary limit**
	$0 \leq f(x) \leq 0$
	$30 \leq x_2 \leq 90$ $10 \leq x_3 \leq 20$
	$0 \leq x_4 \leq 24$

ตาราง 4-4 สภาวะดำเนินการที่เหมาะสม และปริมาณสารสกัดพรีไบโอติกที่ได้จากการคำนวณ โดยใช้เทคนิค RSM

อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย (w/v)	**อุณหภูมิ (°C)**	**เวลาในการอบที่ 60 °C (hrs)**	**น้ำตาลนอนรีดิวส์ (mg glucose/g dried seed)**
20	90	0	27.4

จากตาราง 4-4 สภาวะดำเนินการที่เหมาะสมในการสกัดพรีไบโอติก เป็นเวลา 30 นาที คืออัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 (g/ml) อุณหภูมิการสกัดที่ 90 องศาเซลเซียส โดยใช้เมล็ดขนุนสด ทำให้ได้ปริมาณ น้ำตาลนอนรีดิวส์ 27.4 มิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัมเมล็ดขนุนแห้ง

4.1.3 การทดสอบสภาวะดำเนินการที่เหมาะสม

เพื่อยืนยันว่าแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของสมการ (4-1) สามารถใช้ทำนายประสิทธิภาพในการสกัดพรีไบโอติกได้ อย่างแม่นยำ จึงได้ทำการทดลองเพิ่มเติม โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจากตาราง 4-4 ผลที่ได้แสดงในตาราง 4-5

ตาราง 4-5 ผลการทดลองการสกัดพรีไบโอติก ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 (g/ml) โดยใช้เมล็ดขนุนสด ที่เวลาการสกัดต่างๆ

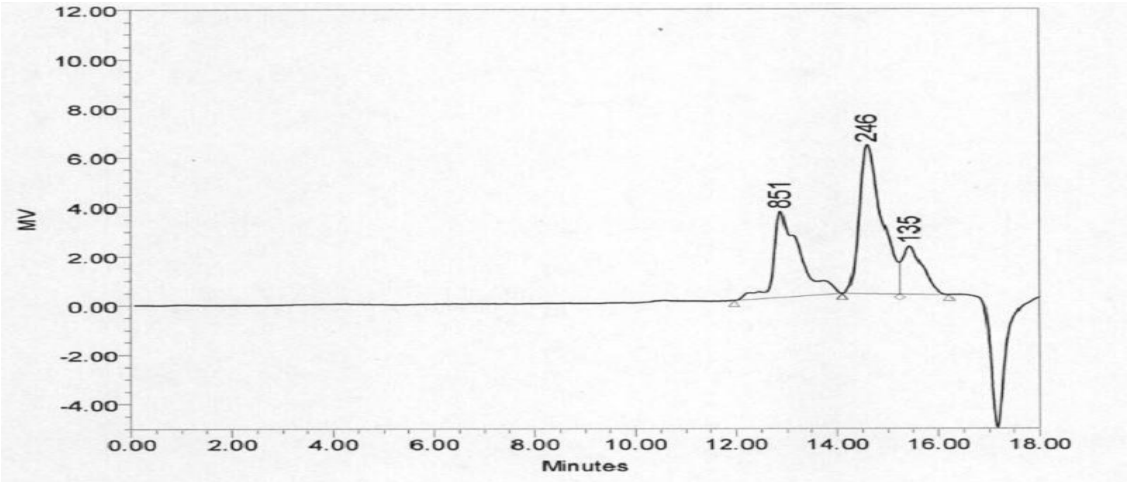
การทดลอง	**เวลา (min)**	**น้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ (mg glucose/g dried seed)**	**ฟีนอลิกส์ทั้งหมด (mg GAE/g dried seed)**
1	10	20.52±0.53	1.23±0.93
2	20	24.25±0.37	2.20±0.23
3	30	27.30±0.83	3.01±0.73

จากสภาวะการทดลองที่กำหนดในตาราง 4-5 ซึ่งทำการทดลองผลของเวลาเพิ่มเติม เนื่องจากในขั้นต้น ได้กำหนดขอบเขตของเวลาในการสกัดในช่วงที่กว้างเกินไป (30-120 นาที) ดังนั้นจึงกำหนดช่วงของเวลาในการสกัดให้แคบลง พบว่าปริมาณสารสกัดพรีไบโอติกที่สกัดที่เวลา 30 นาทีนั้นได้ปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์มากที่สุด โดยเมื่อนำไปคำนวณค่าความคลาดเคลื่อนจากการทำนายด้วยแบบจำลองพบว่า มีความคลาดเคลื่อน 0.5% ซึ่งจะเห็นว่าผลจากการทดลองจริงกับผลที่ได้จากการทำนายด้วย โปรแกรมนั้นมีความสอดคล้องกัน ดังนั้นสมการแบบจำลองที่แสดงด้วยสมการ (4-1) มีความแม่นยำเพียงพอสำหรับการนำไปใช้ ในการทำนายการ

สกัดพรีไบโอติก ด้วยเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และมีขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร

4.2 ผลจากการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของสารสกัด

จากการนำสารสกัดที่สภาวะการทดลองที่ดีที่สุด คือเมล็ดขนุนสด สกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1: 20 (g/ml) และเวลาสกัด 30 นาที ไปวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลด้วย เทคนิค Gel permeation chromatography (GPC) ได้ผลการวิเคราะห์แสดงดังภาพประกอบ 4-6 และพื้นที่ของแต่ละพีค แสดงดังตาราง 4-6

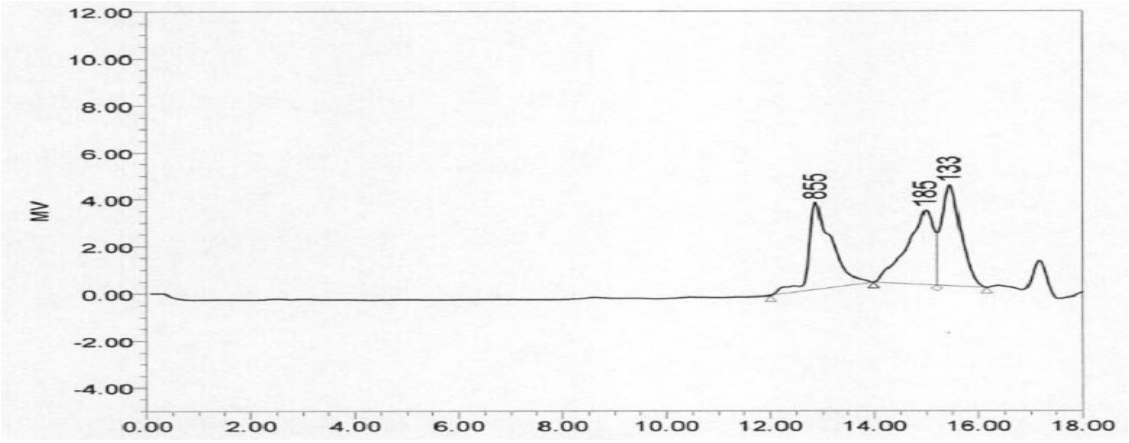


ภาพประกอบ 4-6 โครมาโตแกรมจากการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของสารสกัดด้วย GPC โดยทำการสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 (g/ml) โดยใช้เมล็ดขนุนสด เป็นเวลา 30 นาที

ตาราง 4-6 ผลการวิเคราะห์ด้วย GPC และค่า Degree of polymerization (DP_n) ของสารสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา30 นาที อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 (g/ml) โดยใช้เมล็ดขนุนสด

พีคที่	น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (ดาลตัน)	น้ำหนักโมเลกุลที่พีคสูงสุด (ดาลตัน)	พื้นที่ (เปอร์เซ็นต์)	DP_n
1	765	851	34.06	3-5
2	230	246	51.13	1-2
3	127	135	14.80	1

จากภาพประกอบ 4-7 และตาราง 4-6 แสดงผลจากการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของสารสกัดที่ อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 (g/ml) โดยใช้เมล็ดขนุนสด พบว่า พีคที่ 1 เป็นพีคของโอลิโกแซคคาไรด์ เนื่องมาจากมีค่า DP_n อยู่ในช่วง 3-5 เพราะค่า DP_n ของโอลิโกแซคคาไรด์ อยู่ในช่วง 3-10 ส่วนพีคที่ 2 เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และน้ำตาลโมเลกุลคู่ เช่น กลูโคส และซูโครส เป็นต้น เพราะมีค่า DP_n ประมาณ 1-2 และพีคที่ 3 เป็นพีคของสารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wicheinchot และคณะ (2010) ซึ่งทำการสกัดโอลิโกแซคคาไรด์จากแก้วมังกร และนำสารสกัดที่ได้วิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลด้วยเทคนิค GPC พบว่าน้ำหนักโมเลกุลที่ 273-275 ดาลตันเป็นกลูโคส และฟรักโตส ส่วนน้ำหนักโมเลกุลที่ 716, 700, 490 และ 470 ดาลตัน เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่รวมกันหลายชนิด



ภาพประกอบ 4-7 โครมาโตแกรมจากการวิเคราะห์สารสกัดด้วยวิธี GPC โดยทำการสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 (g/ml) โดยใช้เมล็ดขนุนอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ตาราง 4-7 ผลการวิเคราะห์ด้วย GPC และค่า Degree of polymerization (DP_n) ของสารสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 (g/ml) โดยใช้เมล็ดขนุนอบที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

พีคที่	น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (ดาลตัน)	น้ำหนักโมเลกุลที่พีคสูงสุด (ดาลตัน)	พื้นที่ (เปอร์เซ็นต์)	DP_n
1	760	855	33.51	3-5
2	207	185	32.96	1-2
3	128	133	33.53	1

จากภาพประกอบ 4-7 และตาราง 4-7 แสดงผลจากการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของสารสกัดที่ อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 (g/ml) โดยใช้เมล็ดขนุนอบที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า พีคที่ 1 เป็นพีคของโอลิโกแซคคาไรด์ เนื่องมาจากมีค่า DP_n อยู่ในช่วง 3-5 เพราะค่า DP_n ของโอลิโกแซคคาไรด์อยู่ในช่วง 3-10 ส่วนพีคที่ 2 เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และน้ำตาลโมเลกุลคู่ เช่น กลูโคส และซูโครส

เป็นต้น เพราะมีค่า DP_n ประมาณ 1-2 และพีคที่ 3 เป็นพีคของสารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wicheinchot และคณะ (2010) ซึ่งทำการสกัดโอลิโกแซคคาไรด์จากแก้วมังกร และนำสารสกัดที่ได้วิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลด้วยเทคนิค GPC พบว่าน้ำหนักโมเลกุลที่ 273-275 ดาลตัน เป็นกลูโคส และฟรักโตส ส่วนน้ำหนักโมเลกุลที่ 716, 700, 490 และ 470 ดาลตัน เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่รวมกันหลายชนิด และ เมื่อเปรียบเทียบพื้นที่ส่วนของโอลิโกแซคคาไรด์ของสารสกัดที่ใช้เมล็ดขนุนสดพบว่า มีค่ามากกว่าสารสกัดที่ใช้เมล็ดขนุนอบที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และจะเห็นได้ว่าการใช้เมล็ดขนุนสด ได้ปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ที่มากกว่าเมล็ดขนุนอบที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองกับชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็ก

จากการทดลองด้วยชุดแบบแบทช์ขนาดเล็กทำให้ได้สภาวะที่เหมาะสม คือ อุณหภูมิการสกัดที่ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1: 20 (g/ml) โดยใช้เมล็ดขนุนสด และใช้เวลาในการสกัด 30 นาที จากนั้นนำสภาวะที่เหมาะสมจากชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็กมาสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองที่ถูกจัดสร้างโดย สุพจน์ นวลละออง (2552) และปรับปรุงโดย วรรณพิชญ์ จุลกัลป์ (2553) เพื่อดูประสิท ธิภาพของการสกัด แสดงดังตาราง 4-8

ตาราง 4-8 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการสกัดพรีไบโอติกที่ อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 (g/ml) โดยใช้เมล็ดขนุนสด ด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองกับชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็ก

ชุดสกัดแบบแบทช์	**ปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ (mg glucose/g seed)**
ขนาดเล็ก	11.23±2.98
ขนาดโรงงานจำลอง	29.20±1.53

จากตาราง 4-8 พบว่าประสิทธิภาพของชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองนั้น มีประสิทธิภาพสูงกว่าชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็กถึง 2.2 เท่า เพราะว่าในชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง มีระบบการสกัดเป็นระบบปั๊มหมุนเวียนสารละลายจากด้านล่างถังสกัดผ่านสเปรย์ทางด้านข้างถังสกัด ส่งผลให้ตัวทำละลายสามารถสัมผัสกับเมล็ดขนุนได้ทั่วถึง

