

### บทที่ 3

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง



การทดลองแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนหลัก คือ

#### 1. ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ

เพื่อกำจัดน้ำมันระเหยซึ่งมีองค์ประกอบที่ให้รสของเครื่องเทศ (the volatile flavor components of spice) ออกจากผงขมิ้นชัน เนื่องจาก รสของเครื่องเทศไม่เป็นที่ต้องการสำหรับผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปบางประเภทที่แต่งสีโดยใช้สารเคอร์คูมินอยด์ ดังกล่าวแล้วในบทที่ 2 ในขั้นตอนนี้จะทำการศึกษาเปรียบเทียบการสกัดน้ำมันระเหยระหว่าง วิธีการกลั่นด้วยน้ำร้อน (water distillation) และ วิธีการกลั่นด้วยไอน้ำโดยตรง (direct steam distillation) เพื่อเลือกวิธีการสกัดที่เหมาะสม และหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีการสกัดดังกล่าว พร้อมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงของร้อยละโดยน้ำหนักของสารเคอร์คูมินอยด์ ในขมิ้นชันหลังการเตรียมวัตถุดิบ

#### 2. ขั้นตอนการสกัดเคอร์คูมินอยด์ออกจากผงขมิ้นชัน

ในขั้นตอนนี้จะทำการศึกษาผลของตัวแปรต่าง ๆ ต่อประสิทธิภาพการสกัด เพื่อหาสภาวะการสกัดที่เหมาะสม โดยนำผงขมิ้นชันที่เตรียมได้มาสกัดสารเคอร์คูมินอยด์ออกจากขมิ้นชัน โดยใช้สารละลายทวิน 80 เป็นตัวทำละลาย หลังจากนั้นจึงนำเอาสารสกัดที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) เพื่อคำนวณหาค่าร้อยละการสกัดต่อไป ตัวแปรที่ทำการศึกษา ได้แก่

1. ความเร็วรอบการปั่นกวน
2. อุณหภูมิการสกัด
3. เวลาการสกัด
4. อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักผงขมิ้นชันต่อปริมาตรตัวทำละลาย
5. ขนาดผงขมิ้นชัน
6. ความเข้มข้นของสารทวิน 80 ในตัวทำละลาย
7. ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของตัวทำละลาย

ตารางที่ 3.1 แสดงสภาวะการทดลองในขั้นตอนการสกัดสารเคอร์คูมินอยด์ออกจากขมิ้นชัน

ชุดการทดลอง	ตัวแปรทดลอง	ตัวแปรควบคุม
3.1	ความเร็วรอบการปั่นกว 200, 250, 340, 440, 540 รอบ/ นาที	<ul style="list-style-type: none"> <li>- อุณหภูมิการสกัด 35 องศาเซลเซียส</li> <li>- เวลาการสกัด 120 นาที</li> <li>- อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักผงขมิ้นชันต่อปริมาณตัวทำละลาย 1 กรัม ต่อ 100 ซี.ซี.</li> <li>- ขนาดผงขมิ้นชัน มากกว่า เมช 50</li> <li>- ความเข้มข้นของสารทวิน 80 ในตัว-ทำละลาย 1 % โดยน้ำหนัก</li> <li>- ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวทำละลาย = 6.8</li> </ul>
3.2	<ul style="list-style-type: none"> <li>- อุณหภูมิการสกัด 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 องศาเซลเซียส</li> <li>- เวลาการสกัด 0-120 นาที</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ความเร็วรอบการปั่นกวเลือกความเร็วรอบที่เหมาะสมที่ได้จากการวิเคราะห์ผลการทดลองในชุดการทดลองที่ 3.1</li> <li>- อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักผงขมิ้นชันต่อปริมาณตัวทำละลาย 1 กรัม ต่อ 100 ซี.ซี.</li> <li>- ขนาดผงขมิ้นชัน มากกว่า เมช 50</li> <li>- ความเข้มข้นของสารทวิน 80 ในตัว-ทำละลาย 1 % โดยน้ำหนัก</li> <li>- ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวทำละลาย = 6.8</li> </ul>
3.3	อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักผงขมิ้นชันต่อปริมาณตัวทำละลาย 1 กรัม ต่อ 50 ซี.ซี. 1 กรัม ต่อ 100 ซี.ซี.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ค่าความเร็วรอบการปั่นกว, อุณหภูมิการสกัด และเวลาการสกัด เลือกค่าที่เหมาะสมที่ได้จากการวิเคราะห์ผลการทดลองในชุดการทดลองที่ 3.1, 3.2</li> </ul>

ชุดการทดลอง	ตัวแปรทดลอง	ตัวแปรควบคุม
	<p>อัตราส่วนน้ำหนักผงขมิ้นชันต่อปริมาณตัวทำละลาย</p> <p>1 กรัม ต่อ 150 ซี.ซี.</p> <p>1 กรัม ต่อ 200 ซี.ซี.</p> <p>1 กรัม ต่อ 250 ซี.ซี.</p> <p>1 กรัม ต่อ 300 ซี.ซี.</p> <p>1 กรัม ต่อ 350 ซี.ซี.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ขนาดผงขมิ้นชัน มากกว่า เมช 50</li> <li>- ความเข้มข้นของสารทวิน 80 ในตัวทำละลาย 1 % โดยน้ำหนัก</li> <li>- ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวทำละลาย = 6.8</li> </ul>
3.4	<p>ขนาดผงขมิ้นชัน</p> <p>ไม่สามารถผ่านกว่า เมช 30 ได้</p> <p>อยู่ระหว่าง เมช 30-60</p> <p>อยู่ระหว่าง เมช 60-140</p> <p>อยู่ระหว่าง เมช 140-170</p> <p>สามารถผ่านเมช 170 ได้</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ค่าความเร็วรอบการปั่นกวน อุณหภูมิ การสกัด เวลาการสกัด และอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักผงขมิ้นชันต่อปริมาณตัวทำละลาย เลือกค่าที่เหมาะสมที่ได้จากการวิเคราะห์ผลการทดลองในชุดการทดลองที่ 3.1- 3.3 ตามลำดับ</li> <li>- ความเข้มข้นของสารทวิน 80 ในตัวทำละลาย 1 % โดยน้ำหนัก</li> <li>- ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวทำละลาย = 6.8</li> </ul>
3.5	<p>ค่าความเข้มข้นของสารทวิน 80 ในตัวทำละลาย</p> <p>0.5, 1 ,2 ,3 ,4 ,5 ,10 ,20 %</p> <p>โดยน้ำหนัก</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ค่าความเร็วรอบการปั่นกวน อุณหภูมิ การสกัด เวลาการสกัด อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักผงขมิ้นชันต่อปริมาณตัวทำละลาย และขนาดผงขมิ้นชัน เลือกค่าที่เหมาะสมที่ได้จากการวิเคราะห์ผลการทดลองในชุดการทดลอง ที่ 3.1- 3.4 ตามลำดับ</li> <li>- ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวทำละลาย = 6.8</li> </ul>

