การศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำและการประยุกต์ใช้สำหรับเครื่องสำอางประเภทเอนแคปซูเลชันอิมัลชัน

นางสาวจุฬาวรรณ์ ดอกไม้งาม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE STUDY OF PHENOLIC COMPOUNDS EXTRACTION FROM *Wolffia globosa* AND ITS APPLICATION FOR ENCAPSULATION- BASED EMULSION COSMETIC

Miss Chulawan Dorkmaingam

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering

Department of Chemical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2017

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำและการประยุกต์ใช้สำหรับเครื่องสำอางประเภทเอนแคปซูเลชันอิมัลชัน
โดย	
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ ดร.พิมพ์พร พลเพชร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	อาจารย์ ดร.ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

---------- คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ เตชวรสินสกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

---------- ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุรเทพ เขียวหอม)

---------- อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ ดร.พิมพ์พร พลเพชร)

---------- อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์ ดร.ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล)

---------- กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ พัฒนะศรี)

---------- กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรีเมฆ ชาวโพงพาง)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

จุฬาวรรณ์ ดอกไม้งาม : การศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำและการประยุกต์ใช้สำหรับเครื่องสำอางประเภทเอนแคปซูเลชันอิมัลชัน (THE STUDY OF PHENOLIC COMPOUNDS EXTRACTION FROM *Wolffia globosa* AND ITS APPLICATION FOR ENCAPSULATION-BASED EMULSION COSMETIC) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อ. ดร.พิมพ์พร พลเพชร, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: อ. ดร.ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล, 94 หน้า.

จุดมุ่งหมายหลักของงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาหาสภาวะที่หมาะสมของการสกัดและการพัฒนาการขึ้นรูปไมโครอิมัลชันของไข่น้ำ อิทธิพลของพารามิเตอร์การสกัดต่อค่าผลได้และค่าต้านอนุมูลอิสระของไข่น้ำได้ถูกประเมิน สภาวะที่เหมาะสมของการสกัด คือ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 120 นาที เมื่อใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และ อัตราส่วนตัวทำละลายต่อของแข็ง ที่ 15 ต่อ 1 ค่าสูงสุดที่ได้ คือ ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก (40.23 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนัก) ค่าผลได้สารฟลาโวนอยด์ (258.09 มิลลิกรัมสมมูลสารเคซินต่อกรัมน้ำหนัก) และค่าความสามารถต้านอนุมูลอิสระ (34.98 มิลลิกรัมสมมูลสารโทล็อกซ์เมื่อวัดด้วยวิธี DPPH) จากผลที่ได้นั้นค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของการสกัดมีค่าในช่วง 6.43×10^{-7} ถึง 1.32×10^{-6} ตารางเมตรต่อวินาที สารสกัดได้ถูกนำมากักเก็บในรูปไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำที่ผลิตโดยการใช้เครื่องปั่นความเร็วสูง ผลของปริมาณน้ำมัน ชนิดสารลดแรงตึงผิว ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว และเวลาที่ทำให้เกิดอิมัลชันต่อสมบัติทางกายภาพเคมีของไมโครอิมัลชันได้ถูกตรวจสอบ สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไมโครอิมัลชัน คือ ใช้กรดสเตียริกความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก สารลดแรงตึงผิวร่วมชนิดผสมระหว่าง TWEEN ® 40 และ Cremophor ® RH40 ในปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และเวลาในการทำให้เกิดอิมัลชัน 15 นาที ไมโครอิมัลชันของไข่น้ำมีขนาดอนุภาค 0.658 ไมโครเมตร ค่าศักย์ซีต้า -47.00 มิลลิโวลต์ และค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่ 0.264 อนุภาคทรงกลมมีค่ากักเก็บมากที่สุดที่ 91.45 เปอร์เซ็นต์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาควิชา วิศวกรรมเคมี	ลายมือชื่อนิสิต ----------
สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก ----------
ปีการศึกษา 2560	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม ----------

5870990921 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEYWORDS: WOLFFIA GLOBOSA / EXTRACTION / PHENOLIC COMPOUNDS / EMULSION

CHULAWAN DORKMAINGAM: THE STUDY OF PHENOLIC COMPOUNDS EXTRACTION FROM *Wolffia globosa* AND ITS APPLICATION FOR ENCAPSULATION- BASED EMULSION COSMETIC. ADVISOR: PH.D.PIMPORN PONPESH, CO-ADVISOR: PH.D.CHUTIMON SATIRAPIPATHKUL, 94 pp.

The main purpose of this research work is to investigate the optimal condition for extraction and develop a microemulsion formulation of *Wolffia globosa*. Influence of extraction parameters on yield and antioxidant activity of *Wolffia globosa* were evaluated. Optimal extraction condition was 50 °C for 120 min with 70% ethanol solution and a 15:1 solvent-to-solid ratio. The highest phenolic yield (40.23 mg GAE / g weight), flavonoid yield (258.09 mg CE /g weight) and antioxidant activity (34.98 mg Trolox for DPPH scavenging assay) of *Wolffia globosa* were obtained. From the results, the effective diffusivity of extraction was ranged from 6.43×10^{-7} to 1.32×10^{-6} m^2/s. The extract was encapsulated into oil-in-water microemulsion produced by using high speed homogenizer. The effect of oil content, surfactant type, surfactant concentration and emulsification time on physicochemical properties of microemulsion was examined. The optimum condition was 10% stearic acid, 10% surfactant (TWEEN ® 40 with Cremophor ® RH40) and emulsification time 15 minute. Microemulsion of Wolffia globosa had average size of 0.658 μm, zeta potential value of -47.00 mV and polydispersity index of 0.264. Spherical particles with maximum entrapment of 91.45 % was obtained.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Department:	Chemical Engineering	Student's Signature	----------
Field of Study:	Chemical Engineering	Advisor's Signature	----------
Academic Year:	2017	Co-Advisor's Signature	----------

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีโดยได้รับความอนุเคราะห์ ช่วยเหลือที่ดีจากบุคคลต่างๆ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อ.ดร. พิมพ์พร พลเพชร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ อ.ดร.ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและแนะนำแนวทางการวิจัย และให้ข้อคิดเห็นในการแก้ไขปัญหาต่างๆ ตลอดจนช่วยแก้ไขและเพิ่มเติมวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตั้งแต่ต้นจนสำเร็จเป็นรูปเล่ม

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ซึ่งประกอบด้วย รศ.ดร.สุรเทพ เขียวหอม ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.สุพจน์ พัฒนะศรี และ ผศ.ดร.ศรีเมฆ ชาวโพงพาง กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเพื่อน พี่และน้องๆ ทุกคนที่ได้ให้ความช่วยเหลือเป็นกำลังแรงใจให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ท้ายที่สุด ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ทุกคนในครอบครัว และท่านผู้มีพระคุณทุกท่าน ที่ได้ให้ความสนับสนุนและเป็นกำลังใจแก่ข้าพเจ้าในการศึกษาจนสำเร็จลุล่วงมาโดยตลอด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญรูปภาพ ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2

1.3 ขอบเขตงานวิจัย 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 หลักการทางวิชาการ และข้อมูลอ้างอิงที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 ข้อมูลทั่วไปของไข่น้ำ 4

2.2 องค์ประกอบทางเคมีของไข่น้ำ 6

2.3 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในไข่น้ำ 7

2.4 สารพฤกษเคมี (Phytochemicals) 8

2.5 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compound) 8

2.5.1 การจำแนกประเภทของสารประกอบฟีนอลิก 9

2.5.2 ตัวอย่างสารประกอบฟีนอลิกประเภทต่างๆที่พบในพืช 11

2.5.2.1 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) 11

2.5.2.2 แอนโธไซยานิน (Anthocyanin) 11

2.5.3 ประโยชน์ของสารประกอบฟีนอลิก 12

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

2.6 การสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช 14
2.7 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction) 14
2.7.1 การสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid- liquid extraction) 14
2.7.2 การสกัดของแข็งด้วยของเหลว (solid- liquid extraction) 14
2.8 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชด้วยเทคนิคสกัดของแข็งด้วยของเหลว 15
2.9 กระบวนการชะละลาย (Leaching Step) 15
2.9.1 การถ่ายโอนมวลสารภายนอกเฟสของแข็ง (External Mass Transfer) 17
2.9.2 การถ่ายโอนมวลสารภายในเฟสของแข็ง (Internal Mass Transfer) 18
2.9.2.1 ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ยังผล (Effective Diffusivity) 18
2.9.2.2 กฎข้อที่สองของฟิกส์ (Fick's second law diffusion) 19
2.9.2.3 ขั้นกำหนดอัตราการแพร่ในการชะละลาย (Rate Limiting Step) 20
2.9.2.4 การหาค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ยังผล (Def) 20
2.10 กระบวนการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช 21
2.10.1 กระบวนการเตรียมสารสารตัวอย่างสำหรับการสกัด 21
2.10.2 เทคนิคการสกัดสารประกอบฟีนอลิก 21
2.10.2.1 เทคนิควิธีการสกัดแบบกะ (Batch extraction) 21
2.10.2.2 เทคนิควิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง (Continuous extraction) 21
2.10.2.3 เทคนิคการสกัดแบบต่อเนื่องสวนทาง (Continuous-Counter current extraction) 22
2.11 ปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช 23
2.11.1 ระยะเวลาในการสกัด 23
2.11.2 ขนาดอนุภาคของพืชสมุนไพร 23
2.11.3 ชนิดตัวทำละลาย [25] 23

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

2.11.4 อุณหภูมิในการสกัด 24
2.11.5 การปั่นกวน 24
2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช 25
2.13. กระบวนการผลิตเอนแคปซูเลชันอิมัลชัน (Emulsion-based encapsulation) 27
2.13.1 ระบบอิมัลชัน (Emulsion System) 27
2.13.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างอิมัลชัน 27
2.13.3 ประเภทของอิมัลชันจำแนกตามเทคนิคในการผลิต 28
2.13.3.1 อิมัลชันแบบชั้นเดียว (Single Emulsions) 28
2.13.4.2 อิมัลชันแบบหลายชั้น (Conventional Multiple Emulsions) แบ่งเป็น 2 ประเภท 28
2.13.4 ประเภทของอิมัลชันจำแนกตามความหนืดของอิมัลชัน 30
2.13.4.1 โลชัน (Lotion) 30
2.13.4.2. ครีม (Cream) 30
2.13.5 สารลดแรงตึงผิว 30
2.13.5.1 ค่าสมดุลระหว่างสารชอบน้ำและสารชอบน้ำมัน (Hydrophilic Lipophilic Balance) 31
2.13.6 ความคงตัวและกลไกการรักษาความคงตัวของอิมัลชัน 35
2.13.7 การประเมินคุณภาพของอิมัลชัน 36
2.13.7.1 การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพเคมี 36
2.13.7.2 การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพแบบเร่งของอิมัลชัน 36
2.13.7.3 ขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของอนุภาค 37
2.13.7.4 ดัชนีการกระจายตัว (Polydispersity index, PI) 37
2.13.7.5 ค่าศักยภาพซีต้า (Zeta potential) 37

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

2.13.7.6 ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสำคัญในสูตร (Entrapment efficiency).... 38
บทที่ 3 การทดลอง 39
3.1 วัตถุดิบ..... 39
3.2 เคมีภัณฑ์และอุปกรณ์..... 39
3.2.1 เคมีภัณฑ์..... 39
3.2.2 อุปกรณ์ 40
3.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 41
3.3.1 การเตรียมวัตถุดิบในการสกัดไข่น้ำ 41
3.3.2 การศึกษาสภาวะในการสกัดสารฟีนอลิกจากไข่น้ำโดยระบบแบบกะ..... 41
3.3.2.1 อิทธิพลความเข้มข้นเอทานอลที่ใช้ในการสกัด 41
3.3.2.2 อิทธิพลอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด 41
3.3.3 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก (Total Phenolic compounds, TPC) สารสกัดไข่น้ำ..... 42
3.3.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากไข่น้ำด้วยวิธี DPPH scavenging Assay..... 43
3.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoid Content) สารสกัดจากไข่น้ำ 44
3.3.6 การเตรียมตำรับครีมอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ 45
บทที่ 4 วิจารณ์ผลการทดลอง 46
4.1 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Content) ของสารสกัดจากไข่น้ำ..... 46
4.1.1 ผลการศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นสารละลายเอทานอลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total Phenolic Content) ของสารสกัดจากไข่น้ำ..... 46

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

4.1.2 ผลการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total Phenolic Content) ของสารสกัดจากไข่น้ำ 52

4.1.3 ผลการศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total Phenolic Content) ของสารสกัดจากไข่น้ำ..... 56

4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากไข่น้ำด้วยวิธี DPPH scavenging assay 60

4.2.1 ผลการศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นสารละลายเอทานอลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ..... 60

4.2.2 ผลการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิในการสกัดต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ..... 64

4.2.3 ผลการศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ..... 67

4.3 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoid Content) ของสารสกัดจากไข่น้ำ..... 70

4.3.1 ผลการศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นสารละลายเอทานอลต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoid Content) ของสารสกัดจากไข่น้ำ..... 70

4.3.2 ผลการศึกษาอิทธิพลอุณหภูมิต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoid Content) ของสารสกัดจากไข่น้ำ..... 74

4.3.3 ผลการศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนตัวทำละลายต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoid Content) ของสารสกัดจากไข่น้ำ..... 78

4.4 การหาค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของไข่น้ำ (Effective Diffusivity) ของการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำ 80

4.5 ผลการศึกษาการขึ้นรูปอิมัลชันโดยใช้สารสกัดจากไข่น้ำเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ 83

4.5.1 ผลการศึกษาอิทธิพลของชนิดสารลดแรงตึงผิวร่วมต่อการตั้งตำรับอิมัลชัน 83

4.5.2 ผลการศึกษาอิทธิพลของปริมาณของสารลดแรงตึงผิวต่อการตั้งตำรับอิมัลชัน 85

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

4.5.3 ผลการศึกษาอิทธิพลเวลาในการเกิดอิมัลชัน (Homogenization time)..... 89
4.6 ผลการศึกษาการกักเก็บปริมาณสารฟีนอลิกในตำรับอิมัลชัน..... 92
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 93
5.1 การศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำแบบกะ..... 93
5.2 การศึกษาการเตรียมอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ..... 94
5.3 ข้อเสนอแนะ..... 94
รายการอ้างอิง..... 2
ภาคผนวก ก..... 8
ภาคผนวก ก การสร้างกราฟมาตรฐาน..... 9
ก-1. การสร้างกราฟมาตรฐานสารกรดแกลลิก..... 9
ก-2. การสร้างกราฟมาตรฐานสารโทรล็อกซ์..... 10
ก-3. การสร้างกราฟมาตรฐานสารเคซิน..... 11
ภาคผนวก ข..... 12
ภาคผนวก ข..... 13
ตารางที่ ข.1 ตารางบันทึกค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก จากไข่น้ำ ณ สภาวะการสกัดต่างๆ..... 13
ข.1.1 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำที่สภาวะการทดลองโดยใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 . 13
ข.1.2 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟีนอลิก จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลองโดยใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 . 15
ข.1.3 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟีนอลิก จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลองโดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 . 17

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

ข.1.4 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟีนอลิก จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 . 19

ข.1.5 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟีนอลิก จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นสารละลายเอทานอล ร้อยละ70 และแปรผันอัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 21

ตารางที่ ข.2 ตารางบันทึกค่าการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ โดยวิธี DPPH ASSEY ที่สภาวะต่างๆ 23

ข.2.1 ผลการวัดค่าการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ โดยวิธี DPPH ASSEY ที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1..... 23

ข.2.2 ผลการวัดค่าการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ โดยวิธี DPPH ASSEY ที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1..... 25

ข.2.3 ผลการวัดค่าการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ โดยวิธี DPPH ASSEY ที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1..... 27

ข.2.4 ผลการวัดค่าการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ โดยวิธี DPPH ASSEY ที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1..... 29

ข.2.5 ผลการวัดค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากไข่น้ำโดยวิธี DPPH ASSEY ที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นสารละลายเอทานอล ร้อยละ70 และแปรผันอัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 31

ตารางที่ ข.3 ตารางบันทึกค่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำ ณ สภาวะการสกัดต่างๆ..... 33

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

ข.3.1 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 33

ข.3.2 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 35

ข.3.3 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 37

ข.3.4 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 39

ข.3.5 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นสารละลายเอทานอลร้อยละ70 และแปรผันอัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ (ต่อ) 42

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 43

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

ตาราง 2:1 องค์ประกอบทางเคมีของไข่น้ำจากแหล่งธรรมชาติและไข่น้ำในสภาวะควบคุม 6

ตาราง 2:2 การจำแนกประเภทของสารประกอบฟีนอลิกตามจำนวนธาตุคาร์บอน 9

ตาราง 2:3 ค่า Hydrophile-lipophile balance (HLB) ของสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ 32

ตาราง 2:4 ค่าความต้องการ HLB ของกรดไขมันแต่ละประเภท 33

ตาราง 2:5 ค่า HLB ที่เหมาะสมกับการประยุกต์ใช้ในการเตรียมอิมัลชันแต่ละชนิด 33

ตาราง 4:1 เปรียบเทียบค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ โดยใช้สารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำอัตราส่วน 5:1 , 10:1 , 15:1 และ 20:1 78

ตาราง 4:2 เปรียบเทียบค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำในระบบแบบกะที่เวลาต่างๆ เมื่อแปรผันอุณหภูมิในการสกัด 25 , 40 , 50 และ 60 องศาเซลเซียส 82

ตาราง 4:3 ลักษณะของอนุภาคอิมัลชันที่เตรียมโดยการแปรผันความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว 85

ตาราง 4:4 ลักษณะของอนุภาคอิมัลชันที่เตรียมโดยการแปรผันเวลาในการเกิดอิมัลชัน 90

ตาราง 4:5 แสดงประสิทธิภาพในการกักเก็บสารประกอบฟีนอลิกโดยการเก็บตัวอย่างมาตรวจ 10 , 15 และ 30 วันตามลำดับ 92

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 2:1 ไข่น้ำ 4
รูปที่ 2:2 ไข่น้ำ 4
รูปที่ 2:3 การเพาะเลี้ยงไข่น้ำในบ่อซีเมนต์ 5
รูปที่ 2:4 ไข่น้ำเมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ 5
รูปที่ 2:5 โครงสร้างทางเคมีของสารฟีนอลิก 8
รูปที่ 2:6 โครงสร้างของคูมาริน 10
รูปที่ 2:7 โครงสร้างของฟลาโวนอยด์ 10
รูปที่ 2:8 โครงสร้างของฟลาวาโนนท์ 10
รูปที่ 2:9 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน 10
รูปที่ 2:10 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์ 11
รูปที่ 2:11 โครงสร้างพื้นฐานของแอนโธไซยานิน 11
รูปที่ 2:12 อธิบายการชะละลาย [17] 15
รูปที่ 2:13 อธิบายการชะละลายในอนุภาคของพืชสมุนไพร 16
รูปที่ 2:14 ความแตกต่างของอัตราการแพร่ของมวลสารที่เข้าและออกจากระบบ 19
รูปที่ 2:15 กระบวนการเตรียมอิมัลชันแบบชั้นเดียว 29
รูปที่ 2:16 กระบวนการเตรียมอิมัลชันเชิงซ้อนโดยเทคนิคโฮโมจีเนียส 29
รูปที่ 2:17 โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว 30
รูปที่ 3:1 กระบวนการเตรียมอิมัลชันโดยวิธีโฮโมจีไนเซชันแบบใช้ความเร็วรอบสูง 45
รูปที่ 4:1 รูปภาพการสกัดไข่น้ำที่ความเข้มข้นของสารละลายเอทานอล 46
รูปที่ 4:2 ค่าแนวโน้มผลได้สารประกอบฟีนอลิกจากการสกัดไข่น้ำ อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 0-240 นาที เมื่อทำการแปรผัน ความเข้มข้นเอทานอล 30, 50, 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร 50
รูปที่ 4:3 ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก จากการสกัดไข่น้ำขนาดอนุภาค อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 180 นาที เมื่อทำการแปรผัน ความเข้มข้นเอทานอล 30, 50, 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร 51

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 4:4 ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก จากการสกัดไข่น้ำอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เวลาในการสกัด 240 นาที เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิในการสกัด 25 , 40 , 50 และ 60 องศาเซลเซียส 54

รูปที่ 4:5 ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกจากการสกัดไข่น้ำอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เวลาในการสกัด 0-180 นาที เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิในการสกัด 25 , 40 , 50 และ 60 องศาเซลเซียส..... 55

รูปที่ 4:6 ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกจากการสกัดไข่น้ำ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 180 นาที เมื่อทำการแปรผัน อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 5:1 , 10 : 1 , 15:1 และ 20 :1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) 58

รูปที่ 4:7 ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก จากการสกัดไข่น้ำอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 15:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ความเข้มข้นสารละลายเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 0 -180 นาที..... 59

รูปที่ 4:8 ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ เมื่อตรวจวัดด้วยวิธี DPPH scavenging assay อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 0-180 นาที ทำการแปรผัน ความเข้มข้นเอทานอล 30 , 50 , 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร 60

รูปที่ 4:9 ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำเมื่อตรวจวัดด้วยวิธี DPPH scavenging assay อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 180 นาทีเมื่อทำการแปรผัน ความเข้มข้นเอทานอล 30 , 50 , 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร 63

รูปที่ 4:10 ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ เมื่อตรวจวัดด้วยวิธี DPPH scavenging assay อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยเวลาในการสกัด 0-180 นาที เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิในกระบวนการสกัด ได้แก่ 25 , 40 , 50 และ 60 องศาเซลเซียส..... 65

รูปที่ 4:11 ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ เมื่อตรวจวัดด้วยวิธี DPPH scavenging assay โดอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เวลาในการสกัด 180 นาที นาที เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิในกระบวนการสกัด ได้แก่ 25 , 40 , 50 และ 60 องศาเซลเซียส..... 66

รูปที่ 4:12 ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ เมื่อตรวจวัดด้วยวิธี DPPH scavenging assay โดยเวลาอุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

เวลาในการสกัด 180 นาที อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 5: 1 , 10:1 ,15:1 และ 20:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) 68

รูปที่ 4:13 ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำเมื่อตรวจวัดด้วยวิธี DPPH scavenging assay โดยเวลาอุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เวลาในการสกัด 0-180 นาที อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 15:1 มิลลิลิตรต่อกรัม 69

รูปที่ 4:14 ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารหยาบสกัดไข่น้ำอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 0-180 นาที เมื่อความเข้มข้นเอทานอล 30, 50, 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร 72

รูปที่ 4:15 ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารหยาบสกัดไข่น้ำอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 0-180 นาที เมื่อทำการแปรผัน ความเข้มข้นเอทานอล 30, 50, 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร 73

รูปที่ 4:16 ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารหยาบสกัดไข่น้ำอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เวลาในการสกัด 0-180 นาที เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิในการสกัด 25 , 40 , 50 และ 60 องศาเซลเซียส 76

รูปที่ 4:17 ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารหยาบสกัดไข่น้ำอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เวลาในการสกัด 180 นาที เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิในการสกัด 25 , 40 , 50 และ 60 องศาเซลเซียส 77

รูปที่ 4:18 ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารหยาบสกัดไข่น้ำโดยใช้อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เวลาในการสกัด 0-180 อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 15: 1 มิลลิลิตรต่อกรัม 79

รูปที่ 4:19 เปรียบเทียบแนวโน้มค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ยังผลของการสกัดสารสกัดจากไข่น้ำเมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิในการสกัด ได้แก่ 25 , 40 , 50 และ 60 องศาเซลเซียส 81

รูปที่ 4:20 แสดงลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันเมื่อแปรผันชนิดสารลดแรงตึงผิวร่วม 83

รูปที่ 4:21โครงสร้างโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว Tween®40 84

รูปที่ 4:22 โครงสร้างโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว Tween® 20 84

รูปที่ 4:23 ขนาดของอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ เมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 คือ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อวัดขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง Zeta Sizer 86

รูปที่ 4:24 ขนาดของอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ เมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 คือ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อวัดขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง Zeta Sizer 86

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 4:25 ขนาดของอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ เมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 คือ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อวัดขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง Zeta Sizer 86

รูปที่ 4:26 ค่าศักย์ซีต้าของอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ เมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 คือ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อวัดด้วยเครื่อง Zeta Sizer..... 87

รูปที่ 4:27 ค่าศักย์ซีต้าของอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ เมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 คือ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อวัดด้วยเครื่อง Zeta Sizer..... 87

รูปที่ 4:28 ค่าศักย์ซีต้าของอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ เมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 ปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อวัดด้วยเครื่อง Zeta Sizer 88

รูปที่ 4:29 เปรียบเทียบขนาดของอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ เมื่อแปรผันความเวลา..... 89

รูปที่ 4:30 ขนาดของอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ เมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 คือ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เวลาในกระบวนกาอิมัลชัน 5 นาที เมื่อวัดขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง Zeta Sizer..... 91

รูปที่ 4:31 ขนาดของอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ เมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 คือ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เวลาในกระบวนการโฮโมจีไนซ์ 15 นาที เมื่อวัดขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง Zeta Sizer..... 91

รูปที่ 4:32 ขนาดของอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ เมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 คือ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เวลาในกระบวนการโฮโมจีไนซ์ 20 นาที เมื่อวัดขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง Zeta Sizer..... 91

รูปที่ ก:1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก 9

รูปที่ ก:2 กราฟมาตรฐานสารโทรล็อกซ์..... 10

รูปที่ ก:3 กราฟมาตรฐานเคซิน..... 11

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ในยุคปัจจุบันที่มีความเจริญก้าวหน้าทางเทคโนโลยีเป็นอย่างมาก มนุษย์สามารถที่จะสร้างสรรค์ผลิตภัณฑ์และนวัตกรรมต่างๆ เพื่อตอบสนองความต้องการได้อย่างไม่มีที่สิ้นสุด นอกเหนือจากผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมที่มนุษย์พยายามที่จะพัฒนาและดัดแปลงเพื่อใช้ในการดำรงชีวิตแล้ว ผลิตภัณฑ์สารออกฤทธิ์จากธรรมชาติ (Bioactive Compound) ที่ได้จากพืช ทะเล และสัตว์ขนาดเล็ก ยังเป็นสิ่งที่มนุษย์ให้ความสนใจในการศึกษาค้นคว้าและวิจัย เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ให้สอดคล้องกับความต้องการด้านการมีสุขภาพที่ดี และการดำรงชีวิตในปัจจุบันที่เต็มไปด้วยมลภาวะ แสดงให้เห็นได้จากแนวโน้มของงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากแหล่งต่างๆเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ โดยข้อดีของการเลือกใช้สารออกฤทธิ์จากธรรมชาติที่เห็นได้ชัดเจนและสามารถตอบสนองความต่อความต้องการของมนุษย์ในยุคนี้ได้อย่างตรงจุด คือ เป็นสารที่มีความบริสุทธิ์ ช่วยลดผลและอาการข้างเคียงจากการใช้และที่สำคัญคือป้องกันการตกค้างของสารเคมีในร่างกายซึ่งอาจเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้

ไข่น้ำ *(Wolffia globosa L.)* เป็นพืชสมุนไพรประเภทหนึ่งในตระกูลจอกแหน (Duck weed) แหล่งที่พบได้แก่ ประเทศแถบแอฟริกา, ประเทศจีน, รวมถึงประเทศไทยในแถบทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบได้ในแหล่งน้ำบนผิวน้ำนิ่ง จัดเป็นพืชที่มีอัตราการเจริญเติบโตค่อนข้างสูงและเป็นแหล่งอาหารที่อุดมไปด้วยโปรตีนซึ่งมีลักษณะคล้ายถั่วเหลือง สูงสุดถึงร้อยละ 45 ของน้ำหนักแห้งโดยปริมาตร มากกว่าเนื้อและไข่ (Louis และคณะ 1980) [1] จึงมีการนำมารับประทานเป็นอาหารพื้นบ้านกันอย่างแพร่หลาย รวมถึงได้มีทดลองศึกษาสกัดโปรตีนจากไข่น้ำเพื่อนำไปผลิตเป็นอาหารเสริมในรูปแบบเม็ด และมีรายงานการวิจัยถึงฤทธิ์ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ , รักษาอาการท้องผูก , ฤทธิ์ต้านการติดเชื้อ , ช่วยปรับสภาพร่างกายให้เป็นด่างในคนที่มีสภาวะเครียด หรือสภาวะที่ร่างกายมีความเป็นกรดจากการรับประทานอาหาร ช่วยรักษาภาวะซีดในคนที่เป็นโรคโลหิตจาง (http://www.pharmacy.cmu.ac.th/web2553/n41.php) อย่างไรก็ตามนอกจากสรรพคุณด้านคุณค่าทางโภชนาการที่มีการวิเคราะห์กันอย่างกว้างขวางในไข่น้ำแล้ว ยังมีงานวิจัยที่ค้นพบว่าไข่น้ำเป็นพืชสมุนไพรที่ประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ซึ่งมีการรายงานโดย Jureerut และคณะ (2011) [2] คือ มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 27 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำแห้ง นอกจากนี้ยังมีการศึกษาและรายงานว่าไข่น้ำมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ซึ่งจัดเป็นสารในกลุ่มอนุพันธ์ของสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณ 252 มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำแห้ง (Thidarat และคณะ 2015) [3] และโปรตีนในไข่น้ำเป็นส่วนประกอบของฮอร์โมนเอนไซม์ เป็นสารสร้างภูมิคุ้มกันโรคติดเชื้อบางชนิด ช่วยรักษาสมดุลกรดด่างและสมดุลของน้ำในร่างกาย มีส่วนประกอบของคลอโรฟิลล์ โดยโครงสร้างของไข่น้ำมีลักษณะเป็น cyclic tetrapyrolle ที่คล้ายคลึงกับฮีมที่อยู่ในฮีโมโกลบินซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญในเลือด (https://www.thairath.co.th/content/224328) จากสรรพคุณดังที่กล่าวมา ไข่น้ำจึงเป็นพืชที่มีความน่าสนใจใน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การนำมาศึกษาเชิงลึกด้านการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อมาใช้ประโยชน์ให้สอดคล้องกับความต้องการของมนุษย์ในยุคปัจจุบันที่มีความใส่ใจด้านสุขภาพ

งานวิจัยนี้จึงมุ่นเน้นในการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญประเภทฟีนอลิกในไข่น้ำในระบบแบบกะ (Batch) และนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระและคุณประโยชน์ต่อร่างกายดังกล่าวมาประยุกต์ใช้เพื่อเป็นส่วนผสมในการผลิตผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิวในรูปแบบอิมัลชัน ซึ่งจัดเป็นรูปแบบเวชสำอางที่เป็นยอมรับในทางเภสัชศาสตร์ว่าสามารถนำส่งตัวยาหรือสารสำคัญต่างๆ สู่ผิวหนังได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำในระบบแบบกะ

1.2.2 เพื่อศึกษาการเตรียมผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิวที่จะมีส่วนผสมจากไข่น้ำโดยเทคนิคเอนแคปซูเลชันอิมัลชัน (Emulsion-based encapsulation) ในรูปแบบ oil in water emulsions (O/W)

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำด้วยวิธีการแบบกะโดยการแปรผันปัจจัยต่างๆ ดังต่อไปนี้

1.3.1.1 อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ 25, 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส

1.3.1.2 ความเข้มข้นตัวทำละลายเอทานอล ได้แก่ 30, 50, 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

1.3.1.3 อัตราส่วนของตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 5:1, 10:1, 15:1 และ 20:1 (มิลลิลิตร/กรัม)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

1.3.2 ศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดจากไข่น้ำ

1.3.2.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic content, TPC) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric

1.3.2.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากไข่น้ำด้วยวิธี DPPH Scavenging Assay

1.3.2.3 ปริมาณสารสำคัญประเภทฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoid content, TFC) ด้วยวิธี Aluminum Chloride Colorimetric Method

1.3.3 ศึกษาการเตรียมอิมัลชันที่มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีส่วนผสมจากสารสกัดของไข่น้ำในรูปแบบเอนแคปซูเลชันอิมัลชัน โดยการแปรผันปัจจัยต่างๆ ดังต่อไปนี้

1.3.3.1 ชนิดของสารลดแรงตึงผิวร่วมแบบไม่มีประจุ ได้แก่ Cremophor® RH 40 กับ TWEEN® 40 และ Cremophor® RH 40 กับ TWEEN® 20

1.3.3.2 ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวร่วมร่วม (Co-Emulsifiers) ต่อตำรับ ได้แก่ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

1.3.3.3 เวลาในกระบวนการปั่นกวนด้วยเครื่องโฮโมจีไนซ์ที่เหมาะสมได้แก่ 5, 10, 15 และ 20 นาที

1.3.4 ศึกษาคุณสมบัติและความคงตัวของตำรับอิมัลชันที่มีส่วนผสมจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ

1.3.4.1 การวัดขนาด ดัชนีการกระจายตัว และค่าศักย์ซีต้าของหยดอิมัลชัน

1.3.4.2 การวัดประสิทธิภาพของการกักเก็บสารประกอบฟีนอลิกในสูตรตำรับ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากไข่น้ำในการสกัดแบบกะเพื่อที่จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้และขยายผลสู่การผลิตในระดับอุตสาหกรรม

1.4.2 สามารถศึกษาการพัฒนาตำรับครีมในรูปแบบเอนแคปซูเลชันอิมัลชันที่มีส่วนผสมจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากไข่น้ำ เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาสูตรเวชสำอางที่สามารถใช้งานได้จริงในอนาคต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.4.3 สามารถเผยแพร่สรรพคุณของไข่น้ำในเชิงลึกด้านเวชสำอางและเป็นการเพิ่มมูลค่า

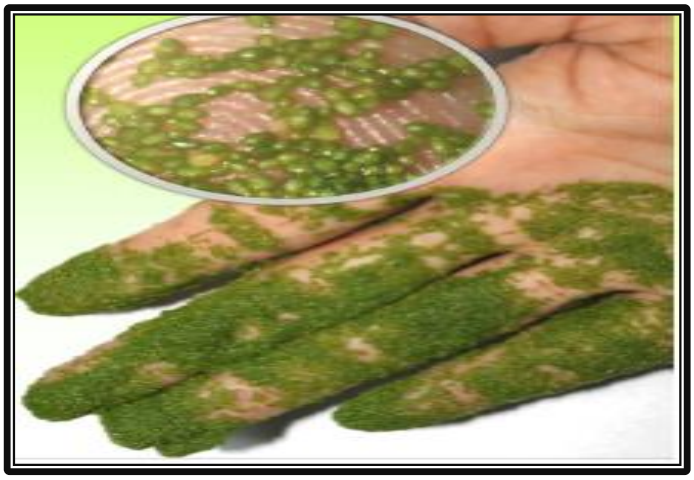
บทที่ 2
หลักการทางวิชาการ และข้อมูลอ้างอิงที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลทั่วไปของไข่น้ำ

ไข่น้ำ (รูปที่ 2.1-2.4) จัดเป็นพืชน้ำในตระกูลจอกแหน (Duckweed) ที่มีขนาดเล็กที่สุดในโลก สามารถพบได้ในแหล่งน้ำธรรมชาติที่มีน้ำใสนิ่ง ทะเลสาบ หรือบ่อน้ำต่างๆ ในเขตประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศไทย พม่า ลาว เขตประเทศแถบแอฟริกา และประเทศออสเตรเลีย มีรูปร่างเป็นทรงรีขนาดตั้งแต่ 0.5 – 2 มิลลิเมตร อาจเกิดเดี่ยวหรืออยู่ติดกันเป็นคู่ลอยเป็นแพอยู่บริเวณผิวน้ำ ไม่มีรากใบโดยลำต้นถูกแทนที่โดยรวมกันเป็นลักษณะคล้ายใบเฟิร์น [1]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 2:1 ไข่น้ำ



รูปที่ 2:2 ไข่น้ำ

รูปที่ 2:3 การเพาะเลี้ยงไข่น้ำในบ่อซีเมนต์

รูปที่ 2:4 ไข่น้ำเมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ชื่อวิทยาศาสตร์*: Wolffia Globosa*

วงศ์*: LEMNACEAE*

ชื่อสามัญ*: Water Meal*

ชื่ออื่น ๆ*: ไข่น้ำ (Khainam) , ผำ (Pham)*

(นิศาชล และคณะ 2015) [4] ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไข่น้ำเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารของมนุษย์เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนที่ค่อนข้างสูง โดยศึกษาไข่น้ำที่พบในประเทศไทยในแถบพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จากผลการศึกษาพบว่าไข่น้ำเป็นพืชที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแตกหน่อ ใช้เวลาในการเจริญเติบโตประมาณ 4 วันซึ่งมีความหนาแน่นในการเติบโตต่อพื้นที่สูงสุดในช่วงฤดูฝน คือ 65.18 กรัมโดยน้ำหนักแห้งต่อตารางเมตร

2.2 องค์ประกอบทางเคมีของไข่น้ำ

ไข่น้ำเป็นพืชสมุนไพรที่มีศักยภาพที่จะนำมาดัดแปลงให้เป็นแหล่งอาหารให้กับมนุษย์ได้เป็นอย่างดี [5] เนื่องจากประกอบด้วยโปรตีนประมาณร้อยละ 34 - 45 โดยน้ำหนักแห้ง โดยมีกรดอะมิโนจำเป็นครบทุกประเภท, ปริมาณไขมันร้อยละ 5 - 7 และปริมาณเส้นใยร้อยละ 10 - 11 [1, 5, 6] มีการรายงานว่าไข่น้ำที่ถูกเลี้ยงในระบบที่มีการควบคุมค่าสภาวะต่างๆ ที่แตกต่างกัน ได้แก่ ค่าความเข้มของแสง อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่าง รวมถึงระบบการกวนน้ำในระบบการเลี้ยง และไข่น้ำที่เกิดและเจริญเติบโตได้เองในแหล่งน้ำตามธรรมชาติ จะมีค่าองค์ประกอบทางเคมีหรือปริมาณสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบที่แตกต่างกัน [4] ดังแสดงได้ตามตารางที่ 2.1

องค์ประกอบ	**ปริมาณองค์ประกอบในไข่น้ำ**	
	แหล่งเพาะเลี้ยงที่สภาวะควบคุม	**แหล่งธรรมชาติ**
โปรตีน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	48.2	33.3
ไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	9.6	5.0
กากใย (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	14.5	10.7
ประเภทกรดอะมิโน (mg/100g ของโปรตีน)		
กรดแอสพาร์ติก	4137	3539
กรดทรีโอนีน*	1124	662
กรดซีรีน	2048	982
กรดกลุตามิก	4378	2257
กรดเมไทโอนีน*	843	571
กรดซีนทีน	1928	5457
กรดวาลีน*	2410	1849
กรดไอโซลิวซีน*	1205	685
กรดลิวซีน*	3896	2032
กรดไทโรซีน	1365	890
กรดไกลซีน	2530	1507

ตาราง 2:1 องค์ประกอบทางเคมีของไข่น้ำจากแหล่งธรรมชาติและไข่น้ำในสภาวะควบคุม

2.3 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในไข่น้ำ

(Wang Nini และคณะ, 2014) **[7]** ได้ทำการศึกษาองค์ประอบทางเคมีของไข่น้ำ โดยนำพืชดังกล่าวมาอบแห้งและสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล เพื่อหาองค์ประกอบทางเคมีโดยใช้เครื่องมือโครมาโทกราฟฟีแบบคอลัมน์และโครมาโทกราฟฟีแบบของเหลวความดันสูง จากผลการวิเคราะห์พบว่าไข่น้ำประกอบด้วยสารสำคัญ 8 ประเภทด้วยกัน ได้แก่ apigenin-7-O-β-D-glucosideitexin,isovitexin ,orientin ,isoorientin , luteolin-7-O-β-D-glucoside , isoorientin-6-O-β-D-glucoside ,และ apigenin-6,8-di-C-β-D-glucoside จากผลการศึกษาดังกล่าวจึงสามารถวิเคราะห์ได้ว่าไข่น้ำจัดเป็นพืชที่มีความน่าสนใจในการศึกษาเพื่อเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในประเภทฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) ซึ่งเป็นอนุพันธ์หนึ่งของสารประกอบฟีนอลิก นอกจากนี้ (Romuald Czerpak และคณะ ,2003) **[8]** ยังได้มีการรายงานว่าไข่น้ำประกอบไปด้วยสารประเภท Biochanin A ซึ่งเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ที่มีหน้าที่สำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตของไข่น้ำ

(ขวัญดาว แจ่มแจ้ง, 2012) [9] ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารต่อต้านอนุมูลอิสระเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุดในผักพื้นบ้านของจังหวัดกำแพงเพชร ทั้งหมด 10 ประเภทด้วยกัน ได้แก่ ผักอีซึก , ผักพาย , มะระขี้นก , ผักอีนูน ,ผักกะทกรก ,ยอดอ้อย ,ใบขนุนอ่อน , ใบคันทรง , ผักปลาบ และ ไข่น้ำ โดยศึกษาอิทธิพลของตัวทำละลาย และอิทธิพลของเวลาที่ใช้ในการสกัด ตัวทำละลายที่เลือกใช้ในการวิจัยได้แก่ น้ำกลั่น , สุรา 40 ดีกรี , เมทานอล , เอทานอลและปิโตรเลียมอีเทอร์ และทำการแปรผันเวลาในการสกัด 8, 16 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ นำมาวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay จากผลการวิจัยพบว่าการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระที่ให้ประสิทธิภาพดีที่สุดของไข่น้ำ คือ การสกัดโดยใช้สารสะลายเอทานอล และใช้เวลาในการสกัด 24 ชั่วโมง ซึ่งให้ค่าของสารอนุมูลอิสระสูงถึงร้อยละ 80.15

(Thidarat Somdee และคณะ) [3] ได้ทำการศึกษาผลของการการอบสมุนไพรท้องถิ่นในภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่น่าสนใจทั้งหมด 30 ประเภท ที่มีผลต่อปริมาณรวมฟีนอลทั้งหมด (TPC), ปริมาณรวมฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC), ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบด้วยวิธี DPPH Scavenging Assay (2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของเฟอร์ริก (FRAP) และกิจกรรม b -carotene bleaching กระบวนการทดลองทำโดยสกัดสารต่อต้านอนุมูลอิสระจากพืชแต่ละชนิดโดยใช้สารบริสุทธิ์เอทานอลเป็นตัวทำละลาย โดยการแช่พืชสมุนไพรในหลอดทดลอง ใช้เวลาในการสกัด 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าไข่น้ำที่ไม่ผ่าน กระบวนการอบแห้งให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์เท่ากับ 252.23 ± 3.04 มิลลิกรัมต่อหนึ่งร้อยกรัมของไข่น้ำ ส่วนไข่น้ำที่ผ่านกระบวนการอบแห้งก่อนที่จะนำไปสกัดให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ 202.04 ± 9.75 มิลลิกรัมต่อหนึ่งร้อยกรัมของไข่น้ำ ในขณะที่ค่าผลปริมาณรวมฟีนอลทั้งหมดของการอบแห้งไข่น้ำและไม่อบแห้งไข่น้ำมีค่าเท่ากับ 1.24 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อหนึ่งร้อยกรัมของไข่น้ำ และ 0.77 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อหนึ่งร้อยกรัมของไข่น้ำ ส่วนฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อวัดด้วยวิธี DPPH scavenging assay คือ 28 เปอร์เซ็นต์ และวิธี FRAP scavenging assay คือ 94 มิลลิโมลกรดเฟอร์ริกต่อหนึ่งร้อยกรัมน้ำหนักไข่น้ำ

