

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	๗
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	๘
กิตติกรรมประกาศ	๙
สารบัญ	๗
รายการตาราง	๙
รายการรูปประกอบ	๑๐
ประมวลศัพท์และคำย่อ	๑๑

บทที่

1. บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 สมมติฐานของงานวิจัย	2
1.4 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
2. ทฤษฎีและหลักการ	5
2.1 ลิปิด	5
2.1.1 การจำแนกชนิดของลิปิด	5
2.2 เลซิติน	6
2.2.1 แหล่งของเลซิติน	6
2.2.1.1 เลซิตินจากถั่วเหลือง	6
2.2.1.2 เลซิตินจากข้าวโพด	7
2.2.1.3 เลซิตินจากทานตะวันและเมล็ดฝ้าย	9
2.2.2 เลซิตินทางการค้า	9
2.2.3 การผลิตเลซิตินดิบ	11
2.3 ชนิดของฟอสโฟลิปิดในเลซิติน	12
2.4 ประโยชน์ของฟอสฟาติดิลโคลีน	16
2.4.1 การพัฒนาสมองและการจดจำ	16

2.4.2	การลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด	17
2.4.3	การลดระดับไขมันที่สะสมใต้ผิวหนัง	18
2.4.4	การขนส่งสารออกฤทธิ์	19
2.4.5	การเสริมประสิทธิภาพแอนติออกซิแดนท์	19
2.5	การแยกฟอสโฟลิปิดด้วยตัวทำละลาย	19
2.5.1	การกำจัดน้ำมันด้วยอะซิโตน	20
2.5.2	การแยกส่วนด้วยแอลกอฮอล์	21
2.5.3	การสกัดด้วยตัวทำละลายอื่น	21
2.6	วิธีการวิเคราะห์ฟอสโฟลิปิด	22
2.6.1	โครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	22
2.6.1.1	หลักการของโครมาโตกราฟีประเภทการดูดซับ	23
2.6.1.2	เครื่องตรวจวัดที่ใช้ในการวิเคราะห์	23
2.6.1.3	การวิเคราะห์ผลจาก HPLC	24
2.7	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	25
3.	อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	28
3.1	วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี	28
3.1.1	วัสดุอุปกรณ์	28
3.1.2	สารเคมี	28
3.1.3	วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง	29
3.2	วิธีการทดลอง	30
3.2.1	การวิเคราะห์องค์ประกอบของเลซิดินดิบ	31
3.2.2	การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแยก PC จากเลซิดินดิบ	31
3.2.2.1	การศึกษาอัตราส่วนของเอทานอลและอะซิโตนที่เหมาะสมในการตกตะกอนเพื่อแยกส่วนฟอสโฟลิปิดแต่ละชนิด	31
3.2.2.2	การศึกษาความเข้มข้นของเอทานอลที่เหมาะสม	31
3.2.2.3	การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัด	32
3.2.3	การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำให้ PC ที่ละลายอยู่ในชั้นเอทานอลบริสุทธิ์ยิ่งขึ้น	32
3.2.3.1	ศึกษาอัตราส่วนของน้ำต่อสารสกัดเอทานอล	32

3.2.3.2	ศึกษาผลของการปรับ pH ของสารสกัดเอทานอลด้วยซีเซียมคาร์บอเนต	33
3.2.3.3	ศึกษาผลของการทำให้ PC จากสารสกัดเอทานอลบริสุทธิ์ขึ้นด้วยแคลเซียมคลอไรด์หรือแคลเซียมไฮดรอกไซด์หรือแคลเซียมไฮดรอกไซด์	33
3.2.4	การผลิต PC บริสุทธิ์ จากเลซีตินดิบ 10 กรัม	34
3.2.4.1	การศึกษาวิธีการเพิ่มร้อยละผลผลิตของ PC ในสารสกัดเอทานอลด้วยการเพิ่มจำนวนครั้งในการสกัดด้วยเอทานอล	34
3.2.4.2	การนำสารสกัดเอทานอลมาผลิต PC บริสุทธิ์	34
4.	ผลการทดลองและวิจารณ์ผล	35
4.1	การวิเคราะห์องค์ประกอบของเลซีตินดิบ	35
4.2	การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแยก PC จากเลซีตินดิบ	37
4.2.1	การศึกษาอัตราส่วนของเอทานอลและอะซิโตนที่เหมาะสมในการตกตะกอนเพื่อแยกส่วนฟอสโฟลิปิดแต่ละชนิด	37
4.2.2	การศึกษาความเข้มข้นของเอทานอลที่เหมาะสม	43
4.2.3	การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัด	45
4.3	การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำให้สารสกัดเอทานอลบริสุทธิ์ยิ่งขึ้น	46
4.3.1	ศึกษาอัตราส่วนของน้ำต่อสารสกัดเอทานอลที่เหมาะสมในการทำให้ PC บริสุทธิ์	47
4.3.2	ศึกษาผลของการปรับ pH ต่อการเพิ่มความบริสุทธิ์ของสารสกัดเอทานอลด้วยซีเซียมคาร์บอเนต	52
4.3.3	ศึกษาผลของการเพิ่มความบริสุทธิ์ของ PC โดยการเติมด้วยแคลเซียมคลอไรด์หรือแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในสารสกัดเอทานอล	55
4.4	การผลิต PC บริสุทธิ์ จากเลซีตินดิบ 10 กรัม	59
4.4.1	ผลการเพิ่มร้อยละผลผลิตของ PC ในสารสกัดเอทานอลด้วยการเพิ่มจำนวนครั้งในการสกัดด้วยเอทานอล	59
4.4.2	ผลการนำสารสกัดเอทานอลมาผลิต PC บริสุทธิ์ ด้วยวิธีการใช้น้ำและวิธีการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์	61
5.	สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	65
5.1	สรุปผลการทดลอง	65

