

การสัปดาห์โนทอด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต



นางสาว อุษณีย์ ดวงหทัยกุล

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2549

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PLAUNOTOL EXTRACTION USING SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE



Miss Utsanee Duangharithaikul

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology

Faculty of Science

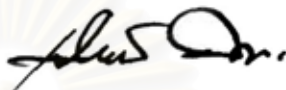
Chulalongkorn University

Academic Year 2006

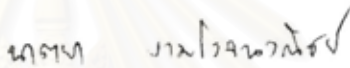
Copyright of Chulalongkorn University

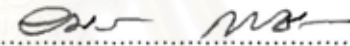
หัวข้อวิทยานิพนธ์	การสกัดเปปไทด์จากคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต
โดย	นางสาว อุษณีย์ ดวงนฤทัยกุล
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ วาสนา โตเลี้ยง

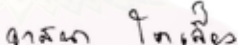
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

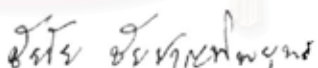

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมณะเสวต)

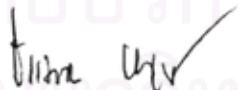
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


.....ประธานคณะกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. นาทยา งามโรจนวิชัย)


.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม)


.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(อาจารย์ วาสนา โตเลี้ยง)


.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ชัยโย ชัยชาญพิยุทธ)


.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธรรมบุญ หนูจักร)

อุษณีย์ ดวงนุทยกุล : การสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต :

(PLAUNOTOL EXTRACTION USING SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE) อ.ที่ปรึกษา :

รศ.ดร. อมร เพชรสม, อ.ที่ปรึกษาร่วม : อ.วาสนา โตเลี้ยง, 99 หน้า.

ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดเปลาโนทอลจากใบเปล้าน้อยด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ ภาวะเหนือวิกฤตการสกัด คือ ความดัน (255, 265, 275 บาร์), อุณหภูมิ (40, 50, 60 องศาเซลเซียส) และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ (3, 5 กรัม/นาทีก), สารสกัดร่วมและขนาดของวัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง และหาภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดเปลาโนทอล จากผลการทดลองที่ได้พบว่าการเพิ่มความดันและอุณหภูมิ ส่งผลต่อการเพิ่มของปริมาณเปลาโนทอลในใบอย่างมีนัยสำคัญ และอัตราการไหล ส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัดที่ได้อย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน ภาวะที่เหมาะสมในการสกัด คือที่ ความดัน 275 บาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 3 กรัม/นาทีก โดยไม่ต้องใช้สารสกัดร่วม ซึ่งให้ปริมาณเปลาโนทอล เท่ากับ 0.24 % (น้ำหนัก/น้ำหนัก) บนพื้นฐานน้ำหนักใบแห้ง และ 6.7 % (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในส่วนสกัดหยาบ ตามลำดับ ส่วนขนาดของวัตถุดิบที่ใช้ไม่มีผลต่อการสกัด และจากผลการเปรียบเทียบกับ การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์แบบเดิม พบว่าปริมาณเปลาโนทอลในใบและปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตให้ค่ามากกว่า อีกทั้งใช้เวลาที่น้อยกว่า ลดการใช้สารละลายอินทรีย์ที่เป็นพิษ และมีค่าใช้จ่ายที่น้อยกว่าด้วย หลังจากทำให้บริสุทธิ์ด้วย คอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว ได้ปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัดเพิ่มเป็น 53.0 % (น้ำหนัก/น้ำหนัก) และหลังผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีได้ปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัดเพิ่มเป็น 69.2 % (น้ำหนัก/น้ำหนัก)

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีชีวภาพ..... ลายมือชื่อนิสิต.....

ปีการศึกษา.....2549..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4772577423 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEYWORDS : PLAUNOTOL / SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE

UTSANE DUANGHARITHAIKUL: PLAUNOTOL EXTRACTION USING

SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. AMORN

PETSOM, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR : VASSANA TOLIENG, 99 pp.

Extraction of plaunotol from plau-noi leaves was carried out using supercritical carbon dioxide (SC-CO₂). The effect of process parameters on extraction efficiency were investigated, namely pressure (255, 265, 275 bar), temperature (40, 50, 60 °C), carbon dioxide flow rate (3, 5 g/min), co-solvent, and particle size of raw material. The optimum process condition of supercritical carbon dioxide for plaunotol was determined. The results indicated that % plaunotol was significantly increased with an increase in pressure, temperature and % plaunotol content was significantly increased with an increase in carbon dioxide flow rate. The optimum condition of extraction was 275 bar, 50 °C, 3 g/min without co-solvent, The plaunotol content were 0.24 % (w/w) on basic of dry leaves and 6.7 % (w/w) in crude extract, respectively. The particle size of raw material did not affect on extraction. These results were compared with those of classical solvent extraction. It was found that SC-CO₂ extraction of plaunotol and its content might carried out at higher yield, shorter time, using nontoxic, less solvent and less cost than those classical solvent extraction. Purification of plaunotol with quick column chromatography increased plaunotol content to 53 % (w/w) and purification of plaunotol with column chromatography further increased plaunotol content to 69.2 % (w/w).

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Field of study.....BIOTECHNOLOGY..... Student's signature.....
Academic year.....2006..... Advisor's signature.....
Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาระดับปริญญาโทบริหารธุรกิจและวิทยานิพนธ์สำเร็จด้วยความสมบูรณ์ ได้รับความรู้จาก รองศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม และอาจารย์วาสนา โตเลี้ยง ที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่คอยให้คำแนะนำ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในการทำวิจัยในครั้งนี้ ขอกราบขอบพระคุณไว้เป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ งามประเสริฐสิทธิ์ และภาควิชาเคมีเทคนิค ที่ให้ความอนุเคราะห์และความสะดวกในการใช้เครื่องคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้ในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณสมนึก สุชัยธนาวิช และขอขอบคุณ คุณ นครินทร์ มัททวิวงศ์ ศูนย์พัฒนาชาวไทยและสมุนไพรมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี หน่วยปฏิบัติการที่ 1 โรงงานต้นแบบ ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพ ที่ให้ความอนุเคราะห์และความสะดวกในการใช้เครื่องคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตระดับนำร่อง เพื่อใช้ในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ พี่ๆ นักวิจัย และบุคลากรทุกท่าน ของสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ และความสะดวกในด้านอุปกรณ์สารเคมี และเครื่องมือในการทำวิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ และ คุณแม่ ที่เป็นกำลังใจสำคัญและสนับสนุนในการศึกษาด้วยดีตลอดมา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูปภาพ.....	ฎ
คำย่อและสัญลักษณ์ที่ใช้.....	ณ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย.....	3
2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 เปปไทด์.....	4
2.2 เปปไทด์.....	9
2.3 ของไหลภาวะเหนือวิกฤต (supercritical fluid).....	13
2.4 ความสามารถในการใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลาย.....	21
2.5 คาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต.....	22
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	23
3 วิธีการทดลอง.....	26
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	26
3.2 โปเปปไทด์.....	28
3.3 การวิเคราะห์เปปไทด์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี.....	28
3.4 การสกัดเปปไทด์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์.....	29
3.5 การสกัดเปปไทด์ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต.....	30
3.6 การทำเปปไทด์ให้บริสุทธิ์.....	33
4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	36
4.1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างโปเปปไทด์.....	36
4.2 การสกัดเปปไทด์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์.....	36

4.3 การสกัดเปลาโนทอล ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตระดับห้องปฏิบัติการ (Lab Scale).....	36
4.3.1 ผลของขนาดใบเปลี่ยนยอดต่อการสกัดเปลาโนทอล ด้วย คาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต.....	36
4.3.2 การหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต (อุณหภูมิ ความดัน และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์).....	37
4.3.2.1 ผลของอุณหภูมิ.....	37
4.3.2.2 ผลของความดัน.....	41
4.3.2.3 ผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์.....	45
4.3.3 ผลของสารสกัดร่วมต่อการสกัดเปลาโนทอล ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต.....	51
4.3.4 ผลของเวลาในการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต.....	52
4.4 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัด ระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์ และคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต.....	52
4.5.การสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตระดับส่วนนำร่อง (Pilot Scale).....	53
4.7 การทำเปลาโนทอลให้บริสุทธิ์.....	54
4.7.1 การทำให้บริสุทธิ์ด้วย quick column chromatography.....	54
4.7.2 การทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography	54
5 สรุปผลการทดลอง.....	58
รายการอ้างอิง.....	61
ภาคผนวก.....	68
ภาคผนวก ก.....	69
ภาคผนวก ข.....	70
ภาคผนวก ค.....	71
ภาคผนวก ง.....	89
ภาคผนวก จ.....	92
ภาคผนวก ฉ.....	96
ภาคผนวก ช.....	98
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	99

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สารพฤกษศาสตร์ที่พบในต้นเปล้าน้อย (<i>Croton stellatopilosus</i> Ohba.).....	5
2.2 สมบัติทางกายภาพของไหลภาวะเหนียววิกฤต เปรียบเทียบกับก๊าซและของเหลว.....	15
3.1 ชื่อสารเคมีและบริษัทผู้ผลิต.....	26
3.2 ชื่อเครื่องมือ รุ่น และบริษัทผู้ผลิต.....	27
4.1 เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบและเปอร์เซ็นต์ของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้จากใบเปล้าน้อยขนาดต่าง ๆ.....	37
4.2 เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์ของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่ได้จากภาวะการทดลองต่าง ๆ.....	50
4.3 ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้เมื่อเพิ่มระยะเวลาจาก 220 นาที เป็น 310 นาที.....	52
4.4 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัด.....	53
4.5 เปรียบเทียบ % content และ % recovery ในแต่ละขั้นตอนของคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนียววิกฤต และการทำให้บริสุทธิ์.....	56
4.6 เปรียบเทียบ % content และ % recovery ในแต่ละขั้นตอนของการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์และการทำให้บริสุทธิ์.....	56
ค.1 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนียววิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 1	71
ค.2 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนียววิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 2.....	72
ค.3 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนียววิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 3.....	73
ค.4 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนียววิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 4.....	74
ค.5 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนียววิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 5.....	75
ค.6 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนียววิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 6.....	76
ค.7 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนียววิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 7.....	77
ค.8 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนียววิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 8.....	78

[illegible]

ตารางที่		หน้า
จ.4	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ที่ ความดัน 275 bar ,อุณหภูมิ 60 °C และอัตราการไหล 5 g/min ทั้งที่มีการใช้ co-solvent และไม่ใช่.....	95
ฉ.1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอุณหภูมิ ความดัน อัตราการไหลของ คาร์บอนไดออกไซด์ และปัจจัยร่วมของทั้งสามปัจจัย ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลใน ใบที่สกัดได้ด้วย multiple factor ANOVA	96
ฉ.2	การวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิที่ระดับต่าง ๆ ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบที่สกัดได้ ด้วย LSD.....	96
ฉ.3	การวิเคราะห์ผลของความดันที่ระดับต่าง ๆ ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบที่สกัดได้ ด้วย LSD.....	97
ช 1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอุณหภูมิ ความดัน อัตราการไหลของ คาร์บอนไดออกไซด์ และปัจจัยร่วมของทั้งสามปัจจัย ต่อปริมาณเปลาโนทอลในส่วน สกัด ที่สกัดได้ด้วย multiple factor ANOVA.....	98
ช 2	Estimation Marginal Means of flow rate.....	98

สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
2.1	โครงสร้างทางเคมีของ plaunol A.....	6
2.2	โครงสร้างทางเคมีของ plaunol B.....	6
2.3	โครงสร้างทางเคมีของ plaunol C.....	6
2.4	โครงสร้างทางเคมีของ plaunol D.....	6
2.5	โครงสร้างทางเคมีของ plaunol E.....	7
2.6	โครงสร้างทางเคมีของ Plaunolide.....	7
2.7	โครงสร้างทางเคมีของ Plaunotol.....	7
2.8	โครงสร้างทางเคมีของ <i>ent</i> -13 α -hydroxy-13-epimanool.....	7
2.9	โครงสร้างทางเคมีของ <i>ent</i> -16 β , 17-dihydroxykaurane.....	8
2.10	โครงสร้างทางเคมีของ Plaunotol stearate.....	8
2.11	โครงสร้างทางเคมีของ Plaunotol oleate	8
2.12	โครงสร้างทางเคมีของ Plaunotol caprylate - oleate	8
2.13	โครงสร้างทางเคมีของ Plaunotol caprylate - palmitate	8
2.14	โครงสร้างทางเคมีของ Plaunotol palmitate - oleate	8
2.15	โครงสร้างทางเคมีของ Plaunotol linolenate linoleate	9
2.16	สมมุติฐานการเกิดเปลาโนทอลจาก geranylgeraniol (GGOH).....	10
2.17	กระบวนการสังเคราะห์เปลาโนทอลด้วยชีววิธี.....	10
2.18	การเกิดเปลาโนทอลผ่าน deoxyxylulose phosphate pathway; DXP.....	11
2.19	ขั้นตอนการสกัดเปลาโนทอลของบริษัทชังเกียว.....	12
2.20	แผนผังวิวัฒนาการของคาร์บอนไดออกไซด์.....	14
2.21	แสดงแบบจำลองของการสกัดผลิตภัณฑ์ธรรมชาติโดยทั่วไป.....	15
2.22	การเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นรีติวส์ (ρ_r) ของสารบริสุทธิ์ในบริเวณที่ใกล้เคียงกับ จุดวิกฤต.....	16
2.23	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับค่าความสามารถในการแพร่ ที่ความดันต่าง ๆ.....	16
2.24	ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดของคาร์บอนไดออกไซด์กับความดันที่ อุณหภูมิต่าง ๆ.....	17
2.25	ผลของความดันที่มีต่อสภาพขั้วของ อีเทน (เส้น 4), โพรเพน(เส้น 3), ฟลูโอโรฟอร์ม(เส้น 2), และซิลเฟอร์เฮกซะฟลูออไรด์ (เส้น 1) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส	18
2.26	ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติพื้นฐานกับลักษณะของของไหลภาวะเหนือวิกฤตที่มี ต่อการสกัด.....	20

รูปที่	หัวข้อ	หน้า
3.1	แผนผังการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต.....	31
3.2	แผนผังการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต (pilot scale).....	33
3.3	อุปกรณ์การทำเปลาโนทอลให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography.....	34
4.1	โครมาโทแกรมที่ได้จากการสกัดใบเปล่าน้อยด้วยตัวทำละลายอินทรีย์.....	36
4.2	ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ ที่อัตราการไหลของ คาร์บอนไดออกไซด์ = 3 กรัม/นาที.....	38
4.3	ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ ที่อัตราการไหลของ คาร์บอนไดออกไซด์ = 5 กรัม/นาที.....	39
4.4	ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ ที่อัตรา การไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 3 กรัม/นาที.....	40
4.5	ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ ที่อัตรา การไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 กรัม/นาที.....	40
4.6	ผลของความดันต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ ที่อัตราการไหลของ คาร์บอนไดออกไซด์ = 3 กรัม/นาที.....	42
4.7	ผลของความดันต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ ที่อัตราการไหลของ คาร์บอนไดออกไซด์ = 5 กรัม/นาที.....	42
4.8	ผลของความดันต่อปริมาณของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ ที่อัตรา การไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 3 กรัม/นาที.....	43
4.9	ผลของความดันต่อปริมาณของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ ที่อัตรา การไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 กรัม/นาที.....	43
4.10	ผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัด ได้ที่ความดัน 255 บาร์.....	45
4.11	ผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัด ได้ที่ความดัน 265 บาร์.....	46
4.12	ผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัด ได้ที่ความดัน 275 บาร์.....	46
4.13	ผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณของเปลาโนทอลในส่วน สกัด ที่สกัดได้ที่ความดัน 255 บาร์.....	47
4.14	ผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณของเปลาโนทอลในส่วน สกัด ที่สกัดได้ที่ความดัน 265 บาร์.....	47

รูปที่	ท หน้า
4.15	ผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณของเปลาโนทอลในส่วน สกัด ที่สกัดได้ที่ความดัน 275 บาร์..... 48
4.16	ผลของสารสกัดร่วมต่อเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลที่สกัดได้ที่อัตราการไหล 5 กรัม/นาที ความดัน 275 บาร์และ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส..... 51
4.17	โครมาโทแกรมที่ได้จากการสกัดเปลาโนทอล ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือ วิกฤตในระดับนำร่อง (Pilot Scale)..... 54
4.18	โครมาโทแกรมที่ได้จากการทำให้บริสุทธิ์ด้วย quick column chromatography..... 55
4.19	โครมาโทแกรมที่ได้จากการทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี..... 55
ข.1	โครมาโทแกรมสารละลายมาตรฐานเปลาโนทอลความเข้มข้น 100 ppm และ สารละลายนอร์มอลออกตาโคเซน ความเข้มข้น 25 ppm ในเฮกเซน..... 70
ข.2	กราฟมาตรฐานเปลาโนทอลที่ความเข้มข้น 0 ถึง 500 ppm ที่มี n-octacosane 25 ppm เป็น internal standard..... 70
ค.1	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 1..... 71
ค.2	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 2..... 72
ค.3	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 3..... 73
ค.4	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 4..... 74
ค.5	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 5..... 75
ค.6	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 6..... 76
ค.7	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 7..... 77
ค.8	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 8..... 78
ค.9	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 9..... 79
ค.10	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 10..... 80
ค.11	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 11..... 81
ค.12	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 12..... 82
ค.13	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 13..... 83
ค.14	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 14..... 84
ค.15	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 15..... 85
ค.16	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 16..... 86
ค.17	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 17..... 87
ค.18	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 18..... 88
ง.1	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 19..... 89
ง.2	เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 20..... 90

รูปที่		ผ หน้า
ง.3	เปอร์เซ็นต์ปลาในทอลไนโบ จากภาวะการทดลองที่ 21.....	91
จ.1	เปอร์เซ็นต์ปลาในทอลไนโบ จากภาวะการทดลองที่ 22.....	92
จ.2	เปอร์เซ็นต์ปลาในทอลไนโบ จากภาวะการทดลองที่ 23.....	93
จ.3	เปอร์เซ็นต์ปลาในทอลไนโบ จากภาวะการทดลองที่ 24.....	94



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำย่อและสัญลักษณ์ที่ใช้

%	เปอร์เซ็นต์
ml	มิลลิลิตร
l	ลิตร
ppm	พีพีเอ็ม
K	เคลวิน
°C	องศาเซลเซียส
g	กรัม
w/w	น้ำหนัก/น้ำหนัก



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เปล้าน้อย (*Croton stellatopilosus* Ohba ชื่อเดิม *Croton sublyratus* Kurz) เป็นพืชสมุนไพรในวงศ์ Euphorbiaceae (1,2) จัดเป็นไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้น ผลัดใบ ขนาดเล็ก สูงประมาณ 2-3.5 เมตร (3) ในอดีตเปล้าน้อย เป็นที่รู้จักในฐานะยาสมุนไพรแผนโบราณ ในตำรายาแผนโบราณของไทย มีการจำแนกการใช้ประโยชน์ของใบเปล้าน้อยตามส่วนต่างๆ ของพืช ได้แก่ ส่วนของต้นและใบ ใช้ยับยั้งอาการโรคท้องร่วง ใช้บำรุงธาตุ และยังสามารถใช้เป็นยาสำหรับช่วยให้รอบเดือนเป็นปกติ ในขณะที่ส่วนของดอกใช้เป็นยาสำหรับถ่ายพยาธิ เปลือกและกระพี้ ช่วยย่อยอาหาร แก้เลือดร้อน แก้ไข้ ขับเลือดหนองให้ตก รากขับผายลม โดยเฉพาะรากมีรสร้อนและเมาเย็นเล็กน้อย แก้โรคน้ำเหลืองเสีย แก้โรคผิวหนังผื่นคัน แก้โรคเรื้อน มะเร็ง คุดทะราด กระเจาผด ทำให้น้ำเหลืองแห้ง ใช้เป็นยารักษาและป้องกันโรคผิวหนัง (4) ส่วนไม้จากลำต้นจะนำไปเป็นฟืน (5) ต่อมาในปี ค.ศ. 1978 นักวิทยาศาสตร์ของบริษัท ชิงเกียว ของประเทศญี่ปุ่น ได้ทำการสำรวจสมุนไพรในประเทศไทยร่วมกับกรมป่าไม้ และได้รายงานการค้นพบสารสำคัญที่สกัดได้จากใบเปล้าน้อย คือ เปลาโนทอล (plau-notol)(6) พบว่ามีฤทธิ์ในการรักษาแผลในกระเพาะอาหาร และทางบริษัทได้มีการพัฒนาเป็นตัวยาบำบัดโรคกระเพาะอาหาร ที่มีชื่อทางการค้าว่า เคลเนค (Kelnac) (4) และผ่านการจดทะเบียนรับรองโดยองค์การอนามัยโลก หรือ World Health Organization (WHO) ภายใต้รหัส CS-684 (8,9) เริ่มวางจำหน่ายครั้งแรกในปี 1986 ทั้งในรูปแบบของเหลวบรรจุแคปซูล (soft gelatin capsule) ขนาด 80 มิลลิกรัม และชนิดผงบรรจุซอง (micro granule) ขนาด 80 มิลลิกรัม (10,11) ขนาดที่เหมาะสมในการรักษาจากการวิจัยคือ 80 มิลลิกรัม วันละ 3 ครั้งติดต่อกัน 8 สัปดาห์ (12) อีกทั้งจากการศึกษาและวิจัยอย่างละเอียดโดย ทำให้ทราบว่าเป็นส่วนของใบเป็นส่วนที่มีตัวยาปริมาณมากที่สุด (7)

เปลาโนทอลมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเป็นยารักษาแผลในกระเพาะอาหารที่เกิดจากสาเหตุต่างๆ กันได้ หลายชนิดเช่น แผลในกระเพาะอาหาร (gastric ulcers) และ แผลในลำไส้ตอนบน (duodenal ulcers) และยังสามารถฆ่าเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่ก่อให้เกิดโรคแผลในทางเดินอาหารเป็นต้น (13,14,15) โดยตัวยาคะตุ้นฤทธิ์ทำให้ขนาดแผลลดลง กระตุ้นให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ ลดปริมาณของน้ำย่อย ลดการหลั่งกรด(10,16) ทำให้ระบบป้องกันการดูดซึมกรดของเนื้อเยื่อบุกระเพาะอาหารซึ่งอาจถูกทำลายด้วยสารบางอย่างกลับดีขึ้น(17,18) นอกจากนี้ยังมีส่วนช่วยในการสังเคราะห์สารประกอบของเยื่อเมือก(mucosa) และพรอสตาแกลนดิน (prostaglandins) ป้องกันการแตกสลายของชั้นเมือก (mucosa barrier) และมีฤทธิ์โดยตรงต่อตำแหน่งเยื่อเมือก (mucosa site)(10,16) อีกทั้งไม่มีผลข้างเคียงเหมือนยาสังเคราะห์ที่ใช้ในปัจจุบัน หรือมีความเป็นพิษ เนื่องจากตัวยาเปลาโนทอล

สามารถถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารได้ดี ถูกออกซิไดซ์ได้ในตับ และขับออกทางปัสสาวะและอุจจาระ (17,18) ซึ่งนับเป็นครั้งแรกที่สามารถสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรที่มีผลในการรักษาโรคอย่างปลอดภัยที่สุด(11)

เทคนิคการสกัดสารด้วยของไหลภาวะเหนือวิกฤต (supercritical fluid extraction) เป็นเทคนิคที่อาศัย solvent power ของของไหลภาวะเหนือวิกฤต คือ เป็นการเพิ่ม solvent power ของของไหลให้อยู่เหนือจุดวิกฤต (critical point) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายที่เป็นของเหลว พบว่าของไหลภาวะเหนือวิกฤตมีความหนาแน่นสูง ส่งผลให้มีความสามารถในการแพร่สูง (high diffusivity) และมีความหนืดต่ำ (low viscosity) (19) ทำให้สกัดสารได้เร็วและเกิดการแยกเฟสได้เร็ว การสกัดสามารถควบคุมได้โดยการปรับช่วงอุณหภูมิ และความดัน (21,22) สามารถหมุนเวียนนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ได้ และประหยัดพลังงาน (22) ส่วนเทคนิคการสกัดสารด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต (supercritical carbon dioxide extraction) เป็นการนำคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัด เนื่องจากมีคุณสมบัติที่ความเหมาะสม คือ การระเหยสัมพัทธ์ (relative volatility) สูงเมื่อเทียบกับสารอินทรีย์ที่สกัดได้ ทำให้สามารถแยกออกจากสารชนิดอื่นได้ง่าย ค่าความหนืดต่ำ สัมประสิทธิ์การกระจาย (diffusion coefficients) มีค่าสูง ราคาถูก ไม่มีพิษ ไม่ติดไฟ และยังมีจุดวิกฤตต่ำ ซึ่งเท่ากับ 31.41 °C (19,22)การสกัดสารด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตนี้ ได้รับความสนใจมาก ทั้งในอุตสาหกรรมอาหารและยา เช่น ใช้ในการสกัดฮอป, สกัดคาเฟอีน (caffeine) จากเมล็ดกาแฟ, สกัดน้ำมันถั่วเหลือง, สกัดสารนิโคตินจากใบยาสูบ (19,20,22,23,)

จากประโยชน์ของเปลาโนทอล และเทคนิคการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตข้างต้น การวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำเทคนิคการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตมาใช้ในการสกัดเปลาโนทอลจากใบเปล้าน้อย เพื่อลดขั้นตอนในการสกัด และลดการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เนื่องจากงานวิจัยการสกัดเปลาโนทอลที่ผ่านมาจะสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์หลายชนิด และมีวิธีการหลายขั้นตอน เช่น วิธีการสกัดของบริษัทชั่งเกี้ยว (24) และของนลิน และคณะ (25) อีกทั้งคาร์บอนไดออกไซด์ยังมีความสามารถในการละลายเปลาโนทอลได้ดี เพราะความมีขั้วต่ำเหมือนกัน โดยจะทำการหาภาวะที่เหมาะสม นั่นคือ อุณหภูมิ, ความดัน, อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์, ขนาดของใบเปล้าน้อยบด และผลของสารสกัดร่วม จากนั้นจะทำการวิเคราะห์สารเปลาโนทอลที่สกัดได้ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography, GC) เนื่องจากจากผลงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีรายงานการหาปริมาณเปลาโนทอลในใบเปล้าน้อย โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์และวิเคราะห์ปริมาณเปลาโนทอลโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีผิวบาง (Thin Layer Chromatography, TLC)(26) แต่เทคนิค TLC มีข้อเสียคือประสิทธิภาพของการแยกสารและขีดจำกัดของการตรวจวัดไม่ดี จึงมีการพัฒนาเทคนิคการตรวจวัดใหม่โดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟี ชนิด packed column แทน (25)

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

หาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเปลาโนทอล ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

- 1 ศึกษาปริมาณวิเคราะห์ของเปลาโนทอลด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี
- 2 ศึกษาและวิเคราะห์หาเปลาโนทอลที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ตามวิธีของนลิน และคณะ
- 3 ศึกษาและหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเปลาโนทอล ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต ระดับห้องปฏิบัติการ และระดับส่วนนำร่อง
- 4 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัด ระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์ และคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต
- 5 ทำสารที่สกัดได้ให้บริสุทธิ์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

ได้วิธีการและภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เปล้าน้อย

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (2, 3)

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Croton stellatopilosus* Ohba

วงศ์ Euphorbiaceae

ลำต้น : ไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้น ผลัดใบขนาดเล็ก มีความสูงประมาณ 2-3.5 เมตร ตามยอดอ่อนปกคลุมด้วยเกล็ดสีสนิม

ใบ : ใบเดี่ยวเรียงสลับกัน ลักษณะเป็นรูปไข่ห้วกลับแกมรูปหอก มีขนาดความกว้าง 4-6 เซนติเมตร ยาว 10-15 เซนติเมตร โคนใบสอบแคบเป็นรูปหัวใจ มีต่อม 2 ต่อม ขอบใบหยักเล็กๆ ไม่สม่ำเสมอ ปลายใบแหลมหรือหู่ เนื้อใบบาง ใบแก่เกลี้ยงหรือมีขนรูปดาวตามเส้นใบด้านล่าง ก้านใบยาว 6-12 มิลลิเมตร มีขนรูปดาว

ดอก : ดอกมีขนาดเล็ก ออกดอกเป็นช่อเหนือง่ามใบใกล้ยอด ดอกเพศผู้และดอกเพศเมียอยู่บนต้นเดียวกัน ดอกเพศผู้ โดยส่วนใหญ่จะมีกลีบรองดอก 5 กลีบ ส่วนน้อยมี 4-6 กลีบ ลักษณะกลีบเป็นรูปหอกค่อนข้างกว้าง ปลายแหลม ด้านนอกมีขนสีน้ำตาลอมเหลือง กลีบดอกมี 5 กลีบ ขอบกลีบมีขน ฐานดอกมีขนยาวเกสรตัวผู้มี 15-20 อัน เกลี้ยง ดอกเพศเมียมีลักษณะกลีบรองดอกเหมือนดอกเพศผู้ แต่อาจมีจำนวนกลีบมากกว่า ไม่มีกลีบดอก รังไข่มีขนรูปดาวหนาแน่นสีน้ำตาลอมเหลือง ปลายเกสรตัวเมียสั้น

ผล : ผลมีลักษณะเป็นรูปกลมๆ มี 3 ผลเล็กๆ อยู่รวมกัน ยาว 3-5 มิลลิเมตร มีขนรูปดาว

เมล็ด : ขนาดเมล็ดยาว 2-3 มิลลิเมตร ผิวเรียบ มีลายตามยาว เป็นสีขาวปนน้ำตาล

นิเวศวิทยา : เจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่เขตร้อนชื้น ได้รับแสงแดดเต็มที่ มาเลเซีย

ไทย พม่า และพื้นที่ทางตอนใต้ของประเทศจีน สำหรับในประเทศไทย สามารถพบเปล้าน้อยในพื้นที่จังหวัดปราจีนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ และตามแนว ชายแดนของประเทศไทยกับพม่า ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี เป็นต้น (8)

2.1.2 สรรพคุณของเปล้าน้อย

เปล้าน้อยเป็นยาสมุนไพรแผนโบราณ ในตำรายาแผนโบราณของไทย มีการจำแนกการใช้ประโยชน์ของใบเปล้าน้อยตามส่วนต่างๆ ของพืช ได้แก่ ส่วนของต้นและใบ ใช้ยับยั้งอาการโรคท้องร่วง ใช้บำรุงธาตุ และ ยังสามารถใช้เป็นยาสำหรับช่วยให้รอบเดือนเป็นปกติ ในขณะที่ส่วนของดอกใช้เป็นยาสำหรับถ่ายพยาธิ เปลือกและกระพี้ ช่วยย่อยอาหาร แก้เลือดร้อน แก่นใช้ขับเลือดหนองให้ตก รากขับผายลม โดยเฉพาะรากมีสร้อนและเมาเย็นเล็กน้อย แก้วโรคน้ำเหลืองเสีย แก้วโรคผิวหนังผื่นคัน โรคเรื้อน มะเร็ง คุณทะราด กระจายลม ทำให้น้ำเหลืองแห้ง ใช้เป็นยารักษาและป้องกันโรคผิวหนัง (27, 28, 29)

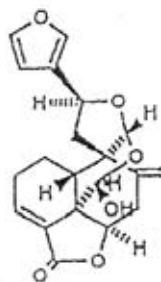
2.1.3 สารสำคัญในใบเปล้าน้อย

การวิจัยโดย Ogiso และคณะ นอกจากจะพบ เปลาโนทอล (Plaunotol) ในส่วนของใบแล้ว ยังพบสารอื่นจากส่วนต่างๆของต้นเปล้าน้อย ซึ่งประกอบไปด้วยกลุ่มสาร diterpene lactones, furanoid diterpenes, diterpene alcohols และ esters of diterpene alcohols ดังแสดงในตารางที่ 2.1

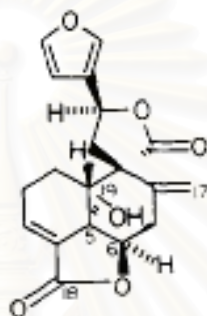
ตารางที่ 2.1 สารทุติยภูมิ ที่พบในต้นเปล้าน้อย (*Croton stellatopilosus* Ohba.) (2)