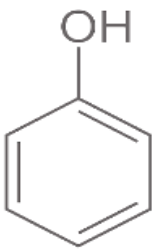
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.4 **สารพฤกษเคมี** (Phytochemicals)

สารพฤกษเคมี (Phytochemicals) จัดเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในพืช (Bioactive Plant Compound) พบได้ในผัก ผลไม้ หรือธัญพืช เช่น เมล็ดองุ่น ฟักทอง กระเทียม ผักโขม มะเขือเทศ ถั่วต่างๆ เป็นต้น อาจเป็นสารที่ทำให้เกิดสีหรือกลิ่นเฉพาะในพืชแต่ละชนิด สารพฤกษเคมีสามารถแบ่งออกได้เป็นหลายประเภท ได้แก่ สารแคโรทีนอย (Carotenoids), สารฟีนอลิก (Phenolic), สารอัลโคลอยด์ (Alkaloids) , สารประกอบที่มีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (Nitrogen-Containing Compounds), และสารอินทรีย์ที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ (Organosulfur Compounds) ในปัจจุบันมีผลการศึกษาเกี่ยวกับคุณประโยชน์ของสารประเภทพฤกษเคมีที่สกัดได้จากแหล่งในธรรมชาติต่างๆมากมายโดยเฉพาะอย่างยิ่งสรรพคุณในทางการแพทย์ โดยมีบทบาทสำคัญต่อมนุษย์ คือ ช่วยชะลอวัย, ต่อต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดสารอนุมูลอิสระ และที่สำคัญคือสามารถต่อต้านการก่อตัวของเซลล์มะเร็งภายในร่างกายมนุษย์ โดยสารพฤกษเคมีที่มีการศึกษาและวิจัยอย่างกว้างขวางในปัจจุบันคือ สารประกอบฟีนอลิก และสารแคโรทีนอย [10] โดยจากการศึกษาพบว่าสารประกอบฟีนอลิกจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่มากกวิตามินซี , วิตามินอี , และแคโรทีนอย [11] นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกยังจัดเป็นสารที่มีคุณสมบัติที่เด่นชัดในทางชีวภาพทำให้มีแนวโน้มการศึกษาและวิจัยเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมากในปัจจุบัน [12]

2.5 **สารประกอบฟีนอลิก** (Phenolic Compound)

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compound) คือ กลุ่มของสารอนุพันธ์ทุติยภูมิ(Secondary Product) ที่พบในพืช ผัก ผลไม้ และธัญพืชจากแหล่งในธรรมชาติ โดยเกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมในขั้นที่สอง (Secondary Metabolites) มีบทบาทและหน้าที่สำคัญในการสืบพันธุ์และการเจริญเติบโตของพืช โครงสร้างทางโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก คือ อนุพันธ์ของวงแหวนอโรเมติกเบนซินหนึ่งวงหรือมากกว่าที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) ต่ออยู่เป็นหลักอย่างน้อยหนึ่งหมู่ และมีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง ออโท (orto) เมตา(meta) หรือพารา (para) สารประกอบฟีนอลิกจะมีโครงสร้างที่หลากหลาย โครงสร้างพื้นฐาน คือ ฟีนอล (phenol) ประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ ดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2:5 โครงสร้างทางเคมีของสารฟีนอลิก

2.5.1 การจำแนกประเภทของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารประกอบทางเคมีที่มีความหลากหลาย การจำแนกประเภทของสารประกอบฟีนอลิกสามารถใช้เกณฑ์ในการแบ่งได้หลายวิธี เช่น Harborne และ Simmonds (1964) [13] แบ่งประเภทของสารประกอบฟีนอลิกตามจำนวนของคาร์บอนในโลเลกุล ดังแสดงได้ในตารางที่ 2.2

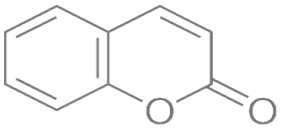
โครงสร้าง	ประเภทของสารประกอบฟีนอลิก
C6	Simple Phenolic
C6-C1	Phenolic Acid and Related Compound
C6-C2	Acetophenones and Phenylacetic acids
C6-C3	Cinnamic Acids, Cinnamyl Aldehydes, Cinnamyl Alcohols, Coumarins, Isocoumarins, and Chromones
C15	Chalcones, Aurones, Dihydrochalcones, Flavans, Flavones, Flavanones, Flavanonols , Anthocyanidins, Anthocyanins
C30	Biflavonyls
C6-C1-C6 , C6-C2-C6	Benzophenones, Xanthones, Stilbenes
C6 , C10 , C14	Quinones
C18	Betacyanins
Lignans , neolignans	Dimers or Oligomers
Lignin	Polymers
Tannins	Oligomers or Polymers
Phlobaphenes	Polymers

ตาราง 2:2 การจำแนกประเภทของสารประกอบฟีนอลิกตามจำนวนธาตุคาร์บอน

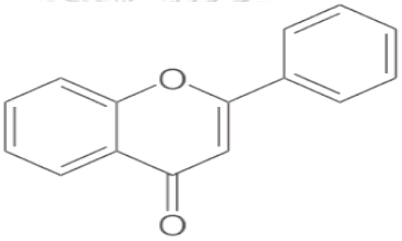
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย Chulalongkorn University

การจำแนกประเภทของสารประกอบฟีนอลิกที่ง่ายและไม่ซับซ้อน คือ วิธีการใช้จำนวนวงฟีนอลเป็นเกณฑ์ในการแบ่งโดยสามารถแยกออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆด้วยกัน [11, 13] ได้แก่

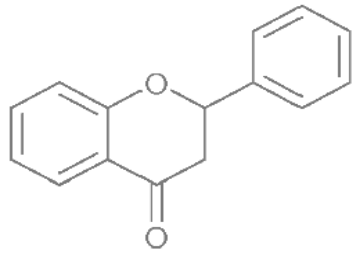
1. Monocyclic phenol หรือ Simple Phenol ตัวอย่างเช่น Phenolic acid, Coumarin
2. Polycyclic phenol หรือ Polyphenol ตัวอย่างเช่น Lignins, Flavolans, Tannic acid



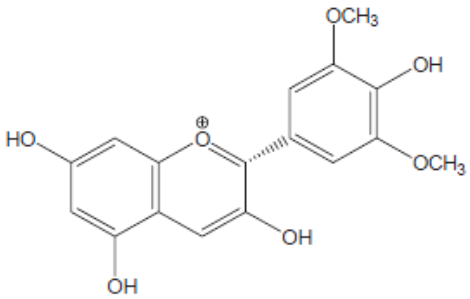
รูปที่ 2:6 โครงสร้างของคูมาริน



รูปที่ 2:7 โครงสร้างของฟลาโวนอยด์



รูปที่ 2:8 โครงสร้างของฟลาวาโนนท์

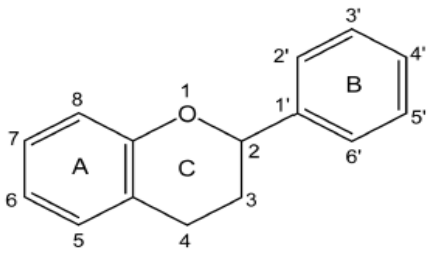


รูปที่ 2:9 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน

2.5.2 ตัวอย่างสารประกอบฟีนอลิกประเภทต่าง ๆที่พบในพืช

2.5.2.1 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

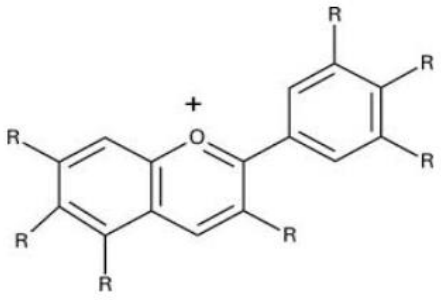
สารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่สามารถละลายน้ำได้ มีสูตรโครงสร้างพื้นฐานทางเคมี ดังแสดงในรูปที่ 2.9 การจำแนกประเภทของฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งโดยใช้เกณฑ์ของวงเบนซีน โดยแบ่งออกเป็น 6 ประเภท ได้แก่ ฟลาโวนอล (Flavonols), ฟลาโวน (Flavones), ฟลาโวนอล (Flavanols) , ฟลาวาโนน (Flavanones),แอนโทไซยานิน(Anthocyanidins) และไอโซฟลาโวนอยด์(Isoflavonoids) [12] แหล่งที่สำคัญของสารฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ผัก , ผลไม้ , เมล็ดธัญพืช , ไวน์ , ชาเขียว , ออริกาโน่อบแห้ง [14]



รูปที่ 2:10 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์

2.5.2.2 แอนโธไซยานิน (Anthocyanin)

แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) เป็นสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มฟลาโวนอยด์ จัดเป็นรงควัตถุในธรรมชาติที่สามารถละลายได้ในน้ำ มีสีแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด มีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 400-1200 โครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม ซึ่งมีวงเบนซีนสามวงโดยมีออกซิเจนเชื่อมระหว่างสองวงเบนซีน ดังรูปที่ 2.11 สามารถพบได้ในพืชและผักหลากหลายชนิดที่มี สีฟ้า สีม่วง สีแดง สีส้ม [12, 15] เช่น มะเขือเทศ , กะหล่ำปลีสีม่วง , บิลเบอร์รี่ , อัญชัน



รูปที่ 2:11 โครงสร้างพื้นฐานของแอนโธไซยานิน

2.5.3 ประโยชน์ของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารเคมีที่มีประโยชน์ในทางการแพทย์ต่อมนุษย์เป็นอย่างมาก เนื่องจากมีผลต่อร่างกายมนุษย์ในแง่บวก ในยุคเริ่มแรกแพทย์แผนโบราณได้มีการนำสารประกอบฟีนอลิกพื้นฐานคือฟีนอลมาประยุกต์ใช้เป็นสารยับยั้งเชื้อโรค [16] และในยุคต่อมาจนกระทั่งถึงในปัจจุบันได้มีการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มมากขึ้น โดยสามารถสรุปคุณสมบัติที่สำคัญของสารประกอบฟีนอลิกได้ดังนี้

1. การใช้ประโยชน์ในการต้านอนุมูลอิสระสารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล ซึ่งเป็นกลุ่มที่สามารถให้ไฮโดรเจน (Hydrogen Donating) สามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจน และไนโตรเจน ทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่สิ้นสุดลงและยับยั้งวงจรในการเกิดสารอนุมูลอิสระซึ่งจะส่งผลในแง่ลบต่อเซลล์ภายในร่างกาย นอกจากนี้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกยังสามารถยับยั้งเอนไซม์ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการสร้างอนุมูลอิสระ เช่นเอนไซม์ลิพอซีจีเนส (Lipoxygenate) [12] ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับกรดไขมัน นำไปสู่โรคมะเร็งหรือไขมันอุดตันเส้นเลือด และยังมีงานวิจัยที่ยืนยันว่าสารประกอบฟีนอลิกสามารถยับยั้งการเกิดโรคมะเร็งเต้านมในเพศหญิง [17]

2. การใช้เป็นสารผสมในเครื่องสำอางเพื่อป้องกันแสงแดด สารประกอบฟีนอลิกมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีเป็นแบบวงอโรมาติก จึงมีประสิทธิภาพในการดูดซับรังสียูวีบี (UV-B) ในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 280 – 315 นาโนเมตรจากแสงแดด และยังป้องกันอาการไหม้หรือแสบร้อนจึงมักนำมาใช้เป็นส่วนผสมในเวทย์สำอางร่วมกับสารเคมีประเภทอื่นในครีมกันแดดร่วมเพื่อเพิ่มคุณสมบัติในการดูดซับรังสีดังกล่าว [15]

3. ป้องกันการเกิดโรค สารประกอบฟีนอลิกประเภทแคมเฟอรอล (Kaempferol) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มสารประเภทฟลาโวนอยด์ที่สมารถพบได้ในพืชและผลไม้ประเภท แอปเปิล หัวหอม แปะก๊วย ชา มีฤทธิ์ในการต้านทานโรคลิ่มเลือด รวมถึงลดการแพร่ขยายตัวของเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้กรดคาเฟอิก (Caffeic Acid) ที่พบได้ในผัก เครื่องเทศ และเครื่องดื่ม ยังนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ในการทำเป็นยาที่มีฤทธิ์ป้องกันโรคมะเร็ง ช่วยในการปรับระบบภูมิคุ้มกัน ป้องกันเนื้อเยื่อและดีเอ็นเอจากการกลายพันธุ์ หรือสารประเภทแอนทโธไซยานิน ที่สามารถป้องกันโรคไขมันอุดันใสเส้นเลือด และใช้ในกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน [18]

4. ใช้ในการต่อต้านเชื้อโรคและต้านการอักเสบ ได้แก่ กรดแกลลิก (Gallic Acid) ซึ่งสามารถพบได้ในพืชและผลไม้ประเภท องุ่น ชา เปลือกต้นโอ้ก เป็นสารที่มีคุณสมบัติทางการแพทย์ คือ การต้านเชื้อรา เชื้อไวรัส จึงถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคเรื้อนกวาง นอกจากนี้สารประเภทกรดแอลลาจิกที่มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อพลาสโมเดียม และต้านการรุกรานจากเชื้อจุลินทรีย์ รวมถึงการนำกรดแทนนิก (Tannic Acid) มาใช้เป็นส่วนผสมในยาแก้ท้องเสีย รักษาบาดแผลต่างๆ เพื่อให้แผลหายเร็วขึ้น [19]

5. สารประกอบฟีนอลิกประเภทกรดวานิลิก (Vanilic) สามารถสกัดได้จากฝักของวานิลลา สามารถนำมาดัดแปลงใช้เป็นสารให้กลิ่นในลูกกวาด หรือผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมอาหาร หรือการนำไปประยุกต์ใช้ในการต้านการเจริญเติบโตของยีสต์และราในผลิตภัณฑ์อาหารอบแห้ง น้ำสลัด และเครื่องดื่มประเภทต่างๆ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.6 การสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช

สารประกอบฟีนอลิกในพืชจัดเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ กระจายตัวอยู่ในบริเวณผนังเซลล์ cell walls, หรือ แวคิวโอล (cell vacuole) ของพืช [11] เทคนิคที่ใช้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืชมีหลากหลายวิธีด้วยกัน ได้แก่ การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (Solvent Extraction) ,การสกัดด้วยคลื่นความถี่สูง (Ultrasonic-Assisted Extraction), การสกัดแบบวิธีซอกห์เลต (Soxhlet Extraction) , การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave Extraction) , การสกัดด้วยของไหลยิ่งยวด (Supercritical Fluid Extraction) โดยเทคนิคการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืชที่ได้รับความนิยมแพร่หลาย คือ การสกัดด้วยตัวทำละลาย เนื่องจากเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพ เป็นกระบวนการที่ง่ายไม่ซับซ้อน และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้อย่างแพร่หลาย

2.7 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction)

การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) หรือ การสกัดด้วยของเหลว (liquid extraction) เป็นกระบวนการที่ใช้ตัวทำละลายที่มีความสามารถในการสกัดของเหลวที่ต้องการสกัดตัวถูกละลายออกจากของเหลวชนิดหนึ่ง โดยอาศัยหลักการถ่ายโอนมวลส่วนประกอบหนึ่งจากเฟสของแข็งหรือของเหลวไปยังเฟสของสารละลายที่ใช้ทำการสกัด ตัวทำละลาย(Solvent) ที่นิยมใช้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช ได้แก่ แอลกอฮอล์ เช่น เมทานอล เอทานอล , อะซีโตน , ไดเอทิลอีเทอร์ , เอทิลอะซีเตท ในทางเทคนิคสามารถแบ่งประเภทการสกัดด้วยของเหลวออกเป็น 2 รูปแบบด้วยกันคือ

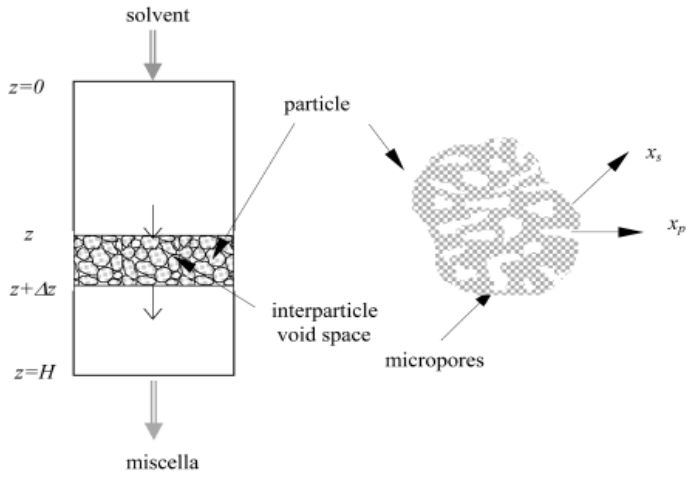
2.7.1 การสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid- liquid extraction) เป็นการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการชะละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสมซึ่งเป็นของเหลว ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสารในห้องปฏิบัติการได้แก่ diethyl ether, dichloromethane, ethyl acetate และ 1-butanol ในทางปฏิบัติมักจะนิยมสกัดสารอินทรีย์ซึ่งอาจละลายหรือแขวนลอยอยู่ในวัฏภาคน้ำ ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกับน้ำ โดยเมื่อตั้งทิ้งไว้จะเกิดการแยกชั้น สารทั้งหลายที่มีอยู่ในของผสมจะละลายอยู่ทั้งในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์และชั้นน้ำมากน้อยตามความสามารถในการละลายของมันในตัวทำละลายแต่ละชนิด

2.7.2 การสกัดของแข็งด้วยของเหลว (solid- liquid extraction) หรือเรียกว่าการชะละลาย (leaching) คือการใช้ตัวทำละลาย (solvent) สกัดตัวถูกละลายที่ต้องการซึ่งละลายอยู่ในสารตัวอย่างที่เป็นของแข็ง เทคนิคชะละลายสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการสกัดสารได้หลากหลายประเภททั้งสารอินทรีย์ สารทางชีววิทยา หรือการสกัดเกลือของสารอนินทรีย์ ตัวอย่างการประยุกต์ใช้งานการสกัดของแข็งด้วยของเหลวในระดับอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การสกัดน้ำมันจากพืชเพื่อใช้ในการประกอบอาหาร ได้แก่ น้ำมันจากถั่วเหลือง เมล็ดทานตะวัน หรือดอกไม้ต่างๆ โดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย , การสกัดสารประเภทคาเฟอีนออกจากเมล็ดกาแฟโดยใช้ เอทิลีนคลอไรด์ , การสกัดสารประกอบประเภทฟีนอลิกซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากเมล็ดองุ่น การสกัดเม็ดสีแดงหรือสารประเภทน้ำตาลจากหัวบีทรูท หรือการสกัดสารซูโครสจากอ้อย เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมโลหะ เช่น การสกัดสินแร่ทองแดง การสกัดสินแร่ทองคำ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.8 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชด้วยเทคนิคสกัดของแข็งด้วยของเหลว

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์ซึ่งอาจเป็นสารประเภทสารประกอบอินทรีย์หรือ สารประกอบอนินทรีย์ มักละลายอยู่ในส่วนต่างๆของพืช ได้แก่ ลำต้น ราก ใบ ดอก แตกต่างกันแล้วแต่ชนิดของพืชสมุนไพร ส่วนประกอบของพืชดังกล่าวจะมีลักษณะเป็นของแข็ง ดังนั้นในกระบวนการการออกแบบการสกัดสารชีวเคมีจากพืชจะนิยมให้ตัวละลาย (solute) หรือสารที่ต้องการแยกออกมาแยกออกจากเฟสของแข็ง ซึ่งเฟสของแข็ง (อนุภาคพืชสมุนไพร) กับเฟสของเหลว (ตัวทำละลาย) จะถูกทำให้สัมผัสกันหรืออยู่ติดกัน และเมื่อทำการสกัดตัวถูกละลายจะสามารถแพร่จากเฟสของแข็งไปยังเฟสของเหลว เรียกกระบวนการสกัดนี้ว่า การชะละลายของแข็งด้วยของเหลว (liquid-solid leaching) หรือ กระบวนการชะละลาย (leaching) ดังแสดงได้ดังรูปที่ 2.12

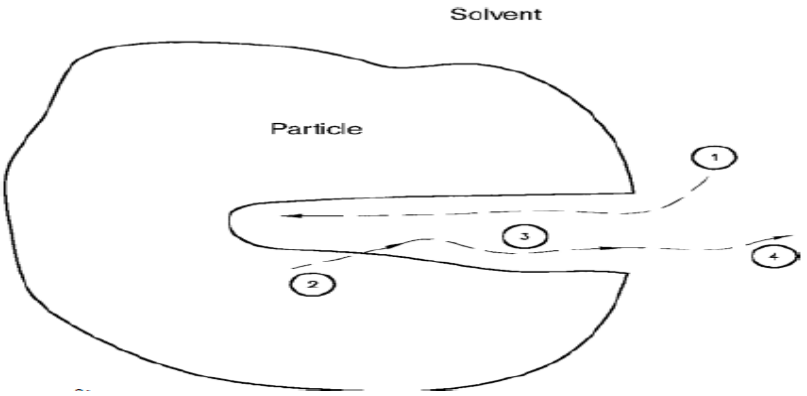


รูปที่ 2:12 อธิบายการชะละลาย [17]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.9 กระบวนการชะละลาย (Leaching Step)

กระบวนการชะละลาย (Leaching Step) หรือ การสกัดของแข็ง- ของเหลว (solid- liquid extraction) จัดเป็นเทคนิคกระบวนการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction) โดยตัวอย่างสารที่ต้องการสกัดจะละลายอยู่ในสารตัวอย่างที่เป็นเฟสของแข็ง กระบวนการชะละลายสามารถอธิบายได้จากทฤษฎีของการถ่ายโอนมวลสาร (Mass Transfer) ในระบบของสารที่อยู่ในเฟสที่แตกต่างกัน (Heterogeneous System) คือ เฟสของเหลวและเฟสของแข็ง โดยสารมีความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ทำให้โมเลกุลจะเคลื่อนที่จากความเข้มข้นมากไปยังความเข้มข้นน้อย เพื่อให้เกิดความสมดุลของสารในระบบ กระบวนการที่เกิดขึ้นจากการถ่ายโอนมวลสาร แสดงดังรูปที่ 2.13 มี ดังต่อไปนี้



รูปที่ 2:13 อธิบายการชะละลายในอนุภาคของพืชสมุนไพร

1. การถ่ายโอนมวลสารภายนอกอนุภาคของแข็ง (External Mass Transfer) คือ การถ่ายโอนมวลสารของสารทำละลายจากชั้นสารละลายรวม (Bulk Fluid) ผ่านชั้นฟิล์มบางๆ ของของเหลว(Resistant Film) ที่ล้อมรอบอนุภาคของแข็ง การถ่ายโอนมวลที่เกิดขึ้นจะเป็นผลมาจากความแตกต่างของความเข้มข้นสารทำละลายในชั้นฟิล์มกับชั้นสารละลายรวม โดยชั้นฟิล์มนี้จะต้านทานการถ่ายโอนมวลสารของสารทำละลาย ดังนั้นอัตราความเร็วในการถ่ายโอนมวลสารจะถูกควบคุมโดยความหนาของชั้นฟิล์ม ซึ่งสามารถลดความหนาของชั้นฟิล์มได้จากการเพิ่มอัตราความเร็วในการไหลของตัวทำละลาย โดยในขั้นตอนนี้จะเกิดการถ่ายโอนมวลสารระหว่างตัวทำตัวละลายบนผิวอนุภาคของแข็งและชั้นสารละลายรวม ซึ่งความเข้มข้นของตัวทำละลายที่อยู่บนผิวของแข็งจะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดด้วยเช่นกัน รวมถึงกระบวนการดูดซับ (Adsorption) คือ กระบวนการถ่ายโอนมวลสารจากผิวของแข็งเข้าไปภายในช่องว่างหรือภายในรูพรุน (pore) ของแข็ง

2. กระบวนการละลาย (Solubility Step) คือ กระบวนการที่โมเลกุลของตัวทำละลายละลายอยู่ในช่องว่างของอนุภาคของแข็งเพื่อละลายเพื่อละลายสารที่ต้องการสกัดออกจากของแข็ง ซึ่งความสามารถในการละลายจะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางเคมีของตัวทำละลายและตัวถูกละลาย

3. กระบวนการคาย (Desorption) คือ กระบวนการการถ่ายโอนมวลสารของตัวทำละลายซึ่งรวมอยู่กับตัวถูกละลายโดยการแพร่ออกจากอนุภาคภายในของแข็งมายังพื้นที่ผิวของอนุภาคของแข็ง

4. การถ่ายโอนมวลสารของสารละลายจากพื้นที่ผิวของอนุภาคของแข็งไปยังชั้นฟิล์มของของเหลวและไปยังชั้นสารละลายรวมตามลำดับ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.9.1 **การถ่ายโอนมวลสารภายนอกเฟสของแข็ง** (External Mass Transfer)

การถ่ายโอนมวลสารของตัวทำละลายจากชั้นสารละลายรวมผ่านชั้นฟิล์มบางๆ ของของเหลว ไปยังพื้นผิวของของแข็ง ในขั้นตอนนี้จะจัดกระบวนการถ่ายเทมวลสารอยู่ในประเภท กระบวนการแพร่โดยการพา (Convective Diffusion) คือ กระบวนการการถ่ายโอนมวลสารที่มีการเคลื่อนที่ของตัวกลางหรือสารทำละลายโดยมีแรงขับเคลื่อน (Driving Force) มาจากความแตกต่างของความเข้มข้น (Concentration Gradient) ระหว่างสารทำละลายในชั้นสารละลายรวม (Bulk Solution) และความเข้มข้นของสารทำละลายที่อยู่บริเวณผิวของของแข็ง โดยสามารถใช้สมการฟลักซ์ของการพามวลในการอธิบายปรากฏการณ์ดังกล่าว คือ

$$\boldsymbol{Na = Kc\,(Ca - Cas)} \qquad \textbf{สมการ (2.1)}$$

$\boldsymbol{Na}$ คือ ค่าฟลักซ์เชิงมวลเฉลี่ย (Mass Flux) หน่วยคือ kg /m^2·s

$\boldsymbol{Kc}$ คือ สัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลสาร (Mass transfer Coefficient) หน่วยคือ m/s

$\boldsymbol{Ca}$ คือ ความเข้มข้นของของเหลวในชั้นสารละลายรวม (Bulk Fluid Concentration) หน่วยคือ kg/m^3

$\boldsymbol{Cas}$ คือ ความเข้มข้นของของเหลวที่ติดกับผิวของเฟสของแข็ง หน่วยคือ kg/m^3

ค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลสาร (K_C) คือ ค่าอัตราการถ่ายเทมวลต่อหน่วยพื้นที่ต่อหน่วยของความเข้มข้น ปัจจัยที่มีผลต่อค่าสัมประสิทธิ์ในการถ่ายเทมวลสารในระบบ ได้แก่ ความเร็วในการไหลของของไหล (Velocity) ,ความหนาแน่นของของไหล (Density) ,ความหนืดของของไหล (Viscosity) ,ค่าสัมประสิทธิ์ในการแพร่ เมื่อระบบการถ่ายโอนมวลเข้าสู่ภาวะสมดุล จะพบว่าค่าความเข้มข้นของชั้นสารละลายรวม (C_A) และความเข้มข้นของเหลวที่ติดกับผิวของเฟสสามารถอธิบาย(C_{AS})ได้ดังสมการ 2.2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

$$\boldsymbol{Ke = \frac{Cas}{Ca}} \qquad \textbf{สมการ (2.2)}$$

$\boldsymbol{Ke}$ คือ ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของเหลวที่ภาวะสมดุล (Equilibrium distribution coefficient)

2.9.2 **การถ่ายโอนมวลสารภายในเฟสของแข็ง** (Internal Mass Transfer)

การถ่ายโอนมวลสารภายในเฟสของแข็ง คือ การที่อนุภาคของตัวทำละลายเคลื่อนที่โดยการแพร่เข้าไปภายในอนุภาคของแข็ง ซึ่งเรียกปรากฏการณ์การถ่ายโอนมวลนี้ว่า การแพร่ภายในอนุภาค (Internal diffusion) โดยสารทำละลายของเหลวจะแพร่เข้าไปภายในช่องว่างหรือรูพรุนของเฟสของแข็ง โดยมีแรงขับเคลื่อน (Driving Force) มาจากความแตกต่างของความเข้มข้น สามารถอธิบายได้ด้วยกฎข้อที่ 1 ของการแพร่ของฟิกส์ (Fick's first law diffusion) โดยกฎดังกล่าวนี้อธิบายว่า "ปริมาณของสารที่เคลื่อนที่ผ่านหนึ่งหน่วยพื้นที่ตั้งฉากกับทิศทางการถ่ายเทมวลหรือฟลักซ์ (Flux) ของสารแพร่ที่ไหลผ่านตัวกลางที่เป็นเฟสเดียว ณ ตำแหน่งใดๆจะเป็นสัดส่วนตรงกับเกรเดียนต์ของความเข้มข้นของสารแพร่นั้น ณ จุดนั้น" หรือเขียนอยู่ในรูปคณิตศาสตร์สำหรับกรณีการแพร่ใน 1 มิติได้ดังสมการที่ 3.3

$$Ja = -Da\frac{dCa}{dX} \qquad \textbf{สมการ (2.3)}$$

Ja คือ ค่าฟลักซ์การแพร่ของสาร A (Diffusion flux of A) ณ จุดที่สนใจ หน่วยคือ kg /m^2·s)

Da คือ ค่าสัมประสิทธิ์ในการแพร่ของสาร A (Diffusion coefficient of A) หน่วยคือ $m^2 \cdot s^{-1}$

$\frac{dCa}{dX}$ คือ ค่าเกรเดียนต์ของความเข้มข้นของสาร A (Concentration Gradient of A) หน่วยคือ mol/m^3 โดยค่า

Ca คือ ค่าความเข้มข้นของสาร a ซึ่งจะเปลี่ยนไปตามระยะทางหรือค่าตัวแปร x

2.9.2.1 **ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ยังผล** (Effective Diffusivity)

การแพร่ในอนุภาคของแข็งซึ่งภายในมีลักษณะพรุน (Porous Material) ลักษณะของรูพรุนจะมีความคดเคี้ยว ทำให้การแพร่ของตัวทำละลายมีทิศทางไม่เป็นเส้นตรงที่แน่นอน ลักษณะดังกล่าวจะส่งผลต่อค่าสัมประสิทธิ์ในการแพร่ เพื่อให้สามารถคำนวณค่าอัตราการแพร่ของสารภายในของแข็งที่มีความซับซ้อนดังกล่าวได้ จึงมีการกำหนดค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ซึ่งอธิบายค่าการแพร่เฉลี่ยที่เกิดขึ้น ณ ที่ตำแหน่งใดๆ ของรูพรุนรัศมีค่าหนึ่ง เรียกว่า ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ยังผล (Effective Diffusivity) โดยสามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\mathbf{Def = Da\frac{\phi}{\tau}} \qquad \textbf{สมการ(2.4)}$$

Def คือ ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ยังผล (effective diffusivity) หน่วยคือ $m^2 \cdot s$

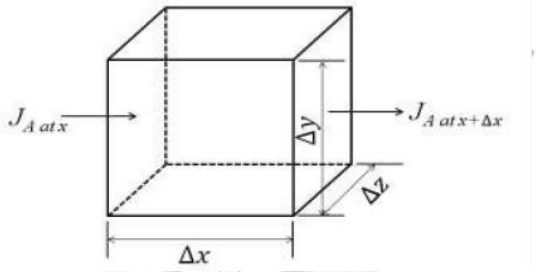
Da คือ ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารใดๆ หน่วยคือ $m^2 \cdot s$

ϕ คือ ค่าความพรุนของของแข็ง (Pellet Porosity) โดยเป็นอัตราส่วนของปริมาตรช่องว่างของแข็งต่อปริมาตร ของแข็งและช่องว่างทั้งหมด

τ คือ ค่าความคดเคี้ยวของเส้นทางในการแพร่ (tortuosity) โดยเป็นสัดส่วนระหว่างระยะทางที่โมเลกุลเคลื่อนที่จริงต่อระยะทางที่สั้นที่โมเลกุลเคลื่อนที่

2.9.2.2 **กฎข้อที่สองของฟิกส์** (Fick's second law diffusion)

เนื่องจากพฤติกรรมในการแพร่ของสารในแต่ละระบบจะเป็นฟังก์ชันกับตำแหน่งหรือระยะทางในการแพร่ โดยแสดงได้ดังสมการที่ 3.3 และจากกฎทรงมวลซึ่งกล่าวไว้ว่า อัตราการแพร่สะสมของมวลสารใดๆ ที่สะลมในระบบย่อยจะเท่ากับ ความแตกต่างของอัตราการแพร่ของมวลสารที่เข้าสู่ระบบย่อยและอัตราการแพร่ของมวลใดๆที่ออกจากระบบ



รูปที่ 2:14 ความแตกต่างของอัตราการแพร่ของมวลสารที่เข้าและออกจากระบบ

$$\frac{dCa}{dt} = -\frac{dJa}{dr} \qquad \textbf{สมการ} (2.5)$$

เมื่อแทนค่า Ja ลงในกฎข้อที่ 1 ของฟิกส์ตามสมการที่ 3.3 จะได้สมการที่ 3.6 ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ยังผล (Def) เวลาในการแพร่ (t) และระยะทางในการแพร่ (r)

$$Def\frac{d^2Ca}{d^2r} = \frac{dCa}{dt} \qquad \textbf{สมการ} (2.6)$$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Def คือ ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ยังผล (effective diffusivity) หน่วยคือ $m^2 \cdot s$

Ca คือ ค่าความเข้มข้นของสาร A หน่วยคือ mol/m^3

r คือ ค่ารัศมีในการแพร่ หน่วยคือ m

t คือ เวลาในการแพร่ หน่วยคือ s

สมการที่ 3.6 เรียกว่า สมการกฎข้อที่สองของฟิกส์ (Fick's second law diffusion) ซึ่งมีการตั้งสมมติฐานเบื้องต้นเพื่อให้ง่ายแก่การพิจารณา คือ การแพร่เกิดขึ้นในอนุภาคของแข็งที่มีลักษณะเป็นทรงกลม (Spherical) และค่าการ์เดียนของความเข้มข้นเกิดขึ้นเฉพาะในแนวรัศมี (Radial Direction)

2.9.2.3 ขั้นกำหนดอัตราการแพร่ในการชะละลาย (Rate Limiting Step)

ในการศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการการสกัดของแข็งด้วยของเหลวเพื่อความสะดวกและง่ายในการวิเคราะห์ข้อมูล จะกำหนดให้“Internal Diffusion” หรือ กระบวนการแพร่ของตัวถูกทำละลาย (Solute) ซึ่งเกิดขึ้นภายในเฟสของแข็งไปยังสารทำละลาย เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นได้ช้าที่สุด หรือที่เรียกในทางไคเนติกว่า “Rate Limiting Step” [20] โดยหลักการดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาเพื่อสกัดสารประกอบประเภทโพลีฟีนอลิกจากพืช สอดคล้องกับรายงานของ Dibert และคณะ 1989 [21] ซึ่งค้นพบว่าประสิทธิภาพในการสกัดสารฟีนอลิกจากพืชจะควบคุมโดยกระบวนการแพร่ภายในอนุภาคของพืชสมุนไพรที่ต้องการสกัด

2.9.2.4 การหาค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ยังผล (Def)

(Pinelo และคณะ 2004) [22] ได้ทำการศึกษาการถ่ายโอนมวลที่เกิดขึ้นในกระบวนการการสกัดของแข็งด้วยของเหลว มีวัตถุประสงค์คือศึกษากระบวนการสกัดสารประกอบฟีนอลซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากเมล็ดองุ่นที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตน้ำมันเพื่อให้ได้ผลได้ของผลิตภัณฑ์ที่มากที่สุด เพื่อหาค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ยังผล (effective diffusivity) ได้ใช้กฎข้อที่สองของฟิกส์ในการอธิบายปรากฏการณ์การแพร่ของตัวทำละลายที่เกิดขึ้นในสมการที่ 3.6 โดยมีสมมติฐาน คือ ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ยังผลไม่ขึ้นกับค่าความเข้มข้นของสารทำละลาย และตั้งขอบเขต (Boundary Condition) คือ

Boundary Condition 1: $C = C_0$, $0 < r < R$, $t = 0$

Boundary Condition 2: $C = 0$, $r = R$, $t \geq 0$

$Y = C/C_0$ สัดส่วนระหว่างความเข้มข้นของสารฟีนอลิกที่เวลาใดๆ ต่อค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกในพืชเริ่มต้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

$$Y = \frac{6}{\pi^2}\sum_{n=1}^{\infty}\frac{1}{n^2}e^{-\left(\frac{\pi^2 D_{ef}\, t}{r^2}\right)} \qquad \text{สมการ (2.7)}$$

การตั้งสมมติฐานโดยทั่วไปสำหรับการสกัดสารสำคัญจากพืชที่มีการกำหนดให้ค่าความต้านทานภายนอกมีค่าน้อยมากจนสามารถยกเว้นในการคำนวณ และเทอมแรกของอนุกรมสามารถนำมาใช้การคำนวณค่า Def ได้โดยมีความเคลื่อนน้อยมาก [20] ดังนั้นเมื่อทำการพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าล็อกสัดส่วนระหว่างความเข้มข้นของสารฟีนอลิกที่เวลาใดๆ ต่อค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกในพืชเริ่มต้น (In Y) และเวลา (t) จะได้เส้นตรง ซึ่งสามารถหาค่า Def จากความชันของเส้นตรงดังกล่าว

$$In\, Y = In\left(\frac{6}{\pi^2}\right) - \frac{\pi^2 D_{ef}\, t}{r^2} \qquad \text{สมการ (2.8)}$$

2.10 กระบวนการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช

2.10.1 กระบวนการเตรียมสารสารตัวอย่างสำหรับการสกัด

สารเชิงชีวเคมีที่พบได้ในพืชหรือสัตว์มักอยู่ในบริเวณผนังเซลล์ซึ่งมีความต้านทานในการแพร่ของตัวทำละลาย ทำให้อัตราการชะละลายเกิดขึ้นได้ค่อนข้างช้า การบดสารตัวอย่างที่ต้องการชะละลายให้มีขนาดเล็กลงจึงสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการชะละลายได้ดียิ่งขึ้น เช่น การสกัดน้ำตาลจากหัวบีท โดยการตัดบีทให้เป็นชิ้นรูปลิ่ม เพื่อลดระยะทางในการแพร่ของน้ำเข้าไปภายในเซลล์ [23] ได้รายงานว่าในกระบวนการชะสารละลายผลผลิตจากพืช ในส่วนต่างๆได้แก่ ใบ ราก และลำต้น หากมีการอบแห้งสารวัตถุดิบก่อนที่จะทำกระบวนการสกัดจะช่วยให้ผนังเซลล์แตก ส่งผลให้ตัวทำละลายสามารถละลายตัวถูกละลายที่อยู่ภายในผนังเซลล์ได้ดียิ่งขึ้น โดยผนังเซลล์ของถั่วเหลืองและเมล็ดพืชชนิดต่างๆ จะแตกเมื่อขนาดลดลงเหลือประมาณ 0.1-0.5 mm ที่อาจทำได้โดยการบด (Milling) หรือทำให้เป็นชิ้นเล็กๆ (Flaking) ทำให้ตัวทำละลายสามารถแพร่ผ่านไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.10.2 เทคนิคการสกัดสารประกอบฟีนอลิก

2.10.2.1 เทคนิควิธีการสกัดแบบกะ (Batch extraction)

การสกัดแบบกะเป็นเทคนิคที่ง่ายและนิยมทำกันมากที่สุด ทำได้โดยการนำสารทำละลายของเหลวที่มีความเหมาะสมสำหรับสกัดสารจากสมุนไพรที่ต้องการและพืชตัวอย่าง มาใส่ไว้ในภาชนะ เช่น บีกเกอร์ ขวดปากกว้าง โถ ขวดรูปชมพู่ กรวยแยก หรือหากในระดับอุตสาหกรรมอาจให้ถังกวน (Vessel) เป็นกระบวนการที่ของแข็งชนิดหนึ่งถูกชะด้วยของเหลวเป็นครั้งๆ (Batch Operation) หลังจากนั้นปล่อยแช่ทิ้งไว้ จนการกระจายของตัวถูกละลายระหว่างตัวทำละลายมีความสมดุล โดยอาจมีการใช้เครื่องมือช่วย คือ ใบกวน (Agitator) เพื่อช่วยให้ตัวทำละลายสามารถแพร่เข้าไปในสารตัวอย่างซึ่งเป็นเฟสของแข็งได้ดียิ่งขึ้นทำให้เวลาในการสกัดลดลง หรือเรียกว่า “kinetic maceration” หากของแข็งที่ต้องการสกัดมีอนุภาคขนาดใหญ่จะการสกัดโดยการแช่ (Percolation) ในเครื่องสกัดประเภทเบดนิ่ง (Fixed Bed) ส่วนของแข็งที่มีขนาดอนุภาคเล็กมักจะใช้การสกัดที่มีใบกวนช่วยในการสกัด การสกัดแบบกะมีข้อดีคือ ทำได้ง่าย ไม่ซับซ้อน สารที่ไม่มีความเสถียรอาจเกิดการสูญเสียสภาพเนื่องจากความร้อน และมีข้อเสียคือต้องใช้ตัวทำละลายปริมาณมาก [24]

2.10.2.2 เทคนิควิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง (Continuous extraction)

การสกัดที่ต้องทำหลายๆ ครั้ง เพื่อให้ได้สารที่สนใจแยกออกมามากที่สุด พบว่า การใช้วิธีการ สกัดแบบกะนั้นไม่สะดวก และอาจมีข้อผิดพลาดเกิดขึ้นมากจากการถ่ายเทตัวทำละลายหลายๆ ครั้ง นอกจากนี้ยังทำให้เสียเวลาและสิ้นเปลืองตัวทำละลาย ได้มีการพัฒนาเทคนิคของการสกัดให้ใช้ตัวทำละลายน้อยลง สะดวกขึ้น และได้ผลดีคือ การทำการสกัดอย่างต่อเนื่อง ข้อดีของการสกัดแบบต่อเนื่องคือ ใช้สารทำละลายน้อยและค่าผลได้ในการสกัดมีประสิทธิภาพที่ดีกว่า