5.2	ข้อเสนอแนะ	66
	เอกสารอ้างอิง	67
	ภาคผนวก	73
	ก. กราฟสารมาตรฐาน วิธีการคำนวณร้อยละประกอบของฟอสโฟลิปิดและ น้ำมันและวิธีการคำนวณร้อยละผลผลิตของ PC	73
	ข. การศึกษาเวลาที่ใช้ในการเซนตริฟิวส์เพื่อแยกชั้นสารสกัด	80
	ค. ผลของการสกัดเลซิทินดิบด้วยเอทานอลต่ออะซิโตนที่อัตราส่วนต่างๆ และผล ของอุณหภูมิต่อการสกัด	82
	ประวัติผู้วิจัย	89

รายการตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 องค์ประกอบ (%) ของเลซิดินจากถั่วเหลืองและไข่แดง	7
2.2 องค์ประกอบกรดไขมัน (%) ใน PC จากถั่วเหลืองและไข่แดง	7
2.3 องค์ประกอบ (%) ของลิพิดชนิดมีขั้วที่พบในข้าวโพดเปรียบเทียบกับถั่วเหลือง	8
2.4 องค์ประกอบกรดไขมัน (%) ในเลซิดินจากข้าวโพดและถั่วเหลือง	8
2.5 องค์ประกอบของเลซิดินทางการค้า (%) ที่ได้จากวัตถุดิบแหล่งต่างๆ (ปราศจากน้ำมัน)	9
2.6 ข้อกำหนดการทดสอบเกรดของเลซิดินทางการค้า	10
2.7 สภาพที่ใช้ในกระบวนการกำจัดยางเหนียวด้วยน้ำในกระบวนการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์	12
2.8 อัตราเร็วสัมพัทธ์ในการจับกับน้ำของฟอสโฟลิปิดแต่ละชนิด	14
2.9 ปริมาณโคลินที่เพียงพอต่อวัน (Dietary reference intake; DRI) ในปี 1998 โดย National Academy of Sciences Food and Nutrition Board	16
2.10 กรดไขมัน (%) โมล) บนโมเลกุล PC จากไข่ไก่และถั่วเหลือง	18
2.11 ข้อดีและข้อเสียของแต่ละเทคนิคที่ใช้ในการทำ PC บริสุทธิ์	20
4.1 องค์ประกอบ (%) ของเลซิดินดิบจากถั่วเหลืองที่ใช้ในการทดลอง	36
4.2 องค์ประกอบ (%) ของฟอสโฟลิปิดและน้ำมัน และผลผลิตของ PC (%) ในชั้นสารละลายเอทานอล (ชั้นบน) เมื่อใช้เอทานอลต่อเลซิดินดิบที่อัตราส่วนต่างๆ ในการสกัด	41
4.3 องค์ประกอบ (%) ของฟอสโฟลิปิดและน้ำมัน และผลผลิตของ PC (%) ในชั้นที่ไม่ละลายในเอทานอล (ชั้นล่าง) เมื่อใช้เอทานอลต่อเลซิดินดิบที่อัตราส่วนต่างๆ ในการสกัด	42
4.4 องค์ประกอบ (%) ของฟอสโฟลิปิดและน้ำมัน และผลผลิตของ PC (%) ในชั้นสารละลายเอทานอล (ชั้นบน) เมื่อใช้เอทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการสกัดเลซิดินดิบ	43
4.5 องค์ประกอบ (%) ของฟอสโฟลิปิดและน้ำมัน และผลผลิตของ PC (%) ในชั้นที่ไม่ละลายในเอทานอล (ชั้นล่าง) เมื่อใช้เอทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการสกัดเลซิดินดิบ	44

4.6	องค์ประกอบ (%) ของฟอสโฟลิปิดและน้ำมัน และผลผลิตของ PC (%) ในชั้นสารละลายเอทานอล (ชั้นบน) เมื่อ ทำให้สารสกัดเอทานอลบริสุทธิ์ขึ้นด้วยวิธีการเติมน้ำที่ปริมาณต่างๆ ต่อสารสกัดเอทานอล 1 มิลลิลิตร	47
4.7	องค์ประกอบ (%) ของฟอสโฟลิปิดและน้ำมัน และผลผลิตของ PC (%) ในชั้นน้ำมัน (ชั้นล่าง) เมื่อทำให้สารสกัดเอทานอลบริสุทธิ์ขึ้นด้วยวิธีการเติมน้ำที่ปริมาณต่างๆ ต่อสารสกัดเอทานอล 1 มิลลิลิตร	48
4.8	องค์ประกอบ (%) ของฟอสโฟลิปิดและน้ำมัน และผลผลิตของ PC (%) เมื่อ ทำให้สาร PC ที่อยู่ในชั้นสารละลายเอทานอลบริสุทธิ์ขึ้น ด้วยวิธีการแยกด้วยน้ำที่อัตราส่วน 0.2: 1 โดยสกัดจำนวน 1 ครั้ง และ 2 ครั้ง	51
4.9	องค์ประกอบ (%) ของฟอสโฟลิปิดและน้ำมัน เมื่อทำให้สารสกัด PC บริสุทธิ์ขึ้นด้วยการใช้ซีเซียมคาร์บอเนตในการปรับ pH เป็น 11	54
4.10	องค์ประกอบ (%) ของฟอสโฟลิปิดและน้ำมัน และผลผลิตของ PC (%) ในชั้นสารละลายเอทานอล (ชั้นบน) เมื่อทำให้สารสกัด PC บริสุทธิ์ขึ้น ด้วยวิธีการใช้แคลเซียมคลอไรด์	55
4.11	องค์ประกอบ (%) ของฟอสโฟลิปิดและน้ำมัน และผลผลิตของ PC (%) ในชั้นน้ำมัน (ชั้นล่าง) เมื่อทำให้สารสกัด PC บริสุทธิ์ขึ้น ด้วยวิธีการใช้แคลเซียมคลอไรด์	56
4.12	องค์ประกอบ (%) ของฟอสโฟลิปิดและน้ำมัน และผลผลิตของ PC (%) ในชั้นสารละลายเอทานอล (ชั้นบน) เมื่อทำให้สารสกัด PC บริสุทธิ์ขึ้น ด้วยวิธีการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์เพื่อแยก PE ออกจาก PC	57
4.13	องค์ประกอบ (%) ของฟอสโฟลิปิดและน้ำมัน และผลผลิตของ PC (%) ในชั้นน้ำมัน (ชั้นล่าง) เมื่อทำให้สารสกัด PC บริสุทธิ์ขึ้น ด้วยวิธีการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์	58
4.14	องค์ประกอบ (%) ของฟอสโฟลิปิดและน้ำมัน และผลผลิตของ PC (%) ในชั้นสารละลายเอทานอล (ชั้นบน) เมื่อสกัดเลซิธินดิบ 10 กรัม ด้วยเอทานอลเพียงครั้งเดียวเทียบกับการสกัดชั้นตะกอนซ้ำอีกครั้ง	60
4.15	องค์ประกอบ (%) ของฟอสโฟลิปิดและน้ำมัน และผลผลิตของ PC (%) ในชั้นที่ไม่ละลายในเอทานอล (ชั้นล่าง) เมื่อสกัดเลซิธินดิบ 10 กรัม ด้วยเอทานอลเพียงครั้งเดียวเทียบกับการสกัดชั้นตะกอนซ้ำอีกครั้ง	60

ตาราง	หน้า
4.16 องค์ประกอบ (%) ของฟอสโฟลิปิดและน้ำมัน และผลผลิตของ PC (%) เมื่อสกัด เลชิตินดิบ 10 กรัม ด้วยเอทานอลแล้วทำให้ PC บริสุทธิ์ด้วยวิธีใช้น้ำหรือ แคลเซียมไฮดรอกไซด์	62
4.17 องค์ประกอบ (%) ของฟอสโฟลิปิดและน้ำมัน และผลผลิตของ PC (%) เมื่อสกัด เลชิตินดิบ 10 กรัม ด้วยเอทานอล (วิธีสกัดชั้นตะกอนซ้ำ) แล้วทำให้ PC บริสุทธิ์ด้วยวิธีใช้น้ำหรือแคลเซียมไฮดรอกไซด์	63
ก.1 ค่าเวลาคงค้างของฟอสโฟลิปิด PC เตรียมที่เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	76
ก.2 พื้นที่ใต้พีคของการวิเคราะห์สารมาตรฐานฟอสโฟลิปิดที่ความเข้มข้นต่างๆ	77
ก.3 ค่า RF ของสารมาตรฐานฟอสโฟลิปิดและน้ำมันที่ความเข้มข้นต่างๆ	78
ก.4 ร้อยละองค์ประกอบของเลชิตินดิบเมื่อคำนวณจากค่า RF	78
ข.1 องค์ประกอบ (%) ในชั้นสารละลายเอทานอล เมื่อใช้ความเร็วในการเซนตริฟิวจ์ที่ $2500 \times g$ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที	81
ค.1 องค์ประกอบ (%) ของน้ำมันและฟอสโฟลิปิดในชั้นที่ไม่ละลายในเอทานอลเมื่อใช้ เอทานอลสกัดเลชิตินดิบ 1 มิลลิลิตร และเติมอะซิโตนปริมาตร 0.1 ถึง 1.0 มิลลิลิตร	83
ค.2 องค์ประกอบ (%) ของน้ำมันและฟอสโฟลิปิดในชั้นที่ไม่ละลายในเอทานอลเมื่อใช้ เอทานอลสกัดเลชิตินดิบ 2 มิลลิลิตร และเติมอะซิโตนปริมาตร 0.1 ถึง 1.0 มิลลิลิตร	84
ค.3 องค์ประกอบ (%) ของน้ำมันและฟอสโฟลิปิดในชั้นสารละลายเอทานอลเมื่อใช้ เอทานอลสกัดเลชิตินดิบ 1 มิลลิลิตร และเติมอะซิโตนปริมาตร 0.1 ถึง 1.0 มิลลิลิตร	85
ค.4 องค์ประกอบ (%) ของน้ำมันและฟอสโฟลิปิดในชั้นสารละลายเอทานอลเมื่อใช้ เอทานอลสกัดเลชิตินดิบ 2 มิลลิลิตร และเติมอะซิโตนปริมาตร 0.1 ถึง 1.0 มิลลิลิตร	86
ค.5 องค์ประกอบ (%) ของน้ำมันและฟอสโฟลิปิดในชั้นสารละลายเอทานอลเมื่อใช้ เอทานอลสกัดเลชิตินดิบ 3 มิลลิลิตร และเติมอะซิโตนปริมาตร 0.1 ถึง 1.0 มิลลิลิตร	87
ค.6 องค์ประกอบ (%) ของน้ำมันและฟอสโฟลิปิดและผลผลิตของ PC ที่ได้ในชั้น สารละลายเอทานอลเมื่อสกัดเลชิตินดิบที่อุณหภูมิต่างๆ	88

รายการรูปประกอบ

รูป	หน้า
2.1 กระบวนการกำจัดกัมในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันถั่วเหลือง	11
2.2 โครงสร้างของฟอสโฟลิปิด	13
2.3 การไฮโดรไลซิส PC ด้วยเอนไซม์ฟอสโฟไลเปส A ₂	14
2.4 กระบวนการกำจัดกัมที่ไม่ละลายน้ำด้วยกรด	15
3.1 ขั้นตอนการทดลอง	30
4.1 เลชิตินดิบจากถั่วเหลือง	35
4.2 โครมาโตแกรมองค์ประกอบของเลชิตินดิบจากถั่วเหลือง วิเคราะห์ด้วย NP-HPLC	36
4.3 ปริมาณของฟอสโฟลิปิดและน้ำมันในชั้นที่ไม่ละลายในเอทานอล เมื่อใช้เอทานอลในการสกัดเลชิตินดิบ 1 (ก) และ 2 (ข) มิลลิลิตร และเติมอะซิโตนปริมาตรต่างๆ	38
4.4 ปริมาณของฟอสโฟลิปิดและน้ำมันในชั้นที่ละลายในเอทานอล เมื่อใช้เอทานอลในการสกัดเลชิตินดิบ 1 (ก) 2 (ข) และ 3 (ค) มิลลิลิตร และเติมอะซิโตนปริมาตรต่างๆ	40
4.5 กราฟผลของอุณหภูมิที่ใช้สกัดที่ใช้สกัดต่อร้อยละประกอบของฟอสโฟลิปิด น้ำมันและร้อยละผลผลิตของ PC ในชั้นสารละลายเอทานอล	45
4.6 โครมาโตแกรมองค์ประกอบของสารสกัดเอทานอล (ชั้นบน) ที่ได้จากการสกัดเลชิตินดิบด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ 1 ครั้ง ในอัตราส่วนเลชิตินดิบต่อเอทานอล 1: 1 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 40 °C	46
4.7 โครมาโตแกรมแสดงองค์ประกอบในชั้นสารละลายเอทานอลที่ได้จากการแยกด้วยน้ำที่อัตราส่วนน้ำต่อสารสกัดเอทานอลเท่ากับ 0.2: 1 ที่อุณหภูมิ 40 °C จำนวน 1 ครั้ง	49
4.8 โครมาโตแกรมแสดงองค์ประกอบในชั้นน้ำมันที่ได้จากการแยกด้วยน้ำที่อัตราส่วนน้ำต่อสารสกัดเอทานอลเท่ากับ 0.2: 1 ที่อุณหภูมิ 40 °C จำนวน 1 ครั้ง	50
4.9 โครมาโตแกรมแสดงองค์ประกอบในชั้นสารละลายเอทานอลที่ได้จากการแยกด้วยน้ำที่อัตราส่วนน้ำต่อสารสกัดเอทานอลเท่ากับ 0.2:1 ที่อุณหภูมิ 40 °C จำนวน 2 ครั้ง	52
4.10 โครมาโตแกรมองค์ประกอบของชั้นสารละลายเอทานอลจากการทำให้สารสกัด PC บริสุทธิ์ ด้วยวิธีการปรับ pH เป็น 11 ด้วยโซเดียมคาร์บอเนต	53
4.11 โครมาโตแกรมองค์ประกอบของการทำให้สารสกัด PC บริสุทธิ์ (ชั้นสารละลายชั้นล่าง) ด้วยวิธีการปรับ pH เป็น 11 ด้วยโซเดียมคาร์บอเนต	54

รูป	หน้า
4.12 โครมาโตแกรมองค์ประกอบของการทำให้สารสกัด PC บริสุทธิ์ (ชั้นสารละลาย เอทานอล) ด้วยวิธีการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 1.0% โดยน้ำหนักต่อ ปริมาตร	59
4.13 ผลิตภัณฑ์ PC ที่ได้จากการทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการใช้น้ำอัตราส่วนน้ำต่อสารสกัด เอทานอลเท่ากับ 0.2: 1 จำนวน 2 ครั้ง (สกัดเอทานอลจากเลชิตินดิบ 10 กรัม จำนวน 2 ครั้ง)	64
4.14 ผลิตภัณฑ์ PC ที่ได้จากการทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการใช้ 1% ของแคลเซียม ไฮดรอกไซด์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) (สกัดเอทานอลจากเลชิตินดิบ 10 กรัม จำนวน 2 ครั้ง)	64
ก.1 กราฟมาตรฐานฟอสโฟลิปิด (PI, PE, PC และ LPC) และน้ำมัน (Oil)	74
ก.2 โครมาโตแกรมสารมาตรฐาน PI ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	75
ก.3 โครมาโตแกรมสารมาตรฐาน PE ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	75
ก.4 โครมาโตแกรมสารมาตรฐาน PC ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	77

ประมวลศัพท์และคำย่อ

AI	=	acetone-insoluble
AV	=	acid value
Ca(OH) ₂	=	แคลเซียมไฮดรอกไซด์
CaCl ₂	=	แคลเซียมคลอไรด์
Cs ₂ CO ₃	=	ซีเซียมคาร์บอเนต
CSL	=	crude soybean lecithin
HDL	=	high-density lipoproteins
HI	=	hexane-insoluble
ID	=	inside diameter
L	=	length
LPC	=	lysophosphatidylcholine
mg	=	มิลลิกรัม
ml	=	มิลลิลิตร
NP-HPLC	=	normal phase-high performance liquid chromatography
PC	=	phosphatidylcholine
PDA	=	photo diode array detector
PE	=	phosphatidylethanolamine
PI	=	phosphatidylinositol
RF	=	Response factor
RP	=	Reverse phase
Si	=	silica
TLC	=	thin-layer chromatography
°C	=	องศาเซลเซียส
³¹ P NMR	=	phosphorus-31 Nuclear magnetic resonance spectroscopy