กลุ่มสาร	สารที่พบ (ส่วนของพืช)	โครงสร้างทางเคมี
Diterpene lactones	Plaunol A	รูปที่ 2.1
	Plaunol B	รูปที่ 2.2
	Plaunol C	รูปที่ 2.3
	Plaunol D	รูปที่ 2.4
	Plaunol E (stem)	รูปที่ 2.5
Furanoid diterpene	Plaunolide (stem)	รูปที่ 2.6
Diterpenes alcohols	Plaunotol (18-hydroxygeranylgeraniol, leaf)	รูปที่ 2.7
	<i>ent</i> -13 α -hydroxy-13-epimanool	รูปที่ 2.8
	<i>ent</i> -16 β , 17-dihydroxykaurane (stem)	รูปที่ 2.9
Esters of 18-hydroxy-geranylgeraniol	Plaunotol stearate	รูปที่ 2.10
	Plaunotol oleate	รูปที่ 2.11
	Plaunotol caprylate - oleate	รูปที่ 2.12
	Plaunotol caprylate - palmitate	รูปที่ 2.13
	Plaunotol palmitate - oleate	รูปที่ 2.14
	Plaunotol linolenate linoleate (whole plant)	รูปที่ 2.15

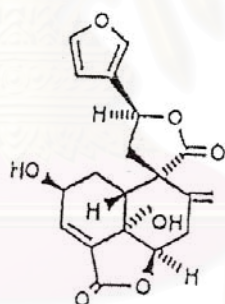
2.1.3.1 กลุ่มสาร Diterpene lactone



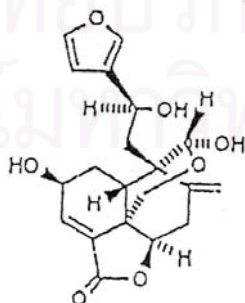
รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของ Plaunol A (30, 31)



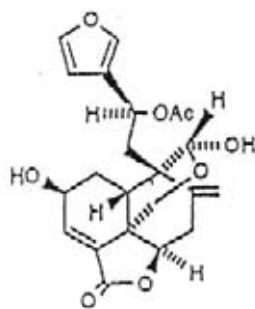
รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของ Plaunol B (30, 31)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของ Plaunol C (30, 31)

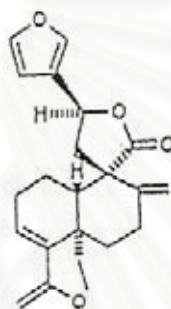


รูปที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของ Plaunol D (30, 31)



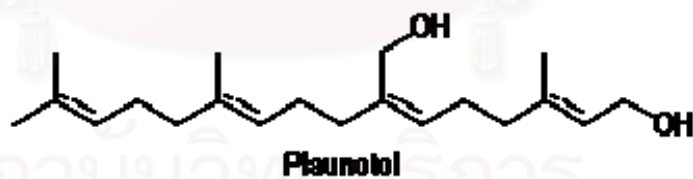
รูปที่ 2.5 โครงสร้างทางเคมีของ Plaunol E (30, 31)

2.1.3.2 กลุ่มสาร furanoid diterpenes

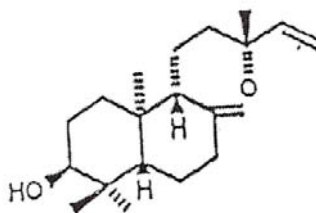


รูปที่ 2.6 โครงสร้างทางเคมีของ Plaunolide (32)

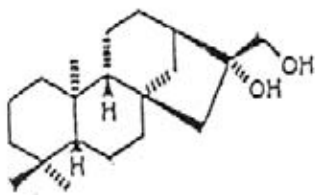
2.1.3.3 กลุ่มสาร Diterpenes alcohols



รูปที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของ Plaunotol (18-hydroxygeranylgeraniol) (17)

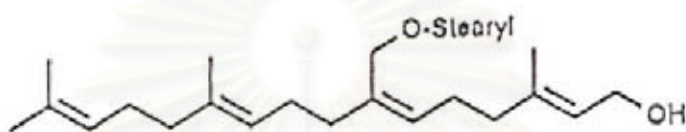


รูปที่ 2.8 โครงสร้างทางเคมีของ *ent*-13 α -hydroxy-13-epimanool (33)

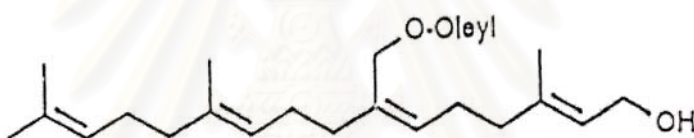


รูปที่ 2.9 โครงสร้างทางเคมีของ *ent*-16 β , 17-dihydroxykaurane (33)

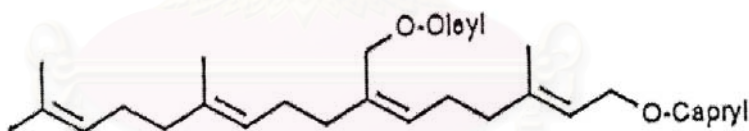
2.1.3.4 กลุ่มสาร Esters of 18-hydroxy-geranylgeraniol



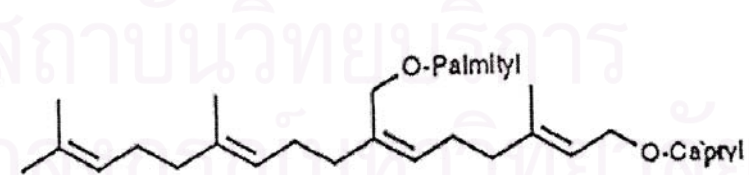
รูปที่ 2.10 โครงสร้างทางเคมีของ Plaunotol stearate (34)



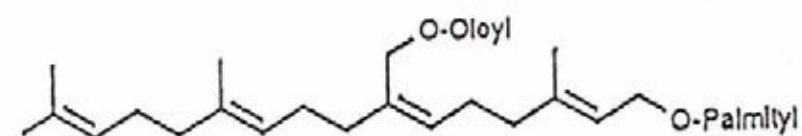
รูปที่ 2.11 โครงสร้างทางเคมีของ Plaunotol oleate (34)



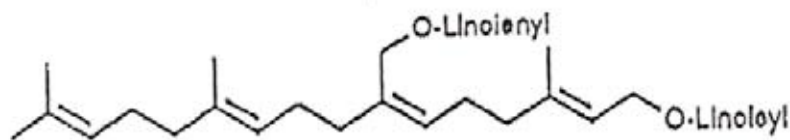
รูปที่ 2.12 โครงสร้างทางเคมีของ Plaunotol caprylate - oleate (34)



รูปที่ 2.13 โครงสร้างทางเคมีของ Plaunotol caprylate - palmitate (34)



รูปที่ 2.14 โครงสร้างทางเคมีของ Plaunotol palmitate - oleate (34)

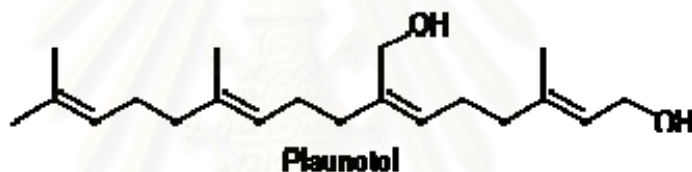


รูปที่ 2.15 โครงสร้างทางเคมีของ Plaunotol linolenate linoleate (34)

2.2 เปลาโนทอล

2.2.1 โครงสร้างและคุณสมบัติทางเคมี

เปลาโนทอล (Plaunotol) เป็นสารทุติยภูมิ (Secondary metabolite) ที่อยู่ในรูปอะไซคลิกไดเทอร์พีนอล (Acyclic diterpene alcohol) มีชื่อทางเคมีคือ (2E,6Z,10E)-7-hydroxymethyl-3,11,15-trimethyl-2,6,10,14-hexadecatetraen-1-ol หรือ 18-hydroxygeranylgeraniol มีสูตรทางเคมีคือ $C_{26}H_{44}O_2$ และมีน้ำหนักโมเลกุล 306.256 (16,29) สูตรโครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.7

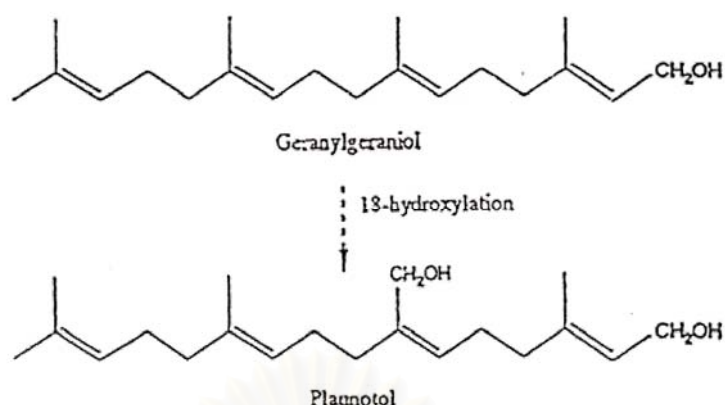


รูปที่ 2.7 สูตรโครงสร้างทางเคมีของเปลาโนทอล (17)

สมบัติทางเคมีของเปลาโนทอลจากรายงานของบริษัทซังเกียว(35) พบว่ามีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวข้น มีสีเหลืองถึงน้ำตาลอ่อน มีกลิ่นเฉพาะตัว รสขม นอกจากนี้ยังพบว่าไม่ละลายน้ำ แต่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์หลายชนิดได้แก่ เมทานอล, เอทานอล, อะซีโตน, เอทิลอะซีเตต, ไดออกเซน, อีเทอร์, คลอโรฟอร์ม, โทลูอิน, และน้ำมันพืช เป็นต้น

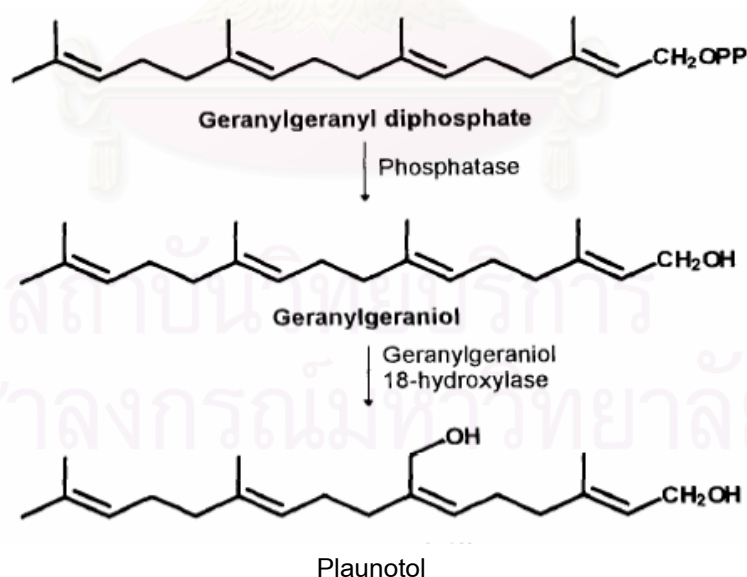
2.2.2 การสังเคราะห์เปลาโนทอลด้วยชีววิธี (Biosynthesis of plaunotol)

กระบวนการสังเคราะห์เปลาโนทอลในธรรมชาติเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นในใบเปล้าน้อย เดิมที่ยังไม่มีรายงานใด แสดงให้เห็นถึงขั้นตอนการสังเคราะห์เปลาโนทอลในธรรมชาติ มีแต่รายงานการถึงสมมุติฐานของการเกิดเปลาโนทอล ในปี 1998 Tansakul และ De-Eknamkul (36, 37) ได้รายงานการค้นพบ Geranylgeraniol (GGOH) ซึ่งเป็นสารที่มีภาระสะสมในขณะทำการทดลองเลี้ยงเซลล์แขวนลอย (Cell suspension) ของเปล้าน้อย สารดังกล่าวมีลักษณะโครงสร้างเคมีใกล้เคียงกับรูปร่างของเปลาโนทอลคือ 18-hydroxygeranylgeraniol ซึ่งเมื่อนำ GGOH มาผ่านกระบวนการ 18-hydroxylation จะได้ 18-hydroxygeranylgeraniol ดังแสดงในรูปที่ 2.16



รูปที่ 2.16 สมมุติฐานการเกิดเปลาโนทอลจาก Geranylgeraniol (GGOH) (36, 37)

และจากการค้นพบดังกล่าวจึงเป็นสมมุติฐานในการนำไปสู่ การสังเคราะห์เปลาโนทอลด้วย กระบวนการชีวเคมีที่อาจเป็นไปได้ อีกทั้งพื้นฐานในการเกิดสาร Diterpenoid ในธรรมชาติทุกชนิดล้วนมี Geranylgeraniol; GGOH เป็นสารตั้งต้น (Precursor) ซึ่งในกระบวนการสังเคราะห์ GGOH จะเกิดผ่านทาง terpenoid pathway โดยมี geranylgeranyl diphosphate (GGPP) เป็นสารตั้งต้น (Precursor) จะไปทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ Phosphatase โดยการดึงหมู่ฟอสเฟตออกเพื่อให้ได้ GGOH และจากรายงานดังกล่าวพบเอนไซม์ที่สามารถทำปฏิกิริยาต่อจนเกิดเป็นเปลาโนทอลได้ ซึ่งก็คือ เอนไซม์ Geranylgeraniol-18-hydroxylase ที่มีความจำเพาะต่อปฏิกิริยา โดยจะเข้าไปเติมหมู่ Hydroxyl ที่ C18 ของ GGOH เกิดเป็นเปลาโนทอลดังรูปที่ 2.17



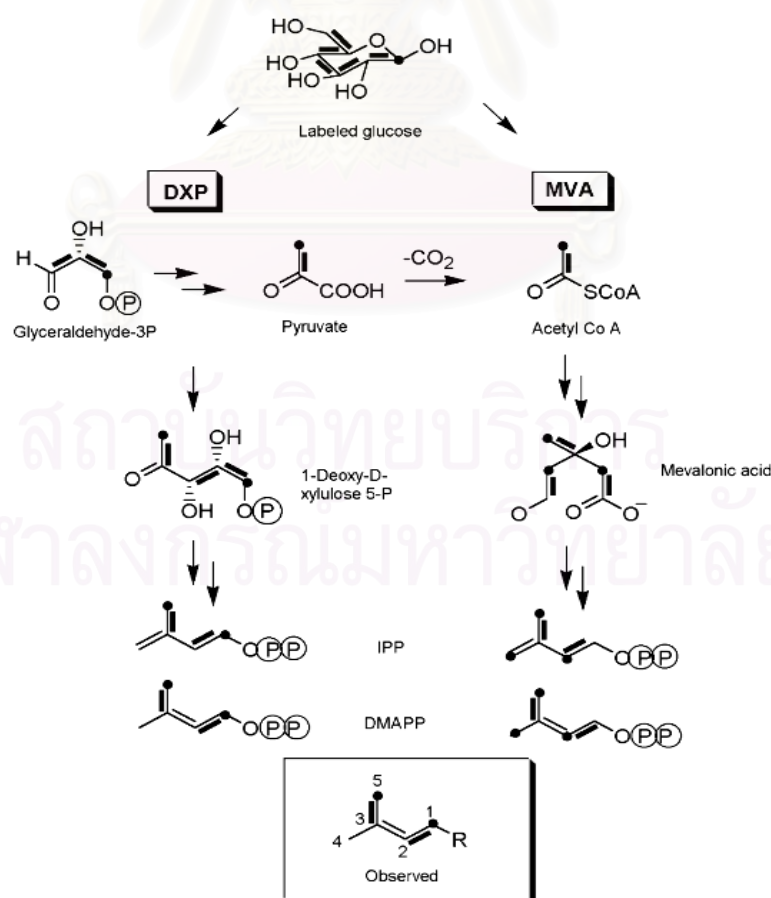
รูปที่ 2.17 กระบวนการสังเคราะห์เปลาโนทอลด้วยชีววิธี (36, 37)

ในปี 1999 Koga และคณะ (38) ได้ทำการพัฒนาประสิทธิภาพยาด้านเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยการสังเคราะห์สารเปลาโนทอล และอนุพันธ์ พบว่าอนุพันธ์บางตัวที่ได้มีประสิทธิภาพที่ดีกว่า

เปลาโนทอล โดยการสังเคราะห์ผ่านทางปฏิกิริยา Z-selective witting ระหว่าง α -acetal ketones และ phosphonium salt ซึ่งปฏิกิริยา Z-selective witting ได้อ้างอิงมาจาก Still *et al* (38) และได้มีรายงานการนำวิธี stereoselective มาสังเคราะห์เปลาโนทอลและอนุพันธ์ (39, 40, 41)

ต่อมาในปี 2005 Nualkaew และคณะ (42) ได้ศึกษาถึงการก่อรูปร่างของ GGOH ในใบเปล้าน้อย พบว่าเกิดขึ้นในคลอโรพลาสต์ ผ่านกระบวนการ monodephosphorylations และให้ชื่อเอนไซม์นั้นว่า geranylgeranyl diphosphate phosphatase; GGPP phosphatase

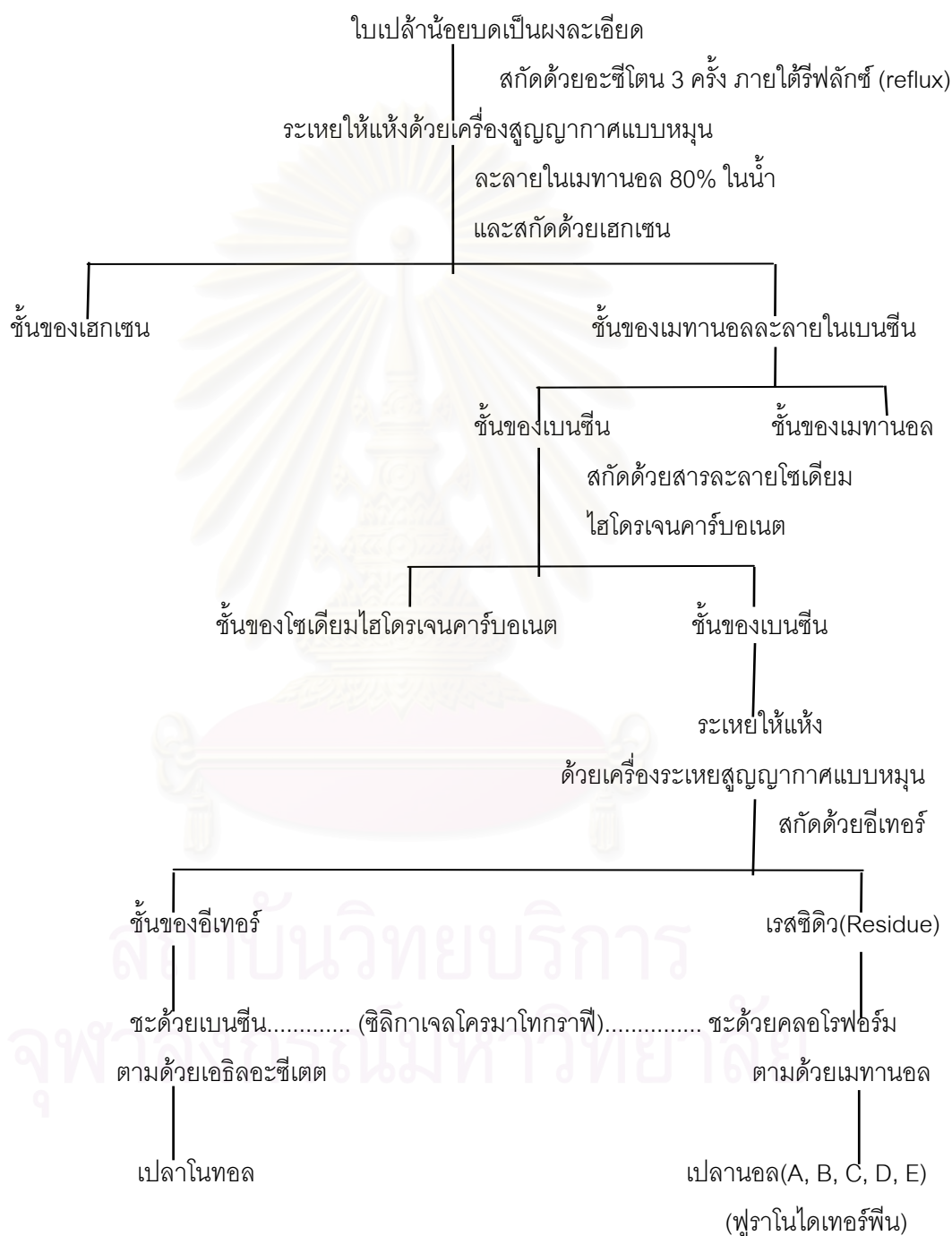
GGPP ประกอบด้วย 4 isoprene unit ซึ่งมาจาก 3 โมเลกุลของ IPP และ จาก 1 โมเลกุลของ DMPP ซึ่งเกิดได้จากทั้งกระบวนการ deoxyxylulose phosphate pathway ; DXP ที่เกิดขึ้นในคลอโรพลาสต์และ mevalonate pathway; MVA ที่เกิดขึ้นในไซโตพลาสซึม จากข้อมูลการวิจัยและพื้นฐานที่ว่าตำแหน่งของ เปลาโนทอล ในใบเปล้าน้อยนั้นอยู่ใน คลอโรพลาสต์ ในรูปของเมื่อน้ำมัน ซึ่งมีมากถึง 95 % ในเซลล์ palisade mesophyll (43) และการก่อรูปของ GGOH ที่เกิดใน คลอโรพลาสต์เช่นกัน ดังนั้นกระบวนการสร้างเปลาโนทอลในต้นเปล้าน้อย น่าจะเกิดขึ้นที่ คลอโรพลาสต์ผ่าน deoxyxylulose phosphate pathway และในปี 2005 Wungsintaweekul และ De-Eknamkul (44) ได้ทำการศึกษากระบวนการสังเคราะห์เปลาโนทอลในต้นเปล้าน้อย โดยการเฝ้าติดตามกลูโคสที่ผ่านการติดคาร์บอนรังสี ในกระบวนการ Glycolysis จากการเฝ้าติดตามได้ผลยืนยัน ว่าการสังเคราะห์เปลาโนทอลเกิดผ่าน กระบวนการ deoxyxylulose phosphate pathway ดังรูปที่ 2.18



รูปที่ 2.18 การเกิดเปลาโนทอลผ่าน deoxyxylulose phosphate pathway; DXP (44)

2.2.3 การสกัดเปลาโนทอลและทำให้บริสุทธิ์

เนื่องจากประโยชน์ของเปลาโนทอลที่มีต่อการรักษาแผลในกระเพาะอาหาร จึงได้มีงานวิจัยการสกัดเปลาโนทอลด้วยตัวทำละลายอินทรีย์หลายชนิด เช่น วิธีการสกัดของบริษัทซังเกียว ดังแผนภาพที่ 2.19



รูปที่ 2.19 แผนภาพขั้นตอนการสกัดเปลาโนทอลของบริษัทซังเกียว (24)

จากรูปที่ 2.19 นี้ จะเห็นได้ว่าขั้นตอนในการสกัดแยกและทำเปลาโนทอลให้มีความบริสุทธิ์ มีความยุ่งยากซับซ้อน คือ ต้องทำการสกัดหลายครั้งด้วยตัวทำละลายต่างชนิด ก่อนที่จะทำให้บริสุทธิ์โดยผ่านคอลัมน์โครมาโทกราฟี (24) โดยจะเห็นได้ว่านอกจากเปลาโนทอลแล้ว ในใบปลี่ยน้อยยังมีสารที่มีฤทธิ์สมานแผลอีกคือ เปลานอล (A, B, C, D, E) อีกด้วย (30, 31)

เนื่องจากเปลาโนทอลและฟูราโนไโดเทอร์ปินที่แยกได้จากการสกัดตามแผนภาพที่ 2.18 เป็นสารพวกเทอร์ปินอยด์ ซึ่งโครงสร้างของสารประเภทนี้ จะมีความแตกต่างกันมาก สารกลุ่มนี้เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ และไม่มีขั้ว ดังนั้น ในการสกัดจึงใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เบนซีน อีเทอร์ สกัดแยกออกมา แต่จะไม่มีไขมัน กรดเทอร์ปินอยด์ และเอสเทอร์ พวกขี้ผึ้งต่างๆ ปนออกมาด้วย ซึ่งสามารถกำจัดออกได้โดยปฏิกิริยา Saponification กับสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นด่างในแอลกอฮอล์แล้วสกัดด้วยอีเทอร์ สารปนเปื้อนจะถูกกำจัดออกไปในชั้นน้ำซึ่งจะมีกรดแอลกอฮอล์น้ำหนักโมเลกุลต่ำ ในชั้นอีเทอร์จะพบเทอร์ปินอยด์ สเตียรอยด์ แอลกอฮอล์ น้ำหนักโมเลกุลสูง และ Non-terpenoid hydrocarbon (45)

2.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณเปลาโนทอลในใบปลี่ยน้อย

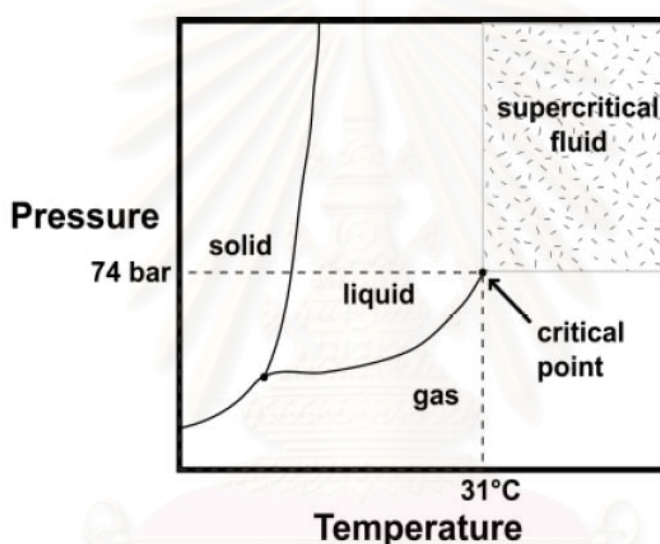
Ogiso และคณะ (1981)(46) ได้ทำการพิสูจน์เปลาโนทอลที่สกัดได้ตามวิธีของบริษัทซึ่งเกี่ยวข้องกับเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบผิวบาง โดยใช้แผ่นซิลิกาเจล 60-F254 ตัวทำละลายที่ใช้ ประกอบด้วย เบนซีน : เอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1 : 1 ตรวจสอบจุดของเปลาโนทอลที่เกิดจากการพ่นด้วยสารละลายวานิลลิน-กรดซัลฟิวริก ในเอทานอล และวิเคราะห์ปริมาณเปลาโนทอลด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ที่ใช้แพคคอลัมน์ชนิด OV-225 (2%) ใน Chromosorb G ซึ่งมีไนโตรเจนเป็นแก๊สพา และใช้ดีเทคเตอร์ชนิด FID

Cajesanun (1991) (47) ได้ทำการพิสูจน์เปลาโนทอลที่สกัดได้ตามวิธีของบริษัทซึ่งเกี่ยวข้องกับเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบผิวบาง โดยใช้แผ่นซิลิกาเจล 60-F254 ตัวทำละลายที่ใช้ ประกอบด้วยอีเทอร์ 20% ในคลอโรฟอร์ม ตรวจสอบจุดของเปลาโนทอลที่เกิดจากการพ่นด้วยสารละลายวานิลลิน-กรดซัลฟิวริก ในเอทานอล และวิเคราะห์ปริมาณเปลาโนทอลด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้แพคคอลัมน์ชนิด OV-17 uniport HP ซึ่งมีไนโตรเจนเป็นแก๊สพา และใช้ดีเทคเตอร์ชนิด FID

2.3 ของไหลภาวะเหนือวิกฤต (supercritical fluid)

ของไหลภาวะเหนือวิกฤต (Supercritical fluid : SCF) หมายถึงสารใดๆ ในภาวะซึ่งจำแนกไม่ได้ว่าเป็นก๊าซหรือของเหลว ภาวะเช่นนี้สามารถอธิบายได้จากแผนภาพวัฏภาคของความดันและอุณหภูมิ (Pressure - Temperature Phase Diagram) ของสารบริสุทธิ์ใดๆ ดังรูปที่ 2.20 แสดงบริเวณที่สารคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ในสถานะของแข็ง ของเหลว และก๊าซ โดยมีเส้นการระเหิด (Sublimation line)

อยู่ระหว่างบริเวณที่สารอยู่ในสถานะของแข็งกับก๊าซ เส้นการหลอมเหลว (Melting line) อยู่ระหว่างบริเวณที่สารอยู่ในสถานะของแข็งกับของเหลว และเส้นความดันไอ (Vapor pressure line) อยู่ระหว่างสถานะของก๊าซกับของเหลว จุดที่อยู่ทั้ง 3 สถานะเรียกว่า triple point (TP) โดยก๊าซสามารถเปลี่ยนสถานะเป็นของเหลวได้ 2 วิธีคือ การเพิ่มความดัน หรือลดอุณหภูมิเพื่อลดพลังงานจลน์ ทำให้ระยะทางระหว่างโมเลกุลลดลงเกิดแรงดึงดูดระหว่างกันควบแน่นเป็นของเหลว แต่ที่อุณหภูมิสูงกว่าจุดหนึ่งโมเลกุลของก๊าซเกิดมีพลังงานจลน์มากแม้จะให้ความดันเท่าใด ก็ไม่สามารถทำให้ก๊าซเกิดการควบแน่นเป็นของเหลวได้ อุณหภูมิสูงสุดที่ก๊าซยังสามารถควบแน่นเป็นของเหลวได้เรียกว่า อุณหภูมิวิกฤต (Critical Temperature, T_c) และความดันที่จุดนี้เรียกว่า ความดันวิกฤต (Critical Pressure, P_c) จุดที่มีอุณหภูมิเท่ากับ T_c และความดันเท่ากับ P_c เรียกว่า จุดวิกฤต (Critical Point, CP)



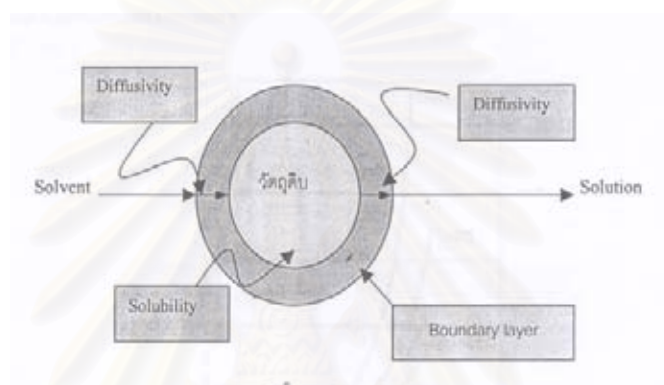
รูปที่ 2.20 แผนผังวัฏภาคของคาร์บอนไดออกไซด์ (48)

เมื่อพิจารณาสมบัติทางกายภาพ (Physicochemical properties) ของของไหลภาวะเหนือวิกฤตซึ่งมีสถานะร่วมระหว่างของเหลวกับก๊าซ ดังตารางที่ 2.2 สมบัติการเป็นตัวทำละลายจะขึ้นกับความหนาแน่นซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับของเหลว โดยโมเลกุลของสารที่ถูกละลายจะถูกล้อมรอบด้วยโมเลกุลของของไหลภาวะเหนือวิกฤต เกิดปฏิสัมพันธ์ (เช่น การมีขั้ว, พันธะไฮโดรเจน ซึ่งขึ้นอยู่กับตัวถูกละลาย) ทำให้พลังงานเอนทาลปีลดลง จึงเกิดการละลายได้ดี ขณะเดียวกันของไหลภาวะเหนือวิกฤตก็มีความหนืดและแรงดึงดูดต่ำทำให้มีความสามารถในการแพร่กระจาย สามารถแทรกเข้าไปในโครงสร้างภายในของตัวถูกละลาย (Solute matrix) ได้ดี ด้วยสมบัติดังกล่าวจึงนำของไหลภาวะเหนือวิกฤตมาใช้ซึ่งมีข้อดีกว่าตัวทำละลายของเหลว คือ มีความสามารถในการทำละลาย (Solvent Power) ที่ดีกว่า และมีอัตราการถ่ายโอนมวลเร็ว

ตารางที่ 2.2 สมบัติทางกายภาพของไหลภาวะเหนือวิกฤต เปรียบเทียบกับก๊าซและของเหลว (23)

State of fluid	Density (g/ml)	Dynamic Viscosity (g/cm-sec)	Diffusion Coefficient (cm ² /sec)
Gas (ambient)	0.0006-0.002	0.0001-0.003	0.1-0.4
Supercritical fluid(T _c ,P _c)	0.2-0.5	0.0001-0.0003	0.0007
Liquid (ambient)	0.6-1.6	0.002-0.03	0.000002-0.00002

2.3.1 สมบัติของของไหลภาวะเหนือวิกฤต



รูปที่ 2.21 แสดงแบบจำลองของการสกัดผลิตภัณฑ์ธรรมชาติโดยทั่วไป (50)