4.4 การพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดใหญ่

4.3.1 แบบจำลองทางจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง

แบบจำล องทางจลนพลศาสตร์ของการถ่ายโอนมวลสามารถอธิบายได้โดยแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง ซึ่งจะกำหนดให้ปริมาณของสารสกัดที่อยู่ในสารละลายที่เวลาต่างๆ เป็นอัตราของกระบวนการสกัด แสดงดังสมการ 4-2

$$4\frac{dm}{dt} \mid km \qquad (4\text{-}2)$$

อินติเกรต (4-1) จะได้

$$\ln\frac{m_0}{m} \mid kt \qquad (4\text{-}3)$$

จัดรูปใหม่ สมการ 4-2 ได้

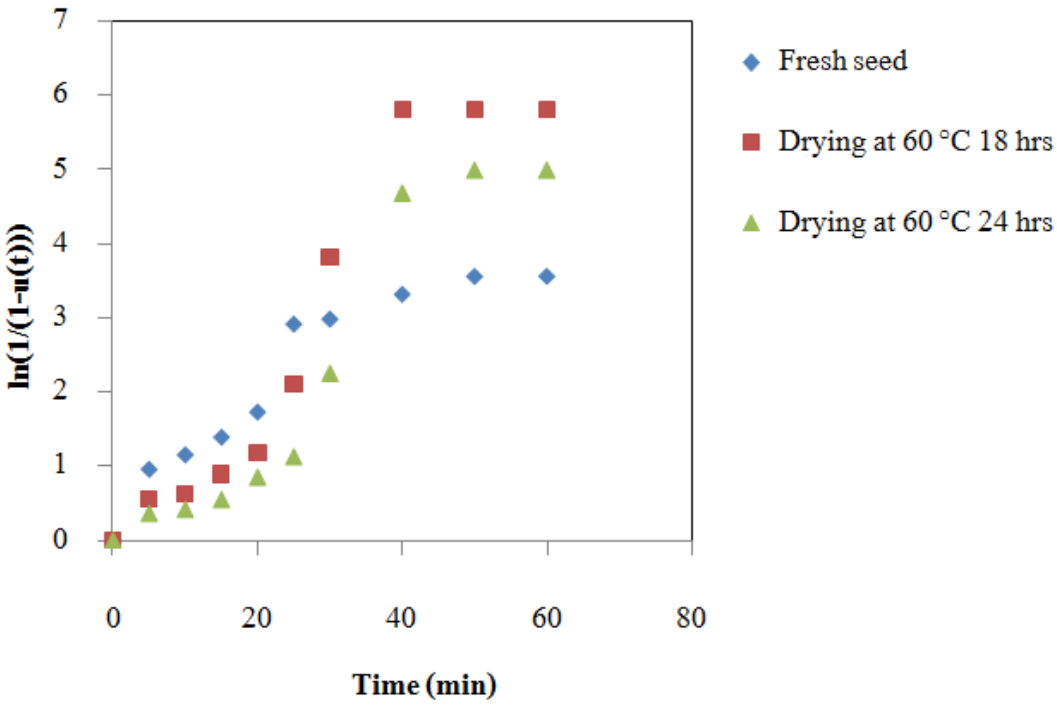
$$\ln\frac{1}{14\,u(t)} \mid kt \qquad (4\text{-}4)$$

เมื่อ $u(t) = \frac{\text{มวลของสารสกัดที่เวลาต่างๆ}}{\text{มวลสะสมทั้งหมดของสารสกัด}}$

จากสมการ 4-4 เมื่อเขียนกราฟระหว่าง ln(1/(1-u(t))) กับ เวลาจะได้กราฟเส้นตรง และความชันที่ตัดจุดเริ่มต้นคือค่าคงที่ของการถ่ายโอนมวล

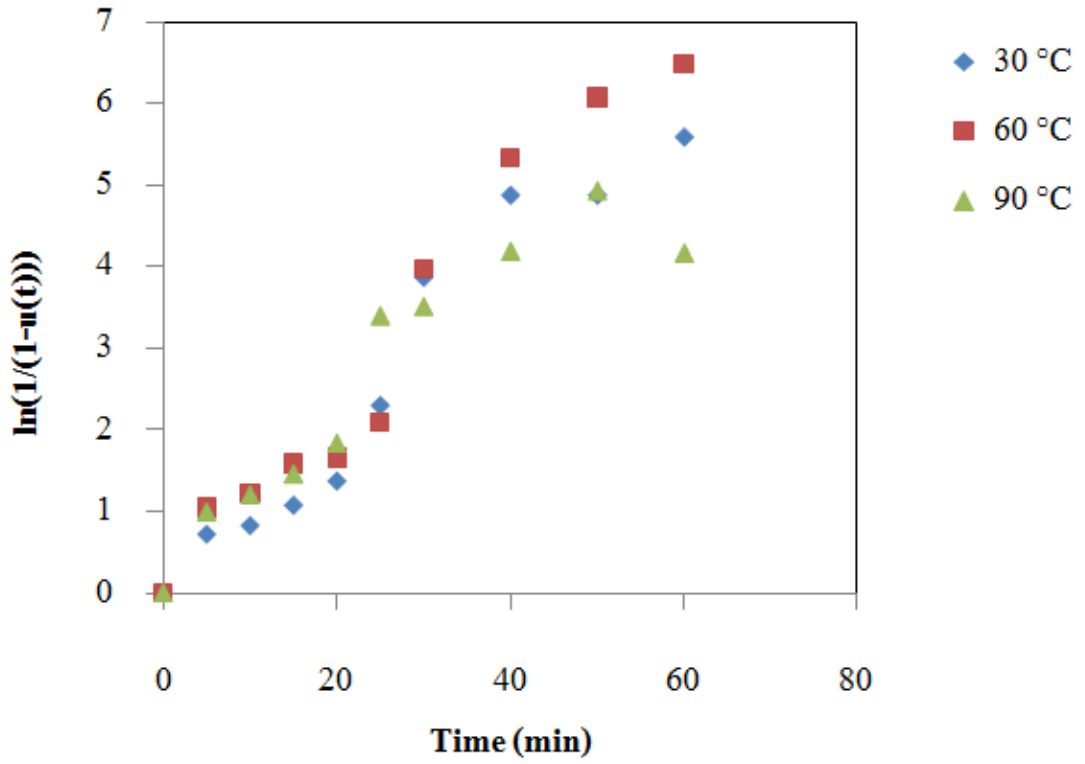
4.3.1.1 การวิเคราะห์ผลการใช้แบบจำลองทางจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งสำหรับการสกัดพรีไบโอติก

จากการสกัดพรีไบโอติกด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง พบว่าปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ของการเตรียมเมล็ดขนุนที่สภาวะ ต่างๆ (เมล็ดขนุนสด, เมล็ดขนุนอบที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และ เมล็ดอบที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง) มีค่าเท่ากับ 30.09, 10.03 และ 16.11 มิลลิกรัมกรัมกลูโคส /กรัมของเมล็ดขนุน และจากสมการที่ 4-4 สามารถคำนวณค่า u(t) และ ln 1/(1-u(t)) ได้ผลการคำนวณดังแสดงในภาคผนวก ค และจากการนำค่า ln 1/(1-u(t)) และเวลา (นาที) ไปเขียนกราฟ แสดงดังภาพประกอบ 4-8 พบว่ากราฟไม่ได้มีแนวโน้มเป็นเส้นตรง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบบจำลองทางจลศาสตร์อันดับหนึ่งไม่สามารถอธิบายการสกัดพรีไบโอติกโดยการเตรียมเมล็ดขนุนที่สภาวะต่างๆ ได้



ภาพประกอบ 4-8 ผลการใช้แบบจำลองทางจลศาสตร์อันดับหนึ่งในการอธิบายการสกัดพรีไบโอติกที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1:20 ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร โดยการเตรียมเมล็ดขนุนที่สภาวะต่างๆ

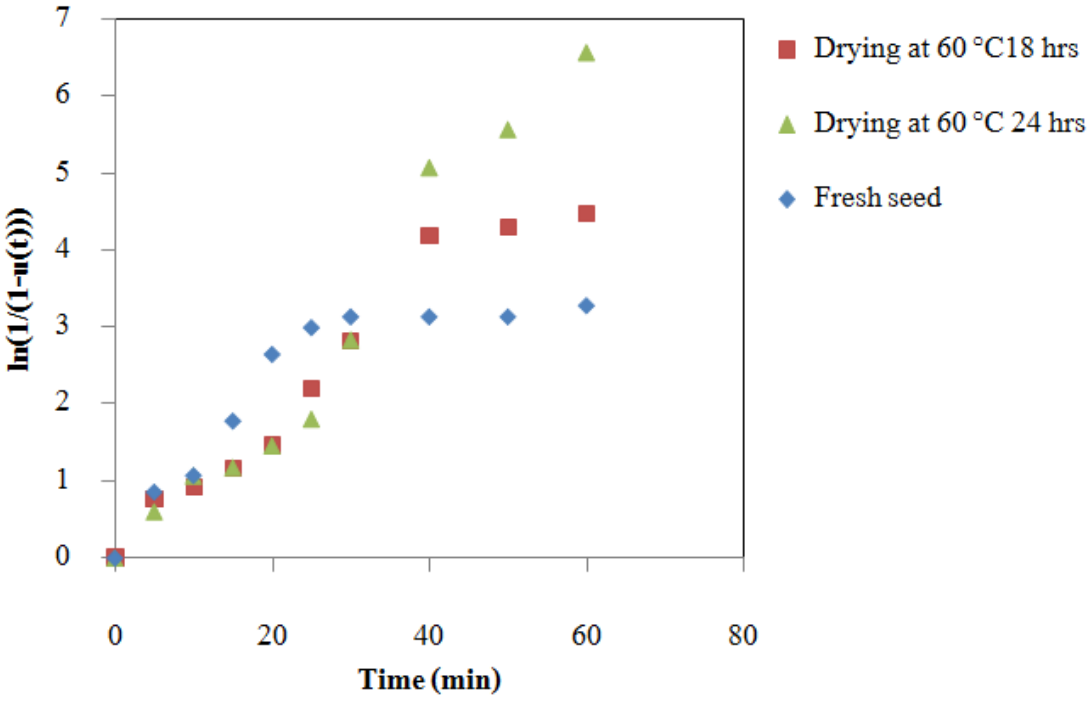
จากภาพประกอบ 4-9 พบว่ากราฟไม่มีแนวโน้มเป็นเส้นตรง แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองทางจลศาสตร์อันดับหนึ่งไม่สามารถอธิบายกลไกการสกัดพรีไบโอติก ที่อุณหภูมิ 30, 60 และ 90 องศาเซลเซียสได้



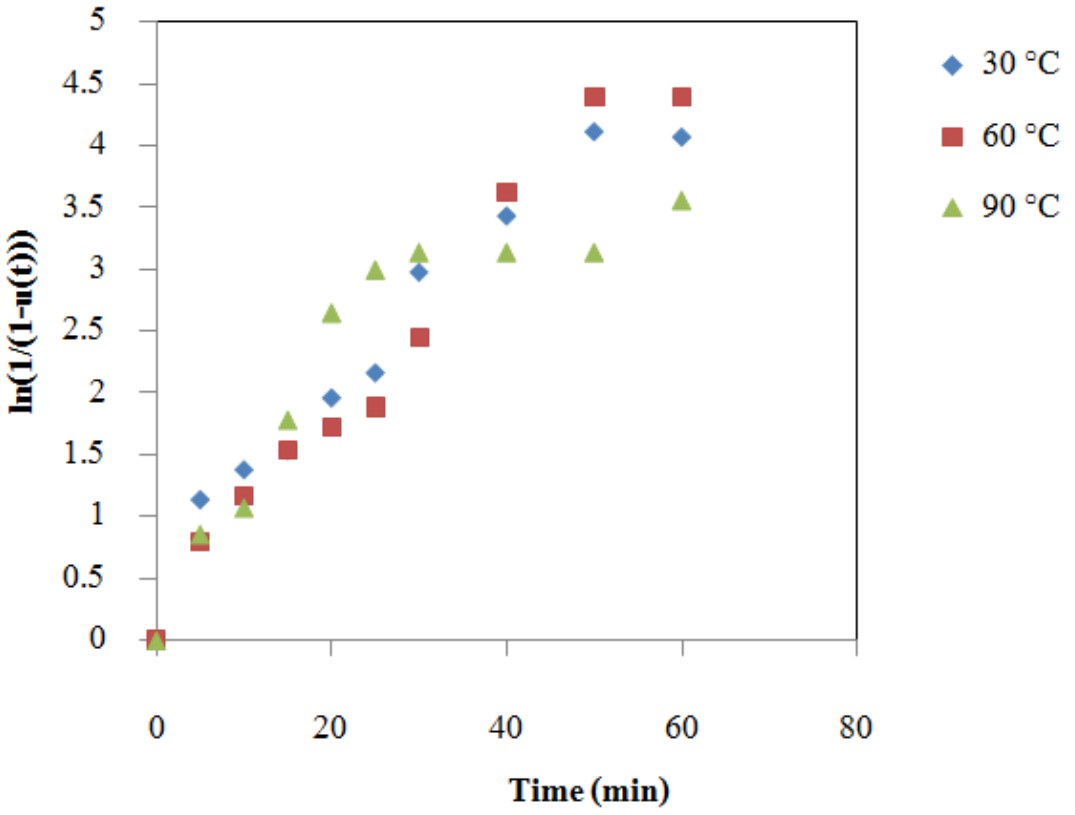
ภาพประกอบ 4-9 ผลการใช้แบบจำลองทางจลศาสตร์อันดับหนึ่งในการอธิบายการสกัดพรีไบโอติก โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1:20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิต่างๆ

4.3.1.2 การวิเคราะห์ผลการใช้แบบจำลองทางจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งสำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์

แบบจำลองทางจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง ไม่สามารถ อธิบายกลไกการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์ด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองได้ แสดงดัง ภาพประกอบ 4-10 และภาพประกอบ 4-11