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.10.2.3 **เทคนิคการสกัดแบบต่อเนื่องสวนทาง** (Continuous-Counter current extraction)

การสกัดแบบต่อเนื่องสวนทาง (Continuous-Counter current extraction) คือ การชะล้างของสารตัวอย่างของแข็งด้วยตัวทำละลายที่ออกแบบให้เป็นการไหลสวนทางเป็นหลายๆขั้น โดยมีถังวางเป็นอนุกรม หรืออาจจะทำการออกแบบให้เป็นระบบถังเดียวแต่ทำในระบบแบบต่อเนื่อง โดยถ่ายเฉพาะถังหมายเลขต่ำไปยังหมายเลขที่สูงขึ้น [24] ตัวทำละลายจะทำหน้าที่ละลายตัวถูกละลายทุกชนิดที่อยู่ภายในเฟสของแข็งที่เข้าสู่ระบบ โดยต้องไม่มีกระบวนการดูดซึมระหว่างตัวทำละลายกับของแข็ง ดังนั้น สมดุลจึง หมายถึง ระบบที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบระหว่างสองวัฏภาค

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.11 ปัจจัยต่าง ๆที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช

2.11.1 ระยะเวลาในการสกัด

ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็นตัวแปรที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพหรือค่าผลได้ (Yield) ในการกระบวนการชะละลาย โดยสารถูกละลายในเฟสของแข็งจะแพร่เข้าภายในของเหลวเป็นระยะเวลาตั้งแต่เริ่มสัมผัสกัน จนถึงจุดที่ความเข้มข้นของทั้งสองสถานะเข้าสู่จุดสมดุล ถ้าใช้ระยะเวลาในการชะละลายน้อยกว่าเวลาที่เข้าสู่จุดสมดุลจะทำให้ค่าผลได้ของสารที่ต้องการสกัดมีค่าน้อย

2.11.2 ขนาดอนุภาคของพืชสมุนไพร

ขนาดอนุภาคของสารตัวอย่างที่ต้องการชะละลายเป็นตัวแปรที่มีอิทธิพลต่ออัตราการชะละลาย ถ้าขนาดของอนุภาคมีขนาดเล็กกว่าจะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการถ่ายโอนมวลสารให้มากขึ้น และช่วยลดระยะทางของตัวถูกละลายที่อยู่ภายในของแข็ง ทำให้สามารถแพร่กระจายออกสู่ตัวทำละลายได้ดียิ่งขึ้น เป็นผลให้ประสิทธิภาพในการสกัดหรือการชะละลายมีประสิทธิภาพเพิ่มมากยิ่งขึ้น

2.11.3 ชนิดตัวทำละลาย [25]

ประเภทของตัวทำละลายที่เลือกใช้ในกระบวนการสกัดนับได้ว่าเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดในขั้นตอนการชะละลายสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกจากอนุภาคของพืชสมุนไพร (Solubility Step) โดยในการชะละลายจะให้ค่าผลได้ที่ดีควรเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม สารทำละลายที่นิยมใช้มากในปัจจุบัน เช่น เอทานอลและเมทานอลที่เป็นสารประเภทที่มีขั้วสามารถใช้งานได้อย่างกว้างขวาง (All Purpose Solvent) ในการสกัดสาระสำคัญจากพืชสมุนไพร นอกจากนี้ในกรณีที่สารจากพืชสมุนไพรมีลักษณะเป็นน้ำมันซึ่งไม่มีขั้ว สารทำละลายที่จะใช้ คือ เฮกเซน ซึ่งมีข้อดีคือ มีราคาถูกเมื่อสกัดน้ำมันออกจากพืชแล้วต้องนำสารละลายที่ได้ไปกลั่นเพื่อแยก เฮกเซนออกไปจากสารที่สกัดได้ ต่อจากนั้นจึงทำการกำจัดสีและกลิ่นจนได้น้ำมันพืชบริสุทธิ์

Chulalongkorn University

โดยทั่วไปหลักเกณฑ์ในการสกัดสารสำคัญจากพืชประเภทต่างๆจะมีดังต่อไปนี้

1. ตัวทำละลายที่ดีควรมีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่เราต้องการสกัดได้ดี โดยเงื่อนไขที่ใช้ในการพิจารณา คือ ควรมีคุณสมบัติทางเคมีหรือความมีขั้วคล้ายคลึงกัน
2. ตัวทำละลายที่เลือกใช้ควรเป็นสารประเภทที่ไม่ระเหยง่ายหรือยากจนเกินไป และมีจุดเดือดต่ำ เพื่อให้สามารถแยกออกจากสารที่ต้องการสกัดได้ง่ายเมื่อทำการสกัดจนสิ้นกระบวนการ
3. ตัวทำละลายที่ดีต้องไม่ทำปฏิกิริยาทางเคมี และไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกับสารในพืชสมุนไพรที่ต้องการสกัด
4. ตัวทำละลายที่ดีต้องไม่มีความเป็นพิษ มีราคาถูก และกระบวนการในการกำจัดไม่ยุ่งยากหรือซับซ้อน ซึ่งโดยทั่วไปหากเลือกใช้ตัวทำละลายที่มีขั้ว การจัดการเมื่อเป็นของเสียจะดำเนินการได้ง่าย และมีความเป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์และสิ่งแวดล้อมน้อยกว่าสารที่ไม่มีความเป็นขั้ว [32]
5. ตัวทำละลายที่ดีต้องมีความสามารถในการชะละลายสารที่ต้องการออกมาในส่วนของ Bulk solution มากที่สุด และควรจะละลายสารอื่นๆที่ไม่ต้องการออกมาให้ได้ปริมาณที่น้อยที่สุด (High Selectivity)

2.11.4 อุณหภูมิในการสกัด

กระบวนการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรโดยทั่วไปจะกระทำที่อุณหภูมิสูงระดับหนึ่ง เนื่องจากการอัตราการละลายของตัวทำละลายที่อุณหภูมิสูงจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการชะละลายได้ดีกว่า จึงทำให้ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในส่วนที่ต้องการสกัดมีสูงขึ้น อัตราการในสกัดจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากความหนืดของของเหลวมีค่าลดลงและการแพร่ของตัวทำละลายสูงกว่าการสกัดในช่วงที่อุณหภูมิต่ำ โดยสอดคล้องกับสมการ Einstein equation ซึ่งอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ยังผล (Effective Diffusivity), อุณหภูมิในการสกัด (Absolute Temperature) และความหนืดของสารทำละลาย (Dynamic Viscosity Coefficient) ดังนี้ [26]

$$\mathbf{Def} \propto \frac{\mathbf{T}}{\boldsymbol{\eta}} \qquad \textbf{สมการ(2.9)}$$

Def คือ ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ยังผล (effective diffusivity) หน่วยคือ $m^2 \cdot s$

T คือ อุณหภูมิในการสกัด หน่วยคือ $^\circ K$

η คือ ความหนืดของสารทำละลาย หน่วยคือ $kg \cdot s^{-1} \cdot m^{-1}$

อย่างไรก็ตามหากใช้อุณหภูมิในการสกัดสูงมากจนเกินไป อาจทำเป็นผลให้สารที่ไม่ต้องการถูกสกัดปนออกมา ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการเกิดความเสื่อมสภาพทางเคมี เกิดการสิ้นเปลืองพลังงานที่มากจนเกินไป และตัวทำละลายอาจจะเกิดการระเหยได้ง่าย ดังนั้นจึงควรพิจารณาอุณหภูมิในการสกัดให้มีความเหมาะสม ทั้งในแง่ของผลได้ในการสกัดและความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์

2.11.5 การปั่นกวน

ในกระบวนการสกัดสาระสำคัญจากพืชประเภทต่างๆ การใช้เครื่องมือช่วยในการเพิ่มความเร็วของการไหลเวียนของตัวทำละลายเป็นการเพิ่มการประสิทธิภาพในการแพร่ในภาวะปั่นป่วนเนื่องจากทำให้ของไหลเกิดการหมุนเวียน ซึ่งมีผลต่อค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัว [34] เพิ่มการเคลื่อนที่ของอนุภาคตัวทำละลายและสารละลาย ที่สำคัญคือช่วยเพิ่มพื้นที่สัมผัสในการชะละลาย และนอกจากนี้ยังสามารถช่วยป้องกันการตกตะกอนได้อีกด้วย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช

(Quy Diem Do และคณะ, 2014) [27] ได้ศึกษากระบวนการสกัดสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากผักแขยง (Limnophila aromatic) โดยทำการแปรผันปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพผลได้ของสารต่อต่านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย และ ความเข้มข้นของตัวทำละลายโดยประเภทของตัวทำละลายที่เลือกใช้ในการศึกษาได้แก่ เมทานอล (Methanol) , เอทานอล (Ethanol) , และอะซีโตน (acetone)และใช้แปรผันความเข้มข้นของแต่ละสารละลายร้อยละ 50 ,75, และ 100 ตามลำดับ ออกแบบกระบวนการศึกษาเพื่อสกัด คือ นำผักแขยงที่ผ่านกระบวนการล้างให้สะอาดแล้ว ไปทำการแช่แข็ง (freeze-dried) และบดให้ละเอียด และทำการสกัดสารฟีนอลิกโดยใช้ตัวทำละลายที่ค่าความเข้มข้นต่างๆที่กำหนด ทำการสกัดโดยมีการปั่นกวนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองพบว่าตัวทำลายที่สามารถสกัดสารฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิกจากผักแขยงได้ดีที่สุด คือ ตัวทำละลายชนิดเอทานอลบริสุทธิ์ โดยสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้มีค่าผลได้ (Yield) ในหน่วยน้ำหนักต่อกรัมของผักแขยง คือ 40.5 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมผักแขยง

(Giorgia Spigno และคณะ ,2006) [28] ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากองุ่น โดยศึกษาจลศาสตร์ในกระบวนการการสกัดจากเวลา 1 ชั่วโมงถึง 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิช่วง 45-60 องศาเซลเซียส ทำการทดลองโดยศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลที่มีผลต่อปริมาณผลได้ของสารประกอบฟีนอลิก จากการศึกษาพบว่ากระบวนกา ในการสกัดดำเนินไปค่อนข้างช้า มีค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกที่สูงที่สุดที่อุณหภูมิในการสกัด คือ 50 องศาเซลเซียส และค่าความเข้มข้นของเอทานอลที่เหมาะสมในการสกัดคือร้อยละ 70 และได้รายงานว่ากระบวนการแช่แข็งองุ่นก่อนจะทำการสกัดไม่มีผลทำให้ปริมาณสารฟีนอลิกที่สกัดได้มีค่าลดลง

(อุษา ถวิลรักษ์ และคณะ) [29] ได้ทำการศึกษาอิทธิพลการอบแห้งด้วยเครื่องไมโครเวฟและการอบแห้งด้วยลมร้อนที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด (TPC) และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เมื่อวัดด้วยวิธีการ DPPH radical scavenging activity และวิธีการ Ferric-reducing power (FRAP) ผักพื้นบ้าน 4 ประเภทที่ทำการศึกษา ได้แก่ ผักติ้ว (Gratoxy Formosum J), มะระขี้นก (Mornordica charantia L.) มะกอก (Spondias pinnata K.) และฟ้าทะลายโจร Andrographis paniculata (Burm.f.) Wall ex Nees.) จากการวิจัยพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้านทุกประเภทที่ทำการทดลองมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อนำไปผ่านกระบวนการอบแห้งด้วยไมโครเวฟและการอบแห้งด้วยลมร้อน

Roastango และคณะ (2004) [30] ได้ทำการศึกษากระบวนการสกัดสารไอโซฟลาโวนอยด์จากถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิคการสกัดแบบอัลตร้าโซนิค โดยศึกษาผลของความเข้มข้นของเอทานอลที่มีต่อค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิก จากผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของเอทานอลจะส่งผลต่อค่าปริมาณฟีนอลิกที่สกัดได้

เมื่อเอทานอลมีความเข้มข้นน้อยกว่าร้อยละ 40 (โดยปริมาตร) ปริมาณฟีนอลิกที่สกัดได้จะมีค่าลดลง แต่เมื่อใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60-70 จะทำให้ได้ปริมาณฟีนอลิกที่สกัดได้จากถั่วเหลืองดังกล่าวมีค่าเพิ่มขึ้น

Jokic และคณะ (2011) [31] ได้ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นตัวทำละลายในการสกัดที่เหมาะสมต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากถั่วเหลืองโดยทำการแปรผันความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลได้แก่ ร้อยละ 50, 60, 70 และ 80 (โดยปริมาตร) ขนาดของอนุภาคถั่วเหลืองเฉลี่ย 0.459 นาโนเมตร อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อน้ำหนักถั่วเหลือง 20 มิลลิลิตรต่อกรัม อุณหภูมิในกระบวนการสกัดช่วง 50 – 80 องศาเซลเซียส ทำการวัดค่าฟีนอลิกด้วยวิธี Folin Ciocalteu micro method ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร. ผลการศึกษารายงานว่า ตัวทำละลายที่เหมาะสมคือสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 (โดยปริมาตร) โดยใช้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลาที่เหมาะสมในการสกัด 120 นาที และได้ค่าผลได้โพลีฟีนอลิกเท่ากับ 4.322 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

Giao และคณะ (2009) [32] ได้ทำการศึกษาผลของขนาดอนุภาคและเวลาที่ใช้ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืช 3 ประเภท ได้แก่ Agrimonia eupatoria, Salvia ep และ Stureja Montana จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเวลาที่ใช้ในการสกัดที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่แต่ละประเภทที่ทำการศึกษา โดยเวลาที่น้อยที่สุดที่ทำให้ได้ค่าสารต้านอนุมูลจากพืชอยู่ที่ 5 นาที ส่วนขนาดของอนุภาคที่มีขนาดเล็กจะทำให้ได้ค่าผลได้ของสารต้านอนุมูลอิสระมีค่าเพิ่มมากขึ้น ขนาดอนุภาคของพืชที่เหมาะสมคือ < 0.2 มิลลิเมตร

Gironi และ Piemonte (2011) [33] ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิและตัวทำละลายต่อการผลได้ในการสกัดสารโพลีฟีนอลจากต้นเกาลัด โดยการแปรผันผลอุณหภูมิในการสกัดช่วง 60-80 องศาเซลเซียส, ความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลร้อยละ 0-60 (โดยปริมาตร) ขนาดอนุภาคเฉลี่ย 0.5×0.5×10 มิลลิเมตร, อัตราส่วนตัวทำละลายต่อน้ำหนักต้นเกาลัด 7.9 มิลลิลิตรต่อกรัมและอัตราการป้อนตัวทำละลาย 1.5 ลิตรต่อชั่วโมง ทำการวัดค่าโพลีฟีนอลด้วยวิธี Folin Ciocalteu method พบว่าการสกัดที่ให้ค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส,และความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลร้อยละ 60

2.13. กระบวนการผลิตเอนแคปซูเลชันอิมัลชัน (Emulsion-based encapsulation)

2.13.1 ระบบอิมัลชัน (Emulsion System)

อิมัลชัน (Emulsion) หมายถึง ระบบคอลลอยด์ (Colloid) ที่มีองค์ประกอบของของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิดที่ไม่สามารถละลายเป็นเนื้อเดียวด้วยกัน โดยสารชนิดหนึ่งเรียกว่า “วัฏภาคภายใน” (Internal phase หรือ Dispersion phase) จะถูกกระจายตัวอย่างไม่ต่อเนื่องอยู่ในสารอีกชนิดนึ่งซึ่งเรียกว่า “วัฏภาคภายนอก” (External phase หรือ Continuous phase) ในรูปของอนุภาค เช่น ระบบน้ำในน้ำมัน , น้ำและตัวทำละลายอินทรีย์อย่างไรก็ตามระบบอิมัลชันไม่สามารถเกิดการรวมกันเพื่อเป็นหยดอนุภาคขึ้นได้เองทำให้เกิดปรากฏการณ์ที่ทำให้สารมีความไม่คงตัว เช่น การรวมตัว (Flocculation และ Coalescence) การเกิดครีมมิ่ง (Creaming) และการแยกชั้น (Phase Separation)ซึ่งสามารถทำให้อิมัลชันมีความคงตัวได้โดยการใช้สารชนิดที่สามซึ่งเรียกว่า สารก่ออิมัลชัน (Emulsifiers หรือ Emulsifying Agent) โดยมีหน้าที่เป็นสารลดแรงตึงผิว (Surfactant Agent)สามารถสร้างฟิล์มรอบอนุภาคที่กระจายตัวหรือทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของการผลักกันระหว่างอนุภาค (electrostatic barrier) ลักษณะของอิมัลชันเมื่อมองด้วยตาเปล่าจะเห็นว่าเป็นเนื้อเดียวกัน แต่เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็น 2 วัฏภาค ซึ่งขนาดอนุภาคของระบบอิมัลชันจะมีขนาดที่แตกต่างกันออกไปตั้งแต่ 0.05 ไมครอน จนถึง 25 ไมครอน ขนาดของอนุภาคจะส่งผลต่อความขุ่นใสของอิมัลชันที่เตรียมได้ทำให้มีลักษณะปรากฏทางกายภาพเมื่อมองด้วยตาเปล่าที่แตกแต่งกัน ระบบอิมัลชัน สามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้ในหลากหลายอุตสาหกรรม ได้แก่ อุตสาหกรรมอาหาร เช่น กระบวนการเตรียมน้ำสลัด , อุตสาหกรรมยาและเวชสำอาง เช่น การเตรียมผลิตภัณฑ์บำรุงผิว หรือ ระบบนำส่งยาสู่ร่างกายอิมัลชันสามารถแบ่งประเภทได้ตามขนาดของอนุภาคซึ่งได้แก่ (Nirmala et al ,2013) [34]

1. แมคโครอิมัลชัน (Macroemulsion) ซึ่งขนาดอนุภาคของวัฏภาคกระจายมีขนาดตั้งแต่ 0.25-10 μm ลักษณะทางกายภาพจะมีสีขุ่นขาวเนื่องมาจากการหักเหของแสง
2. ไมโครอิมัลชัน (Microemulsion) จะมีขนาดตั้งแต่ 0.01-0.75 μm ลักษณะทางกายภาพจะมีสีโปร่งใส แสงสามารถทะลุผ่านได้เนื่องจากอนุภาคของวัฏภาคกระจายตัวมีขนาดค่อนข้างเล็ก ทำให้เกิดความเสถียรภาพทางด้านเทอร์โมไดนามิกสูง (Thermodynamic Stable)
3. นาโนอิมัลชัน (Nanoemulsion) คือ อิมัลชันที่มีขนาดวัฏภาคกระจายตัวเล็กตั้งแต่ 0.02-0.20 μm ซึ่งมีความเสถียรต่อการแยกชั้นของอิมัลชัน

2.13.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างอิมัลชัน

1. พลังงานในการเตรียมอิมัลชัน คือ การให้แรงเฉือนที่สามารถแตกหยดของเหลวได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมักจะเป็นกระบวนการตีปั่น ซึ่งอาจใช้แรงกล หรือเครื่องมือต่างๆ เช่น เครื่องโฮโมจีไนซ์ความเร็ว

รอบสูง เครื่องตีปั่นกวน เพื่อทำให้วัฏภาคน้ำมันและน้ำสามารถรวมเป็นระบบเนื้อเดียวกันได้โดยไม่เกิดการแบ่งชั้น และขนาดอนุภาคของวัฏภาคกระจายต้องมีขนาดเล็กเพียงพอ (Nirmala et al.,2013)[34]

2. ประเภทและปริมาณของสารก่ออิมัลชันมันในระบบ (Surface active agent หรือ Emulsifier) โดยปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่มากเกินพอ ในตัวกลางของวัฏภาคภายนอก เป็นการช่วยเคลือบ และครอบคลุมพื้นที่ผิวของหยดของเหลวขนาดอิมัลชันระหว่างการสร้างอิมัลชัน และช่วยป้องกันการรวมหยดจากการเหนี่ยวนำของแรงเฉือน และจากการเคลื่อนที่ของอนุภาค นอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวปริมาณมากเกินพอ จะเกิดเป็นไมเซลล์ในวัฏภาคต่อเนื่อง ไมเซลล์เกิดการแตกออกเป็นโมโนเมอร์อย่างรวดเร็ว ดูดซับบนผิวของเหลวที่สร้างขึ้นใหม่ การเลือกส่วนประกอบ โดยเฉพาะสารลดแรงตึงผิว ที่ไม่ก่อให้เกิดการสร้างอิมัลชัน ที่เป็นผลึกของเหลวที่เข้ากับสารละลายได้ง่าย (Lipotropic liquid crystalline microemulsion phase) กล่าวคือ ต้องช่วยส่งเสริมความแข็งแรงและความหนาของชั้นฟิล์มที่ตัวทำอิมัลชันหรือสารลดแรงตึงผิวจัดเรียงล้อมรอบอนุภาคของวัฏภาคกระจาย และทำให้การละลายของเฟสน้ำมันในวัฏภาคน้ำเกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.13.3 ประเภทของอิมัลชันจำแนกตามเทคนิคในการผลิต

2.13.3.1 อิมัลชันแบบชั้นเดียว (Single Emulsions) แบ่งเป็น 2 ประเภท

2.13.3.1.1 อิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (Oil in water emulsions หรือ O/W) คือระบบที่ประกอบไปด้วยอนุภาคของน้ำมันกระจายตัวอย่างไม่สม่ำเสมอในน้ำ และมีชั้นของตัวก่ออิมัลชันอยู่บางๆ จึงมีลักษณะทางกายภาพคือมีความเหนียวเหนอะหนะน้อย เมื่อสัมผัสบนผิวสามารถกระจายตัวได้ดี และล้างทำความสะอาดได้ง่าย เทคนิคการผลิตอิมัลชันในรูปแบบน้ำมันในน้ำจึงเหมาะสมสำหรับการผลิตเครื่องสำอางประเภท โลชันทาผิว , ครีม, ครีมกันแดด เนื่องจากสามารถให้ความรู้สึกที่เบาสบาย

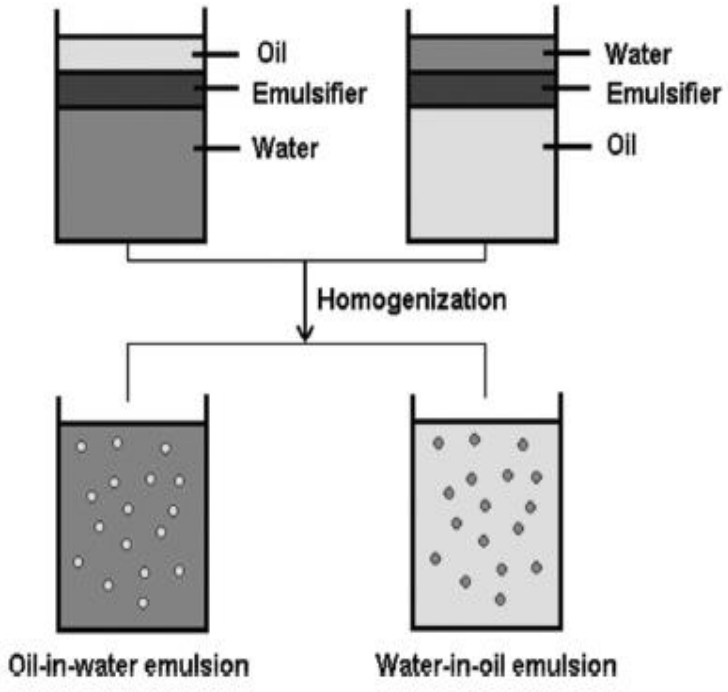
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.13.3.1.2 อิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน (Water in oil emulsion หรือ W/O) คือ ระบบที่ประกอบไปด้วยอนุภาคของน้ำกระจายตัวอย่างไม่สม่ำเสมอในน้ำมัน ทำให้มีลักษณะทางกายภาพคือ มีความเหนียวเหนอะหนะและความหนืดสูง และล้างออกได้ค่อนข้างยาก จึงมีความเหมาะสมในการผลิตเครื่องสำอางประเภท ครีมสำหรับล้างหน้า, ครีมนวดหน้า หรือครีมสำหรับบำรุงช่วงกลางคืน

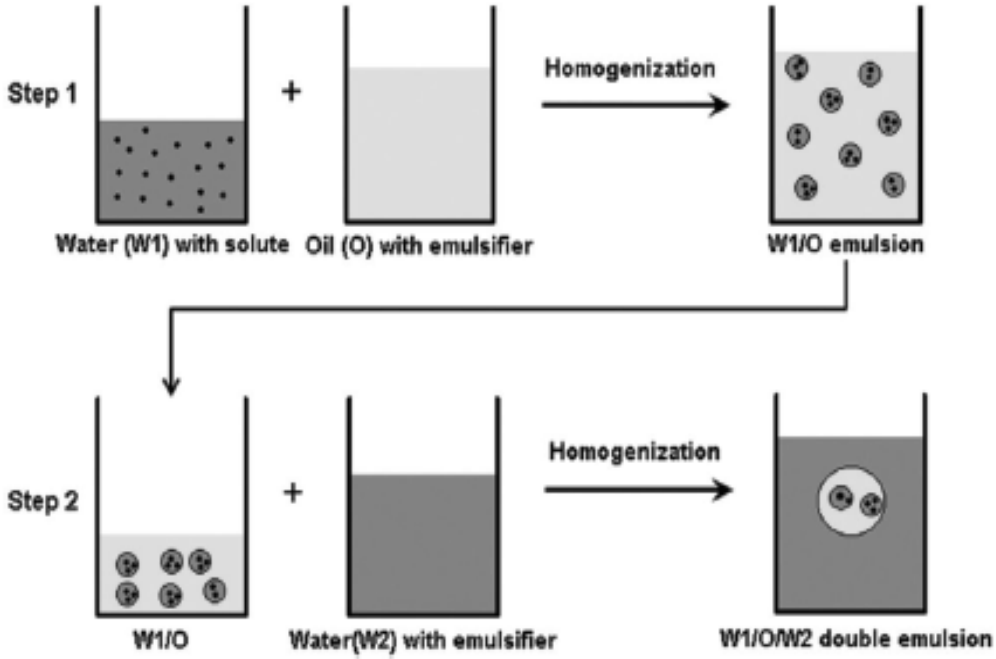
2.13.4.2 อิมัลชันแบบหลายชั้น (Conventional Multiple Emulsions) แบ่งเป็น 2 ประเภท

2.13.4.2.1 Water in oil in water emulsions (W/O/W) คือระบบที่มีการกระจายตัวของ อิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (Oil in water emulsions หรือ O/W) ซึ่งเตรียมได้จากระบวนการในข้อ 2.13.3.1.1 ในวัฏภาคของน้ำ

2.13.4.2.2 Oil in water in oil emulsions (O/W/O) คือระบบที่มีการกระจายตัวของอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน (Water in oil emulsion หรือ W/O) ซึ่งเตรียมได้จากระบวนการในข้อ 2.13.3.1.2 ในวัฏภาคของน้ำมัน



รูปที่ 2:15 กระบวนการเตรียมอิมัลชันแบบชั้นเดียว



รูปที่ 2:16 กระบวนการเตรียมอิมัลชันเชิงซ้อนโดยเทคนิคโฮโมจีเนียส

ที่มา : Wei Lu และคณะ 2015 [35]

2.13.4 ประเภทของอิมัลชันจำแนกตามความหนืดของอิมัลชัน

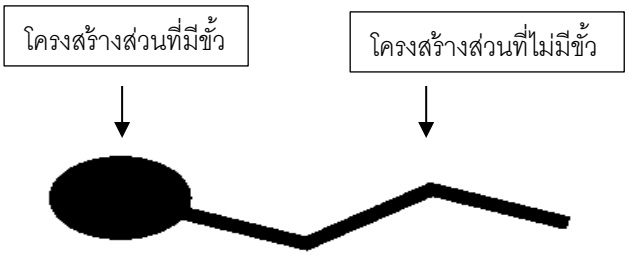
2.13.4.1 โลชัน (Lotion) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ เพราะมีวัฏภาคภายนอกหรือเฟสน้ำในปริมาณที่สูง วัฏภาคภายในหรือน้ำมันมักไม่เกิน 35 % เป็นรูปแบบที่พบมากที่สุดในผลิตภัณฑ์บำรุงผิวโดยเฉพาะผิวหนังที่มีบริเวณกว้าง เพราะให้ความชุ่มชื้น ไม่เหนอะหนะ ดูดซึมดี ให้ความรู้สึกสบายและล้างน้ำออกได้ง่าย ผลิตภัณฑ์ในประเภทนี้ ได้แก่ โลชันทาผิว โลชันป้องกันแสงแดด ซึ่งโลชันนี้อาจมีการใช้สารเพิ่มความหนืด (Thickening Agent) ในวัฏภาคน้ำให้หนืดขึ้นได้ แต่ยังคงเป็นของเหลวที่สามารถไหลได้

2.13.4.2. ครีม (Cream) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดสูง เพราะมีส่วนประกอบของสารพวกไขแข็ง (Waxes) และไขมัน (Fatty acid หรือ Fatty alcohol) ซึ่งช่วยเพิ่มความหนืด และเนื้อครีมผสมอยู่กับน้ำมันในวัฏภาคน้ำมัน ครีมมักจะมีความหนืดมากกว่าโลชัน เพราะมีปริมาณวัฏภาคภายในสูงกว่า คือประมาณ 35 -75 % โดยมีการใช้สารเพิ่มเนื้อครีม (Bodying หรือ Stiffening agent) เช่นไขมัน และไขแข็ง และถ้าเป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำอาจมีการใส่สารเพิ่มความหนืดร่วมด้วยเช่น acacia , veegum

2.13.5 สารลดแรงตึงผิว

สารลดแรงตึงผิว (surfactant) หรือเรียกว่าสารทำอิมัลชัน (Emulsifier) คือสารเคมีที่ประกอบด้วยองค์ประกอบ 2 ส่วนคือ ส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) และ ส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) มีคุณสมบัติเป็น Amphiphilic Molecule คือ สามารถละลายหรือกระจายตัวได้ทั้งในเฟสที่มีขั้วและเฟสที่ไม่มีขั้ว เมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวในส่วนผสมของน้ำและน้ำมัน โมเลกุลสารลดแรงตึงผิวจะถูกดูดซับบริเวณระหว่างผิวของน้ำและน้ำมัน โดยส่วนที่ชอบน้ำจะอยู่ในน้ำ และส่วนที่ชอบน้ำมันจะอยู่ในส่วนของน้ำมัน ด้วยลักษณะโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวนี้จึงมีคุณสมบัติใช้เป็นตัวผสานสารที่มีวัฏภาคต่างกันทำให้เป็นเนื้อเดียวกันได้ โดยการเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมทั้งในแง่ของชนิดของสารลดรงตึงผิวและปริมาณที่เหมาะสม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 2:17 โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว

2.13.5.1 **ค่าสมดุลระหว่างสารชอบน้ำและสารชอบน้ำมัน** (Hydrophilic Lipophilic Balance)

ในการเตรียมระบบอิมัลชันนิยมใช้สารลดแรงตึงผิวหรือสารก่ออิมัลชันชนิดไม่มีประจุ (non-ionic surfactant) คือ ไม่เกิดการแตกตัวเป็นประจุเมื่อละลายน้ำจึงทำให้ไม่มีประจุ รวมถึงการพิจารณาถึงคุณสมบัติในด้านความมีพิษต่อร่างกายที่น้อย ไม่ระคายเคืองต่อผิวหนัง ได้แก่ Sorbitan esters (Span®), Polysorbates (Tween®), Poloxamer ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในรูปแบบยารับประทาน, ยาฉีด, ยาทาภายนอก สามารถนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ทางด้านยาอิมัลชันน้ำแบบรับประทาน, อาหารเสริม , ผงซักฟอก เป็นต้น [46]

สารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิด สามารถลดแรงตึงผิวได้ต่างกัน ขึ้นอยู่กับโครงสร้างทางเคมีในส่วนที่ชอบน้ำและชอบน้ำมันของสารลดแรงตึงผิว ดังนั้นเพื่อให้ง่ายและสะดวกในการเลือกสารลดแรงตึงผิวในการเตรียมอิมัลชันให้มีความเหมาะสมต่อการใช้งาน จึงได้แสดงเป็นค่าสมดุลระหว่างสารที่ชอบน้ำและสารที่ชอบน้ำมัน หรือ ค่า HLB (Hydrophilic Lipophilic Balance) ซึ่งเป็นค่ามาตรฐานที่แสดงสัดส่วนร้อยละของกลุ่มที่ชอบน้ำ (hydrophilic) กับกลุ่มที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ของสารลดแรงตึงผิว ทั้งนี้ค่า HLB ไม่สามารถใช้ได้กับสารลดแรงตึงผิวชนิดที่มีประจุได้ เนื่องจากผลของความมีขั้วหรือมีประจุ และค่า pH มีอิทธิพลเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นค่า HLB จึงนิยมนำมาใช้สำหรับสารลดแรงตึงผิวชนิดไร้ประจุ

สารลดแรงตึงผิวที่มีค่า HLB สูง โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจะมีสัดส่วนของสารที่ชอบน้ำต่อน้ำมันสูง และหากค่า HLB ต่ำ จะมีสัดส่วนน้ำต่อน้ำมันต่ำ โดยค่า HLB เป็นค่าเฉพาะของสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิด และมีความเหมาะสมต่อระบบอิมัลชันที่ต่างกัน โดยค่า HLB ช่วง 3-6 ใช้ในระบบอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (w/o emulsion) ค่า HLB ช่วง 7-9 ใช้เป็นสารที่ทำให้เปียก (wetting agent) ค่า HLB ช่วง 8-18 ใช้ในระบบอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (Oil in water emulsion) ค่า HLB ช่วง 3-15 ใช้เป็นสารที่ทำให้ชะล้าง ทำความสะอาด (detergents) ค่า HLB ช่วง 15-18 ใช้เป็นสารเพิ่มการละลาย (Solubilizer)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ค่า HLB เป็นค่าที่กำหนดความมีขั้วของสารลดแรงตึงผิวในแง่ของปริมาณ ดังนั้นค่า HLB ที่ต้องการ (HLB required) สำหรับระบบอิมัลชัน จะขึ้นอยู่กับวัฏภาคภายนอก (External phase) เช่น น้ำ หรือ น้ำมัน รวมถึงองค์ประกอบที่ไม่ละลายในน้ำ โดยพบว่าค่า HLB ของสารลดแรงตึงผิวที่ดีที่สุด สำหรับการทำอิมัลชันจะมีค่าใกล้เคียงกับค่า HLB required ของน้ำมันแต่ละชนิดดังแสดงได้ในตารางที่ 2.4 จะยกตัวอย่างความต้องการค่า HLB ที่ต่างกันของไขมันที่ใช้ในการเตรียมอิมัลชัน ทั้งแบบชนิดน้ำในน้ำมันและชนิดน้ำมันในน้ำ และตารางที่ 2.5 แสดงค่า HLB ที่เหมาะสมกับการประยุกต์ใช้ในการเตรียมอิมัลชันแต่ละประเภทดังนั้นจึงควรเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวที่มีค่า HLB เท่ากับหรือใกล้เคียงกับค่าHLB required ของน้ำมันที่ใช้ในระบบการศึกษาเพื่อให้เกิดอิมัลชันที่มีความคงตัวที่ดีและมีอายุการใช้งานที่ยาวนาน

(M. Morais และคณะ 2006) [36] ได้รายงานสมการเพื่ออธิบายความสัมพันธ์ค่า HLB ของอิมัลชันในระบบที่มีองค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวมากกว่า 1 ชนิด โดยคำนวณสัดส่วนของสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิดเพื่อเตรียมอิมัลชันให้มีค่า HLB ที่ต้องการ ดังแสดงได้จากสมการที่ 2.10 คำนวณตามสัดส่วนโดยมวลที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิด โดย A เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ชอบน้ำ และ B เป็นสารลดแรงตึงผิวที่

ชอบไขมัน ชนิดของสารลดแรงตึงผิวมีผลต่อขนาดอนุภาคของอิมัลชันที่เตรียมได้ เนื่องจากไขมันแต่ละชนิดจะมีความต้องการค่า HLB ที่แตกต่างกัน ซึ่งค่า HLB ของสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิดดูได้จากตารางที่ 2.5

$$HLB_{\text{ระบบอิมัลชัน}} = [\ HLB_A \times (A\%)\ ] + [\ HLB_B \times (B\%)\ ] \qquad \textbf{สมการ (2.10)}$$

HLB_A คือ ค่า Hydrophilic Lipophilic Balance ของสาร A

HLB_B คือ ค่า Hydrophilic Lipophilic Balance ของสาร B

A คือ ปริมาณสัดส่วนร้อยละโดยมวลของสารลดแรงตึงผิวประเภท A ต่อปริมาณอิมัลชันทั้งหมด

B คือ ปริมาณสัดส่วนร้อยละโดยมวลของสารลดแรงตึงผิวประเภท B ต่อปริมาณอิมัลชันทั้งหมด

ชนิดของสารลดแรงตึงผิว (Surfactant)	**ค่า** HLB
Sorbitan trioleate (Span® 85)	1.8
Sorbitan tristearate (Span® 65)	2.1
Sorbitan sesquioleate (Arlacel 83)	3.7
Sorbitan monooleate, N.F., (Span® 80)	4.3
Sorbitan monostearate, N.F., (Span® 60)	4.7
Sorbitan monopalmitate, N.F., (Span® 40)	6.7
Sorbitan monolaurate, N.F., (Span® 20)	8.6
Polyoxyethylene sorbitan tristearate (Tween® 65)	10.5
Polyoxyethylene sorbitan trioleate (Tween® 85)	11.0
Glycerol monostearate., (Arlacel 165)	11.0
Polyethylene glycol 400 monostearate	11.6
Polysorbate 60, N.F., (Tween® 60)	14.9
Polyoxyethylene monostearate (Myrj 49)	15.0
Polysorbate 80, N.F., (Tween® 80)	15.0
Polysorbate 40, N.F., (Tween® 40)	15.6
Polysorbate 20, N.F., (Tween® 20)	16.7

ตาราง 2:3 ค่า Hydrophile-lipophile balance (HLB) ของสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ

ที่มา : http://pharmcal.tripod.com/ch17.htm

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ชนิดของไขมัน	ค่า HLB	
	อีมัลชั่นชนิดน้ำในน้ำมัน	อีมัลชั่นชนิดน้ำมันในน้ำ
Acid, Lauric	--	15-16
Acid, Oleic	--	17
Acid, Stearic	6	15
Alcohol, Cetyl	--	15
Alcohol, Lauryl	--	14
Alcohol, Stearyl	--	14
Lanolin, Anhydrous	8	10
Oil, Castor	6	14
Oil, Cottonseed	5	10
Oil, Mineral	5	12
Oil, Olive	6	14
Petrolatum	5	12
Wax, Beeswax	4	12
Wax, Paraffin	4	11

ตาราง 2:4 ค่าความต้องการ HLB ของกรดไขมันแต่ละประเภท

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ค่า HLB	ลักษณะการผสมกัน	การนำไปประยุกต์ใช้
1-4	ไม่เข้ากัน	การผสมน้ำมัน
3-6	เข้ากันได้ไม่ดี	อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน
6-8	มีลักษณะขุ่นเหมือนน้ำนมด้วยการกวน	wetting
8-10	มีลักษณะขุ่นแต่มีความคงตัว	Wetting และ อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ
10-13	โปร่งแสง	อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ
>13	ใส	อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำและการทำให้สารละลายที่เข้ากันได้ยากผสมเข้ากัน

ตาราง 2:5 ค่า HLB ที่เหมาะสมกับการประยุกต์ใช้ในการเตรียมอิมัลชันแต่ละชนิด

การแบ่งประเภทของสารลดแรงตึงผิว [37]

1. สารลดแรงตึงผิวประจุลบ (Anionic Surfactant) มีแหล่งกำเนิดจากสารตั้งต้นในธรรมชาติ หรืออาจได้จากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี มีคุณสมบัติ คือสามารถให้ใช้ในการกำจัดสิ่งสกปรกได้เป็นอย่างดี นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์ประเภทซักล้าง แต่มีข้อเสียคือเป็นพิษ ดังนั้นในการประยุกต์ใช้จึงใช้สำหรับภายนอก ไม่นิยมใช้รับประทาน

2. สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุบวก (Cationic Surfactants) สาร ในกลุ่มนี้เมื่อละลายน้ำแล้วส่วนหัวจะเป็นประจุบวก นิยมใช้กันมากในอุตสาหกรรมสิ่งทอ โดยใช้เคลือบผ้า เพื่อให้ความลื่น และป้องกันไฟฟ้าสถิต สารจำพวกนี้ไม่มีความสามารถในการทำความสะอาด และไม่มีฟอง แต่สามารถเกาะเส้นผม และพื้นผิวได้ดี ให้ความลื่นจึงนิยมนำมาใช้ในครีมนวดผม หรือปรับผ้านุ่มสารลดแรงตึงผิวประเภทประจุบวกเกิดจากปฏิกิริยาทางเคมี Quaternation of fatty amine มีความเป็นพิษและก่อให้เกิดการระคายเคืองได้ง่าย อีกทั้งยังไม่เข้ากันกับสารลดแรงตึงผิวประจุลบ

3. สารลดแรงตึงผิวชนิดสองประจุ (Amphoteric Surfactants) สารกลุ่มนี้มีทั้งประจุบวกและลบอยู่ในโมเลกุลเดียวกัน เมื่อละลายน้ำจะแสดงประจุใดประจุหนึ่งขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม โดยถ้าสภาพแวดล้อมเป็นกรดก็จะแสดงประจุบวก ถ้าสภาพแวดล้อมเป็นด่างก็จะแสดงประจุลบ สังเคราะห์ขึ้นจากปฏิกิริยาทางเคมีTertiary fatty amine การใช้งานจะขึ้นกับสภาวะกรดและด่างของสารละลายในระบบ นิยมนำมาประยุกต์ใช้ในแชมพูและผลิตภัณฑ์ซักล้างที่อ่อนโยนต่อผิว

4. สารลดแรงตึงผิวชนิดไร้ประจุ (nonionic surfactant) ผลิตได้จากกระบวนการทางปิโตรเคมีหรือผลิตขึ้นจากแอลกอฮอล์ไขมันจากธรรมชาติ สารลดแรงตึงผิวชนิดนี้เป็นที่นิยมในการนำมาใช้อย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากมีความเป็นพิษและระคายเคืองน้อย สามารถนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของตำรับยาฉีด, ยารับประทานและยาภายนอกได้ และยังมีการนำมาใช้เป็นองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ทั้งเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ซักล้าง เช่น แชมพู น้ำยาทำความสะอาด ข้อดีของสารลดแรงตึงผิวชนิดนี้ที่สำคัญคือมันสามารถควบคุมการเปลี่ยนแปลงสภาพขั้วของสารลดแรงตึงผิวได้ โดยคุณสมบัตินี้เกิดขึ้นได้เพียงชั่วคราวในสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุ สารลดแรงตึงผิวชนิดไร้ประจุที่นิยมใช้ในปัจจุบัน *เช่น สาร* ในกลุ่ม Tween หรือกลุ่ม Span

การใช้สารลดแรงตึงผิวเพียงชนิดเดียวในตำรับอาจไม่สามารถช่วยให้เกิดความคงตัวของตำรับตามที่ต้องการได้ สารลดแรงตึงผิวดังกล่าวเปรียบเสมือนตัวกั้นเชิงกลซึ่งตัวกั้นเชิงกลที่แข็งแรงก็จะช่วยลดการรวมตัวกันของหยดของเหลวจากการชนกันของอนุภาคได้ดี ดังนั้นความคงตัวเชิงกลที่มากที่สุดจะเกิดขึ้นเมื่อฟิล์มระหว่างผิวของสารลดแรงตึงผิวจะต้องเรียงตัวชิดกัน รวมถึงสารลดแรงตึงผิวต้องมีอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลข้างเคียงที่แข็งแกร่ง ด้วยเหตุนี้ในทางปฏิบัติจึงนิยมเตรียมอิมัลชันจากสารลดแรงตึงผิวตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป

2.13.6 ความคงตัวและกลไกการรักษาความคงตัวของอิมัลชัน

ความคงตัวของอิมัลชัน (Stability of Emulsion) คือ ความสามารถในการรักษาการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่เริ่มต้นไว้ได้โดยไม่เกิดการแยกวัฏภาค เกิดการแยกชั้น หรือเกิดการรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนขนาดใหญ่ ขนาดหยดที่เล็กของอิมัลชันมีความเกี่ยวข้องกับการต้านทานการตกตะกอน หรือการเกิดการรวมตัวกันของอนุภาค เนื่องจากการเคลื่อนที่แบบบราวน์ของอนุภาคขนาดเล็ก ทำให้เกิดอัตราการแพร่สูงกว่าอัตราการตกตะกอน หรือ อัตราการเกิดครีมจากผลของแรงโน้มถ่วง อิมัลชันสามารถทำให้เกิดความคงตัวได้ ด้วยวิธีการต่างๆ ได้แก่

1. การทำให้คงตัวด้วยการกีดขวาง (Steric stabilization) เป็นการทำให้พื้นที่ระหว่างผิว (interface) ของหยดในวัฏภาคกระจายกับวัฏภาคต่อเนื่องมีโมเลกุล หรือ อนุภาคล้อมรอบ เพื่อเป็นการกีดขวางการชน (steric stabilization) และการรวมตัวกันของอนุภาคที่กระจายตัว

2. การทำให้คงตัวด้วยไฟฟ้าสถิต (Electrostatic stabilization) เป็นการทำให้พื้นที่ผิวของอนุภาคในวัฏภาคที่กระจายมีประจุ ซึ่งในทางทฤษฎีความคงตัวของอิมัลชันเกี่ยวข้องกับสมดุลระหว่างแรงดึงดูดและแรงผลักระหว่างอนุภาค โดยแรงดึงดูดเป็นแรงแวนเดอร์วาล์ว หรือ แรงกระจายของลอนดอน (London dispersion) ซึ่งทำให้อิมัลชันไม่คงตัว ในขณะที่แรงผลักจะช่วยให้เกิดความคงตัว จากการที่หยดอนุภาคของอิมัลชันแยกออกจากกัน ทั้งนี้ความไม่คงตัวทางกายภาพของครีมเกิดเนื่องจากระบบไม่มีความสมดุล อีกทั้งการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากปัจจัยภายนอก เช่น การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในระหว่างการเก็บรักษา โดยมีแนวโน้มการลดลงของพื้นที่ระหว่างผิว และพลังงานอิสระของระบบจากหลายกระบวนการ เช่น การเกิดครีมแบบรวมตัวและไม่รวมตัว, การเปลี่ยนแปลงพื้นที่แรงตึงระหว่างผิวโดยรวม (total interfacial area) และการเพิ่มขนาดหยดของเหลวจากการรวมตัวกันของน้ำมัน ซึ่งนำไปสู่การแยกวัฏภาค เป็นต้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.13.7 การประเมินคุณภาพของอิมัลชัน

การประเมินคุณภาพของอิมัลชัน จำเป็นต้องมีการทดสอบเป็นขั้นตอน เพื่อให้ผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้ออกมาเป็นที่ยอมรับและเชื่อถือได้จริงๆ ควรมีขั้นตอนการทดสอบดังนี้

2.13.7.1 การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพเคมี

1. ค่าความหนืดและคุณสมบัติการไหล
2. ค่าคุณสมบัติความเป็นกรดด่างของอิมัลชัน
3. ความเนียน และการแยกชั้น
4. ลักษณะเนื้อสัมผัสและการซึมเข้าสู่ผิว ไม่เหนียวเหนอะหนะ

2.13.7.2 การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพแบบเร่งของอิมัลชัน

การทดสอบความคงสภาพแบบเร่งการศึกษาสภาวะปกติจะต้องใช้เวลานาน การศึกษาโดยการเร่งจะเร็วขึ้นโดยการเพิ่ม อุณหภูมิ แสงความชื้นสัมพัทธ์ จึงช่วยร่นระยะเวลาการศึกษา เป็นประโยชน์มากในการเปรียบเทียบตำรับเพื่อคัดเลือกตำรับที่ดีที่สุดการเร่งโดยใช้อุณหภูมิ การเร่งโดยการใช้อุณหภูมิยังไม่เป็นที่ยอมรับเพราะอิมัลชัน เป็นระบบ 2 วัตภาค เมื่ออุณหภูมิสูง จะทำให้การละลายของตัวอิมัลชันเปลี่ยนไป อาจทำให้วัตภาคแยกชั้น หรือกลับวัตภาค จึงใช้คาดคะเนความคงสภาพที่อุณหภูมิห้องได้ยาก แต่โดยทั่วไปจะทดสอบด้วยวิธีนี้ เพราะอิมัลชันที่คงมนต่อความร้อนได้ดีจะคงทนที่อุณหภูมิห้องด้วยและการเร่งอุณหภูมิต่ำ อิมัลชันก็อาจแยกชั้นเนื่องจากตัวทำอิมัลชัน หรือ wax ตกตะกอน ถ้าเย็นมากน้ำจะกลายเป็นน้ำแข็ง เป็นเกล็ดแยกออกจากน้ำมันได้ จึงเป็นการเร่งการสลายตัวของโลชั่น

1. การใช้อุณหภูมิต่ำสลับสูง มี 2 ลักษณะ คือ Heating cooling cycle โดยการเก็บอิมัลชันในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเข้าตู้อบที่ 45 องศาเซลเซียส อีก 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบรวมทั้งสิ้น 6-8รอบแล้วนำมาประเมินผล Freeze and thaw cycle โดยการเก็บอิมัลชันในช่องแข็ง – 20 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมงจากนั้น นำมาเข้าตู้อบที่ 25 องศาเซลเซียส อีก 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบรวมทั้งสิ้น 6-8 รอบแล้วประเมินผล

2. การเร่งโดยแสง พลังงานแสงอาจเร่งให้เกิดการ ซีดจาง การเปลี่ยนสี กลิ่นหรือ เกิดปฏิกิริยาเคมี ตัวทำอิมัลชัน น้ำมันบางชนิดในสูตรตำรับอาจสลายตัวโดยแสงทำให้อิมัลชันมีลักษณะเปลี่ยนไปจากเดิมจึงควรทำการทดสอบอย่างยิ่ง

3. การเร่งโดยใช้แรงโน้มถ่วงโลก โดยการปั่นเหวี่ยง (centrifuge) หรือ การเขย่า(shake) วิธีนี้จะเร่งการตกตะกอนของอิมัลชัน และเป็นวิธีที่ขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์และความเหมาะสม

2.13.7.3 **ขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของอนุภาค**

ในกระบวนการผลิตอิมัลชันควรมีการศึกษาขนาดของอนุภาค โดยเครื่องมือที่นิยมใช้ในการประเมินขนาดของอิมัลชันที่ผลิตได้แก่ เครื่องซีต้าไซเซอร์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์จะประกอบไปด้วย ขนาดของอนุภาค (Particle size) ค่าศักย์ซีต้า (Zeta potential) ดัชนีการกระจายตัว (Polydispersity index, PI) ซึ่งเป็นการชี้วัดความคงตัวของอนุภาค รวมถึงเป็นการศึกษาลักษณะของอนุภาคอิมัลชันว่ามีการกระจายตัวของอนุภาคอย่างไร ขนาดของอนุภาคที่ได้จะขึ้นอยู่กับกระบวนการในการผลิต โดยอิมัลชันจะมีอนุภาคขนาดใหญ่เมื่อใช้อุณหภูมิที่ต่ำ Cold homogenization ถ้าใช้เทคนิคโฮโมจีไนเซชันแบบอุณหภูมิที่สูง (Hot homogenization) อนุภาคที่ได้จะมีขนาดที่เล็กลงมีค่าการกระจายตัวของอนุภาคที่แคบ มีการกระจายตัวที่ดีและมีความสม่ำเสมอมากกว่า

2.13.7.4 **ดัชนีการกระจายตัว** (Polydispersity index, PI)

Freitas และคณะ (1998) [38] ได้รายงานว่าระบบอิมัลชันที่ดี ควรมีค่าดัชนีการกระจายตัวของอนุภาคอิมัลชัน (PI) อยู่ตั้งแต่ในช่วง 0 ถึง 1 โดยค่าที่น้อยกว่า 0.3 แสดงถึงอนุภาคมีการกระจายตัวที่แคบ และมีขนาดของอนุภาคในระบบที่ใกล้เคียงกันทั้งระบบ

Das และคณะ (2012) [56] ได้ทำการศึกษาระบบการเตรียมอิมัลชัน จากผลการศึกษาได้รายงานปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าการกระจายตัวของอนุภาคอิมัลชัน (PI) ได้แก่ ชนิดของไขมัน, ชนิดของสารลดแรงตึงผิวในระบบ และเวลาที่ใช้ในกระบวนการ Homogenization ซึ่งเมื่อทำการเพิ่มเวลาในการโฮโมจีไนซ์เป็น 15 นาที และเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว จะทำให้ค่า PI ที่ได้มีค่าลดลง

2.13.7.5 **ค่าศักยภาพซีต้า** (Zeta potential)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ค่าศักยภาพซีต้า (Zeta potential) คือ ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าระหว่างบริเวณพื้นผิวบริเวณอนุภาคของอิมัลชันและในชั้นสารละลาย โดยค่าศักย์ซีต้าเป็นตัวช่วยในการคาดการณ์ความคงตัวในการเก็บรักษาของสารละลายคอลลอยด์ หรือค่าความคงตัวในการกระจายตัวของอนุภาคอิมัลชัน อนุภาคที่มีค่าศักย์ซีต้าเป็นบวกหรือลบมากจะทำให้เกิดการหักล้างต่อกันและมีเสถียรภาพในการกระจายตัว ในทางตรงกันข้ามถ้าอนุภาคมีค่าเป็นบวกหรือลบน้อยจะทำให้ไม่มีแรงในการป้องกันให้อนุภาคอื่นให้เข้ามารวมตัว ซึ่งหมายถึงความไม่มีเสถียรภาพของหยดอิมัลชัน โดยทั่วไปค่าศักย์ซีต้าของระบบอิมัลชันใดๆ จะถือว่ามีความเสถียรมากเมื่อมีค่ามากกว่า 30 มิลลิโวลต์หรือน้อยกว่า -30 มิลลิโวลต์ซึ่งจะแสดงว่าอนุภาคมีความคงตัวทางกายภาพที่ดี อย่างไรก็หลักการนี้ไม่สามารถนำมาใช้อธิบายระบบที่มีสารเพิ่มความคงตัว เพราะการดูดซับสารเพิ่มความคงตัวจะลดค่าศักย์ซีต้า เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงในระนาบเฉือนของอนุภาค โดยค่าศักย์ซีต้าจะลดลงเมื่อมีการเพิ่มพลังงานจากแสงหรือความร้อน เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะไปเพิ่มพลังงานจลน์กับระบบ ทำให้เกิดการรวมตัวของอนุภาคและค่าศักย์ซีต้าลดลง พลังงานดังกล่าวสามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกของไขมันอีกด้วย เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกจึงทำให้ค่าประจุไฟฟ้าเปลี่ยนไป ดังนั้นในกระบวนการเตรียมอิมัลชันการวัดค่าศักย์ซีต้าจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่งในการคาดการณ์ความคงตัวของอิมัลชันดังกล่าว [39, 40]

2.13.7.6 **ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสำคัญในสูตร** (Entrapment efficiency)

ประสิทธิภาพการห่อหุ้มสารสำคัญ (The drug entrapment efficiency, E_e) และเปอร์เซ็นต์ของสารสำคัญที่ถูกห่อหุ้มในระบบอิมัลชัน (drug loading, L) คำนวณได้จากสูตรในสมการที่ (2.11) และ (2.12)

$$E_e = \left(\frac{W_a - W_s}{W_a}\right) \times 100\% \qquad \textbf{สมการ} \ (2.11)$$

$$L = \left(\frac{W_a - W_s}{W_a - W_s + W_L}\right) \times 100\% \qquad \textbf{สมการ} \ (2.12)$$

W_a คือ น้ำหนักของตัวยาหรือสารสำคัญที่เติมเข้าไปในระบบทั้งหมด

W_s คือ น้ำหนักของตัวยาหรือสารสำคัญที่อยู่ในสารละลายส่วนใส

W_L คือ น้ำหนักของอิมัลชันทั้งหมด

โดยค่าน้ำหนักของตัวยาหรือสารสำคัญที่อยู่ในสารละลายส่วนใส (W_s) หาได้จากการนำสารตัวอย่างอิมัลชันมาปั่นเหวี่ยงเพื่อให้เกิดการตกตะกอนและได้สารละลายส่วนใส (supernatant) หลังจากนั้นนำไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญที่ไม่ถูกกักเก็บที่อยู่ในสารละลายส่วนใสมี ซึ่งโดยทั่วไปอาจทำได้ด้วยกัน 2 รูปแบบที่นิยมใช้ ได้แก่ การวัดด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer และด้วย High performance liquid chromatography (HPLC)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 3
การทดลอง

การดำเนินงานวิจัยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน โดยในส่วนแรกเป็นการศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแบบกะ หลังจากนั้นเป็นกระบวนการนำสารสกัดจากไข่น้ำมาประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางในรูปแบบของเอนแคปซูเลชันอิมัลชันเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ซึ่งมีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้จริง

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 **ไข่น้ำ** (จากศูนย์พัฒนาการเกษตรภาคที่ 3 จังหวัดนครราชสีมา)

3.2 เคมีภัณฑ์และอุปกรณ์

3.2.1 เคมีภัณฑ์

1. น้ำกลั่น
2. เอทานอล (Ethanol) ร้อยละ 95 (V/V) (May & Baker, British)
3. โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2Co_3) (May & Baker, British)
4. ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl Sulfoxide, DMSO)
5. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) (May & Baker, British)
6. Folin-ciocalteu phenol reagent (Merch, Germany)
7. กรดแกลลิก (Gallic acid) (Merch, Germany)
8. โซเดียมไนเดรต ($NaNO_3$)
9. สารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3.6H_2O$)
10. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
11. สารแคทีชิน (Catechin)
12. สารโทลอกซ์ (Trolox)
13. กรดสเตียริก (Steric acid)
14. Cremophor RH 40
15. Polysorbate 80 (TWEEN® 80)
16. Polysorbate 40 (TWEEN® 40)
17. Polysorbate 20 (TWEEN® 20)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2.2 อุปกรณ์

1. เตาลบลมร้อน (Hot Air Oven)
2. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex) G-560E, Scientific Industries, America
3. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (U V- Spectrophotometer) UV-2300-600, Shimadzu, Japan
4. เครื่องวัดความหนืด HAAKE VT500 TYP001-5583 NR 901160 DIN 12879,Japsen&Jensen, Germany.
5. Water bath Shaker XY-80, TAITEC, Japan
6. UV Detector,UVP Inc, USA.
7. 96 Well Microplate
8. Hot plate
9. Stirring rod
10. Thermometer
11. Universal Indicator pH 1-11, Carlo ERba
12. กรวยกรองบุชเนอร์ Buchner funnels
13. เครื่องกลั่นสารระเหยแบบหมุน Rotary Evaporator
14. บีกเกอร์
15. กระบอกตวง
16. ขวดรูปชมพู่
17. ไมโครปิเปต
18. หลอดทดลอง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.3.1 การเตรียมวัตถุดิบในการสกัดไข่น้ำ

นำไข่น้ำมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่าให้สะอาด เก็บไว้ที่อุณหภูมิ – 20 องศาเซลเซียส โดยแบ่งใส่ถุงแบบซิปไว้เพื่อนำไปทำการศึกษาและวิเคราะห์ต่อไป

3.3.2 การศึกษาสภาวะในการสกัดสารฟีนอลิกจากไข่น้ำโดยระบบแบบกะ

ทำการสกัดสารฟีนอลิกจากไข่น้ำด้วยวิธีการสกัดแบบกะ (Batch) โดยนำผงไข่น้ำปริมาณ 1 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองซึ่งถูกบรรจุไว้ด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิห้อง ทำการกวนอย่างต่อเนื่องโดยใช้เครื่องผสมสารละลาย (vortex) ซึ่งปรับอุณหภูมิโดยการใช้เครื่องเขย่าปรับอุณหภูมิ (water bath shaker) มีอัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที ที่ 50 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นทำการเก็บสารตัวอย่างเมื่อเวลาต่างๆ และนำไปกรองโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 เพื่อนำสารที่ได้ไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่อไป โดยในขั้นตอนการสกัดสารฟีนอลิกจากไข่น้ำในระบบแบบกะ มีการศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลในการสกัดดังต่อไปนี้

3.3.2.1 อิทธิพลความเข้มข้นเอทานอลที่ใช้ในการสกัด

เตรียมตัวอย่างไข่น้ำแล้วทำการสกัดสารฟีนอลิกตามวิธีข้อ 3.3.2.โดยใช้เอทานอลเข้มข้น 30, 50, 70,95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่อไป

3.3.2.2 อิทธิพลอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

เตรียมตัวอย่างไข่น้ำแล้วทำการสกัดสารฟีนอลิกตามวิธีข้อ 3.3.2. โดยทำการ ปรับอุณหภูมิของเครื่องเขย่าให้เป็น 25, 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.3.2.3 อิทธิพลอัตราส่วนของตัวทำละลายเอทานอลต่อของไข่น้ำ

เตรียมตัวอย่างไข่น้ำแล้วทำการสกัดสารฟีนอลิกตามวิธีข้อ 3.3.2. โดยใช้อัตราส่วนของปริมาณวัตถุดิบต่อปริมาณตัวทำละลายเป็น 5:1 , 10:1, 15:1, 20:1 (มิลลิลิตร/กรัม) ในระยะเวลาที่เหมาะสม ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่อไป

3.3.3 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก (Total Phenolic compounds, TPC) สารสกัดไข่น้ำ

การวัดค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากไข่น้ำ จะเป็นการวัดค่าความเข้นข้นของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic compounds) ซึ่งทำการวิเคราะห์โดยวิธีการของ Folin Ciocalteau micro method (ดัดแปลงจาก Waterhouse และคณะ 2002) [41] มีขั้นตอน คือ เตรียมสารสกัดหยาบจากไข่น้ำที่กรองได้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร น้ำกลั่นปริมาตร1.58 มิลลิลิตร สาร Folin-ciocalteu phenol reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 8 นาที

หลังจากนั้นเตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์โดยชั่งสารโซเดียมคลอไรด์ 200 กรัมนำมาผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 800 มิลลิลิตร และทำการปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตรเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง และทำการหยดสารละลายที่เตรียมได้ปริมาตร 80 ไมโครลิตรลงในสารละลายจากสารสกัดหยาบที่ผสม Folin-ciocalteu phenol reagent ดังกล่าว ทิ้งไว้ประมาณ 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV Vis Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรโดยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกเพื่อหาค่าความเข้มข้นฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.3.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากไข่น้ำด้วยวิธี DPPH scavenging Assay

การวัดค่าความฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดได้จากไข่น้ำ คือการคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างที่วิเคราะห์เทียบกับสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ เรียกว่า TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity; mM Trolox ต่อกรัมสารตัวอย่าง) มีขั้นตอนดังต่อไปนี้(ดัดแปลงจาก Nickavar B. และคณะ , 2006) [42] ทำการเตรียมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ในเอทานอลให้มีความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Trolox ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 µg/mL โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย การเตรียมตัวอย่างสารสกัดจากไข่น้ำที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 µg/ ในเอทานอลที่เตรียมไว้ในอัตราส่วน 1:2 โดยปริมาตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV Vis Spectrophotometer) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐาน

$$\text{Radical scavenging (\%)} = [(A_{control} - A_{sample})/ A_{control}] \times 100$$

A_{sample} คือ ค่า Absorbance ที่วัดได้ของสารผสมระหว่างสารละลาย DPPH กับสารตัวอย่าง

$A_{control}$ คือ ค่า Absorbance ที่วัดได้ของสารละลาย DPPH

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoid Content) สารสกัดจากไข่น้ำ

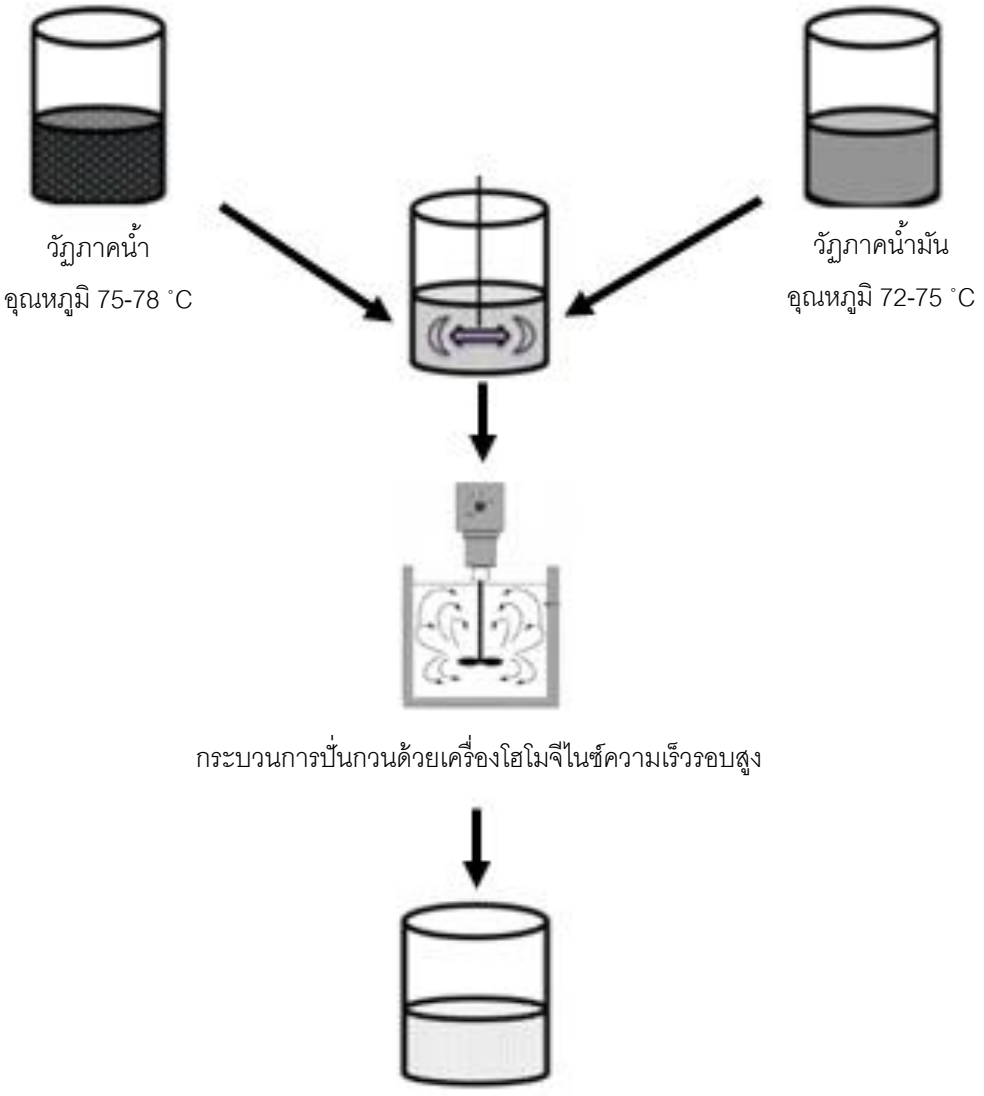
การวัดค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟลาโวนอยด์จากไข่น้ำ จะเป็นการวัดค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid content) ซึ่งทำการวิเคราะห์โดยดัดแปลงจากวิธี aluminum chloride colorimetric method ซึ่งมีวิธีการดังต่อไปนี้ [43],[44] การเตรียมสารตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ โดยนำตัวอย่างสารสกัดที่กรองได้ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 225 ไมโครลิตรเติมสารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ของสารละลายโซเดียมไนไตรต์ ในปริมาตร 15 ไมโครลิตร เติมสารละลาย 10 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ของสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ในปริมาตร 30 ไมโครลิตร หลังจากนั้นทำการเตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์โดยชั่งสารโซเดียมคลอไรด์ 10 กรัมนำมาผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 80 มิลลิลิตร นำไปต้มเพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายให้ดียิ่งขึ้นและตั้งทิ้งไว้ให้เย็น กรองด้วยกระดาษกรอง และปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง เขย่าให้เข้ากันและตั้งทั้งไว้ในที่มืด 60 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV Vis Spectrophotometer) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาค่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์โดยใช้เคชิน (catechin) เป็นสารมาตรฐานและรายงานผลในค่าสมมูลเคชิน (มิลลิกรัมสมมูลเคชินต่อหนึ่งร้อยกรัมน้ำหนักไข่น้ำ)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.3.6 การเตรียมตำรับครีมอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ

(ดัดแปลงจาก Small scale processing – Beaker method)

เตรียม water phase และ oil phase โดยการแยกบีกเกอร์ ในอัตราส่วนที่ต้องการ นำแต่ละส่วนไปหลอมโดยให้วัฏภาคน้ำมีอุณหภูมิประมาณ 75 – 78 องศาเซลเซียส และวัฏภาคน้ำมันให้มีอุณหภูมิประมาณ 72 – 75 องศาเซลเซียส (ให้วัฏภาคน้ำอุณหภูมิสูงกว่าวัฏภาคน้ำมันประมาณ 2-3 องศาเซลเซียส) ผสมสารทั้งสองบีกเกอร์รวมกัน ทำการคนจนเย็น และ congeal ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส จึงเติมสารอื่นตามตำรับที่ต้องการ



รูปที่ 3:1 กระบวนการเตรียมอิมัลชันโดยวิธีโฮโมจีไนเซชันแบบใช้ความเร็วรอบสูง

บทที่ 4
วิจารณ์ผลการทดลอง

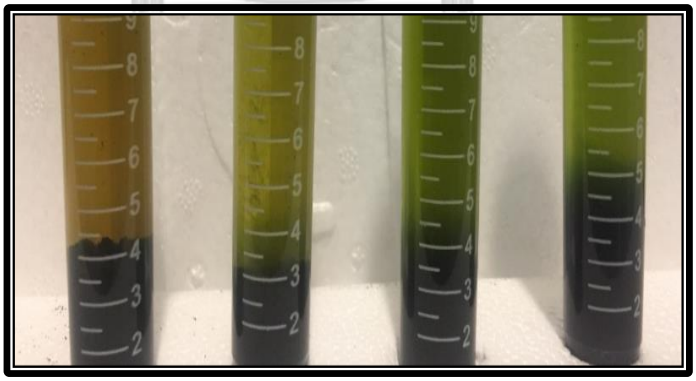
ในบทนี้จะกล่าวถึงผลการทดลองการศึกษา โดยในงานวิจัยนี้แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน คือ

1. ส่วนแรกเป็นการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำในระบบแบบกะโดยศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด, ค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและค่าผลได้ของสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ได้แก่ เวลาในการสกัด, ความเข้มข้นของสารละลายเอทานอล, อุณหภูมิในการสกัด, และอัตราส่วนของสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ รวมถึงการคำนวณค่าพารามิเตอร์เกี่ยวกับกระบวนการถ่ายเทมวลในกระบวนการสกัดไข่น้ำ เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้อย่างแท้จริงในอนาคต

2. ส่วนที่สองของงานวิจัย เป็นการศึกษาการนำสารสกัดฟีนอลิกจากไข่น้ำซึ่งได้จากการสกัดตามสภาวะที่เหมาะสมในการศึกษาจากส่วนที่ 1 มาศึกษาประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมในอิมัลชันครีม เพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพของสารประกอบฟีนอลิก และให้เกิดประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมด้านเวชสำอางต่อไปในอนาคต

4.1 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Content) ของสารสกัดจากไข่น้ำ

4.1.1 ผลการศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นสารละลายเอทานอลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total Phenolic Content) ของสารสกัดจากไข่น้ำ



รูปที่ 4:1 รูปภาพการสกัดไข่น้ำที่ความเข้มข้นของสารละลายเอทานอล
ความเข้มข้น 30, 50, 70, 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

จากการทดลองทำการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำ ในอัตราส่วนตัวทำละลายต่อของน้ำหนักไข่น้ำอัตราส่วน 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาการสกัด 0-240 นาที โดยแปรผันความเข้มข้นสารละลายเอทานอล 30, 50, 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.1 , 4.2 และ 4.3

จากผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.2 พบว่าเมื่อทำการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำ โดยใช้สารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และพิจารณาค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก ณ เวลาต่างๆพบว่า ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 10 นาทีแรก คือ 12.15 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ เมื่อใช้เวลาในการสกัดนานขึ้นตั้งแต่เวลา 20-30 นาที สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ผลได้ (Yield) เพิ่มขึ้น แต่มีอัตราที่น้อยกว่าในช่วง 10 นาทีแรก หลังจากเวลาที่ 30 นาที จะเห็นได้ว่าค่าผลได้จากการสกัดมีค่าเพิ่มขึ้นแต่มีอัตราการเพิ่มที่น้อยกว่าในช่วงแรกอย่างเห็นได้ชัดเจน โดยมีค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิก คือ 13.73 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ และมีค่ามากที่สุดเมื่อใช้เวลาในการสกัด 180 นาที คือ 15.68 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ โดยจากผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้เวลาในการสกัด 240 นาที ที่อุณหภูมิ 50 องศา จะได้ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกเป็น 15.74 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำซึ่งเมื่อทำการเปรียบเทียบกับค่าผลได้เมื่อใช้เวลาในการสกัด 180 นาที จะมีค่าผลได้ที่แตกต่างกันไม่มาก หรือมีค่าเกือบคงที่

เมื่อทำการสกัดไข่น้ำโดยการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลเป็น 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร จากผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพการสกัดดีขึ้นอย่างเห็นได้ชัด โดยสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ในช่วงระยะเวลาการทสกัดที่ 10 นาที ได้ในปริมาณที่สูงถึง 19.12 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ ทำให้ได้เส้นกราฟที่มีความชันสูงกว่าการสกัดด้วยสารละลายเอทานอล 30 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ในช่วงเวลา 10-30 นาที ยังสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้เพิ่มขึ้นเช่นกันในอัตราการเพิ่มที่น้อยกว่าในช่วงแรก และเมื่อใช้เวลาเป็น 30-120 นาที สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกที่ได้เพิ่มขึ้นที่ละน้อย จนกระทั่งเกือบคงที่ในเวลาที่ 180 นาที ได้ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกสูงสุดเมื่อใช้เวลาในการสกัด 240 นาที คือ 24.80 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ

เมื่อทำการสกัดไข่น้ำโดยการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลเป็น 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร จากการทดลองพบว่าประสิทธิภาพการสกัดดีขึ้นอย่างเห็นได้ชัด และให้ผลได้ของสารสกัดฟีนอลิกที่มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดโดยใช้เอทานอลความเข้มข้นอื่นๆ โดยสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ในช่วง 10 นาทีแรกสูงในปริมาณถึง 27.89 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ ลักษณะเส้นกราฟจะมีความชันที่คล้ายคลึงกับการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นอื่นๆ คือ ในช่วง 30 นาทีแรกจะมีค่าผลได้ของการสกัดที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว หลังจาก 30 นาทีแรก ยังสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ในปริมาณที่เพิ่มขึ้นเช่นกันแต่มีอัตราการเพิ่มที่น้อยกว่าในช่วงแรกอย่างเห็นได้ชัด เมื่อใช้เวลาเป็น 30-120 นาที สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกที่ได้เพิ่มขึ้นที่ละน้อย จนกระทั่งเกือบคงที่ในเวลาที่ 180 นาที ได้ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกสูงสุดเมื่อใช้เวลาในการสกัด 240 นาที คือ เป็น 39.72 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เมื่อใช้สารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นสูงสุดคือ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร พบว่าค่าผลได้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำมีค่าน้อยลงเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดโดยใช้เอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร โดยสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ในช่วง 10 นาทีแรกได้ในปริมาณ 27.02 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ ลักษณะเส้นกราฟจะมีความชันที่คล้ายคลึงกับการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นอื่นๆ คือ ในช่วง 30 นาทีแรกจะมีค่าผลได้ของการสกัดที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว หลังจาก 30 นาทีแรก ยังสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ในปริมาณที่เพิ่มขึ้นเช่นกันแต่มีอัตราการเพิ่มที่น้อยกว่าในช่วงแรกอย่างเห็นได้ชัด เมื่อใช้เวลาเป็น 30-120 นาที สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกที่ได้เพิ่มขึ้นที่ละน้อย จนกระทั่งเกือบคงที่ในเวลาที่ 180 นาที ได้ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกสูงสุดเป็น 38.05มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ

เมื่อพิจารณาแนวโน้มของค่าผลได้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกในช่วงเวลาต่างๆตั้งแต่ 0-240 นาที ที่ความเข้มข้นของสารทำละลายเอทานอลทุกความเข้มข้นที่ทำการศึกษา สามารถอธิบายโดยใช้ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องด้านการเกิดการถ่ายเทมวลของสารประกอบฟีนอลิกระหว่างสารฟีนอกลิกที่อยู่ภายในชั้นอนุภาคของไข่น้ำและสารชั้นทำละลายเอทานอล กล่าวคือ ในระยะเริ่มต้นของกระบวนการสกัดที่เวลา 10 นาทีแรก ความแตกต่างของความเข้มข้นสารประกอบฟีนอลิกที่ฟิล์มของเหลว (interfacial phase)ซึ่งเป็นเสมือนชั้นรอยต่อระหว่างอนุภาคของไข่น้ำ และชั้นสารละลายเอทานอล (bulk solution) มีค่าสูง ในขณะที่ชั้นตัวทำละลายมีความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับศูนย์ ทำให้เกิดแรงขับเคลื่อนในกระบวนการเกิดการถ่ายเทมวลของสารประกอบฟีนอลิกที่มาก (High driving force) ส่งผลให้การสกัดในช่วงเวลา 10 นาทีแรกมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว และ เมื่อเข้าสู่ในช่วงที่ 2 คือช่วง 10-30 นาที เมื่อตัวทำละลายทำการสกัดสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่บริเวณผิวอนุภาคออกมาจนหมด จึงเข้าไปเพื่อสกัดสารประกอบฟีนอกลิกในชั้นผิวที่อยู่ถัดไปข้างใน โดยตัวทำละลายจะค่อยๆเข้าไปในอนุภาคสมุนไพรโดยการแพร่ระหว่างการแพร่เข้าไปจะไปละลาย จนในที่สุดเมื่อทำการสกัดที่เวลาที่นานขึ้นคือช่วงเวลาในการสกัด 30-180 นาที ค่า driving force จะมีค่าลดลง เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ภายในอนุภาคของไข่น้ำถูกสกัดออกมาจนเกือบหมด หรือเหลือความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกในอนุภาคที่น้อยมากจนไม่สามารถสกัดออกมาได้อีก ทำให้ค่าผลได้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกมีค่าที่เกือบคงที่และเข้าสู่ระบบสมดุล (Equilibrium Point) ซึ่งจะเห็นได้จากแนวโน้มค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่แตกต่างกันมากเมื่อใช้เวลาในกระบวนการสกัด 180 และ 240 นาที

เมื่อพิจารณาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลที่มีผลต่อค่าผลได้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกในไข่น้ำ ที่ความเข้มข้นสารละลายเอทานอล 30 ,50 ,70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สามารถอธิบายได้คือ น้ำและเอทานอลมีคุณสมบัติทางเคมีที่ใกล้เคียงกัน คือเป็นสารที่มีขั้วเหมือนกัน แต่น้ำเป็นสารละลายประเภทอนินทรีย์และเอทานอลเป็นสารละลายอินทรีย์ ในขณะที่สารประกอบฟีนอลิกในไข่น้ำจัดเป็นกลุ่มสารประกอบประเภทอินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นสารไฮโดรคาร์บอนขนาดใหญ่และมีหมู่ไฮดรอกซิลหรือ OH group ด้วยเหตุดังกล่าวจึงทำให้การสกัดสารประกอบประเภทฟีนอลิกจากไข่น้ำมีประสิทธิภาพหรือค่าผลได้ที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอล ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cacace และ

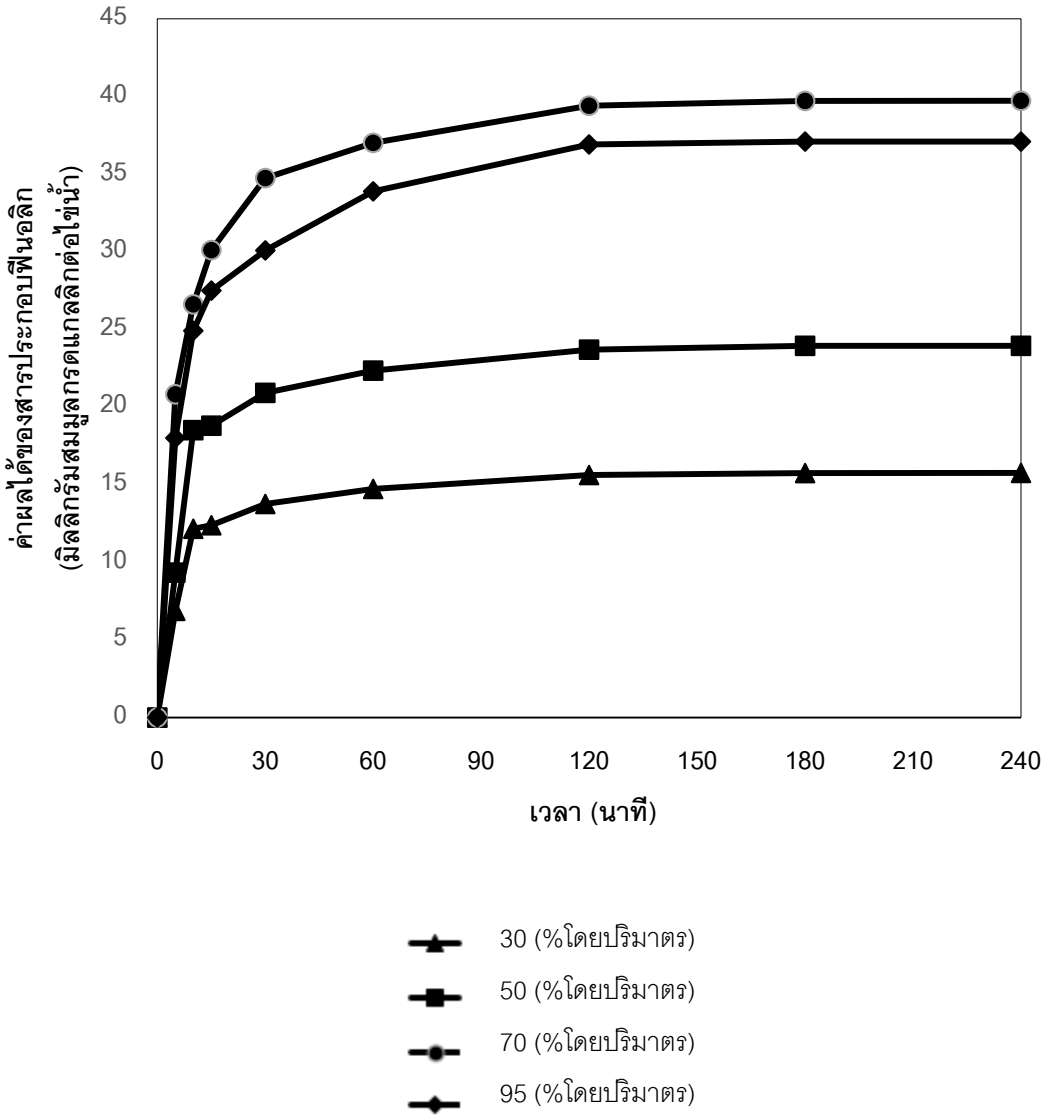
คณะ [45] ซึ่งได้รายงานว่าปัจจัยหลักที่มีผลต่อค่าผลได้ในการสกัดสารประกอบฟีนอกลิกคือ อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายเอทานอล ซึ่งควรมีการพิจารณาใช้ในปริมาณที่เหมาะสม กล่าวคือ ถ้ามีการใช้ในปริมาณที่มากหรือน้อยจนเกินไปจะทำให้เกิดความแตกต่างของสภาพขั้วระหว่างสารประกอบฟีนอลิกและตัวทำละลายเอทานอลในระบบได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลอง คือ เมื่อทำการสกัดโดยใช้เอทานอลความเข้มข้น 30 ,50 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ค่าผลได้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจะน้อยลงเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 75 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร นอกจากนี้ค่าแนวโน้มของค่าผลได้ในการสกัดเมื่อแปรผันความเข้มข้นสารละลายเอทานอลยังสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาอื่นๆได้แก่

Dixon และ Pavia (1995) [46] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิกในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ใบ ลำต้น ราก และผนังเซลล์ จากผลการศึกษารายงานว่า สารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่จะอยู่ในเซลล์เยื่อหุ้มของพืช ในขณะที่สารจำพวกฟีนอลิกที่สามารถละลายได้ มักอยู่ในส่วนของผนังเซลล์เพื่อสร้างพันธะไฮโดรเจน และพันธะไฮโดรโฟบิค (hydrophobic) กับโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์ ดังนั้น น้ำ และสารละลายเอทานอลที่เจือจางสามารถเข้าไปถึงภายในเซลล์ของพืชได้ดีกว่า ส่วนสารละลายเอทานอลความเข้มข้นสูงจนเกินไป จะมีผลทำให้โปรตีนสูญเสียสภาพ (Protein Denaturation) เกิดการยับยั้งการละลายของสารประกอบฟีนอลิกและส่งผลต่อค่าผลได้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกมีค่าลดลง

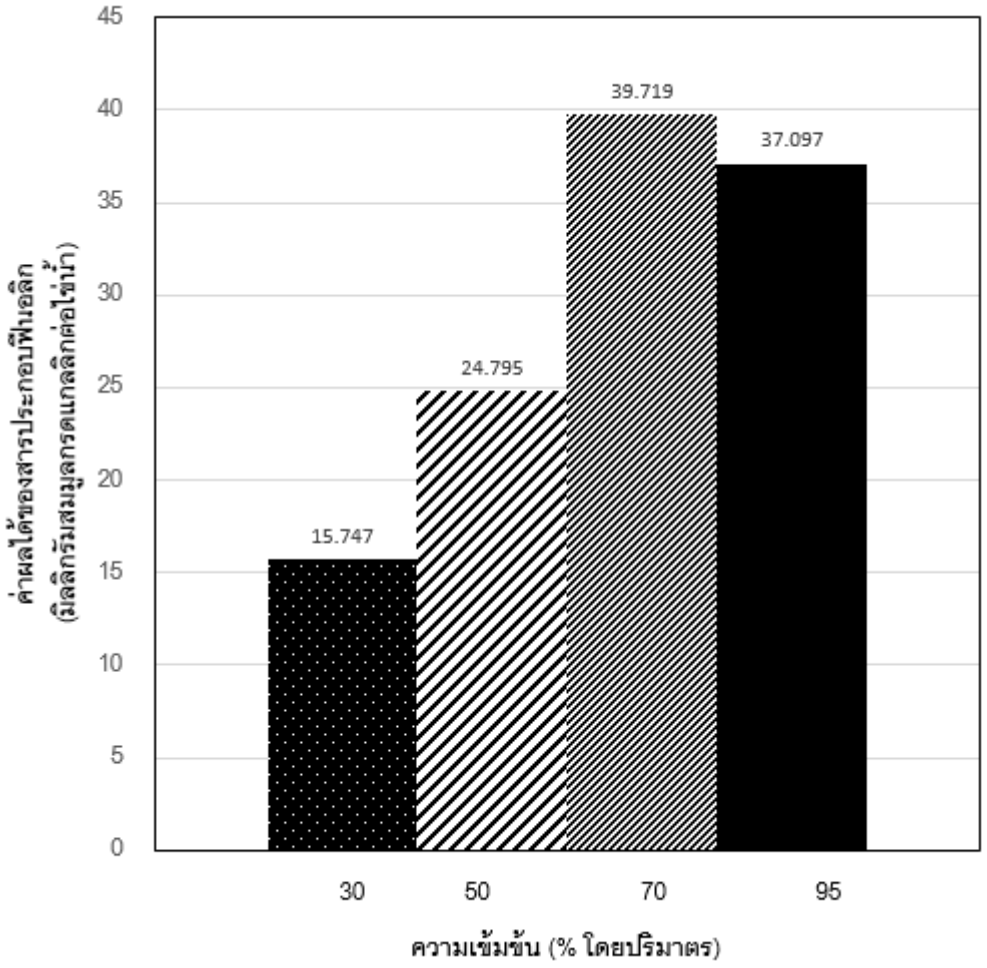
Lapornik และคณะ 2005 [47]ได้ทำการศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากผลไม้ประเภทเบอร์รี่ โดยจากผลการศึกษารายงานว่าการสกัดโดยใช้สารละลายประเภทเอทานอลและเมทานอลจะให้ค่าผลได้ของสารประเภทแอนโทไซยานิน และสารโพลีฟีนอลที่มากว่าการสกัดโดยใช้น้ำมากกว่าถึง 2 เท่า โดยการสกัดด้วยสารละลายเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร จะมีค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกที่มากที่สุด เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยน้ำและเมทานอล เนื่องจากน้ำมีส่วนเสริมประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ (Polyphenol Oxidase, PPO) ซึ่งอาจจะมีผลทำให้เกิดการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกในกระบวนการสกัด ในขณะที่สารละลายเอทานอลมีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ประเภทดังกล่าว จึงส่งผลให้ค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเอทานอล สอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ในการศึกษาในครั้งนี้

Spigno และคณะ (2007)[48] ได้ทำการศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากกากองุ่นที่เป็นส่วนที่เหลือทิ้งจากกระบวนการจากกระบวนการในอุตสาหกรรม จากการศึกษาพบว่าค่าความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลที่เหมาะสมในการสกัด คือ เอทานอลความเข้มข้น 30-60 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) ซึ่งการใช้เอทานอลความเข้มข้นที่สูงจนเกินไปจะทำให้ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกมีค่าลดลงอย่างชัดเจน ซึ่งเป็นผลมาจากความแรงของสภาพขั้วของเอทานอลจะส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกเกิดการเสื่อมสภาพได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 4:2 ค่าแนวโน้มผลได้สารประกอบฟีนอลิกจากการสกัดไข่น้ำ อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 0-240 นาที เมื่อทำการแปรผันสารละลายเอทานอล 30, 50, 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 4:3 ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกจากการสกัดไข่น้ำ โดยใช้อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 180 นาที เมื่อใช้สารละลายเอทานอล 30, 50, 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

4.1.2 ผลการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total Phenolic Content) ของสารสกัดจากไข่น้ำ

เมื่อทำการสกัดสารประกอบประเภทฟีนอลิกจากไข่น้ำด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 70 *30,* 50, 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร โดยใช้อัตราส่วนตัวทำละลายต่อของไข่น้ำ 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ระยะเวลาสำหรับการสกัดตั้งแต่ 0 ถึง 240 นาที โดยแปรผันอุณหภูมิในการสกัดได้แก่ 25,40, 50 และ 60, องศาเซลเซียส ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 4.4 และ 4.5

จากผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.5 พบว่า เมื่อทำการสกัดสารฟีนอกลิกจากไข่น้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในช่วงแรกกราฟจะมีความชันที่ค่อนข้างสูง หรือสามารถกล่าวได้ว่าสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จะมีการอัตราค่าผลได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว คือ ในช่วง 10 นาทีแรก จะได้ผลได้ของสารประกอบฟีนอลิก 12.14 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ เมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดให้นานขึ้นที่เวลา 10-30 นาที สารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จะเพิ่มขึ้น แต่มีอัตราค่าผลได้ที่น้อยกว่าในช่วง 10 นาทีแรก และเมื่อผ่านไปมากกว่า 30 นาที ค่าผลได้ในการสกัดจะมีค่าเพิ่มขึ้นค่อนข้างน้อย และมีค่าของผลได้สารสกัดฟีนอลิกเกือบคงที่ที่เวลาในการสกัด 180 นาที เมื่อสิ้นสุดเวลาในการสกัดที่ 240 นาทีจะมีค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 34.31 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ

เมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดเป็น 40 และ 50 องศาเซลเซียส จะได้ลักษณะของกราฟที่รายงานค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกที่มีแนวโน้มเช่นเดียวกับการสกัดที่อุณหภูมิห้องโดยแสดงดังในรูปที่ 4.4 โดยเมื่อสิ้นสุดกระบวนการสกัดที่ 240 นาที จะให้ค่าผลได้ในการสกัดคือ 36.48 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ และ 39.72 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมตามลำดับ โดยผลจากกการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับสมการอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ (Diffusivity), อุณหภูมิในการสกัด (Absolute Temperature) และความหนืดของสารทำละลาย (Dynamic Viscosity Coefficient) คือ เมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิในกระบวนการสกัดจะส่งผลให้ค่าความหนืดของสารละลายในระบบมีค่าลดลง หรืออาจกล่าวได้ว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจะช่วยทำให้สารละลายมีค่าเพิ่มมากขึ้น ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของตัวถูกละลายแพร่กระจายสู่ตัวทำละลายได้เพิ่มมากยิ่งขึ้น จึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาได้แก่

Sun และคณะ (2002) [49] ได้ทำการศึกษาการสกัดสาระสำคัญจากพืชและผลไม้ประเภทต่างๆ ได้แก่ ส้ม แอปเปิ้ล มะนาว จากผลการศึกษาได้รายงานว่าการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดจะมีผลได้ที่ดี เมื่อมีการใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้น ซึ่งอธิบายว่าอุณหภูมิสูงจะช่วยส่งเสริมการแพร่ของสารกลุ่มในกลุ่มโพลี่แซคคาไรด์บนผนังเซลล์พืช (cell wall) ให้เกิดการกระจายไปสู่ตัวทำละลายในส่วนต่างๆในระบบ และนอกจากนี้ยังสามารถช่วยลดความแข็งแรงของผนังเซลล์พืชลง ทำให้ตัวทำละลายสามารถแพร่เข้าไปภายในผนังเซลล์และส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกที่สกัดมีผลได้เพิ่มขึ้น

Cacace และคณะ (2003) [45] ได้รายงานถึงอิทธิพลของอุณหภูมิในการสกัดว่าจะส่งผลต่อการแพร่ของตัวทำละลายภายในอนุภาคของผลเบอร์รี่ เนื่องจากสัมประสิทธิ์การแพร่จะแปรผันตามอุณหภูมิ ดังนั้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่มีค่ามาก หรือความหนืดของสารละลายในระบบมีค่าลดลง ทำให้สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้มีประสิทธิภาพมากขึ้นตามลำดับซึ่งสอดคล้องกับสมการที่อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การแพร่,อุณหภูมิ,และค่าความหนืดของสารละลายในระบบดังสมการที่ 2.9 นอกจากนี้ยังได้รายงานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของกระบวนการถ่ายเทมวลสารและค่าผลได้ในการสกัดสารสำคัญจากพืชว่าปัจจัยที่มีผลต่อเวลาที่ในกระบวนการสกัดสารที่สำคัญ คือ อุณหภูมิและความเข้มข้นของตัวทำละลาย

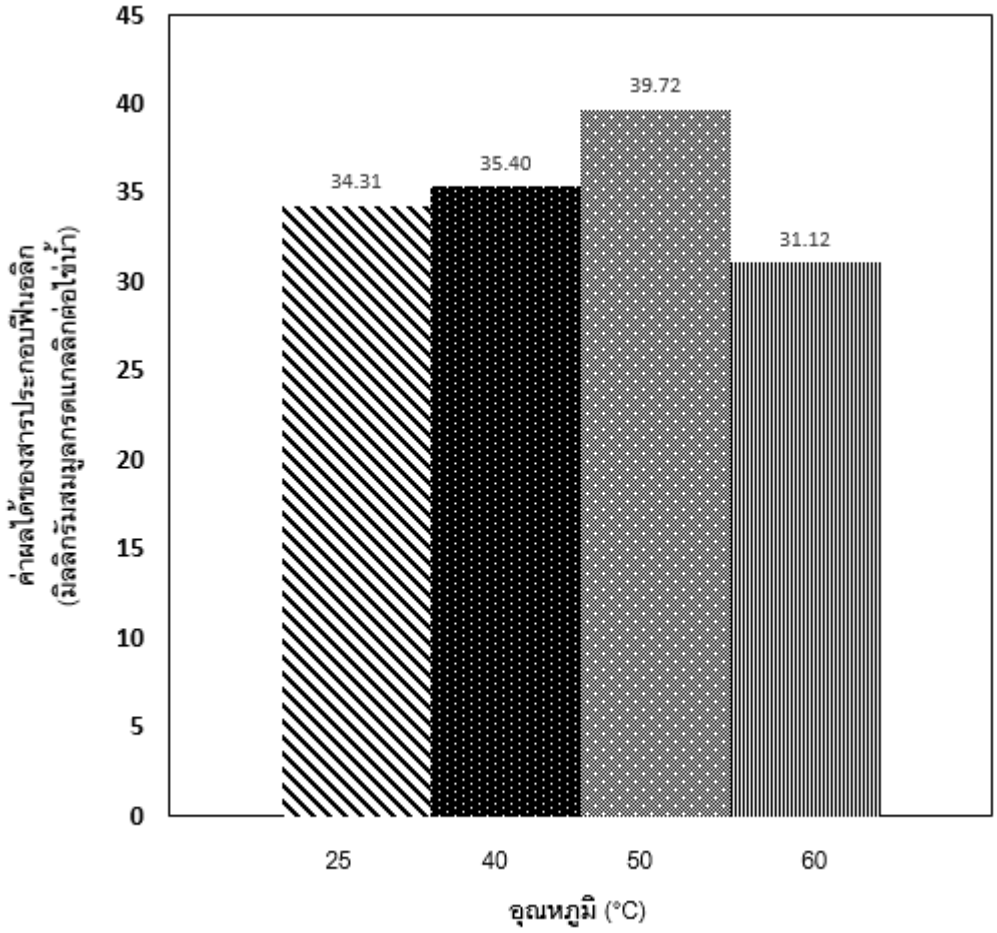
$$D \propto \frac{T}{\eta}$$ **สมการ**(2.9)

Yang และคณะ (2009) ได้ทำการศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากมะขามป้อม โดยการแปรผันอุณหภูมิในการสกัด จากผลการทดลองได้รายงานว่า การเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจะทำให้ค่าความหนืด (Viscousity) ของตัวทำละลายเอทานอลลดลง และช่วยส่งเสริมการเคลื่อนที่ของโมเลกุลของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระบบให้มีค่าเพิ่มมากขึ้น และยังทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่มีค่าเพิ่มขึ้นด้วย

อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดเป็น 60 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.4 และรูปที่ 4.5 จะพบว่าแนวโน้มของค่าผลได้ในการสกัดจะเป็นไปในทิศทางเดียวกับการสกัดที่ 25 , 40 และ 50 องศาเซลเซียส แต่ค่าผลได้ในการสกัดสารฟีนอลิกที่ได้ที่อุณหภูมินี้จะมีค่าลดลงและน้อยกว่าที่อุณหภูมิอื่นๆ คือ มีค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอกลิกเมื่อสิ้นสุดเวลาในการสกัดที่ 240 นาทีเป็น 31.12 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสามารถกล่าวได้ว่าการเพิ่มอุณหภูมิที่สูงจนเกินไปจะทำให้มีการเกิดการระเหยของตัวทำละลาย หรืออาจจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นได้

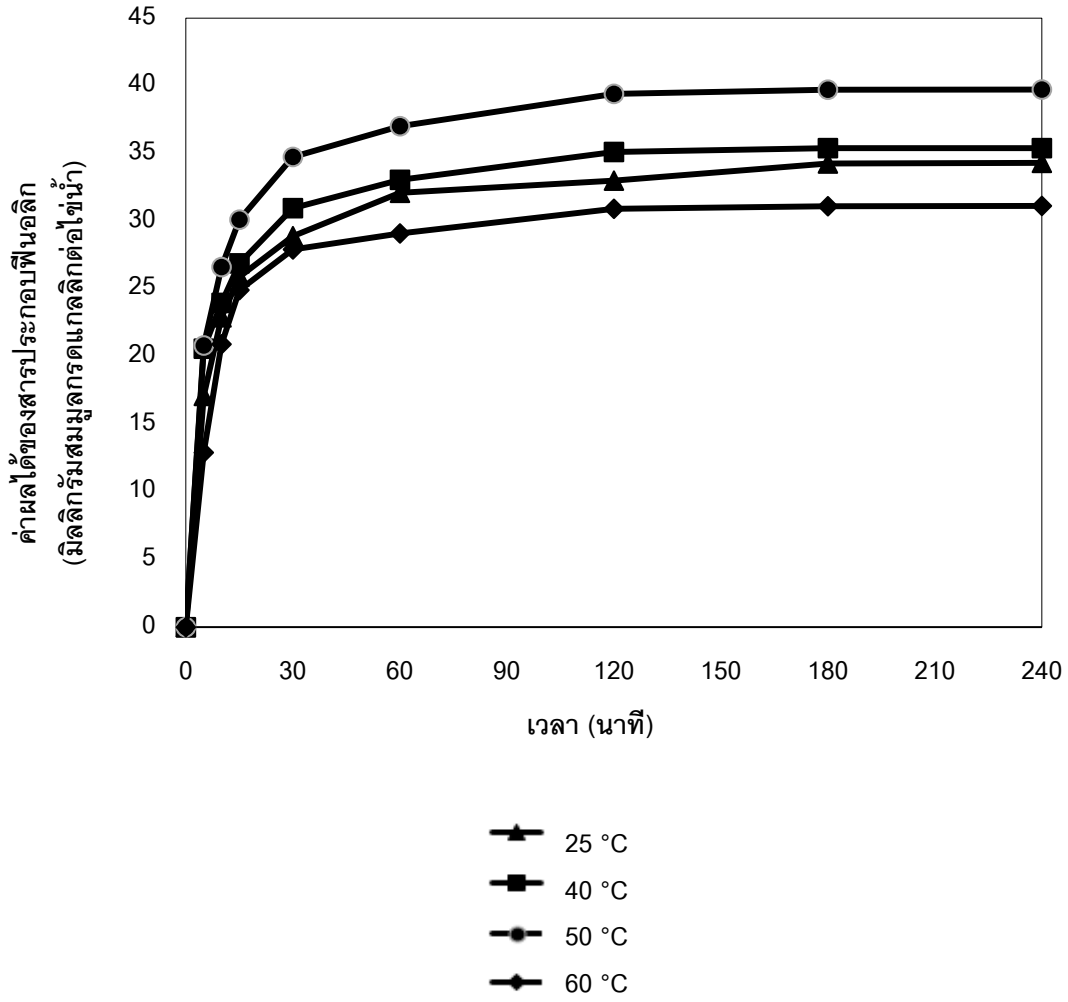
นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงความคุ้มค่าในทางเศรษฐศาสตร์ในการสกัดสารประกอบฟีนอกลิกแล้ว ปัจจัยที่สำคัญที่ควรได้รับการพิจารณาเพื่อให้เกิดความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์วิศวกรรม ได้แก่ เวลา และอุณหภูมิ ซึ่งจะทำให้สามารถลดค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิต ดังนั้นงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการสกัดสารสำคัญจากพืชมากมายที่ผ่านมาจะเห็นสรุปไปในทิศทางเดียวกัน คือ การเลือกใช้อุณหภมิในกระบวนการสกัดที่เหมาะสมในกระบวนการคือ ไม่สูงหรือต่ำจนเกินไป จะให้ผลดีทั้งในการเสริมทั้งการละลายของสารที่ต้องการสกัดและสัมประสิทธิการแพร่กระจาย (Diffusion Coefficient) และยังสามารถป้องกันการเสื่อมสภาพของสารประกอบฟีนอกลิกอีกด้วย ดังนั้นในกระบวนการศึกษานี้จึงเลือกใช้เวลาในการสกัดที่ 120 นาที อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นสารละลายเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ในการศึกษาตัวแปรด้านอัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ และค่าผลได้ด้านฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระ และค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 4:4 ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก จากการสกัดไข่น้ำอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เวลาในการสกัด 240 นาที เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิในการสกัด 25 , 40 , 50 และ 60 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4:5 ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกจากการสกัดไข่น้ำอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เวลาในการสกัด 0-240 นาที เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิในการสกัด 25 , 40 , 50 และ 60 องศาเซลเซียส

4.1.3 ผลการศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total Phenolic Content) ของสารสกัดจากไข่น้ำ

จากการทดลองสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำ โดยใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส และทำการแปรผันอัตราส่วนตัวทำละลายเอาทานอลต่อไข่น้ำ คือ 5:1 10: 1, 15:1 และ 20:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ที่ระยะเวลา 180 นาที ผลการทดลองแสดงดังในรูปที่ 4.6 และ รูปที่ 4.7 ตามลำดับ

จากรูปที่ 4.6 เมื่อทำการแปรผันอัตราส่วนของสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเพิ่มจากอัตราส่วน 5:1เป็น 10:1 และ15:1 และ 20:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) พิจารณาค่าผลได้ในแต่ละอัตราส่วนเมื่อทำการสกัดจนสิ้นสุดที่เวลา 180 นาที จะพบว่าค่าสารประกอบฟีนอลิกจะให้ค่าผลได้ที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อใช้อัตราส่วนตัวทำละลายเพิ่มมากขึ้น คือ เมื่อใช้อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเพิ่มจากอัตราส่วน 5:1เป็น 10:1 จะมีค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มจาก 35.79 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำเป็น 39.74 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ และให้ค่าผลได้ที่มากที่สุดเมื่อใช้อัตราส่วน 20 : 1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) คือ ให้ค่าผลได้เท่ากับ 40.86 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ ในขณะที่อัตราส่วนตัวทำละลาย 15:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) มีค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 40.36 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ จากแนวโน้มของสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ที่เกิดจากการแปรผันปัจจัยอัตราส่วนสารละลายเอทานอลดังที่ได้ในการทดลองสามารถอธิบายได้คือ เมื่อทำการเพิ่มปริมาณสารละลายเอทานอลในระบบจะทำให้พื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างอนุภาคของพืชสมุนไพรและตัวทำละลายเอทานอลมีค่าเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมา ได้แก่

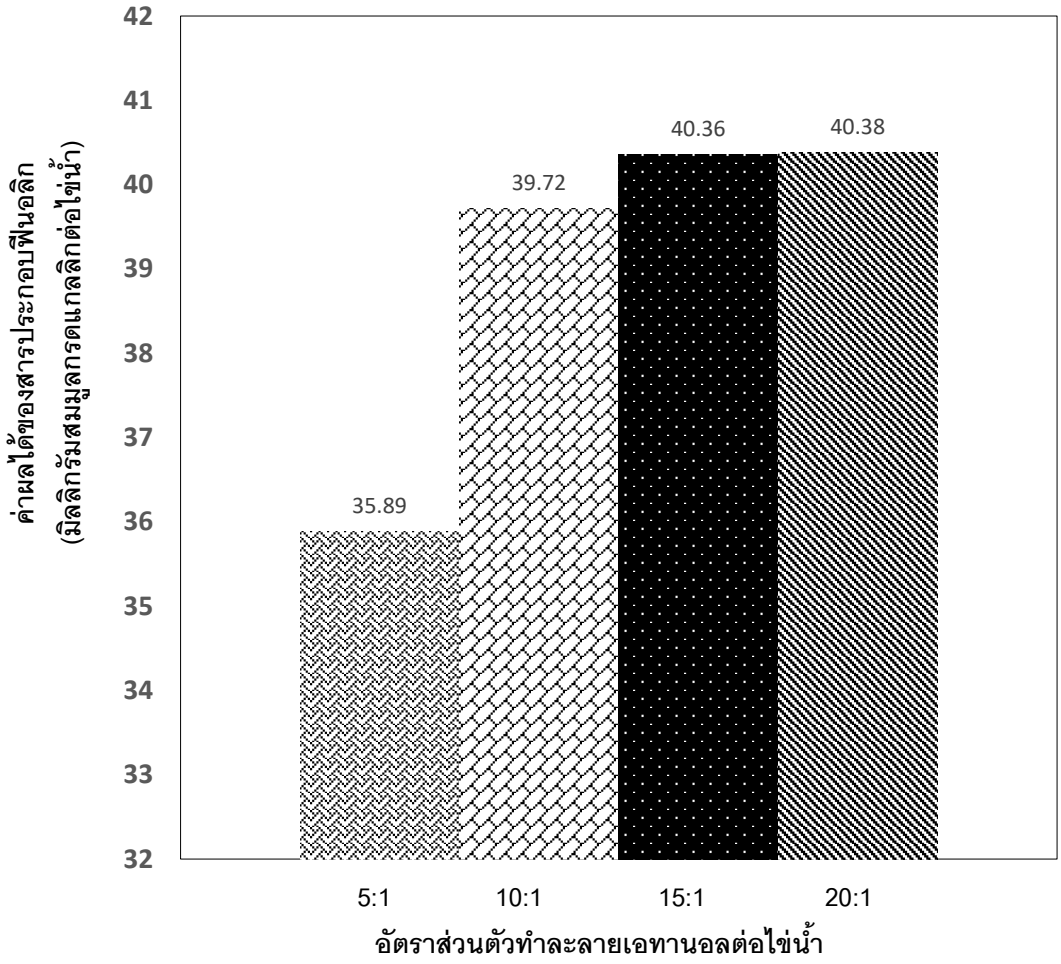
Cacace และคณะ (2003) [45] ได้รายงานในการศึกษากระบวนการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืชว่าการเพิ่มอัตราส่วนตัวทำละลายต่อของพืชสมุนไพรที่ทำการสกัด จะส่งผลต่อกระบวนการถ่ายโอนมวลในระบบโดยที่แรงขับ (Driving force) คือ ค่าความแตกต่างความเข้มข้นบริเวณของแข็งและของเหลว (Concentration Gradience) อีกทั้งยังส่งผลในการเพิ่มขึ้นของค่าอัตราการแพร่ (Diffusion rate) และค่าสัมประสิทธิ์ในการแพร่ที่ช่วยให้เพิ่มอัตราการสกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยตัวทำละลายเอทานอล อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาได้รายงานว่าปัจจัยที่มีผลสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดสารประกอบฟีนอลิก คือ อุณหภูมิ และความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสมในระบบอย่างไรก็ตามพบว่าการใช้อัตราส่วนเอทานอลที่มากจนเกินไปอาจจะทำให้ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย อีกทั้งอาจทำให้เกิดการสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายอีกด้วย

Prasad และคณะ (2009) [50] ได้ศึกษากระบวนการสกัดสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกลำไย จากผลการศึกษาได้รายงานว่าการเพิ่มปริมาณสารทำละลายในระบบจะมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อทำการเพิ่มอัตราส่วนจาก 25:1 เป็น 50:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มปริมาณสารทำละลายที่มากจนเกินไปคือ 75:1, 100:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) จะไม่มีผลต่อการเพิ่มค่าผลได้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกดังกล่าว

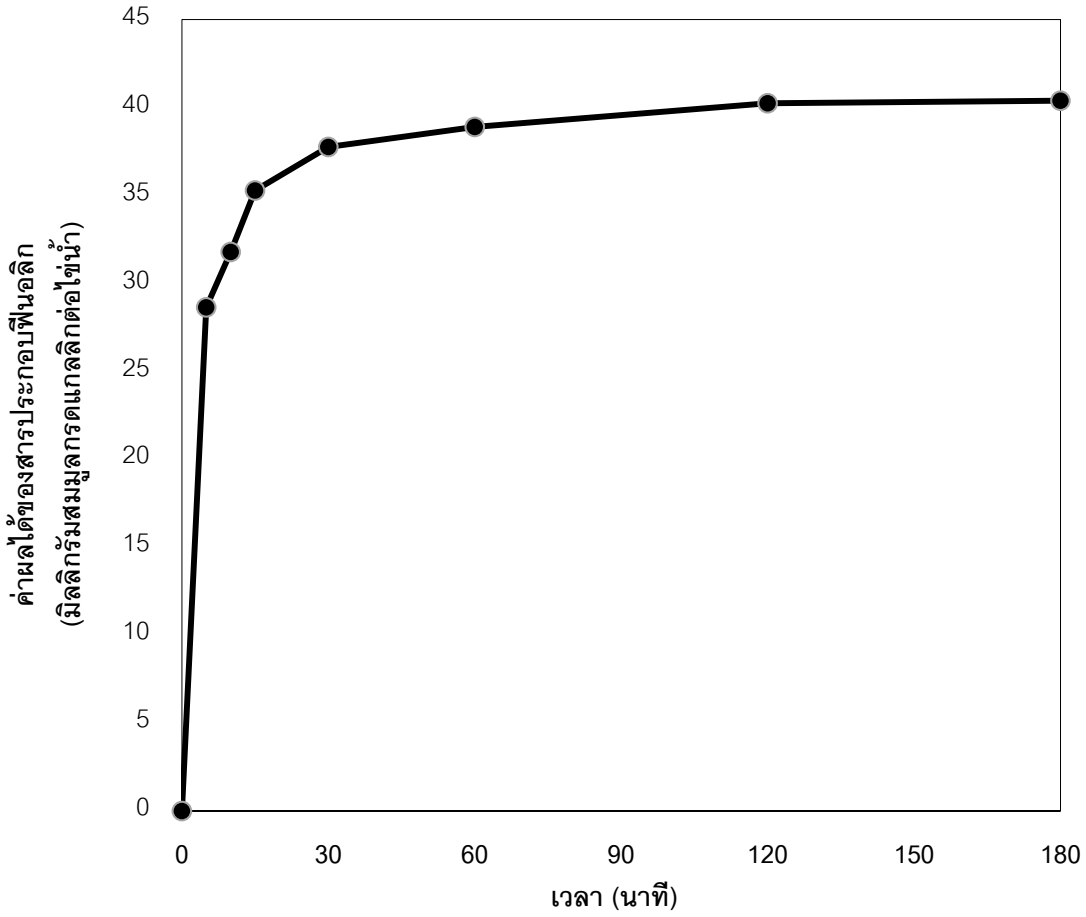
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Ho คณะ (2008) [51] ได้ทำการศึกษาการสกัดสารลิกแนนจากเมล็กแฟล็กซีดจากผลการศึกษาได้รายงานว่า การเพิ่มอัตราส่วนสารทำละลายต่อพืชจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด แต่อย่างไรก็ตามการเพิ่มอัตราส่วนดังกล่าวจะไม่ส่งผลโดยตรงต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด แตกต่างจากการเพิ่มอุณหภูมิ ประเภทของตัวทำละลาย และความเข้มข้นสารละลายในระบบซึ่งเป็นปัจจัยหลักที่ควรคำนึงถึง นอกจากนี้การที่ใช้สารทำละลายมากจนเกินไปอาจจะทำให้เกิดการสิ้นเปลืองอีกด้วย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 4:6 ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกจากการสกัดไข่น้ำ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 180 นาที เมื่อทำการแปรผัน อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 5:1 , 10 : 1 , 15:1 และ 20 :1 (มิลลิลิตรต่อกรัม)



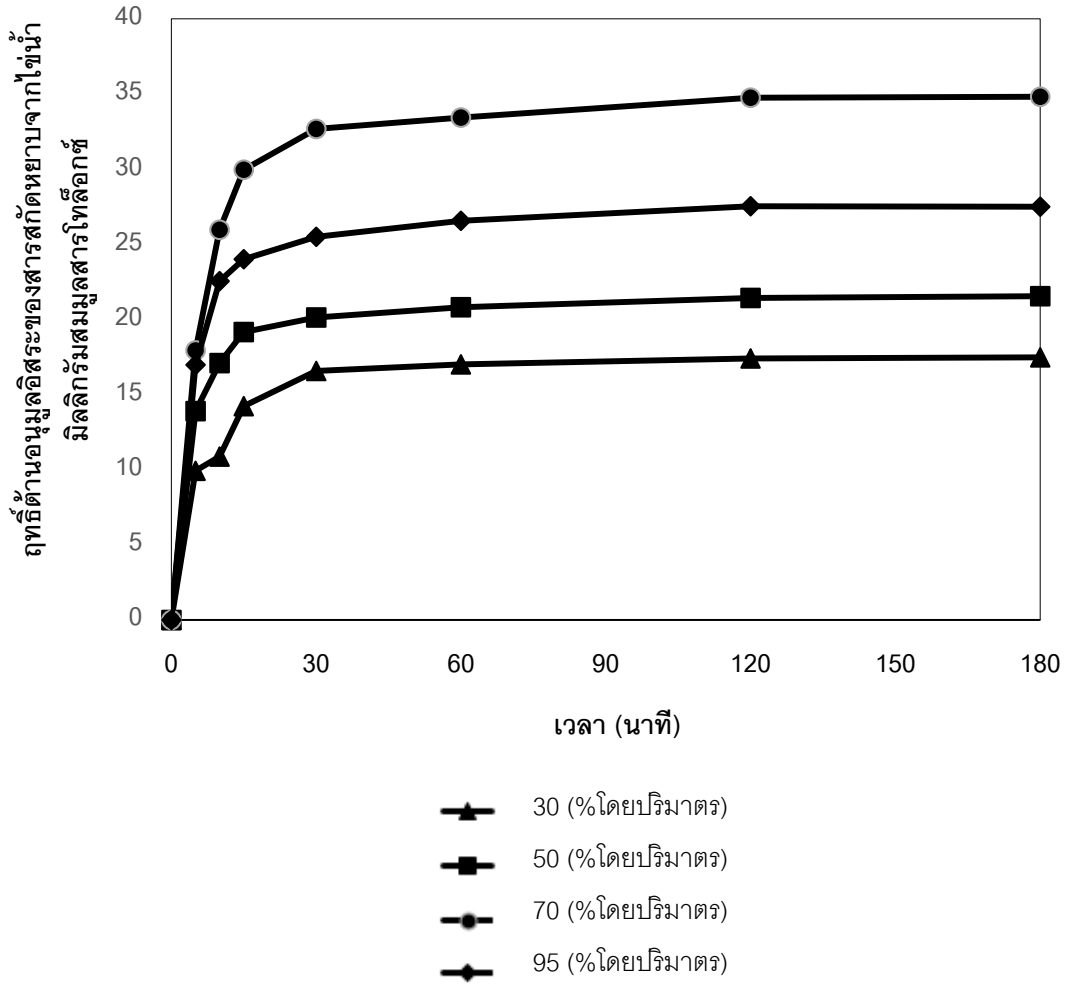
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 4:7 ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก จากการสกัดไข่น้ำอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 15:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ความเข้มข้นสารละลายเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 0 -180 นาที

4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากไข่น้ำด้วยวิธี DPPH scavenging assay

4.2.1 ผลการศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นสารละลายเอทานอลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ

จากการทดลองทำการสกัดสารสกัดหยาบจากไข่น้ำและนำไปวัดค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทำการสกัดที่ภาวะเช่นเดียวกับการทดศึกษาในข้อ 4.1 คือ อัตราส่วนตัวทำละลายต่อของน้ำหนักไข่น้ำอัตราส่วน 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) อุณหภูมิในการสกัดคือ 50 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาการสกัด 0-180 นาที โดยแปรผันความเข้มข้นเอทานอล 30, 50, 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.8 และ 4.9



รูปที่ 4:8 ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ เมื่อตรวจวัดด้วยวิธี DPPH scavenging assay อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 0-180 นาที ทำการแปรผัน ความเข้มข้นเอทานอล 30 , 50 , 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.8 พบว่าเมื่อทำการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำ โดยใช้สารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เมื่อพิจารณาค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ณ เวลาต่างๆ จะมีอัตราค่าผลได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 10 นาทีแรก คือ มีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ 10.87 มิลลิกรัมสมมูลสารโทล็อกซ์ เมื่อใช้เวลาในการสกัดนานขึ้นตั้งแต่เวลา 20-30 นาที ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจะมีค่าเพิ่มขึ้นแต่มีอัตราที่น้อยกว่าในช่วง 10 นาทีแรก หลังจากเวลาที่ 30 นาที จะเห็นได้ว่าค่ามีอัตราการเพิ่มที่น้อยกว่าในช่วงแรกอย่างเห็นได้ชัดเจน โดยเมื่อใช้เวลาในการสกัดจนสิ้นสุดที่180 นาที สารสกัดหยาบจากไข่น้ำจะมีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระเท่ากับ 17.84 มิลลิกรัมสมมูลสารโทล็อกซ์

เมื่อทำการสกัดไข่น้ำโดยการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลเป็น 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร จากผลการทดลองพบว่าค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมีค่าเพิ่มขึ้นมากกว่าการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และในช่วงเวลา 10-30 นาที ค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ได้จะมีค่าเพิ่มขึ้นเช่นกัน แต่เพิ่มในอัตราการเพิ่มที่น้อยกว่าในช่วงแรก และเมื่อใช้เวลาเป็น 30-120 นาที สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกที่ได้เพิ่มขึ้นที่ละน้อย จนเมื่อสิ้นสุดเวลาในการสกัดที่ 180 นาที ได้ค่าผลได้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ 21.54 มิลลิกรัมสมมูลสารโทล็อกซ์ และ 34.81 มิลลิกรัมสมมูลสารโทล็อกซ์ ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลในกระบวนการสกัดเป็น 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร จากผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.10 และรูปที่ 4.11 จะพบว่าแนวโน้มของค่าผลได้ในการสกัดจะเป็นไปในทิศทางเดียวกับการสกัดโดยใช้เอทานอลความ 30 , 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร แต่ฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระซึ่งได้ที่สภาวะดังกล่าวนี้จะมีค่าลดลงและน้อยกว่าการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร คือ มีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระเมื่อสิ้นสุดเวลาในการสกัดที่ 180 นาทีเป็น 27.50 มิลลิกรัมสมมูลสารโทล็อกซ์ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสามารถอธิบายได้คือ การเพิ่มความเข้มข้นสารละลายเอทานอลที่สูงจนเกินไปจะทำให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสารสกัดหยาบจากไข่น้ำเกิดการสูญเสียสภาพทางเคมี ส่งผลให้ค่าสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้มีค่าลดลง และส่งผลกระทบต่อฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่มีค่าลดลงดังแสดงในผลการศึกษานี้

จากแนวโน้มค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ณ เวลาต่างๆที่ทุกความเข้มข้นของเอทานอลเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบความความสัมพันธ์ระหว่างค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะเห็นได้ว่าค่าแนวโน้มของค่าผลได้ทั้ง 2 ณ เวลาต่างๆ เป็นไปในทิศทางเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่มีการสร้างโมเดลหรือสมการความสัมพันธ์ต่างๆมากมายเพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชประเภทที่สนใจ ได้แก่

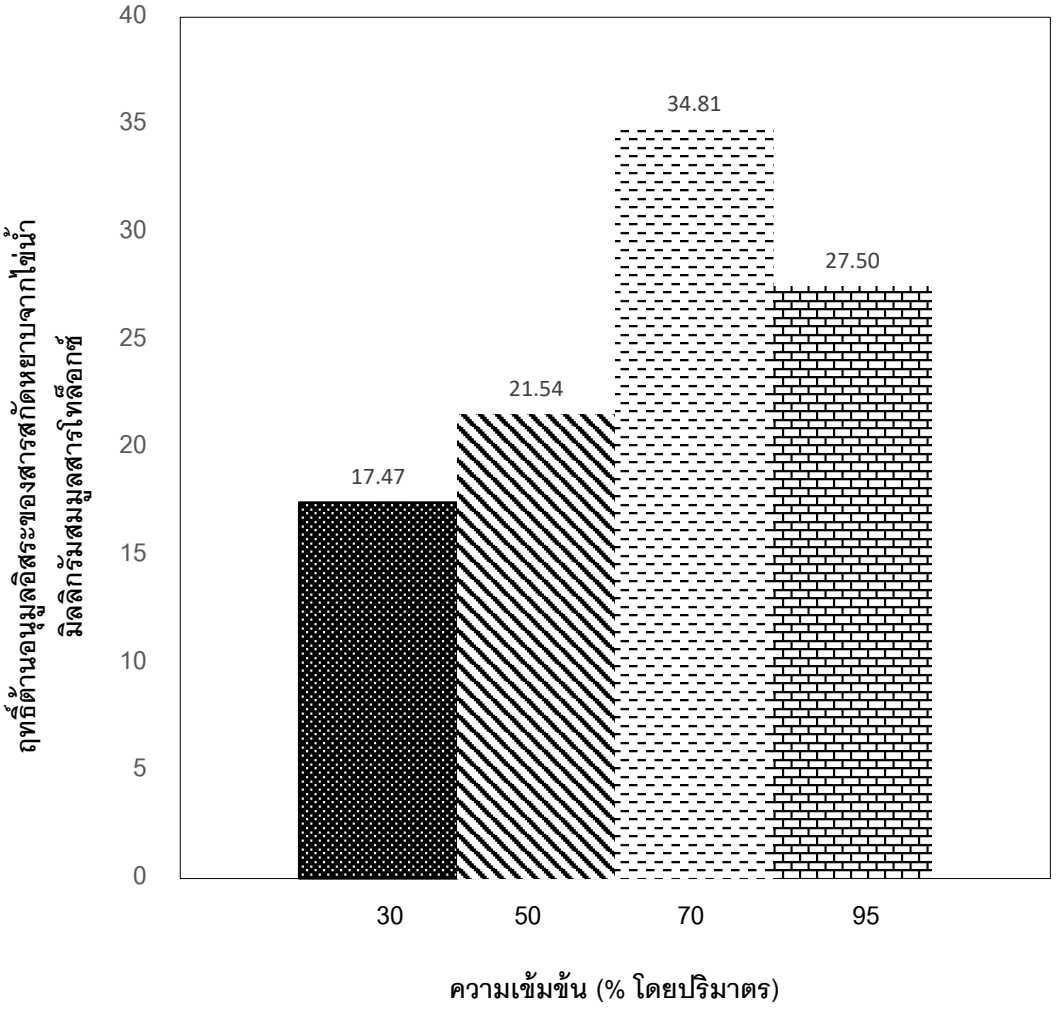
C. Jayathilake และคณะ , 2016 [52] ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและรักษาโรคจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นในประเทศศรีลังกา โดยวัดค่าปริมาณสารฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) , ค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH free-radical scavenging capacity) และค่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoid Content) จากผลการศึกษาได้รายงานว่าความสัมพันธ์ของค่าทั้ง 3 ค่าดังกล่าวเป็น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

แบบเชิงบวกและเชิงเส้นที่สำคัญระหว่างกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ , ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และ ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด จึงอาจกล่าวได้ว่าสารประกอบประเภทฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ เป็นส่วนประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในสมุนไพร

Govindan และคณะ (2013) [53] ได้รายงานจากการศึกษากระบวนการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากผักขมว่า ความสัมพันธ์กันระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ R^2 = 0.9930 ซึ่งแสดงถึงความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมต้านอนุมูลอิส ซึ่งหมายความถึงสารประกอบฟีนอลส่วนใหญ่จะมีถูกใช้ไปสำหรับกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระดังกล่าว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 4:9 ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำเมื่อตรวจวัดด้วยวิธี DPPH scavenging assay อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 180 นาทีเมื่อทำการแปรผัน ความเข้มข้นเอทานอล 30 , 50 , 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

4.2.2 ผลการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิในการสกัดต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ

จากการทดลองทำการสกัดสารสกัดหยาบจากไข่น้ำและนำไปวัดค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทำการสกัดที่ภาวะเช่นเดียวกับการศึกษาในข้อ 4.1.2 คือ ใช้อัตราส่วนตัวทำละลายต่อของไข่น้ำ 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ระยะเวลาสำหรับการสกัดตั้งแต่ 0 ถึง 180 นาที และแปรผันอุณหภูมิ คือ 25,40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส ผลการทดลองแสดงได้ดังในรูป 4.10 และ 4.11

จากผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.10 จะพบว่าเมื่อทำการสกัดสารสกัดหยาบจากไข่น้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อพิจารณาค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ณ เวลาต่างๆ จะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 10 นาทีแรก คือ มีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระเท่ากับ 20.82 มิลลิกรัมสมมูลสารโทล็อกซ์ เมื่อใช้เวลาในการสกัดนานขึ้นตั้งแต่เวลา 20-30 นาที ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจะมีค่าเพิ่มขึ้นแต่มีอัตราที่น้อยกว่าในช่วง 10 นาทีแรก หลังจากเวลาที่ 30 นาที จะเห็นได้ว่าค่ามีอัตราการเพิ่มที่น้อยกว่าในช่วงแรกอย่างเห็นได้ชัดเจน โดยมีค่ามากที่สุดเมื่อใช้เวลาในการสกัด 180 นาที คือมีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ 27.29 มิลลิกรัมสมมูลสารโทล็อกซ์

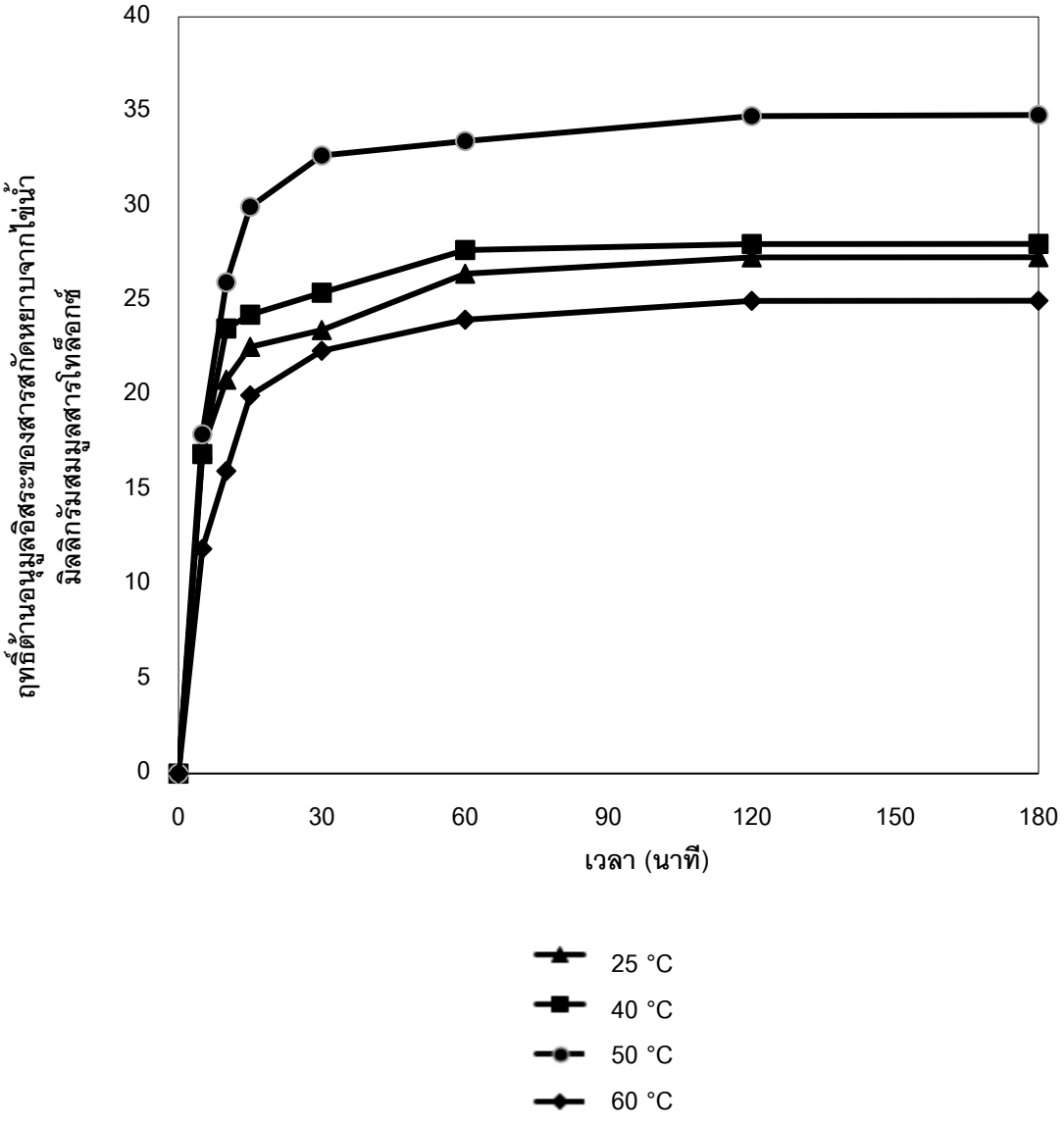
เมื่อทำการสกัดไข่น้ำโดยการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจาก 25 องศาเซลเซียส เป็น 40 องศาเซลเซียส และ 50 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองพบว่าค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ มีแนวโน้มดีขึ้นอย่างเห็นได้ชัด โดยในช่วงระยะเวลาการสกัดที่ 10 นาที มีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ 23.52 และ 25.96 มิลลิกรัมสมมูลสารโทล็อกซ์ ทำให้ได้อัตราค่าผลได้ในมีค่าเพิ่มขึ้นจากการสกัดด้วยอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และในช่วงเวลา 10-30 นาที ค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เพิ่มขึ้นเช่นกันในอัตราการเพิ่มที่น้อยกว่าในช่วงแรก และเมื่อใช้เวลาเป็น 30-120 นาที ค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ที่ได้เพิ่มขึ้นที่ละน้อย จนกระทั่งเกือบเมื่อสิ้นสุดเวลาในการการสกัดที่เวลา 180 นาที ได้ค่าผลได้ค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเป็น 27.99 และ 34.82 มิลลิกรัมสมมูลสารโทล็อกซ์ตามลำดับ

CHULALONGKORN UNIVERSITY

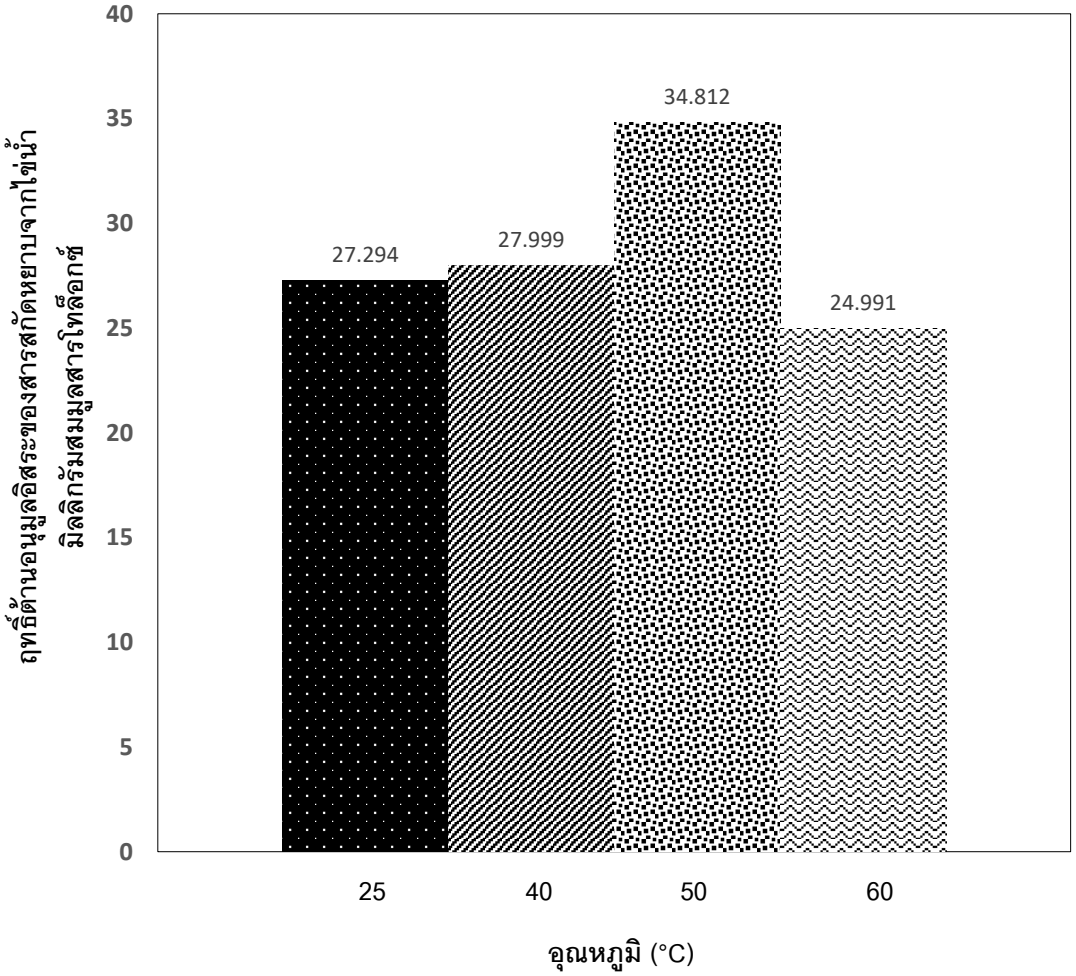
อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดเป็น 60 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.10 และรูปที่ 4.11 จะพบว่าแนวโน้มของค่าผลได้ในการสกัดจะเป็นไปในทิศทางเดียวกับการสกัดที่ 25 , 40 และ 50 องศาเซลเซียส แต่ฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระซึ่งได้ที่อุณหภูมินี้จะมีค่าลดลงและน้อยกว่าที่อุณหภูมิอื่นๆ คือ มีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระเมื่อสิ้นสุดเวลาในการสกัดที่ 180 นาทีเป็น 24.99 มิลลิกรัมสมมูลสารโทล็อกซ์ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสามารถอธิบายได้ในทางทฤษฎี คือ การเพิ่มอุณหภูมิที่สูงจนเกินไปจะทำให้มีการเกิดการระเหยของตัวทำละลาย หรืออาจจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นได้เช่นเดียวกับผลของอุณหภูมิที่มีต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกในข้อ 4.1.2

จากแนวโน้มผลการวัดค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ณ เวลาต่างๆที่ทุกอุณหภูมิในการสกัดจะพบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและเวลาไปในทิศทางเดียวกัน นอกจากนี้เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกและค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ จะพบว่ามี

ความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันเช่นกัน โดยผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่มีการสร้างโมเดลหรือสมการความสัมพันธ์ต่างๆมากมายเพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชประเภทที่สนใจเช่นเดียวกับผลการศึกษาในข้อที่ 4.2.1



รูปที่ 4:10 ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ เมื่อตรวจวัดด้วยวิธี DPPH scavenging assay อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยเวลาในการสกัด 0-180 นาที เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิในกระบวนการสกัด ได้แก่ 25 , 40 , 50 และ 60 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4:11 ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ เมื่อตรวจวัดด้วยวิธี DPPH scavenging assay โดยอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เวลาในการสกัด 180 นาที นาที เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิในกระบวนการสกัด ได้แก่ 25 , 40 , 50 และ 60 องศาเซลเซียส

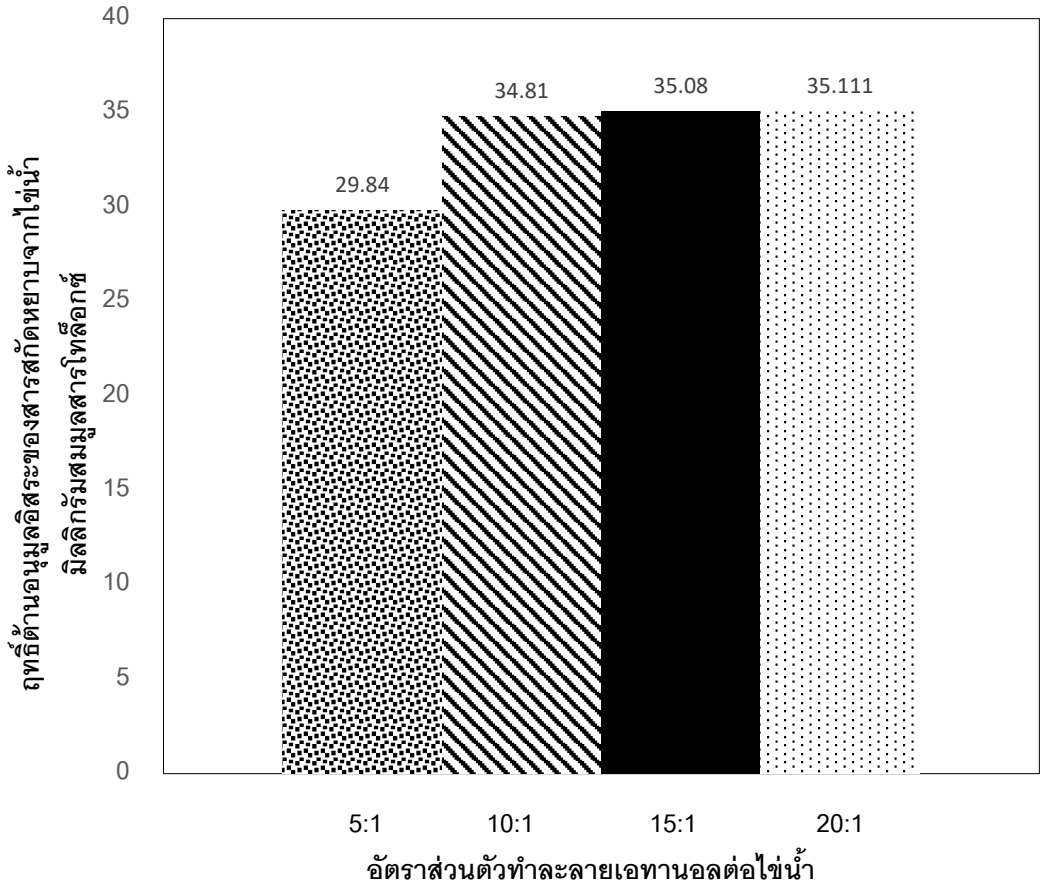
4.2.3 ผลการศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ

จากการทดลองทำการสกัดสารสกัดหยาบจากไข่น้ำและนำไปวัดค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทำการสกัดที่ภาวะเช่นเดียวกับการศึกษาในข้อ 4.1.3 โดยใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส และทำการแปรผันอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ คือ 5:1 ,10: 1, 15:1 และ 20:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ที่ระยะเวลา 180 นาที ผลการทดลองแสดงดังในรูปที่ 4.12 และรูปที่ 4.13 ตามลำดับ

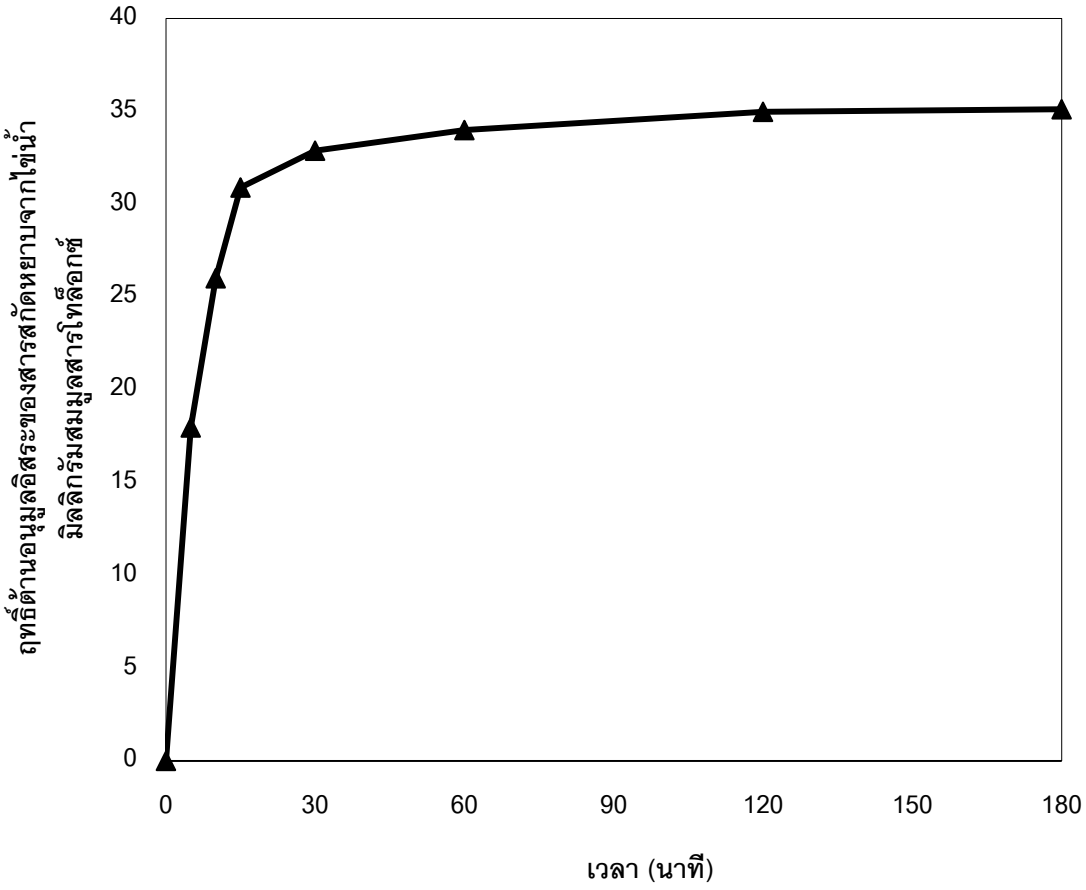
จากรูปที่ 4.12 เมื่อทำการแปรผันอัตราส่วนของสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเพิ่มจากอัตราส่วน 5:1 เป็น 10:1 และ15:1 และ 20:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) พิจารณาค่าผลได้ในแต่ละอัตราส่วนเมื่อทำการสกัดจนสิ้นสุดที่เวลา 180 นาที จะพบว่าค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อใช้อัตราส่วนตัวทำละลายเพิ่มมากขึ้น คือ เมื่อใช้อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเพิ่มจากอัตราส่วน 5:1เป็น 10:1 จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มจาก 29.84 เป็น 34.81 มิลลิกรัมสมมูลสารโทล็อกซ์ และให้ค่าผลได้ที่มากที่สุดเมื่อใช้อัตราส่วน 20 : 1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) คือ ให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 35.11 มิลลิกรัมสมมูลสารโทล็อกซ์ ในขณะที่อัตราส่วนตัวทำละลาย 15:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 35.08 มิลลิกรัมสมมูลสารโทล็อกซ์

จากแนวโน้มการค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ณ เวลาต่างๆที่ทุกความอุณหภูมิในการสกัดจะพบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและเวลาไปในทิศทางเดียวกัน และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกและค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ จะพบว่ามีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่มีการสร้างโมเดลหรือสมการความสัมพันธ์ต่างๆมากมายเพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชประเภทที่สนใจเช่นเดียวกับผลการศึกษาในข้อที่ 4.2.1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 4:12 ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ เมื่อตรวจวัดด้วยวิธี DPPH scavenging assay โดยเวลาอุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เวลาในการสกัด 180 นาที อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 5: 1 , 10:1 ,15:1 และ 20:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม)



รูปที่ 4:13 ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำเมื่อตรวจวัดด้วยวิธี DPPH scavenging assay โดยเวลาอุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เวลาในการสกัด 0-180 นาที อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 15:1 มิลลิลิตรต่อกรัม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.3 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoid Content) ของสารสกัดจากไข่น้ำ

4.3.1 ผลการศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นสารละลายเอทานอลต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoid Content) ของสารสกัดจากไข่น้ำ

จากการทดลองทำการสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ ในอัตราส่วนตัวทำละลายต่อของน้ำหนักไข่น้ำ อัตราส่วน 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) อุณหภูมิในการสกัดคือ 50 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาการสกัด 0-180 นาที โดยใช้สารละลายเอทานอล 30, 50, 70, 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.13 และ 4.14

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.13 พบว่าเมื่อทำการสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์จากไข่น้ำ โดยใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เมื่อพิจารณาค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ ณ เวลาต่างๆ จะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 10 นาทีแรก คือ 157.90 มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ เมื่อใช้เวลาในการสกัดนานขึ้นตั้งแต่เวลา 20-30 นาที สามารถสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่ได้ผลได้ (Yield) ได้เพิ่มขึ้น แต่มีอัตราที่น้อยกว่าในช่วง 10 นาทีแรก หลังจากเวลาที่ 30 นาที จะเห็นได้ว่าค่าผลได้จากการสกัดมีค่าเพิ่มขึ้นแต่มีอัตราการเพิ่มที่น้อยกว่าในช่วงแรกอย่างเห็นได้ชัดเจน โดยมีค่าผลได้ของสารประกอบฟลาโวนอยด์ คือ 198.54 มิลลิกรัมต่อกรัมไข่น้ำ และมีค่ามากที่สุดเมื่อใช้เวลาในการสกัด 180 นาที คือ 201.89 มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ

เมื่อทำการสกัดไข่น้ำโดยการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลเป็น 50 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร จากผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพการสกัดดีขึ้นอย่างเห็นได้ชัด โดยสามารถสกัดสารประกอบ ฟลาโวนอยด์ได้ในช่วงระยะเวลาการสกัดที่ 10 นาที ได้ในปริมาณที่สูงถึง 190.89 มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ ไข่น้ำ ทำให้ได้เส้นกราฟที่มีความชันสูงกว่าการสกัดด้วยสารละลายเอทานอล 30 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) และในช่วงเวลา 10-30 นาที ยังสามารถสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ได้เพิ่มขึ้นเช่นกันในอัตราการเพิ่มที่น้อยกว่าในช่วงแรก และเมื่อใช้เวลาเป็น 30-120 นาที สามารถสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่ได้เพิ่มขึ้นที่ละน้อยจนกระทั่งเกือบคงที่ในเวลาที่ 180 นาที ได้ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุดเป็น 253.03 มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ

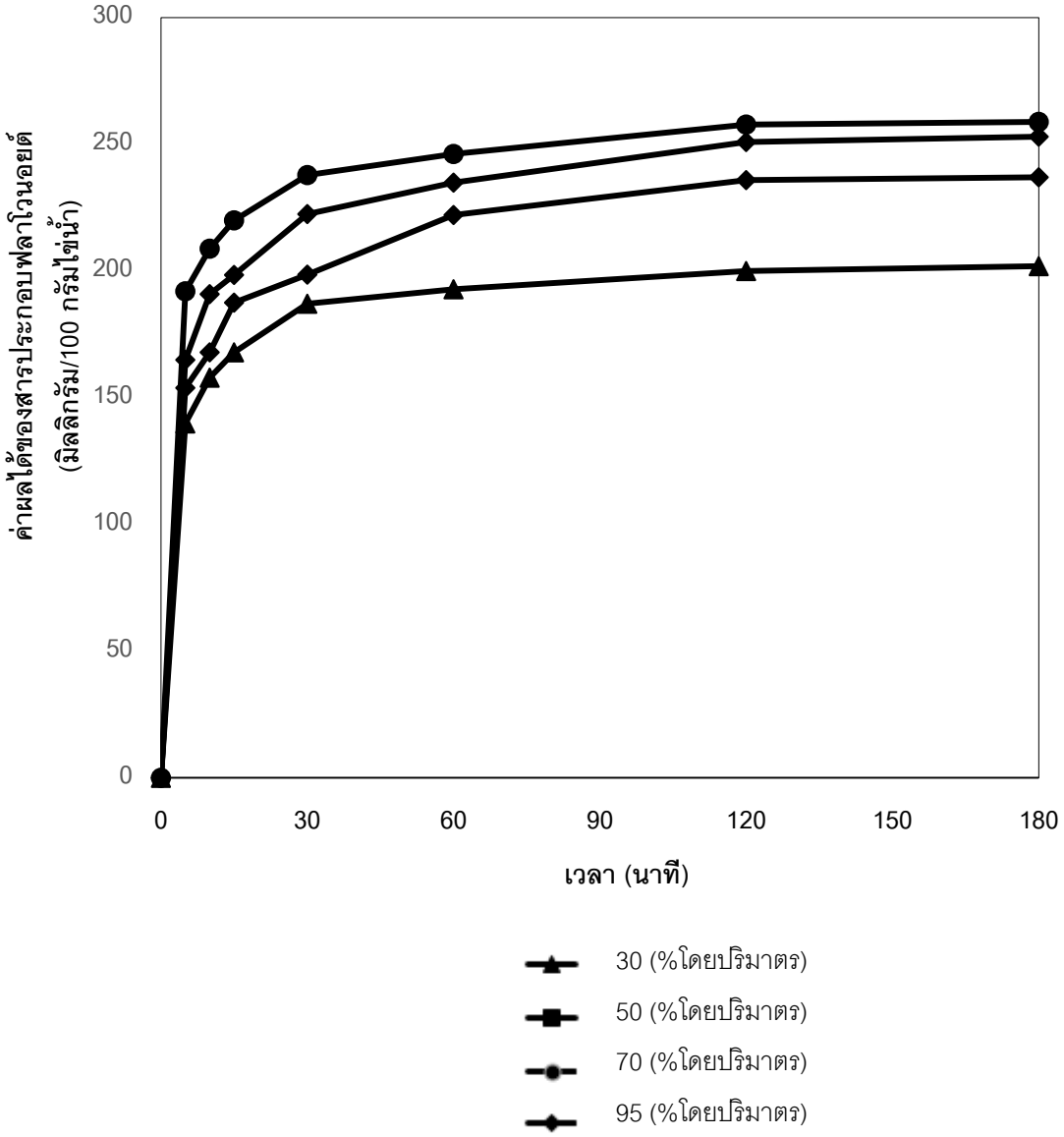
เมื่อทำการสกัดไข่น้ำโดยการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลเป็น 70 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร จากการทดลองพบว่าประสิทธิภาพการสกัดดีขึ้นอย่างเห็นได้ชัด และให้ผลได้ของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดโดยใช้เอทานอลความเข้มข้นอื่นๆ โดยสามารถวัดปริมาณค่าผลได้ของสารประกอบฟลาโวนอยด์ได้ในช่วง 10 นาทีแรกสูงในปริมาณถึง 208.82 มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ ลักษณะเส้นกราฟจะมีความชันที่คล้ายคลึงกับการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นอื่นๆ คือ ในช่วง 30 นาทีแรกจะมีค่าผลได้ของการสกัดที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว หลังจาก 30 นาทีแรก ยังสามารถสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ได้ในปริมาณที่เพิ่มขึ้นเช่นกันแต่มีอัตราการเพิ่มที่น้อยกว่าในช่วงแรกอย่างเห็นได้ชัด เมื่อใช้เวลาเป็น 30-120 นาที สามารถสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่ได้เพิ่มขึ้นในอัตราที่น้อยลง จนกระทั่ง

เกือบคงที่ในเวลาที่ 180 นาที ได้ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุดเป็น 258.81 มิลลิกรัมสมมูลเคชินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ

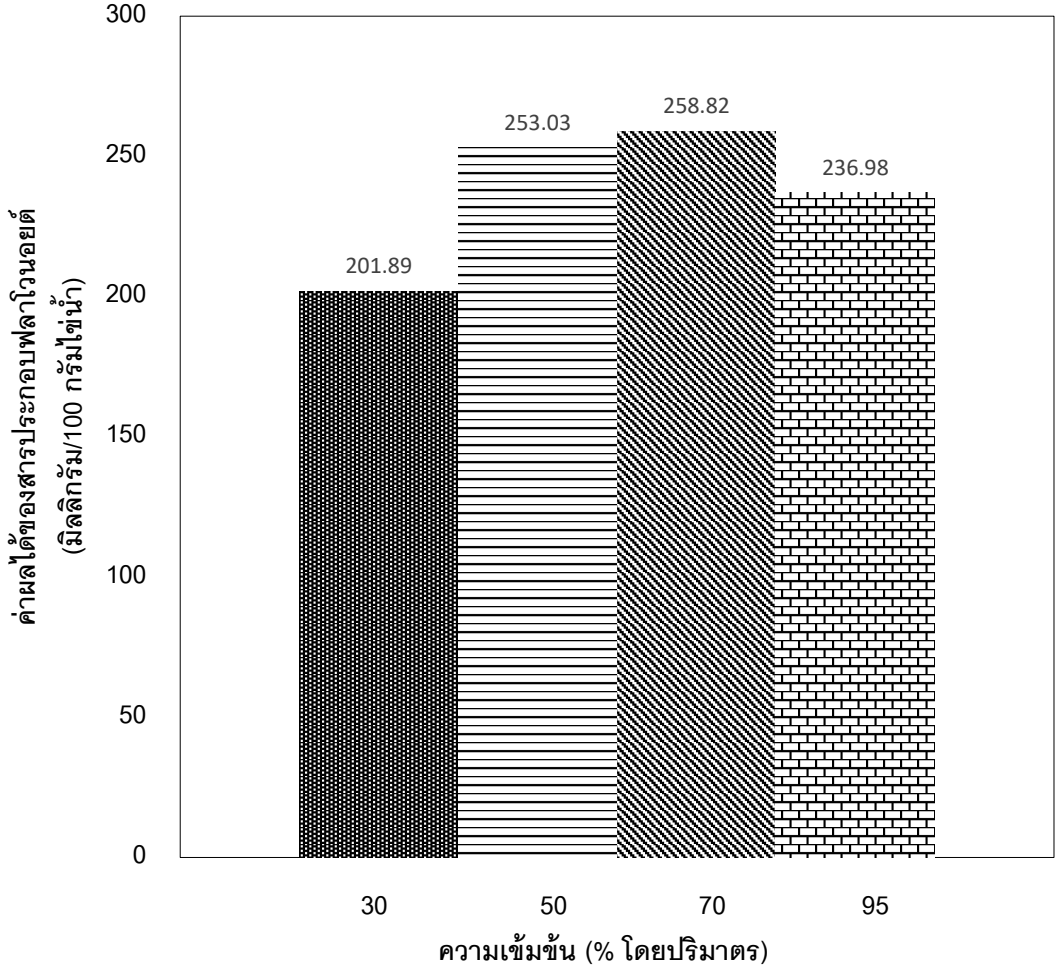
อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลในกระบวนการสกัดเป็น 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร จากผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.14 และรูปที่ 4.15 จะพบว่าแนวโน้มของค่าผลได้ของสารฟลาโวนอยด์จะเป็นไปในทิศทางเดียวกับการสกัดโดยใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 , 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร แต่ปริมาณค่าผลได้ของสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่วัดได้ทั้งหมด ซึ่งได้ที่สภาวะดังกล่าวนี้จะมีค่าลดลงและน้อยกว่าที่การสกัดโดยใช้เอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร คือ มีผลได้ของสารประกอบฟลาโวนอยด์เมื่อสิ้นสุดเวลาในการสกัดที่ 180 นาที คือ 236.98 มิลลิกรัมสมมูลเคชินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสามารถกล่าวได้ว่าการเพิ่มความเข้มข้นสารละลายเอทานอลที่สูงจนเกินไปจะทำให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสารสกัดหยาบจากไข่น้ำเกิดการสูญเสียสภาพทางเคมี ส่งผลให้ค่าสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้มีค่าลดลง และเป็นผลให้ค่าผลได้ของสารประกอบฟลาโวนอยด์ลดลงดังแสดงในผลการศึกษานี้

จากแนวโน้มค่าผลได้ของสารฟลาโวนอยด์ ณ เวลาต่างๆที่ทุกความเข้มข้นของเอทานอลเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลได้ของสารฟลาโวนอยด์ , ค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด , และฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระ จะเห็นได้ว่าค่าแนวโน้มของปริมาณค่าผลได้ทั้ง 3 ค่าดังกล่าว ณ เวลาต่างๆ เป็นไปในทิศทางเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่มีการสร้างโมเดลหรือสมการความสัมพันธ์ต่างๆมากมายเพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชประเภทที่สนใจ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 4:14 ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาบไข่น้ำอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 0-180 นาที เมื่อความเข้มข้นเอทานอล 30, 50, 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร



รูปที่ 4:15 ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาบไข่น้ำอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 0-180 นาที เมื่อทำการแปรผันความเข้มข้นเอทานอล 30, 50, 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

4.3.2 ผลการศึกษาอิทธิพลอุณหภูมิต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoid Content) ของสารสกัดจากไข่น้ำ

เมื่อทำการสกัดสารประกอบประเภทฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำด้วยเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร โดยการใช้อัตราส่วนตัวทำละลายต่อของไข่น้ำ 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ระยะเวลาสำหรับการสกัดตั้งแต่ 0 ถึง 180 นาที โดยแปรผันอุณหภูมิ คือ 25,40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 4.16 และ 4.17

จากผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.16 จะพบว่า เมื่อทำการวัดค่าสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำที่อุณหภูมิในการสกัด 25 องศาเซลเซียส ในช่วงแรกของกราฟจะมีความชันที่ค่อนข้างสูงหรือสามารถกล่าวได้ว่าสารประกอบฟลาโวนอยด์ ที่สกัดได้จะมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว คือ ในช่วง 10 นาทีแรก จะได้ผลได้ของสารประกอบฟลาโวนอยด์ 193.09 มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ เมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดให้นานขึ้นที่เวลา 10-30 นาที สารประกอบฟลาโวนอยด์ ที่สกัดได้จะเพิ่มขึ้น แต่มีความชันของกราฟที่น้อยกว่าในช่วง 10 นาทีแรก และเมื่อผ่านไปมากกว่า 30 นาที ค่าผลได้ในการสกัดจะมีค่าเพิ่มขึ้นค่อนข้างน้อย และมีค่าของผลได้สารฟลาโวนอยด์เมื่อสิ้นสุดเวลาในการสกัดที่180 นาทีจะมีค่าผลได้ของสารประกอบฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 239.98 มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ

เมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดเป็น 40 และ 50 องศาเซลเซียส จะได้ลักษณะของกราฟที่รายงานค่าผลได้ของสารประกอบฟลาโวนอยด์ ที่มีแนวโน้มเช่นเดียวกับการสกัดที่อุณหภูมิห้องโดยแสดงดังในรูปที่ 4.16 โดยเมื่อสิ้นสุดกระบวนการสกัดที่ 180 นาที จะให้ค่าผลได้ในการสกัดคือ 247.89 มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ และ 258.81 มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ ตามลำดับ โดยผลการศึกษาจากการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการวัดค่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดผล และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ดังที่ได้อธิบายในผลการศึกษาข้อ 4.1.2 และ 4.2.2 นอกจากนี้เมื่อพิจารณาสมการอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ (Diffusivity), อุณหภูมิในการสกัด (Absolute Temperature) และความหนืดของสารทำละลาย (Dynamic Viscosity Coefficient) ดังสมการที่ 2.9 คือ เมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิในกระบวนการสกัดจะส่งผลให้ค่าความหนืดของสารละลายในระบบมีค่าลดลง หรืออาจกล่าวได้ว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจะช่วยทำให้สารละลายมีค่าเพิ่มมากขึ้น ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของตัวถูกละลายแพร่กระจายสู่ตัวทำละลายได้เพิ่มมากยิ่งขึ้น จึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดทำให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่วัดได้มีค่าเพิ่มขึ้นดังแสดงในผลการศึกษานี้

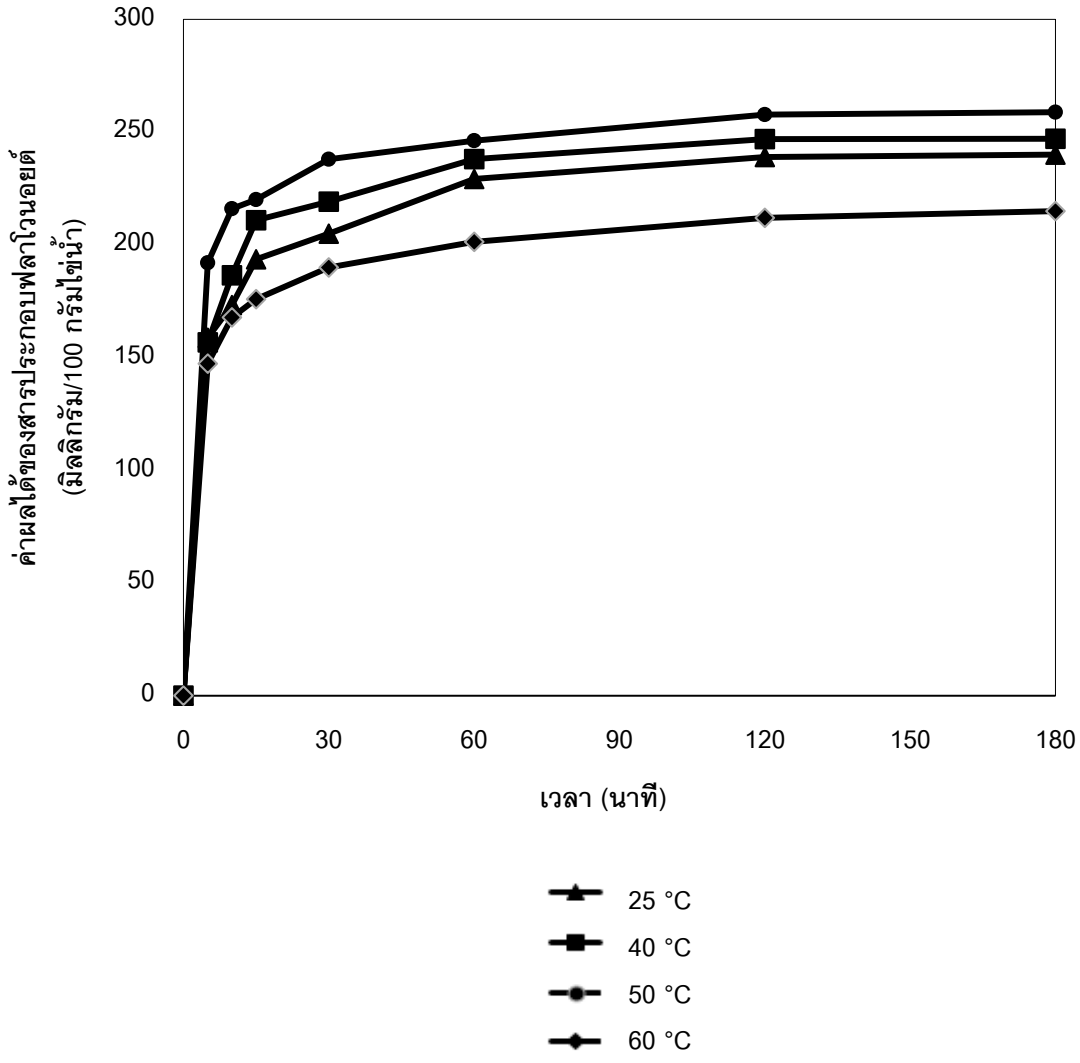
อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดเป็น 60 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองพบว่าแนวโน้มของค่าผลได้ในการสกัดจะเป็นไปในทิศทางเดียวกับการสกัดที่ 25 , 40 และ 50 องศาเซลเซียส แต่ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่วัดได้ซึ่งได้ที่อุณหภูมินี้จะมีค่าลดลงและน้อยกว่าที่อุณหภูมิอื่นๆ คือมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดเวลาในการสกัดที่ 180 นาทีเป็น 214.89 มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสามารถกล่าวได้ว่าการเพิ่มอุณหภูมิที่สูงจนเกินไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

อาจจะส่งผลให้ทำให้มีการเกิดการระเหยของตัวทำละลาย หรืออาจจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้น ทำให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพประเภทสารประกอบฟลาโวนอยด์ดังกล่าวมีค่าลดลง เช่นเดียวกับการลดลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ในการต้านอนุมุ,อิสระที่มีค่าลดลงเมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิจนถึง 60 องศาเซลเซียส

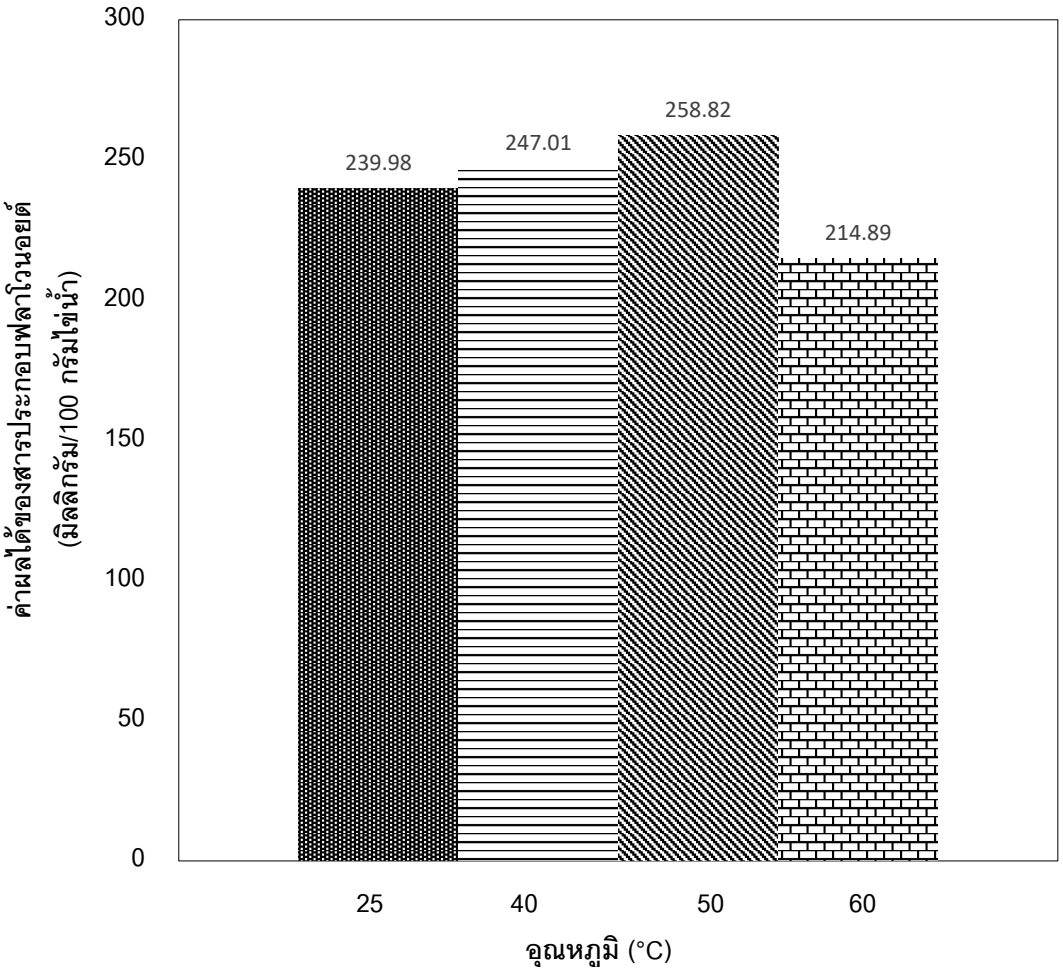
เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบแนวโน้มปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่วัดได้ , ค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ณ เวลาต่างๆที่ทุกความอุณหภูมิในการสกัดจะพบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลได้ทั้ง 3 และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกและค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ จะพบว่ามีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันเช่นกัน คือ มีค่าผลได้ที่มากที่สุดเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจนถึง 50 องศาเซลเซียส และมีค่าน้อยลงเมื่อใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่มีการสร้างสมการความสัมพันธ์ต่างๆมากมายเพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืช

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 4:16 ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารหยาบสกัดไข่น้ำอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 10:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เวลาในการสกัด 0-180 นาที เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิในการสกัด 25 , 40 , 50 และ 60 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4:17 ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาบไข่น้ำอัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 15:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เวลาในการสกัด 180 นาที เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิในการสกัด 25 , 40 , 50 และ 60 องศาเซลเซียส

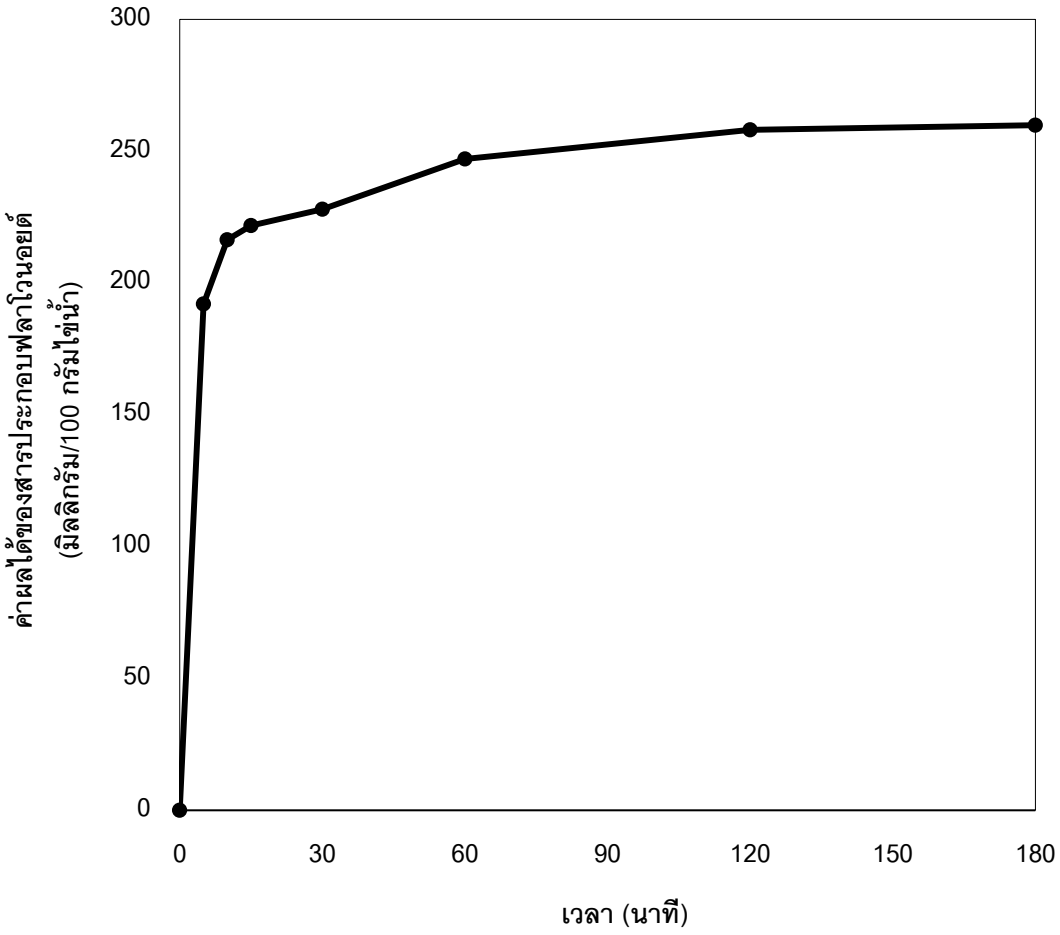
4.3.3 ผลการศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนตัวทำละลายต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoid Content) ของสารสกัดจากไข่น้ำ

จากการทดลองการวัดค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาบไข่น้ำ โดยใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส และทำการแปรผันอัตราส่วนตัวทำละลายเอาทานอลต่อไข่น้ำ คือ 5:1 , 10: 1, 15:1 และ 20:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ที่ระยะเวลา 180 นาที ผลการทดลองแสดงดังในตารางที่ 4.1 และ รูปที่ 4.18 ตามลำดับ

จากรูปที่ 4.18 เมื่อทำการแปรผันอัตราส่วนของสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเพิ่มจากอัตราส่วน 5:1 เป็น 10:1 และ15:1 และ 20:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) พิจารณาค่าผลได้ในแต่ละอัตราส่วนเมื่อทำการสกัดจนสิ้นสุดที่เวลา 180 นาที จะพบว่าค่าผลได้ของสารประกอบฟลาโวนอยด์ ที่ได้จะเพิ่มมากขึ้นเมื่อใช้อัตราส่วนตัวทำละลายเพิ่มมากขึ้น คือ เมื่อใช้อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเพิ่มจากอัตราส่วน 5:1 เป็น 10:1 จะค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์เพิ่มจาก 255.73 มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ เป็น จาก 258.82 มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ และให้ค่าผลได้ที่มากที่สุดเมื่อใช้อัตราส่วน 20 : 1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) คือ ค่าผลได้ของสารประกอบฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 259.87 มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ ในขณะที่อัตราส่วนตัวทำละลาย 15:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) มีค่าผลได้ของสารประกอบฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 259.09 มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ จากแนวโน้มของสารประกอบฟลาโวนอยด์ ที่สกัดได้ที่เกิดจากการแปรผันปัจจัยอัตราส่วนสารละลายเอทานอลดังที่ได้ในการทดลองสามารถอธิบายได้คือ เมื่อทำการเพิ่มปริมาณสารละลายเอทานอลในระบบจะทำให้พื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างอนุภาคของพืชสมุนไพรและตัวทำละลายเอทานอลมีค่าเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมา ซึ่งสอดคล้องกับค่าผลได้ในเทอมของค่าสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น Alothman M. และคณะ , 2009 [54] ได้รายงานความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และสารประกอบฟีนอลิกในกระบวนการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากฝรั่งและกล้วยไข่ว่าความสัมพันธ์ระหว่างค่า TPC และ TFC มีค่าเท่ากับเชิงเส้นกับ 0853 และ 0.763 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นสารในกลุ่มสารโพลี่ฟีนอลซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ (มิลลิลิตรต่อกรัม)	ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ)
5:1	255.73
10:1	258.82
15:1	259.09
20:1	259.87

ตาราง 4:1 เปรียบเทียบค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ โดยใช้สารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำอัตราส่วน 5:1 , 10:1 , 15:1 และ 20:1



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

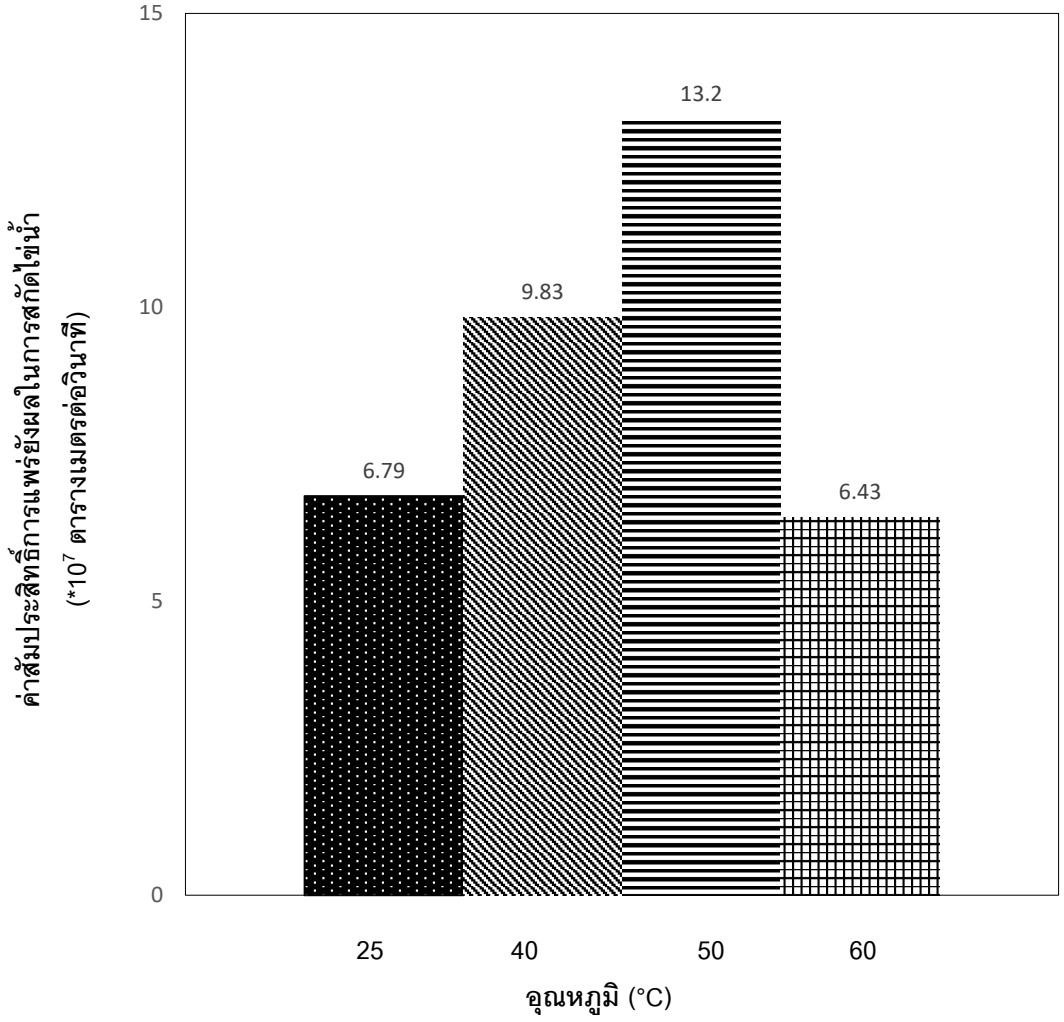
รูปที่ 4:18 ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารหยาบสกัดไข่น้ำโดยใช้อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เวลาในการสกัด 0-180 อัตราส่วนตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำเป็น 15: 1 มิลลิลิตรต่อกรัม

4.4 การหาค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของไข่น้ำ (Effective Diffusivity) ของการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำ

ในการศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการการสกัดของแข็งด้วยของเหลวเพื่อความสะดวกและง่ายในการวิเคราะห์ข้อมูลจะกำหนดให้“Internal Diffusion” หรือกระบวนการแพร่ของตัวถูกทำละลาย (Solute) ซึ่งเกิดขึ้นภายในเฟสของแข็งไปยังสารทำละลาย เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นได้ช้าที่สุด “Rate Limiting Step” [20] โดยหลักการดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาเพื่อสกัดสารประกอบประเภทโพลีฟีนอลิกจากพืช สอดคล้องกับรายงานของ Dibert และคณะ 1989 [21] ซึ่งค้นพบว่าประสิทธิภาพในการสกัดสารฟีนอลิกจากพืชจะควบคุมโดยกระบวนการแพร่ภายในอนุภาคของพืชสมุนไพรที่ต้องการสกัด มีแบบจำลองต่างๆในงานวิจัยที่กล่าวถึงอัตราการถ่ายโอนมวลภายใน (Aguilera และ Stanley , 1999) ได้รายงานว่าการแพร่ภายในอนุภาคของพืชสมุนไพรเป็นขั้นตอนควบคุมของกระบวนการสกัด

ในการศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำนี้ ได้มีการตั้งสมมติฐานเช่นเดียวกับงานวิจัยที่ผ่านมา คือ กำหนดให้การแพร่ภายในอนุภาคของไข่น้ำ เป็นขั้นตอนที่ควบคุมกระบวนการสกัด ซึ่งกระบวนการแพร่ภายในอนุภาคของไข่น้ำจะขึ้นกับระยะทางในการแพร่ซึ่งประมาณได้คือ ขนาดอนุภาคของไข่น้ำซึ่งมีลักษณะแข็งที่มีรูพรุนกระจัดกระจายมากมายทำให้ตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าไป ดังนั้น จะกำหนดให้ระยะทางการแพร่ จะแพร่ตามแนวแกนรัศมี ซึ่งในการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ จะหาได้จากสมการ 2.8 โดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า ln Y กับเวลาในการสกัด ค่าความชันที่ได้จะมีค่าเท่ากับ $\pi^2 Def / r^2$ จากข้อมูลการทดลอง และนำข้อมูลดังกล่าวมาคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ที่อุณหภูมิต่างๆผลแสดงดังตารางที่ 4.2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 4:19 เปรียบเทียบแนวโน้มค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ยังผลของการสกัดสารสกัดจากไข่น้ำเมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิในการสกัด ได้แก่ 25 , 40 , 50 และ 60 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส)	ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของไข่น้ำ (ตารางเมตรต่อวินาที)
25	$6.79 * 10^{-7}$
40	$9.83*10^{-7}$
50	$1.32 * 10^{-6}$
60	$6.43*10^{-7}$

ตาราง 4:2 เปรียบเทียบค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำในระบบแบบกะที่เวลาต่างๆ เมื่อแปรผันอุณหภูมิในการสกัด 25 , 40 , 50 และ 60 องศาเซลเซียส

จากผลการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารประกอบฟีนอลิกในไข่น้ำจะพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดค่าสัมประสิทธิ์การแพร่จะมีค่าเพิ่มมากขึ้นจนถึงอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยจากตาราง 4.10 พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ในการแพร่ที่ได้จากการสกัดสารประกอบฟีนอลิกแบบกะในการทดลองนี้มีค่าระหว่าง $1.32 * 10^{-6}$- $6.43*10^{-7}$ ตารางเมตรต่อวินาที และมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจนกระทั่งถึง 50 องศาเซลเซียส ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ J.E. Cacace และ G. Mazza , 2003 [45] ที่ได้ทำการศึกษากระบวนการถ่ายเทความเทมวลที่เกิดขึ้นในกระบวนการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเมล็ดเบอร์รี่ โดยได้รายงานว่าในการสกัดสารสำคัญจากพืช ประเภทสารแอนโทไซยานิน และสารที่เป็นอนุพันธ์ของสารประกอบฟีนอลิกประเภทอื่นๆ ว่าปัจจัยที่มีความสำคัญต่อค่าผลได้คือ อุณหภูมิ และค่าความเข้มข้นของสารทำละลายในระบบ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.5 ผลการศึกษาการขึ้นรูปอิมัลชันโดยใช้สารสกัดจากไข่น้ำเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ

4.5.1 ผลการศึกษาอิทธิพลของชนิดสารลดแรงตึงผิวร่วมต่อการตั้งตำรับอิมัลชัน

การเลือกชนิดของสารลดแรงตึงผิวสำหรับการขึ้นรูปตำรับอิมัลชัน มีส่วนสำคัญเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากหน้าที่หลักของสารลดแรงตึงผิว คือ สามารถทำให้วัฏภาคน้ำและน้ำมันสามารถเกิดการรวมตัวกันได้เป็นอย่างดี โดยไม่ทำให้อิมัลชันตกตะกอน และทำให้ระบบอิมัลชันมีความคงตัวในเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานาน ในการทดลองนี้ได้เลือกใช้สารลดแรงตึงผิวร่วม 2 ประเภทด้วยกันในปริมาณอัตราส่วน 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ต่อตำรับอิมัลชัน ใช้กรดสเตียริกแทนวัฏภาคน้ำมันในอัตราส่วน 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ระบบสารลดแรงตึงผิวร่วมที่เลือกใช้ในการศึกษาขึ้นรูปอิมัลชัน ได้แก่ Cremophor® RH 40 กับ TWEEN® 40 และ Cremophor® RH 40 กับ TWEEN® 20 ซึ่งสารลดแรงตึงผิวทุกตัวเป็นสารลดแรงตึงผิวแบบไม่มีประจุ (Non-Ionic Emulsifier)

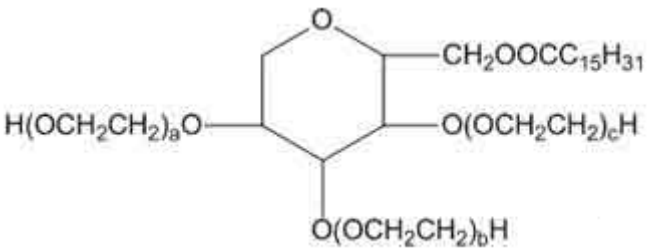
รูปที่ 4:20 แสดงลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันเมื่อแปรผันชนิดสารลดแรงตึงผิวร่วม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

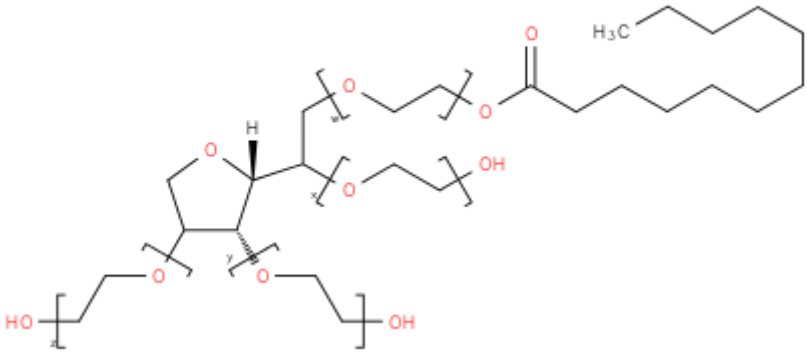
จากผลการศึกษาการเลือกประเภทของสารลดแรงตึงผิวร่วมดังแสดงในรูปที่ 4.20 เมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพด้วยตาเปล่าจากความข่นมัวของตำรับอิมัลชัน หลังจากที่ทำการเตรียมไว้จะพบว่าตำรับอิมัลชันที่ได้จากสารสดแรงตึงผิวร่วม Cremophor ® RH40 กับ TWEEN® 20 (ตำรับที่ 1) มีลักษณะข่นมัวมากกว่าอิมัลชันที่เตรียมได้จาก Cremophor ® RH40 กับ Tween® 40 (ตำรับที่ 2) ซึ่งสามารถอธิบายปรากฏการณ์นี้ได้ว่าอิมัลชันตำรับที่ 1 จะมีขนาดอนุภาคที่ใหญ่กว่า

จากผลการศึกษาสามารถอธิบาย คือ เมื่อเปรียบเทียบค่า HLB ของสารลดแรงตึงผิวประเภท Tween® 20 , Tween® 40 และ Cremophor® RH40 พบว่าระบบที่ใช้สารลดแรงตึงผิวร่วม Cremophor® RH40 กับ Tween® 20 มีค่าความแตกต่าง HLB เท่ากับ 2.7 มากกว่าระบบอิมัลชันที่เตรียมจาก Cremophor ® RH40 กับ Tween® 40 ซึ่งมีค่าความแตกต่าง HLB เท่ากับ 1.7 เป็นผลมาจากความยาวของสายโซ่ไฮโดรคาร์บอนตามโครงสร้างโมเลกุลของ Tween® 20 ที่มีความยาวสายโซ่ที่ซับซ้อนมากกว่า Tween® 40 ดังแสดงในรูปที่ 4.22 และ 4.23 ดังนั้นจึงทำให้อิมัลชันที่เตรียมได้มีความข่นมัวมากกว่า ซึ่งผลการศึกษานี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมา ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้สารลดแรงตึงผิวร่วมในระบบอิมัลชัน คือ Schulman และคณะ

,1940 [55] ได้รายงานผลการศึกษาการเตรียมอิมัลชันรูปแบบน้ำมันในน้ำ โดยมีน้ำมันถั่วเหลืองเป็นตัวแทนของวัฏภาคน้ำมัน เลือกใช้สารลดแรงตึงผิวร่วม 2 ชนิด คือ Tween®20 ผสมกับ Span®20 ซึ่งสารลดแรงตึงผิวทั้งสองชนิดนี้มีโครงสร้างโมเลกุลที่มีความยาวของสายไฮโดรคาร์บอนเท่ากัน เมื่อนำมาใช้เป็นสารก่ออิมัลชันจึงทำให้อิมัลชันที่ได้มีขนาดอนุภาคที่เล็กและมีความคงตัวสูงเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลานาน



รูปที่ 4:21 โครงสร้างโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว Tween®40



รูปที่ 4:22 โครงสร้างโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว Tween® 20

4.5.2 ผลการศึกษาอิทธิพลของปริมาณของสารลดแรงตึงผิวต่อการตั้งตำรับอิมัลชัน

เนื่องจากปริมาณของสารลดแรงตึงผิวส่งผลต่อลักษณะอนุภาคของอิมัลชัน โดยเมื่อปริมาณสารลดแรงตึงผิวมากขึ้นจะทำให้อนุภาคมีขนาดเล็กลง นอกจากนี้เมื่อเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวในระบบมีค่าเพิ่มมากขึ้นขึ้นยังช่วยให้ระบบที่เตรียมได้มีความเสถียรภาพที่ดี ช่วยป้องกันไม่ให้อนุภาคของอิมัลชันในระบบเกิดการรวมตัวกัน [56, 57] ดังนั้นการศึกษาถึงความเข้มข้นในของสารลดแรงตึงผิวร่วมในระบบจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งต่อการผลิตอิมัลชัน

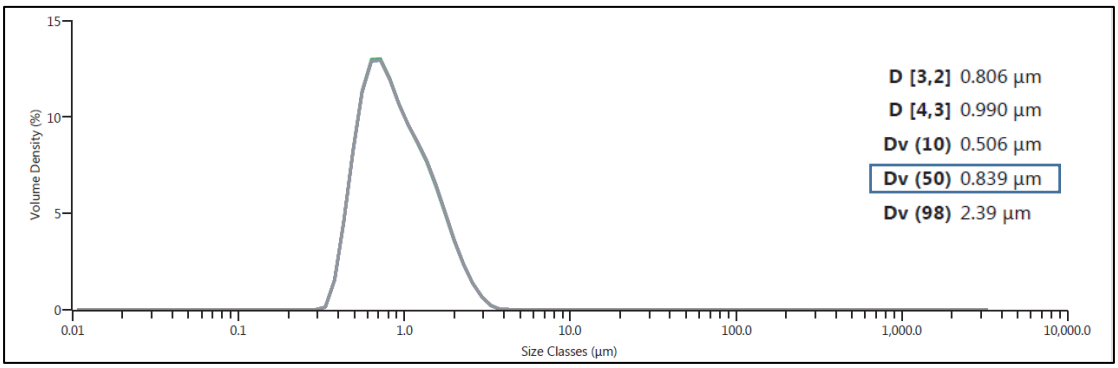
ในการศึกษาการผลิตอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ มีการใช้กรดสเตียริกเป็นตัวแทนของวัฏภาคไขมัน โดยใช้ปริมาณไขมันในอัตราส่วนต่อสารสกัดจากไข่น้ำ 1:1 ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และใช้เวลาในการเกิดอิมัลชัน 5 นาที โดยแปรผันความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวร่วม คือ TWEEN® 40 : RH40 เป็น 5 , 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักตามลำดับ แล้วจึงทำการวิเคราะห์ลักษณะของระบบที่เตรียมได้ซึ่งให้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.3

สูตรที่	TWEEN® 40/RH 40 (%)	**ขนาดอนุภาค (μm)**	**ดัชนีการกระจายตัว(PI)**	**ค่าศักยภาพซีต้า(ZP) (มิลลิโวลต์)**
1	5	1.96	0.423	-17.8
2	7.5	1.57	0.373	-28.3
3	10	0.893	0.440	-33.8

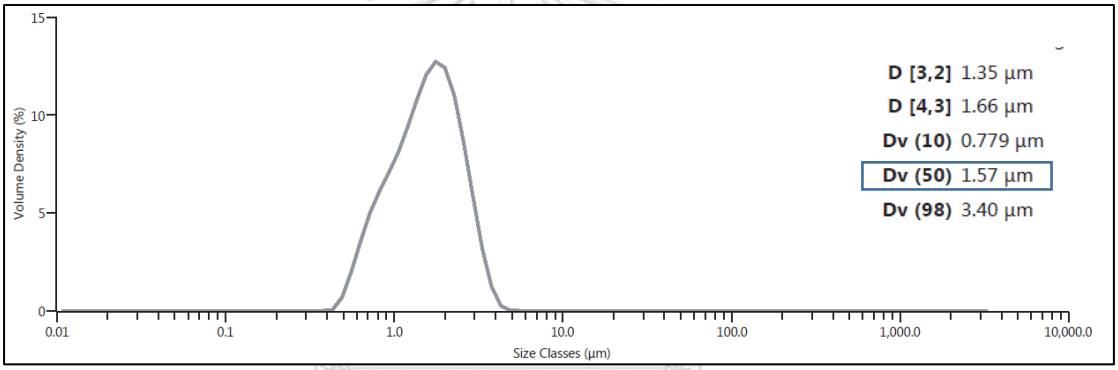
ตาราง 4:3 ลักษณะของอนุภาคอิมัลชันที่เตรียมโดยการแปรผันความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว

จากผลการทดลองเมื่อทำการเพิ่มคามเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวจาก 5 เป็น 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก พบว่าขนาดอนุภาคของหยดอิมัลชันมีขนาดเล็กลงจาก 1.96 μm เป็น 1.57 μm และ 0.983 ตามลำดับ ในขณะที่ค่าการกระจายตัวมีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก และค่าศักย์ซีต้ามีค่าติดลบมากขึ้นจาก -17.38 มิลลิโวลต์ เป็น -33.8 มิลลิโวลต์ ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าการเพิ่มปริมาณสารลดแรงตึงผิวร่วมที่มากพอในระบบอิมัลชัน จะทำให้อิมัลชันมีขนาดเล็กลง และมีแนวโน้มความคงตัวในระบบที่มากขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาได้แก่

Freitas และคณะ 1998 [38] ได้รายงานผลแนวโน้มของขนาดอนุภาคในระบบการเตรียมอิมัลชันแบบอนุภาคขนาดนาโนว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวคือ Poloxamer 188 ค่าศักย์ซีต้าจะมีค่าลดลงจาก -15 มิลลิโวลต์ เป็น -25 มิลลิโวลต์ เมื่อนำไปวัดขนาดอนุภาคจะมีค่าลดลง และเมื่อทำการเก็บรักษาไว้ในระยะเวลาที่ยาวนานอิมัลชันจะมีความคงตัวที่สูงขึ้น

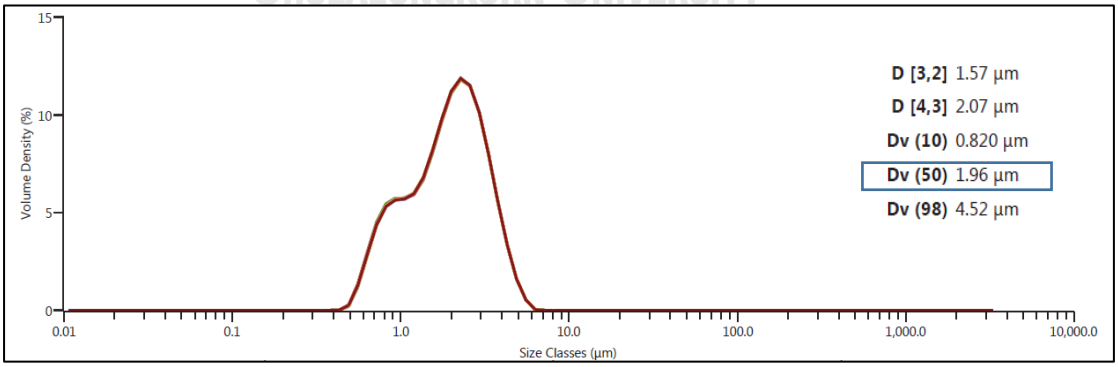


รูปที่ 4:23 ขนาดของอิมัลชันเมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 คือ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อวัดขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง Zeta Sizer

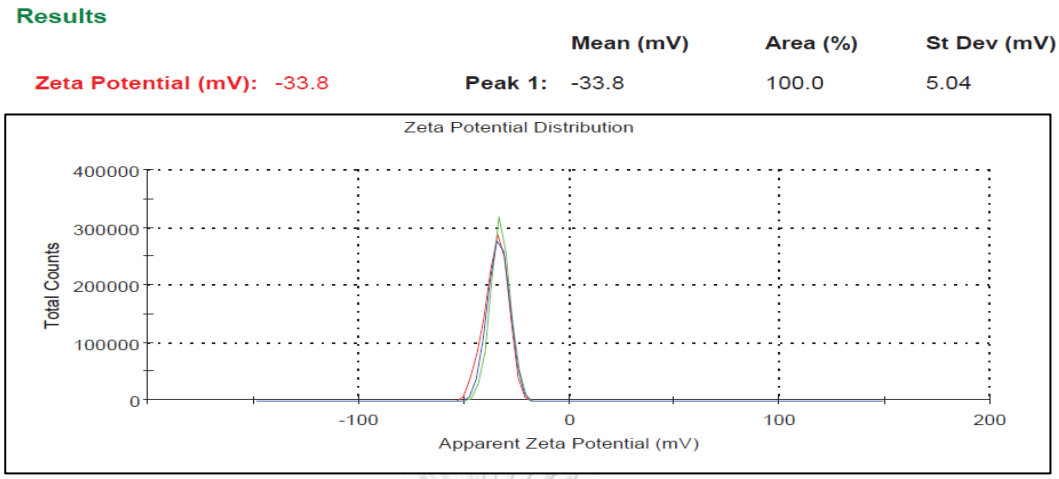


รูปที่ 4:24 ขนาดของอิมัลชันเมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 คือ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อวัดขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง Zeta Sizer

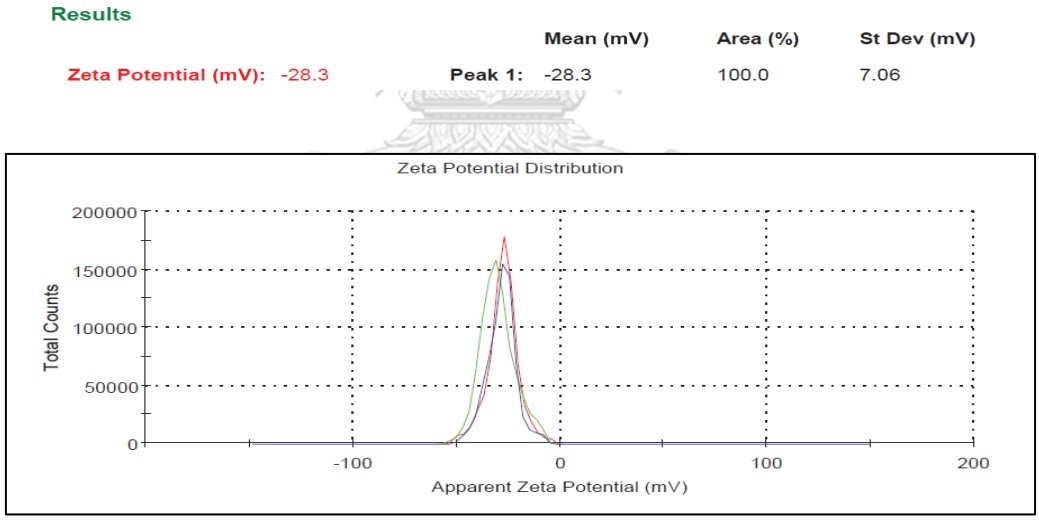
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 4:25 ขนาดของอิมัลชันเมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 คือ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อวัดขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง Zeta Sizer



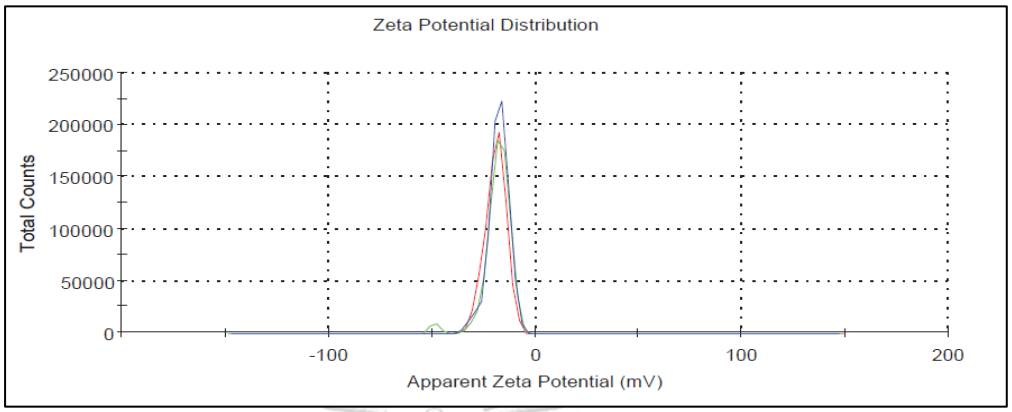
รูปที่ 4:26 ค่าศักย์ซีต้าของอิมัลชันเมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 คือ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อวัดด้วยเครื่อง Zeta Sizer



รูปที่ 4:27 ค่าศักย์ซีต้าของอิมัลชัน เมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 คือ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อวัดด้วยเครื่อง Zeta Sizer

Results

		Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -17.8	**Peak 1:**	-17.8	100.0	5.00

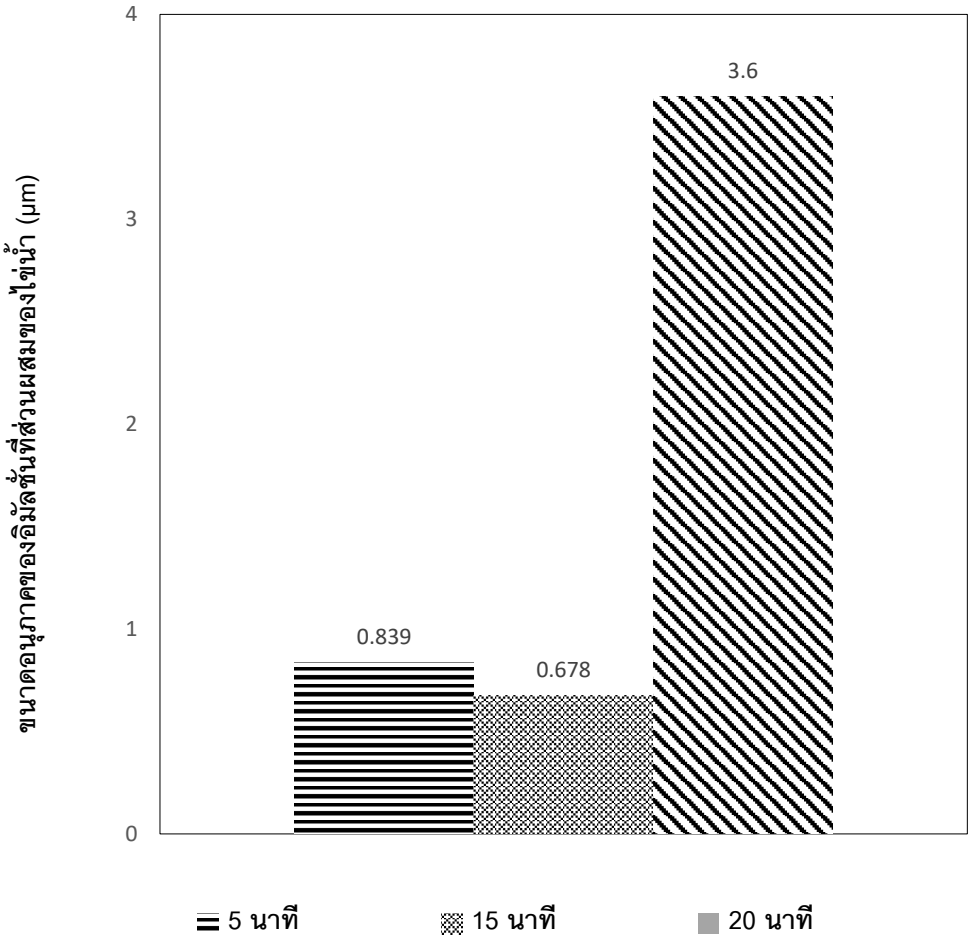


รูปที่ 4:28 ค่าศักย์ซีต้าของอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ เมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 ปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อวัดด้วยเครื่อง Zeta Sizer

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.5.3 **ผลการศึกษาอิทธิพลเวลาในการเกิดอิมัลชัน** (Homogenization time)

เนื่องจากเวลาในการกระบวนการเกิดอิมัลชัน มีผลต่อขนาดอนุภาค ค่าดัชนีการกระจายตัวของขนาดอนุภาค (polydispersity index) และ ค่าศักยภาพซีต้าของระบบอิมัลชัน ดังนั้นจึงทำการศึกษาอิทธิพลของเวลาในการเกิดอิมัลชัน ได้ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 4.4



รูปที่ 4:29 เปรียบเทียบขนาดของอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ เมื่อแปรผันความเวลาในการเกิดอิมัลชัน 5 , 15 และ 20 นาที

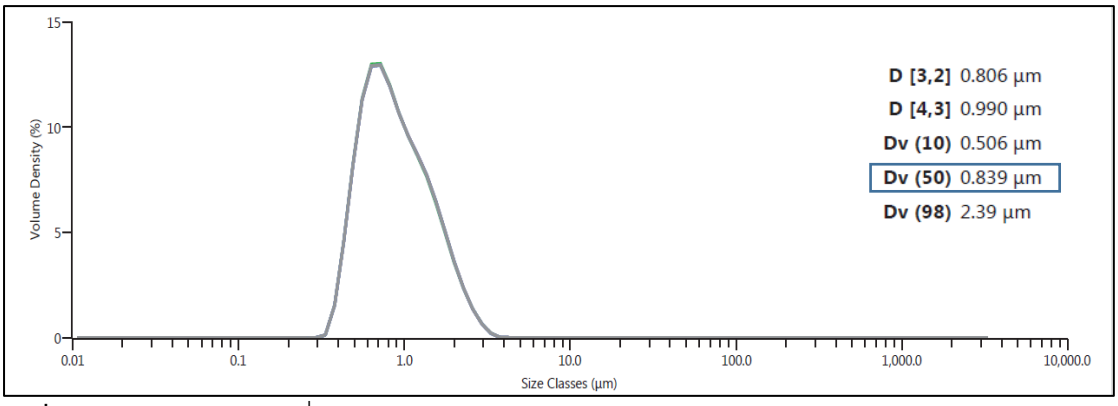
สูตรที่	เวลาในกระบวนการเกิดอิมัลชัน (นาที)	ขนาดอนุภาค (μm)	ค่าศักยภาพซีต้า(ZP) (มิลลิโวล์ต)	ดัชนีการกระจายตัว (PI)
1	5	0.839	-33.80	0.440
4	15	0.678	-47.00	0.264
5	20	3.60	-9.37	0.628

ตาราง 4:4 ลักษณะของอนุภาคอิมัลชันที่เตรียมโดยการแปรผันเวลาในการเกิดอิมัลชัน

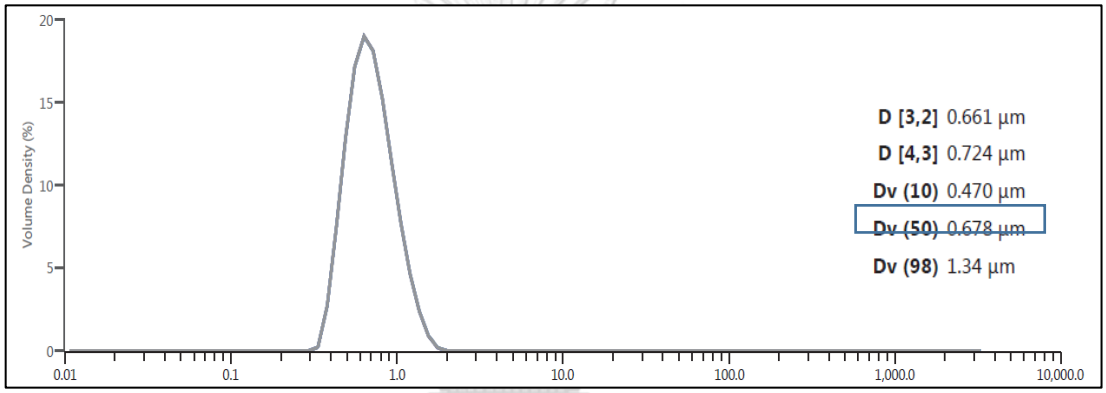
เมื่อพิจารณาขนาดอนุภาคของอิมัลชัน มีขนาดอยู่ในช่วง 0.678 – 3.60 μm จะเห็นว่าเมื่อเพิ่มเวลาในกระบวนการเกิดอิมัลชัน จาก 5 เป็น 15 นาที อนุภาคมีขนาดเล็กลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเพิ่มเวลาจาก 15 นาทีเป็น 20 นาที อนุภาคจะมีขนาดเพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาจากค่าดัชนีการกระจายตัวของขนาดอนุภาค (PI) พบว่าลดลงจาก 0.628 เป็น 0.264 และค่าศักยภาพซีต้า (ZP) ลดลงจาก -9.37 ถึง -33.80 มิลลิโวลต์ เมื่อเวลาในการเกิดอิมัลชันเพิ่มขึ้น แนวโน้มที่ได้เป็นไปตามการรายงานของ Landfester และคณะ (1999) [58] คือเมื่อเพิ่มเวลาในการเกิดอิมัลชันระหว่าง10-15 นาที ขนาดอนุภาคที่ได้จะมีขนาดเล็กลง แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อเวลาในกระบวนการมากกว่า 15 นาที อาจจะทำให้อนุภาคของอิมัลชันเกิดการรวมตัวกันทำให้อิมัลชันที่ได้มีขนาดอนุภาคที่ใหญ่ ซึ่งมีแนวโน้มแบบเดียวกันกับการรายงานของ Das และคณะ (2012) [56] ที่แปรผันเวลาโฮโมจีไนซ์ที่ 1- 30 พบว่าที่เวลาหลังจาก 15 นาที ขนาดอนุภาคที่ได้ ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ และเมื่อใช้เวลาที่นานจนถึง 20 นาที อนุภาคจะใหญ่ขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

เมื่อพิจารณาค่าดัชนีการกระจายตัว (Polydispersity index, PI) ของอนุภาคอิมัลชันในสารละลาย พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการเกิดอิมัลชันเพิ่มขึ้นจาก 5-15 นาที จะทำให้ค่า PI ลดลงซึ่งหมายถึงอนุภาคในระบบมีขนาดที่เท่ากันมากขึ้น หรือมีการกระจายตัวในระดับที่ดีมาก สอดคล้องกับงานวิจัยของ Freitas และคณะ 1998 [38] ที่ได้รายงานว่าระบบอิมัลชันจะมีเสถียรภาพที่ดีเมื่อมีค่าดัชนีการกระจายตัวที่น้อยกว่า 0.3

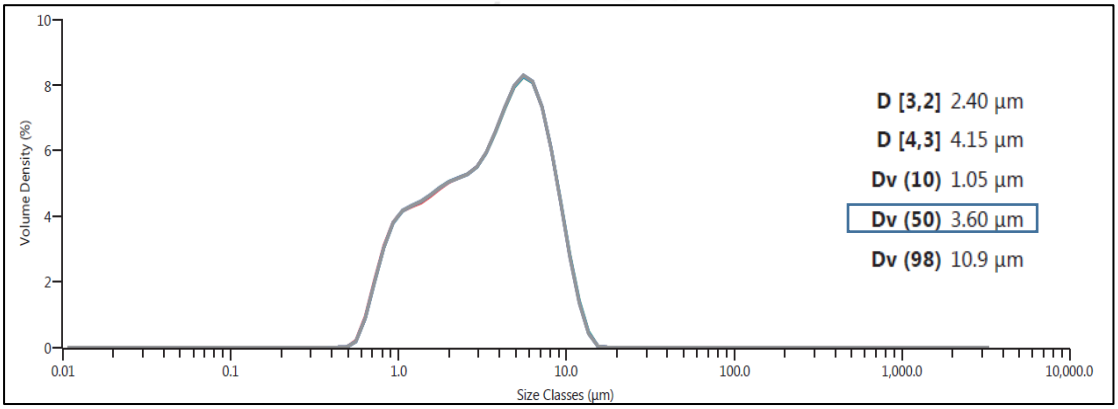
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 4:30 ขนาดของอิมัลชันเมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 คือ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เวลาในกระบวนกาอิมัลชัน 5 นาที เมื่อวัดขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง Zeta Sizer



รูปที่ 4:31 ขนาดของอิมัลชันเมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 คือ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เวลาในกระบวนการโฮโมจีไนซ์ 15 นาที เมื่อวัดขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง Zeta Sizer



รูปที่ 4:32 ขนาดของอิมัลชันเมื่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว TWEEN® 40/RH 40 คือ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เวลาในกระบวนการโฮโมจีไนซ์ 20 นาที เมื่อวัดขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง Zeta Sizer

4.6 ผลการศึกษาการกักเก็บปริมาณสารฟีนอลิกในตำรับอิมัลชัน

ในการศึกษาการตั้งตำรับอิมัลชันเพื่อใช้ในการประยุกต์ใช้สำหรับการกักเก็บสารประกอบฟีนอลิก เพื่อให้สามารถเก็บรักษาและป้องกันการเสื่อมสภาพจากปัจจัยภายนอกได้แก่ อุณหภูมิ , ค่าความเป็นกรด – ด่าง โดยนำผลจากการศึกษาการตั้งตำรับอิมัลชันในข้อ 4.5.1-4.5.3 มาทำการเติมสารสกัดฟีนอลิกจากไข่น้ำ โดยทำการเติมสารประกอบฟีนอลิกในอัตราส่วน 0.000794 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักผลการทดลองแสดงดังในตารางที่ 4.5

ปริมาณสารฟีนอลิก (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)	สารละลายส่วนใส	ประสิทธิภาพในการกักเก็บ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)	เวลา (วัน)
0.000794	0.0000490	93.84	10
0.000794	0.0000576	92.75	15
0.000794	0.0000679	91.45	30

ตาราง 4:5 แสดงประสิทธิภาพในการกักเก็บสารประกอบฟีนอลิกโดยการเก็บตัวอย่างมาตรวจ 10 , 15 และ 30 วันตามลำดับ

จากผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพในการกักเก็บสารประกอบฟีนอลิกมีค่าแนวโน้มที่ดี คือเมื่อเวลาผ่าน 30 วัน มีสารประกอบฟีนอลิกในตำรับอิมัลชันที่ทำการคัดเลือกในสูตรเหลือ 91.45 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการเก็บสารประกอบฟีนอลิกไว้ในสภาวะที่ไม่มีการห่อหุ้มซึ่งสารประกอบฟีนอลิกจะเสื่อมสภาพอย่างรวดเร็วดังที่ Wei Lu et al , (2016) [35] ได้รายงานไว้ คือ สารประกอบฟีนอลิกจะเกิดการเสื่อมสภาพอย่างรวดเร็วคือลดลงจากเหลือเพียง 25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อเวลาผ่านไปเพียง 24 ชั่วโมงเท่านั้นดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าสูตรตำรับอิมัลชันที่คัดเลือกสำหรับการกักเก็บสารประกอบฟีนอลิกดังกล่าวมีแนวโน้มที่ดีในการเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการจัดเตรียมอิมัลชันเพื่อขึ้นรูปเป็นเครื่องสำอางสำหรับต้านอนุมูลอิสระต่อไป

CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 การศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำแบบกะ

เมื่อทำการสกัดผงไข่น้ำแบบกะ โดยแปรผันปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อค่าผลได้ในการสกัด คือ ความเข้มข้นของสารละลายเอทานอล อุณหภูมิในการสกัด และอัตราส่วนของตัวทำละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ ในช่วงเวลา 0-180 นาที ได้ผลการทดลองดังนี้

1. ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่ให้ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดคือ สารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เนื่องจากมีสภาพความเป็นขั้วสูงเหมาะต่อในการชะละลายสารประกอบฟีนอลิกที่มีหมู่ไฮดรอกซิลจำนวนมากไข่น้ำ

2. การเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จนถึง 50 องศาเซลเซียส มีผลช่วยให้การสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น เนื่องจากทำให้เกิดการเพิ่มของค่าการชะละลาย และช่วยลดความหนืดของสารละลาย รวมทั้งเพิ่มอัตราการแพร่ของตัวทำละลายให้มีค่าสูงขึ้น แต่หากใช้อุณหภูมิที่สูงจนเกินไปอาจจะทำให้เกิดการเสียสภาพของสารประกอบฟีนอลิกในระบบได้ ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดไข่น้ำ คือ 50 องศาเซลเซียส

3. การเพิ่มอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อของแข็งในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก จะให้ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากจะเป็นการเพิ่มความแตกต่างของความเข้มข้น (concentration gradient)ของสารประกอบฟีนอลิก ที่บริเวณผิวผงไข่น้ำและชั้นตัวทำละลาย เป็นเสมือนแรงขับในกระบวนการชะละลาย โดยอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อของแข็งในการสกัดที่เหมาะสมคือ 15:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4. สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำแบบกะ คือ การใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่อัตราส่วนของตัวทำละลายเอทานอลต่อของไข่น้ำ 15:1 ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที มีค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 40.23 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ

5. เมื่อทำการศึกษาการคิดค่าสัมประสิทธิ์การแพร่จากผลการทดลองที่ได้ พบว่า เมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจากอุณหภูมิห้องเป็น 50 องศาเซลเซียส จะช่วยเพิ่มค่าสัมประสิทธิการแพร่ โดยค่าสูงสุดที่ได้มีค่าเท่ากับ $1.32 * 10^{-6}$ ตารางเมตรต่อวินาที

6. เมื่อทำการศึกษาการฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากไข่น้ำด้วยวิธี DPPH scavenging assay และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบ พบว่าแนวโน้มของค่าฤทธิ์ต้านอนุมูล

อิสระและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่ได้มีความสัมพันธ์ไปในทางเดียวกันกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในแต่ละสภาวะ โดย มีค่าสูงสุดของความสามารถต้านอนุมูลอิสระ คือ 34.98 มิลลิกรัมเทียบเท่าสารมาตรฐานโทรล็อกซ์ และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ 258.09 มิลลิกรัมสมมูลของสารเคซินต่อหนึ่งร้อยกรัมไข่น้ำ ณ สภาวะการสกัดที่ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดเช่นกัน

5.2 การศึกษาการเตรียมอิมัลชันจากสารสกัดไข่น้ำ

การศึกษาการเตรียมอิมัลชันจากสารสกัดจากไข่น้ำโดยมีกรดสเตียริกและสารสกัดจากไข่น้ำเป็นสารตัวแทนในวัฏภาคน้ำมันและน้ำตามลำดับ โดยทำการแปรผันค่าพารามิเตอร์ต่างๆได้แก่ ชนิดของสารลดแรงตึงผิวร่วม ปริมาณสารลดแรงตึงผิวร่วม และเวลาในกระบวนการเกิดอิมัลชัน ได้ผลการทอลองดังนี้

1. ชนิดของสารลดแรงตึงผิวร่วมที่เหมาะสมในการเตรียมอิมัลชันสำหรับตั้งตำรับ คือ TWEEN® 40/ Cremophor® RH40 เมื่อใช้อัตราส่วนกรดสเตียริกต่อตำรับ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวร่วม 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เวลาในการเกิดอิมัลชัน 15 นาที ทำให้ได้ขนาดอนุภาคของอิมัลชันเฉลี่ยเท่ากับ 0.658 ไมโครเมตร ค่าศักย์ซีต้าเท่ากับ -47.00 มิลลิโวลต์ และค่าดัชนีการกระจายตัว 0.264

2. เมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกักเก็บสารประกอบฟีนอลิกในอิมัลชัน พบว่า ได้ค่าสูงสุดเท่ากับ 91.45 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการกักเก็บโดยไม่มีการห่อหุ้มด้วยอิมัลชัน พบว่าประสิทธิภาพของอิมัลชันที่ศึกษามีความเหมาะสมในการใช้ป้องกันการเสื่อมสภาพของสารประกอบฟีนอลิก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

5.3 ข้อเสนอแนะ

หากต้องการเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไข่น้ำ อาจจะใช้เทคนิคอื่นๆที่ช่วย เช่น การสกัดแบบแพคเบด โดยคำนึงถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมด้วยเช่นกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

1. Louis L. Rusoff, E.W.B., Dudley D. CulleyJr., *Duckweeds (Lemnaceae family): a potential source of protein and amino acids.* Agric. Food Chem, 1980. **28**(4): p. 848-850.

2. Jureerut Daduang, S.V., Sakda Daduang, Pranithi Hongsprabhas and a.P. Boonsiri, *High phenolics and antioxidants of some tropical vegetables related to antibacterial and anticancer activities.* Chiang Mai J. Sci, 2011. **5**(5): p. 608-615.

3. Thidarat Somdee, U.M., Methin Phadungkit and Suneerat Yangyuen, *Antioxidant Compounds and Activities in Selected Fresh and Blanched Vegetables from Northeastern Thailand.* Chiang Mai J. Sci., 2015. **43**(4): p. 834-844.

4. Nisachol Ruekaewma, S.P., and Sorawit Powtongsook, *Culture system for Wolffia globosa L. (Lemnaceae) for hygiene human food.* Songklanakarin J. Sci. Technol., 2015. **37**(5): p. 575-580.

5. Bhanthumnavin, K.a.M., M.G., *Wolffia arrhizal as a possible source of inexpensive protein.* 1971: p. 232-495.

6. Fujita, M., Mori, K. and Kodera, T. , *Nutrient removal and starch production through cultivation of Wolffia marrhiza.* Journal of Bioscience and Bioengineering, 1999. **87**: p. 194-198.

7. Nini, W., <*Chemical constituents of Wolffia globosa -Flavone.pdf*>. Bioscience, 2016. **1**(1): p. 1-4.

8. Romuald czerpak, A.p., Andrzej bajguz and Edyta chilimoniuk *Biochemical activity of Biochanin A In Wolffia arrhiza (LEMNACEAE).* Conference on Isoprenoids 2003, 2003. **97**: p. 233-318.

9. แจ่มแจ้ง ขวัญดาว, สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดผักพื้นบ้านในจังหวัดกำแพงเพชร. Rajabhat Journal of Sciences, Humanities & Social Sciences, 2012. **13**(2).

10. RH, L., *Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action.* Jounal of Nutrition 2004. **134**: p. 3475-3489.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

11. Rice-Evans, C.a.N.J.M., 1995. "". J. Agri. Food Chem. 97: 35-40., *Antioxidants the case for fruit and vegetables in the diet.* Journal of Agritation,Food Chem, 1995. **97**: p. 35-40.

12. 2007;30:3268–3295, S.C.D.J.S.S., *Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids.* Journal of seperation science, 2007. **30**: p. 3268-3295.

13. David M. Pereira , P.V., Jose A. Pereira and Paula B. Andrade *Phenolics: From Chemistry to Biology.* Journal of Molecules, 2009. **14**: p. 2202-2211.

14. Clifford, M.N., *A Nomenclature for Phenols with Special Reference to Tea.* Journal of seperation science, 2007. **41**: p. 393-397.

15. Nicholson, W.a.R., *Phenolic Compound Biochemistry* 2009.

16. Martin, B.J.G.a.C., *Anthocyanins.* Current Biology, 2012. **22**(5): p. 147-150.

17. Antonio J. Queimada, F.L.M., Simao P. Pinho, and Eugenia A. Macedo, *Solubilities of Biologically Active Phenolic Compounds: Measurements and Modeling.* Jounal of physical chemistry, 2009. **113**: p. 3469.

18. Wilfred Vermerris and Alph Nisachon *PHENOLIC COMPOUND(Book).* Springer Science amd Business Media 2008.

19. ลือชัย บุตคุป , สารประกอบฟีโนลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพ *Dietary Polyphenols and Their Biological Effects.* Journal of scienceteachnology MSU, 2011. **31**(4): p. 443-455.

20. Gertenbach , D., *Solid–liquid extraction technologies for manufacturing nutraceuticals from botanicals.* Functional foods: Biochemical and processing aspects 2001: p. 331-366.

21. Dibert, K., Cros, E., & Andrieu, J., *Solvent extraction of oil and chlorogenic acid from green coffee.* Journal of Food Engineering Part II: Kinetic data, 1989. **10**: p. 199–214.

22. Manuel Pinelo , J.S., Maria Jose Nunez, *Mass transfer during continuous solid–liquid extraction of antioxidants from grape byproducts.* Journal of Food Engineering 2004. **77**(2006): p. 57-63.

23. Dibert, K., Cros, E., & Andrieu, J. , *Solvent extraction of oil and chlorogenic acid from green coffee. Part II: Kinetic data.* Journal of Food Engineering, 1989. **10**, : p. 199–214.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

24. ศรีธรณินทร์ ไชยศรี, การสกัดของแข็ง-ของเหลว.กรุงเทพ. 2549.

25. วีณา จิรับฉริยากูล, *ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ*.พิมพ์ครั้งที่ *1* ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.กรุงเทพฯ. 2534.

26. Loncin, M., & Merson, R. L. , *Food engineering. Principles and selected applications. New York, NY.* Academic Press Inc, 1979: p. 494.

27. Quy Diem Do , A.E.A., PhuongLan Tran-Nguyen ,Lien Huong Huynh , Felycia Edi Soetaredjo ,Suryadi Ismadji and Yi-Hsu Ju (2014), *Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of Limnophila aromatic.* journal of food and drug analysis, 2014. **22**(2014): p. 296-302.

28. Giorgia Spigno , L.T., Dante Marco De Faveri *Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics* Journal of Food Engineering 2006. **81**(2007): p. 200-208.

29. อุษา ถวิลรักษ์ นเรศ มีโส และ ศิริธร ศิริอมรพรรณ, *ผลของการอบแห้งต่อสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของผักติ้ว มะระขี้นก มะกอก และฟ้าทะลายโจร*. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 2553. **41 : 1 (พิเศษ)** : : p. 560-563 (2553).

30. Rostango, M.A., Plama, M. and Barroso, C.G, *Pressurized liquid extraction of isoflavones from soybeans.* Analytica Chimica Acta, 2004. **81**: p. 200-208.

31. JOKIC, S., VELIC, D., BILIC, M., KOJIC, A. B., PLANINIC, M., and TOMAS. S. , *Modeling of the process of solid-liquid extraction of total polyphenol from soybea.* Czech J. Food Sci, 2010. **3**(206): p. 212.

32. Giao, M.S., Pereira, C.I., Fonseca, C.A., Pintado, M.E., and Malcata, F.X, *Effect of particle size upon the extent of extraction of antioxidant power from the plantsAgrimonia eupatoria, Salvia sp. and Satureja Montana.* Food Chemistry, 2009. **117**(412-416).

33. Gironi, F.a.P., V, *Temperature and solvent effects on polyphenol extraction process from chestnut tree wood.* Chemical engineering research and Design, 2011. **89**: p. 857.

34. Nirmala, M.J., Allanki,S.,Mukherjee, A. and Changrasekaran,N., *Enhancing the solubility of fluconazole using a new essential oil based microemulsion system* Internatonal Journal of Phamacy and Phamaceutical Science, 2013. **5**(3): p. 697-699.

35. Wei Lu a, b., Alan L. Kelly b, Song Miao a . *Emulsion-based encapsulation and delivery systems for polyphenols.* Trends in food and technology, 2016. **47**: p. 1-9.

36. Moreira de Morais, J., et al. , *Physicochemical Characterization of Canola Oil/Water Nanoemulsions Obtained by Determination of Required HLB Number and Emulsion Phase Inversion Methods.* Journal of Dispersion Science and Technology 2006. **27**(1): p. 109-115.

37. Tadros, T.F., *Self-organized surfactant structures*. 2011: John Wiley & Sons.

38. Freitas, C., and Müller, Rainer H., *Effect of light and temperature on zeta potential and physical stability in solid lipid nanoparticle (SLN™) dispersions* International Journal of Pharmaceutics, 1998. **168**(2): p. 221-229.

39. Siekmann, B. and K. Westesen, *Thermoanalysis of the recrystallization process of melt-homogenized glyceride nanoparticles*. Colloids and surfaces B: Biointerfaces, 1994. **3**(3): p. 159-175.

40. Freitas, C. and R.H. Müller, *Effect of light and temperature on zeta potential and physical stability in solid lipid nanoparticle (SLN™) dispersions.* International journal of pharmaceutics, 1998. **168**(2): p. 221-229.

41. Waterhouse, A.L., *Determination of total phenolic compounds. Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 2002: p. I1.1.1-I1.1.8

42. Nickavar B, K.M., Mohandesi S., *Comparison of the components of the essential oils from leaves and fruits of Grammosciadium platycarpum.* Chem Nat Compd, 2006. **42**: p. 686–8.

43. Dewanto, V.W., X.; Adom, K. K.; Liu, R. H. , *Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity.* J. Agric. Food Chem, 2002. **50**: p. 3010-3014.

44. Jia, Z.T., M.; Wu, J., *The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals.* Food Chemistry, 1999. **64**(555-599): p. 555.

45. Cacace, J.E., and Mazza, G., *Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berried.* Journal of Food Engineering, 2003. **59**: p. 379-389.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

46. Paiva, R.A.D.a.N.L., *Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism.* The Plant Cell , American Society of Plant Physiologists, 1995: p. 1085-1097.

47. Brigita Lapornik , M.P.e., Alenka Golc Wondra, *Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time*. Journal of Food Engineering 2005. **71**(214–222): p. 214.

48. Spigno, G., Tramelli,and De-Faveri,D.M., *Effect of extraction time temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics* Jounal of food Engineering 2007. **81**: p. 200-208.

49. Sun J, C.Y., Wu X, Liu RH., *Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits*. J Agric Food Chem., 2002. **4**(50): p. 7449-7454.

50. Prasad, K.N., Yang, E., Yi, C., Zhao, M., and Jiang, Y, *Effects of high pressure extraction on the extraction yield, total phenolic content and antioxidant activity of longan fruit pericarp.* Food Science and Emerging Technologies. **10**: p. 155.

51. Ho, C.H., Cacace, J.E. and Mazza , G., *Mass transfer during pressurized low polarity water extraction of lignas from flaxseed meal*. Journal of Food Engineering, 2008. **89**: p. 64-71.

52. C. Jayathilake, V.R.a.R.L., *Antioxidant and free radical scavenging capacity of extensively used medicinal plants in Sri Lanka*. Procedia Food Science 2016. **6**: p. 123 – 126.

53. Parameswari Govindan, S.M., *Evaluation of total phenolic content and free radical scavenging activity of Boerhavia erecta.* Journal of Acute Medicine 3 2013(3): p. 103-109.

54. Alothman M, B.R., Karim AA. . , *Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents.* Food Chemistry, 2009. **115**: p. 785-788.

55. Schulman, J. and E. Cockbain, *Molecular interactions at oil/water interfaces. Part I. Molecular complex formation and the stability of oil in water emulsions.* Transactions of the Faraday Society, 1940. **35**: p. 651-661.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

56. Das, S., W.K. Ng, and R.B. Tan, *Are nanostructured lipid carriers (NLCs) better than solid lipid nanoparticles (SLNs): development, characterizations and comparative evaluations of clotrimazole-loaded SLNs and NLCs.* European journal of pharmaceutical sciences, 2012. **47**(1): p. 139-151.

57. Han, F., et al., *Effect of surfactants on the formation and characterization of a new type of colloidal drug delivery system: nanostructured lipid carriers.* Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2008. **315**(1): p. 210-216.

58. Landfester, K., et al., *Formulation and stability mechanisms of polymerizable miniemulsions.* Macromolecules, 1999. **32**(16): p. 5222-5228.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

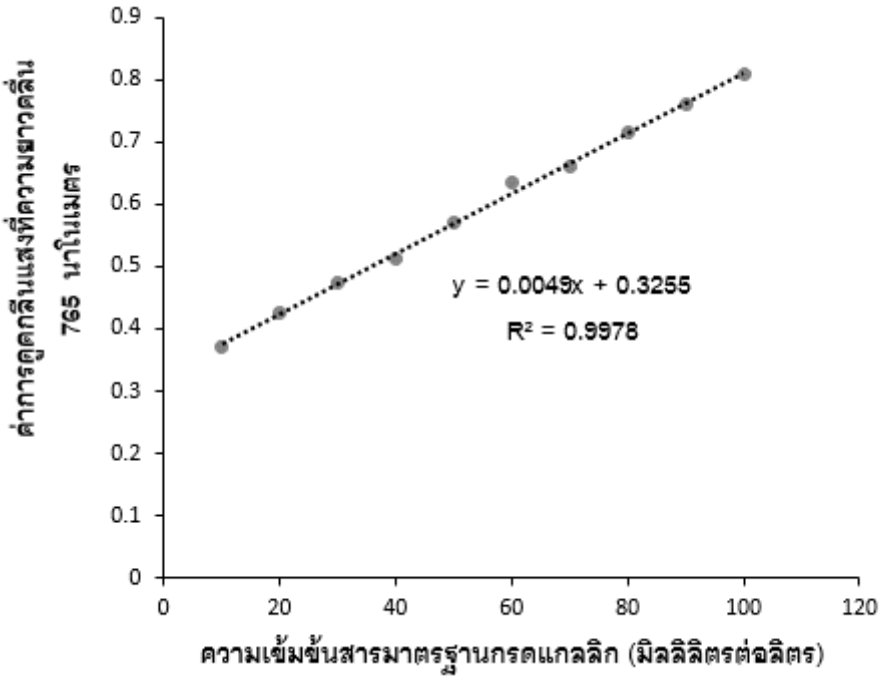
ภาคผนวก ก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก
การสร้างกราฟมาตรฐาน

ก-1. การสร้างกราฟมาตรฐานสารกรดแกลลิก

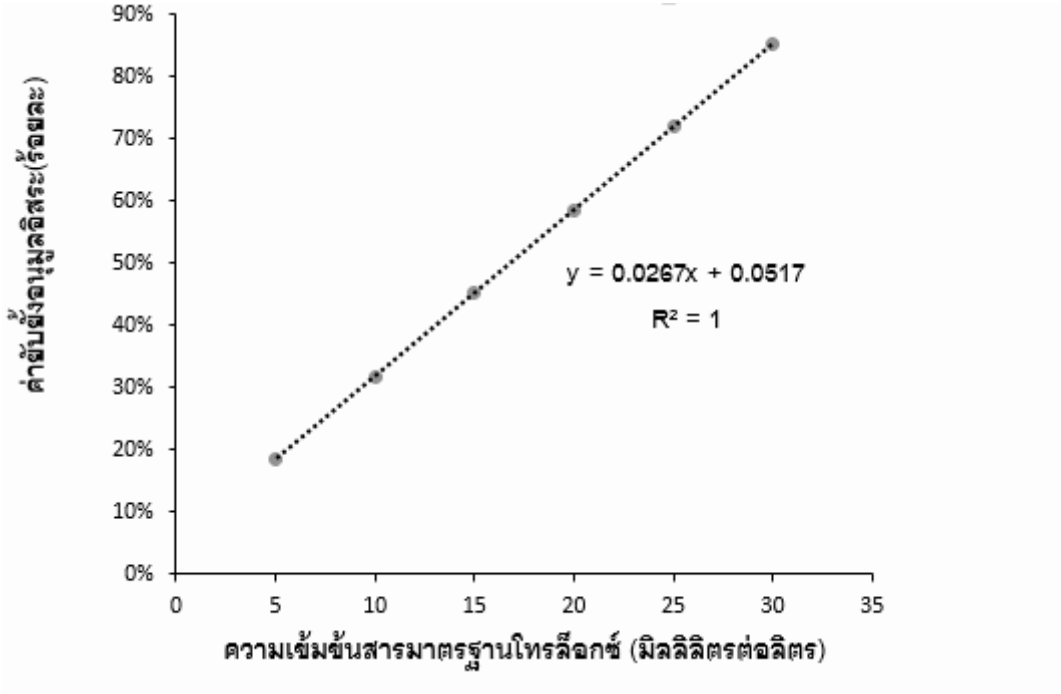
การสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกมีวิธีการเตรียมคือ นำกรดแกลลิกปริมาณ 5 กรัมผสมกับสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ปริมาณ10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำสารละลายดังกล่าวมาปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปริมาตร เพื่อให้ได้สารมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 20 , 40 , 60 , 80 ,100 µg/mL นำสารละลายดังกล่าวไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องมือ UV- vis spectrophotometer และนำข้อมูลมาสร้างกราฟมาตรฐานดังในรูปที่ ก-1



รูปที่ ก:1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

ก-2. การสร้างกราฟมาตรฐานสารโทรล็อกซ์

การสร้างกราฟมาตรฐานสารโทรล็อกซ์ เตรียมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ในเอทานอลให้มีความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ หลังจากนั้นทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 5-30 µg/mL โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย นำสารละลายดังกล่าวไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องมือ UV- vis spectrophotometer และนำข้อมูลมาสร้างกราฟมาตรฐานดังในรูปที่ ก-2

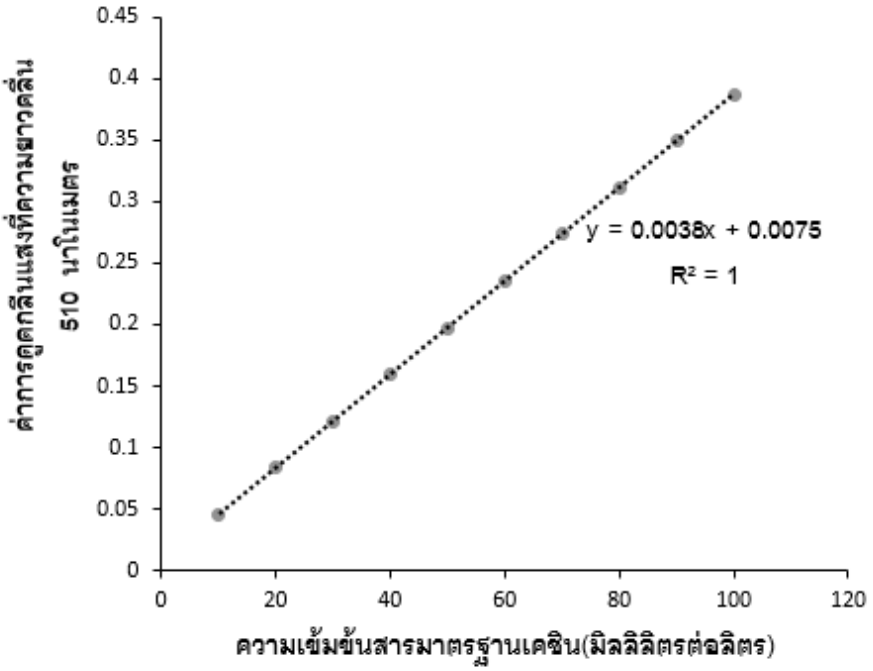


รูปที่ ก:2 กราฟมาตรฐานสารโทรล็อกซ์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ก-3. การสร้างกราฟมาตรฐานสารเคซิน

การสร้างกราฟมาตรฐานสารเคซินมีวิธีการเตรียมคือ นำเคซินปริมาณ 5 กรัมผสมกับสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ปริมาณ10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำสารละลายดังกล่าวมาปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปริมาตร เพื่อให้ได้สารมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 20 , 40 , 60 , 80 ,100 µg/mL นำสารละลายดังกล่าวไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องมือ UV- vis spectrophotometer และนำข้อมูลมาสร้างกราฟมาตรฐานดังในรูปที่ ก-3



รูปที่ ก:3 กราฟมาตรฐานเคซิน

ภาคผนวก ข

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ข

ตารางบันทึกผลการทดลอง

ตารางที่ ข.1 ตารางบันทึกค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก จากไข่น้ำ ณ สภาวะการสกัดต่างๆ

ข.1.1 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไขน้ำ)
เอทานอล 30%	5	11.79
	10	12.14
	15	12.38
	30	13.75
	60	14.71
	120	15.59
	180	15.74
	240	15.75
เอทานอล 50%	5	17.95
	10	19.13
	15	19.46
	30	21.64
	60	23.15
	120	24.55
	180	24.80
	240	22.32
เอทานอล 70%	5	27.05
	10	27.89
	15	31.24
	30	34.67
	60	37.10
	120	39.33
	180	39.72
	240	38.72

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.1.1 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 (ต่อ)

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ)
เอทานอล 95%	5	18.00
	10	24.91
	15	27.50
	30	30.09
	60	33.89
	120	36.91
	180	37.10
	240	37.10

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ข.1.2 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟีนอลิก จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ)
เอทานอล 30%	5	6.870
	10	12.16
	15	12.38
	30	13.75
	60	14.73
	120	15.62
	180	15.75
	240	15.75
เอทานอล 50%	5	9.66
	10	19.16
	15	19.46
	30	21.65
	60	23.15
	120	24.54
	180	24.80
	240	22.81
เอทานอล 70%	5	20.58
	10	23.96
	15	26.88
	30	30.96
	60	33.05
	120	35.11
	180	35.39
	240	35.39

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.1.2 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟีนอลิก จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 (ต่อ)

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ)
เอทานอล 95%	5	16.60
	10	21.42
	15	22.34
	30	27.82
	60	32.22
	120	33.20
	180	33.31
	240	33.32

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.1.3 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟีนอลิก จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ)
เอทานอล 30%	5	6.87
	10	12.16
	15	12.38
	30	13.75
	60	14.73
	120	15.62
	180	15.75
	240	15.75
เอทานอล 50%	5	9.66
	10	19.17
	15	19.47
	30	21.65
	60	23.15
	120	24.54
	180	24.80
	240	24.80
เอทานอล 70%	5	20.81
	10	26.61
	15	30.10
	30	34.75
	60	37.02
	120	39.41
	180	39.72
	240	39.72

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.1.3 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟีนอลิก จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 (ต่อ)

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ)
เอทานอล 95%	5	18.00
	10	24.91
	15	27.50
	30	30.09
	60	33.89
	120	36.91
	180	37.10
	240	37.10

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.1.4 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟีนอลิก จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ)
เอทานอล 30%	5	6.87
	10	12.16
	15	12.38
	30	13.75
	60	14.73
	120	15.62
	180	15.75
	240	15.75
เอทานอล 50%	5	9.66
	10	19.17
	15	19.47
	30	21.65
	60	23.15
	120	24.54
	180	24.80
	240	22.32
เอทานอล 70%	5	12.90
	10	20.91
	15	24.90
	30	27.91
	60	29.10
	120	30.91
	180	31.09
	240	31.12

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.1.4 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟีนอลิก จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 (ต่อ)

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ)
เอทานอล 95%	5	17.99
	10	27.54
	15	27.50
	30	32.49
	60	36.99
	120	37.93
	180	38.05
	240	38.06

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.1.5 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟีนอลิก จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นสารละลายเอทานอล ร้อยละ70 และแปรผันอัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ

อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ (มิลลิลิตร / กรัม)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ)
5:1	5	24.94
	10	25.72
	15	28.80
	30	31.97
	60	34.21
	120	36.26
	180	36.62
	240	35.89
10:1	5	20.81
	10	26.61
	15	30.10
	30	34.75
	60	37.02
	120	39.41
	180	39.72
	240	39.72
15:1	5	28.29
	10	31.40
	15	34.85
	30	37.29
	60	39.53
	120	39.92
	180	40.42
	240	40.36

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.1.5 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟีนอลิก จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นสารละลายเอทานอล ร้อยละ70 และแปรผันอัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ (ต่อ)

อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ (มิลลิลิตร / กรัม)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมไข่น้ำ)
20:1	5	28.64
	10	31.79
	15	35.28
	30	37.75
	60	40.02
	120	40.42
	180	40.92
	240	40.86

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ ข.2 ตารางบันทึกค่าการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ โดยวิธี DPPH ASSEY **ที่สภาวะต่างๆ**

ข.2.1 ผลการวัดค่าการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ โดยวิธี DPPH ASSEY **ที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ** 25 **องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ** 10:1

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ
เอทานอล 30%	5	15.69
	10	15.85
	15	15.96
	30	16.58
	60	17.01
	120	17.40
	180	17.47
	240	17.48
เอทานอล 50%	5	18.50
	10	18.99
	15	19.16
	30	20.13
	60	20.81
	120	21.43
	180	21.54
	240	21.54
เอทานอล 70%	5	17.11
	10	20.82
	15	22.56
	30	23.44
	60	26.42
	120	27.28
	180	27.29
	240	27.28

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.2.1 ผลการวัดค่าการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ โดยวิธี DPPH ASSEY ที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 (ต่อ)

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ
เอทานอล 95%	5	12.89
	10	22.93
	15	24.44
	30	25.98
	60	27.07
	120	28.07
	180	27.50
	240	27.51

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.2.2 ผลการวัดค่าการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ โดยวิธี DPPH ASSEY **ที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ** 40 **องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ** 10:1

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ
เอทานอล 30%	5	16.07
	10	16.24
	15	16.35
	30	17.01
	60	17.47
	120	17.89
	180	17.97
	240	17.18
เอทานอล 50%	5	19.07
	10	19.59
	15	19.77
	30	20.81
	60	21.53
	120	22.20
	180	22.32
	240	22.32
เอทานอล 70%	5	16.89
	10	23.53
	15	24.26
	30	25.42
	60	27.67
	120	27.99
	180	28.00
	240	28.01

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.2.2 ผลการวัดค่าการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ โดยวิธี DPPH ASSEY ที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 (ต่อ)

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ
เอทานอล 95%	5	25.99
	10	23.02
	15	23.40
	30	24.95
	60	26.56
	120	27.69
	180	28.72
	240	28.69

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.2.3 ผลการวัดค่าการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ โดยวิธี DPPH ASSEY **ที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ** 50 **องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ** 10:1

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ
เอทานอล 30%	5	9.93
	10	10.87
	15	14.23
	30	16.58
	60	17.01
	120	17.40
	180	17.47
	240	17.74
เอทานอล 50%	5	13.90
	10	17.09
	15	19.16
	30	20.13
	60	20.81
	120	21.43
	180	21.54
	240	21.54
เอทานอล 70%	5	17.94
	10	25.96
	15	29.96
	30	32.67
	60	33.43
	120	34.76
	180	34.81
	240	34.81

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.2.3 ผลการวัดค่าการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ โดยวิธี DPPH ASSEY **ที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ** 50 **องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ** 10:1 **(ต่อ)**

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ
เอทานอล 95%	5	16.98
	10	22.54
	15	24.00
	30	25.50
	60	26.56
	120	27.53
	180	27.50
	240	27.50

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.2.4 ผลการวัดค่าการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ โดยวิธี DPPH ASSEY **ที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ** 60 **องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ** 10:1

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ
เอทานอล 30%	5	15.69
	10	15.85
	15	15.96
	30	16.58
	60	17.01
	120	17.40
	180	17.47
	240	17.47
เอทานอล 50%	5	18.50
	10	18.99
	15	19.16
	30	20.13
	60	20.81
	120	21.43
	180	21.54
	240	21.55
เอทานอล 70%	5	11.88
	10	15.99
	15	19.99
	30	22.35
	60	23.99
	120	24.99
	180	24.99
	240	24.99

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.2.4 ผลการวัดค่าการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบไข่น้ำ โดยวิธี DPPH ASSEY **ที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ** 60 **องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ** 10:1 **(ต่อ)**

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ
เอทานอล 95%	5	22.19
	10	22.54
	15	24.00
	30	25.50
	60	26.56
	120	27.53
	180	27.50
	240	27.50

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.2.5 ผลการวัดค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากไข่น้ำโดยวิธี DPPH ASSEY **ที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ** 50 **องศาเซลเซียส ความเข้มข้นสารละลายเอทานอล ร้อยละ**70 **และแปรผันอัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ**

อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ (มิลลิลิตร / กรัม)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ
5:1	5	14.84
	10	22.00
	15	26.21
	30	27.82
	60	28.87
	120	29.74
	180	29.84
	240	29.84
10:1	5	17.94
	10	25.96
	15	29.96
	30	32.67
	60	33.43
	120	34.76
	180	34.81
	240	34.81
15:1	5	17.45
	10	25.86
	15	30.81
	30	32.71
	60	33.94
	120	34.96
	180	35.08
	240	35.08

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.2.5 ผลการวัดค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากไข่น้ำโดยวิธี DPPH ASSEY **ที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ** 50 **องศาเซลเซียส ความเข้มข้นสารละลายเอทานอล ร้อยละ**70 **และแปรผันอัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ (ต่อ)**

อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ (มิลลิลิตร / กรัม)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ
20:1	5	17.97
	10	26.00
	15	30.90
	30	32.88
	60	33.99
	120	34.98
	180	35.11
	240	35.11

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ข.3 ตารางบันทึกค่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำ ณ สภาวะการสกัดต่างๆ

ข.3.1 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อกรัมไข่น้ำ)
เอทานอล 30%	5	149.04
	10	171.97
	15	194.90
	30	229.29
	60	230.19
	120	233.95
	180	235.11
	240	235.11
เอทานอล 50%	5	149.81
	10	175.57
	15	203.65
	30	230.19
	60	234.83
	120	235.34
	180	238.95
	240	238.95
เอทานอล 70%	5	158.79
	10	173.26
	15	193.54
	30	204.89
	60	229.19
	120	238.89
	180	239.98
	240	239.98

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.3.1 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 (ต่อ)

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อกรัมไข่น้ำ)
เอทานอล 95%	5	138.47
	10	161.40
	15	181.76
	30	215.76
	60	218.08
	120	230.45
	180	232.25
	240	232.36

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.3.2 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อกรัมไข่น้ำ)
เอทานอล 30%	5	150.84
	10	178.66
	15	218.85
	30	235.86
	60	237.40
	120	239.72
	180	240.50
	240	240.49
เอทานอล 50%	5	152.64
	10	180.73
	15	221.43
	30	241.53
	60	243.33
	120	245.65
	180	245.91
	240	245.93
เอทานอล 70%	5	156.71
	10	186.45
	15	210.90
	30	219.08
	60	237.98
	120	246.90
	180	247.01
	240	247.02

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.3.2 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 (ต่อ)

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อกรัมไข่น้ำ)
เอทานอล 95%	5	151.87
	10	182.27
	15	218.60
	30	238.95
	60	241.78
	120	243.33
	180	245.13
	240	245.15

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.3.3 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อกรัมไข่น้ำ)
เอทานอล 30%	5	139.87
	10	157.90
	15	167.90
	30	187.09
	60	192.78
	120	199.98
	180	201.89
	240	201.89
เอทานอล 50%	5	164.89
	10	190.89
	15	198.45
	30	222.45
	60	234.89
	120	250.92
	180	253.03
	240	253.03
เอทานอล 70%	5	191.97
	10	208.82
	15	220.00
	30	237.89
	60	246.18
	120	257.76
	180	258.82
	240	258.82

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.3.3 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 (ต่อ)

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อกรัมไข่น้ำ)
เอทานอล 95%	5	153.87
	10	167.89
	15	187.54
	30	198.54
	60	222.09
	120	235.89
	180	236.98
	240	236.99

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.3.4 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อกรัมไข่น้ำ)
เอทานอล 30%	5	130.95
	10	135.56
	15	150.32
	30	152.90
	60	176.09
	120	198.87
	180	199.02
	240	199.02
เอทานอล 50%	5	131.90
	10	136.01
	15	152.01
	30	178.09
	60	199.98
	120	200.01
	180	201.34
	240	201.78
เอทานอล 70%	5	147.24
	10	167.76
	15	175.90
	30	189.90
	60	201.32
	120	211.93
	180	214.89
	240	214.89

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.3.4 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ 10:1 (ต่อ)

ความเข้มข้นเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อกรัมไข่น้ำ)
เอทานอล 95%	5	130.75
	10	152.95
	15	166.56
	30	177.63
	60	184.33
	120	198.76
	180	204.43
	240	204.45

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.3.5 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นสารละลายเอทานอล ร้อยละ70 และแปรผันอัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ

อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ (มิลลิลิตร / กรัม)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อกรัมไข่น้ำ)
5:1	5	189.12
	10	212.96
	15	218.32
	30	225.09
	60	244.12
	120	253.98
	180	255.73
	240	255.72
10:1	5	191.97
	10	215.98
	15	220.00
	30	237.89
	60	246.18
	120	257.76
	180	258.82
	240	258.83
15:1	5	191.15
	10	215.70
	15	221.13
	30	228.98
	60	246.54
	120	257.76
	180	259.09
	240	259.07

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข.3.5 ผลการวัดค่าผลได้การสกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากไข่น้ำที่สภาวะการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นสารละลายเอทานอล ร้อยละ70 และแปรผันอัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ (ต่อ)

อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อไข่น้ำ (มิลลิลิตร / กรัม)	เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ค่าผลได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมสมมูลเคซินต่อกรัมไข่น้ำ)
20:1	5	192.01
	10	216.35
	15	221.76
	30	227.96
	60	247.01
	120	258.09
	180	259.87
	240	259.87

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวจุฬาวรรณ์ ดอกไม้งาม เกิดเมื่อวันที่ 5 พฤศจิกายน พ.ศ. 2530 ที่จังหวัดขอนแก่น สำเร็จการศึกษาในระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนกาญจนาภิเษกวิทยาลัย นครปฐม (พระตำหนักสวนกุหลาบมัธยม) เมื่อปี พ.ศ. 2549 หลังจากนั้นได้รับปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัญฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี เมื่อปี พ.ศ.2553 และได้ศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัญฑิต ภาควิชาวิศวกรรมกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ. 2558

บทความที่ได้รับการตีพิมพ์

Chulawan Dorkmaingam, Pimporn Polpech and Chutimon Satirapipathkul. "Effect of extraction factors and mass transfer on total phenol content and antioxidant activity of Wolffia Globosa L.". The 8 th International Conference on Innovations in Engineering, Technology, Computers and Applied Sciences (IETCAS-2017). วันที่ 25-26 ธันวาคม 2560 ณ โรงแรมเมอร์เคียว ปทุมวัน กรุงเทพ ประเทศไทย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University