รูปที่ 2.21 แสดงแบบจำลองการสกัดผลิตภัณฑ์ตามธรรมชาติโดยทั่วไป ซึ่งตัวทำละลายจะแพร่ผ่านชั้น Boundary layer ก่อนที่จะถึงวัสดุดิบ จากนั้นเมื่อถึงวัสดุดิบก็ต้องแพร่ผ่านสารต่างๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ และเป็นอุปสรรคต่อการสกัด อาทิ เปลือก เยื่อหุ้มเซลล์ และเมื่อแพร่ถึงสิ่งที่ต้องการสกัด อาทิ น้ำมัน ก็ต้องการความสามารถในการละลายผลิตภัณฑ์ซึ่งแปรผันตามความหนาแน่นแล้วแพร่ผ่าน ชั้น Boundary layer อีกครั้งหนึ่ง ดังนั้นสมบัติหลักที่จำเป็นในการสกัดผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คือ ค่าความสามารถในการแพร่กระจายและความหนาแน่น ซึ่ง

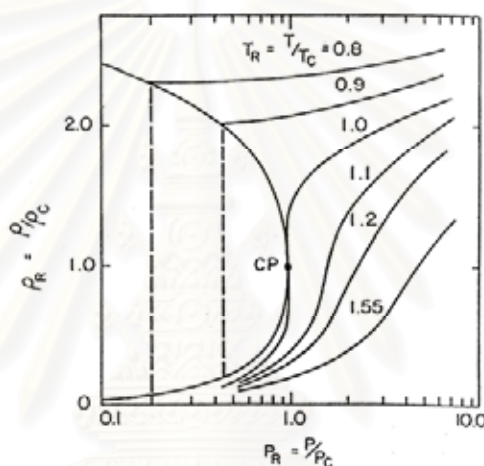
ค่าความสามารถในการแพร่กระจาย จะมีค่ามากเมื่อสารอยู่ในสถานะก๊าซ

ค่าความหนาแน่น จะมีค่ามากเมื่อสารอยู่ในสถานะของเหลว

โดยที่ของไหลภาวะเหนือวิกฤตนั้นจะมีสถานะร่วมระหว่างของเหลวและก๊าซ ทำให้มีสมบัติทั้งความสามารถในการแพร่กระจายซึ่งเป็นสมบัติของก๊าซและค่าความหนาแน่น ซึ่งเป็นสมบัติของของเหลว แม้จะไม่สามารถแพร่กระจายได้ดีเท่าก๊าซ ค่าความหนาแน่นไม่มากเท่าของเหลว แต่ก็มีสมบัติทั้ง 2 ประการ ซึ่งทำให้เหมาะในการใช้สกัดผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ โดยเมื่อของไหลภาวะวิกฤตได้รับอิทธิพลของอุณหภูมิและความดัน จะส่งผลต่อสมบัติของของไหลภาวะเหนือวิกฤต เช่น ค่าความหนาแน่น(Density) สามารถแพร่กระจาย (Diffusivity) ความหนืด (Viscosity) และค่าคงที่สภาพขั้ว (Dielectric Constant)

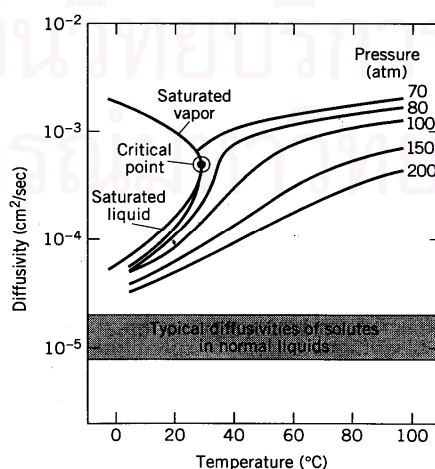
2.3.1.1. ค่าความหนาแน่น

ค่าความหนาแน่นของของไหลภาวะเหนือวิกฤตขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและความดัน จากรูปที่ 2.22 แสดงการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของตัวทำละลายบริสุทธิ์ในบริเวณจุดวิกฤต สำหรับอุณหภูมิรีดิวซ์ ($T_R = T/T_C$) ในช่วง 0.9 - 1.2 และความดันรีดิวซ์ ($P_R = P/P_C$) ที่มากกว่า 1.0 พบว่าค่าความหนาแน่นรีดิวซ์ ($\rho_R = \rho/\rho_C$) จะเพิ่มขึ้น 0.1 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับก๊าซจนถึง 2.5 ซึ่งทำให้มีค่าใกล้เคียงกับของเหลว แต่เมื่อ T_R เพิ่มขึ้นถึง 1.55 จะต้องเพิ่ม P_R มากกว่า 10 จึงจะทำให้ของไหลภาวะเหนือวิกฤตมีความหนาแน่นใกล้เคียงของเหลว โดยจะสังเกตเห็นว่าความหนาแน่นที่เพิ่มขึ้นเมื่อความดันเพิ่มขึ้นและอุณหภูมิคงที่ จะไม่เป็นลักษณะเชิงเส้นคือ ความหนาแน่นของของไหลภาวะเหนือวิกฤตจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อมีการเพิ่มความดันเพียงเล็กน้อยและอุณหภูมิคงที่



รูปที่ 2.22 การเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นรีดิวซ์ (ρ_R) ของสารบริสุทธิ์ในบริเวณที่ใกล้เคียงกับจุดวิกฤต (48)

2.3.1.2 การแพร่



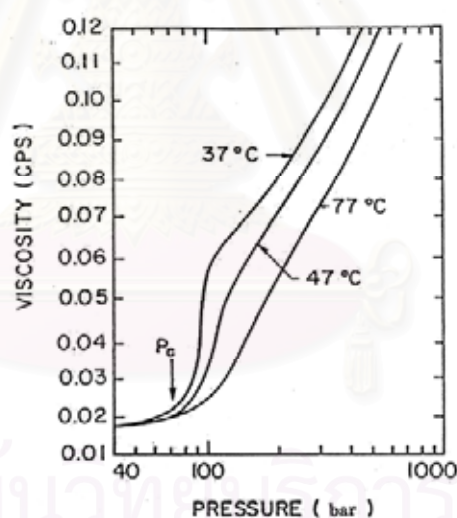
รูปที่ 2.23 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับค่าความสามารถในการแพร่ ที่ความดันต่าง ๆ (48)

จากรูปที่ 2.23 พบว่า

- สภาพแพร่ของตัวถูกละลายในตัวทำละลายภาวะเหนือวิกฤตมีค่ามากกว่าสภาพแพร่ของตัวถูกละลายในตัวทำละลายที่อยู่ในสถานะของเหลว
- สภาพแพร่ในภาวะวิกฤตลดลงเมื่อความดันเพิ่มขึ้น
- สภาพแพร่เพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นและมีการเปลี่ยนแปลงมากขึ้นเมื่ออยู่ใกล้จุดวิกฤต

2.3.1.3. ความหนืด

ความหนืดของ ของไหลภาวะเหนือวิกฤตขึ้นกับอุณหภูมิและความดัน แต่สำหรับของเหลวจะขึ้นกับอุณหภูมิ ในขณะที่ความดันจะมีผลเล็กน้อยต่อความหนืดของของเหลว โดยจากรูปที่ 2.24 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดของคาร์บอนไดออกไซด์กับความดันที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่าความหนืดของคาร์บอนไดออกไซด์จะเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วในบริเวณจุดวิกฤต แต่ถึงแม้ว่าความดันจะสูงถึง 300-400 บาร์ คาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตก็ยังมีค่าความหนืดเพียง 0.09 cps ซึ่งต่ำกว่าความหนืดของตัวทำละลายอินทรีย์โดยทั่วไป กล่าวโดยสรุปคือ สำหรับของไหลภาวะเหนือวิกฤต เมื่ออุณหภูมิคงที่ ความหนืดจะเพิ่มขึ้นตามความดันที่เพิ่มขึ้น และความหนืดจะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น



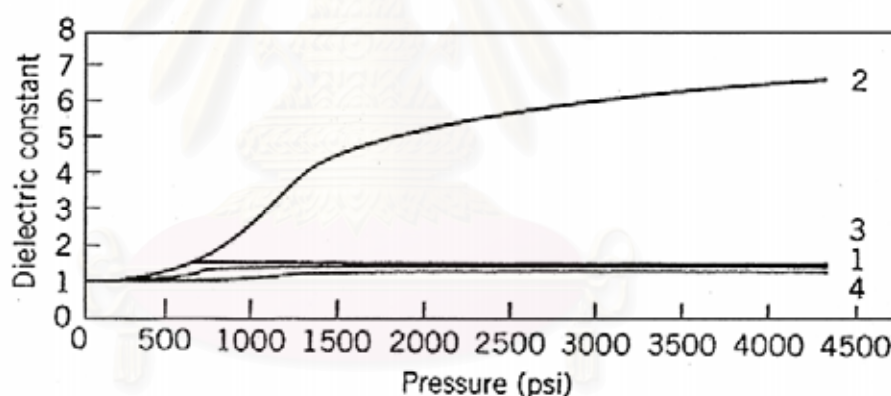
รูปที่ 2.24 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดของคาร์บอนไดออกไซด์กับความดันที่อุณหภูมิต่าง ๆ (48)

แต่จากค่าความหนาแน่น การแพร่ และค่าความหนืดสามารถสรุปได้ดังนี้
ความหนาแน่นคงที่ , อุณหภูมิสูง, ความสามารถในการแพร่สูง, ความหนืดต่ำ
ความหนาแน่นมาก, อุณหภูมิคงที่, ความสามารถในการแพร่ต่ำ, ความหนืดสูง

ดังนั้นการเพิ่มอุณหภูมิแม้จะมีผลทำให้ค่าความสามารถในการแพร่เพิ่มมากขึ้น แต่ก็ทำให้ความหนาแน่นลดลงเช่นเดียวกัน ในขณะที่การเพิ่มความดัน แม้จะทำให้ความหนาแน่นเพิ่มขึ้น แต่ก็ทำให้ค่าความสามารถในการแพร่กระจายหรือการละลายลดลง ดังนั้นในการที่จะเพิ่มหรือลดความดันหรืออุณหภูมิ ต้องพิจารณาถึงผลกระทบของค่าความสามารถในการแพร่ และ ความหนาแน่น ว่าอย่างไหนมีผลมากกว่ากัน

2.3.1.4. ค่าคงที่สภาพขั้ว

ค่าคงที่สภาพขั้วสัมพันธ์กับสมบัติการละลาย (Solubility) ของของไหล เช่น น้ำมีค่าสภาพขั้วลดลงเมื่อเพิ่มอุณหภูมิและลดความดัน เป็นผลให้ศักย์ไฟฟ้าสถิต (Electrostatic Potential) ระหว่างไอออนลดลง ทำให้ไอออนสามารถเป็นอิสระจากไอออนคู่ ดังนั้นภายใต้ภาวะดังกล่าวทำให้น้ำในภาวะเหนือวิกฤตประพฤติตัวเป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วมากกว่าตัวทำละลายที่มีขั้ว จากรูปที่ 2.25 แสดงตัวอย่างของผลของความดันที่มีต่อสภาพขั้วและความหนาแน่นของอีเทน (Ethane), โพรเพน (Propane), ฟลูออโรฟอร์ม (Fluoroform), และซัลเฟอร์เฮกซะฟลูออไรด์ (Sulfur Hexafluoride) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



รูปที่ 2.25 ผลของความดันที่มีต่อสภาพขั้วของ อีเทน (เส้น 4), โพรเพน (เส้น 3), ฟลูออโรฟอร์ม(เส้น 2), และซัลเฟอร์เฮกซะฟลูออไรด์ (เส้น 1) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (23)

2.3.2 ลักษณะเฉพาะของของไหลภาวะเหนือวิกฤต

2.3.2.1. สมบัติการถ่ายโอน (Transport Properties)

จากการที่ของไหลภาวะเหนือวิกฤตมีความหนืดและสัมประสิทธิ์การแพร่สูงทำให้สามารถกระจายตัวได้อย่างทั่วถึง สามารถแทรกซึม (Penetrate) เข้าไปในโครงสร้างภายในของตัวถูกละลายได้ดี ทำให้ตัวถูกละลายสามารถละลายเข้าไปในของไหลภาวะเหนือวิกฤต และกระจายออกจากบริเวณที่เกิด

การสกัดไปบริเวณอื่นได้ง่าย คือมีอัตราการถ่ายโอนมวลสูง ส่งผลให้ของไหลภาวะเหนือวิกฤตเป็นตัวทำละลายที่ดี แต่อย่างไรก็ตามค่าความหนืดและสัมประสิทธิ์การแพร่ของของไหลภาวะเหนือวิกฤตมีความสัมพันธ์กับปัจจัยหลายประการ เช่น อุณหภูมิ ความดัน และชนิดของของไหลภาวะเหนือวิกฤต ดังนั้นจึงต้องมีการปรับภาวะให้เหมาะสมเพื่อให้การสกัดสารที่ต้องการได้อย่างดีที่สุด

2.3.2.2. ความสามารถในการทำละลาย

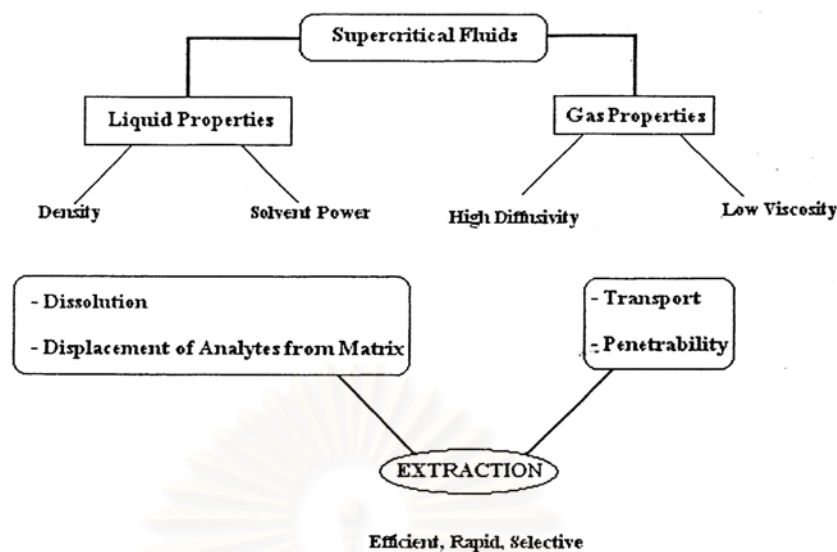
เป็นสมบัติเด่นประการหนึ่งของของไหลภาวะเหนือวิกฤต ที่เหนือกว่าตัวทำละลายอินทรีย์ทั่วไป เนื่องจากสามารถปรับให้มีความเข้มข้นได้ง่ายกว่า โดยการปรับภาวะให้เป็นภาวะเหนือวิกฤตตัวแปรประการแรกคืออุณหภูมิ โดยทั่วไปการเพิ่มอุณหภูมิให้กับตัวทำละลายที่เป็นของเหลวทำให้มีการละลายเพิ่มมากขึ้น แต่ในของไหลภาวะเหนือวิกฤตการเพิ่มอุณหภูมิก่อให้เกิดผล 2 ประการขัดแย้งกัน ประการแรกคือ เพิ่มการละลายของตัวถูกละลาย และประการที่สองคือ ลดความหนาแน่น ทำให้โมเลกุลของของไหลภาวะเหนือวิกฤตกับตัวถูกละลายอยู่ห่างกัน การละลายของตัวถูกละลายจึงลดลง

ผลรวมของผลที่ขัดแย้งกัน 2 ประการนี้คือ ความสามารถในการทำละลายของของไหลภาวะเหนือวิกฤต ซึ่งข้อขัดแย้งในประการที่สองนั้นแก้ไขได้โดยการเพิ่มความดันให้กับของไหลภาวะเหนือวิกฤต กล่าวโดยสรุปคือ ตัวแปรที่มีผลโดยตรงต่อความสามารถในการละลายคือ อุณหภูมิและความหนาแน่น ส่วนความดันไม่มีผลโดยตรง แต่มีผลผ่านทางความหนาแน่น

2.3.2.3. สมบัติการเลือก (Selectivity Properties)

เป็นสมบัติของของไหลภาวะเหนือวิกฤต ที่สามารถปรับอุณหภูมิและความดันเพื่อให้มีความสามารถในการทำละลายที่เหมาะสมกับสารที่ต้องการสกัดให้มีการสกัดได้มากที่สุดโดยที่มีสารที่ไม่ต้องการปนออกมาน้อยที่สุด จากการที่ของไหลภาวะเหนือวิกฤตมีสมบัติการเลือกเฉพาะค่อนข้างดี ทำให้นำมาใช้ในการสกัดแบบ Fractionate Extraction ภาวะที่ใช้จะเริ่มต้นจากบริเวณจุดวิกฤต แล้วค่อย ๆ เพิ่มอุณหภูมิและความดัน ด้วยเทคนิคนี้สามารถสกัดแยกสารออกเป็นส่วนต่าง ๆ เช่น การสกัดพริกไทย แยกเป็นส่วนใหญ่สเฟ็ด และส่วนที่ให้กลิ่นหอม เป็นต้น

จากสมบัติของของไหลภาวะเหนือวิกฤตที่มีทั้งสมบัติของก๊าซ และของเหลว คือมีสัมประสิทธิ์การแพร่สูงและความหนืดต่ำ ซึ่งเป็นสมบัติของก๊าซ และมีค่าความหนาแน่น ความสามารถในการละลายสูง ซึ่งเป็นสมบัติของของเหลว จึงทำให้ของไหลภาวะเหนือวิกฤตมีความสามารถในการสกัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวดเร็ว และมีความเลือกเฉพาะสูง ดังแสดงในรูปที่ 2.26



รูปที่ 2.26 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติพื้นฐานกับลักษณะของของไหลภาวะเหนือวิกฤต
ที่มีต่อการสกัด (49)

2.3.3 ประโยชน์ของของไหลภาวะเหนือวิกฤต

ถึงแม้ว่าของไหลภาวะเหนือวิกฤตจะเป็นที่รู้จักกันมานานแล้ว แต่การนำมาใช้ประโยชน์เริ่มแพร่หลายเมื่อไม่นานมานี้เอง ประโยชน์ของของไหลภาวะเหนือวิกฤตสรุปได้ดังนี้

1. ใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัด (Supercritical Fluid Extraction :SCF) ทั้งงานสกัดเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นจำนวนมาก และที่ได้รับความสนใจค่อนข้างมากคือ งานสกัดสารที่มีปริมาณน้อย
2. ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่งานวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี (Supercritical Fluid Chromatography)
3. ใช้ในการศึกษาทางสเปกโทรสโกปี (Spectroscopic Studies) ของสารผสมเชิงซ้อน (Complex mixtures)
4. ใช้ประโยชน์ในด้านการรักษาสังแวดล้อม (Environment Remediation) เช่น การกำจัดสารเคมีในดิน (Removal of Chemicals from Soil) และการบำบัดของเสีย (Waste Treatment)
5. ใช้ในทางสังเคราะห์ทางเคมี (Chemical Synthesis) เช่น นาโนเทคโนโลยี
6. ใช้ในการผลิตพลังงานไฟฟ้าจากถ่านหินดักยั่ว

2.4 ความสามารถในการใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลาย (51)

คาร์บอนไดออกไซด์เป็นก๊าซเฉื่อย ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ไม่มีพิษ ไม่ช่วยในการเผาไหม้ แต่ช่วยให้ไฟดับ หนักกว่าอากาศประมาณ 1.5 เท่า อยู่ในสภาพของเหลวที่อุณหภูมิ -55 ถึง 31 องศาเซลเซียส และที่ความดัน 5 ถึง 74 บาร์

คาร์บอนไดออกไซด์เหลว เป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (Non polar solvent) สภาพมีขั้ว (Polarizability) ของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 26.5×10^{-25} ลูกบาศก์เซนติเมตร ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำกว่าสารไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดเมื่อเปรียบเทียบกัน ยกเว้นมีเทน (Methane) สภาพมีขั้ว (Polarizability) ของคาร์บอนไดออกไซด์ใกล้เคียงกับเฮกเซน (Hexane) และเพนเทน (Pentane) สามารถผสมกันได้ดีกับตัวทำละลายตั้งแต่ เมทานอล (Methanol) ไปจนถึง เพนเทน (Pentane) และพวกไฮโดรคาร์บอนบริสุทธิ์, โมโนเทอร์ปีน (Monoterpene), อัลดีไฮด์ริค และ คีโตนิก โมโนเทอร์ปีน (Aldehydic and Ketonic monoterpenes) และพวกกรดคาร์บอนิกเหลว (Liquid carbonic acid)

ในสภาพก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์สามารถละลายในน้ำมันดิบและสารไฮโดรคาร์บอนได้ดีกว่าน้ำ โดยคาร์บอนไดออกไซด์จะเป็นตัวทำให้สภาพการเคลื่อนที่ได้ (Mobility) ของน้ำมันเพิ่มขึ้น นั่นคือทำให้ความหนืดของน้ำมันลดลง เมื่อเพิ่มความดันการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำมันก็เพิ่มขึ้น แต่เมื่อลดอุณหภูมิ การละลายจะลดลง

ความเหมาะสมของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ใช้เป็นตัวทำละลายพิจารณาจากข้อดีดังนี้

1. สมดุลเฟส (Phase equilibrium)

เป็นตัวทำละลายที่ดีสำหรับสารอินทรีย์หลายชนิด

การละลายซึ่งกันและกันกับน้ำมีค่าน้อย

การระเหยสัมพัทธ์ (Relative volatility) สูงเมื่อเปรียบเทียบกับสารอินทรีย์ที่สกัดได้ ทำให้สามารถแยกออกจากสารชนิดอื่นได้ง่าย

2. สมบัติการขนถ่าย (Transport properties)

ค่าความหนืดต่ำ

สัมประสิทธิ์การกระจาย (Diffusion coefficients) มีค่าสูง

ความหนาแน่นสูง

3. สมบัติทางเทอร์โมไดนามิกส์ (Thermodynamic properties)

สามารถสร้างสภาพที่จุดวิกฤต (Critical point) ได้

ค่าความร้อนของการระเหย (Enthalpy of vaporization) มีค่าต่ำ

4. ความปลอดภัย (Safety)

ไม่เป็นพิษไม่ติดไฟ

5. ทางเศรษฐศาสตร์ (Economic)
ราคาถูกกว่าตัวทำละลายอื่นๆ และหาได้ง่าย
6. ไม่ทำปฏิกิริยากับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการสกัด

2.5 คาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

จากข้อดีของคาร์บอนไดออกไซด์ข้างต้นจึงเป็นที่นิยมนำมาใช้เป็นตัวทำละลายภาวะเหนือวิกฤต อีกทั้งการนำคาร์บอนไดออกไซด์ยังมีอุณหภูมิวิกฤตและความดันวิกฤตต่ำ คือที่ 31.41 องศาเซลเซียส และ 74 บาร์ ตามลำดับ (52)

กระบวนการสกัดสารด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตมีข้อได้เปรียบกว่าตัวทำละลายอื่นในการสกัดนอกเหนือจากข้อดีที่กล่าวข้างต้นแล้วคือ

- ไม่ก่อให้เกิดปัญหาภาวะมลพิษ
- ใช้พลังงานในการดำเนินงานต่ำ
- มีอุณหภูมิวิกฤตและความดันวิกฤตต่ำทำให้สามารถควบคุมได้ง่าย
- คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลายที่เฉื่อยไม่ทำปฏิกิริยาเคมี
- สามารถทำการสกัดแบบลำดับส่วนได้
- ในการสกัดสารภายใต้ความดัน สารที่มีจุดเดือดสูงสามารถกลายเป็นไอได้ที่อุณหภูมิต่ำ จึงสามารถสกัดสารที่มีจุดเดือดสูงได้
- ไม่เกิดการสูญเสียหรือเปลี่ยนแปลงสภาพของสารที่ไม่อยู่ตัวหรือสลายตัวง่ายที่อุณหภูมิต่ำ
- สามารถแยกตัวทำละลายและตัวถูกละลายออกจากกันได้ง่ายหลังการสกัดแล้ว
- สามารถหมุนเวียนคาร์บอนไดออกไซด์กลับมาใช้ใหม่ได้
- ไม่มีการเหลือคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารตกค้างในการที่สกัดได้

ข้อเสียเปรียบของกระบวนการดังกล่าว มีดังนี้

- เป็นการยากที่จะยอมรับการใช้ความดันสูงในอุตสาหกรรม ที่ไม่นิยมปฏิบัติงานเกี่ยวกับการใช้ความดันสูง
- การลงทุนสร้างโรงงานสูง ทำให้เสี่ยงต่อการลงทุน
- ต้นทุนในการบำรุงรักษาสูง

การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตนี้ได้รับความสนใจมากทั้งในอุตสาหกรรมอาหารและยา เช่น ใช้ในการสกัดฮอป, สกัดคาเฟอีน (Caffeine) จากเมล็ดกาแฟ, สกัดน้ำมันถั่วเหลือง, สกัดสารนิโคตินจากยาสูบ (21, 22)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไลโคปีนจากมะเขือเทศ และเมื่อนำมันจากพืชเป็นสารสกัดร่วม (co-solvent) ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต โดยในการทดลองครั้งนี้ได้นำมะเขือเทศแห้งไปอบเพื่อให้ความชื้นลดลงเหลือ 6 เปอร์เซ็นต์เนื่องจากปริมาณความชื้นจะส่งผลต่อปริมาณไลโคปีนที่สกัดได้ แล้วทำการบดให้มีขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตรเนื่องจากขนาดของมะเขือเทศส่งผลต่อปริมาณไลโคปีนที่สกัดได้เช่นกัน หลังจากนั้นนำมะเขือเทศที่ผ่านการอบให้แห้งและบดเรียบร้อยแล้วไปเข้าขบวนการสกัดที่มีภาวะความดันที่ 335-450 bar ช่วงอุณหภูมิที่ 45-70 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 8-20 กิโลกรัม/ชั่วโมง และใช้ปริมาณของสารสกัดร่วมที่ 10 % w/w สารไลโคปีนที่สกัดได้จะนำมาวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค HPLC จากผลการทดลองเพื่อดูผลของความดันที่มีต่อปริมาณไลโคปีนที่สกัดได้ พบว่าที่ 450 bar สามารถสกัดสารไลโคปีนได้ในปริมาณที่มากกว่าที่ 335 bar ส่วนการทดลองเพื่อดูผลของอุณหภูมิที่มีต่อปริมาณไลโคปีน พบว่าที่ 66 องศาเซลเซียส สามารถสกัดสารไลโคปีนได้ในปริมาณที่มากกว่าที่ 45 องศาเซลเซียส เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิจะปลดความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้แพร่เข้าไปในมะเขือเทศได้ดีเกิดการสกัดได้มากขึ้น และการทดลองเพื่อดูผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณไลโคปีนที่สกัดได้ พบว่าที่ 18 กิโลกรัม/ชั่วโมง สามารถสกัดสารไลโคปีนได้เร็วกว่าโดยใช้เวลาในเพียง 4 ชั่วโมง และการทดลองเพื่อดูผลของสารสกัดร่วมที่มีต่อปริมาณไลโคปีนที่สกัดได้พบว่าการใช้สารสกัดร่วมจะทำให้ได้ปริมาณไลโคปีนที่มากกว่าในภาวะที่ไม่ใช้สารสกัดร่วม อีกทั้งสารสกัดร่วมยังมีคุณสมบัติในการป้องกันการเสื่อมสลายของไลโคปีน และช่วยให้ไลโคปีนที่สกัดได้มีความเสถียรอีกด้วย สรุปได้ว่าภาวะต่างๆมีผลต่อปริมาณไลโคปีนที่สกัดได้ โดยภาวะที่ดีที่สุดสำหรับการสกัดไลโคปีนจากมะเขือเทศคือ ที่ความดัน 450 bar, อุณหภูมิ 65 - 70 องศาเซลเซียส, อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 18-20 กิโลกรัม/ชั่วโมง, ขนาดของมะเขือเทศประมาณ 1 มิลลิเมตร และใช้สารสกัดร่วม โดยปริมาณไลโคปีนที่สกัดได้มากที่สุดเท่ากับ 60% ของไลโคปีนที่สามารถที่จะสกัด(22)

การศึกษาการสกัดสารจากเมล็ดทานตะวันด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต โดยศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดคือ ผลของอุณหภูมิ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ และขนาดของวัตถุดิบ ภาวะที่ทำการทดลองคือที่ ความดัน 250 บาร์ และอุณหภูมิระหว่าง 40-60 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองพบว่า การเพิ่มอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ และลดขนาดของวัตถุดิบ จะสามารถสกัดน้ำมันได้มากขึ้น ในขณะที่การลดอุณหภูมิแม้จะทำให้ค่าความหนาแน่นเพิ่มมากขึ้น แต่ความสามารถในการแพร่กระจายก็จะต่ำลง ทำให้ไม่สามารถสรุปแนวโน้มที่แน่นอนได้ ภาวะการสกัดที่เหมาะสมคืออุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 3.2 กิโลกรัม/ชั่วโมง และขนาดของวัตถุดิบที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.25 มิลลิเมตร (53)

การนำน้ำแข็งแห้งมาเป็นแหล่งคาร์บอนไดออกไซด์ ในการสกัดและตรวจวัดสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต ซึ่งสามารถสกัดได้ทั้ง Volatile Organic Compounds (VOCs) and Semivolatile Organic Compounds (SOCs) รวมถึง Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), *n*-alkanes, and Polychlorinated Biphenyls (PCBs) โดยมีการใช้โพลีอินเป็น ตัว modifier ได้อย่างมีประสิทธิภาพและไม่จำเป็นต้องใช้ปั๊มความดันสูงและถังบรรจุคาร์บอนไดออกไซด์ ที่ต้องใช้พลังงานไฟฟ้า ทำให้อุปกรณ์มีน้ำหนักน้อยเหมาะกับการตรวจวัดระดับภาคสนาม (54)

การใช้คาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตในการสกัดน้ำมันพริกไทย จากเมล็ดพริกไทยดำ ศึกษาถึงผลของอุณหภูมิ ความดัน อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ และขนาดของวัสดุที่ มีต่อการสกัด และหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัด พบว่าการเพิ่มความดันและลดอุณหภูมิส่งผลให้การสกัดเพิ่มมากขึ้น และการเพิ่มอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์จะทำให้การสกัดเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน ส่วนผลของขนาดพบว่า ขนาดเล็กลง จะสกัดสารได้เพิ่มขึ้น เนื่องจากการแพร่ผ่านเกิดขึ้นได้เร็ว เพราะขนาดอนุภาคที่เล็กนั้น จะมีความต้านทานการแพร่ได้น้อย แต่ยังไม่สามารถสรุปได้อย่างมีนัยสำคัญ ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ ที่ความดัน 22-26 MPa อุณหภูมิ 312 K ขนาดเมล็ดพริกไทย 30-40 mesh และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 0.3-0.4 m³/h. (55,56)

การศึกษาถึงการละลายของน้ำมันจากเมล็ดแอฟริคอต ในคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตที่อุณหภูมิ 313.15, 323.15 และ 333.15 K และความดันที่ 15, 30, 45, 52.5 และ 60 MPa พบว่าการละลายของน้ำมันจากเมล็ดแอฟริคอตเพิ่มขึ้นเมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิในช่วงความดันที่มากกว่า 30 MPa แต่เมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิในช่วงความดัน ที่ต่ำกว่า 30 MPa การละลายของน้ำมันจากเมล็ดแอฟริคอตจะลดลง (57)

การสกัดน้ำมันจาก parsley seed ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต โดยทำการสกัดที่ความดัน 10-15 MPa อุณหภูมิ 308 - 312 K และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 0.7, 1.1 และ 2 กิโลกรัม/ชั่วโมง ขนาดวัสดุที่เฉลี่ย 293 และ 495 μ m ผลการทดลองพบว่า การลดขนาดของวัสดุที่ส่งผลให้สามารถสกัดน้ำมันได้เพิ่มมากขึ้น แต่ในส่วนของอุณหภูมิกับความดัน ไม่สามารถสรุปแนวโน้มที่แน่นอนได้ ต้องพิจารณาจากผลของค่าความหนาแน่น กับค่าความสามารถในการแพร่กระจาย ว่าสิ่งใดที่มีผลมากกว่ากัน ต่อการปรับค่าที่เหมาะสม (58)

การสกัด carnosic acid ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากใบ rosemary ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต เปรียบเทียบกับการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ศึกษาโดยนำใบ rosemary ที่ทำการอบแห้ง บด และร่อนแล้ว มาสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต ที่ความดัน 355 บาร์

อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 4 มิลลิลิตร/นาที เปรียบเทียบกับการสกัดด้วย อะซีโตน, เมทานอล, เฮกเซน และไดคลอโรมีเทน โดยเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่าการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตให้ ปริมาณ carnosic acid สูงถึง 35.7 มิลลิกรัม/กรัม ส่วนการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์พบว่า การสกัดด้วย อะซีโตน จะให้ปริมาณ carnosic acid เท่ากับ 26.2 มิลลิกรัม/กรัม ซึ่งให้ ปริมาณ carnosic acid มากที่สุดในบรรดาตัวทำละลายอินทรีย์ทั้งหมดที่ใช้ จึงสรุปได้ว่าการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากใบ rosemary ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต ให้ปริมาณสารมากกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ อีกทั้งยังทำได้รวดเร็ว, ง่าย และให้ผลที่แม่นยำกว่าด้วย(59)



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

ตารางที่ 3.1 ชื่อสารเคมีและบริษัทผู้ผลิต

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต	
1. นอร์มอลออกตาโคเซน (n-octacosane)	Analytical grade	SIGMA , USA
2. เฮกเซน (n- hexane)	Analytical grade	J.T.Baker , USA
3. เอทานอล (absolute ethanol)	Commercial grade	กรมสรรพสามิต , ประเทศไทย
4. เอทิล อะซิเตท (ethyl acetate)	Analytical grade	J.T.Baker , USA
5. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide)	Analytical grade	Mallinckrodt, Mexico
6. conc. sulfuric acid	Lab grade	Merck, Germany
7. acetic acid	Lab grade	Merck, Germany
8. p-anisaldehyde	Lab grade	Merck, Germany
9. Sodium sulfate anhydrous	Lab grade	Merck, Germany
10. คาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide)	Industrial grade	ไทยอินดัสเตรียลแก๊ส จำกัด, ประเทศไทย
11. silica gel 60 (ขนาด 0.063-0.200 มิลลิเมตร)	For column chromatography	Merck, Germany

3.1.2 อุปกรณ์

ตารางที่ 3.2 ชื่อเครื่องมือ รุ่น และบริษัทผู้ผลิต

เครื่องมือ	รุ่น	บริษัทผู้ผลิต
1. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี	6890	Agilent , USA
2. เครื่องคอลัมน์โครมาโทกราฟี (column chromatography)	-	Buchi , Switzerland
3. เครื่องเขย่าผสม (vertex-mixer)	Vertex_Genie No.2	Science , USA
4. เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (water bath shaker)	WRT	New Brunswick Science ,USA
5. เครื่องชั่งแบบละเอียด (electronic balance)	Fx -180	A&D , Japan
6. เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator)	RE 52	Yamato , Japan
7. Auto pipette	pipetman	Gilson , France
8. ตู้อบแห้ง (Hot air oven)	UL - 80	Memmert , Germany
9. ตู้อบสุญญากาศ (Vacuum Drying Oven)	DP – 41	Yamato , Japan
10. อุปกรณ์เครื่องคาร์บอนไดออกไซด์ ภาวะเหนือวิกฤต (Lab Scale)		
A. High Pressure Pump	P-50-2	Tintometer, USA
B. เครื่องหล่อเย็น (Cooling)	CBN 18-30	Scientific promotion, Denmark
C. เครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบใช้น้ำ หมุนเวียน (water bath)	OBN 18	Scientific promotion, Denmark
D. Automatic back Pressure	BP-1580-81	JASCO cooperation, Japan
E. ท่อ stainless steel	2.48 mm	-
11. เครื่องคาร์บอนไดออกไซด์ ภาวะเหนือวิกฤต (Pilot Scale)	24L-SFE	Guang Zhou Masson New Separation Technology, China

3.2 ใบเปล้าน้อย

เปล้าน้อย (*Croton stellatopilosus* Ohba) สายพันธุ์ IBGE 17 จากแปลงทดลองสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพฯ (บ้านเด็ก จุฬาฯ) โดยเก็บใบตำแหน่งที่ 5 ถึง 10 จากยอดในแต่ละช่อนำมาอบที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดแล้วร่อน ผ่านตะแกรงขนาด 22 mesh เก็บส่วนที่ผ่านตะแกรงในตู้เย็นที่ อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลอง

3.2.1 การหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นเริ่มต้นในใบสด

1. เก็บใบเปล้าน้อยจากแหล่งที่ 5 ถึง 10 จากยอดใบของต้นประมาณ 4-5 ใบ มาทำความสะอาด
2. ชั่งน้ำหนักใบเปียก
3. นำใบที่ชั่งแล้วไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 ชั่วโมง
4. รอให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนักใบแห้ง

3.2.2 การหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นในใบแห้ง

1. นำใบเปล้าน้อยที่ผ่านการอบแห้งและบดแล้ว ประมาณ 100 กรัม มาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. นำไปอบที่ อุณหภูมิ 105 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 1 วัน
3. รอให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนักใบแห้ง

3.3 การวิเคราะห์เปลาโนทอลด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

3.3.1 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

ทำการเตรียมสารละลายเปลาโนทอลบริสุทธิ์ในเฮกเซนที่ความเข้มข้นต่างๆ 100-500 ppm ที่มี n-octacosane ในเฮกเซน 25 ppm เป็น internal standard โดยมีรายละเอียดการเตรียมสารตามภาคผนวก ก จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี โดยมีภาวะดังนี้

อินเจคเตอร์ (Injector): ใช้ระบบฉีดสารแบบอัดโนมิตี ซึ่งปริมาตรของตัวอย่างที่ฉีดเข้าคอลัมน์เท่ากับ 1 ไมโครลิตร

อินเลต (Inlet): ใช้ระบบ split mode อัตราส่วน 40 : 1 โดยมีก๊าซฮีเลียมเป็นก๊าซตัวพา

อุณหภูมิที่ใช้ เท่ากับ 300 องศาเซลเซียส โดยมีแก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สพาที่มีอัตราการไหลเท่ากับ 25 มิลลิลิตร/นาที ตั้งค่าระบบ gas saver mode เท่ากับ 20 มิลลิลิตร/นาที

คอลัมน์ (Column): ใช้ capillary column ชนิด HP-1 ซึ่งมี 1% phenyl-methyl siloxane เป็นเฟสอยู่กับที่ ยาว 25 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 320 ไมโครเมตร หนา 0.17 ไมโครเมตร ใช้ อุณหภูมิเท่ากับ 285 องศาเซลเซียส อัตราการไหลเท่ากับ 1.2 มิลลิลิตร/นาที

ดีเทคเตอร์ (Detector): ใช้ดีเทคเตอร์ชนิด flame ionization detector (FID) อุณหภูมิ ที่ใช้
 เท่ากับ 285 องศาเซลเซียส
 อัตราเร็วของแก๊สไฮโดรเจน เท่ากับ 40 มิลลิลิตร/นาที
 อัตราเร็วของอากาศเท่ากับ 450 มิลลิลิตร/นาที
 อัตราการไหลของไนโตรเจน เท่ากับ 45 มิลลิลิตร/นาที
 ใช้เวลาวิเคราะห์ทั้งหมด 3.5 นาที

3.4 การสกัดเปลาโนทอลด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

1. ชั่งเปลาโนทอล 0.5 กรัม เติม 95 % (v/v) เอทานอล 5 มิลลิลิตร
2. สกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง 30 นาที ทิ้งให้เย็น
3. กรองเอาสารละลายทั้งหมดด้วยกระดาษกรอง ใส่ในหลอดทดลองที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน
4. นำสารที่กรองได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน
5. อบแห้งในตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นานประมาณ 30 นาที
6. ชั่งเพื่อหาน้ำหนักแห้ง
7. เติม 10 % (w/v) NaOH 0.4 มิลลิลิตร และ 50 % (v/v) เอทานอล 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
8. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที พร้อมเขย่า ทิ้งให้เย็น
9. ทำการสกัดด้วย เฮกเซน 3 มิลลิลิตร 3 ครั้ง ดูดใส่หลอดทดลองที่ทราบน้ำหนักแน่นอน
10. ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน
11. อบแห้งในตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นานประมาณ 30 นาที
12. ชั่งเพื่อหาน้ำหนักแห้ง
13. เติม n-octacosane ซึ่งเป็น internal standard ที่ความเข้มข้น 250 ppm ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
 จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร ด้วยเฮกเซน
14. วิเคราะห์หาปริมาณเปลาโนทอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

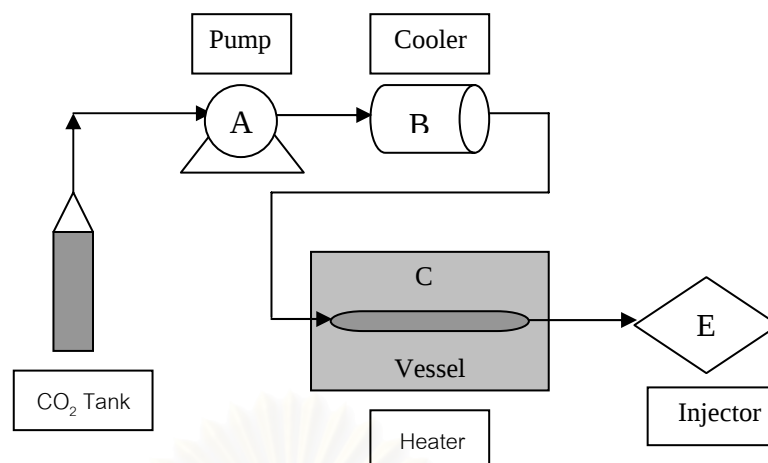
3.5 การสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

3.5.1 การสกัดระดับห้องปฏิบัติการ (Lab Scale)

3.5.1.1 หาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ ภาวะเหนือวิกฤต

1. ชั่งใบเปลาโนทอลประมาณ 8 กรัม จดน้ำหนักที่แน่นอน
2. บรรจุลงในท็อสสกัด (stainless steel vessel)
3. ต่อท็อสสกัดที่บรรจุตัวอย่างแล้วเข้าสู่ระบบ จากนั้นจุ่มท็อสสกัดลงใน เครื่องควบคุม อุณหภูมิแบบใช้น้ำหมุนเวียน (Water bath)
4. เปิดเครื่องควบคุมอุณหภูมิ น้ำ ปรับตั้งค่าอุณหภูมิที่ต้องการ (40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส)
5. เปิดเครื่องหล่อเย็น (Cooling) รอจนอุณหภูมิลดลงถึง -9 องศาเซลเซียส
6. ปรับความดันของคาร์บอนไดออกไซด์ขาออกจากเครื่อง Automatic back Pressure (255, 265, 275 บาร์)
7. เปิดคอมพิวเตอร์และโปรแกรมควบคุมระบบ ปรับอัตราการไหลของ คาร์บอนไดออกไซด์ (3, 5 กรัม/นาที่) และความดันของคาร์บอนไดออกไซด์ (255, 265, 275 บาร์)
8. เปิดวาล์วของถังคาร์บอนไดออกไซด์
9. กด start pump ที่โปรแกรมควบคุมระบบ
10. รอจนความดันถึงตามที่กำหนด จับเวลาเมื่อสารสกัดออกมาทาง injector
11. เก็บตัวอย่างทุก 20 นาที เป็นเวลา 220 นาที
12. ชั่งหาน้ำหนักสารที่สกัดได้ในแต่ละช่วงเวลา
13. นำสารสกัดที่ได้ ไปย่อยให้อยู่ในรูปเปลาโนทอลอิสระ ตามภาคผนวก ก ก่อนนำไป วิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี

สถาบันวิจัยปฏิบัติการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.1 แผนผังการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต (lab scale)

3.5.1.2 ผลของอุณหภูมิต่อการสกัดเปลาโนทอล ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ ภาวะเหนือวิกฤต

ทำการสกัดใบเปล้าน้อยด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต ตาม ขั้นตอนใน 3.5.1.1 โดยแปรค่าอุณหภูมิ (40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส) ที่ความดัน และ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์คงที่

3.5.1.3 ผลของความดันต่อการสกัดเปลาโนทอล ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ ภาวะเหนือวิกฤต

ทำการสกัดใบเปล้าน้อยด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต ตาม ขั้นตอนใน 3.5.1.1 โดยแปรค่าความดัน (255, 265, 275 บาร์) ที่อุณหภูมิและ อัตรา การไหลของคาร์บอนไดออกไซด์คงที่

3.5.1.4 ผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการสกัดเปลาโนทอล ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

ทำการสกัดใบเปล้าน้อยด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต ตาม ขั้นตอนใน 3.5.1.1 โดยแปรค่าอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ (3, 5 กรัม/นาที) ที่อุณหภูมิและความดันคงที่

3.5.1.5 ผลของขนาดใบเปล้าน้อยต่อการสกัดเปลาโนทอล ด้วย คาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

1. ทำการร่อนแยกขนาดใบเปล้าน้อยที่เตรียมไว้(ขนาดเล็กกว่า 22 mesh) ออกเป็น 3 ขนาดคือ เล็ก กลาง และใหญ่ ด้วยตะแกรงร่อนขนาด 26 และ 36 mesh ซึ่ง

ใบขนาดเล็ก มีขนาดน้อยกว่า 36 mesh

ใบขนาดกลางอยู่ระหว่าง 26 และ 36 mesh

ใบขนาดใหญ่ มีขนาดระหว่าง 22 และ 26 mesh

- นำใบแต่ละขนาดมาทำการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตตามขั้นตอนใน 3.5.1.1

3.5.1.6 ผลของสารสกัดร่วมต่อการสกัดเปลาโนทอล ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

- ซึ่งใบเปล้าน้อยประมาณ 8 กรัมผสมลงในสารสกัดร่วม (hexane, ethanol, palm oil) ปริมาตร 16 มิลลิลิตร
- ทำการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต ตามขั้นตอนใน 3.5.1.1

3.5.1.7 ผลของเวลาในการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

ทำการเพิ่มเวลากัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต จากที่ได้ออกแบบการทดลองไว้คือ 220 นาที โดยสกัดต่ออีก 90 นาทีเพื่อดูผลของเวลาต่อการสกัดที่เหมาะสม จากนั้นนำใบเปล้าน้อยที่ผ่านการสกัดแล้วนั้นมาทำการสกัดต่อด้วยตัวทำละลายอินทรีย์อีกครั้งเพื่อเป็นการยืนยันผล

3.5.1.8 วิเคราะห์ผลด้วย SPSS

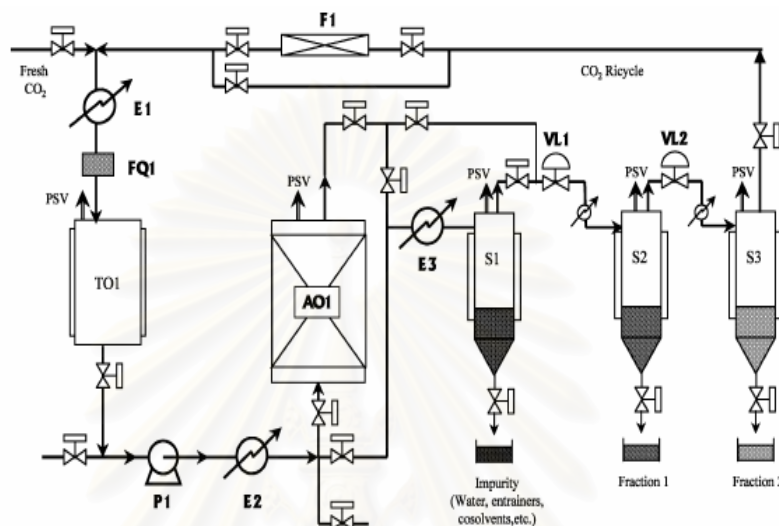
นำเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต ในแต่ละภาวะการทดลองมาวิเคราะห์หาผลของตัวแปรทั้ง 3 ตัวคือ ความดัน อุณหภูมิ และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ ต่อทั้งเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัดจากการสกัดด้วยโปรแกรม SPSS เพื่อให้ประกอบในการหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัด

3.5.2 การสกัดระดับนำร่อง (Pilot Scale)

นำภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตระดับห้องปฏิบัติการ (Lab Scale) มาทำการสกัดในระดับส่วนขยายโดยใช้เครื่องคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตในระดับนำร่อง (pilot scale) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

- บรรจุใบเปล้าน้อยบดที่ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน (8-10 กิโลกรัม) ลงในคอลัมน์สกัด (AO1)
- ต่อคอลัมน์เข้าระบบ
- ตั้งค่าภาวะการสกัดที่จะใช้ (ความดัน, อุณหภูมิ, อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์)
- เปิดวาล์วถึงแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

5. เริ่มทำการสกัด ที่โปรแกรมควบคุมระบบ
6. เก็บสารที่สกัดได้เมื่อครบเวลาที่กำหนด จากถังแยกที่ 2 และ 3 (S2, S3)
7. ชั่งหาน้ำหนักสารที่สกัดได้
8. นำสารสกัดที่ได้ ไปย่อยให้อยู่ในรูปเปลาโนทอลอิสระ ตามภาคผนวก ก ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี



รูปที่ 3.2 แผนผังการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต (pilot scale)

โดย AO1 = คอลัมน์สกัด, F= ตัวกรอง, E= ตัวควบคุมอุณหภูมิ

S1, S2, S3 = ถังแยกที่ 1, 2 และ 3, P = ปั๊ม, V = วาล์ว

TO1 = ถังเก็บคาร์บอนไดออกไซด์

3.5.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัด ระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์ และ คาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

นำค่าเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัดที่ได้ ที่มีค่ามากที่สุดจากสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต มาทำการเปรียบเทียบกับ เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด จากตัวทำละลายอินทรีย์ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัด

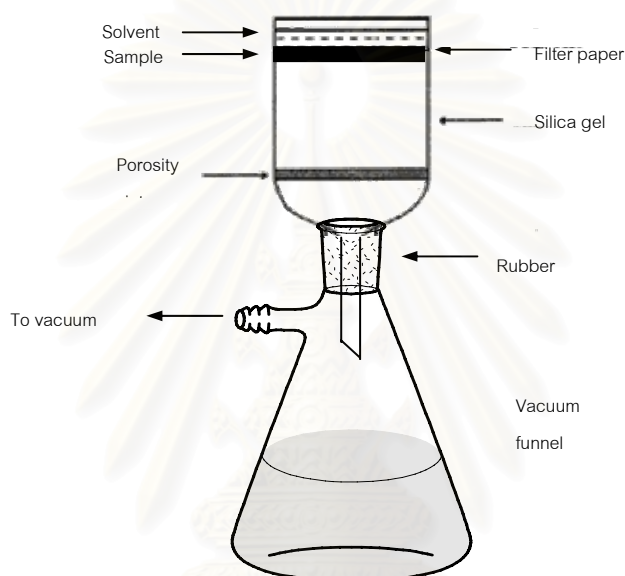
3.6 การทำเปลาโนทอลให้บริสุทธิ์

หลังจากสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือในระดับส่วนขยาย (Pilot Scale) จากการทดลองที่ 3.5.1 แล้วนำสารที่สกัดได้ไปย่อยให้อยู่ในรูปเปลาโนทอลอิสระ ตามภาคผนวก ก จากนั้นสกัดด้วยเฮกเซน และระเหยแห้ง ซึ่งสารสกัดที่ได้ หลังจากนั้นแล้วนำมาละลายด้วยเฮกเซน เติม

Silica gel 60 (ขนาด 0.063-0.200 มิลลิเมตร) คนให้ทั่ว จากนั้นนำไประเหยแห้ง ซึ่งน้ำหนักสารที่ได้ เพื่อใช้ในขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์

3.6.1 การทำให้บริสุทธิ์ด้วย quick column chromatography

1. ชั่ง Silica gel ที่เคลือบด้วยสาร 200 กรัม + Silica gel 200 กรัม pack ลงใน column ดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 อุปกรณ์การทำเปลาโนทอลให้บริสุทธิ์ด้วย quick column chromatography

2. Elute ด้วยตัวทำละลายดังนี้

100% Hexane	800 มิลลิลิตร	จำนวน 2 ครั้ง	
10% EtOAc	400 มิลลิลิตร	จำนวน 2 ครั้ง	เก็บ fraction = 1
20% EtOAc	400 มิลลิลิตร	จำนวน 2 ครั้ง	เก็บ fraction = 2
30% EtOAc	400 มิลลิลิตร	จำนวน 2 ครั้ง	เก็บ fraction = 3
50% EtOAc	400 มิลลิลิตร	จำนวน 2 ครั้ง	เก็บ fraction = 4
60% EtOAc	400 มิลลิลิตร	จำนวน 2 ครั้ง	เก็บ fraction = 5

3. ตรวจสอบความบริสุทธิ์เบื้องต้นโดย Thin Layer Chromatography โดยใช้สารละลาย p-anisaldehyde เป็น spray detecting reagent

4. ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเปลาโนทอลที่สกัดได้ในแต่ละ fractions ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี

โดยปิเปตสารจาก fraction ที่ได้ fraction ละ 1 มิลลิลิตร เติม n-octacosane 1 มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร

5. รวม fraction ที่มีเปลาโนทอลบริสุทธิ์สูง ระเหยแห้ง
6. นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยผ่านคอลัมน์โครมาโทกราฟี

3.6.2 การทำให้บริสุทธิ์ column chromatography

1. เปิดเครื่องคอลัมน์โครมาโทกราฟีซึ่งได้แก่ pump, uv detector, fraction collector และ คอมพิวเตอร์
2. ตั้งค่า pump ให้ได้สารละลายผสมของ hexane : ethyl acetate ในอัตราส่วน 10:0, 8:2, 7:3 และ 6:4 ตามลำดับ ที่เวลาต่างๆ ให้เหมาะสมต่อการแยก
3. ตั้งค่า uv detector ที่ช่วงความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร
4. ตั้งค่า fraction collector ให้เก็บตัวอย่างหลอดละ 5 มิลลิลิตร
5. เครื่องคอมพิวเตอร์ จะทำการแสดงโครมาโตแกรมที่ได้
6. แบ่งสารที่ผ่านขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ด้วย quick column chromatography มาประมาณ 500 มิลลิกรัม (ซึ่งน้ำหนักที่แน่นอน)
7. ดูดสารด้วยเข็มฉีดยา ฉีดลงในคอลัมน์ซึ่งบรรจุด้วย Silica gel 60
8. เริ่มการทำให้บริสุทธิ์ โดยกด start pump และ fraction collector ซึ่งเครื่องจะทำการชะสาร ด้วย hexane : ethyl acetate ในอัตราส่วน 10:0, 8:2, 7:3 และ 6:4 ตามเวลาที่ตั้งไว้ตามลำดับ
9. ตรวจสอบความบริสุทธิ์เบื้องต้นของสารที่ได้ในแต่ละหลอดโดย TLC ใช้สารละลาย p-anisaldehyde เป็น spray detecting reagent
10. เก็บ fraction ที่บริสุทธิ์รวมกัน วัดปริมาตร
11. ปิเปตสารละลายที่ได้ 1 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร
12. เติม n-octacosane 250 ppm 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร
วิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

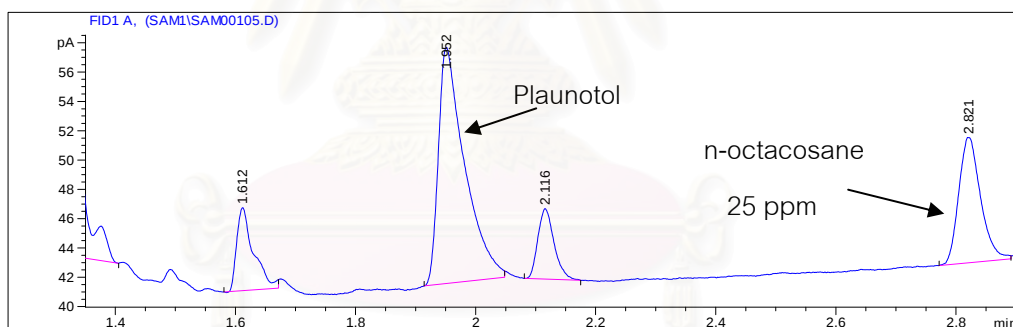
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การเตรียมตัวอย่างไบโพลิเมอร์

ไบโพลิเมอร์ IBGE 17 มีความชื้นเริ่มต้น 70 ± 5 % (w/w) หลังจากผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 ชั่วโมงและบด ร่อนให้มีความถี่ขนาด 22 mesh มีความชื้นสุดท้าย 6 ± 1 % (w/w) เก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

4.2 การสกัดเปลาโนทอลด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

จากการสกัดเปลาโนทอลด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ และทำการวิเคราะห์หาปริมาณเปลาโนทอล ที่สกัดได้ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีตามวิธีการทดลองในข้อ 3.4 พบว่าไบโพลิเมอร์ IBGE 17 มี เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในไบโพลิเมอร์เท่ากับ 0.20 % (w/w) และมีเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในสารสกัดเอทานอล เท่ากับ 5.89 % (w/w) ซึ่งมีโครมาโทแกรมดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 โครมาโทแกรมที่ได้จากการสกัดไบโพลิเมอร์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

4.3 การสกัดเปลาโนทอล ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต ระดับห้องปฏิบัติการ (Lab Scale)

4.3.1 ผลของขนาดไบโพลิเมอร์ต่อการสกัดเปลาโนทอล ด้วย คาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

เตรียมตัวอย่างไบโพลิเมอร์ IBGE 17 บด โดยการร่อนผ่านตะแกรง 3 ขนาดคือ เล็ก กลาง และ ใหญ่ โดยขนาดเล็ก คือ <36 mesh, ขนาดกลาง คือระหว่าง 26 mesh ถึง 36 mesh และขนาดใหญ่ คือ ขนาดระหว่าง 22 และ 26 mesh นำไบโพลิเมอร์แต่ละขนาดไปสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

ตามวิธีการทดลองในข้อ 3.5.1.1 โดยมีภาวะดังนี้ คือ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 3 กรัม/นาที่ ความดันเท่ากับ 275 บาร์ และอุณหภูมิเท่ากับ 40 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัดที่สกัดได้ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้จาก ใบเปล่าน้อยขนาดต่าง ๆ

	ขนาดใบเปล่าน้อยขนาด		
	ขนาดเล็ก	ขนาดกลาง	ขนาดใหญ่
% เปลาโนทอลในใบ (w/w)	0.2089 ± 0.001	0.2024 ± 0.001	0.2021 ± 0.001
% เปลาโนทอลในส่วนสกัด (w/w)	7.35 ± 0.01	7.56 ± 0.01	7.89 ± 0.01

จากผลการทดลองที่ได้จะพบว่าใบเปล่าน้อยขนาดทั้ง 3 ขนาด ให้เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ไม่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าขนาดใบไม่ส่งผลต่อการสกัดดังนั้น ในการทดลองต่อไป จะใช้ใบเปล่าน้อยขนาดที่มีขนาดน้อยกว่า 22 mesh ในการสกัด

ส่วนในการศึกษาการสกัดน้ำมันจาก parsley seed (58), สกัดสารจากเมล็ดทานตะวัน (53), การสกัดสารจากเมล็ดพริกไทยดำ (55,56) ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตพบว่า การลดขนาดของวัตถุดิบ ส่งผลให้สามารถสกัดน้ำมันได้เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากการลดขนาด จะเป็นการเพิ่มอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรของตัวละลาย ส่งผลให้การสัมผัสกันเกิดมากขึ้น การสกัดจึงเกิดได้ดีขึ้น (53,55,56,58)

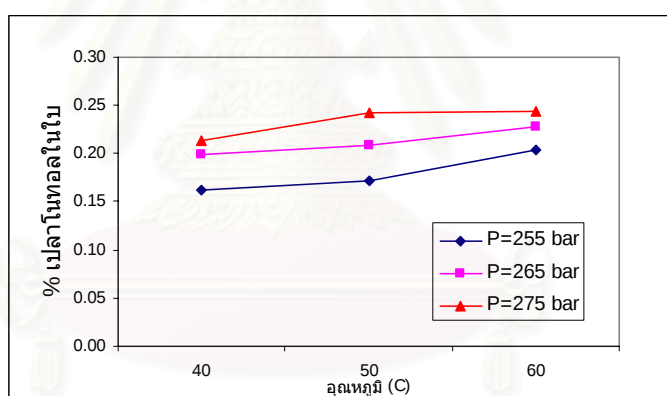
4.3.2 การหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต (อุณหภูมิ ความดัน และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์)

4.3.2.1 ผลของอุณหภูมิต่อการสกัดเปลาโนทอล ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ ภาวะเหนือวิกฤต

การศึกษาถึงผลของอุณหภูมิที่มีต่อการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต ทำการศึกษาโดยแปรค่าอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดที่ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่ความดันและ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์คงที่ ผลการทดลองที่ได้แสดงใน ภาคผนวก ค.