ภาพประกอบ 4-10 ผลการใช้แบบจำลองทางจลศาสตร์อันดับหนึ่งในการอธิบายการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1:20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร โดยการเตรียมเมล็ดขนุนที่สภาวะต่างๆ



ภาพประกอบ 4-11 ผลการใช้แบบจำลองทางจลศาสตร์อันดับหนึ่งในการอธิบายการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์ โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1:20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิต่างๆ

4.3.2 แบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของการถ่ายโอนมวล

จากพฤติกรรมการสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์ออกจากเมล็ดขนุน โดยใช้เครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง ซึ่งภายในถังสกัดมีการฉีดพ่นตัวทำละลาย ดังนั้นกลไกการควบคุมการสกัด คือ การเคลื่อนที่ของสารสกัดจากพื้นผิวสู่ตัวทำละลาย (Bulk liquid) จึงสมมติให้กลไกนี้เป็นกลไกควบคุมการสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์ที่อยู่ในเมล็ดขนุน ซึ่งสามารถละลายได้ดีในเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ดังนั้นแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของการถ่ายโอนมวลนี้ สามารถเขียนได้ตามสมการ 4-5

$$\frac{dN_A}{dt} = k_L \Delta A(C_{Ae} - C_A) \qquad (4\text{-}5)$$

เมื่อ $\frac{dN_A}{dt}$ คืออัตราการถ่ายโอนมวลของพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์ (มิลลิกรัม/นาที) และ C_{Ae} คือความเข้มข้นของพรีไบโอติกสารประกอบฟีนอลิกส์ ที่จุดสมดุล (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) k_L คือ สัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวล โดยที่ A คือพื้นที่ผิวทั้งหมดของการถ่ายโอนมวล ในกระบวนการสกัดจะกำหนดให้เป็นแบบแบทช์ ซึ่งปริมาตรของตัวทำละลายจะต้องคงที่ ซึ่งกำหนดให้

$$dN_A = VdC_A \qquad (4\text{-}6)$$

นำสมการ 4-5 แทนใน 4-4 จะได้

$$\begin{aligned} \frac{VdC_A}{dt} &= k_L (A)(C_{Ae} - C_A) \\ \frac{dC_A}{dt} &= k_L \left(\frac{A}{V}\right)(C_{Ae} - C_A) \\ \frac{dC_A}{dt} &= k_L (a)(C_{Ae} - C_A) \end{aligned} \qquad (4\text{-}7)$$

เมื่อ k_La คือ สัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลเชิงปริมาตร (Volumetric mass transfer coefficient) ซึ่งกำหนดให้สภาวะเริ่มต้นคือ

- ที่จุดเริ่มต้นของการสกัด (t=0) ความเข้มข้นของพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอ-ลิกส์ในของเหลว (Bulk liquid) จะเท่ากับ 0, C_A=0
- ที่เวลาใดๆ ความเข้มข้นของพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์ในของเหลว (Bulk liquid) จะเท่ากับ C_A, $C_A = C_A$

จากสมการ 4-6 และ 4-7 สามารถเขียนได้ตามสมการ 4-8

$$C_A = C_{Ae}(1 - \exp(-k_L (a) (t))) \qquad (4\text{-}8)$$

4.3.2.1 การวิเคราะห์ผลการใช้แบบจำลองทางจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวลสำหรับการสกัดพรีไบโอติก

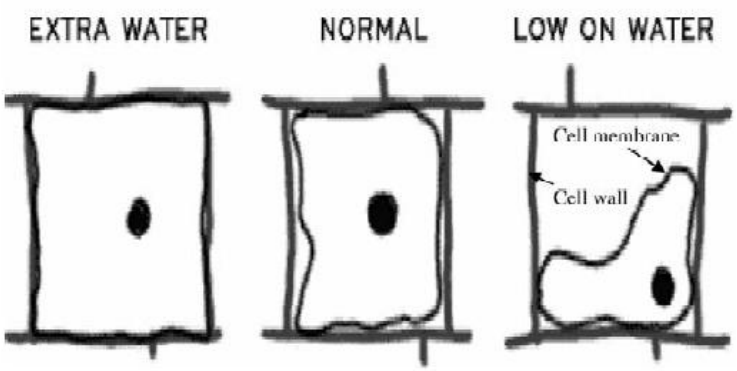
ในการคำนวณหาความเข้มข้นของน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์จากการสกัดที่จุดสมดุล และ k_La ใช้โปรแกรม Polymath 5.1 ในส่วนของ Regression ใช้สมการ 4-8 ค่าของความเข้มข้นของปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ที่จุดสมดุลและ k_La แสดงในตาราง 4-9

ตาราง 4-9 ตัวแปรต่างๆ ของแบบจำลองจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวลของการสกัดสารพรีไบโอติกส์โดยใช้เมล็ดขนุนที่เตรียมที่สภาวะต่างๆ ที่อุณหภูมิสกัด 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1: 20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร

การเตรียมวัตถุดิบ	C_{Ae}	k_La (ml/min)	R^2
เมล็ดขนุนสด	1.434	0.147	0.78
เมล็ดขนุนอบที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง	0.507	0.072	0.91
เมล็ดขนุนอบที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง	0.851	0.046	0.93

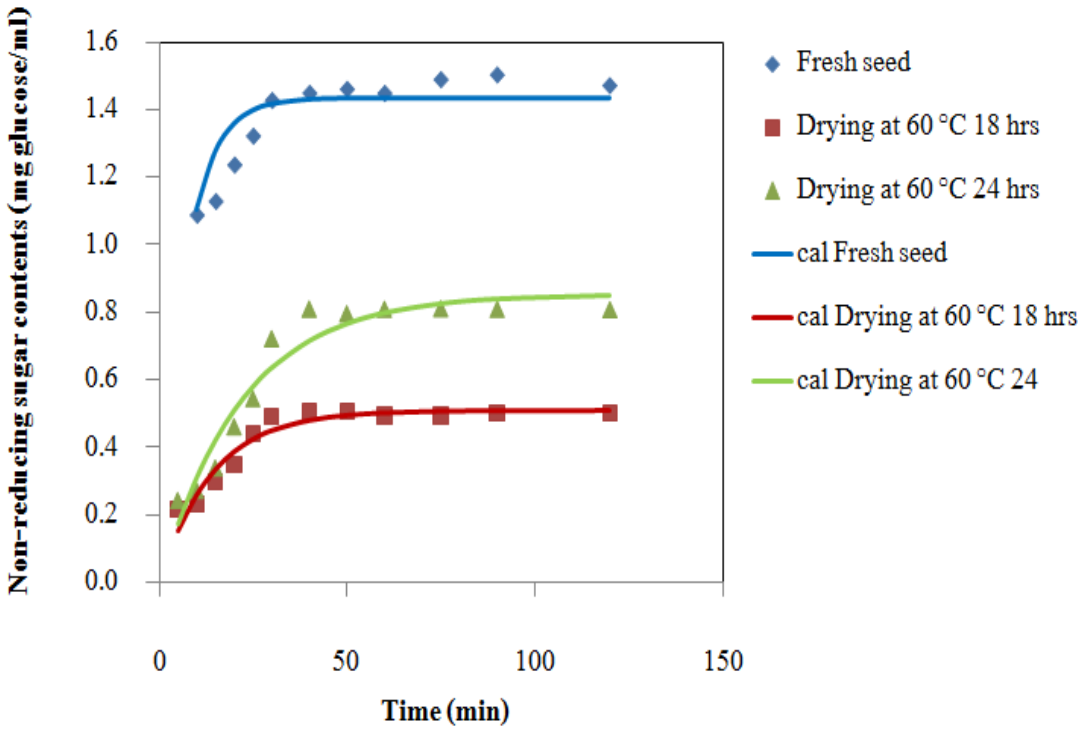
จากตาราง 4-9 พบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ที่จุดสมดุลลดลง เมื่ออบเมล็ดขนุนที่ 60 องศาเซลเซียส ที่ 18 ชั่วโมง และเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่ออบเมล็ดขนุนที่ 60 องศาเซลเซียส ที่ 24 ชั่วโมง นั้นอาจจะเนื่องมาจากเวลาและอุณหภูมิทำให้คาร์โบไฮเดรตเกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่คาร์โบไฮเดรตทำปฏิกิริยากับน้ำและมีความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา การเกิดสีน้ำตาลของแป้ง (Browning) เป็นต้น ซึ่งจากการทดลองพบว่าเมล็ดขนุนที่ผ่านการอบที่ 60 องศาเซลเซียส มีความเข้มข้นของน้ำตาล รีดิวซ์ในปริมาณที่สูงเมื่อเทียบกับเมล็ดขนุนสด รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ค และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ที่สกัดจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการอบที่ 60 องศาเซลเซียส ที่เวลา 18 ชั่วโมง (ความชื้น 13.7 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักเปียก) และนาน 24 ชั่วโมง (ความชื้น 3.5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักเปียก) พบว่าเมล็ดขนุนที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมงได้ปริมาณสารสกัดมากกว่าเมล็ดขนุนที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง แม้ว่าความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดและความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าที่ใกล้เคียงกัน นั้น เกิดมาจาก

ความชื้นในเมล็ดขนุนที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมงมีมาก ทำให้ เกิดเจล (Gelatinization) ซึ่งเมื่อแป้ง ได้รับความร้อน เม็ดแป้งจะเริ่มพองตัว และหนืดทำให้เม็ดแป้งที่พองตัวนั้นขัดขวางการสัมผัสระหว่างตัวทำละลายกับเมล็ดขนุน และเมล็ดขนุนที่ผ่านการอบนั้น ผนังเซลล์ของพืช (Cell wall) เกิดการเหี่ยวทำให้การเคลื่อนที่ของสารสกัดออกมาได้ยากขึ้น แสดงดังภาพประกอบ 4-12 ส่งผลให้ค่า $k_L a$ ลดลง



ภาพประกอบ 4-12 เซลล์พืชที่มีปริมาณน้ำมากแตกต่างกัน (Ng and Hupe, 2003)

เมื่อเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นที่เวลาใดๆ (C_A) กับ เวลา (นาที) เพื่อเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการคำนวณโดยใช้โปรแกรมกับค่าที่ได้จากการทดลองจริง ของการสกัดโดยการเตรียมเมล็ดขนุนที่สภาวะต่างๆ แสดงดังภาพประกอบ 4-13 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ที่ได้จากผลการทดลองจริงและผลจากการใช้แบบจำลองมีค่าที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งสอดคล้องกับค่า R^2 (ตาราง 4-9)



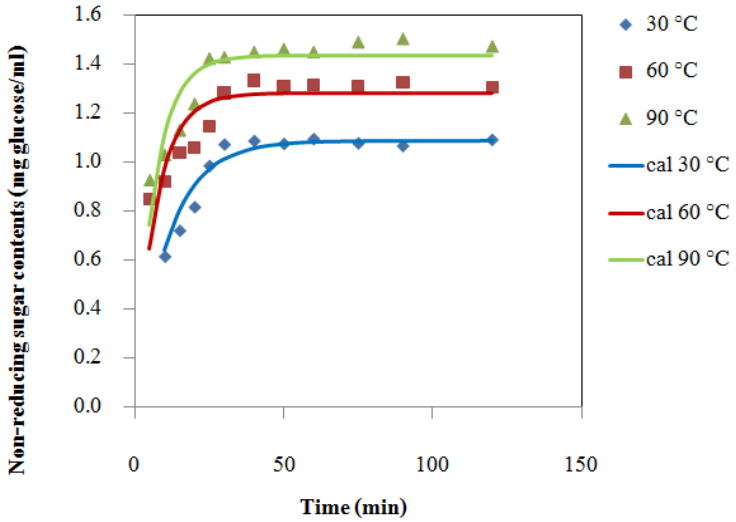
ภาพประกอบ 4-13 ความเข้มข้นของน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1:20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร โดยการเตรียมเมล็ดขนุนที่สภาวะต่างๆ กับผลจากการใช้แบบจำลองจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวล

ในการคำนวณหาความเข้มข้นของน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์จากการสกัดที่จุดสมดุล และ k_La ใช้โปรแกรม Polymath 5.1 ในส่วนของ Regression ใช้สมการ 4-8 ค่าของความเข้มข้นของปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ที่จุดสมดุลและ k_La ของการสกัดสารพรีไบโอติกจากเมล็ดขนุนสด โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1:20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร โดยการสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ กับผลจากการใช้แบบจำลองจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวล แสดงในตาราง 4-10

ตาราง 4-10 ตัวแปรต่างๆ ของแบบจำลองจลนพลศาสตร์กา รถ่ายโอนมวลของการสกัดสารพรีไบโอติกโดยใช้เมล็ดขนุนสด อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1: 20 ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร และสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	C_{Ae}	k_La (ml/min)	R^2
30	1.085	0.089	0.89
60	1.283	0.140	0.73
90	1.434	0.147	0.78

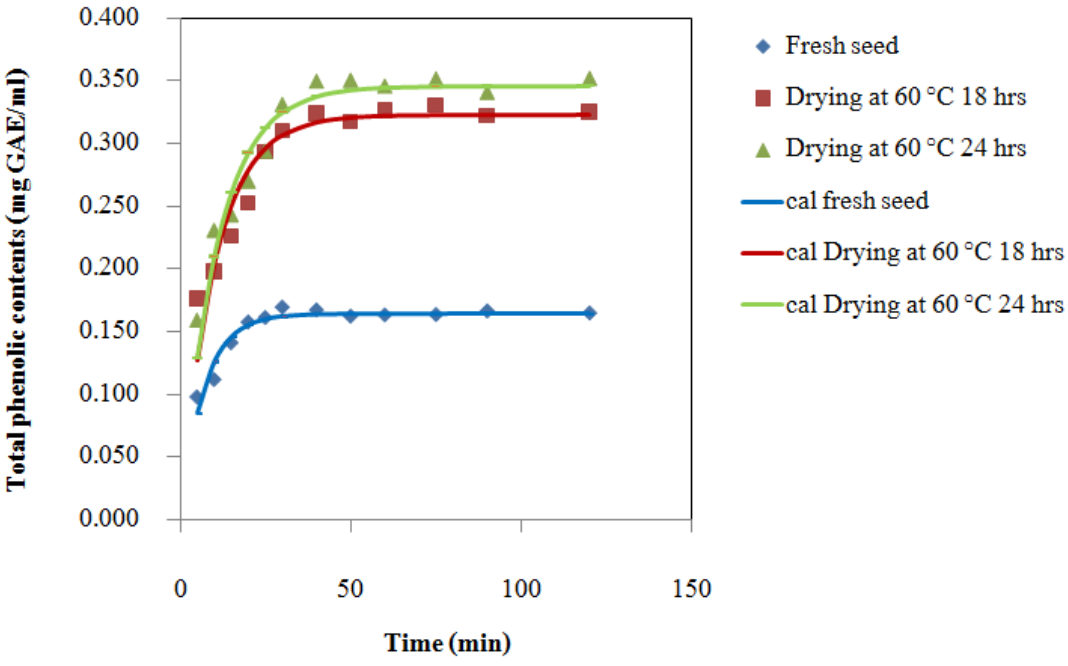
จากตาราง 4-10 พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัด ความเข้มข้นของพรีไบโอติก ที่จุดสมดุลเพิ่มขึ้น และค่า k_La ก็เพิ่มขึ้น เนื่องจาก เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้น จึง เกิดการถ่ายโอนมวลได้ดีขึ้น และจากภาพประกอบ 4-14 พบว่าความเข้มข้นของพรีไบโอติกที่ได้จากผลการทดลองจริง และผลจากการคำนวณที่อุณหภูมิต่างๆ โดย โปรแกรมมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งสอดคล้องกับค่า R^2 ในตาราง 4-10



ภาพประกอบ 4-14 ความเข้มข้นของน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1:20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร โดยการสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ กับผลจากการใช้แบบจำลองจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวล

4.3.2.2 การวิเคราะห์ผลการใช้แบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของการถ่ายโอนมวลสำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์

แบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของการถ่ายโอนมวลสามารถอธิบายผลการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์ โดยการเตรียมเมล็ดขนุนที่สภาวะต่างๆ ได้ดี แสดงดังภาพประกอบ 4-15 และจากตาราง 4-11 พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการอบเมล็ดขนุนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของฟีนอลิกส์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น อาจเป็นเพราะว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการอบเมล็ดขนุนทำให้น้ำที่อยู่ในเมล็ดขนุนเกิดการระเหยไป ทำให้ปริมาณน้ำหนักแห้งของเมล็ดขนุนที่อบเป็นเวลานานกว่ามีน้ำหนักน้อยกว่า นอกจากนี้การอบเมล็ดขนุนอาจทำให้ผนังเซลล์ของเมล็ดขนุนเกิดการเหี่ยวขัดขวางการเคลื่อนที่ของสารสกัดออกมาสู่ตัวทำละลาย ส่งผลให้ค่า k_La ลดลง



ภาพประกอบ 4-15 ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกส์ที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1:20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร โดยการเตรียมเมล็ดขนุนที่สภาวะต่างๆ กับผลจากการใช้แบบจำลองจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวล

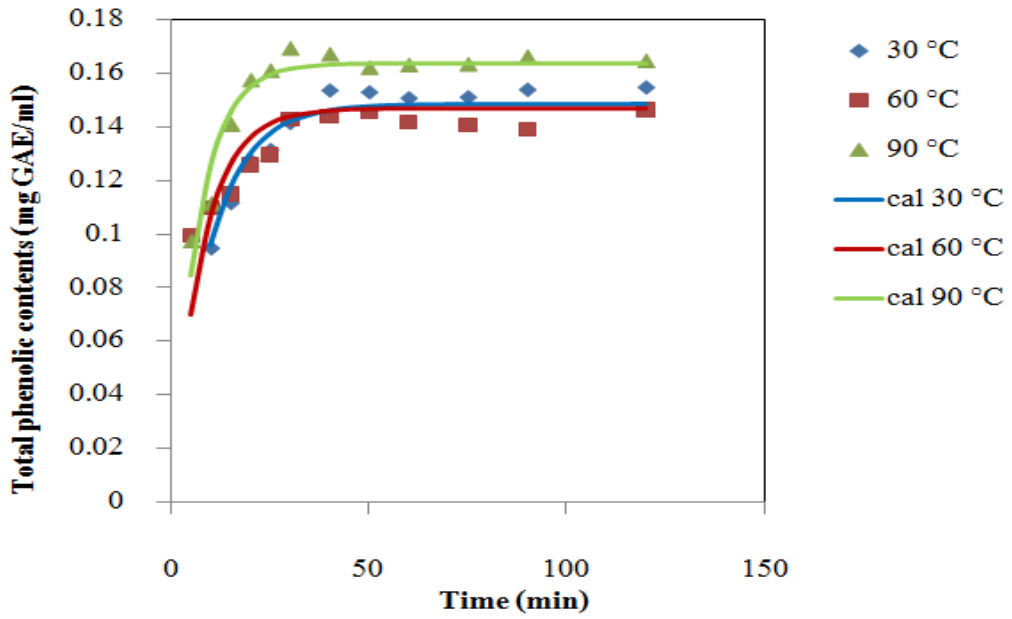
ตาราง 4-11 ตัวแปรต่างๆ ของแบบจำลองจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวลของการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์โดยใช้เมล็ดขนุนที่เตรียมที่สภาวะต่างๆ ที่อุณหภูมิสกัด 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1: 20 ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร

การเตรียมวัตถุดิบ	C_{Ae}	k_La (ml/min)	R^2
เมล็ดขนุนสด	0.164	0.145	0.87
เมล็ดขนุนอบที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง	0.323	0.099	0.93
เมล็ดขนุนอบที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง	0.346	0.093	0.92

ค่าของความเข้มข้นของน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ที่จุดสมดุลและ k_La ของการสกัดเมล็ดขนุนสดที่อุณหภูมิต่างๆ แสดงในตาราง 4-12 ส่วนกราฟระหว่างความเข้มข้นที่เวลาใดๆ (C_A) กับเวลา (นาที) เพื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ที่ได้จากการคำนวณโดยใช้โปรแกรม กับค่าที่ได้จากการทดลองจริง แสดงดังภาพประกอบ 4-16

ตาราง 4-12 ตัวแปรต่างๆ ของแบบจำลองจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวลของการสกัดสารประกอบฟีนอลิกส์โดยใช้เมล็ดขนุนสด อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1: 20 ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร โดยการสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	C_{Ae}	k_La (ml/min)	R^2
30	0.147	0.104	0.92
60	0.148	0.130	0.91
90	0.164	0.145	0.87



ภาพประกอบ 4-16 ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกส์ที่ได้จากการสกัดเมล็ดขนุนสด โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1:20 (g/ml) ขนาดอนุภาค 1.0-2.0 มิลลิเมตร โดยการสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ กับผลจากการใช้แบบจำลองจลนพลศาสตร์การถ่ายโอนมวล

4.5 ผลของการวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์

การศึกษาความเหมาะสมทางด้านเศรษฐศาสตร์ในการสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุน ด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์เป็นสิ่งสำคัญ อย่างยิ่ง เพื่อเป็นข้อมูลส่วนหนึ่งในการเปรียบเทียบผลทางด้านเศรษฐศาสตร์กับความเหมาะสมในการใช้เครื่ องสกัดแบบแบทช์เพื่อใช้ในการสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุน และนำไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรม และ การประเมินทางเศรษฐศาสตร์จะเป็นเครื่องมือในการตัดสินใจแก่นักลงทุนว่าโครงการที่จะนำเงินมาลงทุนนั้น ถ้าลงทุนไปแล้วจะขาดทุนหรือได้กำไร สำหรับการวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์นั้น จะต้องทราบรายรับรายจ่ายในแต่ละปี รวมทั้งเงินลงทุนแรกเริ่มสำหรับดำเนินการ ซึ่งสามารถแยกย่อยได้ดังนี้

1) มูลค่าแรกซื้อของอุปกรณ์ (สำหรับงานวิจัยนี้เป็นการตัดสินใจเลือกเครื่องมืออุปกรณ์)

2) รายจ่ายของแต่ละปีในระหว่างดำเนินการ เช่น รายจ่ายสำหรับพนักงาน รายจ่ายสำหรับวัตถุดิบเริ่มต้น รายจ่ายสำหรับบำรุงรักษาอุปกรณ์ รายจ่ายสำหรับค่าพลังงานไฟฟ้า

3) รายรับจากการขายผลิตภัณฑ์ ซึ่งประกอบไปด้วย สารสกัดพรีไบโอติก จากการวิเคราะห์ด้วย GPC พบว่าน่าจะเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ ชนิด Fructooligosaccharide เนื่องจากเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ พบได้ทั่วไปในพืชและเมล็ดพืชหลายๆ ชนิด ดังนั้นจึงสมมุติให้ชนิดของพรีไบโอติกที่สกัดจากเมล็ดขนุนเป็นชนิด Fructooligosaccharide ส่วนสารประกอบฟีนอลิกส์ จากการวิเคราะห์ของ วรรณพิชญ์ จุลกัลป์ (2553) พบว่าชนิดของสารประกอบฟีนอ ลิกส์ในสารสกัดเมล็ดขนุนเป็นชนิดกรดแกลลิก สำหรับรายละเอียดเกี่ยวกับราคาต่างๆ สามารถดูได้จากภาคผนวก ค

4.5.1 การวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์สำหรับเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง

สำหรับเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองที่จัดสร้างมีความจุ 60 ลิตร แต่สามารถสกัดได้สูงสุด 52 ลิตร เนื่องจากอุณหภูมิในการสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์ นั้นสูงถึง 90 องศาเซลเซียส หากสกัด 60 ลิตรทำให้ความดันในถังสกัดนั้นสูง และส่ งผลให้ตัวทำละลายรั่วออกได้ และ วิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์สำหรับเครื่องสกัดแบบแบทช์ ขนาดโรงงานจำลอง 2 กรณี คือ

กรณีที่ 1 คิดราคาเมล็ดขนุนที่ 5 บาท/กิโลกรัม ข้อมูลจากบริษัท ฟรุ้ตเทค จำกัด ทำการผลิตขนุนอบกรอบ

กรณีที่ 2 ไม่คิดราคาเมล็ดขนุน ข้อมูลจากบริษัท วราฟู้ดแอนดริ้ง จำกัด ทำการผลิตเนื้อขนุนในน้ำเชื่อมกระป๋อง (เมล็ดขนุนถูกนำไปทิ้ง) โดย ข้อมูลการดำเนินการแสดงดังตาราง 4-14 และรายรับ-รายจ่ายต่อปีแสดงดังตาราง 4-15

และจากสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์ คือที่อุณหภูมิการสกัด 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย ที่ 1:20 โดยใช้เมล็ดขนุนสด แต่เนื่องจากการใช้ตัวทำละลายมากทำให้ต้องสิ้นเปลืองพลังงานในการระเหยสูง ดังนั้นจึงคิดเปรียบเทียบการใช้ อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย ที่อัตราส่วนต่างๆ พบว่าการใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1: 10 (g/ml) มีความเหมาะสมมากกว่าการใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1: 20 (g/ml) แสดงดังตาราง 4-13 ดังนั้นจึงคำนวณเชิงเศรษฐศาสตร์โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1: 10 (g/ml)

ตาราง 4-13 รายรับ-รายจ่ายจากการสกัดเมล็ดขนุนสด (ราคาเมล็ดขนุน 5 บาท/กิโลกรัม) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1: 10, 1:15 และ 1:20 (g/ml) ที่เวลาการสกัดที่ 30 นาที

ข้อมูล	รายได้ (บาท)		
	1:10	**1:15**	**1:20**
	บาทต่อเดือน	**บาทต่อเดือน**	**บาทต่อเดือน**
รายรับ			
∉ Fructooligosaccharide	0.134 กก./ครั้ง Δ 500 บ./กก. Δ30 ครั้ง/เดือน = 2,010	0.103 กก./ครั้ง Δ 500 บ./กก. Δ30 ครั้ง/เดือน = 1,543	0.086 กก./ครั้ง Δ 500 บ./กก. Δ30 ครั้ง/เดือน = 1,287
∉ Gallic acid	0.007 กก./ครั้ง Δ15 บ./กก Δ30 ครั้ง/ เดือน = 3	0.007 กก./ครั้ง Δ 15บ./กก Δ30 ครั้ง/เดือน = 3	0.007 กก./ครั้ง Δ15 บ./กก Δ30 ครั้ง/ เดือน = 3
รายจ่าย			
∉ เมล็ดขนุน	5.2 กก./ครั้ง Δ5บ./ กก. Δ30 ครั้ง/เดือน = 650	3.5 กก./ครั้ง Δ5 บ./กก. Δ30 ครั้ง/ เดือน = 433	2.6 กก./ครั้ง Δ5 บ./ กก. Δ30 ครั้ง/เดือน =325
∉ เอทานอล	0.40 ล./ครั้ง Δ 30 ครั้ง/เดือน Δ 50 บ./ ล.=625	0.40 ล./ครั้ง Δ30 ครั้ง/เดือน Δ50 บ./ล.=625	0.40 ล./ครั้ง Δ30 ครั้ง/เดือน Δ50 บ./ ล. =625
∉ ไฟฟ้า	1,707*	1,707*	1,707*
รวม	-973	-1,440	-1,696

หมายเหตุ * คำนวณจากตาราง ง-1 และตาราง ง-3

ตาราง 4-14 ข้อมูลดำเนินการของการสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุนสด ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลายที่ 1: 10 (g/ml)

ข้อมูล	กรณีที่ 1	กรณีที่ 2
1. เมล็ดขนุน (กิโลกรัมต่อครั้งการสกัด)	5.2	5.2
2. กำลังไฟฟ้า (กิโลวัตต์)		
∉ ปั๊มหอยโข่งของระบบถังสกัด	0.375	0.375
∉ ปั๊มหอยโข่งของระบบถังให้ความร้อน	0.375	0.375
∉ ปั๊มหอยโข่งของระบบควบแน่น	1.5	1.5
∉ ปั๊มสุญญากาศของระบบทำน้ำหล่อเย็น	0.375	0.375
∉ พัดลมของระบบทำน้ำหล่อเย็น	0.18	0.18
∉ ถังให้ความร้อนสำหรับถังสกัด	10	10
∉ ถังระเหยใหญ่	10	10
3. Fructooligosaccharide (กิโลกรัมต่อครั้งการสกัด)	0.1286	0.1286
4. Gallic acid (กิโลกรัมต่อครั้งการสกัด)	0.009	0.009
5. จำนวนพนักงาน	1	1
6. จำนวนวันทำงานต่อปี	300	300
7. เวลาในการสกัด (ชั่วโมง/ครั้ง)	0.5	0.5
8. จำนวนการสกัด (ครั้งต่อปี)	2,400	2,400
9. ราคาเครื่อง	155,400	155,400
10.เอทานอลที่ต้องเพิ่มแต่ละครั้งของการสกัด (ลิตร)	0.25*	0.25*
11.ค่าบำรุงรักษาเครื่องต่อปี (บาท)	5,000**	5,000**

หมายเหตุ: * การระเหยตัวทำละลายสามารถระเหยตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ได้ 99 เปอร์เซ็นต์

** การคำนวณค่าบำรุงรักษาเครื่องสกัดแสดงในภาคผนวก ง

ตาราง 4-15 รายรับ-รายจ่าย ของการสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานต่อปี กรณีที่ 1 และกรณีที่ 2

รายรับ	**รายได้ต่อปี (บาท)**	
	กรณีที่ 1	**กรณีที่ 2**
Fructo-oligosaccharide (บาท)	0.1286 กก./ครั้ง Δ2,400 ครั้ง/ปี Δ500 บ./กก.=154,320	0.1286 กก./ครั้ง Δ2,400 ครั้ง/ปี Δ500 บ./กก.=154,320
Gallic acid (บาท)	0.009 กก./ครั้ง Δ2,400 ครั้ง/ปี Δ15 บ./กก=324	0.009 กก./ครั้ง Δ 2,400 ครั้ง/ปี Δ15 บ./กก=324
รายจ่าย		
เมล็ดขนุน	5.2 กก./ครั้ง Δ2,400 ครั้ง/ปี x5 บ./กก=62,400	-
เอทานอล	0.25 ล./ครั้ง Δ2,400 ครั้ง/ปี Δ50 บ./ล. = 30,000	0.25 ล./ครั้ง Δ2,400 ครั้ง/ปี Δ50 บ./ล. = 30,000
ค่าไฟฟ้า	182,976*	182,976*
ค่าบำรุงรักษา	5,000	5,000
ค่าจ้างพนักงาน	161 บ./คน Δ 300 วัน/ปี = 48,300	161 บ./คน Δ 300 วัน/ปี = 48,300
รวม	-174,032	-111,632

หมายเหตุ: * การคิดค่าไฟฟ้าแสดงในภาคผนวก

จากตาราง 4-15 พบว่าหากใช้เครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองที่ถูกจัดสร้างขึ้นจะขาดทุน เนื่องจากกำลังการผลิตในแต่ละครั้งนั้นต่ำ ทำให้ต้องสิ้นเปลืองกับค่าจ้างแรงงาน และค่าพลังงานไฟฟ้าในการสกัดค่อนข้างสูง ซึ่งจากการคำนวณค่าไฟฟ้าในภาคผนวก ง พบว่า ส่วนที่สิ้นเปลืองที่สุดคือ ถังระเหยตัวทำละลายที่ใช้อัตราระเหยอยู่ที่ 30 ลิตร /ชั่วโมง (กำลังไฟฟ้า 10 กิโลวัตต์) ซึ่งพบว่าถังระเหยขนาดใหญ่อาจเกิดการรั่วได้ ทำให้การเข้าสู่ระบบสุญญากาศเป็นไปได้ยาก ดังนั้นถ้าหากจะใช้เครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองจะไม่คุ้มค่าสำหรับการลงทุน

4.5.2 การวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์สำหรับเครื่องสกัดขนาดโรงงานจริง

จากการสอบถาม บริษัท สเปเชียลตี้ เนเชอรัล โปรดักส์ จำกัด ทำการผลิตและจำหน่ายวัตถุดิบด้านยาสมุนไพร เครื่องสำอาง และอาหารเสริมสุขภาพ โดยสอบถามข้อมูลเกี่ยวกับเครื่องสกัดและเครื่องระเหยตัวทำละลาย พบว่าเครื่องสกัดของโรงงานมีความจุถึง 3000 ลิตร และถังระเหยมีอัตราการระเหยเร็ว ถ้าหากนำสภาวะการทดลองที่ได้จากชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง ไปทำการทดลองกับชุดสกัดของโรงงานจริงจะวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์สำหรับเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจริง 2 กรณี คือ

กรณีที่ 1 คิดราคาเมล็ดขนุนที่ 5 บาท/กิโลกรัม ข้อมูลจากบริษัท ฟรุ๊ตเทค จำกัด ทำการผลิตขนุนอบกรอบ

กรณีที่ 2 ไม่คิดราคาเมล็ดขนุน ข้อมูลจากบริษัท วราฟู้ดแอนดริ้ง จำกัด ทำการผลิตเนื้อขนุนในน้ำเชื่อมกระป๋อง (เมล็ดขนุนถูกนำไปทิ้ง)

โดยข้อมูลการดำเนินการแสดงดังตาราง 4-16 และรายรับ-รายจ่ายต่อปี รวมทั้งการคำนวณค่าปัจจุบันสุทธิ แสดงดังตาราง 4-17 จากการจัดสร้างเครื่องเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองเป็นจำนวนเงิน 155,400 บาท กำลังการสกัดอยู่ที่ 60 ลิตร ดังนั้นถ้าหากเครื่องสกัดโรงงานจริง 3000 ลิตร ค่าเครื่องสกัดจะเท่ากับ 7,770,000 บาท

ตาราง 4-16 ข้อมูลดำเนินการของการสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุนสด ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย ที่ 1: 10 ด้วยชุดสกัดขนาดโรงงานจริง

ข้อมูล	กรณีที่ 1	กรณีที่ 2
1. เมล็ดขนุน (กิโลกรัมต่อครั้งการสกัด)	300	300
2. กำลังไฟฟ้า (กิโลวัตต์)		
∉ Heater ถังสกัด	2.2	2.2
∉ ถังระเหย (อัตราการระเหย 200 ลิตรต่อชั่วโมง)	40	40
∉ ใบพัดกวน	1.5	1.5
∉ พัดลมของระบบทำน้ำหล่อเย็น	0.18	0.18
3. Fructooligosaccharide (กิโลกรัมต่อครั้งการสกัด)	7.418	7.418
4. Gallic acid (กิโลกรัมต่อครั้งการสกัด)	0.99	0.99
5. จำนวนพนักงาน	2	2
6. จำนวนครั้งที่สกัดต่อวัน	8	8
7. จำนวนวันทำงานต่อปี	300	300
8. เวลาในการสกัด (ชั่วโมง)	0.5	0.5
9. จำนวนการสกัด (ครั้งต่อปี)	2400	2,400
10. ราคาเครื่อง	7,770,000	7,770,000
12. เอทานอลเริ่มต้น	1,579	1,579
11.เอทานอลที่ต้องเพิ่มแต่ละครั้งของการสกัด (ลิตร)	2*	2*
12.ค่าบำรุงรักษาเครื่องต่อปี (บาท)	250,000**	250,000**

หมายเหตุ:* ในการระเหยตัวทำละลายสามารถระเหยตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ได้ 99 เปอร์เซ็นต์

** การคำนวณค่าบำรุงรักษาเครื่องสกัดแสดงในภาคผนวก ง

ตาราง 4-17 รายรับ-รายจ่าย ของการสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจริงต่อปี กรณีที่ 1 และกรณีที่ 2

รายรับ	**รายได้ต่อปี (บาท)**	
	กรณีที่ 1	**กรณีที่ 2**
Fructooligosaccharide (บาท)	7.418 กก./ครั้ง Δ2,400 ครั้ง/ปี Δ500 บ./กก. = 8,901,600	7.418 กก./ครั้ง Δ 2,400 ครั้ง/ปี Δ500 บ./กก. = 8,901,600
Gallic acid (บาท)	0.99กก./ครั้ง Δ2,400ครั้ง/ปี Δ500บ./กก. = 35,640	0.99กก./ครั้งΔ2,400ครั้ง/ปี Δ500บ./กก. = 35,640
รายจ่าย		
เมล็ดขนุน (บาท)	300 กก./ครั้งΔ 2,400ครั้ง/ปี Δ 5 บ./กก. = 3,600,000	-
เอทานอล (บาท)	15 ลิตร/ครั้ง Δ2,400 ครั้ง/ปี Δ50 บ./กก. = 1,800,000	15 ลิตร/ครั้ง Δ 2,400 ครั้ง/ปี Δ 50 บ./กก. = 1,800,000
ค่าไฟฟ้า (บาท)	4,318,483	4,318,483
ค่าบำรุงรักษา (บาท)	250,000	250,000
ค่าจ้างพนักงาน (บาท)	161 บ./วัน Δ2 คน/วัน Δ300วัน/ปี = 96,600	161 บ./วัน Δ 2 คน/วัน Δ 300 วัน/ปี = 96,600
รวม	-1,127,843	2,472,157

จากตาราง 4-17 พบว่าถ้าหากคิดราคาของเมล็ดขนุนอยู่ที่ 5 บาท/กิโลกรัม พบว่าไม่คุ้มทุนสำหรับการลงทุน แต่เมื่อพิจารณาระยะคืนทุนที่ไม่คิดราคาเมล็ดขนุนอยู่ที่ 3 ปี 3 เดือน แสดงดังตาราง 4-18 ซึ่งจะเห็นได้ว่าคุ้มสำหรับการลงทุนในการสกัดพรีไบโอติกจากเมล็ดขนุน และเมื่อคิดมูลค่าปัจจุบันสุทธิ แสดงดังตารางที่ 4-19 พบว่ามูลค่าปัจจุบันสุทธิเป็นบวกที่ 3 ปี ดังนั้นสรุปได้ว่าการสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์ในระดับโรงงาน อุตสาหกรรมมีความคุ้มทุนสำหรับการลงทุน

ตาราง 4-18 การคำนวณหาระยะคืนทุน

ข้อมูล	เงินลงทุนแรกเริ่ม (บาท)	ราคาเอทานอลเริ่มต้น (บาท)	รายได้สุทธิแต่ละปี (บาท)	ระยะคืนทุน
กรณีที่ 1	7,770,000	78,948	-1,127,843	-
กรณีที่ 2	7,770,000	78,948	2,472,157	3 ปี 3 เดือน

ตาราง 4-19 การคำนวณหามูลค่าปัจจุบันสุทธิของกรณีไม่คิดราคาเมล็ดขนุน

ปีที่	มูลค่าชุดสกัดและเอทานอลเริ่มต้น (บาท)	กรณีที่ 2			
		ผลตอบแทน (บาท)	อัตราคิดลด (5%)	ผลตอบแทนสุทธิ	มูลค่าปัจจุบันสุทธิ
1	7,770,000	2,472,157	0.952	2,353,493	-
2	78,948	2,472,157	0.907	2,242,246	-
3		2,472,157	0.864	2,135,944	-
4		2,348,549	0.823	1,932,856	+
5		2,348,549	0.784	1,841,263	+
6		2,348,549	0.746	1,752,018	+
7		2,348,549	0.711	1,669,818	+
รวม	7,770,000				

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 ข้อสรุปผลวิจัย

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม โดยใช้ RSM แบบ BBD ในการออกแบบสภาวะในการสกัด พรีไบโอติก และสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุนด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็ก พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือใช้เมล็ดขนุน สด (ความชื้นประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักเปียก) เป็นวัตถุดิบในการสกัด สกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:20 (g/ml) และเวลาสกัด 30 นาที โดยจะให้ปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ 27.49 มิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัมเมล็ดขนุนแห้ง และ ที่สภาวะการทดลองนี้ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกส์ทั้งหมด 3.01 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมเมล็ดขนุนแห้ง และตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุล พบว่าในสารสกัดมีโอลิโกแซคคาไรด์เป็นองค์ประกอบ

จากการทดลองสกัด พรีไบโอติก และสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุนด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองที่สภาวะที่ดีที่สุดจากชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็ก พบว่าประสิทธิภาพของเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองดีกว่าชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดเล็ก และเวลาที่เหมาะสมสำหรับการสกัดอยู่ที่ 30 นาที

จากการศึกษ าการพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดใหญ่ พบว่าแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของการถ่ายโอนมวล สามารถใช้อธิบายกลไกของการสกัดชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดใหญ่ ส่วนแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์อันดั บหนึ่งไม่สามารถอธิบายกลไกของการสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดใหญ่ได้

จากการวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์ของการสกัดโดยใช้เครื่องสกัดแบบแบทช์แสดงให้เห็นว่าการลงทุนเพื่อสกัดพรีไบโอติกและสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุนด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง พบว่าไม่สมควรลงทุน เนื่องจากการออกแบบอุปกรณ์ใช้พลังงานไฟฟ้ามากเกินไป แต่ถ้านำไปสกัดกับเครื่องสกัดของโรงงานจริง พบว่ามีความเหมาะสมที่จะลงทุน

5.2 ข้อเสนอแนะ

1) กระบวนการสกัดควรมีกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ร่มด้วย เพื่อให้เพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์

2) ควรปรับปรุงถังระเหย เพื่อไม่ให้เกิดการรั่ว ทำให้เพิ่มอัตราการระเหย และจะช่วยลดค่าใช้จ่ายเกี่ยวกับพลังงานไฟฟ้า

เอกสารอ้างอิง

ชาคริต ทองอุไร . 2548 . หลักปฏิบัติการเฉพาะหน่วย 2. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง. 2549. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด ม.อบ. 8.49 (พฤษภาคม –สิงหาคม)

เฉลิมขวัญ ดำคำ, มัลลิกา ชมนาวัง. 2548. คุณรู้จัก Prebiotics แล้วหรือยัง *อาหาร* 35 (2): 96-102.

ชาคริต ทองอุไร. 2548. *หลักปฏิบัติการเฉพาะหน่วย 2.* สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ทรงพล รดิศพงศ์, กรรณิการ์ บุตรเอก, ขนิษฐา อัศวชัยณรงค์. 2546. สารประกอบฟีนอลิกส์. กลุ่มเทคโนโลยีและผลิตภัณฑ์ โครงการฟิสิกส์และวิศวกรรม, กรมวิทยาศาสตร์บริการ.

บุญเรือง มานะสุรการ. 2542. *เศรษฐศาสตร์วิศวกรรม*. สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วีระพงศ์ พรสมิทธิกุล , ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์ , ราม แย้มแสงสั งข์, กุลชนาฐ ประเสริฐสิทธิ์ . 2551. การพัฒนากระบวนการสกัดพรีไบโอติกจากเปลือกด้านในขนุน. การประชุมวิชาการทางวิศวกรรมศาสตร์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ครั้งที่ 6. คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา, 8-9 พฤษภาคม 2551: 178-183.

ศิวาพร ศิวเวชช, ณัฏฐินี ใจสะอาด. 2546. การสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกมันฝรั่ง . การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41. สาขาอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ, 3-7 กุมภาพันธ์ 2546: 12-19.

สุกัญญา วงศ์พรชัย และคณะ. 2547. การพัฒนาวิธีการตรวจวัดปริมาณสารหอมในข้าว. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุวัสสา พงษ์อำไพ, สุภาภรณ์ ดั๊กกลาส, ละเอียด เพ็งโสภา. 2548. การสกัดสารเคทิชินจากชาเขียวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

สุธรรม สุขมณี . 2550. *การออกแบบอุปกรณ์ทางวิศวกรรมเคมี* . พิมพ์ครั้งที่ 5. สงขลา : มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุพจน์ นวลละออง, ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์, กุลชนาฐ ประเสริฐสิทธิ์, ราม แย้มแสงสังข์. 2552. การสกัดพรีไบโอติกส์จ ากเมล็ดขนุน. *วิศวกรรมสาร มหาวิทยาลัยขอนแก่น* 36 (3): 213-220.

สุพจ นวลละออง . 2552. การสกัดสารพรีไบโอติกส์จากพืชเกษตร . วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อาชัย พิทยภาคย์ , นคร ทิพยาวงศ์และวสันต์ จอมภักดี. 2546. การวิเคราะห์ทางเศรษฐศาสตร์ของการสกัดน้ำมันพืชเชิงกลสำหรับใช้ในชุมชนท้องถิ่น , *วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร* 11(3): 9-20.

การไฟฟ้าส่วนภูมิภาค. 2548. อัตราค่าไฟฟ้า. http://www.pea.co.th (สืบค้นเมื่อ 6 ตุลาคม 2553).

ดวงจันทร์ เกรียงสุวรรณ. 2535. คณะทรัพยากรธรรมชาติบทความวิทยุรายการสาระความรู้ทางการเกษตรเรื่อง มารู้จักขนุนกันดีกว่า http://natres.psu.ac.th /radio/radio_article /radio43-44/43-440025.htm Accessed on: 10 December 2009.

วันดี วราวิทย์,http://www.doctor.or.th/node/6931(Accessed November 18, 2009)

ฝ่ายข้อมูลส่งเสริมการเกษตร กองแผนงาน กรมส่งเสริมการเกษตร . 2546. สถิติการปลูกขนุนหนังในภาคใต้ ปี 2546. องค์การตลาดเพื่อเกษตรกร . http://www.mof.or.th (สืบค้นเมื่อ 18 มีนาคม 2552).

ฝ่ายข้อมูลเศรษฐกิจและสังคม สำนักงานคณะกรรมกา รพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ . 2530. แผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ . สำนักงานคณะกรรมการพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ. http://www.nesdb.go.th (สืบค้นเมื่อ 4 ตุลาคม 2553).

Agarwal, R. and Mulkhtar, H. 1996. Cancer Chemoprevention by Polyphenols in Green Tea and Artichoke. in *American Institute for Cancer Research (ed): Dietary Phytochemicals in Cancer Prevention and Treatment, Chap 4*. pp 35-50. New York: New York NY.

Aynur, S. and Ahmet, A. 2005. Solid-Liquid Extraction of Caffeine from Tea Waste Using BatteryType Extractor: Process Optimization. [online].

Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. 2006. Phenolic Compounds in Plants and Agri-Industrial By-Products: Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential Uses. *Food Chemistry*, 99: 191-203.

Betti, A. Bighi, C. Dondi, F. and Blo, G. 1983. Determination of phenols in water samples as 4-aminoantipyrine derivatives by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, 257: 69-79.

Boudhrioua, N., Bahloul, N., Ben Slimen, I. and Kechaou, N. 2009. Comparison on the Total Phenol Contents and the Color of Fresh and Infrared Dried Olive Leaves. *Industrial Crops and Products*, 29: 412-419.

Bonina, F., Puglia, C., Tomaina, A., Mulinacci, N., Romani, A. and Vincier, F. F. 2000. *In vitro* antioxidant and *in vivo* photoprotective effect of three lyophilized extracts of *Sedum telephium* L. leaves J. Pharm. Pharmacol., 52: 1279-1285.

Charm, S. E. 1978. *Fundamentals of Food Engineering*. 3rd ed. Westoport Conn: AVI Publishing Co.

Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R. and Larondelle, Y. 2007. Optimization of Extraction Conditions of Antioxidant Phenolic Compounds From Mashua (Tropaeolum Tuberosum Ru´ız & Pav´on) Tubers. *Separation and Purification Technology*, 55: 217-225.

Chrzanowski, G. Sempruch, C. and Sprawka, I. 2007. Investigation of Phenolic Acids in Leaves of Blackcurrant (Ribes Nigrum L.) and Sour Cherry (Prunus Cerasus L.). *Journal of Polish Agricultural Universities (EJPAU)*, 10(4): 42.

Dewick, P. M. 1998. Medinal Natural Products Great Britain: John Wiley and sons.

Dubois, M. Gilles, K.A. Hamilton, J.K. Rebers, P.A. and Smith, F. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Journal of Analytical Chemistry*, 28: 350-356.

Ekvall, J. Stegmark, R. and Nyman, M. 2007. Optimization of Extraction Methods for Determination of the Raffinose Family Oligosaccharides in Leguminous Vine Peas (*Pisum sativum L.*) and Effects of Blanching. Food Composition and Analysis, 20: 13-18

Frankel, E. N., Waterhouse, A. L., Teissedre, P. L. 1995. Principal Phenolic Phytochemicals in Selected California Wines and Their Antioxidant Activity in Inhibiting Oxidation of Human Low-Density Lipoproteins. *Food Chemistry*, 43: 890-894.

Geankoplis, C. J. 1993. Transport Processes and Unit Operations. New York: PTR Prentice-Hall, Inc.

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.

Grajek, W., Olejnik, A. and Sip, A. 2005. Probiotics, Prebiotics and Antioxidants as Functional Foods: A Review. *Acta Biochimica Polonica*, 52: 665-671.

Harborne, J. B. 1980. Plant Phenolics in "Secondary Plant Products" Bell, E. A. and Charlwood, B. V. (eds) Encyclopedia of Plant Physiology. New Series, 8: 329-402.

Hennion, M. C. 1999. Solid-Phase Extraction: Method Development, Sorbents, and Coupling with Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography A*, 856: 3-54.

Herodez, S. Hadolin, M. Skerget, M. and Knez, Z. 2003. Solvent Extraction Study of Antioxidant from Balm (*Melissa officinalis* L.) Leaves. *Food Chemistry*, 80: 275-282.

Hertog, M. G. L. and Katan, M. B. 1998. Quercetin in Foods, Cardiovascular Disease, and Cancer. in *Flavonoids in Health and Disease*, eds Rice-Evans C, Packer L. pp 483-522. New York: Marcel Dekker.

Kim, D. Lee, C. Y. in: Wrolstad, R.E. Acree, T.E. An, H. Decker, E. A. Penner, M. H. Reid, D. S. Sporns, P. Schwartz, S. J. and Shoemaker, C.F. (Eds.). 2002. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York: John Wiley & Sons Inc.

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.

Kingsbaker, C. L. 1978. Energy Conservation in the Solvent Extraction Area. *American Oil Chemists' Society*, 55(10): 184-185A.

Kusmartono. 2001. Estimasi Nilai Kecernaan Bahan Organik dan Energi Metabolis Limbah Buah Nangka (Artocarpus Heterophyllus) Melalui Pengukuran Produksi Fas Secara In Vitro. *Journal Peternakan Dan Lingkungan*, 7(2): 50-59.

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.

Li, B. B. Smith, B. and Hossain, Md. M. 2006. Extraction of Phenolics from Citrus Peels I. Solvent Extraction Method. *Separation and Purification Technology*, 48: 182-188.

Maisuthisakul, P. 2002. Effect of Extraction time on Phenolic Compound from Tew Leaf (Cratoxylum formosum Dyer.), Kradon Bok Leaf (Careya sphaerica Roxb.) and Phak Ban Leaf (Sauopus andrugynus Merr.). *University of the Thai Chamber of Commerce*, 23(2): 66-77.

Miliauskas G., Venskutonis, P.R. and van Beek, T. A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts Food Chem., 85: 231-237.

Mario, R. L., Solis, C., Khristof, G., Sandra, R. A., Pedro, G. L. 2008. Oligosaccharides Prebiotic Effect Obtained from Lupinus Exaltatus in Prevention of Salmonella in Chicken Embryos. Proceedings of the 2008 International Lupins Conference was Held in Fremantle. Western Australia, 14-18 September 2008: 177-179.

Masuda, T. and Jitoe, A. 1994. Antioxidative and antiinflammatory compounds from tropical gingers: Isolation, structure determination, and activities of cassumunins A, B, and C, new complex curcuminoids from *Zingiber cassumunar* J. Agric. Food Chem., 42:1850-1856.

Miller, G. L. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31: 426-428.

Mohamed, A. A. and Chang, T. L. 2008. Optimization of Phenolics and Dietary Fibre Extraction from Date Seeds. *Food Chemistry*, 108: 977-985.

Mussatto, S. I. and Mancilha, I. M. 2007. Non-Digestible Oligosaccharides: A Review. *Carbohydrate Polymers*, 68: 587-597.

Newmark, H. L. 1996. *Plants Phenolics as Potential Cancer Prevention Agents*. New York: Plenum Press.

Nissreen, A. G., and Mckenna, B. 1997. "Hydration Kinetics of Red Kidney Beans (Phaseolus Vugaris L.). *Food Science*, 62(1): 520-523.

Owen, R. Giacosa, A. Hull, W. Haubnwe, R. Spiegelhalder, B. and Bartsch, H. 2000. The Antioxidant/Anticancer Potential of Phenolic Compounds Isolated from Olive Oil. *European Journal of Cancer*, 36: 1235-1247.

Pornsmithikul, W. Chetpattananondh, P. Yamsaengsung, R. and Prasertsit, K. 2008. Continuous Extraction of Prebiotics from Jackfruit Seeds. the 18th Thailand Chemical Engineering and Applied Chemistry Conference. Jomtien Palm Beach Resort Pattaya. Cholburi, 20-21 October 2008.

Papus, M. A. 1998. Antioxidants Status, Diet, Nutrition and Health U. S. A: CRC Press.

Premalantha, B. and Sachdanandam, P. Semecarpus anacardium, L. 1999. *Semecarpus Anacardium L*. Nut Extract Administration Induces the in Vivo Antioxidant Defence System in Aflatoxin B1 Mediated Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Ethnopharmacol*, 66: 131-139.

Saxena, A. Bawa, A. S. and Raju, P. S. 2009. Phytochemical Changes in Fresh-Cut Jackfruit (Artocarpus Heterophyllus L.) Bulbs During Modified Atmosphere Storage. *Food Chemistry*. 115: 1443-1449.

Singleton, V. L. and Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Society for Enology and Viticulture*, 16: 144–158.

Soong, Y. Y. and Barlow, P. J. 2004. Antioxidant Activity and Phenolic Content of Selected Fruit Seeds. *Food Chemistry*, 88: 411–417.

Tyihak**,** E. Mincsovics, E. and Kalász, H. 1979. New Planar Liquid Chromatographic Technique: Overpressured Thin-Layer Chromatography. *Journal of Chromatography A*, 174: 75-81.

Vaivanijkul, N. 2000. Study Feasibility of Industrial Projects, Vegetables and Fruit Chips. Research Report, Sasin Graduate Institute of Business Administration, University of Chulalongkorn.

Vinson, J. A., Dabbagh, Y. A., Serry, M. M. and Jang, J. 1995. Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an *in vitro* oxidation model for heart disease J. Agric. Food Chem., 43: 2800-2802.

Wang, L. and Weller, C. L. 2006. Recent Advances in Extraction of Nutraceuticals from Plants. *The International Journal of Food Science & Technology*, 17(6): 300-312.

Waterhouse, A. L., in: Wrolstad, R. E., Acree, T.E., An, H., Decker, E.A., Penner, M.H., Reid, D.S., Sporns, P., Schwartz, S.J. and Shoemaker, C.F. (Eds.). 2002. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. New York: John Wiley & Sons Inc.

Wattenberg, L.W. 1978. Inhibitors of Chemical Carcinogenesis. *Advances in Cancer Research*, 26**:** 197–226.

Waterman, P. G. and S. Mole. Analysis of Phenolic Plant Metabolites. Blackwell Scienctific Publications. Oxford. 1994.

Xiaoli, X. Liti, Y. Shuang, H. Wei, L. Yi, S. Hao, M. Jusong, Z. and Xiaoxiong, Z. 2008. Determination of Oligosaccharide Contents in 19 Cultivars of Chickpea (Cicer arietinum L) Seed by High Performance Liquid Chromatography. *Food Chemistry*, 111: 215-219.

Yujaroen, P. Supjaroenkul, U and Rungrodnimitchai, S. 2008. Extraction of Pectin from Sugar Palm Meat. *Thammasat International Journal of Science and Technology*, 13: 44-47.

P., Laupattarakasem.http://www.smj.ejnal.com/journal/showdetail/?show_detail=T&art_id=281 (Accessed November 19, 2009)

http://th.wikipedia.org/ (Accessed November 18, 2009)

http://www.sithiphorn.com/newweb/newsletter/31-3-2005-1112256782.pdf (Accessed October 28, 2009)

http://www.sithiphorn.com/newweb/newsletter/18-5-2005-1116388436.pdf (Accessed November 1, 2009)

http://las.perkinelmer.com/local/Thailand/AS_HPLC.htm (Accessed October 21, 2009)

http://www.doctor.or.th/node/6931 (Accessed October 15, 2009)

http://books.google.co.th/books?id=uP_GAnQ5eUC&dq=extraction+optimization+in+food+engineering&printsec=frontcover&source=bn&hl=th&ei=8bVyS7W1GpDi7AOdjdzIDw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=4&ved=0CB8Q6AEwAw#v=onepage&q=&f=false (Accessed January 21, 2010)

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การปรับปรุงเครื่องสกัดแบบแบทช์

การเลือกวัสดุที่ใช้ปรับปรุงเครื่องสกัดให้เหมาะสมตามลักษณะการใช้งานเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อให้สามารถใช้งานเครื่องมือนั้น ๆ ได้อย่างปลอดภัย และไม่ทำให้ราคาของเครื่องมือที่จัดสร้างสูงเกินไป เนื่องจากในงานวิจัยนี้ได้ให้ความสนใจเกี่ยวกับการผลิตเครื่องสกัดพรีไบโอติกส์และสารประกอบฟีนอลิกส์จากเมล็ดขนุนแบบแบทช์ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ฉะนั้นสิ่งสำคัญที่ควรนึกถึงควบคู่กันไปคือ ความประหยัดและความปลอดภัยต่อชีวิตและสิ่งแวดล้อม (สุธรรม สุขมณี, 2550)

การปรับปรุงเครื่องสกัดแบบแบทช์

เนื่องจากเดิมฝาถังสกัดและฝาถังระเหยขนาดใหญ่เป็น Stainless steel เมื่อทำการสกัดที่อุณหภูมิสูงทำให้ไอของตัวทำละลายระเหยสู่บรรยากาศ เนื่องมาจากฝาถังสกัดและฝาถังระเหยสัมผัสไม่สนิทกับยางปะเก็นที่ตัวถัง ดังนั้นจึงได้นำยางซิลิโคน (Silicone rubber) มาหุ้มขอบของฝาถังสกัดและฝาถังระเหย เนื่องจากยางซิลิโคนเป็นผลลัพธ์จากการรวมกันของไนไตรล์ฟีนีล (phenyl) หรือกลุ่มฟลูออไรน์ (fluorine) ยางนี้มีความเสถียรมาก ไม่ได้รับผลกระทบจากแสงแดด ต้านทานต่อน้ำมันร้อน และมีความสามารถต่อการบิดงอภายใต้อุณหภูมิ - 100 ถึง+500 องศาฟาเรนไฮต์ มีความแข็งแรงต่อแรงดึงเฉลี่ยที่อุณหภูมิห้อง 300 ถึง 600 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว มีความสามารถยืดขยายให้ยาวได้ถึง 120% (บุญธรรม ภัทราจารุกุล, 2545)

ภาพประกอบ ก-1 ภาพถ่ายฝาถังสกัดก่อนปรับปรุง

ภาพประกอบ ก-2 ภาพถ่ายฝาถังสกัดหลังปรับปรุง

ภาพประกอบ ก-3 ภาพถ่ายฝาถังระเหยก่อนปรับปรุง

ภาพประกอบ ก-4 ภาพถ่ายฝาถังระเหยหลังปรับปรุง

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมีและวิธีการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total Sugars) โดยวิธี Modified Phenol Sulfuric Method (Dubois et al., 1956)

1.1 อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ประกอบด้วย

(1) ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 2-20 และ 20-200 ไมโครลิตร

(2) มัลติไมเชลเนลปิเปต (Multichannel Pipette) ขนาด 2-20 และ 20-200 ไมโครลิตร

(3) 96 Well Microtiter Plate

(4) Microtiter Plate Reader

(5) 5 เปอร์เซ็นต์ ฟีนอล

(6) 98 เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟิวริก

- การเตรียม 5 เปอร์เซ็นต์ ฟีนอล

ชั่งฟีนอล 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

1.2 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสารตัวอย่าง

-การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสสำหรับวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด

(1) เตรียมสาร Stock สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณ 100 มิลลิลิตร โดยชั่งกลูโคส 0.1 กรัม จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

(2) เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณ 10 มิลลิลิตร โดยปิเปต Stock สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

- ขั้นตอนการวิเคราะห์สารละลายกลูโคสเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

(1) ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงใน Microplate 96 หลุม

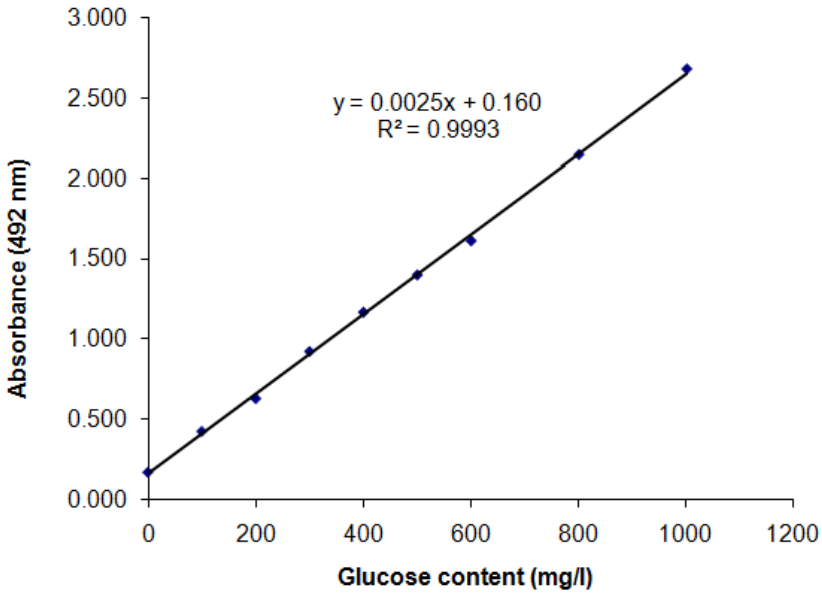
(2) ปิเปตสารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์ ฟีนอล ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงใน Microplate 96 หลุม จากนั้นเขย่า Microplate ที่ 500 รอบต่อนาที เพื่อให้สารผสมกันประมาณ 30 วินาที

(4) ปิเปต 98 เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟิวริก ปริมาตร 125 ไมโครลิตร ลงใน Microplate 96 หลุม จากนั้นเขย่าที่ 500 รอบต่อนาที เพื่อให้สารผสมกันประมาณ 30 วินาที

(5) ปิด Microplate ด้วยฟิล์มใสและห่อด้วยถุงซิปล็อค จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

(6) ทำให้ Plate เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องอย่างรวดเร็ว โดยวาง Microplate ลงบนน้ำแข็ง และนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microtiter Plate Reader

จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งแสดงในภาพประกอบ ข- 1 เพื่อใช้เปรียบเทียบหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสารตัวอย่าง



ภาพประกอบ ข-1 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคสสำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

1.3 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสารละลายตัวอย่าง

- การเตรียมสารละลายตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด

ชั่งสารสกัดดังแสดงในภาคผนวก ค ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร

- ขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในตัวอย่าง

1) ปิเปตสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในMicroplate 96 หลุม

(2) ปิเปตสารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์ ฟีนอล ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงใน Microplate 96 หลุม จากนั้นเขย่า Microplate ที่ 500 รอบต่อนาที เพื่อให้สารผสมกันประมาณ 30 วินาที

(4) ปิเปต 98 เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟิวริก ปริมาตร 125 ไมโครลิตร ลงใน Microplate 96 หลุม จากนั้นเขย่าที่ 500 รอบต่อนาที เพื่อให้สารผสมกันประมาณ 30 วินาที

(5) ปิด Microplate ด้วยฟิล์มใสและห่อด้วยถุงซิปล็อค จาก นั้นนำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

(6) ทำให้ Plate เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องอย่างรวดเร็ว โดยวาง Microplate ลงบนน้ำแข็ง และนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microtiter Plate Reader จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาพประกอบ ข-1)

2. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugars) โดยวิธี Modified Dinitrosalicylic Acid (Miller, 1959)

2.1 อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ประกอบด้วย

(1) ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 2-20 และ 20-200 ไมโครลิตร

(2) มัลติไมเชลเนลปิเปต (Multichannel Pipette) ขนาด 2-20 และ 20-200 ไมโครลิตร

(3) 96 Well Microtiter Plate

(4) Microtiter Plate Reader

(5) สารละลาย Dinitrosalicylic Acid

- การเตรียมสารละลาย Dinitrosalicylic Acid

สารละลาย Dinitrosalicylic Acid ประกอบด้วยสารเคมีต่างๆดังนี้

3,5-Dinitrosalicylic Acid		1%	w/v
Phenol			0.2%
w/v			
Sodium sulfite		0.05%	w/v
Sodium hydroxide		1%	w/v
Sodium potassium tartrate	20%	w/v	

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Dinitrosalicylic Acid 2.5 กรัม, ฟีนอล 0.5 กรัม, โซเดียมซัลไฟท์ 0.125 กรัม, โซเดียมไฮดรอกไซด์ 2.5 กรัม และโซเดียมโพแทสเซียมท าร์เทรต 50 กรัม ลงไป จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วย Magnetic Stirrer และปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

2.2 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ทั้งหมดในสารตัวอย่าง

- การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส

(1) เตรียม Stock สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณ 100 มิลลิลิตร โดยชั่งกลูโคส 0.1 กรัม จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

(2) เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550 และ 600 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณ 5 มิลลิลิตร โดยปิเปต Stock สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 และ 6.0 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

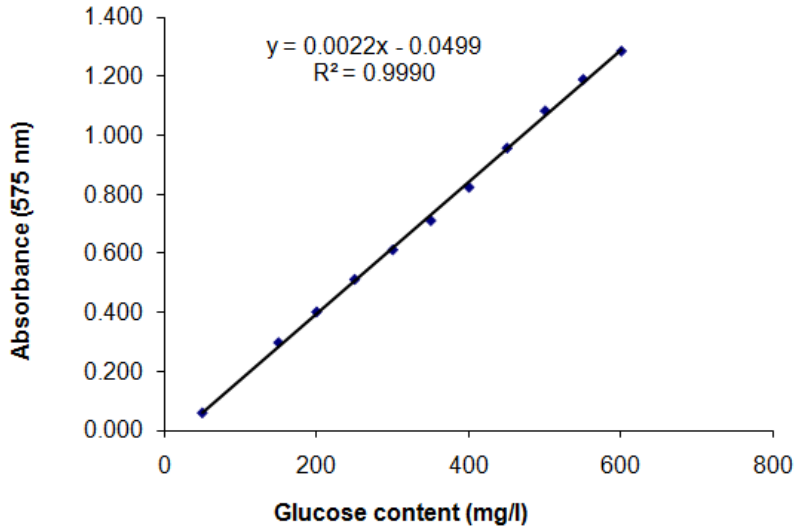
- ขั้นตอนการวิเคราะห์สารละลายกลูโคสเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

(1) ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงใน Microplate 96 หลุม

(2) ปิเปตสารละลาย Dinitrosalicylic Acid ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นเขย่า Microplate ที่ 500 รอบต่อนาที เพื่อให้สารผสมกันประมาณ 30 วินาที

(3) ปิด Microplate ด้วยฟิล์มใสและห่อด้วยถุงซิปล็อค จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

(4) ทำให้ Plate เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องอย่างรวดเร็ว โดยวาง Microplate ลงบนน้ำแข็ง และนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microtiter Plate Reader จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งแสดงในภาพประกอบ ข- 2 เพื่อใช้เปรียบเทียบหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารตัวอย่าง



ภาพประกอบ ข-2 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคสสำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

2.3 วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ในสารตัวอย่าง

- การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

(ชั่งสารสกัดดังแสดงในภาคผนวก ค ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร

- ขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ในสารละลายตัวอย่าง

(1) ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงใน Microplate 96 หลุม

(2) ปิเปตสารละลาย Dinitrosalicylic Acid ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นเขย่า Microplate ที่ 500 รอบต่อนาที เพื่อให้สารผสมกันประมาณ 30 วินาที

(3) ปิด Microplate ด้วยฟิล์มใสและห่อด้วยถุงซิปล็อค จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

(4) ทำให้ Plate เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องอย่างรวดเร็ว โดยวาง Microplate ลงบนน้ำแข็ง และนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microtiter Plate Reader จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาพประกอบ ข-2)

3. การหาปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ (Non-Reducing Sugars)

คำนวณหาปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ (Non-Reducing Sugars) ซึ่งได้แก่น้ำตาลในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์และโพลี แซคคาไรด์ที่เป็นกลุ่มของพรีไบโอติกส์ โดยนำปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหักลบด้วยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ดังสมการที่ 1

$$Non\text{-}Reducing\ Sugars = Total\ Sugars - Reducing\ Sugars \quad (1)$$

4. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกส์ทั้งหมด (Total Phenolics) โดยวิธี Folin-Ciocalteu Method (Soong et al., 2004)

4.1 อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้

(1) ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 2-20 และ 20-200 ไมโครลิตร

(2) มัลติไมเชลเนลปิเปต (Multichannel Pipette) ขนาด 2-20 และ 20-200 ไมโครลิตร

(3) 96 Well Microtiter Plate

(4) Microtiter Plate Reader

(5) Folin-Ciocalteu Reagent

(6) สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัว

- การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัว

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนตแอนด์ไฮดรัส 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปต้มให้เดือด ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นและเติมผลึกโซเดียมคาร์บอเนตแอนด์ไฮดรัสเล็กน้อย ตั้ง

ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองส่วนที่ไม่ละลายน้ำออก จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

4.2 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกส์ทั้งหมดในสารตัวอย่าง

-การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

(1) เตรียม Stock สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 2000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณ 100 มิลลิลิตร โดยชั่งกรดแกลลิก 0.2 กรัม จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

(2) เตรียมสารละลายมาตรฐานกรกแกลลิกความเข้มข้น 0, 150, 300, 450, 600, 750, 900, 1050, 1200, 1400, 1600, 1800 และ 2000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณ 10 มิลลิลิตร โดยปิเปต Stock สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 2000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0, 0.75, 1.5, 2.25, 3, 3.75, 4.5, 5.25, 6, 7, 8, 9, และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

- ขั้นตอนการวิเคราะห์สารละลายกลูโคสเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

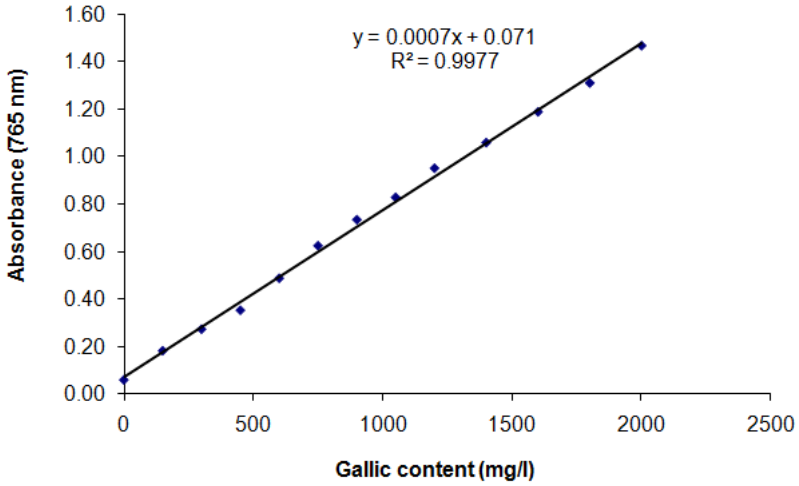
(1) ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ลงใน Microplate 96 หลุม

(2) ปิเปตน้ำกลั่นปริมาตร 158 ไมโครลิตร จากนั้นเขย่า Microplate ที่ความเร็ว 500 รอบต่อนาที เพื่อให้สารผสมกันเป็นเวลา 30 วินาที

(3) ปิเปต Folin-Ciocalteu Reagent ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ปิดด้วยกระดาษฟรอยด์ เขย่า Microplate ที่ความเร็ว 500 รอบต่อนาที เพื่อให้สารผสมกันเป็นเวลา 30 วินาที และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที

(4) ปิเปตสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 30 ไมโครลิตร ปิดด้วยฟิล์มใสและปิดทับด้วยกระดาษฟรอยด์ เขย่า Microplate ที่ความเร็ว 500 รอบต่อนาที เพื่อให้สารผสมกันเป็นเวลา 30 วินาที และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

(5) นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microtiter Plate Reader จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งแสดงในภาพประกอบ ข- 3 เพื่อใช้เปรียบเทียบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกส์ทั้งหมดในสารตัวอย่าง



ภาพประกอบ ข-3 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคสสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกส์ทั้งหมด

4.3 วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกส์ทั้งหมดในสารละลายตัวอย่าง

- การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

(ชั่งสารสกัดดังแสดงในภาคผนวก ค ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 5 มิลลิลิตร

- ขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกส์ทั้งหมดในสารละลายตัวอย่าง

(1) ปิเปตสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ลงใน Microplate 96 หลุม

(2) ปิเปตน้ำกลั่นปริมาตร 158 ไมโครลิตร จากนั้นเขย่า Microplate ที่ความเร็ว 500 รอบต่อนาที เพื่อให้สารผสมกันเป็นเวลา 30 วินาที

(3) ปิเปต Folin-Ciocalteu Reagent ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ปิดด้วยกระดาษฟรอยด์ เขย่า Microplate ที่ความเร็ว 500 รอบต่อนาที เพื่อให้สารผสมกันเป็นเวลา 30 วินาที และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที

(4) ปิเปตสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 30 ไมโครลิตร ปิดด้วยฟิล์มใสและปิดทับด้วยกระดาษฟรอยด์ เขย่า Microplate ที่ความเร็ว 500 รอบต่อนาที เพื่อให้สารผสมกันเป็นเวลา 30 วินาที และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

(5) นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microtiter Plate Reader จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาพประกอบ ข-3)

5. การวิเคราะห์หาความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของเอทานอลที่ระเหยได้จากถังระเหยของชุดสกัดแบบแบทช์

การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเอทานอลที่ระเหยได้ โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี (Gas chromatography, GC)

5.1 อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ประกอบด้วย

(1) เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี (Gas chromatography, GC)

(2) 99.9 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล

- การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอล

เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้น 4, 8, 12, 16, 20 และ 50 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยปิเปต 99.9 เปอร์เซ็นต์ เอทานอลปริมาณ 0.4, 0.8, 1.2, 2.0 และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

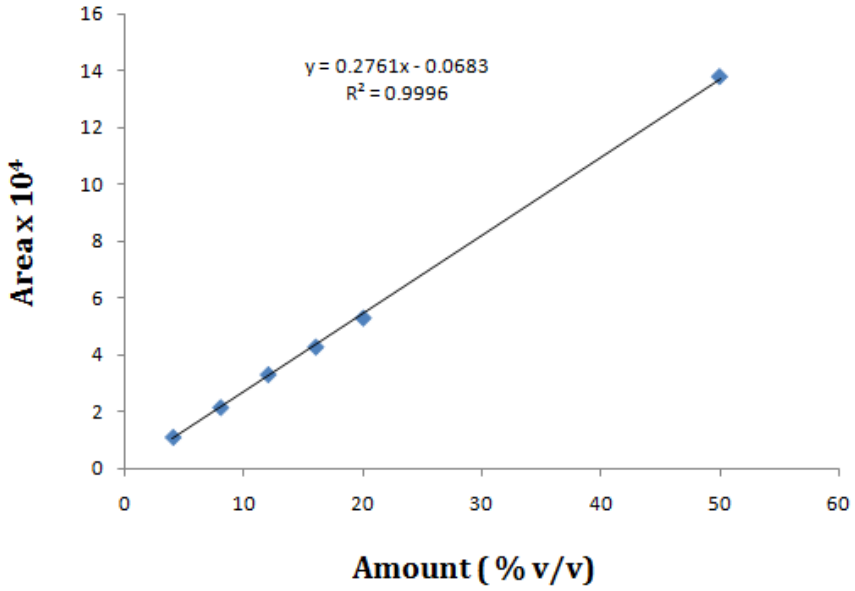
5.2 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายเอทานอลเพื่อใช้วิเคราะห์หาความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของเอทานอลที่ระเหยได้

นำสารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้นต่าง ๆ ไปตรวจวัดตามสภาวะดังตาราง ข-1 จากนั้นนำค่าพื้นที่ใต้พีค (Peak) ที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งแสดงในภาพประกอบ ข-4 เพื่อใช้เปรียบเทียบหาความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของเอทานอลที่ระเหยได้

ตาราง ข-1 สภาวะในการตรวจวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี (GC)

	Condition
Inlet temperature	270 °C
Carrier gas	He ,flow 1.0 ml/min, Splitless mode 1.0 min

Oven temperature	Initial temperature 50 °C held for 10 min
Column	HP-Innowax, length 30 m, internal diameter 0.32 mm and film thickness 0.25 σm



ภาพประกอบ ข-4 กราฟมาตรฐานสารละลายเอทานอลสำหรับวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเอทานอลที่ระเหยได้จากถังระเหยของชุดสกัดแบบแบทช์

5.3 วิเคราะห์หาความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของเอทานอลที่ระเหยได้จากสารสกัด

นำเอทานอลที่ระเหยจากสารสกัด ไปตรวจวัดตามสภาวะดังตาราง ข-1 จากนั้นนำค่าพื้นที่ใต้พีค (Peak) ที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาพประกอบ ข-4)

6. การหาความชื้น (Moisture content) การวิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐาน ASTM D 3173

6.1 อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ประกอบด้วย

(1) ตู้อบ (Drying oven)

(2) กระป๋องวัดความชื้น (Moisture can)

(3) เครื่องชั่ง

(4) เครื่องดูดความชื้น (Desiccator)

6.2 วิธีวิเคราะห์

(1) นำกระป๋องวัดความชื้น (Moisture can) อบในตู้อบ (Drying oven) ที่อุณหภูมิ 104-110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบทิ้งไว้ให้เย็นในเครื่องดูดความชื้น (Desiccator) 15-20 นาที แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก

(2) ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ใน Moisture can

(3) นำไปอบที่อุณหภูมิ 104-110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรืออบจนกระทั่งน้ำหนักของตัวอย่างคงที่ นำออกจากตู้อบตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในเครื่องดูดความชื้น 15-20 นาที ล้วนำออกมาชั่งน้ำหนัก

(5) คำนวณหาค่าความชื้น ตามสมการ (ข-1)

สูตรที่ใช้ในคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น } (\%) = \frac{A-B}{A} x100 \qquad \text{(ข-1)}$$

เมื่อ A = น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)

B = น้ำหนักของตัวอย่างหลังจากอบแห้ง (กรัม)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวสุพรรณยา ไพศาล

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5210120045

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2551

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนผู้ช่วยวิจัยระดับปริญญาโท คณะวิศวกรรมศาสตร์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พ.ศ. 2552

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Paisan, K., Yamsangsung, **R. and Chetpattananondh, P.** 2011. OPTIMIZATION OF PREBIOTICS AND PHENOLIC COMPOUNDS EXTRACTION FROM JACKFRUIT SEEDS USING RSM. Proceeding of the 5th PSU-UNS International Conference on Engineering and Technology (ICET-2011), May 2-3, 2011, Phuket, Thailand.