ชุดการทดลอง	ตัวแปรทดลอง	ตัวแปรควบคุม
3.6	ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวทำละลาย 2,3,4,5,6,7	- ค่าความเร็วรอบการปั่นกวน อุณหภูมิ การสกัด เวลาการสกัด อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักผงขมิ้นชันต่อปริมาตรตัวทำละลาย ขนาดผงขมิ้นชัน และค่าความเข้มข้นของสารทวิน 80 เลือกค่าที่เหมาะสมที่ได้จากการวิเคราะห์ผลการทดลองในชุดการทดลอง ที่ 3.1-3.5 ตามลำดับ

### เหตุผลการเลือกสภาวะการทดลอง

#### ชุดการทดลองที่ 3.1

ในชุดการทดลองนี้ ได้เลือกค่าความเร็วรอบที่ใช้ในการทดลอง ให้ครอบคลุมทั้งช่วงก่อนเกิดวอร์เทค (vortex) : 200 , 250 รอบต่อนาที ในขณะที่เกิดวอร์เทค : 340 รอบต่อนาที และช่วงหลังเกิดวอร์เทค : 440 , 550 รอบต่อนาที โดยตั้งสมมุติฐานว่า การเพิ่มความเร็วรอบการปั่นกวนหลังเกิดวอร์เทค ไม่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผสมระหว่างผงขมิ้นชันกับตัวทำละลาย ส่วนตัวแปรที่เหลือถูกกำหนดให้คงที่ โดยกำหนดอุณหภูมิการสกัดให้ใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง (30-32 องศาเซลเซียส) ส่วนค่าอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักรวมขมิ้นชันต่อปริมาตรตัวทำละลาย ขนาดผงขมิ้นชัน และค่าความเข้มข้นของสารทวิน 80 ในตัวทำละลาย นั้นถูกกำหนดโดยอาศัยข้อมูลเบื้องต้นจากงานวิจัยที่ผ่านมา โดยเลือกค่าอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักรวมขมิ้นชันต่อปริมาตรตัวทำละลาย และขนาดผงขมิ้นชัน จากงานวิจัยการสกัดเคอร์คูมินอยด์จากขมิ้นชันโดยใช้เอทานอลและ อะซีโตน เป็นตัวทำละลาย [Krishnamurthy,N.,1976] และค่าความเข้มข้นของสารทวิน 80 ในตัวทำละลาย จากงานวิจัยการสกัดสารสโปนิน (sponin) จากรากขิง โดยใช้สารทริทอน X-100,114 [Qun Fang,2000] ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทไม่มีประจุ (nonionic surfactant) เช่นเดียวกับสารทวิน 80 สำหรับค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวทำละลายถูกกำหนดให้มีค่าเป็นกลาง

#### ชุดการทดลองที่ 3.2

ในชุดการทดลองนี้เลือกอุณหภูมิการสกัดสูงกว่าอุณหภูมิห้องเล็กน้อย(35 องศาเซลเซียส) แต่ไม่เกิน 70 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เนื่องจาก ในงานวิจัยของ Yang (1996) พบว่า ที่อุณหภูมิ

70 องศาเซลเซียส สารเคอร์คูมินอยด์ที่ละลายอยู่ในสารละลายที่เป็นกรด (acid aqueous sol<sup>n</sup>) จะมีอัตราการสลายตัวของสารเคอร์คูมินอยด์เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (first-order reaction) ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ มีน้ำเป็นตัวทำละลายและมีค่าความเป็นกรดเล็กน้อย ส่วนสภาวะการทดลองอื่น ๆ ถูกกำหนดให้คงที่ โดยที่ ค่าความเร็วรอบ-การปั่นกววน ถูกกำหนดขึ้นโดยเลือก ความเร็วรอบที่เหมาะสมที่ได้จากการวิเคราะห์ผลการทดลองในชุดการทดลองที่ 3.1 ส่วนตัวแปรที่เหลือถูกกำหนดให้คงที่ ดังเหตุผลที่ได้กล่าวไปแล้วในชุดการทดลองที่ 3.1

### ชุดการทดลองที่ 3.3

ค่าอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักผงขมิ้นชันต่อปริมาตรตัวทำละลายในการทดลองชุดนี้ ถูกกำหนดขึ้น โดยอาศัยข้อมูลเบื้องต้นจากวิทยานิพนธ์ ของ ดุษฎี จันดีโชติกุล (1992) [33] ส่วนสภาวะการทดลองอื่น ๆ ถูกกำหนดให้คงที่โดยที่ ค่าความเร็วรอบการปั่นกววน อุณหภูมิและเวลาการสกัดนั้น ถูกกำหนดโดยเลือกค่าที่เหมาะสมที่ได้จากการวิเคราะห์ผลการทดลองในชุดการทดลองที่ 3.1-3.2 ส่วนตัวแปรที่เหลือถูกกำหนดให้คงที่ ดังเหตุผลที่ได้กล่าวไปแล้วในชุดการทดลองที่ 3.1

### ชุดการทดลองที่ 3.4

ในการทดลองชุดนี้ แบ่งกลุ่มผงขมิ้นชันออกเป็น 5 กลุ่ม โดยพยายามแบ่งกลุ่มให้ได้ค่าร้อยละโดยน้ำหนักของผงขมิ้นชันแต่ละกลุ่มใกล้เคียงกัน ซึ่งค่าร้อยละโดยน้ำหนักของผงขมิ้นชันแต่ละกลุ่มในการทดลองนี้มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 17 ถึง 26 % โดยน้ำหนัก ส่วนสภาวะการทดลองอื่น ๆ ถูกกำหนดให้คงที่ โดยที่ ค่าความเร็วรอบการปั่นกววน อุณหภูมิ เวลาการสกัด และอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักผงขมิ้นชันต่อปริมาตรตัวทำละลายนั้น ถูกกำหนดโดยเลือกค่าที่เหมาะสม ที่ได้จากการวิเคราะห์ผลการทดลองในชุดการทดลองที่ 3.1-3.3 ส่วนตัวแปรที่เหลือถูกกำหนดให้คงที่ ดังเหตุผลที่ได้กล่าวไปแล้วในชุดการทดลองที่ 3.1

### ชุดการทดลองที่ 3.5

ค่าความเข้มข้นของสารทวิน 80 ในตัวทำละลายสำหรับการทดลองชุดนี้ ถูกกำหนดขึ้นโดยอาศัยข้อมูลเบื้องต้นจากงานวิจัยของ Qun Fang (2000) [28] เกี่ยวกับการสกัดสารสโพนิน (sponin) จากรากขิง โดยใช้สารลดแรงตึงผิวประเภทไม่มีประจุเช่นเดียวกันสารทวิน 80 ส่วนสภาวะการทดลองอื่น ๆ ถูกกำหนดให้คงที่ โดยที่ ค่าความเร็วรอบการปั่นกววน อุณหภูมิ เวลาการสกัด อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักผงขมิ้นชันต่อปริมาตรตัวทำละลายนั้น และขนาดขมิ้นชัน ถูกกำหนดโดยเลือกค่าที่เหมาะสมที่ได้จากการวิเคราะห์ผลการทดลองในชุดการ

ทดลองที่ 3.1-3.4 ตามลำดับ ส่วนค่าความเป็นกรด-ต่างของตัวทำละลายถูกกำหนดให้มีค่าเป็นกลาง

### ชุดการทดลองที่ 3.6

ในการทดลองชุดนี้ เลือกทำการทดลองในสภาวะที่เป็นกรด ( $\text{pH} = 3,4,5,6,7$ ) โดยอาศัยข้อมูลเบื้องต้นจากงานวิจัยของ Price ,B.C. (1996) [29] ซึ่งพบว่า สารเคอร์คูมินอยด์จะสลายตัวเมื่อละลายอยู่ในสารละลายที่มีความเป็นเบส ( $\text{pH} = 8-13$ ) โดยมีอัตราการสลายตัวเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ส่วนสภาวะการทดลองอื่น ๆ ถูกกำหนดให้คงที่ โดยเลือกค่าที่เหมาะสมที่ได้จากการวิเคราะห์ผลการทดลองในชุดการทดลองที่ 3.1-3.5 ตามลำดับ

### 3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. ไตรโซเดียมซิติเตรต ไดไฮเดรต ( $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) จากบริษัท Unilab, England
2. กรดซิติริก (CHO) จากบริษัท Carlo Erba , Italy
3. สารทวิน 80 (Tweens 80) จากร้านฮงฮวด ถนนเยาวราช เขตสัมพันธวงศ์ กรุงเทพฯ
4. เอทานอล ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) 95 % โดยปริมาตร จากบริษัท Chemical Lab House , Thailand
5. น้ำก่่าจัดแร่ธาตุ (Demineral water) จากองค์การเภสัชกรรม ถนนพระราม 6 กรุงเทพฯ
6. ผงขมิ้นชัน จากร้านเวชพงศ์ไอสถ ถนนเยาวราช เขตสัมพันธวงศ์ กรุงเทพฯ

### 3.2 อุปกรณ์การทดลอง

1. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ต่าง (pH-meter) รุ่น MP220 บริษัท Mettler-Toledo, Switzerland
2. เครื่องวัดการดูดกลืนคลื่นแสง (Spectrophotometer) รุ่น Spectronic Genesys 20 บริษัท Spectronic Instrument ,USA
3. เครื่องเหวี่ยงแยกสาร (centrifuge) รุ่น Kubota 5100 บริษัท Kubota Cooperation ,Japan
4. เครื่องกวนแบบมีแม่เหล็ก (hot plate & stirrer) รุ่น FTC1/11 บริษัท Fisher Scientific
5. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (4-digits balance) บริษัท Mettler-Toledo , Switzerland
6. เครื่องปรับค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า (variable transformer) output 110/220 V 50/60 Hz รุ่น TSB-10M บริษัท Yokoyama electric works
7. อุปกรณ์การกลั่นด้วยน้ำร้อน (water distillation) ดังรูปที่ 3.1 ประกอบด้วย

- ขวดรูปชมพู่ ขนาด 1,000 ซี.ซี. 1 ใบ
- ขังอ ประมาณ 45 องศา 1 ชั้น
- เครื่องควบแน่น (condenser) 1 ชั้น
- ตัวรองสารละลาย (receiver) 1 ชั้น
- บิวเรต 50 ซี.ซี. พร้อมขาตั้งและตัวหนีบ 1 ชุด
- เครื่องกวนแบบมีแม่เหล็ก 1 เครื่อง
- เครื่องปรับความต่างศักย์ไฟฟ้า 1 เครื่อง
- ป้อน้ำขนาดเล็ก 1 ตัว
- กระจกใส่น้ำหล่อเย็น ขนาด 15 ลิตร 1 ใบ

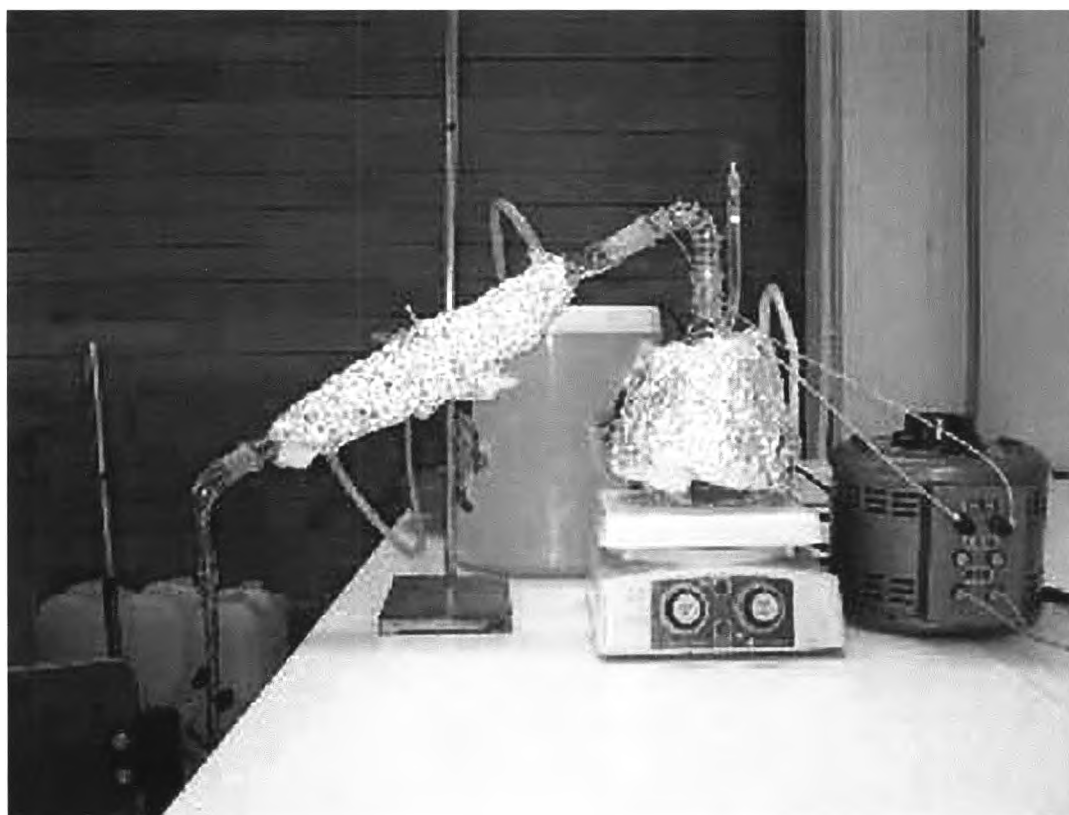
8. อุปกรณ์การกลั่นด้วยไอน้ำโดยตรง (direct steam distillation) ดังรูปที่ 3.2 ประกอบด้วย อุปกรณ์เช่นเดียวกันกับอุปกรณ์การกลั่นด้วยน้ำร้อน เพิ่มเติมคอลัมน์สำหรับบรรจุผงไขมันชั้น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7 เซนติเมตร สูงประมาณ 18 เซนติเมตร

9. อุปกรณ์การสกัดสารเคอร์คูมินอยด์ออกจากไขมันชั้น ดังรูปที่ 3.3 ประกอบด้วย

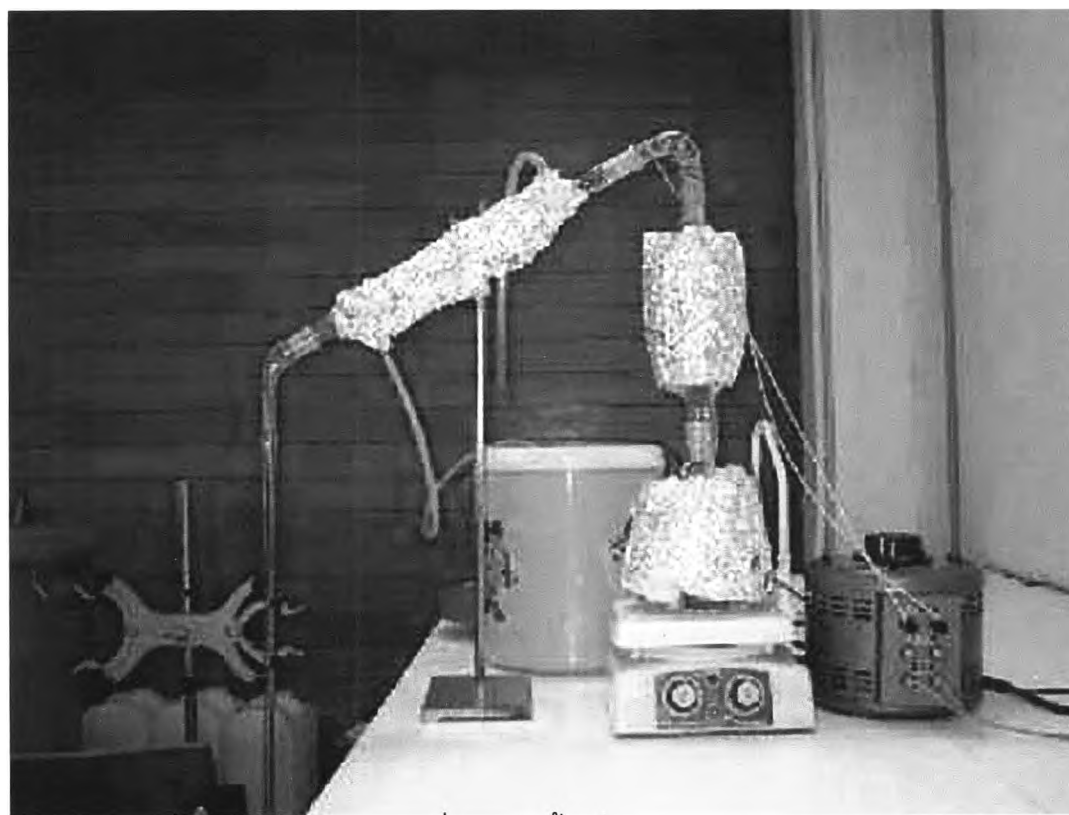
- มอเตอร์กระแสตรง (DC motor) ขนาด 24 โวลต์ 5 ตัว
- เครื่องปรับความเร็วรอบมอเตอร์ (voltage regulator) 5 เครื่อง
- ใบปั่นกวนสแตนเลส แบบ 4 ใบพัด (4 blades) 5 ชั้น  
มีแกนใบพัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.8 มิลลิเมตร (1 หุน ครึ่ง) ยาว 20 เซนติเมตร  
และ ใบพัดมีความกว้าง 2.2 มิลลิเมตร ยาว 24 มิลลิเมตร
- ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ซี.ซี. 5 ใบ
- ถาดอลูมิเนียม ขนาด 30 เซนติเมตร \* 40 เซนติเมตร 1 ใบ
- จุกยางเบอร์ 13 พร้อมลูกปืนขนาด 6 มิลลิเมตร 5 อัน

9. อุปกรณ์สำหรับหาค่าร้อยละโดยน้ำหนักของสารเคอร์คูมินอยด์ในผงไขมันชั้น ประกอบด้วย

- ขวดก้นกลมขนาด 250 ซี.ซี. 1 ใบ
- เต้าไฟฟ้า (heating mantle) รุ่น EMO1001C MK4 ขนาด 220/240 V 50/60 Hz บริษัท Electrothermal จำกัด 1 เครื่อง
- เครื่องควบแน่นแบบขด 1 ชั้น
- ป้อน้ำขนาดเล็ก 1 ใบ
- กระจกใส่น้ำหล่อเย็น ขนาด 15 ลิตร 1 ใบ

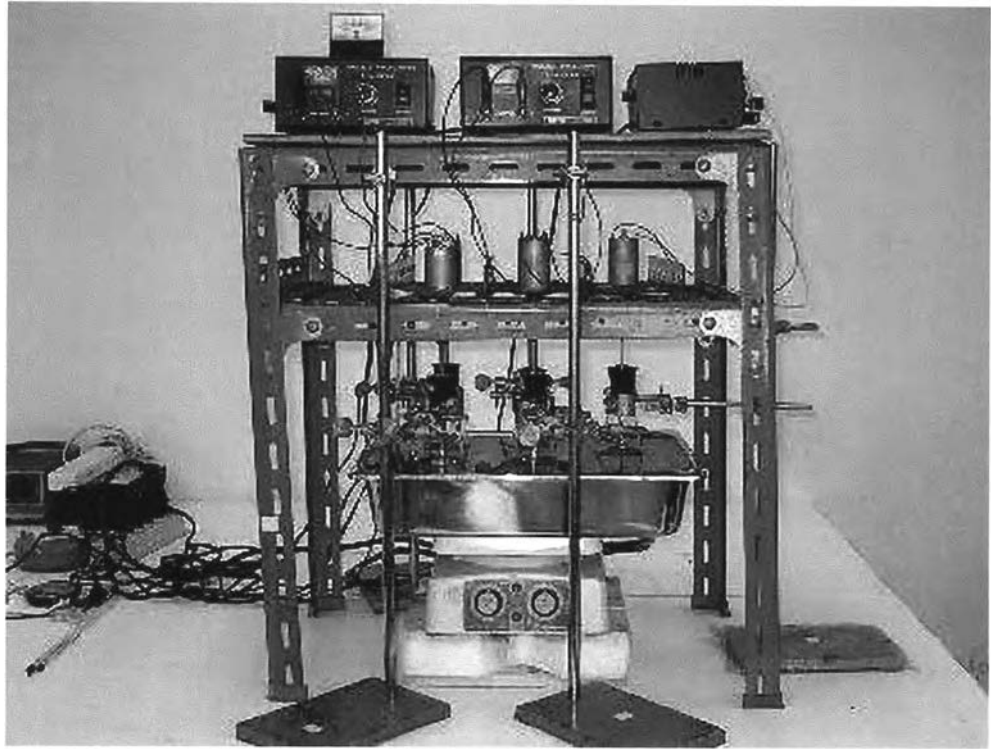


รูปที่ 3.1 อุปกรณ์การกลั่นด้วยน้ำร้อน (water distillation)



รูปที่ 3.2 รูปอุปกรณ์การกลั่นด้วยไอน้ำโดยตรง (direct steam distillation)





รูปที่ 3.3 อุปกรณ์การสกัดเคอร์คูมินอยด์ออกจากขมิ้นชัน

### 3.3 วิธีการทดลอง

#### 3.3.1 ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ

แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ วิธีการทดลองสำหรับการกลั่นด้วยน้ำร้อน (water distillation) และการกลั่นด้วยไอน้ำโดยตรง (direct steam distillation)

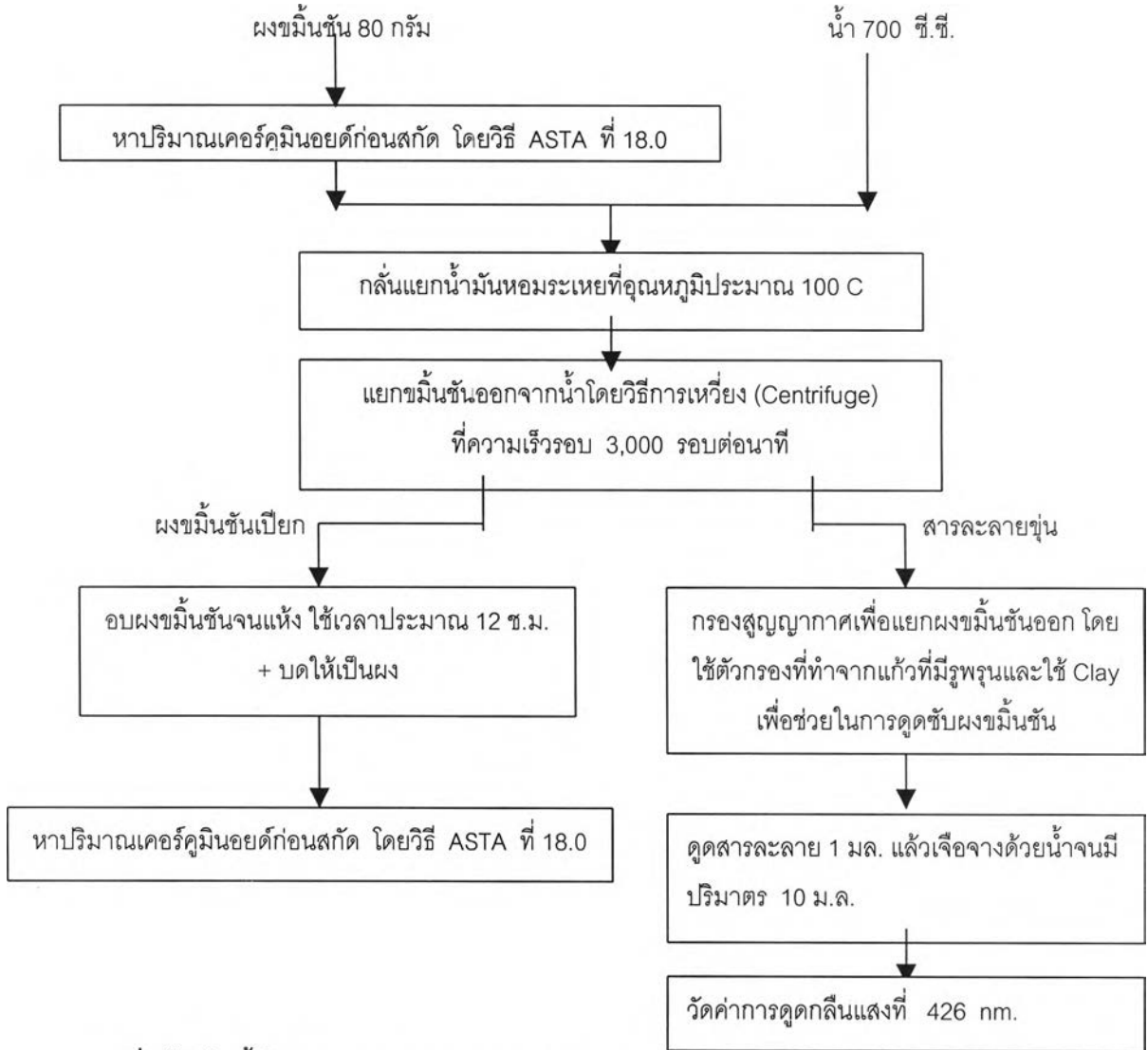
##### 3.3.1.1 การกลั่นด้วยน้ำร้อน (water distillation)

1. หาร้อยละโดยน้ำหนักเคอร์คูมินอยด์ในผงขมิ้นชัน ก่อนการสกัดน้ำมันระเหย ตามมาตรฐาน ASTA วิธีที่ 18.0 ในภาคผนวก ก
2. เติมน้ำกลั่นปริมาตรประมาณ 700 ซี.ซี. ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 1,000 ซี.ซี. และ ชั่งผงขมิ้นชันแห้งน้ำหนัก 80 กรัม เทลงในขวดรูปชมพู่ หลังจากนั้นปั่นกวนผงขมิ้นชันให้กระจายตัวในสารละลายอย่างทั่วถึง
3. จัดอุปกรณ์สำหรับกลั่นน้ำมันระเหยจากขมิ้นชัน ดังรูปที่ 3.1 หลังจากนั้นให้ความร้อนแก่สารละลาย ไอน้ำจะพาน้ำมันระเหยผ่านเครื่องควบแน่น เพื่อควบแน่นให้กลายเป็นของเหลวของผลที่กลั่นได้จะแยกชั้นในบิวเรต โดยน้ำมันระเหยซึ่งเบาว่าจะอยู่ด้านบน ในขณะที่ทำการกลั่น ให้ไซระบายน้ำออกจากบิวเรต และเติมน้ำลงในขวดรูปชมพู่เป็นระยะ เพื่อรักษาปริมาตรน้ำในขวดรูปชมพู่ให้คงที่ เนื่องจากถ้าระดับน้ำในขวดรูปชมพู่ลดลงไปถึงระดับหนึ่ง จะไม่สามารถปั่นกวน ให้ผงขมิ้นชันกระจายตัวในสารละลายได้ บันทึกปริมาตรน้ำมันระเหยทุก ๆ 20 นาที จนกระทั่งปริมาตรน้ำมันระเหยที่กลั่นได้ไม่เปลี่ยนแปลง
4. แยกขมิ้นชันออกจากน้ำด้วยวิธีการเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที นำผงขมิ้นชันเปียกที่เหวี่ยงแยกได้ไปอบจนแห้ง เป็นเวลาประมาณ 12 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปบดให้เป็นผง
5. หาร้อยละโดยน้ำหนักเคอร์คูมินอยด์ในผงขมิ้นชัน ก่อนการสกัดน้ำมันระเหย ตามมาตรฐาน ASTA วิธีที่ 18.0
6. นำสารละลายที่ผ่านการเหวี่ยงแยกผงขมิ้น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร มารองด้วยแก้วที่มีรูพรุน และใช้ Clay เพื่อช่วยในการดูดซับผงขมิ้นชัน
7. ดูดสารละลายใส่ที่กรองได้ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 10 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเคอร์คูมินอยด์ที่ค่าความยาวคลื่น 426 นาโนเมตร เพื่อคำนวณค่าร้อยละโดยน้ำหนักเคอร์คูมินอยด์ที่ละลายในน้ำ เมื่อเทียบกับก่อนสกัด

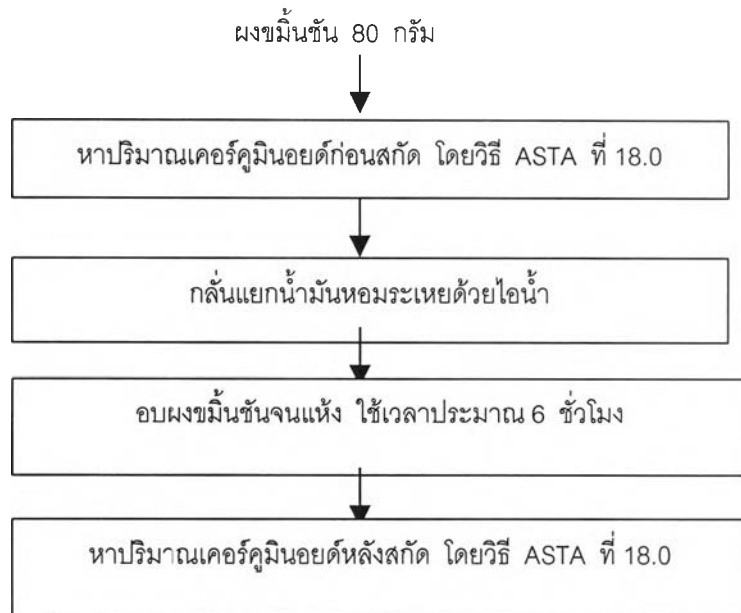
### 3.3.1.2 วิธีการกลั่นด้วยไอน้ำโดยตรง (direct steam distillation)

1. หาร้อยละโดยน้ำหนักเคอร์คูมินอยดีในผงขมิ้นชัน ก่อนการสกัดน้ำมันระเหย ตามมาตรฐาน ASTA วิธีที่ 18.0 ในภาคผนวก ก
2. ชั่งผงขมิ้นชันแห้ง น้ำหนัก 80 กรัม บรรจุลงในคอลัมน์แก้ว
3. จัดอุปกรณ์การกลั่นดังรูปที่ 3.2 ภายในขวดรูปชมพู่บรรจุน้ำกลั่นปริมาตร 700 มิลลิลิตร
4. ให้ความร้อนน้ำกลั่นแก่ขวดรูปชมพู่ ไอน้ำจะพาน้ำมันระเหยออกจากคอลัมน์ ผ่านเครื่องควบแน่นเพื่อควบแน่นให้กลายเป็นของเหลว ของผสมจะแยกชั้นในบิวเรต ในขณะที่กลั่นให้ไซระบายน้ำออกจากบิวเรตเป็นระยะ และเติมน้ำในขวดรูปชมพู่ให้คงที่ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.3.1.1 บันทึกปริมาตรน้ำมันระเหย ทุก ๆ 20 นาที จนกระทั่งปริมาตรของน้ำมันระเหยที่กลั่นได้ไม่เปลี่ยนแปลง
5. นำผงขมิ้นชันมาอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พร้อมทั้งบันทึกน้ำหนักผงขมิ้นชัน ทุก ๆ 1 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักผงขมิ้นชันไม่เปลี่ยนแปลง
6. บดผงขมิ้นชันให้ละเอียดและร่อนเพื่อคัดแยกขนาด หลังจากนั้นบรรจุผงขมิ้นชันในถุงสุญญากาศแล้วเก็บไว้ในเดสซิเคเตอร์
7. หาร้อยละโดยน้ำหนักเคอร์คูมินอยดีในผงขมิ้นชัน ก่อนการสกัดน้ำมันระเหย ตามมาตรฐาน ASTA วิธีที่ 18.0 ในภาคผนวก ก

## 8. การกลั่นด้วยน้ำร้อน (Water Distillation)



## การกลั่นด้วยไอน้ำโดยตรง (Direct Steam Distillation)



แผนภูมิที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการสกัดน้ำมันระเหยออกจากขมิ้นชัน

### 3.3.2 ขั้นตอนการสกัดเคอร์คูมินอยด์ออกจากผงขมิ้นชัน

ในส่วนนี้จะกล่าวถึง วิธีการเตรียมตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด และ วิธีการทดลองการสกัดสารเคอร์คูมินอยด์จากขมิ้นชัน ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ส่วน

- ส่วนแรก สำหรับชุดการทดลองที่ 3.1, 3.2 ซึ่งทำการศึกษามลของความเร็วรอบการปั่นกวน อุณหภูมิและเวลา ต่อการสกัดสารเคอร์คูมินอยด์ในช่วงเวลา 0-120 นาที
- ส่วนที่สอง สำหรับชุดการทดลองที่ 3.3-3.6 ซึ่งทำการศึกษามลของอัตราส่วนน้ำหนักรวมขมิ้นชันต่อปริมาตรตัวทำละลาย ขนาดผงขมิ้นชัน ค่าความเข้มข้นสารทวิน 80 ในตัวทำละลาย และ ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวทำละลาย ต่อการสกัดสารเคอร์คูมินอยด์ โดยทำการสกัดในช่วงเวลาที่เหมาะสมที่ได้จาก ชุดการทดลองที่ 3.2

#### 3.3.2.1 วิธีการเตรียมตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

ชุดการทดลองที่ 3.1-3.4

ชั่งสารทวิน 80 น้ำหนัก 1,200 กรัม นำมาละลายในน้ำ ปริมาตร 118.18 ลิตร ซึ่งบรรจุในถังขนาด 35 แกลลอน จนเข้ากันเป็นเนื้อเดียว เพื่อให้ได้ตัวทำละลายที่ค่าความเข้มข้นของสารทวิน 80 เท่ากับ 1 % โดยน้ำหนัก ปริมาตร 120 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 3.5

ชั่งสารทวิน 80 มาละลายในน้ำ เพื่อให้ได้ตัวทำละลายปริมาตร 2 ลิตรที่มีค่าความเข้มข้นของสารทวิน 80 เท่ากับ 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20 % โดยน้ำหนักตามลำดับ

ชุดการทดลองที่ 3.6

1. เตรียมสารละลายกรดซิตริก 0.1 M โดยชั่งกรดซิตริกน้ำหนัก 84.04 กรัม นำมาละลายในสารละลายในสารละลายทวิน 80 ที่ได้จากการวิเคราะห์ผลการทดลองในชุดการทดลองที่ 3.5 ให้ได้ปริมาตรของสารละลายกรดซิตริก เป็น 4 ลิตร
2. เตรียมสารละลายโซเดียมซิเตรต 0.1 M โดยชั่งสารโซเดียมซิเตรต น้ำหนัก 132.35 กรัม นำมาละลายในสารละลายในสารละลายทวิน 80 ที่ได้จากการวิเคราะห์ผลการทดลองในชุดการทดลองที่ 3.5 ให้ได้ปริมาตรของสารละลายโซเดียมซิเตรต เป็น 4.5 ลิตร
3. นำสารละลายดังกล่าว มาผสมกัน ตามสัดส่วนในภาคผนวก ข เพื่อให้ได้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ตามต้องการ ยกตัวอย่างเช่น เมื่อต้องการเตรียมตัวทำละลายที่มีค่า pH = 3 ให้นำสารละลายกรดซิตริก 0.1 M ปริมาตร 1,640 ลิตร มาผสมกับสารละลายโซเดียมซิเตรต 0.1 M ปริมาตร 360 ลิตร เป็นต้น

นำตัวทำละลายที่เตรียมได้ในแต่ละค่าความเข้มข้นของสารทวิน 80 (0.5,1,2,3,4,5, 10,20% โดยน้ำหนัก) และค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวทำละลาย ( $\text{pH} = 3,4,5,6,7$ ) มาหาค่าความยาวคลื่นที่สามารถดูดกลืนแสงได้มากที่สุด ( $\lambda_{\text{max}}$ ) เพื่อใช้เป็นค่าความยาวคลื่นสำหรับวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเคอร์คูมินอยด์ในแต่ละสภาวะการทดลอง ซึ่งพบว่า ค่าความยาวคลื่น 424 นาโนเมตร เป็นค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงได้มากที่สุด

### 3.3.2.1 วิธีการทดลองสำหรับชุดการทดลองที่ 3.1,3.2

เนื่องจาก ในช่วง 20 นาทีแรกของการสกัด ค่าร้อยละการสกัด (%recovery) จะมีค่าการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว ดังนั้นจะแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ช่วงเวลา คือ ช่วงเวลา 0-20 นาที และ ช่วงเวลา 20-120 นาที

#### ช่วงเวลา 0-20 นาที

1. จัดอุปกรณ์การทดลองดังรูป 3.3 หลังจากนั้นให้ความร้อนแก่น้ำในอ่างอุลุมิเนียม จนถึงอุณหภูมิที่ทำการทดลอง
2. เติมสารละลายทวิน 80 (solvent) ปริมาตร 150 ซี.ซี. ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ซี.ซี. จนครบทั้ง 5 ใบ วัดอุณหภูมิสารละลายด้วยเทอร์โมมิเตอร์ 0-100 องศาเซลเซียส รอจนสารละลายมีอุณหภูมิ เท่ากับอุณหภูมิที่ทำการทดลอง
3. เติมผงขมิ้นชัน น้ำหนัก 1.5 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ใบแรก พร้อมทั้ง ปรับความเร็วรอบการปั่นกวนให้ได้ค่าตามที่กำหนดไว้ในตารางที่ 3.1 โดยใช้เครื่องควบคุมความเร็วรอบ (voltage regulator) ปรับค่าความต่างศักย์คร่อมมอเตอร์ เพื่อเปลี่ยนปริมาณกระแสไฟฟ้าที่ผ่านมอเตอร์ หลังจากนั้นในเติมผงขมิ้นชัน น้ำหนัก 1.5 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ แต่ละใบที่เหลือห่างกันเป็นเวลา 4 นาที แล้วจึงหยุดปั่นกวนพร้อมกัน หลังจากเริ่มปั่นกวนสารละลายในขวดรูปชมพู่ใบแรกเป็นเวลา 20 นาที
4. นำตัวอย่างสารละลายไปเหวี่ยงแยก (centrifuge) ผงขมิ้นชันออก ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นดูดสารละลายใส่ในหลอดทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยสารละลายลดแรงตึงผิวจนมีปริมาตร 100 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ค่าความยาวคลื่น 424 นาโนเมตร บันทึกค่าที่วัดได้ เพื่อนำไปคำนวณค่าร้อยละการสกัด (%recovery) ที่เวลาการสกัด 4,8,12,16,20 นาที ตามภาคผนวก ก

- เปลี่ยนค่าอุณหภูมิการสกัด หรือค่าความเร็วรอบการปั่นกววน ทำซ้ำตั้งแต่ขั้นตอนที่ 1 ถึง ขั้นตอนี่ 4 ใหม่

ช่วงเวลา 20-120 นาที

ทำการทดลองเหมือนกันกับช่วงเวลา 0-20 นาที ยกเว้นในขั้นตอนที่ 3 ให้เติมผงขมิ้นชันลงในขวดรูปชมพู่ แต่ละใบให้ห่างกันเป็นเวลา 20 นาที ยกเว้น ขวดรูปชมพู่ใบที่ 2 ที่เติมผงขมิ้นชันห่างจากขวดรูปชมพู่ใบแรก 40 นาที

### 3.3.2.3 วิธีการทดลองสำหรับชุดการทดลองที่ 3.3-3.6

- จัดอุปกรณ์การทดลองดังรูป 3.3 หลังจากนั้นให้ความร้อนแก่น้ำในอ่างอุลุมิเนียม จนถึงอุณหภูมิที่ทำการทดลอง
- เติมสารละลายทวิน 80 (solvent) ปริมาตร 150 ซี.ซี. ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ซี.ซี. จนครบทั้ง 5 ใบ วัดอุณหภูมิสารละลายด้วยเทอร์โมมิเตอร์ 0-100 องศาเซลเซียส รอจนสารละลายมีอุณหภูมิ เท่ากับอุณหภูมิที่ทำการทดลอง
- เติมผงขมิ้นชันลงในขวดรูปชมพู่ใบแรก ให้ได้อัตราส่วนผงขมิ้นชันต่อปริมาตรตัวทำละลายตามที่กำหนดไว้ ในตารางที่ 3.1 ปั่นกววนสารละลายที่ค่าความเร็วรอบที่เหมาะสมที่หาได้จากชุดการทดลองที่ 3.1 หลังจากนั้น ให้เติมผงขมิ้นชันลงในขวดรูปชมพู่แต่ละใบที่เหลือห่างกันเป็นเวลา 1 นาที ปั่นกววนสารละลายในขวดรูปชมพู่แต่ละใบเป็นระยะเวลาเท่ากันเท่ากับระยะเวลาที่เหมาะสม ที่หาได้จากชุดการทดลอง 3.2 หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างสารละลายในหลอดทดลองขนาด 10 ซี.ซี.
- นำตัวอย่างสารละลายไปเหวี่ยงแยก (centrifuge) ผงขมิ้นชันออก ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้น ดูดสารละลายใสในหลอดทดลอง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยสารละลายลดแรงตึงผิวจนมีปริมาตร 100 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ค่าความยาวคลื่น 424 นาโนเมตร บันทึกค่าที่วัดได้ เพื่อนำไปคำนวณค่าร้อยละการสกัด (%recovery) ตามภาคผนวก ก
- เปลี่ยนค่าตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง ทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ขั้นตอนที่ 1 ถึง ขั้นตอนี่ 4 ใหม่