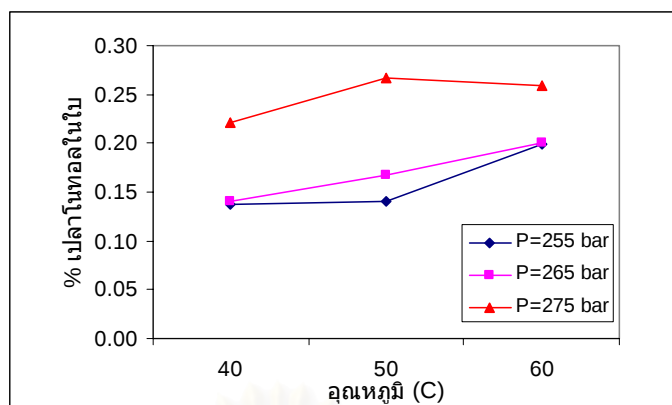
จากการเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิที่มีต่อเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบที่สกัดได้ ที่ความดัน 255, 265 และ 275 บาร์ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 3 และ 5 กรัม/ นาที่ แสดงในรูปที่ 4.2 และ 4.3 ตามลำดับ จากผลการทดลองที่ได้ในรูปที่ 4.2 จะเห็นว่าที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์

ที่ 3 กรัม/ นาที่ ที่ความดันทั้ง 3 ระดับ คือที่ความดัน 255, 265 และ 275 บาร์ เมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิ จาก 40 เป็น 50 และ 60 องศาเซลเซียสตามลำดับ จะสามารถสกัดเปลาโนทอลได้มากขึ้นตามลำดับ ส่วนที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 5 กรัม/ นาที่ ที่ความดัน 255, 265 บาร์เมื่อทำการเพิ่ม อุณหภูมิจาก 40 เป็น 50 และ 60 องศาเซลเซียสตามลำดับ จะสามารถสกัดเปลาโนทอลเทียบกับใบได้ มากขึ้นตามลำดับ ยกเว้นที่ระดับความดัน 275 บาร์ เมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิจาก 40 เป็น 50 องศา เซลเซียส จะสามารถสกัดเปลาโนทอลได้มากขึ้น แต่เมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิจาก 50 เป็น 60 องศา เซลเซียส จะสามารถสกัดเปลาโนทอลได้ลดลง แต่ลดลงเพียงเล็กน้อยคือ ลดลงจาก 0.27% เป็น 0.26 % แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มอุณหภูมิจะส่งผลต่อการสกัดที่มากขึ้น แม้ว่าการเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้ค่าความ หนาแน่น และการละลายของเปลาโนทอลลดลง แต่การเพิ่มอุณหภูมินั้นก็เป็นการเพิ่มการละลายของ เปลาโนทอล ออกจากใบเปล่าน้อยหรือโครงสร้างภายใน (matrix) สูสารละลายหรือคาร์บอนไดออกไซด์ ได้ ซึ่งมีผลทำให้สกัดสารได้มากหรือกล่าวได้ว่าการเพิ่มอุณหภูมิจะไปลดความหนาแน่นของ คาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้แพร่เข้าไปในใบเปล่าน้อยได้ดีเกิดการสกัดได้มากขึ้น สอดคล้องกับการสกัดไล โคปีนจากมะเขือเทศ (22)ที่ พบว่า 66 องศาเซลเซียส สามารถสกัดสารไลโคปีนได้ในปริมาณที่มากกว่าที่ 45 องศาเซลเซียส และการสกัด carnosic acid ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากใบ rosemary (59)



รูปที่ 4.2 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ ที่อัตราการไหลของ คาร์บอนไดออกไซด์ = 3 กรัม/นาที่

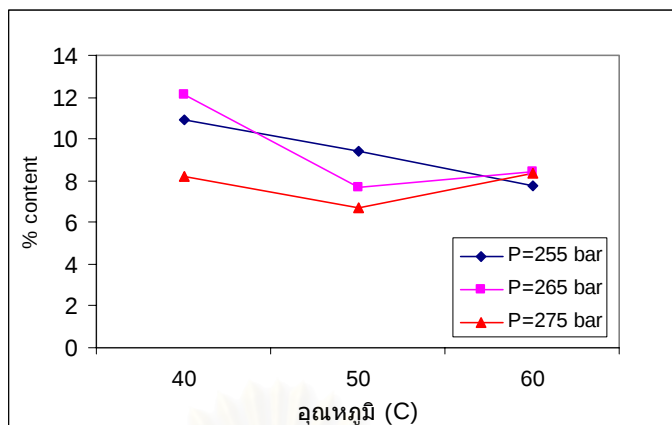
- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ที่ อุณหภูมิ 40, 50, 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่ ความดัน 255 บาร์
- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ที่ อุณหภูมิ 40, 50, 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่ ความดัน 265 บาร์
- ▲— เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ที่ อุณหภูมิ 40, 50, 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่ ความดัน 275 บาร์



รูปที่ 4.3 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณเปลาโนทอลในโบ ที่สกัดได้ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 กรัม/นาที่

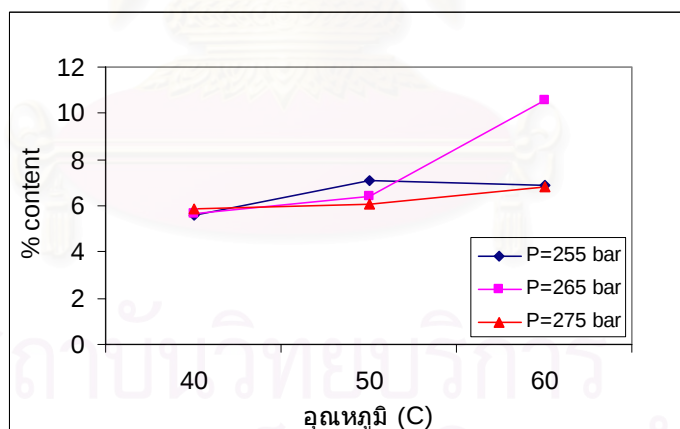
- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในโบ ที่สกัดได้ที่ อุณหภูมิ 40, 50, 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่ ความดัน 255 บาร์
- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในโบ ที่สกัดได้ที่ อุณหภูมิ 40, 50, 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่ ความดัน 265 บาร์
- ▲— เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในโบ ที่สกัดได้ที่ อุณหภูมิ 40, 50, 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่ ความดัน 275 บาร์

ส่วนการเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 3 และ 5 กรัม/นาที่ แสดงในรูปที่ 4.4 และ 4.5 ตามลำดับ ผลการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 3 กรัม/นาที่ ดังรูปที่ 4.4 พบว่า ที่ความดันทั้ง 3 ระดับเมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิจาก 40 องศาเซลเซียส เป็น 50 องศาเซลเซียส จะได้ปริมาณของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ลดลงจากนั้นเมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิจาก 50 องศาเซลเซียส เป็น 60 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 265 และ 275 บาร์จะได้ปริมาณของเปลาโนทอลในส่วนสกัดมากขึ้น แต่ที่ความดัน 255 บาร์ จะได้ปริมาณของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ลดลง ส่วนที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 กรัม/นาที่ ดังรูปที่ 4.5 พบว่าที่ความดันทั้ง 3 ระดับเมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิจาก 40 องศาเซลเซียส เป็น 50 องศาเซลเซียส จะได้ปริมาณของเปลาโนทอลในส่วนสกัดเพิ่มขึ้น จากนั้นเมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิจาก 50 องศาเซลเซียส เป็น 60 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 265 และ 275 บาร์ จะได้ปริมาณของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ลดลง ส่วนที่ความดัน 255 บาร์ จะได้ปริมาณของเปลาโนทอลในส่วนสกัดลดลง จากผลที่ได้พบว่าแนวโน้มปริมาณของเปลาโนทอลในส่วนสกัดที่ได้ไม่ไปในทิศทางเดียวกัน จึงไม่สามารถสรุปผลของอุณหภูมิที่มีต่อเปลาโนทอลในส่วนสกัด



รูปที่ 4.4 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้
ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 3 กรัม/นาที

- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ อุณหภูมิ 40, 50, 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่ ความดัน 255 บาร์
- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ อุณหภูมิ 40, 50, 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่ ความดัน 265 บาร์
- ▲— เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ อุณหภูมิ 40, 50, 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่ ความดัน 275 บาร์



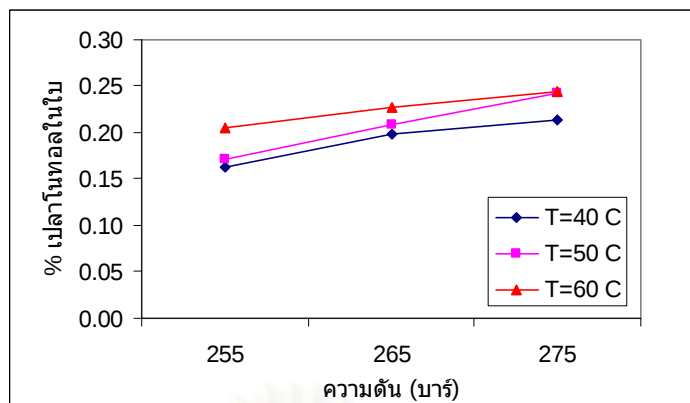
รูปที่ 4.5 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้
ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 กรัม/นาที

- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ อุณหภูมิ 40, 50, 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่ ความดัน 255 บาร์
- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ อุณหภูมิ 40, 50, 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่ ความดัน 265 บาร์
- ▲— เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ อุณหภูมิ 40, 50, 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่ ความดัน 275 บาร์

จากนั้นเมื่อนำค่าเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ไปทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS เพื่อดูถึงผลของอุณหภูมิต่อการสกัดโดยการวิเคราะห์หาความแปรปรวนแบบมีหลายปัจจัย (Multiple – Factors ANOVA) ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่มีต่อปริมาณของเปลาโนทอลในใบพบว่า ให้ค่า $\text{sig.} = 0.043$ ซึ่งน้อยกว่าค่า $\infty = 0.05$ (ตารางที่ ข 1) แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิมีผลต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 จึงทำการวิเคราะห์ด้วย Fisher's Least- Significant Difference (LSD) เพื่อหาว่าที่ระดับอุณหภูมิใดให้ปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่ดีที่สุด และจากการวิเคราะห์ด้วย LSD (ตารางที่ ข 2) พบว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีผลต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ไม่แตกต่างกับอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เนื่องจากให้ค่า $\text{sig.} = 0.248$ ซึ่งมากกว่าค่า $\infty = 0.05$ และพบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีผลต่อปริมาณ เปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้แตกต่างกับที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เนื่องจากให้ค่า $\text{sig.} = 0.043$ ซึ่งน้อยกว่าค่า $\infty = 0.05$ แต่พบว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีผลต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ไม่แตกต่างกับอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เนื่องจากให้ค่า $\text{sig.} = 0.192$ ซึ่งมากกว่าค่า $\infty = 0.05$ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเหมาะสมต่อการสกัดมากที่สุดเพราะให้ปริมาณเปลาโนทอลในใบ ไม่แตกต่างจาก อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อย่างมีระดับนัยสำคัญ 0.05 อีกทั้งยังประหยัดพลังงานด้วย ส่วนผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่มีต่อเปลาโนทอลในส่วนสกัด ความพบว่า ให้ค่า $\text{sig.} = 0.409$ ซึ่งมากกว่า ค่า $\infty = 0.05$ (ตารางที่ ข 1) แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิทั้ง 3 ระดับไม่มีผลต่อปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อพิจารณาผลที่ได้ทั้งหมดจะสามารถสรุปได้ว่าการเพิ่มอุณหภูมิจะส่งผลต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ให้เพิ่มมากขึ้น แต่อุณหภูมิไม่มีผลต่อปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสกัดมากที่สุดเท่ากับ 50 องศาเซลเซียส

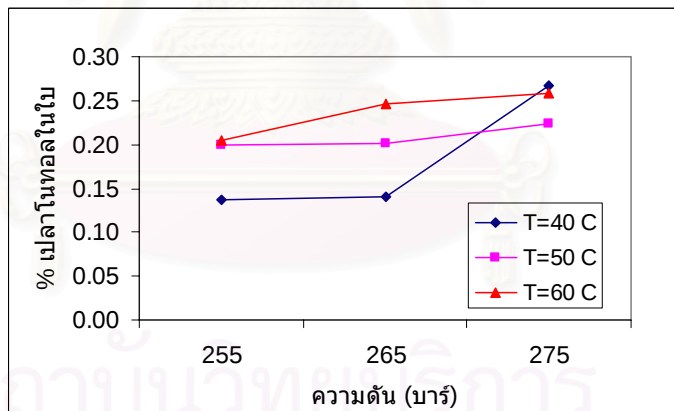
4.3.2.2 ผลของความดันต่อการสกัดเปลาโนทอล ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ ภาวะเหนือวิกฤต

การศึกษาถึงผลของความดันที่มีผลต่อการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต ทำโดยนำเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์ของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ทั้งหมดจากแต่ละการทดลองมาทำการเปรียบเทียบ ผลจากการเปรียบเทียบผลของความดันที่มีต่อเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 3 และ 5 กรัม/นาที แสดงในรูปที่ 4.6 และ 4.7 ตามลำดับ ส่วนการเปรียบเทียบผลของความดันที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 3 และ 5 กรัม/นาที แสดงในรูปที่ 4.8 และ 4.9 ตามลำดับ



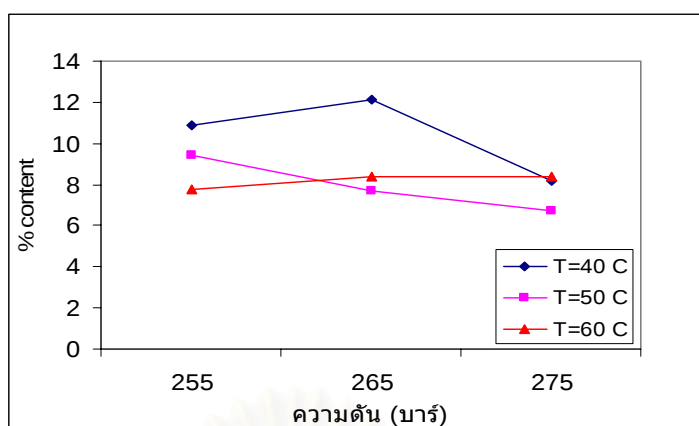
รูปที่ 4.6 ผลของความดันต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ที่อัตราการไหลของ คาร์บอนไดออกไซด์ = 3 กรัม/นาที

- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ที่ ความดัน 255, 265, 275 บาร์ ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ที่ ความดัน 255, 265, 275 บาร์ ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
- ▲— เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ที่ ความดัน 255, 265, 275 บาร์ ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.7 ผลของความดันต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ที่อัตราการไหลของ คาร์บอนไดออกไซด์ = 5 กรัม/นาที

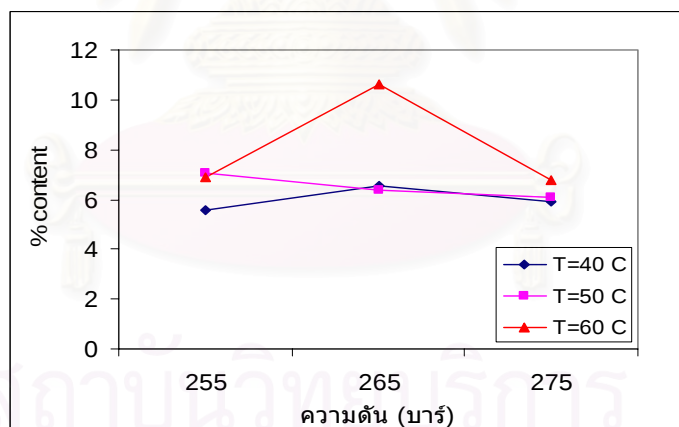
- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ที่ ความดัน 255, 265, 275 บาร์ ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ที่ ความดัน 255, 265, 275 บาร์ ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
- ▲— เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ที่ ความดัน 255, 265, 275 บาร์ ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.8 ผลของความดันต่อปริมาณของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้

ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 3 กรัม/นาที่

- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ ความดัน 255, 265, 275 บาร์ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ ความดัน 255, 265, 275 บาร์ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
- ▲— เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ ความดัน 255, 265, 275 บาร์ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.9 ผลของความดันต่อปริมาณของเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้

ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 กรัม/นาที่

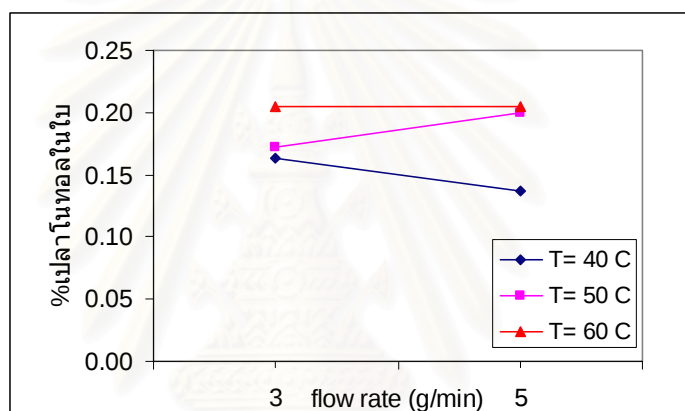
- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ ความดัน 255, 265, 275 บาร์ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ ความดัน 255, 265, 275 บาร์ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
- ▲— เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ ความดัน 255, 265, 275 บาร์ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

จากผลการเปรียบเทียบที่ได้พบว่าที่อุณหภูมิและอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เดียวกัน เมื่อทำการเพิ่มความดันจาก 255 บาร์ เป็น 265 บาร์ และ 275 บาร์ สามารถสกัดเปลาโนทอลในใบ ได้มากขึ้นตามลำดับ ซึ่งเหมือนกับในทุกๆระดับอุณหภูมิ และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ใช้ แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มอุณหภูมิจะส่งผลให้การสกัดเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากการเพิ่มความดันจะทำให้ค่าการละลายเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการสกัดโคโคเป็นจากมะเขือเทศ(22), การสกัดน้ำมันจากพริกไทยดำ (56,57), การสกัดน้ำมันจากเมล็ดแอฟริคอต (58) ส่วนการเปรียบเทียบเพื่อดูถึงผลของความดันที่มีต่อปริมาณของเปลาโนทอลในส่วนของสกัด ที่สกัดได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.8 และ 4.9 พบว่า เมื่อทำการเพิ่มความดันจาก 255 บาร์ เป็น 265 บาร์ ค่าเปลาโนทอลในส่วนของสกัด ที่ได้ที่อุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียส ทั้งที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3 และ 5 กรัม/ นาที มีค่าเพิ่มขึ้น แต่ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสนั้นลดลง แต่เมื่อเพิ่มความดันจาก 265 บาร์ เป็น 275 บาร์ ค่าเปลาโนทอลในส่วนของสกัด ที่ได้ที่อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียส ทั้งที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3 และ 5 กรัม/ นาที มีค่าลดลง แต่ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนั้นเพิ่มขึ้น จะเห็นว่าค่าเปลาโนทอลในส่วนของสกัด ที่ได้มีแนวโน้มไม่คงที่คือมีทั้งเพิ่มขึ้นและลดลง จึงไม่สามารถสรุปผลของความดันที่มีต่อเปลาโนทอลในส่วนของสกัดได้

ส่วนผลการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS โดยหาความแปรปรวนแบบมีหลายปัจจัย (Multiple – Factors ANOVA) ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่มีต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ พบว่าให้ค่า sig.= 0.048 ซึ่งน้อยกว่าค่า $\infty = 0.05$ (ตารางที่ ข 1) แสดงให้เห็นว่าความดันทั้ง 3 ระดับมีผลต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 จึงทำการวิเคราะห์หาค่าด้วย LSD เพื่อหาว่าที่ระดับความดันใดให้ปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่ดีที่สุด และจากการวิเคราะห์ด้วย LSD (ตารางที่ ข 3) พบว่าการสกัดที่ความดัน 265 และ 275 บาร์ ได้เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาประกอบกับผลการเปรียบเทียบปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ดังรูปที่ 4.6 และ 4.7 จะพบว่าที่ความดัน 275 บาร์ ให้ปริมาณเปลาโนทอลในใบ มากที่สุด ส่วนผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่มีต่อปริมาณเปลาโนทอลในส่วนของสกัด พบว่าให้ค่า sig.= 0.222 ซึ่งมากกว่าค่า $\infty = 0.05$ (ตารางที่ ข 1) แสดงว่าความดันทั้ง 3 ระดับ ไม่ส่งผลต่อเปลาโนทอลในส่วนของสกัด ที่ได้ เมื่อพิจารณาผลที่ได้ทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่าการเพิ่มความดันจะส่งผลต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบที่สกัดได้เพิ่มมากขึ้น แต่ความดันไม่มีผลต่อเปลาโนทอลในส่วนของสกัดที่สกัดได้ และความดันที่เหมาะสมต่อการสกัดมากที่สุดคือ 275 บาร์

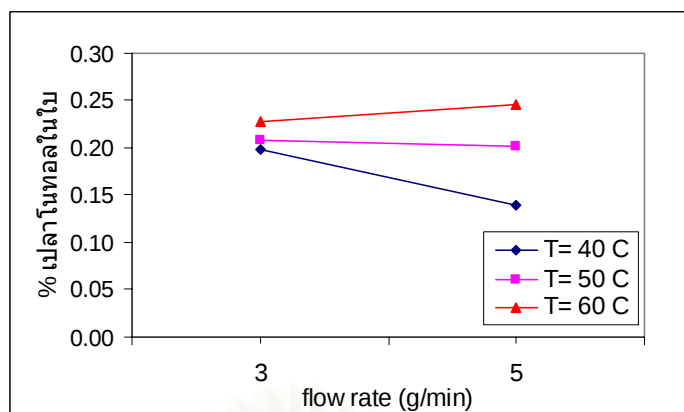
4.3.2.3 ผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการสกัดเปลาโนทอล ด้วย คาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

การศึกษาถึงผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีผลต่อการสกัดเปลาโนทอลด้วย คาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต ทำโดยนำเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบและเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอล ในส่วนสกัด ที่สกัดได้ทั้งหมด จากแต่ละการทดลองมาทำการเปรียบเทียบ ผลจากการเปรียบเทียบผล ของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ที่ระดับความดัน และอุณหภูมิต่างๆ แสดงในรูปที่ 4.10, 4.11 และ 4.12 ส่วนการเปรียบเทียบผลของอัตราการไหลของ คาร์บอนไดออกไซด์ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ระดับความดันและอุณหภูมิ ต่างๆ แสดงในรูปที่ 4.13, 4.14 และ 4.15



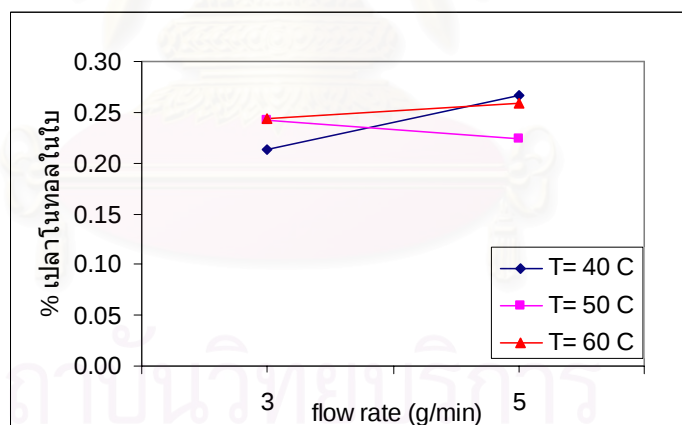
รูปที่ 4.10 ผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ทั้งหมดที่สกัดได้ ที่ความดัน 255 บาร์

- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
- ▲— เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



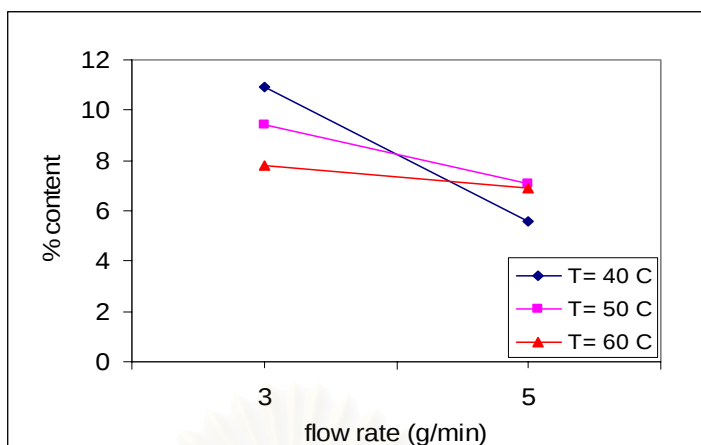
รูปที่ 4.11 ผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ
ทั้งหมดที่สกัดได้ ที่ความดัน 265 บาร์

- เพลอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์
3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
- เพลอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์
3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
- ▲— เพลอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์
3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



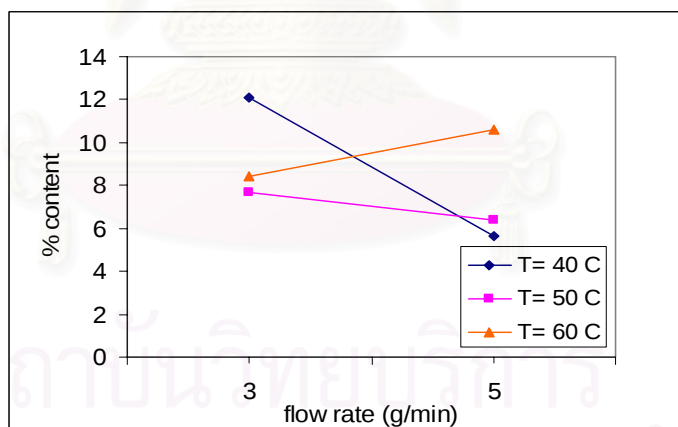
รูปที่ 4.12 ผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ
ทั้งหมดที่สกัดได้ ที่ความดัน 275 บาร์

- เพลอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์
3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
- เพลอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์
3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
- ▲— เพลอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์
3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



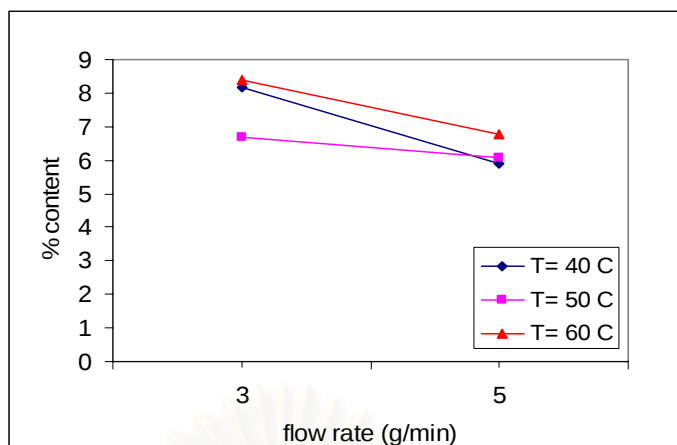
รูปที่ 4.13 ผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ความดัน 255 บาร์

- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 40 °C
- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 50 °C
- ▲— เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 60 °C



รูปที่ 4.14 ผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ความดัน 265 บาร์

- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 40 °C
- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 50 °C
- ▲— เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 60 °C



รูปที่ 4.15 ผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่ความดัน 275 บาร์

- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 40 °C
- เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 50 °C
- ▲— เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3, 5 กรัม/นาที่ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 60 °C

จากผลการเปรียบเทียบที่ได้ พบว่าที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 255 บาร์ , และที่ความดัน 265 บาร์, อุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 275 บาร์ เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์จาก 3 เป็น 5 กรัม/นาที่ จะให้ปริมาณเปลาโนทอลในใบเพิ่มขึ้น แต่ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทั้งที่ความดัน 255 และ 265 บาร์ และ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความดัน 275 บาร์ เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์จาก 3 เป็น 5 กรัม/นาที่ จะให้ปริมาณเปลาโนทอลในใบลดลง จากผลที่ได้นี้จะเห็นว่าแนวโน้มปริมาณเปลาโนทอลในใบที่ได้ ไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือมีทั้งเพิ่มขึ้น และลดลงเมื่อเพิ่มอัตราการไหลจาก 3 กรัม/นาที่ เป็น 5 กรัม/นาที่ ซึ่งอาจเนื่องมาจากการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่วัดเป็นอัตราการไหลที่จุดเริ่มต้น แต่เมื่อคาร์บอนไดออกไซด์ไหลผ่านท่อสกัดและไหลออกมาจาก injector แล้วจะมีอัตราการไหลไม่คงที่จึงให้ผลการสกัดที่ไม่คงที่ตามไปด้วย ส่วนผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ ที่มีต่อปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.13 ถึง 4.15 พบว่าที่อุณหภูมิทั้ง 3 ระดับคือ 40, 50, 60 องศาเซลเซียส ที่ความดันเดียวกัน เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นจาก 3 กรัม/นาที่ เป็น 5 กรัม/นาที่ จะได้ปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัด ลดลง ยกเว้นที่ ความดัน 265 บาร์ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์จะได้ปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัดเพิ่มขึ้น ส่วนผลการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS โดยหาความแปรปรวนแบบมีหลายปัจจัย

(Multiple – Factors ANOVA) ผลจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่มีต่อปริมาณปลาในทอลในใบ พบว่าให้ค่า sig.= 0.973 ซึ่งมากกว่าค่า $\infty = 0.05$ (ตารางที่ ข 1) แสดงให้เห็นว่าอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ทั้ง 2 ระดับไม่มีผลต่อปริมาณปลาในทอลในใบที่สกัดได้ แต่ผลจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่มีต่อปริมาณปลาในทอลในส่วนสกัดที่ได้ พบว่าให้ค่า sig.= 0.032 ซึ่งน้อยกว่าค่า $\infty = 0.05$ (ตารางที่ ข 1) แสดงว่าอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์มีผลต่อปริมาณปลาในทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 จึงทำการวิเคราะห์ต่อเพื่อหาว่าที่ระดับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ใดให้ปริมาณปลาในทอลในส่วนสกัด ที่ดีที่สุด และจากการวิเคราะห์พบว่าการสกัดที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 3 กรัม/นาที่ ได้เปอร์เซ็นต์ปลาในทอลในส่วนสกัดมากกว่าที่ 5 กรัม/นาที่ ดังนั้นการสกัดที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมคือที่ 3 กรัม/นาที่

ส่วนอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสาม ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ ความดัน และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์นั้น จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมที่มีต่อปริมาณปลาในทอล (ตาราง ข 1) พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิกับความดัน, อุณหภูมิกับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ และ ความดันกับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ ให้ค่า sig = 0.682, 0.842 และ 0.693 ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้มากกว่า $\infty = 0.05$ แสดงให้เห็นว่าอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสามไม่ส่งผลต่อปริมาณปลาในทอลในใบ ที่สกัดได้ ส่วนอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสามต่อปริมาณปลาในทอลในส่วนสกัด จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมที่มีต่อปริมาณปลาในทอลในส่วนสกัด (ตาราง ข 1) พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิกับความดัน, อุณหภูมิกับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ และ ความดันกับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ ให้ค่า sig = 0.513, 0.104 และ 0.640 ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้มากกว่า $\infty = 0.05$ แสดงให้เห็นว่าอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสามไม่ส่งผลต่อปริมาณปลาในทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้เช่นกัน

ค่าเปอร์เซ็นต์ปลาในทอลในใบและเปอร์เซ็นต์ปลาในทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ทั้งหมดจากแต่ละภาวะการทดลองที่ศึกษาถึงปัจจัยต่างๆ ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ ความดัน และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมต่อการสกัดปลาในทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่ได้จากภาวะการทดลองต่าง ๆ

condition	flow rate (g/min)	pressure (bar)	temperature (°C)	% plaunotol (ในใบ)	% content (ในส่วนสกัด)
1	3	255	40	0.16	10.91
2	3	255	50	0.17	9.40
3	3	255	60	0.20	7.79
4	3	265	40	0.20	12.11
5	3	265	50	0.21	7.66
6	3	265	60	0.23	8.41
7	3	275	40	0.21	8.18
8	3	275	50	0.24	6.70
9	3	275	60	0.25	8.54
10	5	255	40	0.14	5.59
11	5	255	50	0.20	7.06
12	5	255	60	0.20	6.90
13	5	265	40	0.14	6.53
14	5	265	50	0.20	6.39
15	5	265	60	0.25	10.60
16	5	275	40	0.27	5.92
17	5	275	50	0.22	6.07
18	5	275	60	0.26	6.79

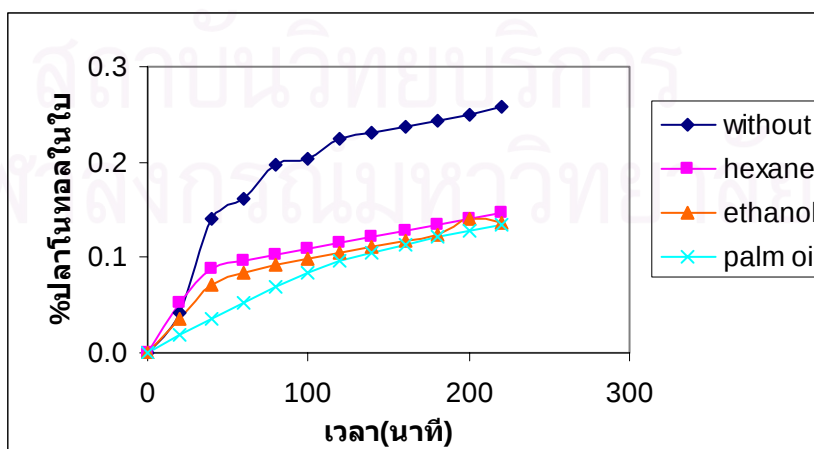
จากตารางที่ 4.2 ซึ่งแสดงถึงค่าเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้ทั้งหมดจากภาวะการทดลองต่างๆ เมื่อพิจารณาถึงค่าเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบและเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่ได้โดยรวมในแต่ละภาวะการทดลองจะพบว่า ทั้งเปอร์เซ็นต์ของเปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ในแต่ละภาวะการทดลองจะให้ค่าที่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าภาวะต่างๆที่ใช้ในการทดลองมีผลต่อปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ จากตารางจะเห็น

ว่าภาวะที่ดีที่สุดที่ให้เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ มากที่สุด คือ ที่ความดัน 275 บาร์, อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสและอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 5 กรัม/นาที่ ได้เปลาโนทอลเท่ากับ 0.27 % (w/w) เทียบกับใบ ในขณะที่ภาวะที่ให้เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด มากที่สุด คือ ที่ความดัน 265 บาร์, อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส, อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 5 กรัม/นาที่ ได้เปลาโนทอลในส่วนสกัด เท่ากับ 12.11 % (w/w)

ในการจะสรุปถึงภาวะที่เหมาะสมที่สุดเพื่อให้ได้ทั้งค่าเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบและเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด มากที่สุด ต้องวิเคราะห์และพิจารณาถึงผลของปัจจัยต่างๆที่มีต่อการสกัด ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ ความดัน และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ ประกอบกับการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้ด้วยค่าทางสถิติเพื่อให้ผลการวิเคราะห์ถึงปัจจัยต่างๆ นั้นมีความน่าเชื่อถืออย่างมีนัยสำคัญซึ่งผลจากการเปรียบเทียบและการวิเคราะห์ถึงปัจจัยต่างๆ ข้างต้น พบว่าภาวะการทดลองที่เหมาะสมที่สุด คือ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความดัน 275 บาร์ และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 3 กรัม/นาที่ ซึ่งให้ เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบเท่ากับ 0.24 % (w/w) เทียบกับใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด เท่ากับ 6.70 % (w/w)

4.3.3 ผลของสารสกัดร่วมต่อการสกัดเปลาโนทอล ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

จากการนำใบเปล้าน้อย IBGE 17บดขนาดเล็กกว่า 22 mesh มาผสมกับสารสกัดร่วมเพื่อดูผลของสารสกัดร่วมที่มีต่อการสกัด ซึ่งใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ Hexane, Ethanol และ Palm oil เป็นสารสกัดร่วม ตามวิธีการทดลองในข้อ 3.5.1.1 ซึ่งจะทำการสกัดด้วยภาวะเดียวกันคือ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 กรัม/นาที่ ความดันเท่ากับ 275 บาร์ และ อุณหภูมิเท่ากับ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาวิเคราะห์ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.16 ผลของสารสกัดร่วมต่อเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบที่สกัดได้ที่อัตราการไหล 5 กรัม/นาที่, ความดัน 275 บาร์ และ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

จากผลที่ได้พบว่าเมื่อนำสารสกัดรวมทั้ง Hexane, Ethanol และ Palm oil เข้ามาช่วยในการสกัดสามารถสกัดเปลาโนทอลได้ในปริมาณที่น้อยกว่าการไม่ใช้สารสกัดร่วมอย่างชัดเจน อีกทั้งการใช้สารสกัดร่วมยังมีข้อยุ่งยากในการบรรจุใบปลี่ยน้อยที่มีสารสกัดร่วมลงในท่อการสกัด และการเก็บสารที่สกัดได้ เนื่องจากสารสกัดร่วมจะถูกสกัดออกมาด้วย ทำให้สารที่สกัดได้ออกมาในรูปของของเหลวซึ่งยากในการเก็บตัวอย่าง อีกทั้งในกรณีที่ใช้ Hexane และ Ethanol ร่วมนั้นจะสกัดคลอโรฟิลล์ออกมาด้วย ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่ได้ลดลง

4.3.4 ผลของเวลาในการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

จากการนำใบปลี่ยน้อยที่ผ่านการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตครบ 220 นาที แล้วมาทำการสกัดต่อด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ผลที่ได้คือมีปริมาณเปลาโนทอลในใบหลงเหลืออยู่ประมาณ 0.8 mg หรือ 0.08 % (w/w) เทียบกับใบ จึงได้ทำทดลองเพิ่มระยะเวลาการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจาก 220 นาที เป็น 310 นาที ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.3 พบว่าได้เปลาโนทอล ออกมาอีกเพียง 1.03 mg หรือเพียง 0.01 % (w/w) เทียบกับใบ แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มระยะเวลาในการสกัดให้นานขึ้นไม่เหมาะสมเนื่องจากการสิ้นเปลืองทั้งเวลาและพลังงานเพื่อให้ได้เปลาโนทอลออกมาอีกเพียงเล็กน้อย ดังนั้นระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด และการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตสามารถสกัดเปลาโนทอลออกมาได้เกือบสมบูรณ์ และเหมาะสมแล้ว

ตารางที่ 4.3 ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้เมื่อเพิ่มระยะเวลาจาก 220 นาที เป็น 310 นาที

เวลา (นาที)	ปริมาณเปลาโนทอล (mg)	%เปลาโนทอล ในใบ
220	20.27 ± 0.01	0.2589 ± 0.001
310	21.30 ± 0.01	0.2717 ± 0.001

4.4 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัด ระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์ และคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

เมื่อนำเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด จากภาวะการทดลองที่ดีที่สุดจากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตระดับห้องปฏิบัติการ คือ ที่ความดัน 275 บาร์, อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 3 กรัม/นาที นาน

220 นาที มาทำการเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัด

	การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์	การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต
%เปลาโนทอลในใบ (w/w)	0.2037 ± 0.001	0.2428 ± 0.001
% เปลาโนทอล ในส่วนสกัด (w/w)	5.89 ± 0.01 (สารสกัดเอทานอล)	6.70 ± 0.01 (สารสกัด SC-CO ₂)

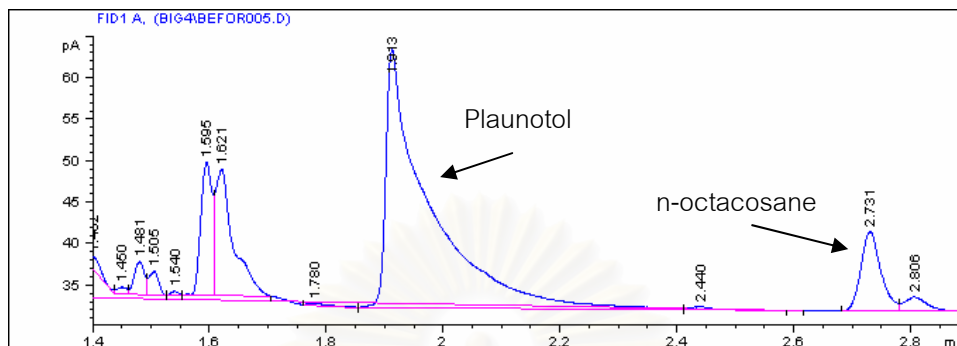
จากตารางที่ 4.4 พบว่าทั้งเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัดที่ได้ จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตมีค่ามากกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ถือได้ว่าการนำคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตมาใช้ในการสกัดเปลาโนทอลได้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถลดระยะเวลาการสกัด, ลดขั้นตอนการสกัดที่ยุ่งยาก และลดการใช้สารละลายอินทรีย์ซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมได้

4.5 การสกัดเปลาโนทอล ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตระดับนำร่อง (Pilot Scale)

จากภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการสกัดใบเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตระดับห้องปฏิบัติการ (Lab Scale) เพื่อให้ได้ทั้งปริมาณเปลาโนทอลในใบ และปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัด มากที่สุด คือที่ความดัน 275 บาร์, อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสนั้น จึงนำภาวะนี้ไปใช้ในการสกัดเปลาโนทอลในระดับนำร่อง (Pilot Scale) โดยใช้อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 12 กิโลกรัม/นาที ขั้นตอนการสกัดตามวิธีในข้อ 3.5.2 และทำการเก็บสารที่ได้จากการสกัดทุก 3 ชั่วโมงนาน 9 ชั่วโมง

ผลจากการสกัดเปลาโนทอลจากใบเปลาโนทอลสายพันธุ์ IBGE 17 จำนวน 10.26 กิโลกรัม ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือ ได้สารสกัดทั้งหมด 364.04 กรัม (น้ำหนักแห้ง 68.71 กรัม) ซึ่งจะสามารถสกัดเปลาโนทอลได้ 22.62 กรัม คิดเป็นปริมาณเปลาโนทอลในใบ เท่ากับ 0.22 % (w/w) และปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่ได้เท่ากับ 32.92 % (w/w) หลังจากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตแล้ว ทำการสกัดใบเปลาโนทอลนั้นต่อด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เพื่อได้ถึงปริมาณเปลาโนทอลที่หลงเหลืออยู่ในใบเปลาโนทอล พบว่ายังมีเปลาโนทอลเหลืออยู่เท่ากับ 0.1 % (w/w) เทียบกับใบ และจากการสกัดใบเปลาโนทอลด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เพื่อใช้เปรียบเทียบ พบว่าจะสามารถสกัดเปลาโน

ทอลโนใบ ได้เท่ากับ 0.23 % (w/w) และปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัด เท่ากับ 7.01 % (w/w) เทียบกับสารสกัดเอทานอล ซึ่งมีโครมาโทแกรมดังรูปที่ 4.17



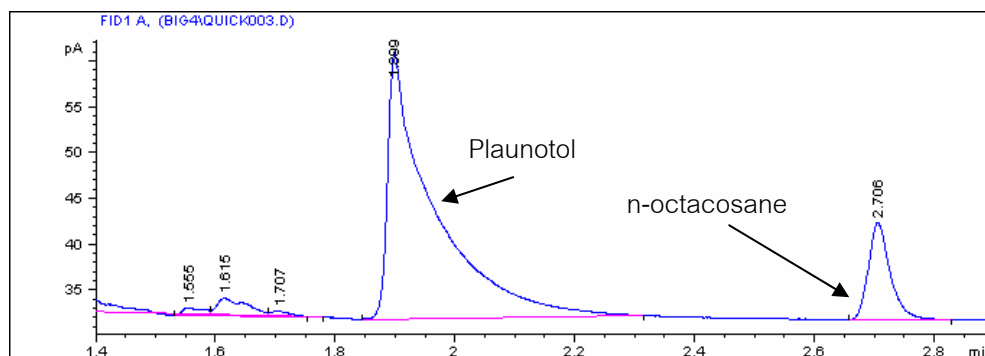
รูปที่ 4.17 โครมาโทแกรมที่ได้จากการสกัดเปลาโนทอล ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตใน ระดับนำร่อง (Pilot Scale)

4.6 การทำเปลาโนทอลให้บริสุทธิ์

จากการนำสารที่สกัดได้จากการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตใน ระดับนำร่อง (Pilot Scale) ข้างต้นทั้งหมด 364.04 กรัม (น้ำหนักแห้ง 68.71 กรัม) มาทำการย่อยและสกัดด้วยเฮกเซนและระเหยแห้ง ซึ่งสารสกัดที่ได้เท่ากับ 248.77 กรัม (น้ำหนักแห้ง 55.74 กรัม) หลังจากนั้น นำมาละลายด้วยเฮกเซน และ เติม Silica gel 60 (ขนาด 0.063-0.200 มิลลิเมตร) 400 กรัม แล้วระเหยแห้ง ได้ตัวอย่างที่จะใช้ในขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์เท่ากับ 626.37 กรัม

4.6.1 การทำให้บริสุทธิ์ด้วย quick column chromatography

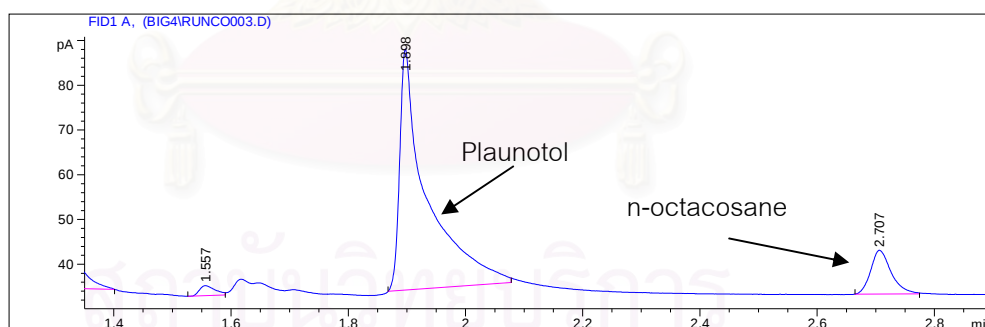
จากการนำ silica gel ที่เคลือบด้วยสารสกัดที่เตรียมไว้ข้างต้น มาทำการชะสารด้วยตัวทำละลายเฮกเซนต่อเอทิลอะซิเตทในอัตราส่วนต่างๆ ตามวิธีในข้อ 3.6.1 ซึ่งทำการตรวจสอบความบริสุทธิ์เบื้องต้นโดย Thin Layer Chromatography โดยใช้สารละลาย p-anisaldehyde เป็น spray detecting reagent พบว่าเปลาโนทอลจะออกมาในช่วง fraction 3 ถึง 5 หรือช่วง 30-60 % ของเอทิลอะซิเตท (EtOAc) ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4.5 พบว่าจะได้ เปลาโนทอลทั้งหมดเท่ากับ 20.69 กรัม และมีเปลาโนทอลในส่วนสกัดเท่ากับ 53 % (w/w) เทียบกับสารที่ชะผ่านคอลัมน์ ซึ่งมีโครมาโทแกรมดังรูปที่ 4.18



รูปที่ 4.18 โครมาโทแกรมที่ได้จากการทำให้บริสุทธิ์ด้วย quick column chromatography

4.6.2 การทำให้บริสุทธิ์ด้วยเครื่อง column chromatography

หลังจากทำสารให้บริสุทธิ์ด้วย quick column chromatography แล้วนำเปลาโนทอลจาก fraction ที่แยกได้ในช่วง 30-60 % ของเอทิลอะซิเตท มาทำให้บริสุทธิ์ขึ้นด้วย column chromatography โดยทำการชะสารด้วยตัวทำละลายเฮกเซนต่อเอทิลอะซิเตทในอัตราส่วนต่างๆ โดยเก็บ fraction ละ 5 มิลลิลิตร ตรวจสอบความบริสุทธิ์เบื้องต้นโดย Thin Layer Chromatography โดยใช้สารละลาย p-anisaldehyde เป็น spray detecting reagent พบว่าเปลาโนทอลจะออกมาในช่วง 40% ของเอทิลอะซิเตท (EtOAc) และผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4.5 พบว่าจะได้เปลาโนทอลที่มีความบริสุทธิ์เท่ากับ 69.23 % (w/w) เปลาโนทอลทั้งหมดเท่ากับ 15.31 กรัม ซึ่งมีโครมาโทแกรมดังรูปที่ 4.19



รูปที่ 4.19 โครมาโทแกรมที่ได้จากการทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบ % content และ % recovery ในแต่ละขั้นตอนของคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต และการทำให้บริสุทธิ์

		น้ำหนักแห้ง (g)	ปริมาณเปลาโน ทอลที่ได้ทั้งหมด (g)	% recovery	% content (w/w)
1	ใบเปล่า	10.26 kg	-	-	-
2	SC - CO ₂	68.71	22.62	100	32.92
3	ย่อยและสกัดด้วย เฮกเซน	55.74	21.27	94.03	38.16
4	quick column chromatography	39.04	20.69	91.47	53.00
5	column chromatography	22.18	15.31	67.68	69.23

จากตารางที่ 4.5 ซึ่งแสดง การเปรียบเทียบ % content และ % recovery ในแต่ละขั้นตอนของคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตและการทำให้บริสุทธิ์ จะเห็นว่าเมื่อผ่านขั้นตอนแต่ละขั้นจะทำให้เกิดการสูญเสียปริมาณเปลาโนทอล โดยเริ่มต้นจากจากใบเปล้าน้อย 10.26 กิโลกรัม สามารถสกัดเปลาโนทอลได้เท่ากับ 22.62 กรัม ซึ่งมีเปลาโนทอลในส่วนสกัด เท่ากับ 32.92 % (w/w) เมื่อผ่านขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์จนถึงขั้นตอนสุดท้าย จะได้ปริมาณเปลาโนทอลเท่ากับ 15.31 กรัม มีเปลาโนทอลในส่วนสกัด เท่ากับ 69.23 % (w/w) คิดเป็นร้อยละของการคืนกลับ เท่ากับ 67.68 %

ตารางที่ 4.6 เปรียบเทียบ % content และ % recovery ในแต่ละขั้นตอนของการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ และการทำให้บริสุทธิ์

		น้ำหนักแห้ง (g)	ปริมาณเปลาโน ทอลที่ได้ทั้งหมด (mg)	% recovery	% content (w/w)
1	ใบเปล่า	90	-	-	-
2	สารสกัดเอทานอล	3.14	220	100	7.01
3	quick column chromatography	0.4219	182.76	83.07	43.43
4	column chromatography	0.1901	116.29	52.86	61.17

จากตารางที่ 4.6 ซึ่งแสดง การเปรียบเทียบ % content และ % recovery ในแต่ละขั้นตอนของ ขั้นตอนของคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตและการทำให้บริสุทธิ์จะเห็นว่าเมื่อผ่านขั้นตอนแต่ละขั้น จะทำให้เกิดการสูญเสียปริมาณเปลาโนทอล โดยปริมาณเปลาโนทอลเริ่มต้นที่สกัดได้จากใบเปล้าน้อย 90 กรัม เท่ากับ 0.22 กรัม ซึ่งมีเปลาโนทอลในส่วนสกัด เท่ากับ 7.01 % (w/w) เทียบสารสกัดเอทานอล เมื่อผ่านขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์จนถึงขั้นตอนสุดท้าย จะได้ปริมาณเปลาโนทอลเท่ากับ 116.29 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละของการคืนกลับ เท่ากับ 52.86 % ซึ่งมีเปลาโนทอลในส่วนสกัดเท่ากับ 61.17 % (w/w) เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง % content และ % recovery ที่ได้จาก ขั้นตอนของคาร์บอนไดออกไซด์ ภาวะเหนือวิกฤตและการทำให้บริสุทธิ์ กับ ขั้นตอนของคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตและการทำให้บริสุทธิ์ พบว่าทั้ง % content และ % recovery ที่ได้จาก ขั้นตอนของคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือ วิกฤต ให้ค่าที่มากกว่า

ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต คือ ความดัน อุณหภูมิ และอัตราไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดสาร, ชนิดวัตถุดิบ, ขนาด เป็นต้น อีกทั้งขีดความสามารถของ เครื่องคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตก็มีผลต่อความสามารถในการสกัดเช่นกัน ซึ่งในการทดลอง ครั้งนี้ทำการสกัดด้วยเครื่องที่ดัดแปลงขึ้น จึงมีขีดจำกัดทั้ง ความดัน อุณหภูมิ และอัตราไหลของ คาร์บอนไดออกไซด์ การสกัดสารอื่นด้วยเครื่องคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตนี้ เช่น การสกัด น้ำมันจากเมล็ดถั่วเหลือง ภาวะที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส, ความดัน 250 บาร์, อัตรา การไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3 กรัม/นาที่ และภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันเมล็ดทานตะวันคือ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส, ความดัน 250 บาร์, อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3 กรัม/นาที่ (50) ซึ่งพบว่าการเพิ่มอัตราไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ จะทำให้สกัดสารได้มากขึ้น แต่ไม่สามารถเพิ่มอัตรา ไหลขึ้นได้ เช่นเดียวกับการสกัดเปลาโนทอลในครั้งนี้ที่การเพิ่มความดันจะทำให้การสกัดเพิ่มขึ้น แต่ไม่ สามารถเพิ่มความดันได้อีก ส่วนการสกัดในระดับนำร่องเป็นการนำภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่หาได้ใน ระดับห้องปฏิบัติการไปเพิ่มปริมาณในการสกัด ซึ่งปริมาณของสารตั้งต้นที่ใช้ และความสามารถของ เครื่องที่แตกต่างกัน ทั้ง ความดัน อุณหภูมิ และอัตราไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ ที่สามารถเพิ่มขึ้นอีกได้ ซึ่งอาจส่งผลต่อการสกัดได้และภาวะที่ใช้ อาจไม่ใช่ภาวะที่เหมาะสม แต่ผลการทดลองที่ได้ทั้งปริมาณ เปลาโนทอลในใบ และเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่ได้เป็นที่น่าพอใจ เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยตัวทำ ละลายอินทรีย์แล้ว อีกทั้งมีข้อได้เปรียบที่ขั้นตอนการสกัดไม่ยุ่งยาก และลดการใช้สารเคมี ส่วนการทำ เปลาโนทอลให้บริสุทธิ์นั้น จะได้สารเปลาโนทอลที่ยังไม่บริสุทธิ์เท่าที่ควร อาจเนื่องจากการทำขั้นตอน การทำให้บริสุทธิ์ด้วยเครื่องคอลัมน์โครมาโทกราฟี ที่นำมาใช้มี detector ที่ไม่เหมาะสมต่อการตรวจวัด ค่าดูดกลืนแสงของเปลาโนทอลทำให้การแยกเกิดขึ้นไม่ดี, การแปรค่าอัตราส่วนของ เฮกเซน และ เอทิลอะซิเตท (EtOAc) ยังไม่ละเอียดพอ จึงเกิดการแยกไม่ดี, การเก็บ fraction ไม่ละเอียด ทำให้ส่วนที่มี เปลาโนทอลสูงๆปนกับส่วนที่มีต่ำๆได้ และการเพิ่มความยาวคอลัมน์สกัด จะทำให้การแยกเกิดได้ดียิ่งขึ้น

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 การสกัดเปลาโนทอลจากใบเปล้าน้อยสายพันธุ์ IBGE 17 ด้วยเทคนิคเดิมซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ให้เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลเท่ากับ 0.20 % (w/w) เทียบกับใบ และให้เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด เท่ากับ 5.89 % (w/w) เทียบกับสารสกัดเอทานอล

5.2 การสกัดเปลาโนทอลจากใบเปล้าน้อยสายพันธุ์ IBGE 17 ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต โดยศึกษาถึงผลของขนาดใบเปล้าน้อยบดที่มีต่อการสกัด พบว่าขนาดของใบบดไม่ส่งผลต่อปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้

5.3 การสกัดเปลาโนทอลจากใบเปล้าน้อยสายพันธุ์ IBGE 17 ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต พบว่าภาวะการสกัดที่ให้เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ มากที่สุด คือ ที่ความดัน 275 บาร์, อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 5 กรัม/นาที ได้เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลเท่ากับ 0.27 % เทียบกับใบ (w/w)

5.4 การสกัดเปลาโนทอลจากใบเปล้าน้อยสายพันธุ์ IBGE 17 ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต พบว่าภาวะการสกัดที่ให้เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด มากที่สุด คือ ที่ความดัน 265 บาร์, อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส, อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 3 กรัม/นาที ได้เปลาโนทอลในส่วนสกัด เท่ากับ 12.11 % (w/w)

5.5 การศึกษาถึงผลของอุณหภูมิที่มีต่อการสกัดเปลาโนทอลจากใบเปล้าน้อยสายพันธุ์ IBGE 17 ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิจะส่งผลให้การสกัดเปลาโนทอลในใบได้มากขึ้น แต่ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด เนื่องจากให้ค่าทางสถิติที่ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) และจากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ ยังพบว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเหมาะสมต่อการสกัดมากที่สุดเพราะให้ปริมาณเปลาโนทอลมากไม่แตกต่างจากอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อีกทั้งยังประหยัดพลังงานด้วย

5.6 การศึกษาถึงผลของอุณหภูมิที่มีต่อการสกัดเปลาโนทอลจากใบเปล้าน้อยสายพันธุ์ IBGE 17 ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต พบว่าการเพิ่มความดันจะส่งผลต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบที่สกัดได้เพิ่มมากขึ้น แต่ความดันไม่มีผลต่อปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้เนื่องจากให้ค่าทางสถิติที่ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) และพบว่าที่ความดัน 275 บาร์ เหมาะสมต่อการสกัดมากที่สุด

5.7 การศึกษาถึงผลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีต่อการสกัดเปลาโนทอลจากใบเปล้าน้อยสายพันธุ์ IBGE 17 ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต พบว่าอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ทั้ง 2 ระดับไม่มีผลต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ ที่สกัดได้ เนื่องจากให้ค่าทางสถิติที่ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่มีผลต่อปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่ได้ และพบว่าการสกัดที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 3 กรัม/นาที่ เหมาะสมต่อการสกัดมากที่สุด

5.8 อิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัย ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ (40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส), ความดัน (255, 265 และ 275 บาร์) และ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ (3 และ 5 กรัม/นาที่) ไม่ส่งผลต่อปริมาณเปลาโนทอลในใบ และ ปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่สกัดได้

5.9 ภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเปลาโนทอลจากใบเปล้าน้อยสายพันธุ์ IBGE 17 ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต เพื่อให้ได้ทั้งเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ออกมากที่สุด คือที่ ความดัน 275 บาร์, อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 3 กรัม/นาที่ ซึ่งให้เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด เท่ากับ 0.24 % (w/w) และ 6.70 % (w/w) ตามลำดับ

5.10 การสกัดเปลาโนทอลจากใบเปล้าน้อยสายพันธุ์ IBGE 17 ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต โดยศึกษาถึงผลของสารสกัดร่วม ได้แก่ เฮกเซน เอทานอล และน้ำมันปาล์ม พบว่าสารสกัดร่วมไม่มีส่วนช่วยให้สกัดเปลาโนทอลได้มากขึ้น

5.11 ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตนาน 220 นาที และการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตสามารถสกัดเปลาโนทอลออกมาได้เกือบสมบูรณ์ และเหมาะสมแล้ว

5.12 จากการเปรียบเทียบผลการสกัดเปลาโนทอลจากใบเปล้าน้อยสายพันธุ์ IBGE 17 ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตกับการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ พบว่าทั้งเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบ และเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่ได้จากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต ให้ค่าที่มากกว่าและมีประสิทธิภาพการสกัดที่ดีกว่า

5.13 การสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตระดับนำร่อง (Pilot Scale) จากใบเปล้าน้อยสายพันธุ์ IBGE 17 จำนวน 10.26 กิโลกรัม ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือ ได้สารสกัดทั้งหมด 364.04 กรัม (น้ำหนักแห้ง 68.71 กรัม) ซึ่งจะสามารถสกัดเปลาโนทอลได้ 22.62 กรัม คิดเป็นปริมาณเปลาโนทอลในใบ เท่ากับ 0.22 % (w/w) และปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่ได้เท่ากับ

32.92 % (w/w) และยังมีเปลาโนทอลเหลืออยู่เท่ากับ 0.1 % (w/w) เทียบกับใบ และจากการสกัดใบ เปล้าน้อยด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เพื่อใช้เปรียบเทียบ พบว่าจะสามารถสกัด เปลาโนทอลได้เท่ากับ 0.23 % (w/w) เทียบกับใบ และปริมาณเปลาโนทอลในส่วนสกัด ที่ได้เท่ากับ 7.01 % (w/w) เทียบกับสารสกัดเอทานอล

5.14 การนำเปลาโนทอลที่สกัดได้จากด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต มาทำให้บริสุทธิ์ขึ้นด้วย quick column chromatography พบว่าเปลาโนทอลจะออกมาในช่วง fraction 3 ถึง 5 หรือช่วง 30-60% ของเอทิลอะซิเตท (EtOAc) ผลการวิเคราะห์พบว่าจะได้เปลาโนทอลที่มีเปลาโนทอลในส่วนสกัด 53 % (w/w) เทียบกับสารที่ชะผ่านคอลัมน์ ซึ่งจะให้เปลาโนทอลได้เท่ากับ 20.69 กรัม

5.15 การนำเปลาโนทอลที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วย ด้วย quick column chromatography มาทำให้บริสุทธิ์ขึ้นอีกด้วย column chromatography พบว่าเปลาโนทอลจะออกมาในช่วง 40 % ของเอทิลอะซิเตท (EtOAc) และผลการวิเคราะห์พบว่าจะได้เปลาโนทอลที่มีเปลาโนทอลในส่วนสกัด เท่ากับ 69.23 % (w/w) เทียบกับสารที่ชะผ่านคอลัมน์ ซึ่งจะให้เปลาโนทอลได้เท่ากับ 15.31 กรัม

5.16 การทำเปลาโนทอลให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี จะสามารถเพิ่มเปลาโนทอลในส่วนสกัดได้ถึง 69.23 % (w/w) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ เท่ากับ 67.68 %

5.17 การสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต ให้ปริมาณทั้งเปลาโนทอลในใบ และเปลาโนทอลในส่วนสกัดที่ดีกว่าเทคนิคเดิม ถึงแม้จะไม่มากกว่าอย่างเห็นได้ชัดและต้นทุนการลงทุนจะสูง แต่เมื่อเทียบในเรื่องประโยชน์ที่ได้รับและการลงทุนในระยะยาวแล้วนั้นดีมากกว่า คือใช้พลังงานในการดำเนินงานต่ำ และสามารถหมุนเวียนนำคาร์บอนไดออกไซด์กลับมาใช้ได้ใหม่, มีขั้นตอนการสกัดไม่ยุ่งยาก ควบคุมได้ง่าย จึงลดแรงงานที่ใช้, ลดเวลาการสกัด อีกทั้งยังลดการใช้สารละลายอินทรีย์ที่มีอันตรายต่อทั้งคนและสิ่งแวดล้อม จึงเหมาะสมที่จะพัฒนามาใช้สกัดในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

รายการอ้างอิง

- [1.] Esser, J., Chayamarit, K. 2001. Two new species and a new name in Thai *Croton* (Euphorbiaceae). Thai Forest Bulletin (Bot.) 29: 51–57.
- [2.] จุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล. 2547. เปล้าน้อยสมุนไพรของไทย. บทความวิชาการ. ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.
- [3.] ลีนา ผู้พัฒนพงศ์. 2530. เปล้าน้อย. วนสาร. 45:181 และรัชชัย วงศ์ประเสริฐ. 2530. สมุนไพรตอนที่ 5. กรุงเทพมหานคร. ชูติมาการพิมพ์.
- [4.] ลัดดาวัลย์ บุญรัตนกรกิจ. 2536. เปล้าน้อย สมุนไพรรักษาแผลในกระเพาะ. วารสารธรรมชาติและสัตว์เลี้ยง 3(22): 35-36.
- [5.] Department of Pharmaceutical Botany. 1981. Some Thai Medicinal Plant and Their Uses. Bangkok, Faculty of Pharmaceutical science Mahidol University.p.23.
- [6.] Ogiso, A., Mishima, H., Kobayashi, S. 1997. Diterpene alcohol from Croton-plants. Japan Kokai 77(70): 46-50.
- [7.] “เปล้าน้อย”1(2) กุมภาพันธ์ 2526. ข่าวสารเภสัชพาณิชย์: หน้า 4.
- [8.] ณรงค์ เพ็งปรีชา. 2530. “เปลาโนทอล” หรือ “เคลแนค” ยาวิเศษสกัดจากสมุนไพรเปล้าน้อย. วนสาร 45: 180-109.
- [9.] นันทวัน บุญยะประภัศร. 2532. เปล้าน้อย. จุลสารโครงการศูนย์ข้อมูลสมุนไพรมหาวิทยาลัยมหิดล 6(3): 1-6.
- [10.] สุพจน์ อัครพันธุ์ธนกุล และคณะ. เปล้าน้อย...สมุนไพรไทย เพื่อประโยชน์ของใคร? ข่าวสารสมุนไพร. กรุงเทพมหานคร: โครงการหนังสือเกษตรชุมชน, หน้า 31-40.

- [11.] วีณา วิจิตรวิทยากุล, อ้อมบุญ ลั่นรัตน์, เอมอร โสมนพันธุ์ และนพมาศ สรรพคุณ. 2533. ยาจากสมุนไพร. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยมหิดล.
- [12.] ชมรมสมุนไพรไทย. 2539. สมุนไพรไทยอายุวัฒนะ. กรุงเทพมหานคร: จัดพิมพ์โดยรถไฟหนังสือ, หน้า 151.
- [13.] Koga, T., Kawada, H., Utsui, Y., Domon, H., Ishii, C., and Yasuda, H. 1996. Bactericidal effect of plaunotol, a cytoprotective antiulcer agent, against *Helicobacter pylori*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 38: 387-397.
- [14.] Koga, T., Inoue, H., Ishii, C., Okazaki, Y., Domon, H., and Utsui, Y. 2002. Effect of plaunotol in combination with clarithromycin or amoxicillin on *Helicobacter pylori* *in vitro* and *in vivo*. The British Society for Antimicrobial Chemotherapy 50: 133-136.
- [15.] Takagi, A., Koga, Y., Aiba, Y., Kabir, A. M., Watanabe, S., Ohta-tada, U., Osaki, T., Kamiya, S., and Miwa, T. 2000. Plaunotol suppresses interleukin-8 secretion induced by *Helicobacter pylori*: Therapeutic effect of plaunotol on *H. pylori* infection. Journal of Gastroenterology and Hepatology 15: 374-380.
- [16.] Okabe, S., Tabata, K., and Kunimi, H. 1982. Effect of (2E,6Z,10E) -7-hydroxymethyl-3,11,15-trimethyl-2,6,10,14-hexadecatetraen-1-ol(CS-684) on Aspirin Ulcers in rats and dogs. Pharmacometrics 23(5): 758-880.
- [17.] Shiratori, K., Watanabe, S., Takeuchi, T., and Shimizu, K. 1990. Plaunotol inhibits postprandial gastrin release by its unique secretin-releasing action in humans. Digestive Diseases and Sciences 35(9): 1140 - 1145.
- [18.] Chang, J. H., Watanabe, S., Shiratori, K., Moriyoshi, Y., and Takeuchi, T. 1989. Plaunotol stimulates endogenous secretin release and exocrine pancreatic secretion in rats. Digestion 44(3): 142-147.

- [19.] Rizvi, S. S. H., Yu, Z. R., Bhaskar, A. R., and Chidambara, C. B. 1994. Supercritical Fluid Processing of Food and Biomaterials. London: Blackie Academic and Professional, an imprint of Chapman & Hall.
- [20.] เสาวดี อิศริยะโอภาส และ จิระบุญ จิราพงษ์. 2533. การสกัดสารจากกระเทียมด้วย คาร์บอนไดออกไซด์เหลว. โครงการวิจัยปริญญาบัณฑิต. ภาควิชาเคมีเทคนิค. คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [21.] Menaker, A., Kravets, M., Koel, M., Orav, A. 2004. Identification and characterization of supercritical fluid extracts from herbs. Journal of Comptes Rendus Chimie 7: 629-633.
- [22.] Vasapollo, G., Longo, L., Rescio, L., Ciuria, L. 2004. Innovative supercritical CO₂ extraction of lycopene from tomato in the presence of vegetable oil as co-solvent. Journal of Supercritical Fluids 29: 87-96.
- [23.] Taylor L.T. 1996. Supercritical Fluid Extraction. New York: A Wiley-Interscience publication.
- [24.] Ogiso, A., Kitazawa, E., Kurabayashi, M., Sato, A., Takahashi, S., Nogushi, S., Kuwano, H., Habayashi, S., and Mishima, H. 1978. Isolation and structure of anti-peptic ulcer diterpene from thai medicinal plant. Chemical & Pharmaceutical Bulletin 25(10): 3117-3123.
- [25.] นลิน นิลอุบล, ไพเราะ ปิ่นพานิชการ, ชีนาฏ โพธิเวชกุล และ วีรเดช สุขเอียด. 2537. รายงานการวิจัยปริมาณและคุณภาพของสาร เปลาโนทอล ในใบเปล้าน้อยจากแหล่งต่างๆ. สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [26.] อพัชชา วงศ์เจริญสถิตย์. 2537. การวิเคราะห์หาปริมาณเปลาโนทอลในใบและเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงของเปล้าน้อย. วิทยานิพนธ์. สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [27.] สมาคมพ่อค้ายา. 2524. ตำราหลักแพทย์แผนโบราณ สาขาเภสัชกรรม. กรุงเทพมหานคร: ห้างหุ้นส่วนจำกัดคุณทินกรอักษรกิจ, หน้า 117.

- [28.] ชลล อุตทกภษณ . 2524. หลักรการใชยาสมุนไพรรักษาโรคต่างๆ, 92. กรุงเทพมหานคร:
สำนักพิมพ์แพรวพิทยา.
- [29.] ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์, คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. พฤษภาคม 2530. ชื่อ
สมุนไพรรและประโยชน์. กรุงเทพมหานคร, หน้า 51-56.
- [30.] Kitazawa, E., Ogiso, A., Takahashi, S., Sata, A., Kurabayashi, M., Kuwano, H., Hata,
T., and Tamura, C. 1979. Plaunotol A and B, New Anti-Ulcer diterpene lactone from
Croton sublyratus. Tetrahedron Letters 13: 1117-1120.
- [31.] Kitazawa, E., Sato, A., Takahashi, S., Kuwano, H., and Ogiso, A. 1980. Novel
diterpene lactone with Anti-Peptic Ulcer activity from *Croton sublyratus*.
Chemical & Pharmaceutical Bulletin 28(1): 227-234.
- [32.] Takahashi, S., Kurabayashi, M., Kitazawa, E., Harayama, H., and Ogiso, A. 1983.
Plaunolide a furanoid diterpene from *Croton sublyratus*. Phytochemistry 22: 302-
303.
- [33.] Kitazawa, E., and Ogiso, A. 1981. Two diterpene alcohols from *Croton sublyratus*.
Phytochemistry 20: 287-289.
- [34.] Kitazawa, E., Kurabayashi, M., Kazaya, S., and Ogiso, A. 1982. New ester of a
diterpene alcohol from *Croton sublyratus*. Annual Report of Sankyo Research
Laboratories 34: 39-41.
- [35.] Department of Medicinal Information Sankyo Co.Ltd. 1993. Mucosal protective
antiulcer drug: Kelnac capsules Kelnac Fine granules. Tokyo, Sankyo.
- [36.] Tansakul, P., and De-Eknamkul, W. 1998. Geranylgeraniol-1%hydroxylase: the last
enzyme on the plaunotol biosynthetic pathway in *Croton sublyratus*. Phytochemistry
40(7): 1241-1246.

- [37.] De-Eknamkul, W. 1999. Chasing the key enzyme of secondary metabolite - Biosynthesis from the Thai medicinal plants[online]. Available from <http://www.iupac.org/symposia/proceeding/phuket97/de-eknamkul.html> [2006, May 24]
- [38.] Kogen, H., Tago, K., Arai, M., Minami, E., Masuda, K., and Akiyama, T. 1999. A highly stereoselective synthesis of plaunotol and its thiourea derivatives as potent antibacterial agents against *Helicobacter pylori*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 9:1347-1350.
- [39.] Tago, K., Arai, M., and Kogen, H. 2000. A practical total synthesis of plaunotol via highly Z-selective Wittig olefination of α -acetal ketones. Chemistry Society Perkin Trans 1: 2073-2078.
- [40.] Tago, K., Kogen, H. 2001. Practical and effective total synthesis of plaunotol via novel and stereoselective method for construction of tri-substituted olefins. Journal of Synthetic Organic Chemistry 59(10): 971-984.
- [41.] Tago, K., Minami, E., Masuda, K., Akiyama, T., and Kogen, H. 2001. Synthesis of plaunotol derivatives and their antibacterial activities against *Helicobacter pylori*. Bioorganic & Medicinal Chemistry 9: 1781-1791.
- [42.] Nualkaew, N., De-Eknamkul, W., Kutchan, T.M., and Zenk, M.H. 2005. Geranylgeraniol formation in *Croton stellatopilosus* proceeds via successive monodephosphorylations of geranylgeranyl diphosphate. Tetrahedron Letters 46: 8727-8731.
- [43.] Sitthithaworn, W., Potduang B., and De-Eknamkul, W. 2006. Localization of plaunotol in the leaf of *Croton stellatopilosus* Ohba. Science Asia 32: 17-20.
- [44.] Wungsintaweekul, J., and De-Eknamkul, W. 2005. Biosynthesis of plaunotol in *Croton stellatopilosus* proceeds via the deoxyxylulose phosphate pathway. Tetrahedron Letters 46: 2125-2128.

- [45.] ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิตย์. มกราคม 2530. “สารประกอบเทอร์ปีนอยด์”, เกษ์ขวินิจัย เล่ม 3.
กรุงเทพมหานคร : ภาควิชาเภสัชขวินิจัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. หน้า 119-166.
- [46.] Ogiso, A., Kitazawa, E., Mikuriya, I., and Promdej, C. 1981. Original plant of a Thai crude drug, Plau-noi. Shoyukukaku Zasshi 35: 287-290.
- [47.] Cajesanun, S. 1991. Instruction manual process development for the production of anti-peptic ulcer drug from medicinal plant. Bangkok: IBGE CU.
- [48.] McHugh M.A. and Krukonis V.J. 1994. Supercritical Fluid Extraction. 2nd ed. USA. : Butterworth-Heinemann.
- [49.] Laque de Castro M.D., Valcarcel M., and Tena M.T. 1994. Analytical Supercritical Fluid Extraction. Germany, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- [50.] เชิดพงษ์ ปรีชากุล และ ประพนธ์ เขมะจันตรี. 2546. การสกัดผลิตภัณฑ์ธรรมชาติด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต. รายงานโครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมสร้างประสบการณ์. ภาควิชาเคมีเทคนิค. คณะวิทยาศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [51.] Brogle, O. 1982. CO₂ as a Solvent: its properties and application. Chemistry and Industry 12: 385-389.
- [52.] Thomas J.B., Paris D.S.S. 1989. Handbook of basic tables for chemical analysis 2nd ed. USA.
- [53.] Kiriamiti, H. K., Rascol, E., Marty, A., and Condoret, J. S. 2001. Extraction rate of oil from hight oleic sunflower seeds with supercritical carbon dioxide. Chemical Engineering and Processing 41(8): 711-718.
- [54.] Chiu, K. H., Yak, K. H., Wai , C. M., Lang, Q. 2004. Dry ice-originated supercritical and liquid carbon dioxide extraction of organic pollutants from environmental samples. Talanta 65: 149-154.

- [55.] Perakis, C., Louli, V., and Magoulas, K. 2005. Supercritical fluid extraction of black pepper oil. Journal of Food Engineering 71:386–393.
- [56.] Zhiyi, L., Xuewu, L., Shuhua, C., Xiaodong, Z., Yuanjing, X., Yong, W., and Feng, X. 2006. An experimental and simulating study of supercritical CO₂ extraction for pepper oil. Chemical Engineering and Processing 45 : 264–267.
- [57.] Sami, G. O., Meryem, E. Y., and Levent, B. 2006. The solubility of apricot kernel oil in supercritical carbon dioxide. Journal of Food Science and Technology 41 : 399–404.
- [58.] Louli, V., Folas, G., Voutsas, E., and Magoulas, K. 2004. Extraction of parsley seed oil by supercritical CO₂. The Journal of Supercritical Fluids 30 : 163–174.
- [59.] Tena, M. T., and Valcarcel, M. 1997. Supercritical fluid extraction of nature antioxidants from rosemary: comparison with liquid solvent sonication. Analytical Chemistry 69 : 521- 526.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การเตรียมสาร

1. การเตรียมสารละลาย internal standard

ชั่ง n-octacosane จำนวน 0.025 กรัมอย่างแม่นยำ ละลายและปรับปริมาตรด้วย เฮกเซนจนครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร จะได้สารละลาย n-octacosane ความเข้มข้น 250 ppm (250 µg/ml)

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานเปลาโนทอลในเฮกเซน

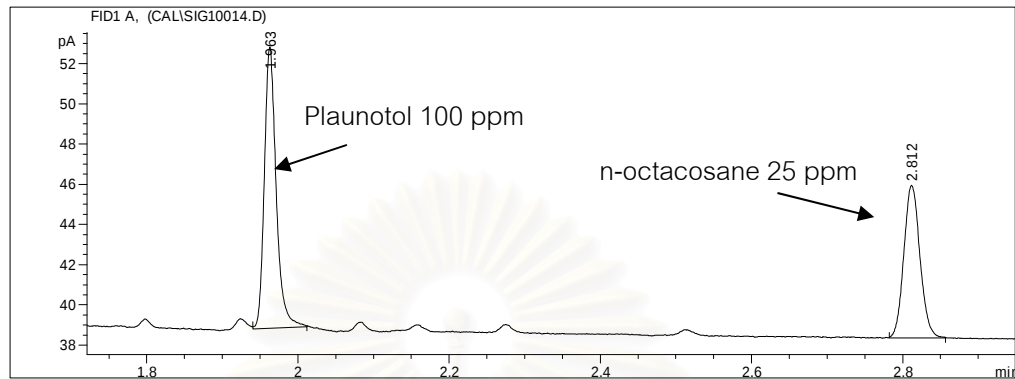
1. เตรียม stock ของเปลาโนทอล ที่ความเข้มข้น 1000 ppm (1000 µg/ml) โดยนำสาร เปลาโนทอลบริสุทธิ์ 99.8 % ปริมาณ 0.1002 กรัม ละลายด้วยเฮกเซนให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
2. เตรียมสารละลายมาตรฐานเปลาโนทอล ที่ความเข้มข้น 100, 200, 300, 400, 500 ppm โดยการปิเปตของเปลาโนทอล ที่ความเข้มข้น 1000 ppm ปริมาตร 1, 2, 3, 4, 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร
3. เตรียมสารละลาย n-octacosane ความเข้มข้น 250 ppm 1 มิลลิลิตร ปรับจนมีปริมาตรสุดท้าย เท่ากับ 10 มิลลิลิตรด้วยเฮกเซน

3 การเปลี่ยนรูปเอสเทอร์เปลาโนทอลให้เป็นเปลาโนทอลอิสระ

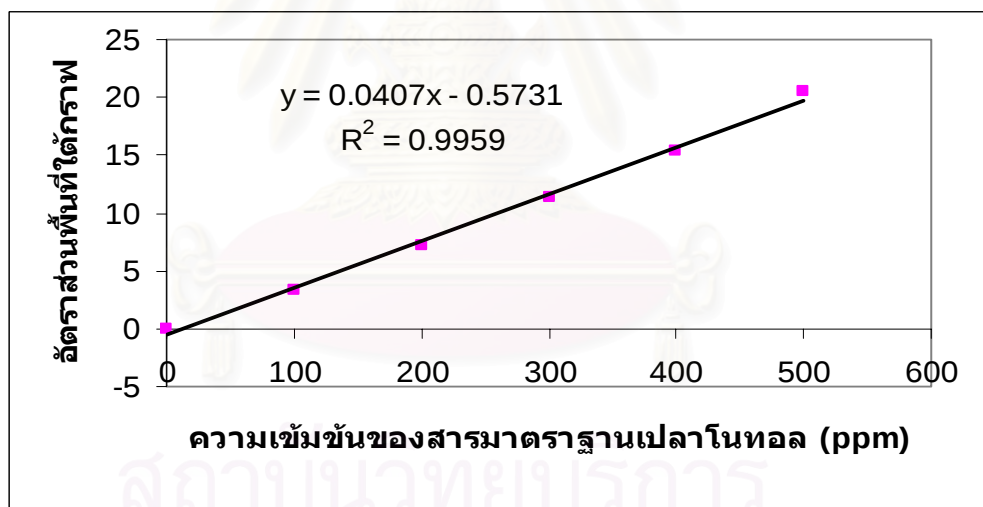
1. นำสารที่สกัดได้มาละลายด้วย 2 มิลลิลิตรของ 50% (v/v) ethanol และ 10% (w/v) NaOH
2. บ่มในเครื่องเขย่าที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 70 องศาเซลเซียสนาน 30 นาที
3. สกัดด้วยเฮกเซน 3 ครั้ง ครั้งละ 3 มิลลิลิตร
4. แล้วระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนให้แห้ง
5. วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

ภาคผนวก ข

โครมาโทแกรม และ กราฟมาตรฐาน



รูปที่ ข.1 โครมาโทแกรมสารละลายมาตรฐานเปลาโนทอลความเข้มข้น 100 ppm และ
สารละลายนอร์มอลออกตาโคเซน ความเข้มข้น 25 ppm ในเฮกเซน



รูปที่ ข.2 กราฟมาตรฐานเปลาโนทอลที่ความเข้มข้น 0 ถึง 500 ppm ที่มี n-octacosane
25 ppm เป็น internal standard

ภาคผนวก ค

ข้อมูลจากการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตที่ภาวะต่าง ๆ

ภาวะการทดลองที่ 1

ใบเปล่าน้อย = 8.0165 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 3 g/min

ความดัน = 255 bar

อุณหภูมิ = 40 °C

ตาราง ค.1 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 1

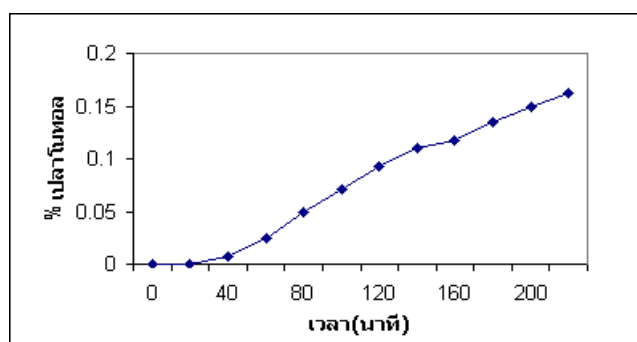
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ใบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่สกัด ได้ (mg)	% content (ในสารสกัด)
20	0.0006	0.0001	0.00	0.00	0.00
40	0.0038	0.0005	58.35	0.58	15.36
60	0.0136	0.0017	138.41	1.38	10.18
80	0.0177	0.0022	200.79	2.01	11.34
100	0.0137	0.0017	173.33	1.73	12.65
120	0.0113	0.0014	172.32	1.72	15.25
140	0.0141	0.0018	143.00	1.43	10.14
160	0.0098	0.0012	56.00	0.56	5.71
180	0.0123	0.0015	139.11	1.39	11.31
200	0.0115	0.0014	115.65	1.16	10.06
220	0.0112	0.0014	107.60	1.08	9.61
รวม	0.1196	0.0149		13.05	10.91

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 13.05 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0016

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.1627 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อกรัม CO₂ ที่ใช้ 0.0198



รูปที่ ค.1 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 1

ภาวะการทดลองที่ 2

ใบเป็ล้าน้อย = 8.0144 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 3 g/min

ความดัน = 255 bar

อุณหภูมิ = 50 °C

ตาราง ค.2 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 2

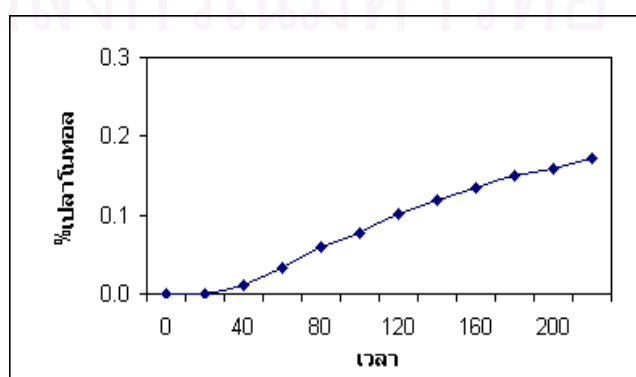
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ใบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่ สกัดได้ (mg)	% content (ในสารสกัด)
20	0.0033	0.0004	3.36	0.03	1.02
40	0.0080	0.0010	91.34	0.91	11.42
60	0.0179	0.0022	175.46	1.75	9.80
80	0.0135	0.0017	198.73	1.99	14.72
100	0.0176	0.0022	150.92	1.51	8.58
120	0.0105	0.0013	189.06	1.89	18.01
140	0.0184	0.0023	148.94	1.49	8.09
160	0.0168	0.0021	126.80	1.27	7.55
180	0.0149	0.0019	110.29	1.10	7.40
200	0.0109	0.0014	82.68	0.83	7.59
220	0.0149	0.0019	100.78	1.01	6.76
รวม	0.1467	0.0183		13.78	9.40

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 13.78 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0017

% เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.1720 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0209



รูปที่ ค.2 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 2

ภาวะการทดลองที่ 3

ไบเป็ลลัน้อย = 8.0019 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 3 g/min

ความดัน = 255 bar

อุณหภูมิ = 60 °C

ตาราง ค.3 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 3

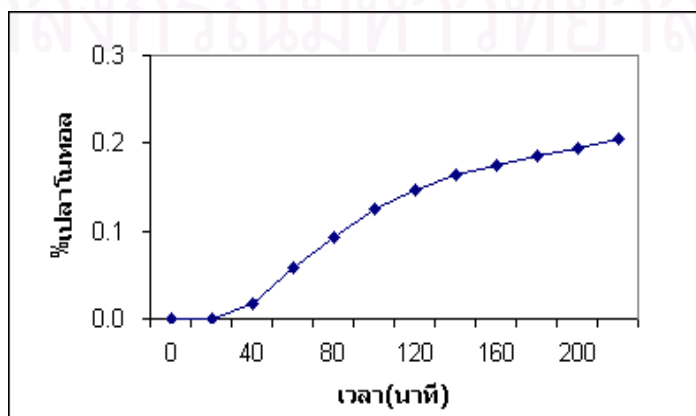
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ไบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่สกัด ได้ (mg)	% content (ในสารสกัด)
20	0.0060	0.0007	3.33	0.03	0.56
40	0.0122	0.0015	139.62	1.40	11.44
60	0.0336	0.0042	315.22	3.15	9.38
80	0.0359	0.0045	289.31	2.89	8.06
100	0.0271	0.0034	256.85	2.57	9.48
120	0.0232	0.0029	172.28	1.72	7.43
140	0.0152	0.0019	131.22	1.31	8.63
160	0.0104	0.0013	91.88	0.92	8.83
180	0.0108	0.0013	79.34	0.79	7.35
200	0.0173	0.0022	72.60	0.73	4.20
220	0.0180	0.0022	82.88	0.83	4.60
รวม	0.2097	0.0262		16.35	7.79

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 16.35 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมไบแห้ง 0.0020

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักไบแห้ง 0.2043 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0248



รูปที่ ค.3 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในไบ จากภาวะการทดลองที่ 3

ภาวะการทดลองที่ 4

ไบเป็ล้าน้อย = 8.0279 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 3 g/min

ความดัน = 265 bar

อุณหภูมิ = 40 °C

ตาราง ค.4 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 4

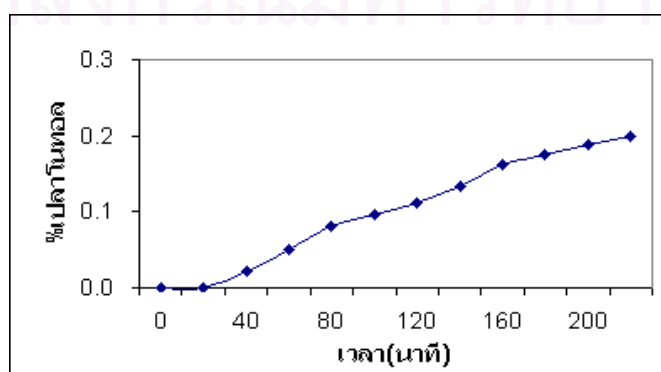
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ไบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่ สกัดได้ (mg)	% content (ในสารสกัด)
20	0.0026	0.0003	2.56	0.03	0.98
40	0.0143	0.0018	176.95	1.77	12.37
60	0.0162	0.0020	225.60	2.26	13.93
80	0.0188	0.0023	240.56	2.41	12.80
100	0.0182	0.0023	131.91	1.32	7.25
120	0.0136	0.0017	126.87	1.27	9.33
140	0.0159	0.0020	159.85	1.60	10.05
160	0.0125	0.0016	229.80	2.30	18.38
180	0.0062	0.0008	114.30	1.14	18.44
200	0.0039	0.0005	98.42	0.98	25.24
220	0.0097	0.0012	90.01	0.90	9.28
รวม	0.1319	0.0164		15.97	12.11

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 15.97 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมไบแห้ง 0.0020

% เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักไบแห้ง 0.1989 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0242



รูปที่ ค.4 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในไบ จากภาวะการทดลองที่ 4

ภาวะการทดลองที่ 5

ใบเป็ล้าน้อย = 8.0285 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 3 g/min

ความดัน = 265 bar

อุณหภูมิ = 50 °C

ตาราง ค.5 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 5

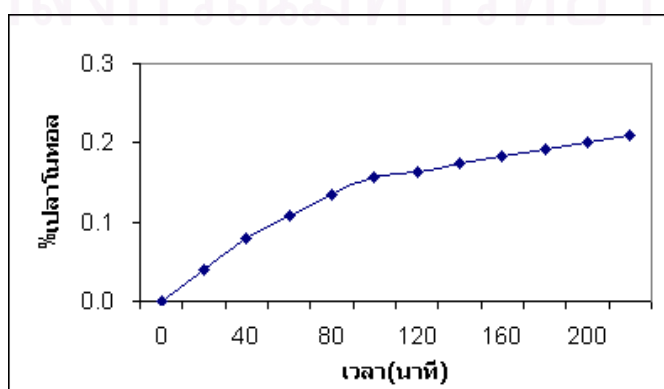
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนักใบ (g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่สกัด ได้ (mg)	% content (ในสารสกัด)
20	0.0327	0.0041	315.20	3.15	9.64
40	0.0302	0.0038	313.81	3.14	10.39
60	0.0285	0.0035	244.79	2.45	8.59
80	0.0249	0.0031	209.46	2.09	8.41
100	0.0331	0.0041	172.56	1.73	5.21
120	0.0247	0.0031	49.44	0.49	2.00
140	0.0105	0.0013	89.65	0.90	8.54
160	0.0064	0.0008	67.35	0.67	10.52
180	0.0121	0.0015	86.54	0.87	7.15
200	0.0061	0.0008	64.04	0.64	10.50
220	0.0094	0.0012	62.45	0.62	6.64
รวม	0.2186	0.0272		16.75	7.66

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 16.75 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0021

% เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.2087 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0254



รูปที่ ค.5 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 5

ภาวะการทดลองที่ 6

ไบเป็ล้าน้อย = 8.0123 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 3 g/min

ความดัน = 265 bar

อุณหภูมิ = 60 °C

ตาราง ค.6 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 6

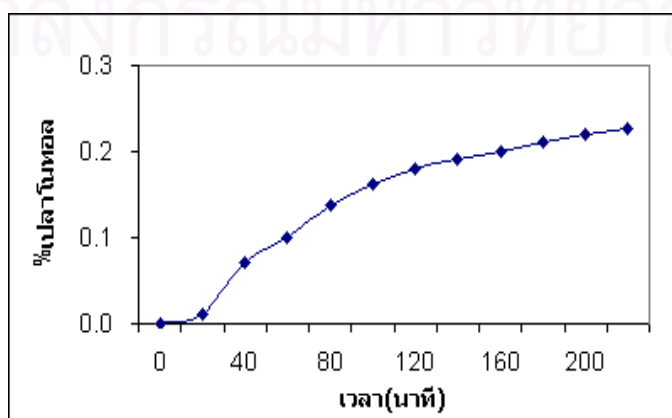
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ไบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่ สกัดได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.0075	0.0009	89.11	0.89	11.88
40	0.0545	0.0068	479.68	4.80	8.80
60	0.0358	0.0045	240.61	2.41	6.72
80	0.0345	0.0043	288.61	2.89	8.37
100	0.0197	0.0025	198.71	1.99	10.09
120	0.0177	0.0022	139.16	1.39	7.86
140	0.0109	0.0014	102.02	1.02	9.36
160	0.0081	0.0010	71.69	0.72	8.85
180	0.0091	0.0011	80.89	0.81	8.89
200	0.0108	0.0013	70.21	0.70	6.50
220	0.0085	0.0011	64.08	0.64	7.54
รวม	0.2171	0.0271		18.25	8.41

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 18.25 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมไบแห้ง 0.0023

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักไบแห้ง 0.2277 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0277



รูปที่ ค.6 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในไบ จากภาวะการทดลองที่ 6

ภาวะการทดลองที่ 7

ไบเป็ลลัน้อย = 8.0237 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 3 g/min

ความดัน = 275 bar

อุณหภูมิ = 40 °C

ตาราง ค.7 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 7

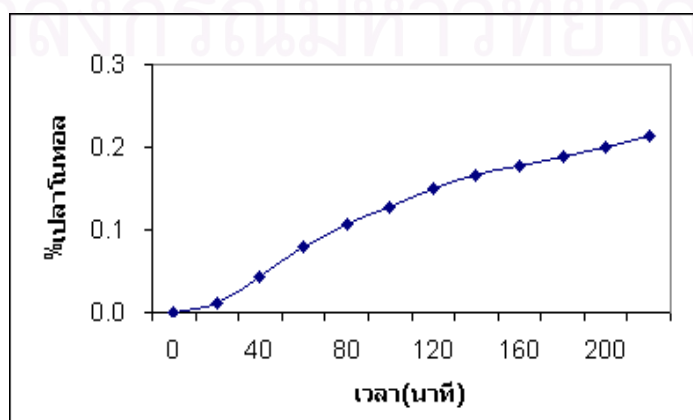
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนักไบ (g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่สกัด ได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.0090	0.0011	98.72	0.99	10.97
40	0.0180	0.0022	243.65	2.44	13.54
60	0.0286	0.0036	287.80	2.88	10.06
80	0.0361	0.0045	231.03	2.31	6.40
100	0.0321	0.0040	166.79	1.67	5.20
120	0.0250	0.0031	166.98	1.67	6.68
140	0.0233	0.0029	127.72	1.28	5.48
160	0.0088	0.0011	97.20	0.97	11.05
180	0.0090	0.0011	92.75	0.93	10.31
200	0.0083	0.0010	89.98	0.90	10.84
220	0.0115	0.0014	113.73	1.14	9.89
รวม	0.2097	0.0261		17.16	8.18

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 17.16 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมไบแห้ง 0.0021

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักไบแห้ง 0.2139 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0260



รูปที่ ค.7 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลที่สกัดได้จากภาวะการทดลองที่ 7

ภาวะการทดลองที่ 8

ใบเป็ล้าน้อย = 8.0137 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 3 g/min

ความดัน = 275 bar

อุณหภูมิ = 50 °C

ตาราง ค.8 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 8

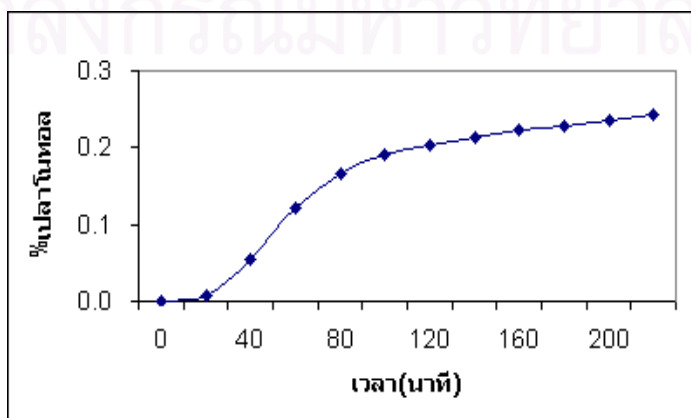
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ใบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่สกัด ได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.0092	0.0011	57.21	0.57	6.22
40	0.0416	0.0052	372.28	3.72	8.95
60	0.0634	0.0079	545.63	5.46	8.61
80	0.0472	0.0059	356.10	3.56	7.54
100	0.0388	0.0048	204.44	2.04	5.27
120	0.0235	0.0029	99.04	0.99	4.21
140	0.0203	0.0025	77.35	0.77	3.81
160	0.0178	0.0022	66.59	0.67	3.74
180	0.0084	0.0010	55.35	0.55	6.59
200	0.0080	0.0010	58.09	0.58	7.26
220	0.0122	0.0015	53.60	0.54	4.39
รวม	0.2904	0.0362		19.46	6.70

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 19.46 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0024

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.2428 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0295



รูปที่ ค.8 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 8

ภาวะการทดลองที่ 9

ใบเป็ล้าน้อย = 8.0392 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 3 g/min

ความดัน = 275 bar

อุณหภูมิ = 60 °C

ตาราง ค.9 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 9

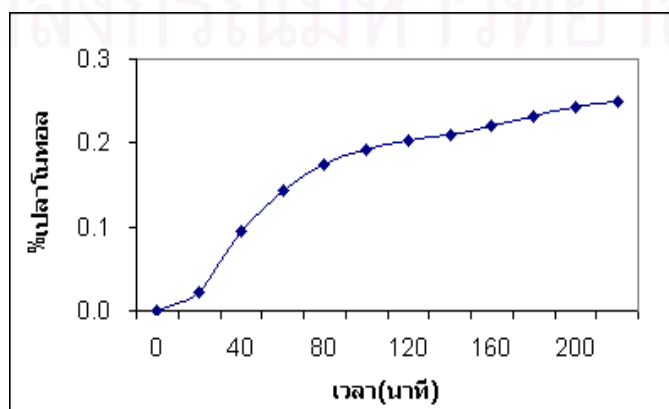
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ใบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่ สกัดได้ (mg)	%content ในสารสกัด)
20	0.0161	0.0020	177.37	1.77	11.02
40	0.0610	0.0076	586.05	5.86	9.61
60	0.0506	0.0063	386.47	3.86	7.64
80	0.0318	0.0040	249.20	2.49	7.84
100	0.0176	0.0022	136.76	1.37	7.77
120	0.0105	0.0013	94.12	0.94	8.96
140	0.0075	0.0009	47.69	0.48	6.36
160	0.0135	0.0017	101.20	1.01	7.50
180	0.0082	0.0010	82.30	0.82	10.04
200	0.0109	0.0014	90.87	0.91	8.34
220	0.0065	0.0008	47.67	0.48	7.33
รวม	0.2342	0.0292		20.00	8.54

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 20.00 กรัม

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0025

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.2487 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0303



รูปที่ ค.9 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลที่ในใบ จากภาวะการทดลองที่ 9

ภาวะการทดลองที่ 10

ใบเป็ล้าน้อย = 8.0163 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 g/min

ความดัน = 255 bar

อุณหภูมิ = 40 °C

ตาราง ค.10 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 10

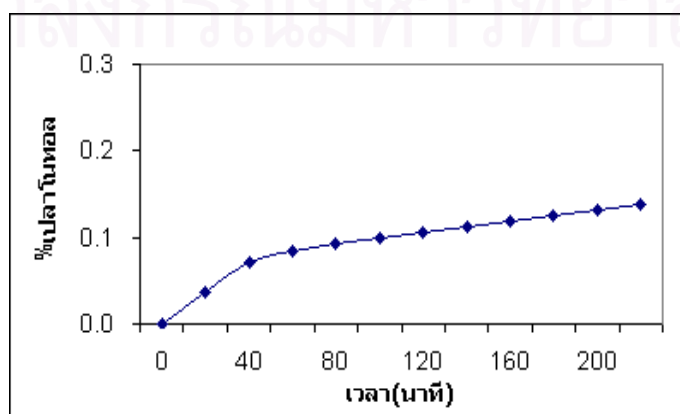
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัด ได้(g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ใบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่ สกัดได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.0443	0.0055	285.70	2.86	6.45
40	0.0438	0.0055	288.19	2.88	6.58
60	0.0202	0.0025	100.03	1.00	4.95
80	0.0101	0.0013	62.83	0.63	6.22
100	0.0233	0.0029	56.42	0.56	2.42
120	0.0141	0.0018	52.89	0.53	3.75
140	0.0049	0.0006	52.18	0.52	10.65
160	0.0027	0.0003	50.26	0.50	18.61
180	0.0151	0.0019	50.36	0.50	3.34
200	0.0096	0.0012	49.82	0.50	5.19
220	0.0085	0.0011	50.73	0.51	5.97
รวม	0.1966	0.0245		10.99	5.59

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 10.99 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0014

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.1371 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0100



รูปที่ ค.10 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในใบ ได้จากภาวะการทดลองที่ 10

ภาวะการทดลองที่ 11

ใบเป็ล้าน้อย = 8.0132 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 g/min

ความดัน = 255 bar

อุณหภูมิ = 50 °C

ตาราง ค.11 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 11

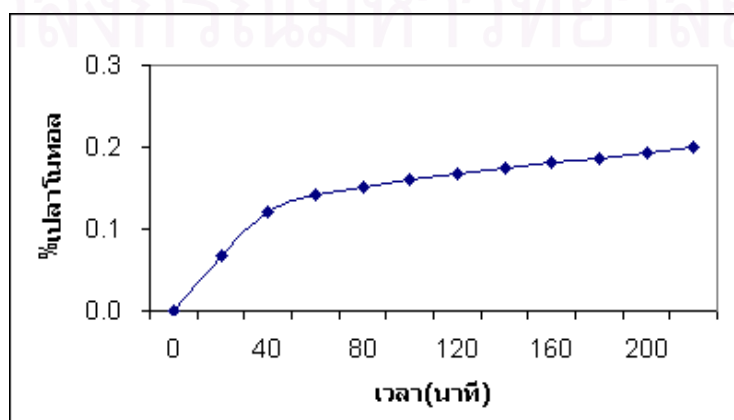
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ใบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่ สกัดได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.0638	0.0080	537.35	5.37	8.42
40	0.0683	0.0085	432.45	4.32	6.33
60	0.0312	0.0039	159.14	1.59	5.10
80	0.0151	0.0019	86.06	0.86	5.70
100	0.0108	0.0013	64.14	0.64	5.94
120	0.0097	0.0012	60.71	0.61	6.26
140	0.0072	0.0009	54.00	0.54	7.50
160	0.0050	0.0006	52.28	0.52	10.46
180	0.0054	0.0007	50.86	0.51	9.42
200	0.0068	0.0008	50.17	0.50	7.38
220	0.0029	0.0004	50.40	0.50	17.38
รวม	0.2262	0.0282		15.98	7.06

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 15.98 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0020

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.1994 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0145



รูปที่ ค.11 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 11

ภาวะการทดลองที่ 12

ใบเป็ล้าน้อย = 8.0177 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 g/min

ความดัน = 255 bar

อุณหภูมิ = 60 °C

ตาราง ค.12 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 12

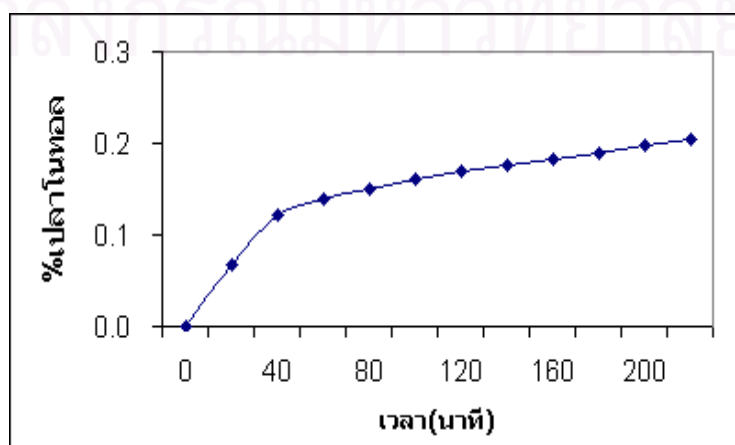
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ใบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่สกัด ได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.0939	0.0117	543.90	5.44	5.79
40	0.0491	0.0061	431.99	4.32	8.80
60	0.0207	0.0026	142.41	1.42	6.88
80	0.0087	0.0011	76.56	0.77	8.80
100	0.0141	0.0018	88.34	0.88	6.27
120	0.0091	0.0011	77.65	0.78	8.53
140	0.0065	0.0008	50.11	0.50	7.71
160	0.0070	0.0009	53.26	0.53	7.61
180	0.0073	0.0009	47.73	0.48	6.54
200	0.0123	0.0015	76.87	0.77	6.25
220	0.0094	0.0012	55.21	0.55	5.87
รวม	0.2381	0.0298		16.44	6.90

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 16.44 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0021

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.2051 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0149



รูปที่ ค.12 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 12

ภาวะการทดลองที่ 13

ใบเป็ล้าน้อย = 8.0223 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 g/min

ความดัน = 265 bar

อุณหภูมิ = 40 °C

ตาราง ค.13 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 13

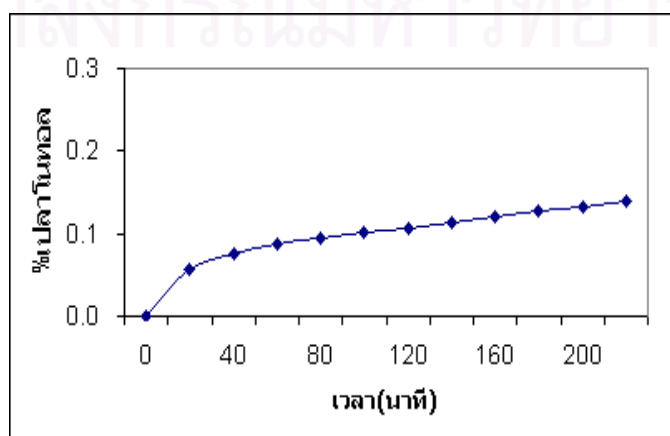
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ใบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่ สกัดได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.0768	0.0096	446.21	4.46	5.81
40	0.0639	0.0080	166.64	1.67	2.61
60	0.0196	0.0024	80.44	0.80	4.10
80	0.0093	0.0012	61.29	0.61	6.59
100	0.0053	0.0007	53.92	0.54	10.17
120	0.0059	0.0007	52.02	0.52	8.82
140	0.0029	0.0004	52.50	0.53	18.10
160	0.0042	0.0005	52.76	0.53	12.56
180	0.0033	0.0004	52.41	0.52	15.88
200	0.0039	0.0005	49.80	0.50	12.77
220	0.0042	0.0005	53.43	0.53	12.72
รวม	0.1993	0.0248		11.21	5.63

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 11.21 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0014

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.1398 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0102



รูปที่ ค.13 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 13

ภาวะการทดลองที่ 14

ใบเป็ล้าน้อย = 8.0135 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 g/min

ความดัน = 265 bar

อุณหภูมิ = 50 °C

ตาราง ค.14 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 14

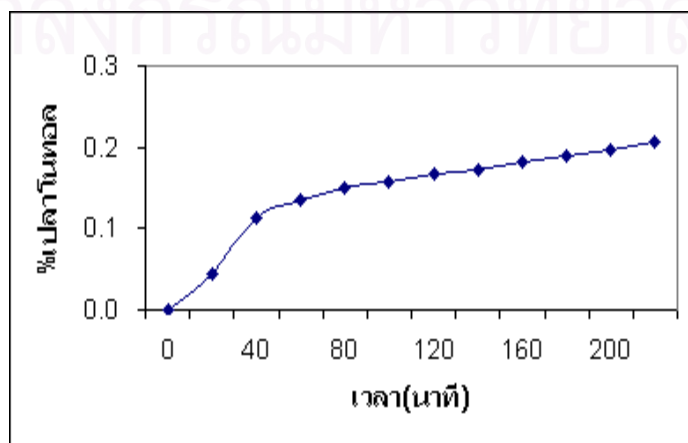
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ใบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่ สกัดได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.0536	0.0067	352.82	3.53	6.58
40	0.0946	0.0118	550.92	5.51	5.82
60	0.0349	0.0044	189.85	1.90	5.44
80	0.0175	0.0022	105.18	1.05	6.01
100	0.0152	0.0019	69.62	0.70	4.58
120	0.0091	0.0011	68.30	0.68	7.51
140	0.0047	0.0006	47.69	0.48	10.15
160	0.0077	0.0010	70.28	0.70	9.13
180	0.0054	0.0007	65.43	0.65	12.12
200	0.0027	0.0003	47.69	0.48	17.66
220	0.0068	0.0008	78.81	0.79	11.59
รวม	0.2522	0.0314		16.47	6.53

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 16.37 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0021

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.2055 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0150



รูปที่ ค.14 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 14

ภาวะการทดลองที่ 15

ใบเป็ล้าน้อย = 8.0256 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 g/min

ความดัน = 265 bar

อุณหภูมิ = 60 °C

ตาราง ค.15 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 15

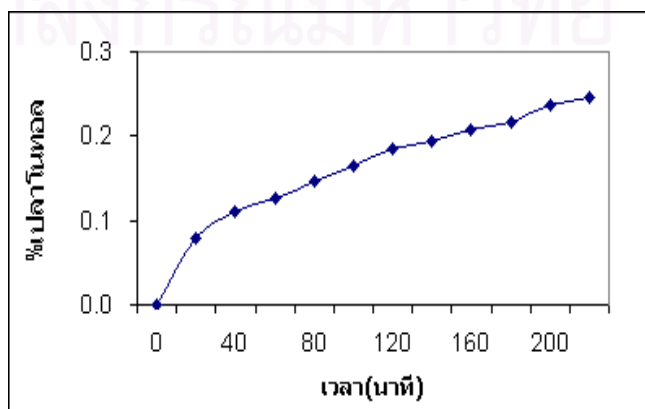
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ใบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่ สกัดได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.0852	0.0106	641.23	6.41	7.53
40	0.0258	0.0032	242.29	2.42	9.39
60	0.0115	0.0014	125.25	1.25	10.89
80	0.0126	0.0016	165.54	1.66	13.14
100	0.0092	0.0011	154.21	1.54	16.76
120	0.0078	0.0010	148.54	1.49	19.04
140	0.0065	0.0008	88.44	0.88	13.61
160	0.0075	0.0009	92.29	0.92	12.31
180	0.0042	0.0005	77.89	0.78	18.55
200	0.0117	0.0015	167.71	1.68	14.33
220	0.0043	0.0005	71.05	0.71	16.52
รวม	0.1863	0.0232		19.74	10.60

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 19.74 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0025

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.2460 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0179



รูปที่ ค.15 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในใบ ได้จากภาวะการทดลองที่ 15

ภาวะการทดลองที่ 16

ไบเป็ล้าน้อย = 8.0188 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 g/min

ความดัน = 275 bar

อุณหภูมิ = 40 °C

ตาราง ค.16 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 16

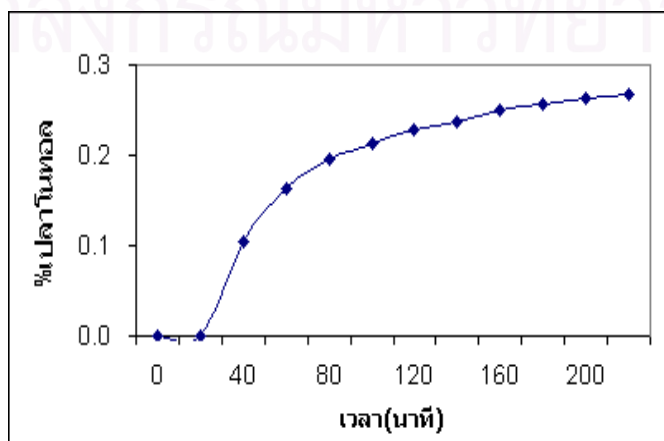
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ไบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่ สกัดได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.0010	0.0001	0.00	0.00	0.00
40	0.1560	0.0195	838.67	8.39	5.38
60	0.0403	0.0050	469.40	4.69	11.65
80	0.0497	0.0062	257.97	2.58	5.19
100	0.0376	0.0047	150.51	1.51	4.00
120	0.0350	0.0044	109.16	1.09	3.12
140	0.0129	0.0016	78.22	0.78	6.06
160	0.0166	0.0021	98.21	0.98	5.92
180	0.0057	0.0007	47.68	0.48	8.36
200	0.0051	0.0006	53.21	0.53	10.43
220	0.0031	0.0004	47.69	0.48	15.38
รวม	0.3630	0.0453		21.51	5.92

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 21.51 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมไบแห้ง 0.0027

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักไบแห้ง 0.2682 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0196



รูปที่ ค.16 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในไบ จากภาวะการทดลองที่ 16

ภาวะการทดลองที่ 17

ใบเป็ล้าน้อย = 8.0324 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 g/min

ความดัน = 275 bar

อุณหภูมิ = 50 °C

ตาราง ค.17 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 17

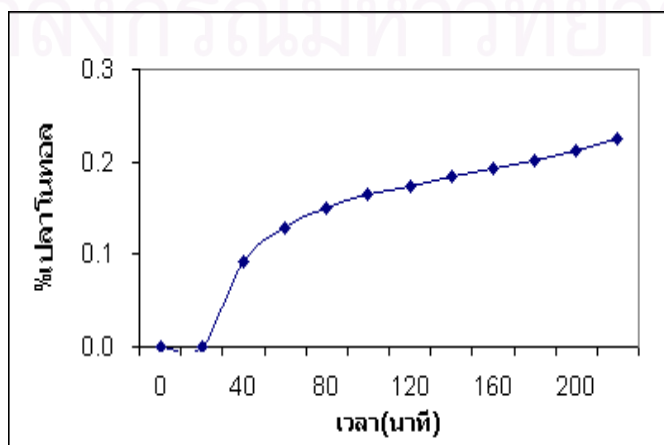
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ใบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่ สกัดได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.0007	0.0001	0.00	0.00	0.00
40	0.1024	0.0127	735.18	7.35	7.18
60	0.0521	0.0065	305.69	3.06	5.87
80	0.0416	0.0052	162.52	1.63	3.91
100	0.0328	0.0041	113.86	1.14	3.47
120	0.0143	0.0018	81.86	0.82	5.72
140	0.0086	0.0011	76.73	0.77	8.92
160	0.0093	0.0012	77.46	0.77	8.33
180	0.0074	0.0009	65.87	0.66	8.90
200	0.0093	0.0012	85.48	0.85	9.19
220	0.0183	0.0023	96.54	0.97	5.28
รวม	0.2968	0.0370		18.01	6.07

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 18.01 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0022

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.2242 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0164



รูปที่ ค.17 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 17

ภาวะการทดลองที่ 18

ใบเป็ล้าน้อย = 8.0219 g

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 g/min

ความดัน = 275 bar

อุณหภูมิ = 60 °C

ตาราง ค.18 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 18

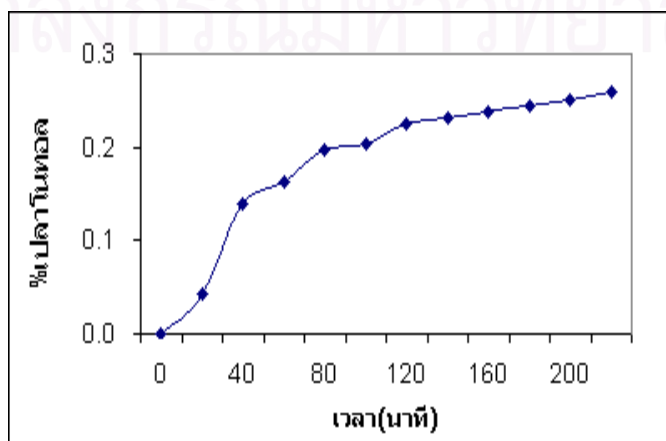
เวลา (min)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ใบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่ สกัดได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.0639	0.0080	335.87	3.36	5.26
40	0.0918	0.0114	788.99	7.89	8.59
60	0.0321	0.0040	173.95	1.74	5.42
80	0.0514	0.0064	279.21	2.79	5.43
100	0.0143	0.0018	58.83	0.59	4.11
120	0.0263	0.0033	159.75	1.60	6.07
140	0.0067	0.0008	56.03	0.56	8.36
160	0.0023	0.0003	49.44	0.49	21.50
180	0.0021	0.0003	52.33	0.52	24.92
200	0.0071	0.0009	49.15	0.49	6.92
220	0.0077	0.0010	73.32	0.73	9.52
รวม	0.3057	0.0381		20.77	6.79

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 20.77 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0026

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.2589 % w/w

เปลาโนทอลที่สกัดได้(mg)ต่อ g CO₂ ที่ใช้ 0.0189



รูปที่ ค.18 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในใบ ได้จากภาวะการทดลองที่ 18

ภาคผนวก ง

ข้อมูลผลของขนาดโบบดละเอียดที่มีต่อการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

ภาวะการทดลองที่ 22

โบบดละเอียด = 8.0130 ขนาด <36 mesh

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 3 g/min ความดัน = 275 bar อุณหภูมิ = 40 °C

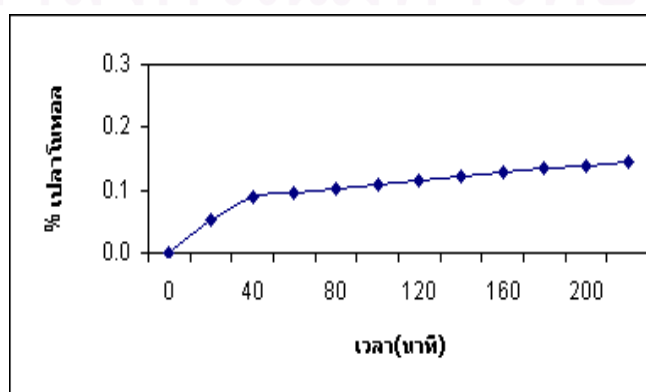
ตาราง ง.1 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 22

เวลา (นาท)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก โบบด(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่ สกัดได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.0591	0.0074	384.97	3.85	6.51
40	0.0569	0.0071	584.14	5.84	10.27
60	0.0342	0.0043	171.00	1.71	5.00
80	0.0215	0.0027	159.09	1.59	7.40
100	0.0130	0.0016	50.14	0.50	3.86
120	0.0135	0.0017	63.92	0.64	4.73
140	0.0083	0.0010	51.90	0.52	6.25
160	0.0084	0.0010	51.87	0.52	6.18
180	0.0071	0.0009	52.84	0.53	7.44
200	0.0035	0.0004	52.10	0.52	14.89
220	0.0023	0.0003	51.93	0.52	22.58
0.2278				16.74	7.35

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 16.74 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมโบบดแห้ง 0.0021

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักโบบดแห้ง 0.2089 % w/w



รูปที่ ง.1 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในโบบด จากภาวะการทดลองที่ 22

ภาวะการทดลองที่ 23

ใบเป็ล้าน้อย = 8.0170 g ขนาดระหว่าง 26 mesh ถึง 36 mesh

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 3 g/min

ความดัน = 275 bar

อุณหภูมิ = 40 °C

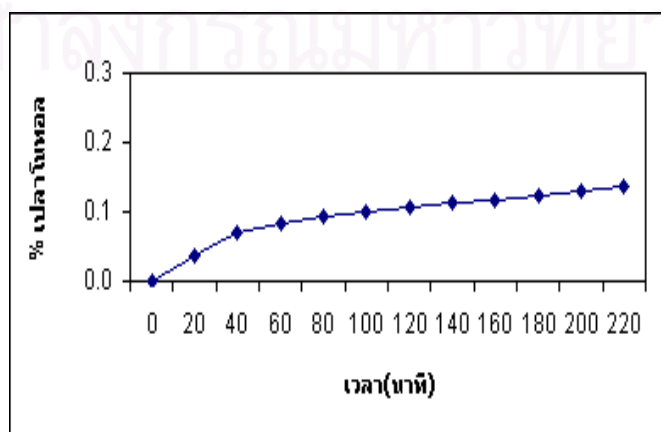
ตาราง ง.2 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 23

เวลา (นาท)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ใบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่ สกัดได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.0544	0.0068	483.42	4.83	8.89
40	0.0449	0.0056	417.91	4.18	9.31
60	0.0177	0.0022	166.83	1.67	9.43
80	0.0137	0.0017	162.25	1.62	11.84
100	0.0146	0.0018	85.14	0.85	5.83
120	0.0135	0.0017	54.42	0.54	4.03
140	0.0120	0.0015	52.10	0.52	4.34
160	0.0091	0.0011	51.22	0.51	5.63
180	0.0148	0.0018	49.86	0.50	3.37
200	0.0084	0.0010	49.54	0.50	5.90
220	0.0115	0.0014	50.30	0.50	4.37
	<u>0.2146</u>			<u>16.23</u>	<u>7.56</u>

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 16.23 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0020

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.2024 % w/w



รูปที่ ง.2 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 23

ภาวะการทดลองที่ 24

ใบเป็ล้าน้อย = 8.0153 g ขนาดระหว่าง 22 mesh ถึง 26 mesh

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 3 g/min

ความดัน = 275 bar

อุณหภูมิ = 40 °C

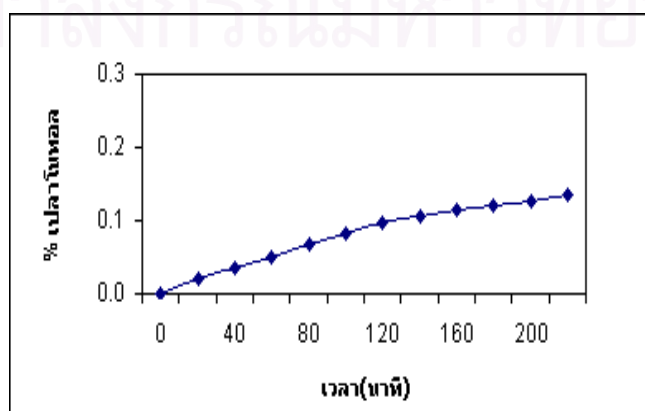
ตาราง ง.3 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 24

เวลา (นาท)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนัก ใบ(g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่ สกัดได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.0684	0.0085	483.53	4.84	7.07
40	0.0570	0.0071	392.21	3.92	6.88
60	0.0280	0.0035	188.28	1.88	6.72
80	0.0130	0.0016	161.94	1.62	12.46
100	0.0114	0.0014	85.51	0.86	7.50
120	0.0055	0.0007	53.10	0.53	9.65
140	0.0054	0.0007	51.90	0.52	9.61
160	0.0019	0.0002	50.68	0.51	26.67
180	0.0068	0.0008	49.27	0.49	7.25
200	0.0014	0.0002	50.35	0.50	35.96
220	0.0064	0.0008	52.84	0.53	8.26
	0.2052			16.20	7.89

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 16.20 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0020

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.2021 % w/w



รูปที่ ง.3 เปอร์เซนต์เปลาโนทอลในใบ จากภาวะการทดลองที่ 24

ภาคผนวก จ

ข้อมูลผลของสารสกัดร่วมที่มีต่อการสกัดในการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤต

ภาวะการทดลองที่ 19

ใบปลี่ยน้อย = 8.0185 g + hexane 16 ml.

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 g/min ความดัน = 275 bar อุณหภูมิ = 60 °C

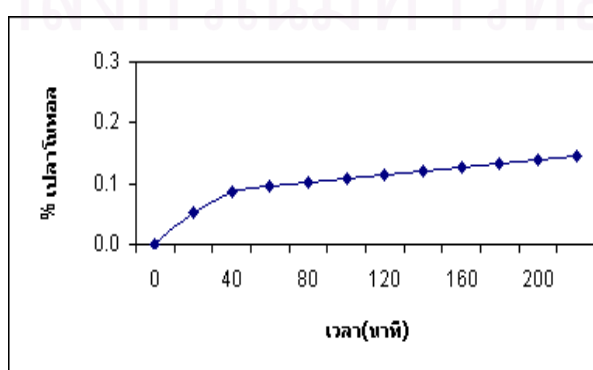
ตาราง จ.1 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 19

เวลา (นาท)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนักใบ (g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่ สกัดได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.1012	0.0126	425.37	4.25	4.20
40	0.0690	0.0086	279.60	2.80	4.05
60	0.0157	0.0020	65.25	0.65	4.16
80	0.0093	0.0012	54.39	0.54	5.85
100	0.0147	0.0018	51.84	0.52	3.53
120	0.0100	0.0012	49.93	0.50	4.99
140	0.0038	0.0005	49.24	0.49	12.96
160	0.0095	0.0012	49.13	0.49	5.17
180	0.0041	0.0005	48.59	0.49	11.85
200	0.0103	0.0013	48.66	0.49	4.72
220	0.0158	0.0020	48.83	0.49	3.09
0.2634				11.71	4.45

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 11.71 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0015

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.1460 % w/w



รูปที่ จ.1 เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลที่สกัดได้จากภาวะการทดลองที่ 19

ภาวะการทดลองที่ 20

ใบเป็ล้าน้อย = 8.0170 g + ethanol 16 ml.

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 g/min ความดัน = 275 bar อุณหภูมิ = 60 °C

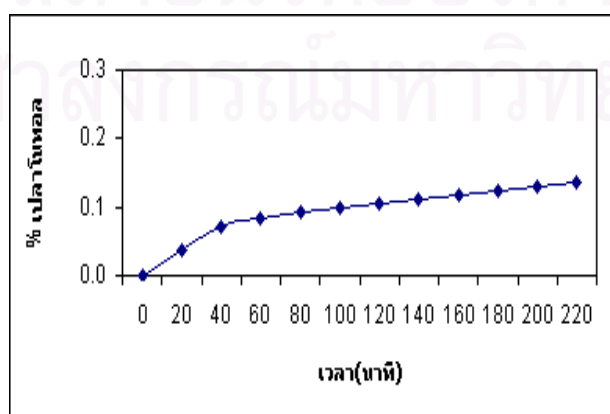
ตาราง จ.2 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 20

เวลา (นาท)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนักใบ (g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่สกัดได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.0822	0.0103	285.70	2.86	3.48
40	0.0778	0.0097	288.19	2.88	3.70
60	0.0290	0.0036	100.03	1.00	3.45
80	0.0257	0.0032	62.83	0.63	2.44
100	0.0058	0.0007	56.42	0.56	9.73
120	0.0240	0.0030	52.89	0.53	2.20
140	0.0051	0.0006	52.18	0.52	10.23
160	0.0023	0.0003	50.26	0.50	21.85
180	0.0038	0.0005	50.36	0.50	13.25
200	0.0203	0.0025	49.82	0.50	2.45
220	0.0047	0.0006	50.73	0.51	10.79
	<u>0.2807</u>			<u>10.99</u>	<u>3.92</u>

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 10.99 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0014

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.1371 % w/w



รูปที่ จ.2 เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลที่สกัดได้จากภาวะการทดลองที่ 20

ภาวะการทดลองที่ 21

ใบเปล้าน้อย = 8.0153 g + plam oil 16 ml.

อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ = 5 g/min ความดัน = 275 bar อุณหภูมิ = 60 °C

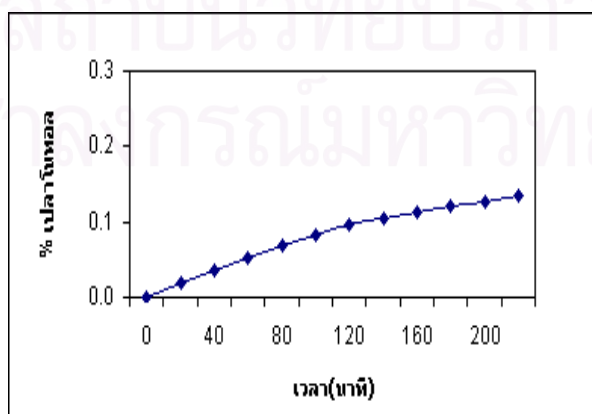
ตาราง จ.3 ผลการสกัดเปลาโนทอลด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภาวะเหนือวิกฤตจากภาวะการทดลองที่ 21

เวลา (นาท)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้ (g)	น้ำหนัก สารที่สกัดได้/น้ำหนักใบ (g)	conc. plaunotol (ppm)	ปริมาณ Plaunotol ที่สกัดได้ (mg)	%content (ในสารสกัด)
20	0.7668	0.0956	153.53	1.54	0.20
40	0.9615	0.1199	124.92	1.25	0.13
60	0.6331	0.0790	133.55	1.34	0.21
80	0.5999	0.0748	136.22	1.36	0.23
100	0.6407	0.0799	121.44	1.21	0.19
120	0.5297	0.0661	112.10	1.12	0.21
140	0.4274	0.0533	65.65	0.66	0.15
160	0.4887	0.0609	62.41	0.62	0.13
180	0.4037	0.0503	61.10	0.61	0.15
200	0.3888	0.0485	53.44	0.53	0.14
220	0.3824	0.0477	50.39	0.50	0.13
6.2227				10.75	1.87

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ทั้งหมด = 10.75 mg

ปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ กรัม/ กรัมใบแห้ง 0.0013

%เปลาโนทอลที่สกัดได้เทียบกับน้ำหนักใบแห้ง 0.1340 % w/w



รูปที่ จ.3 เปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลที่สกัดได้จากภาวะการทดลองที่ 21

ตารางที่ จ.4 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลในใบที่สกัดได้ที่ ความดัน 275 bar ,อุณหภูมิ

60 °C และอัตราการไหล 5 g/min ทั้งที่มีการใช้ co-solvent และไม่ใช่

เวลา (นาที)	% เปลาโนทอลในใบ			
	without	hexane	ethanol	palm oil
0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
20	0.0419	0.0531	0.0356	0.0192
40	0.1402	0.0879	0.0716	0.0347
60	0.1619	0.0961	0.0841	0.0514
80	0.1967	0.1028	0.0919	0.0684
100	0.2040	0.1093	0.0989	0.0835
120	0.2240	0.1155	0.1055	0.0975
140	0.2309	0.1217	0.1120	0.1057
160	0.2371	0.1278	0.1183	0.1135
180	0.2436	0.1339	0.1246	0.1211
200	0.2498	0.1399	0.1398	0.1278
220	0.2589	0.1460	0.1371	0.1341

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนที่มีต่อปริมาณเปลาโนทอลที่สกัดได้ด้วยโปรแกรม SPSS

ตารางที่ จ1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอุณหภูมิ ความดัน อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ และปัจจัยร่วมของทั้งสามปัจจัย ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลที่สกัดได้ด้วย multiple factor ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: %plaunotol

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.021(a)	13	.002	1.937	.275
Intercept	.787	1	.787	941.040	.000
flow	1.12E-006	1	1.12E-006	.001	.973
temp	.006	2	.003	3.635	.043
pres	.012	2	.006	7.164	.048
flow * temp	.000	2	.000	.180	.842
flow * pres	.001	2	.000	.403	.693
temp * pres	.002	4	.001	.602	.682
Error	.003	4	.001		
Total	.811	18			
Corrected Total	.024	17			

a R Squared = .863 (Adjusted R Squared = .417)

ตารางที่ จ 2 การวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิที่ระดับต่าง ๆ ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์เปลาโนทอลที่สกัดได้ด้วย LSD

(I) temperature		(J) temperature	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	40 celcius	50 celcius	-.021533	.0159350	.248	-.065776	.022709
		60 celcius	-.046517(*)	.0159350	.043	-.090759	-.002274
	50 celcius	40 celcius	.021533	.0159350	.248	-.022709	.065776
		60 celcius	-.024983	.0159350	.192	-.069226	.019259
	60 celcius	40 celcius	.046517(*)	.0159350	.043	.002274	.090759
		50 celcius	.024983	.0159350	.192	-.019259	.069226

ตารางที่ ๓ การวิเคราะห์ผลของความดันที่ระดับต่าง ๆ ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์ปลาโนทอลที่สกัดได้ด้วย LSD

Dependent Variable: %plaunotol

Dependent Variable: Replicate							
			Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
(I) pressure	(J) pressure						
LSD	255 bar	265 bar	-.024333	.0166969	.219	-.070691	.022025
		275 bar	-.062683(*)	.0166969	.020	-.109041	-.016325
	265 bar	255 bar	.024333	.0166969	.219	-.022025	.070691
		275 bar	-.038350	.0166969	.083	-.084708	.008008
	275 bar	255 bar	.062683(*)	.0166969	.020	.016325	.109041
		265 bar	.038350	.0166969	.083	-.008008	.084708

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the .05 level.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

**การวิเคราะห์ความแปรปรวนที่มีต่อปริมาณความบริสุทธิ์เปลาโนทอลที่สกัดได้
ด้วยโปรแกรม SPSS**

ตารางที่ ข 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอุณหภูมิ ความดัน อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ และปัจจัยร่วมของทั้งสามปัจจัย ต่อความบริสุทธิ์ของเปลาโนทอลที่สกัดได้ด้วย multiple factor ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: %purity

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	51.502 ^a	13	3.962	2.345	.213
Intercept	1113.133	1	1113.133	658.958	.000
pres	7.575	2	3.788	2.242	.222
temp	3.813	2	1.906	1.129	.409
flow	17.701	1	17.701	10.479	.032
pres * temp	6.529	4	1.632	.966	.513
pres * flow	1.690	2	.845	.500	.640
temp * flow	14.193	2	7.097	4.201	.104
Error	6.757	4	1.689		
Total	1171.392	18			
Corrected Total	58.259	17			

a. R Squared = .884 (Adjusted R Squared = .507)

ตารางที่ ข 2 Estimation Marginal Means of flow rate

Dependent Variable: %purity

(I) flow rate	(J) flow rate	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.(a)	95% Confidence Interval for Difference(a)	
					lower Bound	Upper Bound
3 g CO2/min	5 g CO2/min	2.477(*)	.401	.003	1.363	3.591
5 g CO2/min	3 g CO2/min	-2.477(*)	.401	.003	-3.591	-1.363

Based on estimated marginal means

* The mean difference is significant at the .05 level.

a Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว อุษณีย์ ดวงหทัยกุล เกิดเมื่อวันที่ 29 มกราคม พ.ศ.2524 ที่อำเภอเมือง จังหวัด เชียงราย สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร จากคณะ อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในปีการศึกษา 2546 และได้สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ จากคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2549



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย