



รายงานการวิจัย เรื่อง

การสกัดอินนูลินจากหัวแก่่นตะวันโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์
Ultrasound-assisted Extraction of Inulin from Jelusarem Artichoke

ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ
Pramote Khuwijitjaru

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555
ภายใต้ชุดโครงการวิจัยเรื่องการพัฒนาการผลิตอินนูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากพืชและจุลินทรีย์เพื่อ
เพิ่มมูลค่าทางเศรษฐศาสตร์
ปีที่ดำเนินการเสร็จ พ.ศ. 2557

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของชุดโครงการวิจัยเรื่อง “การพัฒนาการผลิตอินนูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากพืชและจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐศาสตร์” ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ พ.ศ. 2555 จากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ผู้วิจัยขอขอบคุณนางสาวชุติมา วันเพ็ญ ผู้ช่วยทำปฏิบัติการในโครงการนี้ และขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเชษฐ์ สมุหเสนีโต ในการอนุเคราะห์และแนะนำการใช้เครื่อง High Performance Anion Exchange Chromatography

บทคัดย่อ

ภาษาไทย

ส่วนที่ 1

ชื่อโครงการ การสกัดอินนูลินจากหัวแก่้นตะวันโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์

ชื่อผู้วิจัย ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ (หัวหน้าโครงการวิจัย)

คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร
แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2555

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีที่เสร็จ พ.ศ. 2557

ประเภทการวิจัย การวิจัยประยุกต์

สาขาวิชา (อ้างอิงตาม วช.) เกษตรศาสตร์และชีววิทยา

ส่วนที่ 2 บทคัดย่อ

แก่้นตะวัน (*Helianthus tuberosus* L.) เป็นแหล่งของอินนูลินซึ่งใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารอย่างแพร่หลาย โดยทั่วไปการสกัดอินนูลินจากพืชสามารถใช้การสกัดด้วยน้ำร้อน การวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิ เวลา และแอมพลิจูดของการพริทด้วยอัลตราซาวด์ก่อนการสกัดด้วยน้ำร้อนและการสกัดโดยตรงด้วยอัลตราซาวด์ต่อความยาวสาย (DP) ของอินนูลินและองค์ประกอบต่างๆ ที่สกัดได้ หัวแก่้นตะวันถูกหั่นและอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นบดให้เป็นผง (ปริมาณความชื้นร้อยละ 6.87) การพริทที่ใช้อัลตราซาวด์แบบโรบอทที่ให้ความถี่ 20 กิโลเฮิรตซ์ ที่ระดับแอมพลิจูด (ร้อยละ 20-100) อุณหภูมิของการพริท (25 และ 80 องศาเซลเซียส) และเวลาของการพริท (1, 5 และ 10 นาที) ต่างๆ หลังจากนั้นสกัดด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำกับตัวอย่างเท่ากับ 50 ต่อ 1 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก) ปัจจัยของการพริททั้ง 3 ปัจจัยส่งผลต่อร้อยละของผลผลิต ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและ DP ของอินนูลิน ($p \leq 0.05$) การพริทที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระดับแอมพลิจูดร้อยละ 100 เป็นเวลา 10 นาที เป็นสภาวะการพริทที่เหมาะสมที่สุดทำให้ได้ค่าร้อยละของผลผลิต (ร้อยละ 98.1 ของตัวอย่างแห้ง) ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (0.84 กรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (0.06 กรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง) และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (9.46 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง) สูงสุด เมื่อศึกษาการกระจายตัวของ DP ของอินนูลินพบว่า ส่วนใหญ่อยู่ในช่วง DP 3-10 การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการพริทด้วยอัลตราซาวด์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดได้ นอกจากนี้เมื่อศึกษาการสกัดโดยตรงด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับแอมพลิจูด (ร้อยละ 20-100) อุณหภูมิ (25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส) และเวลาของการสกัด (10, 20 และ 30 นาที) ต่างๆ พบว่า ปัจจัยทั้ง 3 ส่งผลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ซึ่งการใช้แอมพลิจูดร้อยละ 100 เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด และความยาวสายอยู่ในช่วง DP 3-10 เมื่อเพิ่มระดับแอมพลิจูดและอุณหภูมิจะทำให้ซูโครสและ DP 3-10 เพิ่มขึ้น ในขณะที่ DP > 10 ลดลง แต่ถ้าสกัดที่อุณหภูมิสูงและแอมพลิจูดมากกว่าร้อยละ 60 ทำให้ DP 3-10 ลดลง เมื่อเปรียบเทียบการสกัดโดยตรงด้วยอัลตราซาวด์กับการสกัดด้วยน้ำร้อนพบว่า การสกัดด้วยอัลตราซาวด์มีประสิทธิภาพดีกว่า สามารถสกัดสารได้ปริมาณเพิ่มขึ้นและลดระยะเวลาในการสกัดได้สั้นลงเหลือเพียงร้อยละ 50

คำสำคัญ : อินนูลิน แก่้นตะวัน การสกัด อัลตราซาวด์

ภาษาอังกฤษ

ส่วนที่ 1

Research Title Ultrasound-assisted Extraction of Inulin from *Jelusarem* Artichoke

Researcher Pramote Khuwijitjaru (Project Leader)

Faculty of Engineering and Industrial technology, Silpakorn University

Research Grant	Fiscal year 2555
	Research and Development Institute, Silpakorn University
Year of completion	2557
Type of research	Applied research
Subjects (based NRCT)	Agriculture and Biology

ส่วนที่ 2 abstract

Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) is one of the important sources of inulin which is widely used as functional ingredient in food products. Extraction of inulin from plant source is usually done by hot-water extraction. In this study, effects of temperature, time and amplitude level of an ultrasonic pretreatment before using a normal hot-water extraction and direct ultrasonic extraction on degree of polymerization (DP) of inulin and other compositions from Jerusalem artichoke were investigated. Jerusalem artichoke was sliced, dried at 50°C (6.87% moisture content) and ground into fine powder. Ultrasonic pretreatment was performed using an ultrasonic probe which provided 20 kHz ultrasonic wave, at various amplitude levels (20-100%), pretreatment temperatures (25 and 80°C) and pretreatment times (1, 5 and 10 min) before hot water extraction at 80°C for 1 h. The solvent-to-solid ratio was fixed at 50:1 (v/w). All three pretreatment factors showed significant effects ($p \leq 0.05$) on the total carbohydrate, reducing sugar content, total phenolic acid and inulin DP distribution. The maximum yield (98.1% dry solid), total carbohydrate content (0.84 g/g dry solid), reducing sugar content (0.06 g/g dry solid) and total phenolic content (9.46 mg/g sample) were obtained by the pretreatment at 80°C using 100% amplitude level for 10 min before hot water extraction. The DP distribution study indicated that the majority was in range 3-10. This study proved that ultrasonic pretreatment enhances the inulin extraction. Additionally, ultrasonic-assisted extraction with different amplitude levels (20-100%), temperatures (25, 35 and 45°C) and times (10, 20 and 30 min) was also studied. The results showed that all factors had significant effects on total carbohydrate, reducing sugar and total phenolic contents. Ultrasonic-assisted extraction at 45°C using 100% power level for 30 min resulted in the highest values. Most of DP was in a range 3-10. Sucrose and DP 3-10 fractions increased while DP > 10 fraction decreased when increasing the extraction temperature and amplitude level. However, the yield of DP 3-10 fraction decreased when the extraction amplitude was higher than 60% at high temperature. Comparison between the ultrasonic-assisted extraction and the hot-water extraction showed that the ultrasonic-assisted extraction provided higher efficiency of inulin extraction and shortened the extraction time to 50%.

Key words : Ultrasonic wave, carbohydrate, extraction, prebiotics, Fructo- oligosaccharide

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	1
บทคัดย่อภาษาไทย	2
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	3
สารบัญ	5
บทที่ 1 บทนำ	6
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	8
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	16
บทที่ 4 ผลการทดลอง	19
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	40
บทที่ 6 บรรณานุกรม	41
ภาคผนวก	48
การเผยแพร่ผลงานวิจัย	57
ประวัติผู้วิจัย	58

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญ ที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

แก่ตะวัน (Jerusalem artichoke) เป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่เป็นแหล่งสะสมของอินนูลิน (inulin) และสามารถเพาะปลูกได้ในประเทศไทย ซึ่งปัจจุบันอินนูลินทางการค้าส่วนใหญ่ได้จากการสกัดจากหัวชิคอรี่ (chicory) ซึ่งไม่สามารถเพาะปลูกได้ในประเทศไทย โดยอินนูลินที่อยู่ในรูปบริสุทธิ์สามารถนำมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารได้ เพื่อผลิตเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ (functional foods) (Kaur และ Gupta, 2002) โดยมีคุณสมบัติที่สามารถช่วยปรับปรุงคุณภาพของอาหารได้เป็นอย่างดี ทั้งในการดัดแปรคุณลักษณะทางเคมีรวมทั้งเรื่องกลิ่นรสและความรู้สึกด้านประสาทสัมผัส อีกทั้งมีคุณสมบัติที่เกื้อกูลต่อโภชนาการที่ดีต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยทำหน้าที่เป็นสารพรีไบโอติก (นิศากร, 2548) จากประโยชน์ของอินนูลินทำให้อินนูลินได้รับความสนใจมากขึ้น ส่งผลให้งานวิจัยใหม่ๆ ทางด้านการประยุกต์ใช้อินนูลิน ตลอดจนความรู้เกี่ยวกับเทคนิคและกระบวนการผลิตยังคงมีการวิจัย ค้นคว้า และพัฒนากันอยู่ตลอดเวลา อีกทั้งปัจจุบันมีการส่งเสริมการเพาะปลูกแก่ตะวันให้เป็นพืชเศรษฐกิจชนิดใหม่ของประเทศทำให้มีความน่าสนใจในการค้นคว้าศึกษาการใช้ประโยชน์จากแก่ตะวันมากยิ่งขึ้น

ในอุตสาหกรรมผลิตอินนูลินโดยทั่วไปสามารถสกัดด้วยน้ำร้อนซึ่งต้องใช้เวลาในการสกัดนาน การสกัดด้วยเทคนิคอัลตราซาวด์ (Ultrasound assisted extraction) เป็นเทคโนโลยีที่น่าสนใจที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการสกัด เนื่องจากเป็นเทคนิคการสกัดที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด ทำให้สามารถสกัดองค์ประกอบที่สนใจโดยใช้อุณหภูมิการสกัดต่ำลงได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาผลของอัลตราซาวด์โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายต่อองค์ประกอบทางเคมีในของเหลวที่ได้และหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้ได้อินนูลินในปริมาณสูงซึ่งเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์การผลิตและการประยุกต์ใช้อินนูลินจากหัวแก่ตะวันต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิ เวลา และระดับของแอมพลิจูดของการพริทด้วยอัลตราซาวด์ก่อนการสกัดด้วยน้ำร้อนต่อความยาวสายของอินนูลินและองค์ประกอบต่างๆ จากหัวแก่ตะวัน เปรียบเทียบกับการสกัดแบบดั้งเดิมด้วยการใช้น้ำร้อนเพียงขั้นตอนเดียว
2. เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิ เวลา และระดับของแอมพลิจูดของการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ต่อความยาวสายของอินนูลินและองค์ประกอบต่างๆ จากหัวแก่ตะวัน

ขอบเขตของการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ใช้หัวแก่ตะวันสดและผ่านการอบแห้ง โดยมีความชื้นร้อยละ 6.87 ทำการศึกษาด้วยเครื่องอัลตราซาวด์แบบโพรบ ซึ่งให้คลื่นเสียงที่มีความถี่ 20 กิโลเฮิรซ์

ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

1. การพริทด้วยอัลตราซาวด์ก่อนการสกัดด้วยน้ำร้อนมีผลต่อความยาวสายของอินนูลินและองค์ประกอบต่างๆ จากแก่ตะวัน
2. อุณหภูมิ เวลา และระดับของแอมพลิจูดของการสกัดด้วยอัลตราซาวด์มีผลต่อความยาวสายของอินนูลินและองค์ประกอบต่างๆ จากแก่ตะวัน

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2.1 แก่นตะวัน

แก่นตะวัน หรือภาษาอังกฤษเรียกว่า ซันโชก (sunchoke) หรือ Jerusalem artichoke มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Helianthus tuberosus* L. เป็นพืชดอกในตระกูลทานตะวัน มีต้นกำเนิดในตอนเหนือของประเทศสหรัฐอเมริกาและตอนใต้ของประเทศแคนาดา ซึ่งมีอากาศค่อนข้างหนาวเย็น แต่เพราะมีความทนทานต่อสภาพภูมิอากาศ โดยสามารถปรับตัวได้ดีในสภาพภูมิอากาศในเขตร้อนและเขตกึ่งหนาวอย่างทวีปยุโรป จึงสามารถนำมาปลูกได้ในประเทศไทย ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ เป็นพืชล้มลุก ดอกมีสีเหลืองสดคล้ายบัวตองแต่มีขนาดเล็กกว่า มีหัว (tuber) ใต้ดินคล้ายมันฝรั่ง ลักษณะรูปร่างอวบคล้ายขิงหรือข่า เปลือกสีน้ำตาลอ่อนและเนื้อมีสีขาว มีขนคล้ายหนามกระจายทั่วลำต้นและใบ ความสูงของลำต้นประมาณ 150-210 เซนติเมตร หัวแก่นตะวันนี้เป็นแหล่งสะสมของอินนูลินถึงร้อยละ 12-19 ของน้ำหนักสด (Shoab และคณะ, 2016) หรือประมาณร้อยละ 70-80 ของปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (Saengthongpinit, 2005)

2.2 อินนูลิน

อินนูลินพบได้ในแหล่งอาหารธรรมชาติหลายชนิดในสภาพคาร์โบไฮเดรตสะสม ได้แก่ ผัก ผลไม้ ธัญพืช โดยเฉพาะในต้นกระเทียม หัวหอม ข้าวสาลี ชิคอรี กล้วย และแก่นตะวัน ในอุตสาหกรรมการผลิตอินนูลินส่วนใหญ่ผลิตได้จากรากของต้นชิคอรี ซึ่งอินนูลินเป็นเส้นใยอาหารชนิดละลายน้ำ ไม่สามารถถูกย่อยโดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร แต่จะถูกย่อยที่ลำไส้ใหญ่ ช่วยเพิ่มปริมาณกากใย เพิ่มประสิทธิภาพการขับถ่าย ลดอาการท้องผูก และมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก (pre-biotic) ทำให้อินนูลินถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารเพื่อสุขภาพ โดยมีคุณสมบัติที่สามารถช่วยปรับปรุงคุณภาพของอาหารด้านลักษณะทางเคมีและลักษณะทางประสาทสัมผัส (มาลี, 2543)

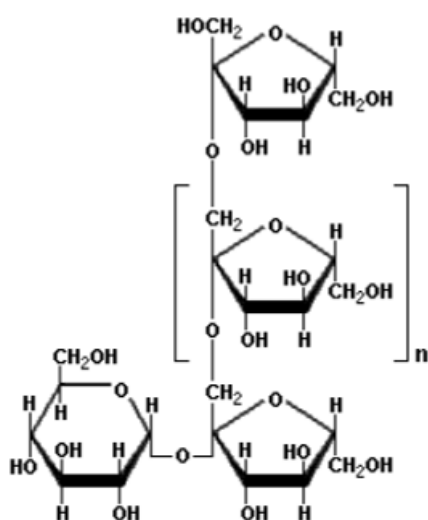
2.2.1 โครงสร้างทางเคมี

ฟรุคแทนเป็นชื่อสามัญของพอลิเมอร์ของฟรุคโตสที่พบได้ในธรรมชาติ ฟรุคแทนแยกตามประเภทพันธะของฟรุคโตสที่เชื่อมต่อกันได้เป็น 2 ชนิดคือ อินนูลินและเลแวน (levan) โดยอินนูลินจัดเป็นฟรุคแทนชนิดหนึ่ง ประกอบด้วยน้ำตาลฟรุคโตสร้อยละ 80 เชื่อมต่อกันเป็นเส้นตรงด้วยพันธะ β -(2,1) D-fructosyl-fructose ปลายสุดท้ายของโซ่ยาวด้านหนึ่งเป็นโมเลกุลของกลูโคสร้อยละ 20 เชื่อมต่อกับโมเลกุลของฟรุคโตสด้วยพันธะ α -D-glucopyranosyl

โครงสร้างพื้นฐานของอินนูลินเป็นฟรุคแทนที่มีสายสั้นที่สุดคือ 1-kestose (GF₂) ถัดมาคือนิสโทส (GF₃) และ 1^F-ฟรุคโทฟูราโนซิลนิสโทส (GF₄) ตามลำดับ (สาโรจน์, 2551) ซึ่งอินนูลินส่วนใหญ่มีระดับการเกิดพอลิเมอร์ (degree of polymerization, DP) ระหว่าง 2-70 หน่วยฟรุคโตส ในขณะที่ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharides, FOS) จะมี DP ระหว่าง 2-10 หน่วยฟรุคโตส (สมพิศและคณะ, 2553) และฟรุคแทนอีกชนิดหนึ่งได้แก่ เลแวน พบได้ในพืชรวมทั้งผลิตได้จากแบคทีเรียหลายชนิด เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -(2,6) D-fructosyl-fructose อินนูลินมีโครงสร้างเป็น GF_n และ F_n โดย n หมายถึงจำนวนฟรุคโตสที่เรียงต่อกัน โดยในรากชิคอรี ค่า n แปรผันตั้งแต่ 2 ถึง 70 แสดงให้เห็นว่าอินนูลินประกอบด้วยสารผสมทั้งโอลิโกเมอร์และพอลิเมอร์แสดงถึงโครงสร้างของอินนูลินในภาพที่ 1 ระดับการเกิดพอลิเมอร์แสดงถึงความยาวของโครงสร้างอินนูลินซึ่งแปรผันตามแหล่งของอินนูลินได้แก่ ผลิตได้จากพืชและผลิตได้จากจุลินทรีย์ รวมทั้งชนิดที่แตกต่างกันของพืชและจุลินทรีย์อีกด้วย ในอุตสาหกรรมอินนูลินผลิตได้จากพืช โดยที่อินนูลินที่

ผลิตจากพืชมีระดับการเกิดพอลิเมอร์ค่อนข้างต่ำ (น้อยกว่า 200) และแปรผันตามชนิด สภาวะในการเพาะปลูก รวมทั้งอายุของพืช อินนูลินที่ผลิตจากพืชมีโครงสร้างส่วนใหญ่เป็นเส้นตรงและมีโครงสร้างกิ่งเล็กน้อย (ร้อยละ 1 ถึง 2) ส่วนอินนูลินซึ่งผลิตจากแบคทีเรีย (bacterial inulin) มีระดับการเกิดพอลิเมอร์ค่อนข้างสูง (10,000 ถึง 100,000) ตลอดจนมีโครงสร้างกิ่ง (มากกว่า 15 เปอร์เซ็นต์) (Franck และ De Leenheer, 2002; Rhee และคณะ, 2002)

ขนาดความยาวสายของอินนูลินมีผลต่อคุณสมบัติต่างๆ โดยเฉพาะในด้านการเป็นสารพรีไบโอติกส์ (prebiotics) Li และคณะ (2015) ศึกษาพบว่าอินนูลินจากหัวแก่้นตะวันที่มีค่าความยาวสายต่ำมีคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกส์ที่ดีกว่า เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Rubel และคณะ (2014) ซึ่งพบว่า การเก็บหัวแก่้นตะวันไว้เป็นระยะเวลาหนึ่งทำให้ขนาดความยาวสายของอินนูลินลดลงและมีคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกส์ที่ดีขึ้น



ภาพที่ 1 โครงสร้างพื้นฐานทางเคมีของอินนูลิน
ที่มา : Franck และ Leenheer (2002)

2.2.2. แหล่งของอินนูลิน

อินนูลินปรากฏทั้งในพืชหลายชนิดและจุลินทรีย์บางประเภท ตระกูลของพืชที่มีอินนูลินเป็นองค์ประกอบได้แก่ Grasses, Liliaceae และ Compositae พืชที่มีอินนูลินเป็นองค์ประกอบได้ถูกใช้เป็นส่วนหนึ่งของอาหารเพื่อคุณประโยชน์ต่อสุขภาพมานานแล้ว ชนิดที่มีการใช้อย่างแพร่หลายได้แก่ พืชตระกูล Liliaceae เช่น ต้นกระเทียม, หอม, กระเทียม, และหน่อไม้ฝรั่ง และพืชตระกูล Compositae เช่น แก่นตะวัน (Jerusalem artichoke), ชิคอรี และรักเร่ (dahlia) เป็นต้น (นิศากร, 2548) จากรายงานการศึกษาต่างๆ พบว่า โดยทั่วไปในพืชต่างชนิดกันจะมีปริมาณอินนูลินที่แตกต่างกัน (Franck และ De Leenheer, 2002) แสดงดังตารางที่ 1

ลักษณะตัวอย่างและวิธีการสกัดอินนูลินจากพืชชนิดต่างๆ มีหลายลักษณะดังรายงานเช่น สกัดหัวแก่้นตะวันแห้งหรือหัวแก่้นตะวันอบแห้งที่หั่นเป็นชิ้น การไม่เปียกรากชิคอรีหรือการบดให้ละเอียด (Leite และคณะ, 2007) การสกัดโดยทั่วไปจะใช้น้ำร้อนอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดอยู่ระหว่าง 60 และ 85 องศาเซลเซียส บางครั้งก็สูงถึง 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาทีถึง 1 ชั่วโมง (Berghofer และคณะ, 1993) หลังจากสกัดด้วยน้ำร้อนแล้วจะผ่านกระบวนการทำอินนูลินให้บริสุทธิ์ (Purification) ต่างต่อไปอีก

ปริมาณอินนูลินที่ได้ขึ้นอยู่กับเทคนิคที่ใช้ในการสกัด อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดต่างของสารละลาย เวลาที่ใช้และอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับตัวทำละลาย (Lingyun และคณะ, 2007)

ตารางที่ 1 ปริมาณของอินนูลินในพืชแต่ละชนิด

แหล่งที่พบ	อินนูลิน (% น้ำหนักสด)	ส่วนที่ใช้	อ้างอิง
ข้าวสาลี (<i>Triticum aestivum</i> L.)	1-6	cereal	Schnyder และคณะ (1993) Van Loo และคณะ (1995)
ข้าวไรย์ (<i>Secale cereal</i> L.)	0.5-1	cereal	Karppinen และคณะ (2003)
ข้าวบาร์เลย์ (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	0.5-1.5	cereal	Livingston (1990)
กล้วย (<i>Musa cavendishii</i> L.)	0.3-0.7	fruit	Van Loo และคณะ (1995)
Alliaceae			
หอมใหญ่ (<i>Allium Cepa</i> L.)	2-6	bulb	Jaime และคณะ (2001) Benitez และคณะ (2011)
ต้นกระเทียม (<i>A. ampeloprasum</i> L.)	3-10	Bulb	Van Loo และคณะ (1995)
กระเทียม (<i>A. sativum</i> L.)	9-16	bulb	Van Loo และคณะ (1995)
Liliaceae			
หน่อไม้ (<i>Asparagus officinalis</i> L.)	1-4		Van Loo และคณะ (1995)
Compositeae			
Salsify (<i>Scorzonera hispanica</i> L.)	4-11	root	Van Loo และคณะ (1995)
แก่นตะวัน (<i>Helianthus tuberosus</i> L.)	14-19	tuber	Lingyun และคณะ (2007)
ชิคอรี (<i>Cicorium intybus</i> L.)	15-20	root	Couri และคณะ (2005)
อาร์ติโชค (<i>Cynara Cardunculus</i> L.)	3-10	leaves	Van Loo และคณะ (1995)
เบอร์ดอก (Burdock)	3.5-4.0	root	Milani และคณะ (2011)
Yacon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)	3-19	tuber	Hermann และคณะ (1999)

2.3 อัลตราซาวด์

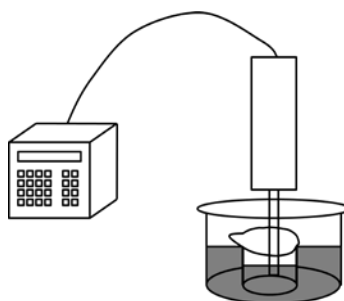
เสียงเป็นคลื่นตามยาว (Longitudinal waves) ชนิดหนึ่ง ซึ่งอาศัยตัวกลางในการเคลื่อนที่ ปกติหูของคนสามารถได้ยินเสียงในช่วงความถี่ 20 เฮิรตซ์ ถึง 20,000 เฮิรตซ์ คลื่นเสียงที่มีความถี่สูงกว่า 20,000 เฮิรตซ์ เรียกว่าคลื่นเหนือเสียงหรืออัลตราซาวด์ (ultrasound) ส่วนเสียงที่มีความถี่ต่ำกว่า 20 เฮิรตซ์ เรียกว่าคลื่นใต้เสียงหรืออินฟราโซนิก

องค์ประกอบพื้นฐานของคลื่น (Graff, 1991) มีดังนี้

1. ความยาวคลื่น (wave length) หมายถึงความยาวของคลื่น 1 คลื่น เป็นระยะทางที่วัดระหว่างจุดสองจุดที่สั้นที่สุดบนคลื่นที่เฟสตรงกัน
2. ความถี่ (frequency) หมายถึงจำนวนคลื่นที่เคลื่อนที่ผ่านจุดใด ๆ ในหนึ่งหน่วยเวลา
3. แอมพลิจูด (amplitude) หมายถึงการกระจัดสูงสุดของการสั่นของอนุภาคจากระดับปกติ
4. คาบ (period) หมายถึงเวลาที่จุดใด ๆ บนตัวกลางสั่นครบ 1 รอบหรือเป็นเวลาที่เกิดขึ้น 1 ลูกคลื่นอัลตราซาวด์สามารถแบ่งการใช้งานออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงความถี่ประมาณ 2-10 MHz เรียกช่วงนี้ว่า ช่วงความถี่สูง (High frequency ultrasound) ซึ่งจะนำคลื่นอัลตราซาวด์ช่วงนี้ไปประยุกต์ใช้ในทาง

การแพทย์ เพื่อสำหรับดูเพศหรือความผิดปกติของทารกในครรภ์ ช่วงที่สองคือ ช่วงความถี่ต่ำ (Low frequency ultrasound) ซึ่งมีค่าความถี่ประมาณ 20-100 kHz

อัลตราซาวด์โพรบ (Ultrasound Probe) เป็นอุปกรณ์กำเนิดคลื่นเหนือเสียงที่มีการส่งพลังงานไปยังระบบโดยตรง ความเข้มข้นของคลื่นเหนือเสียงจึงสูงขึ้น การใช้งานทำได้โดยจุ่มหัวส่งลงในภาชนะที่บรรจุของเหลวที่ต้องการให้เกิดปฏิกิริยาหรือที่ต้องการได้รับผลจากคลื่นเหนือเสียงได้โดยตรง ข้อดีของอุปกรณ์ชนิดนี้ คือ ให้ความเข้มข้นของคลื่นเหนือเสียงสูง สามารถปรับความเข้มของคลื่นเหนือเสียงให้เหมาะสมกับสารแต่ละชนิด โดยปรับจากกำลังไฟฟ้าที่ป้อนและเลือกขนาดของหัวส่ง (horn) ให้เหมาะสม แต่เนื่องจากการจุ่มตัวกำเนิดคลื่นลงในสารละลายโดยตรง ทำให้มีข้อด้อย คือ การสึก กร่อนของหัวส่ง ของเหลวจึงเกิดการปนเปื้อนได้ เหมาะสำหรับสารปริมาณน้อย และถ้าความเข้มของพลังงานมากเกินไปจะทำให้เกิดการสูญเสียคุณสมบัติของสารได้ และส่วนใหญ่ไม่สามารถปรับความถี่ได้ ลักษณะของอัลตราซาวด์โพรบแสดงดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 อัลตราซาวด์โพรบ (Ultrasound Probe)

การสกัดโดยคลื่นอัลตราซาวด์เป็นเทคนิคที่สำคัญวิธีหนึ่งที่ใช้สำหรับแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญจากพืชแต่ละชนิด (Dong และคณะ, 2010; Heo และ Kim, 2010; Riera และคณะ, 2010) และเป็นวิธีที่สามารถใช้ได้ในระดับปฏิบัติการวิจัยและระดับอุตสาหกรรม (Vinatoru, 2001) และเมื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดอัลตราซาวด์กับวิธีอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่าการสกัดด้วยอัลตราซาวด์เป็นทางเลือกที่ดีทางหนึ่งซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่เปรียบเทียบการสกัดด้วยอัลตราซาวด์กับการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ พบว่าการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์มีราคาถูกและง่ายกว่า (Chen และคณะ, 2008)

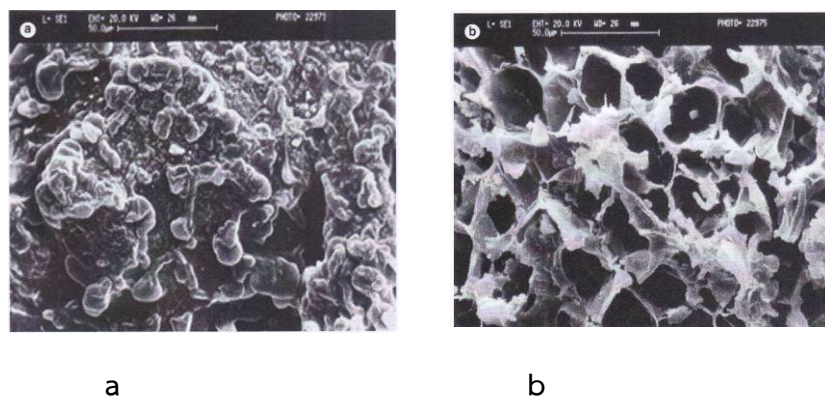
ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ควบคุมความดันและอัลตราซาวด์

การสกัดด้วยตัวทำละลายที่ควบคุมความดัน	การสกัดด้วยอัลตราซาวด์
- ระยะเวลาของการสกัดสั้น (ภายใน 1 ชั่วโมง)	- ระยะเวลาการสกัดปานกลาง (1-2 ชั่วโมง)
- ผลผลิตจากการสกัดปานกลางถึงสูง	- ผลผลิตจากการสกัดสูง
- ปริมาณตัวทำละลายสูงเพื่อรักษาความดัน	- ปริมาณตัวทำละลายปานกลาง
- อุณหภูมิสูง ความดันสูง	- อุณหภูมิห้อง
- ราคาสูง	- ราคาปานกลาง

ดัดแปลงจาก : Lee และคณะ (2007)

2.3.1 กลไกในการสกัดด้วยอัลตราซาวด์

ในการสกัดพืช เนื่องจากเนื้อเยื่อของพืชที่ประกอบเป็นเซลล์นั้นมีส่วนผนังเซลล์อยู่ชั้นนอกสุดซึ่งจะเป็นตัวต้านทานการสกัดได้ ซึ่งการสกัดจะประกอบด้วยสองขั้นตอนคือกระบวนการแพร่ผ่านผนังเซลล์ของตัวทำละลาย และการชะสารสำคัญออกจากเซลล์ (Vilkhu และคณะ, 2008) ส่วนการสกัดพืชแห้งจะเพิ่มอีกหนึ่งกระบวนการคือ กระบวนการดูดน้ำกลับ (Hydration and swelling) อัลตราซาวด์ทำให้ Swelling index สูงขึ้นดีกว่าการใช้การกวนทางกลธรรมดา อัลตราซาวด์จะเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการดังกล่าวได้ โดย การเกิดปรากฏการณ์ คาวิเทชัน (Cavitation) ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเมื่อฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมาก ซึ่งปรากฏอยู่ภายในตัวของเหลว บริเวณผิวของของแข็งที่ปนอยู่ในของเหลวนั้น หรือบริเวณผิวของภาชนะที่บรรจุของเหลวนั้น ซึ่งถือเป็นจุดกำเนิด (Nuclei) ของคาวิเทชัน เมื่อถูกแรงกระทำโดยแรงดันอัดและแรงดันขยาย ฟองจะเกิดการโตขึ้นและหดตัวลงสลับกันเป็นจังหวะตามแรงดันของคลื่นเหนือเสียง เมื่อฟองได้รับแรงจากคลื่นในช่วงอัดจะทำให้ฟองนั้นแตกออกและเกิดขึ้นใหม่ เนื่องจากมีก๊าซภายในของเหลวแพร่ผ่านเข้าและออกจากฟองอากาศเหล่านี้สลับกันไปทำให้เกิดลักษณะคล้ายการกวนของเหลวอย่างรุนแรง จนสามารถทำลายผนังของเซลล์พืชได้ ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 โครงสร้างของผนังเซลล์ของผงอัลมอนต์
a) ไม่ใช้อัลตราซาวด์ b) ใช้อัลตราซาวด์
ที่มา : Sharma และ Gupta (2006)

เมื่อผนังเซลล์แตกออกจะทำให้เพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลได้ดียิ่งขึ้น เหตุผลดังกล่าวนี้เองเป็นผลให้คลื่นเหนือเสียงมีผลช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดด้วยระบบของเหลว-ของแข็ง (Hua และคณะ, 2009; Lou และคณะ, 2009)

การศึกษาของ Riera และคณะ (2004) พบว่าการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ที่ระดับความถี่สูงช่วยเพิ่มการถ่ายเทมวลในขั้นตอนการสกัดอัลมอนต์ด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวดยังทำให้น้ำมันที่ได้จากการสกัดเพิ่มขึ้น 20-30% เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Cravotto และคณะ (2008) โดยรายงานว่า การสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ให้ผลการทดลองดีกว่าการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ ซึ่งการสกัดด้วยอัลตราซาวด์จะทำให้สารสกัดน้ำมันจากสาหร่ายเพิ่มสูงขึ้นจาก 4.8% เป็น 25.9% นอกจากนี้ตัวอย่างการศึกษาการสกัดสารต่างๆ จากพืชโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยอัลตราซาวด์มีรายงานดังแสดงในตารางที่ 3

การศึกษาของ Yu และคณะ (2009) ยังช่วยสนับสนุนการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ โดยรายงานว่า ในการสกัด cyanuric acid ด้วยเมทานอล ที่เวลา 60 นาที สามารถสกัด cyanuric acid ได้เพียง 55% และต้อง

ใช้เวลาสูงถึง 240 นาที จึงจะสามารถสกัดได้อย่างสมบูรณ์ และเมื่อเปรียบเทียบกับ การสกัดด้วยอัลตราซาวด์ พบว่า การสกัดด้วยอัลตราซาวด์เพียง 30 นาทีก็ได้สารสกัดสูงถึง 97% เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Sharma และ Gupta (2006) ที่ใช้อัลตราซาวด์สกัดน้ำมันจากเมล็ดอัลมอนด์และแอปพลิคอตก่อนการฉายรังสีนั้นแสดง ถึงผลของการศึกษาที่ดำเนินไปในทิศทางเดียวกันคือ การสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่กำลัง 70 วัตต์ เพียง 2 นาที สามารถเพิ่มปริมาณน้ำมันของเมล็ดอัลมอนด์และแอปพลิคอตจากเดิม 75-77% และ 63% ตามลำดับ ให้เพิ่ม สูงขึ้น 19-22% และลดระยะเวลาในการสกัดจาก 18 ชั่วโมงเหลือเพียง 6 ชั่วโมง นอกจากนี้การทำตัวอย่างให้มีขนาดเล็กลงก่อนการสกัดจะเป็นการเพิ่มพื้นผิวระหว่างตัวอย่างกับตัวทำละลายจึงทำให้เกิดการสัมผัสกับตัว ทำละลายและเกิด Cavitation ได้ง่ายขึ้น (Hua และคณะ, 2009)

ตารางที่ 3 ตัวอย่างการศึกษาการใช้อัลตราซาวด์ในการสกัดสารต่างๆ จากพืช

วัตถุดิบ	สารประกอบ	อ้างอิง
สารกลุ่มฟีนอลและโพลีฟีนอล		
รำข้าวสาลี	สารประกอบฟีนอลิก	Wang และคณะ (2008)
เปลือกผลไม้ตระกูลส้ม	สารประกอบฟีนอลิก	Ma และคณะ (2009)
เปลือกพิตาชิโอ	สารประกอบฟีนอลิก	Goli และคณะ (2005)
กะลามะพร้าวผง	สารประกอบฟีนอลิก	Rodrigues และ Pinto (2007)
เปลือกส้ม	ฟลาโวนอน	Khan และคณะ (2010)
เปลือกส้มแมนดาริน	ฟลาโวนอยด์	Ma และคณะ (2008)
บิทรูท	ไอโซฟลาโวนส์	Lee และ Lin (2007)
รำข้าว	สารแอนติออกซิแดนท์	Tabaraki และ Nateghi (2011)
พริกขี้หนู	แคปไซซินอยด์ (capsaicinoids)	Boonkird และคณะ (2008)
สารออกฤทธิ์ทางยา		
พริกไทยขาว	สารออกฤทธิ์ (piperine)	Cao และคณะ (2009)
ลูกยอ	anthraquinones	Hemwimol และคณะ (2006)
น้ำมัน		
ถั่วเหลือง	น้ำมัน	Li และคณะ (2004)
เมล็ดยาสูบ	น้ำมัน	Stanisavljevic และคณะ (2007)
เมล็ดอัลมอนด์	น้ำมัน	Sharma และ Gupta (2006)
น้ำมันหอมระเหย		
สเปียร์มินท์	น้ำมันหอมระเหย	Porto และ Decorti (2009)
ยี่หร่า	น้ำมันหอมระเหย	Wang และคณะ (2009)

การศึกษาของ Claver และคณะ (2010) ที่ศึกษาผลของอัลตราซาวด์ต่อการสกัดโพลีแซคคาไรด์จาก ข้าวฟ่างจีนที่สภาวะกำลังของคลื่น 500-700 วัตต์ เวลาในการสกัด 3-5 นาที และอัตราส่วนของน้ำและ วัตถุดิบเท่ากับ 25-35 มิลลิลิตรต่อกรัม พบว่า เวลาและอัตราส่วนของน้ำและวัตถุดิบมีปฏิสัมพันธ์ร่วมกัน ในขณะที่กำลังของคลื่นเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณของโพลีแซคคาไรด์

2.3.2 ปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดด้วยอัลตราซาวด์

2.3.2.1 ความถี่และกำลังของอัลตราซาวด์ ในแต่ละงานวิจัยนั้นมีช่วงสภาวะของการสักระหว่างกว้างมากเช่นความถี่และกำลังของคลื่นที่ใช้ร่วมกันมีตั้งแต่ 25 กิโลเฮิรตซ์ 150 วัตต์ (Cuoco และคณะ, 2009) 35 กิโลเฮิรตซ์ 320 วัตต์ (Ozcan และคณะ, 2009) และ 20 กิโลเฮิรตซ์ 450 วัตต์ (Roldan Gutierrez และคณะ, 2008) จากการศึกษาของ Wang และคณะ (2011) พบว่า การเพิ่มกำลังของอัลตราซาวด์จาก 200 วัตต์ เป็น 400 วัตต์ จะทำให้สารสกัดจากรากชิคอรี่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งการเพิ่มกำลังของคลื่นจะทำให้เกิดปรากฏการณ์ cavitation สูงขึ้น เกิดการทำลายของผนังเซลล์และเกิดการถ่ายเทมวลมากขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ You และคณะ (2010) ที่แสดงให้เห็นว่า การเพิ่มกำลังของอัลตราซาวด์จาก 0 ถึง 150 วัตต์ ทำให้สารสกัดฟลาโวนอยด์จากรากโสมเกาหลีเพิ่มสูงขึ้น

2.3.2.2 อุณหภูมิของการสักระหว่าง อุณหภูมิที่ใช้มีช่วงกว้างเช่น 25 องศาเซลเซียส (Ozcan และคณะ, 2009; Roldan Gutierrez และคณะ, 2008) 30 องศาเซลเซียส (Dong และคณะ, 2010) และ 40 ถึง 90 องศาเซลเซียส (Jalbani และคณะ, 2006) จากรายงานการศึกษาของ Pan และคณะ (2008) พบว่า อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นระหว่างการสักระหว่างอัลตราซาวด์มีสาเหตุมาจากพลังงานเชิงกลที่เปลี่ยนเป็นพลังงานความร้อน จึงช่วยเพิ่มความสามารถในการถ่ายเทมวลให้สูงขึ้น แต่ในทางตรงข้ามการเพิ่มอุณหภูมิก็สามารถทำให้สารสกัดลดลง เช่นการศึกษาของ Zhang และคณะ (2009) ที่พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิจาก 15 ถึง 45 องศาเซลเซียส จะทำให้สารสกัด epimedin C เพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงถึง 55 และ 62 องศาเซลเซียส พบว่า สารสกัดที่ได้เริ่มลดลง เนื่องจากจำนวนฟองอากาศที่จะเกิด cavitation ลดลงและเกิดการสลายตัวของ epimedin C อันเนื่องมาจากความร้อน

2.3.2.3 เวลาที่ใช้ในการสักระหว่าง งานวิจัยการสักระหว่างด้วยอัลตราซาวด์ใช้เวลาในการสักระหว่างตั้งแต่ 5 นาที (Ozcan และคณะ, 2009) 5 ถึง 20 นาที (Jalbani และคณะ, 2006) 30 ถึง 120 นาที (Liu และคณะ, 2007) และ 3 ชั่วโมง (Durling และคณะ, 2007) จากการศึกษาของ Pan และคณะ (2008) รายงานว่า การเพิ่มเวลาของการสักระหว่างมาแมลงในผักโขมด้วยอัลตราซาวด์จาก 15 เป็น 55 นาที จะทำให้สักระหว่างมาแมลงได้มากขึ้น เนื่องจากอัลตราซาวด์จะทำให้เกิดปรากฏการณ์ cavitation ที่ซึ่งจะทำลายผนังเซลล์ ดังนั้นเวลาในการสักระหว่างนานขึ้นจะทำให้เกิด cavitation มากขึ้น ส่งผลทำให้เซลล์เกิดการแตกมากขึ้น

2.3.2.4 อัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย จากการงานวิจัยของ Lee และคณะ (2007) ที่ศึกษาการสกัดไอโซฟลาโวนจากรากปีทูทด้วยอัลตราซาวด์ที่อัตราส่วนระหว่างรากปีทูทต่อเอทานอลเป็น 1:5 และ 1:10 (กรัมต่อมิลลิลิตร) พบว่า ที่อัตราส่วน 1:10 จะให้ประสิทธิภาพการสกัดสูงกว่าที่อัตราส่วน 1:5

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

แก๊สวันสดสายพันธุ์ #2 จากร้านแก๊สวันทอง จังหวัดนครราชสีมา อายุการเพาะปลูก 12 สัปดาห์

3.2 สารเคมี

- 3.2.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Merck, ประเทศเยอรมนี)
- 3.2.2 กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Merck, ประเทศเยอรมนี)
- 3.2.3 แอนไฮดรัสโซเดียมซัลไฟต์ (Merck, ประเทศเยอรมนี)
- 3.2.4 โซเดียมคาร์บอเนต (Ajax Finechem, ประเทศออสเตรเลีย)
- 3.2.5 โซเดียมโพแทสเซียมทาเทต (Carlo Erba, ประเทศอิตาลี)
- 3.2.6 โซเดียมอะซิเตต (Ajax Finechem, ประเทศออสเตรเลีย)
- 3.2.7 ฟีนอล (Panreac Sintesis, ประเทศสเปน)
- 3.2.8 3,5-Dinitrosalicylic acid (Sigma-Aldrich, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 3.2.9 น้ำตาลดี-ฟรุคโตส (Fluka, ประเทศเยอรมนี)
- 3.2.10 น้ำตาลกลูโคส (Fluka, ประเทศเยอรมนี)
- 3.2.11 น้ำกลั่น

3.3 อุปกรณ์

- 3.3.1 เครื่องอัลตราซาวด์โพรบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหัวโพรบ 13 มิลลิเมตร กำลังของคลื่นอัลตราซาวด์ 750 วัตต์และความถี่ของคลื่น 20 กิโลเฮิรซ์ (รุ่น VC750 บริษัท Sonics & Materials, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 3.3.2 เครื่อง High performance anion exchange chromatography (HPAEC, (Dionex ICS-3000, ประเทศเยอรมนี)
- 3.3.3 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Genesys-10, Thermo Spectronic, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 3.3.4 เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น RC6 supertspeed, Sorvall, Thermo Scientific, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 3.3.5 เครื่อง Karl Fischer titration (KF Titrino รุ่น 787 KF Titrino, 703 Ti Stand บริษัท Metrohm, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)
- 3.3.6 เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (BP 221S, Sartorius, ประเทศเยอรมนี)
- 3.3.7 ตู้บลมร้อน (รุ่น FD115, Binder, ประเทศเยอรมนี)
- 3.3.8 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น D91126, Memmert, ประเทศเยอรมนี)
- 3.3.9 Aspirator pump พร้อมชุดกรอง
- 3.3.10 ตัวกรอง cellulose acetate ขนาด 0.2 ไมครอนเมตร
- 3.3.11 เครื่องแก้ว (ผลิตภัณฑ์ Schott Duran และ Kima)

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างหัวแค้นตะวันที่จัดซื้อไปล้างให้สะอาด ปอกเปลือก หั่นให้มีความหนา 3-5 มิลลิเมตร หลังจากนั้นนำไปอบเพื่อลดปริมาณความชื้นด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องโม่บดแบบค้อน ร่อนผ่านตะแกรงร่อนให้มีขนาดอนุภาคไม่เกิน 100 ไมโครเมตร ปริมาณความชื้นของตัวอย่างแค้นตะวันผงที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Karl Fischer มีค่าเท่ากับร้อยละ 6.87

3.4.2 การสกัดแค้นตะวันด้วยน้ำร้อน

3.4.2.1 ชั่งตัวอย่างแค้นตะวันผง 2 กรัม ใส่ลงขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.4.2.2 นำมาวางในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เขย่า ตลอดเวลา

3.4.2.3 นำของผสมที่ได้จากการสกัดมากรองเพื่อแยกของแข็งขนาดใหญ่ด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปเหวี่ยงแยกตะกอนที่ 12,000×g อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

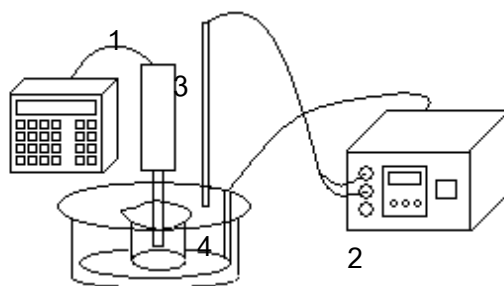
3.4.2.4 เก็บสารละลายตัวอย่างในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาวิเคราะห์

3.4.3 การพรีทรีตแค้นตะวันด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ (Ultrasound Pretreatment)

3.4.3.1 ชั่งตัวอย่างแค้นตะวันผง 2 กรัม ใส่ลงขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.4.3.2 นำหัวโพรบจุ่มลงในบีกเกอร์ลึกประมาณ ½ ของปริมาตรตัวอย่าง

3.4.3.3 ตั้งเวลา (1, 5 และ 10 นาที), แอมพลิจูด (20, 40, 60, 80 และ 100%) และ อุณหภูมิ (25 และ 80 องศาเซลเซียส) ดังแสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 อุปกรณ์การสกัดอินนูลินที่ใช้ในการทดลอง

(1) อัลตราซาวด์โพรบ (2) เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (3) เทอร์โมคัปเปิล (4) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

3.4.3.4 จากนั้นทำการทดลองตามข้อ 3.4.2.2, 3.4.2.3 และ 3.4.2.4

3.4.4 การสกัดแค้นตะวันด้วยอัลตราซาวด์ (Ultrasound-assisted Extraction)

3.4.4.1 ชั่งตัวอย่างแค้นตะวันผง 2 กรัม ใส่ลงขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

- 3.4.4.2 นำหัวโพรบจุ่มลงในปิกเกอร์ลิคประมาณ 1/2 ของปริมาตรตัวอย่าง
- 3.4.4.3 ตั้งเวลา (10, 20 และ 30 นาที), แอมพลิจูด (20, 40, 60, 80 และ 100%) และ อุณหภูมิ (25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส)
- 3.4.4.4 จากนั้นทำการทดลองตามข้อ 3.4.2.3 และ 3.4.2.4
- 3.4.5 การวิเคราะห์ทางเคมี
 - 3.4.5.1 วิเคราะห์ปริมาณร้อยละของผลผลิตจากน้ำหนักร้างที่ได้หลังการอบแห้งสารละลาย ที่ได้จากการสกัด
 - 3.4.5.2 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดด้วยวิธี Phenol-sulfuric ดังแสดงใน ภาพผนวก ก
 - 3.4.5.3 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid ดังแสดงในภาพผนวก ก
 - 3.4.5.3 วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric ดังแสดง ในภาพผนวก ก
 - 3.4.5.4 วิเคราะห์ความยาวสายของคาร์โบไฮเดรตที่สกัดได้ด้วยวิธี HPAEC ดังแสดงใน ภาพผนวก ก
- 3.4.6 การวิเคราะห์ทางผลทางสถิติ

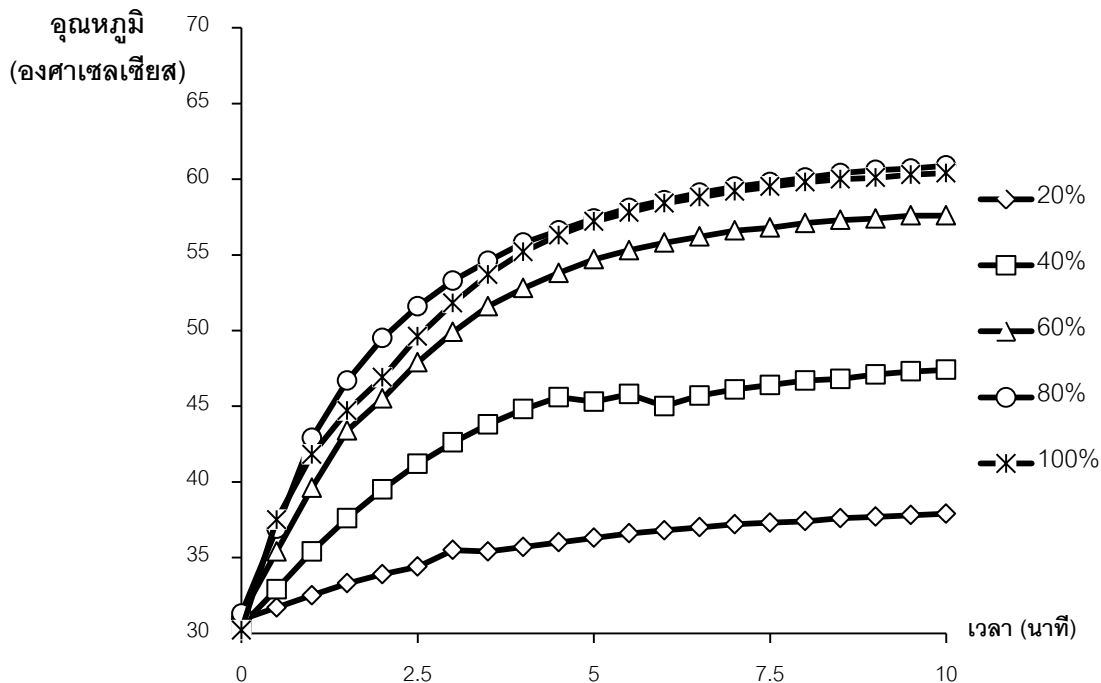
นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เพื่อทดสอบอิทธิพลของอุณหภูมิ เวลา และ แอมพลิจูดที่ใช้ในการพรีทรีทและการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ โดยวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลผล การศึกษาด้วยวิธี Tukey ที่ค่า $\alpha = 0.05$

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลของระดับแอมพลิจูดต่อพลังงานที่ตัวอย่างได้รับ

จากการศึกษาพลังงานของคลื่นอัลตราซาวด์ที่ระดับแอมพลิจูดร้อยละ 20, 40, 60, 80 และ 100 พบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับแอมพลิจูดมีผลต่อพลังงานที่กระทำต่อตัวอย่าง ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิของน้ำภายในปีกเกอร์ เมื่อตั้งค่าระดับแอมพลิจูดต่างๆ การคำนวณพลังงานที่ตัวอย่างได้รับสามารถหาได้จากสมการ (1) (Gibson และคณะ, 2009)

$$P = mC_p (dT / dt)_0 \quad (1)$$

P = พลังงาน (J)

M = มวลของน้ำ

C_p = heat capacity (4.184 J/g/°C)

(dT/dt)₀ = อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นระหว่าง 30 วินาทีแรก

เมื่อแทนค่าลงในสมการ (1) พบว่า ที่ระดับแอมพลิจูดร้อยละ 20, 40, 60, 80 และ 100 นั้นเครื่องอัลตราซาวด์ที่ใช้ในการทดลองให้พลังงานแก่ตัวอย่างเท่ากับ 334.96, 1004.16, 1757.28, 2343.04 และ

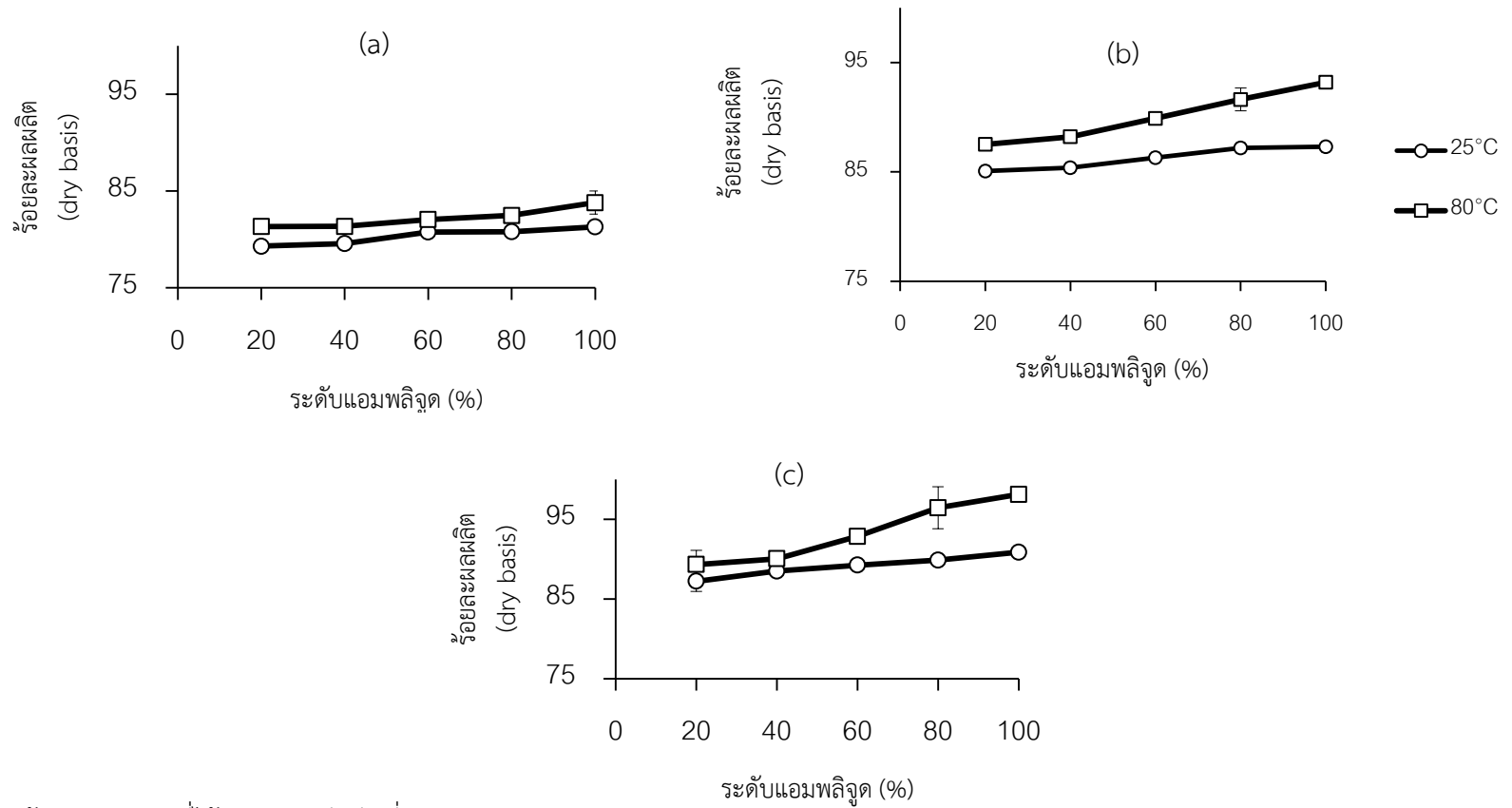
3054.32 จูล ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มระดับแอมพลิจูดของเครื่องอัลตราซาวด์โพรบเป็นการทำให้พลังงานที่กระทำต่อตัวอย่างนั้นเพิ่มสูงขึ้น

4.2 ผลของการพรีทรีตด้วยอัลตราซาวด์

การทดลองนี้ใช้การพรีทรีตด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับการสกัดด้วยน้ำร้อน โดยมีปัจจัยในการศึกษาการพรีทรีตด้วยอัลตราซาวด์จำนวน 3 ปัจจัย ได้แก่ ระดับแอมพลิจูด เวลา และอุณหภูมิ ระดับของแอมพลิจูดมีการแปรค่า 5 ระดับคือร้อยละ 20, 40, 60, 80 และ 100 เวลาที่ใช้มี 3 ระดับคือ 1, 5 และ 10 นาที และอุณหภูมิมี 2 ระดับคือ 25 และ 80 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นไปสกัดต่อในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

4.2.1 ร้อยละของผลผลิต

เมื่อนำของเหลวที่ได้จากการพรีทรีตด้วยอัลตราซาวด์มาวิเคราะห์ปริมาณร้อยละของผลผลิต แล้วนำผลมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิ เวลา และระดับของแอมพลิจูดในการพรีทรีตพบว่า การสกัดด้วยน้ำร้อนเพียงขั้นตอนเดียว (ไม่ผ่านขั้นตอนการพรีทรีตเมนต์ด้วยอัลตราซาวด์) ให้ปริมาณร้อยละผลผลิตต่ำสุดเท่ากับร้อยละ 78.05 แต่เมื่อเปรียบเทียบการสกัดด้วยน้ำร้อนเพียงขั้นตอนเดียวกับการใช้อัลตราซาวด์ในการพรีทรีตก่อนที่นำไปสกัดด้วยน้ำร้อนพบว่า ปริมาณร้อยละผลผลิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการวิเคราะห์ผลการพรีทรีตแก่นตะวันด้วยอัลตราซาวด์ที่อุณหภูมิและระดับแอมพลิจูดต่างกัน ร่วมกับการสกัดด้วยน้ำร้อน พบว่า การพรีทรีตที่ระดับแอมพลิจูดร้อยละ 20-100 เป็นเวลา 1, 5 และ 10 นาที ให้ปริมาณร้อยละผลผลิต 79-81, 85-93 และ 87-98 ตามลำดับ เมื่อนำผลมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อศึกษาปัจจัยของเวลาและระดับแอมพลิจูดที่มีผลต่อปริมาณร้อยละผลผลิตที่การพรีทรีตที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยพิจารณาผลของแอมพลิจูดพบว่า ระดับแอมพลิจูดที่ต่างกันให้ปริมาณร้อยละผลผลิตแตกต่างกัน โดยที่ระดับแอมพลิจูดร้อยละ 80 และ 100 ให้ปริมาณร้อยละผลผลิตที่สูงกว่าระดับแอมพลิจูดอื่นๆ รองลงมาคือแอมพลิจูดร้อยละ 60, 40 และ 20 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาผลของเวลาในการพรีทรีตก็ให้ผลในลักษณะเดียวกันคือ เวลาที่มีผลต่อปริมาณร้อยละผลผลิต โดยปริมาณร้อยละผลผลิตมีปริมาณสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาที่ใช้ในการพรีทรีตเพิ่มขึ้น



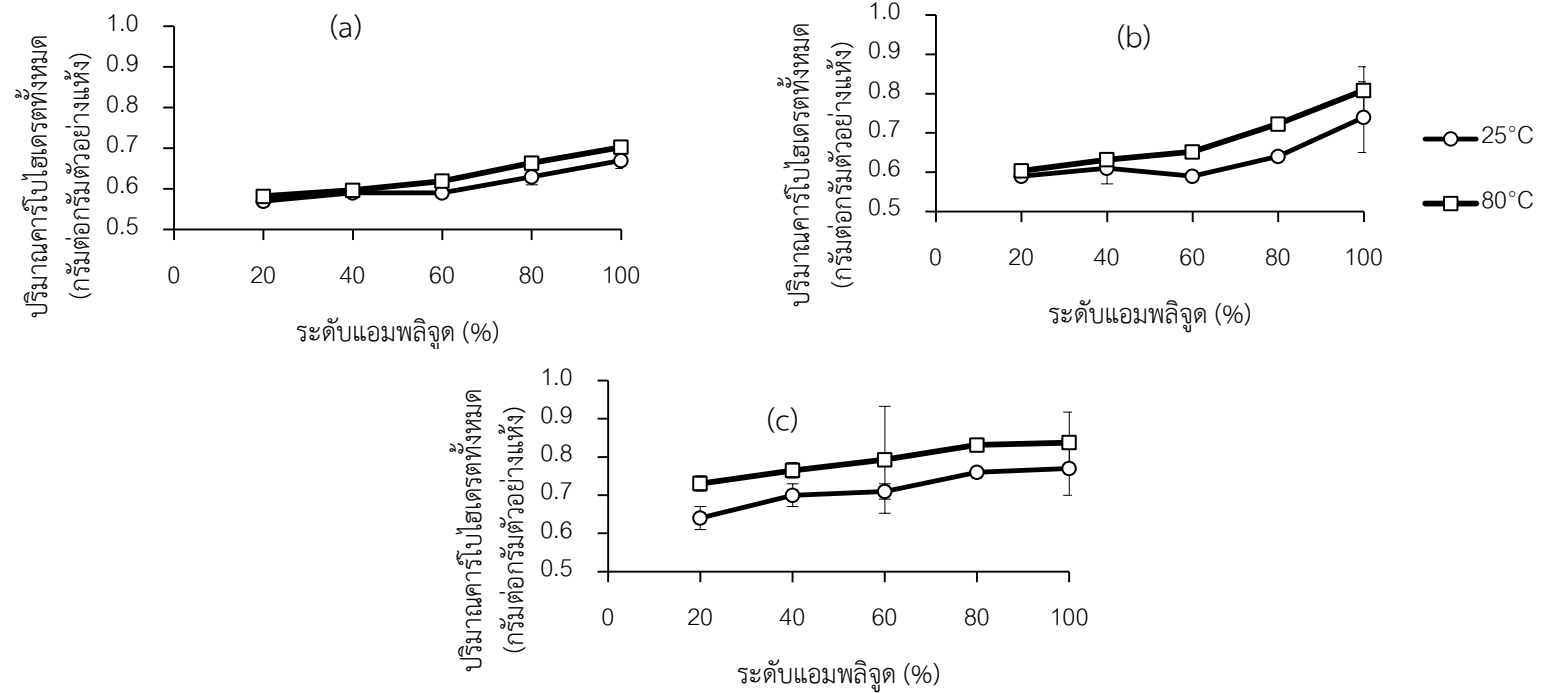
ภาพที่ 6 ร้อยละผลผลิตที่ได้จากการพรีรีที่ระดับแอมพลิจูดและ อุณหภูมิต่างๆ โดยเวลาในการพรีรีที่ (a) 1 นาที (b) 5 นาที (c) 10 นาที

แม้ว่าผลการวิเคราะห์ทางสถิติจะแสดงให้เห็นว่า การสกัดด้วยน้ำร้อนเพียงขั้นตอนเดียว กับการใช้อัลตราซาวด์ในการพรีทรีทให้ปริมาณร้อยละผลผลิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่จากภาพที่ 6 แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มปริมาณร้อยละผลผลิตที่เพิ่มขึ้นเมื่อระดับแอมพลิจูด อุณหภูมิและเวลาในการพรีทรีทเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sharma และ Gupta (2006) ที่พบว่า เมื่อมีการใช้อัลตราซาวด์เป็นเวลา 2-15 นาที ร่วมกับการสกัดด้วยตัวทำละลายในการสกัดน้ำมันจากเมล็ดอัลมอนด์และแอปเปิลคอต ทำให้ได้ปริมาณน้ำมันเพิ่มขึ้น การใช้อัลตราซาวด์เป็นเวลา 15 นาที ช่วยเพิ่มปริมาณน้ำมันได้ถึงร้อยละ 19 และ 22 ตามลำดับ สำหรับการใช้อัลตราซาวด์เป็นเวลาสั้นๆ เพียง 2 นาที ก็ทำให้ปริมาณน้ำมันเพิ่มขึ้นได้เช่นกัน เนื่องจากการพรีทรีทด้วยอัลตราซาวด์ทำให้ผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อพืชถูกทำลาย โครงสร้างเกิดลักษณะเป็นรูพรุน ตัวทำละลายจึงสามารถแพร่ผ่านเข้าออกผนังเซลล์ได้ง่ายและชะสารสกัดที่สามารถละลายน้ำออกมาได้มากขึ้น โดยปริมาณร้อยละผลผลิตสูงสุดคือที่ระดับแอมพลิจูดร้อยละ 100 เวลาในการพรีทรีท 10 นาที ซึ่งการใช้ระดับแอมพลิจูดสูงในการพรีทรีทเป็นการทำให้เกิดลักษณะการกวนอย่างรุนแรง ผนังเซลล์จึงถูกทำลายมากขึ้น

สาเหตุของการที่การสกัดด้วยน้ำร้อนเพียงขั้นตอนเดียวกับการใช้อัลตราซาวด์ในการพรีทรีทให้ปริมาณร้อยละผลผลิตไม่แตกต่างกันอาจเกิดเนื่องจากสภาวะที่ใช้ในการสกัดด้วยน้ำร้อนในการศึกษานี้มีประสิทธิภาพสูงเพียงพอสำหรับการสกัดสารที่สามารถละลายได้จากหัวแค้นตะวันอยู่แล้ว การพรีทรีทจึงไม่ส่งผลดีต่อร้อยละผลผลิต การสกัดอินนูลินโดยทั่วไปนิยมใช้น้ำร้อนอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดอยู่ระหว่าง 60 และ 85 องศาเซลเซียส บางครั้งก็สูงถึง 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาทีถึง 1 ชั่วโมง (Berghofer และคณะ, 1993)

4.2.2 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

ภาพที่ 7 แสดงให้เห็นผลของการพรีทรีทแต่ละสภาวะต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด จากการวิเคราะห์ผลการทดลองพบว่า การสกัดด้วยน้ำร้อนเพียงขั้นตอนเดียวให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดต่ำสุดเท่ากับ 0.533 กรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อเปรียบเทียบกับของเหลวที่ผ่านการพรีทรีทด้วยอัลตราซาวด์พบว่า การพรีทรีทมีผลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการวิเคราะห์ผลการพรีทรีทแค้นตะวันด้วยอัลตราซาวด์ที่อุณหภูมิและระดับแอมพลิจูดต่างกันร่วมกับการสกัดด้วยน้ำร้อน พบว่าการพรีทรีทที่ระดับแอมพลิจูดร้อยละ 20-100 เป็นเวลา 1, 5 และ 10 นาที ให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.5-0.7, 0.5-0.8 และ 0.6-0.8 กรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ ซึ่งโดยทั่วไปปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดสามารถใช้บ่งบอกถึงปริมาณอินนูลินได้โดยการหกลบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Lingyun และคณะ, 2007) ซึ่งพบในปริมาณต่ำประมาณ 0.05 กรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง ซึ่งจะได้แสดงผลการทดลองใน 4.2.3 ต่อไป ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าปริมาณผลผลิตอินนูลินอยู่ในช่วงร้อยละ 50 สำหรับการสกัดด้วยน้ำร้อน และร้อยละ 45-75 สำหรับการพรีทรีทด้วยอัลตราซาวด์ Lingyun และคณะ (2007) รายงานร้อยละผลผลิตอินนูลินสูงสุดจากหัวแค้นตะวันที่ 83.6% ด้วยการสกัดด้วยน้ำร้อนที่ 76.65 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที

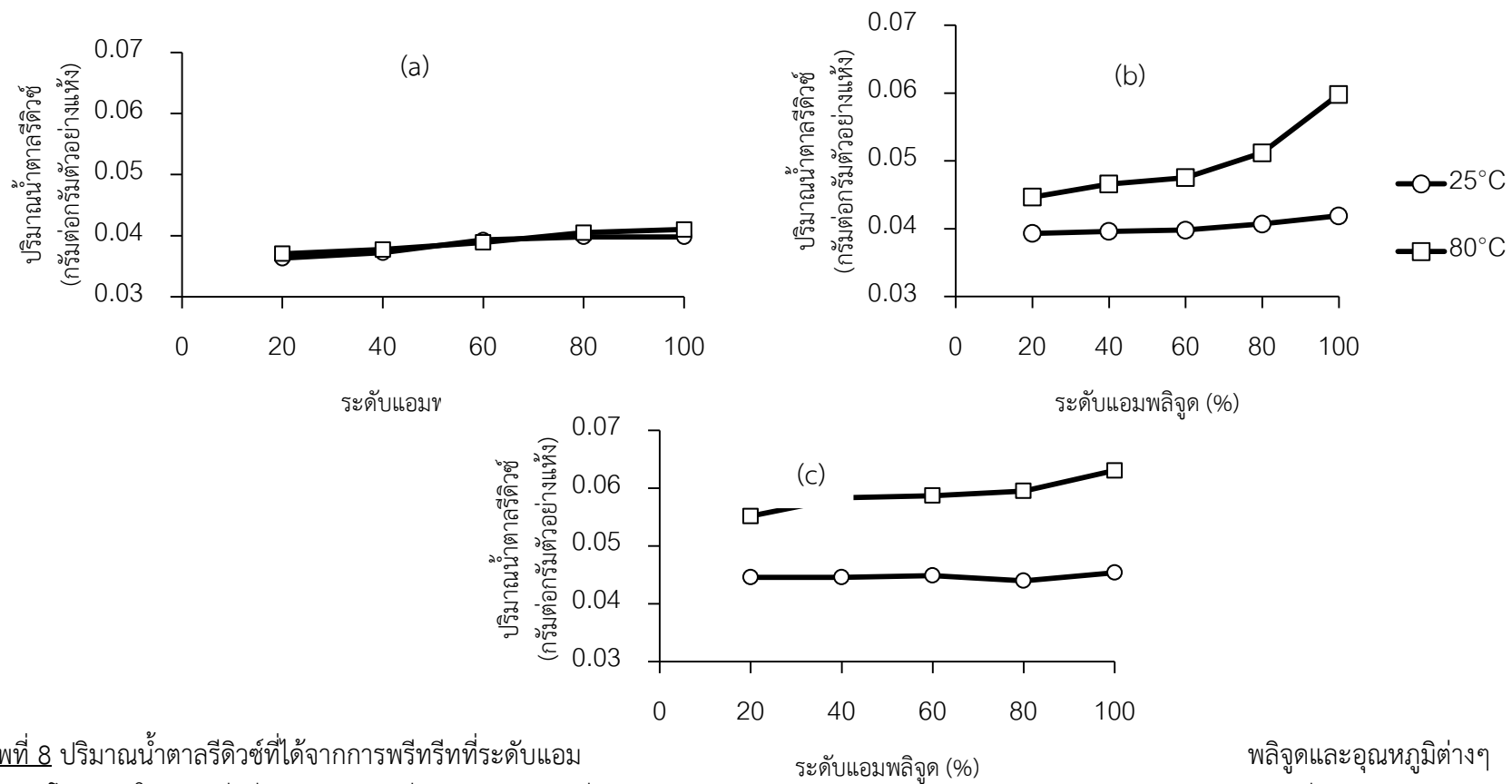


ภาพที่ 7 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ได้จากการพรีทรีทที่ระดับแอมพลิจูดและอุณหภูมิต่างๆ โดยเวลาในการพรีทรีท (a) 1 นาที (b) 5 นาที (c) 10 นาที

การพริทที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แอมพลิจูดและเวลาที่มีผลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในการพริทที่ระดับแอมพลิจูดร้อยละ 20, 40 และ 60 ให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเพิ่มระดับแอมพลิจูดให้สูงขึ้นเป็นร้อยละ 80 และ 100 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นตามลำดับ เช่นเดียวกับอิทธิพลของเวลาที่ใช้ในการพริท ซึ่งการพริทเพียง 1 และ 5 นาที ให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเพิ่มเวลาที่ใช้ในการพริทให้นานขึ้นเป็น 10 นาที ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดจะเพิ่มขึ้น แสดงว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อระดับแอมพลิจูดและเวลาที่ใช้ในการพริทสูงขึ้น เมื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด พบว่าปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดคืออุณหภูมิ กล่าวคือปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่ออุณหภูมิของการพริทเพิ่มขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบผลของเวลาในการพริทพบว่า การเพิ่มเวลาในการพริททำให้แนวโน้มปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดสูงขึ้น ซึ่งสภาวะการทดลองที่ให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดมากที่สุดคือ การพริทที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระดับของแอมพลิจูดร้อยละ 100 เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งมีค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเท่ากับ 0.838 กรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Wang และคณะ (2011) ที่ศึกษาผลของเวลาของการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ต่อสารสกัดจากรากชิคอร์รี่พบว่า การเพิ่มเวลาในการสกัดด้วยอัลตราซาวด์จะทำให้สารสกัดจากรากชิคอร์รี่มีปริมาณเพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มระยะเวลาทำให้โพลีแซคคาไรด์เกิดการสลายตัวได้มากขึ้น อีกทั้งการที่คลื่นอัลตราซาวด์เกิดปรากฏการณ์ควิเท็นซ์ที่นานขึ้นส่งผลให้เกิดการทำลายของผนังเซลล์และเกิดการถ่ายเทมวลมากขึ้น

4.2.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

เมื่อนำของเหลวที่ได้จากการพริทด้วยอัลตราซาวด์มาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แล้วนำผลมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิในการพริท เวลา และระดับแอมพลิจูด โดยการสกัดด้วยน้ำร้อนเพียงอย่างเดียวให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพียง 0.035 กรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง ซึ่งเป็นสภาวะที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำสุด เมื่อเปรียบเทียบกับของเหลวที่ผ่านการพริทด้วยอัลตราซาวด์พบว่า การพริทที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการวิเคราะห์ผลการพริทที่แน่นอนด้วยอัลตราซาวด์ที่อุณหภูมิและระดับแอมพลิจูดต่างกันร่วมกับการสกัดด้วยน้ำร้อน พบว่า การพริทที่ระดับแอมพลิจูดร้อยละ 20-100 เป็นเวลา 1, 5 และ 10 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ในช่วง 0.03-0.04, 0.03-0.06 และ 0.04-0.06 กรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่า ของเหลวที่ได้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ค่อนข้างน้อยมากจึงไม่วิเคราะห์ผลทางสถิติ แต่จากภาพที่ 8 แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มผลการทดลองของการพริทในแต่ละแอมพลิจูดที่อุณหภูมิ 25 และ 80 องศาเซลเซียส เวลาในการพริทต่างๆ พบว่า อุณหภูมิมีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อย่างเห็นได้ชัดที่เวลาในการพริท 5 และ 10 นาที แต่การพริทเพียง 1 นาที ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ไม่แตกต่างกัน เนื่องจากเวลาในการพริทอาจน้อยเกินไป ในการพริทที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส การใช้ระดับแอมพลิจูดและเวลาในการพริทที่สูงขึ้น จะทำให้สารสกัดมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย เช่นเดียวกับการพริทที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่ให้ผลการทดลองในแนวโน้มลักษณะเดียวกัน



ภาพที่ 8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการพรีทรีทที่ระดับแอม
โดยเวลาในการพรีทรีท (a) 1 นาที (b) 5 นาที (c) 10

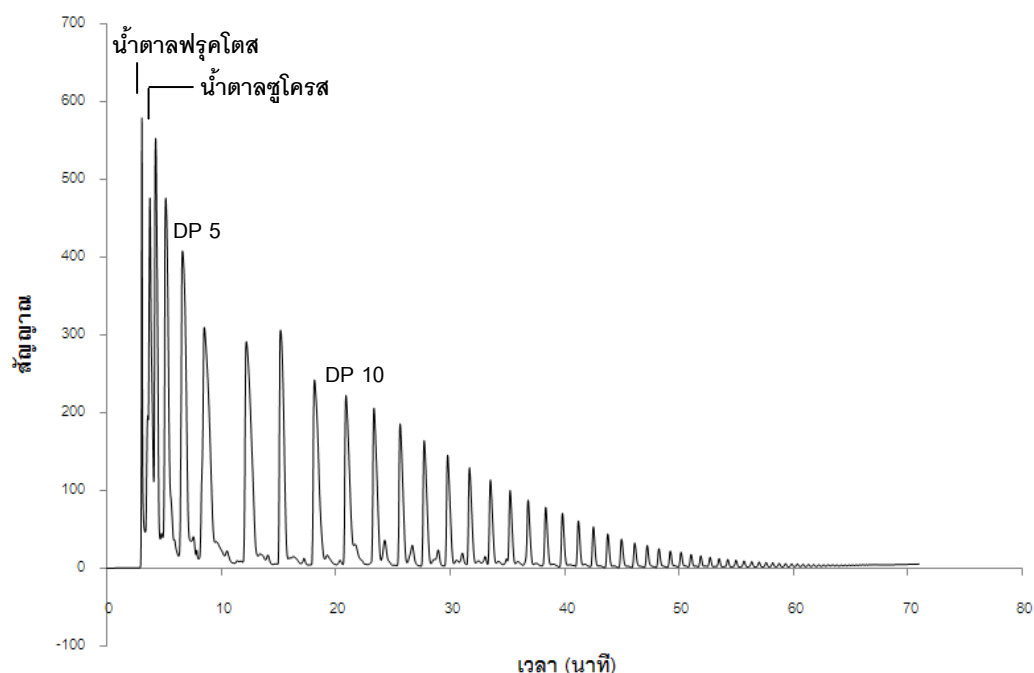
พริจูดและอุณหภูมิต่างๆ
นาที

4.2.4 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดแก่นตะวัน แล้วนำผลมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิในการพรีทรีท เวลา และระดับแอมพลิจูด พบว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนและการพรีทรีทด้วยอัลตราซาวด์มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และการสกัดด้วยน้ำร้อนเพียงขั้นตอนเดียวให้ปริมาณฟีนอลิกต่ำสุดคือเท่ากับ 3.57 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง ผลของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจะคล้ายกับผลของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ คือ ปริมาณฟีนอลิกมีปริมาณน้อยมากเมื่อเทียบกับองค์ประกอบอื่น ๆ จึงไม่ทำการวิเคราะห์ทางสถิติในส่วนของการพรีทรีท

4.2.5 ความยาวสาย (DP) ของคาร์โบไฮเดรตที่สกัดได้

เมื่อนำของเหลวที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อนและการพรีทรีทด้วยอัลตราซาวด์มาวิเคราะห์หาความยาวสายของคาร์โบไฮเดรตด้วยวิธี HPAEC ได้โครมาโตแกรมดังแสดงในภาพที่ 9 ซึ่งผลการวิเคราะห์พบว่าความยาวสายของคาร์โบไฮเดรตที่สามารถระบุชนิดของน้ำตาลได้มี 2 ชนิดคือ น้ำตาล ฟรุคโตสและน้ำตาลซูโครส (DP1 และ DP2) เนื่องจากไม่มีสารมาตรฐานที่ระบุขนาดความยาวสายของคาร์โบไฮเดรตขนาดอื่นที่แน่นอนได้ ดังนั้นความยาวสายถัดไปจึงใช้การนับพีคที่เกิดขึ้นตามลำดับเช่นเดียวกับการศึกษาของ Saengthongpinit และ Sajjaanantakul (2005) ที่ศึกษาผลของการเก็บรักษาต่อความยาวสายของอินนูลินในแก่นตะวันด้วยเทคนิคการวิเคราะห์เดียวกัน



ภาพที่ 9 โครมาโตแกรมของคาร์โบไฮเดรตที่ได้จากการสกัด

จากตารางที่ 4, 5 และ 6 แสดงการกระจายตัวของความยาวสายของคาร์โบไฮเดรตที่ได้จากการพรีทรีท ซึ่งจากการทดลองพบว่า ของเหลวที่ได้มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่หลากหลายทั้งน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (น้ำตาลฟรุคโตส) น้ำตาลโมเลกุลคู่ (น้ำตาลซูโครส) โอลิโกแซคคาไรด์ (DP 3-10) และโพลีแซคคาไรด์ แต่

ความยาวสายของคาร์โบไฮเดรตส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มของโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งมีถึงร้อยละ 50-60 ของคาร์โบไฮเดรตที่อยู่ในของเหลว ซึ่งอินนูลินที่มีค่า DP ต่ำนี้มีประโยชน์ในการเป็นสารพรีไบโอติกส์ (Li และคณะ, 2015; Rubel และคณะ, 2014) มากกว่า DP สูง จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นถึงน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่มีปริมาณน้อยมากซึ่งสอดคล้องกับการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้วิเคราะห์มาแล้วข้างต้น โดยเมื่อเปรียบเทียบความยาวสายของคาร์โบไฮเดรตของของเหลวที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อนเพียงขั้นตอนเดียวกับการพรีทรีทด้วยอัลตราซาวด์พบว่า น้ำตาลฟรุคโตสไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อพรีทรีทเมนต์เพียง 1 นาที แต่เมื่อเพิ่มการพรีทรีทเป็นเวลา 5 และ 10 นาที ปริมาณน้ำตาลฟรุคโตสจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่อุณหภูมิในการพรีทรีทมีผลต่อปริมาณน้ำตาลฟรุคโตสเช่นเดียวกัน เมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลซูโครสและโอลิโกแซคคาไรด์จะเห็นว่า การพรีทรีทเป็นเวลา 1, 5 และ 10 นาที ช่วยเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสและโอลิโกแซคคาไรด์ได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่โพลีแซคคาไรด์ลดต่ำลงอย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากการพรีทรีทนี้ใช้อัลตราซาวด์ร่วมกับการสกัดด้วยน้ำร้อน ปริมาณน้ำตาลฟรุคโตส น้ำตาลซูโครส และโอลิโกแซคคาไรด์ที่เพิ่มขึ้นอาจเป็นเพราะอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดด้วยน้ำร้อนนั้นสูงถึง 80 องศาเซลเซียสและสกัดเป็นเวลานาน องค์ประกอบภายในของเหลวจึงเกิดการสลายตัวอันเนื่องมาจากความร้อนได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ying และคณะ (2011) ที่ศึกษาผลของการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ต่อโพลีแซคคาไรด์ ในใบมะลเบอร์รี่พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิส่งผลทำให้แรงตึงผิวลดลงและความดันไอบนผิวของผลไม้เพิ่มขึ้น ทำให้ผิวของผลไม้เกิดการสลายตัวและแตกออกอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดลักษณะการกวนที่เพิ่มความรุนแรงมากขึ้น

ตารางที่ 4 ร้อยละของคาร์โบไฮเดรตขนาดความยาวสายต่างๆ ที่ได้จากการพรีทรีทเป็นเวลา 1 นาที

อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด	ความยาวสาย	ระดับแอมพลิจูด (ร้อยละ)				
		20	40	60	80	100
control	DP 1			1.03		
25 °C	DP 1	0.60	1.00	1.07	0.61	1.45
80 °C	DP 1	0.72	0.44	0.98	0.97	2.05
control	DP 2			2.51		
25 °C	DP 2	1.99	3.22	4.60	7.80	5.38
80 °C	DP 2	2.21	5.09	3.45	7.96	4.22
control	DP 3-10			56.29		
25 °C	DP 3-10	48.78	56.52	61.53	59.26	60.75
80 °C	DP 3-10	56.33	58.24	60.15	61.79	58.23
control	DP > 10			40.17		
25 °C	DP > 10	48.64	39.25	32.80	32.33	32.42
80 °C	DP > 10	40.74	36.22	35.42	29.28	35.5

หมายเหตุ control คือ ตัวอย่างที่สกัดด้วยน้ำร้อนเพียงขั้นตอนเดียว

ตารางที่ 5 ร้อยละของคาร์โบไฮเดรตขนาดความยาวสายต่างๆ ที่ได้จากการพรีทรีทเป็นเวลา 5 นาที

อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด	ความยาวสาย	ระดับแอมพลิจูด (ร้อยละ)				
-------------------------	------------	-------------------------	--	--	--	--

		20	40	60	80	100
control	DP 1			1.03		
25 °C	DP 1	2.44	3.20	3.66	3.87	4.47
80 °C	DP 1	4.13	4.31	5.64	7.12	8.60
control	DP 2			2.51		
25 °C	DP 2	8.76	5.01	5.00	5.12	5.81
80 °C	DP 2	6.71	5.36	6.40	5.89	4.54
control	DP 3-10			56.29		
25 °C	DP 3-10	63.06	58.23	57.03	62.64	61.32
80 °C	DP 3-10	62.38	59.98	57.11	58.89	59.37
control	DP > 10			40.17		
25 °C	DP > 10	25.73	33.56	34.31	28.38	28.40
80 °C	DP > 10	26.77	30.36	30.86	28.10	27.49

หมายเหตุ control คือ ตัวอย่างที่สกัดด้วยน้ำร้อนเพียงขั้นตอนเดียว

ตารางที่ 6 ร้อยละของคาร์โบไฮเดรตขนาดความยาวสายต่างๆ ที่ได้จากการพรีทรีเป็นเวลา 10 นาที

อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด	ความยาวสาย	ระดับแอมพลิจูด (ร้อยละ)				
		20	40	60	80	100
control	DP 1			1.03		
25 °C	DP 1	3.95	3.28	3.56	4.21	5.54

80 °C	DP 1	5.08	5.38	7.33	9.32	9.95
control	DP 2			2.51		
25 °C	DP 2	5.21	5.29	5.64	5.64	5.13
80 °C	DP 2	5.31	4.21	5.01	7.80	2.28
control	DP 3-10			56.29		
25 °C	DP 3-10	60.03	60.05	55.59	60.84	61.55
80 °C	DP 3-10	62.34	60.11	52.88	55.28	53.32
control	DP > 10			40.17		
25 °C	DP > 10	30.81	31.38	35.21	29.31	27.78
80 °C	DP > 10	27.27	30.31	34.78	27.60	34.45

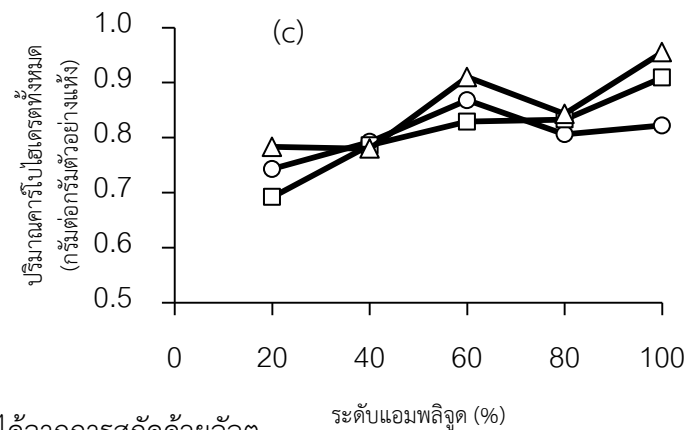
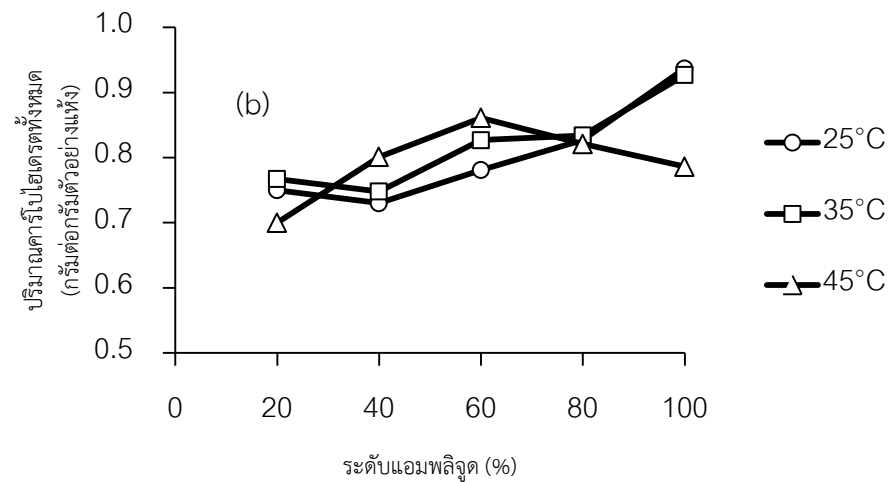
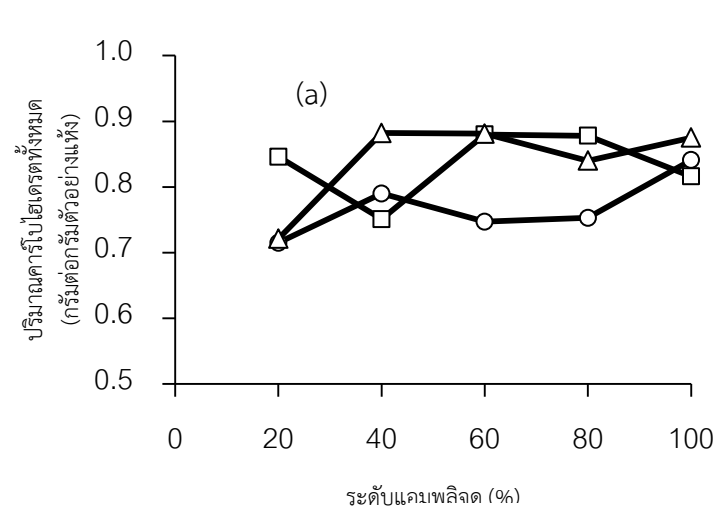
หมายเหตุ control คือ ตัวอย่างที่สกัดด้วยน้ำร้อนเพียงขั้นตอนเดียว

4.3 ผลของการสกัดด้วยอัลตราซาวด์

การทดลองนี้ใช้อัลตราซาวด์ในการสกัดอินนูลินจากแก่นตะวัน มีปัจจัยของอัลตราซาวด์ 3 ปัจจัย คือ แอมพลิจูด เวลา และอุณหภูมิ ซึ่งแอมพลิจูดมี 5 ระดับคือ 20, 40, 60, 80 และ 100% เวลา มี 3 ระดับคือ 10, 20 และ 30 นาที และอุณหภูมิมมี 3 ระดับคือ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส

4.3.1. ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบการสกัดด้วยน้ำร้อนเพียงอย่างเดียวกับการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ในแต่ ละสภาวะต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด พบว่าการสกัดด้วยอัลตราซาวด์กับการสกัดด้วยน้ำร้อนให้ปริมาณ คาร์โบไฮเดรตทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ให้ปริมาณ คาร์โบไฮเดรตทั้งหมดสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำร้อน แสดงว่าการสกัดด้วยอัลตราซาวด์มีประสิทธิภาพที่ดีกว่าการ สกัดด้วยน้ำร้อน โดยการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ได้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.7-0.9 กรัมต่อกรัม ตัวอย่างแห้ง หรือกล่าวได้ว่าร้อยละผลผลิตอินนูลินอยู่ในช่วง 65-85% เนื่องจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ที่ ประมาณ 0.05 กรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง จากภาพที่ 10 แสดงผลการศึกษาอิทธิพลของแอมพลิจูด เวลา และ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดด้วยอัลตราซาวด์พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิมีแนวโน้มทำให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดส่งผลให้เกิดการสลายตัวขององค์ประกอบต่างๆ ของแก่นตะวัน ซึ่งส่งผล ให้สารประกอบที่ละลายน้ำได้ในของเหลวมีปริมาณสูงขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Zhang และคณะ (2009) ที่ศึกษาผลของอุณหภูมิของการสกัด epimedin C ด้วยอัลตราซาวด์ พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิของการ สกัดจาก 15 เป็น 45 องศาเซลเซียส ทำให้สารสกัด epimedin C เพิ่มขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น ระหว่างการสกัดด้วยอัลตราซาวด์มีสาเหตุมาจากพลังงานเชิงกลที่เปลี่ยนเป็นพลังงานความร้อน จึงช่วยเพิ่ม ความสามารถในการถ่ายเทมวลให้สูงขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบผลของเวลาและแอมพลิจูดพบว่า เวลาในการ สกัดที่นานขึ้นก็ทำให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากขึ้นด้วยเพราะจะทำให้เกิดปรากฏการณ์คาวีเทชันนานขึ้น เช่นเดียวกัน การเพิ่มระดับแอมพลิจูดให้มากขึ้นทำให้เกิดลักษณะการกวนอย่างรุนแรง ผงเซลล์ถูกทำลาย มากขึ้น เกิดการแพร่ผ่านได้ง่ายและรวดเร็ว อีกทั้งเมื่อระยะเวลาในการชะสายนานขึ้น

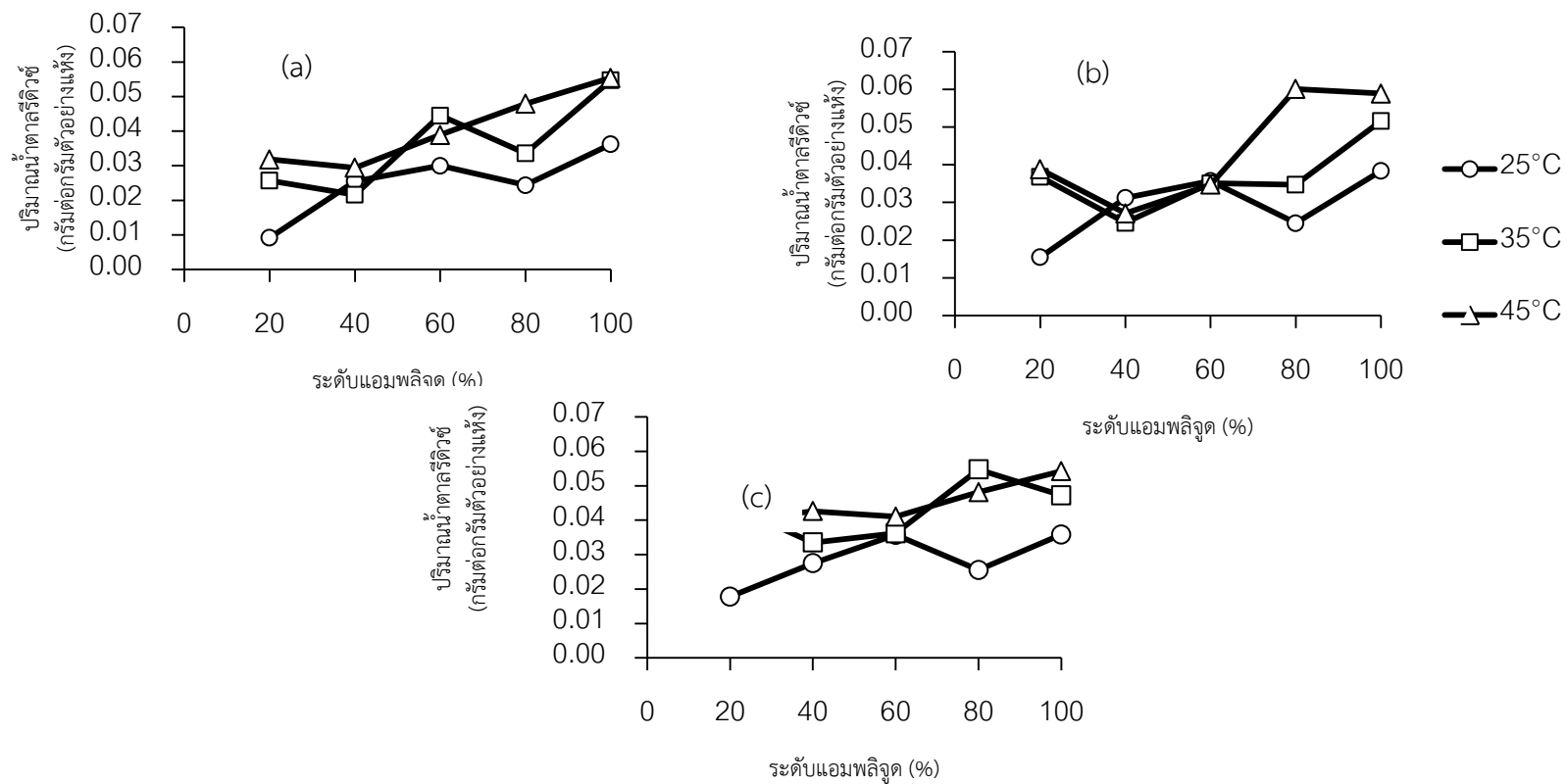


ภาพที่ 10 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ได้จากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับแอมพลิจูดและอุณหภูมิต่างๆ โดยเวลาในการสกัด (a) 10 นาที (b) 20 นาที (c) 30 นาที

4.3.2. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

เมื่อนำของเหลวที่ได้จากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์มาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แล้วนำผลมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิ เวลา และระดับแอมพลิจูดในการสกัด พบว่า การสกัดด้วยน้ำร้อนและการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่อุณหภูมิ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส ดังแสดงในภาพที่ 11 พบว่า การสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 35 และ 45 องศาเซลเซียส

การสกัดด้วยอัลตราซาวด์ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ค่อนข้างน้อยมากจึงไม่วิเคราะห์ผลทางสถิติ แต่จากภาพแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มผลการทดลอง โดยการใช้ระดับแอมพลิจูดและเวลาในการสกัดที่สูงขึ้น ทำให้สารสกัดมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย



ภาพที่ 11 ปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ที่ได้จากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับแอมพลิจูดและอุณหภูมิต่างๆ โดยเวลาในการสกัด (a) 10 นาที (b) 20 นาที (c) 30 นาที

4.3.3. ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

เมื่อนำสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์มาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด แล้วนำผลมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิในการพริทรีท เวลา และระดับแอมพลิจูด พบว่า การสกัดด้วยน้ำร้อนกับการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้มีค่าน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับองค์ประกอบอื่นๆ จึงไม่วิเคราะห์ทางสถิติ แต่จากข้อมูลที่ได้จากการทดลองบ่งบอกว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดให้สูงขึ้นเป็น 45 องศาเซลเซียส จะทำให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่า การเพิ่มอุณหภูมิของการสกัดส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกเพิ่มสูงขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Jerman และคณะ (2010) ที่ศึกษาผลของอุณหภูมิในการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ต่อสารประกอบฟีนอลิกในผลมะกอก พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิจาก 25 เป็น 45 องศาเซลเซียส จะทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้เกิดการสร้างจำนวนนิวเคลียสที่สามารถเกิดปรากฏการณ์คาร์วิเตชันได้มากขึ้น ส่งผลให้การถ่ายเทมวลเพิ่มมากขึ้น ทำให้ตัวทำละลายเข้าสู่องค์ประกอบของเซลล์ได้ดีขึ้น

4.3.4. ความยาวสายของคาร์โบไฮเดรตที่สกัดได้

เมื่อนำของเหลวที่ได้จากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์มาวิเคราะห์หาความยาวสายของคาร์โบไฮเดรต แล้วนำผลมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิในการพริทรีท เวลา และระดับแอมพลิจูดพบว่า ของเหลวที่ได้ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตที่มีความยาวสายที่หลากหลาย ดังแสดงในตารางที่ 7, 8 และ 9 โดยคาร์โบไฮเดรตส่วนใหญ่ (ร้อยละ 60) เป็นกลุ่มของโอลิโกแซคคาไรด์ (DP 3-10) และมีปริมาณน้ำตาลฟรุคโตสเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด เมื่อศึกษาอิทธิพลของการสกัดคือ ระดับแอมพลิจูด อุณหภูมิและเวลาในการสกัด พบว่า ระดับแอมพลิจูด อุณหภูมิและเวลาในการสกัดมีอิทธิพลต่อความยาวสายของคาร์โบไฮเดรต โดยการใช้ระดับแอมพลิจูดสูง อุณหภูมิในการสกัดต่ำส่งผลทำให้สัดส่วนของโอลิโกแซคคาไรด์เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Chen และ คณะ (2011) ที่ศึกษาผลของการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ต่อสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ในผลลิ้นจี่ พบว่าการเพิ่มระดับแอมพลิจูดทำให้สารประกอบโพลีแซคคาไรด์มีปริมาณเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเพิ่มระดับแอมพลิจูดทำให้อัตราการสกัดเพิ่มขึ้น โดยผนังเซลล์ถูกทำลาย ทำให้เกิดการแพร่ผ่านของตัวทำละลายได้มากขึ้นและคลื่นอัลตราซาวด์ทำให้เกิดกลไกการหดตัวและขยายตัวของฟองอากาศภายในตัวทำละลายจึงเป็นสาเหตุที่ทำให้โครงสร้างของเซลล์เกิดการยุบตัวและด้วยการใช้อุณหภูมิต่ำจะเป็นการป้องกันการสลายตัวของโพลีแซคคาไรด์ไปเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวอันเนื่องมาจากความร้อนด้วย

ตารางที่ 7 ร้อยละของคาร์โบไฮเดรตขนาดความยาวสายต่างๆ ที่ได้จากการสกัดเป็นเวลา 10 นาที

อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด	ความยาวสาย	ระดับแอมพลิจูด (ร้อยละ)				
		20	40	60	80	100
control	DP 1			1.03		
25 °C	DP 1	0.90	1.26	0.92	0.79	1.87
35 °C	DP 1	0.99	1.04	0.88	0.89	0.97
45 °C	DP 1	0.89	0.98	0.68	0.95	1.48
control	DP 2			2.51		
25 °C	DP 2	8.16	9.83	8.78	8.18	6.12
35 °C	DP 2	8.09	9.37	8.23	8.55	7.73
45 °C	DP 2	7.27	7.86	6.68	7.75	7.72
control	DP 3-10			56.29		
25 °C	DP 3-10	62.74	60.11	63.67	62.17	63.95
35 °C	DP 3-10	62.05	60.77	62.31	62.47	61.70
45 °C	DP 3-10	62.54	61.32	61.19	61.62	62.41
control	DP > 10			40.17		
25 °C	DP > 10	28.20	28.80	26.62	28.86	28.06
35 °C	DP > 10	28.87	28.83	28.58	28.08	29.61
45 °C	DP > 10	29.30	29.85	31.46	29.68	28.39

ตารางที่ 8 ร้อยละของคาร์โบไฮเดรตขนาดความยาวสายต่างๆ ที่ได้จากการสกัดเป็นเวลา 20 นาที

อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด	ความยาวสาย	ระดับแอมพลิจูด (ร้อยละ)
-------------------------	------------	-------------------------

		20	40	60	80	100
control	DP 1			1.03		
25 °C	DP 1	1.24	0.83	1.08	1.20	1.27
35 °C	DP 1	0.79	1.08	0.75	0.96	1.25
45 °C	DP 1	0.73	1.92	0.94	2.36	2.92
control	DP 2			2.51		
25 °C	DP 2	1.94	8.40	7.44	8.63	8.61
35 °C	DP 2	2.31	10.03	8.73	7.75	7.36
45 °C	DP 2	7.12	7.56	7.41	7.06	6.95
control	DP 3-10			56.29		
25 °C	DP 3-10	60.50	64.50	64.70	60.08	61.61
35 °C	DP 3-10	60.85	59.59	60.68	61.72	61.38
45 °C	DP 3-10	63.06	59.26	62.91	59.88	56.78
control	DP > 10			40.17		
25 °C	DP > 10	36.31	26.26	26.78	33.09	29.49
35 °C	DP > 10	36.05	29.29	29.84	29.56	30.01
45 °C	DP > 10	29.09	31.26	28.74	30.70	33.36

ตารางที่ 9 ร้อยละของคาร์โบไฮเดรตขนาดความยาวสายต่างๆ ที่ได้จากการสกัดเป็นเวลา 30 นาที

อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด	ความยาวสาย	ระดับแอมพลิจูด (ร้อยละ)				
		20	40	60	80	100
control	DP 1			1.03		
25 °C	DP 1	1.12	0.97	1.65	0.70	1.41
35 °C	DP 1	1.24	1.46	0.72	0.92	0.78

45 °C	DP 1	0.83	1.13	1.08	1.00	1.71
control	DP 2			2.51		
25 °C	DP 2	1.44	2.31	7.87	5.44	5.06
35 °C	DP 2	1.41	9.54	7.50	5.75	6.52
45 °C	DP 2	6.59	6.36	7.46	8.27	4.87
control	DP 3-10			56.29		
25 °C	DP 3-10	59.05	64.76	62.99	58.51	58.12
35 °C	DP 3-10	60.95	57.92	62.34	58.18	59.43
45 °C	DP 3-10	59.13	60.08	60.24	60.63	63.54
control	DP > 10			40.17		
25 °C	DP > 10	38.39	31.96	27.48	35.33	35.41
35 °C	DP > 10	36.40	31.09	29.44	35.15	33.27
45 °C	DP > 10	33.44	32.43	31.22	30.11	29.88

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

การพรีทรีทแก๊นตะวันด้วยอัลตราซาวด์เป็นวิธีการที่มีศักยภาพในการช่วยเพิ่มปริมาณร้อยละของผลผลิตปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณฟีนอลิกในสารละลายตัวอย่างได้ สามารถสกัดองค์ประกอบต่างๆ ได้มากกว่าตัวอย่างควบคุม (สกัดด้วยน้ำร้อนเพียงอย่างเดียว) โดยประสิทธิภาพในการสกัดขึ้นอยู่กับปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัย คือ อุณหภูมิของการพรีทรีท เวลาในการพรีทรีท และระดับแอมพลิจูด ซึ่งร้อยละของผลผลิตปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณฟีนอลิกจะเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิ เวลา และระดับแอมพลิจูดของการพรีทรีท โดยการพรีทรีทที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระดับของแอมพลิจูดร้อยละ 100 เป็นเวลา 10 นาที ก่อนการสกัดด้วยน้ำร้อน เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด ที่ทำให้ได้ร้อยละของผลผลิต ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุด สำหรับการสกัดอินนูลินด้วยอัลตราซาวด์เป็นวิธีการสกัดที่ดีวิธีหนึ่งเมื่อเทียบกับการสกัดด้วยน้ำร้อนเพียงอย่างเดียว เนื่องจากช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดให้สูงขึ้น ซึ่งความยาวสายอินนูลินอยู่ในช่วง 3-10 เป็นสัดส่วนที่สูง ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อความยาวสายในช่วงนี้คือแอมพลิจูดและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด ซึ่งสภาวะของการสกัดที่เหมาะสมกับการสกัดอินนูลินช่วงความยาวสายนี้คือระดับแอมพลิจูดร้อยละ 60 อุณหภูมิในการสกัดต่ำ เพราะการใช้แอมพลิจูดสูงจะทำให้เกิดพลังงานความร้อนสูงแล้วเมื่อรวมกับอุณหภูมิในการสกัดที่สูงด้วยจะทำให้โพลีแซคคาไรด์เกิดการสลายตัวเป็นโมเลกุลเล็กได้ง่าย การสกัดด้วยอัลตราซาวด์เป็นวิธีที่ดีวิธีหนึ่ง นอกจากสามารถสกัดได้เพิ่มขึ้นแล้วยังช่วยลดอุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดให้สั้นลงเหลือเพียงครึ่งหนึ่งได้

บทที่ 6

บรรณานุกรม

- นิศากร วรุดิยานันท์. 2548. การผลิตฟรุคโทสจากอินนูลินด้วยเอนไซม์อินนูลิเนส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 148 หน้า.
- มาลี จิรวงศ์ศรี. 2543. Carbohydrate: inulin, oligofructose. วารสารอาหารและยา. 7: 19-23.
- สมพิศ สายแก้ว, รัชฎา ตั้งวงศ์ไชย และ อัมพร แซ่เอียว. 2553. ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของหัวแก่นตะวันสดภายหลังการเก็บเกี่ยว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 41: 249-252.
- สาโรจน์ ศิริตันสนียกุล. 2551. วิศวกรรมกระบวนการหมัก: กรรมวิธีการผลิตฟรุคโทโอลิโกแซ็กคาไรด์. 80 หน้า. AOAC (2000). Official methods of analysis of AOAC International. 17th ed. Arlington, VA: AOAC International.
- Benitez, V., Molla, E., Martin-Cabrejas, M.A., Aguilera, Y., Lopez-Andreu, J., Cools, K., Terry, L.A. and Esteban, R.M. 2011. Characterization of industrial onion wastes (*Allium cepa* L.): Dietary fibre and bioactive compounds. Plant Foods for Human Nutrition, 66: 48-57.
- Berghofer, E., Cramer, A., Schmidt, U. and Veigl, M. 1993. Pilot-scale production of inulin from chicory roots and its use in foodstuff. In: Fuchs A, editor. Inulin and inulin containing crops. Amsterdam: Elsevier Science. 77-84.
- Boonkird, S., Phisalaphong, C. and Phisalaphong, M. 2008. Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from *Capsicum frutescens* on a lab- and pilot-plant scale. Ultrasonics Sonochemistry, 15: 1075-1079.
- Cao, X., Ye, X., Lu, Y., Yu, Y. and Mo, W. 2009. Ionic liquid-based ultrasonic-assisted extraction of piperine from white pepper. Analytica Chimica Acta, 640: 47-51.
- Chen, L., Jin, H., Ding, L. Zhang, H., Li, J. and Qu, C., 2008. Dynamic microwave-assisted extraction of flavonoids from *Herba Epimedii*. Separation and Purification Technology, 59: 50-57.
- Chen, Y., Luo, H., Gao, A. and Zhu, M. 2011. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) seed by response surface methodology and their structural characteristics. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 12: 305-309.
- Claver, I.P., Zhang, H., Li, Q., Kexue, Z. and Zhou, H. 2010. Optimization of ultrasonic extraction of polysaccharides from chinese malted sorghum using response surface methodology. Pakistan Journal of Nutrition, 9: 336-342.
- Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D. and Tauscher, B. 2008. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 9:85-

91.

- Couri, S., Gomes, F.S., Nogueira, R.I., Wilberg, V.C., Cabral, L.M.C., Silva, V.V. and Almeida, D.L. 2005. Determination of inulin content of chicory roots (*Cichorium intybus* L.) cultivated organically in three regions of Rio de Janeiro state. In: Enpromer 2005, Angra dos Reis-RJ, agosto.
- Cravotto, G., Boffa, L., Mantegna, S., Perego, P., Avogadro, M. and Cintas, P. 2008. Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15: 898-902.
- Cuoco, G., Mathe, C., Archier, P., Chemat, F. and Vieillescazes, C. 2009. A multivariate study of the performance of an ultrasound-assisted madder dyes extraction and characterization by liquid chromatography-photodiode array detection. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16: 75-82.
- Dong, J.N., Liu, Y.B., Liang, Z.S. and Wang, W.L. 2010. Investigation on ultrasound-assisted extraction of salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* root. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17: 61-65.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry*, 28: 350-356.
- Durling, N.E., Catchpole, O.J., Grey, J.B., Webby, R.F., Mitchell, K.A., Foo, L.Y. and Perry, N.B. 2007. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol-water mixtures. *Food Chemistry*, 101: 1417-1424.
- Franck, A. and L. De Leenheer. 2002. Inulin, pp. 439-479. In E.J. Vandamme, S. De Baets and A Steinbuchel, eds. *Biopolymers. vol 6. Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes*. WILEY-VCH, Weinheim.
- Gibson, J.H., Hon, H., Farnood, R., Droppo, I.G. and Seto, P. 2009. Effect of ultrasound on suspended particles in municipal wastewater. *Water research*. 43: 2251-2259.
- Goli, A.H., Barzegar, M. and Sahari, M.A. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92: 521-525.
- Graff, K.F. 1991. *Wave notion in elastic solids*. Oxford University Press, New York.
- Heo, S.W. and Kim, H. 2010. A novel power spectrum calculation method using phase-compensation and weighted averaging for the estimation of ultrasound attenuation. *Ultrasonics*, 50: 592-599.
- Hemwimol, S., Pavasant, P. and Shotipruk, A. 2006. Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13: 543-548.
- Hermann, M., Freire, I. and Pazos, C. 1999. Compositional diversity of the yacon storage root. In: *Impact on a changing world. Program Report 1997-1998*. CIP, Lima, Peru. 425-432.

- Hua, F.Z., Xiao, H.Y., Li, D.Z. and Ying, W. 2009. Ultrasonic-assisted extraction of epimedin C from fresh leaves of *Epimedium* and extraction mechanism. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10: 54-60.
- Jaime, L., Martinez, F., Martin-Cabrejas, M.A., Molla, E., Lopez-andreu, F.J., Waldron, K.W. and Esteban, R.M. 2001. Study of total fructan and fructooligosaccharide content in different onion tissues. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 177–182.
- Jalbani, N., Kazi, T.G., Arain, B.M., Jamali, M.K., Afridi, H.I. and Sarfraz, R.A. 2006. Application of factorial design in optimization of ultrasonic-assisted extraction of aluminum in juices and soft drinks. *Talanta*, 70: 307-314.
- Jerman, T., Trebse, P. and Vodopivec, B.M. 2010. Ultrasound-assisted solid liquid extraction (USLE) of olive fruit (*Olea europaea*) phenolic compounds. *Food Chemistry*. 123: 175-182.
- Karppinen, S., Myllymaki, O., Forssell, P. and Poutanen, K. 2003. Fructan content of rye and rye products. *Cereal Chemistry*, 80: 168-171.
- Kaur, N. and Gupta, A.K. 2002. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *Journal of Biosciences*, 27: 703–714.
- Khan, M.K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A.S., Dangles, O. and Chemat, F. 2010. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*, 119: 851–858.
- Lee, M.H. and Lin, C.C. 2007. Comparison of techniques for extraction of isoflavones from the root of *Radix Puerariae*: Ultrasonic and pressurized solvent extraction. *Food Chemistry*, 105: 223-228.
- Leite Toneli, J.T.C., Murr, F.E.X., Martinelli, P., Fabbro, I.M.D. and Park, K.J. 2007. Optimization of physical concentration process for inulin. *Journal of Food Engineering*, 80: 832-838.
- Li, H., Pordesimo, L. and Weiss, J. 2004. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. *Food Research International*, 37: 731-738.
- Li, W., Zhang, J., Yu, C., Li, Q., Dong, F., Wang, G., Gu, G. and Guo, Z. 2015. Extraction, degree of polymerization determination and prebiotic effect evaluation of inulin from Jerusalem artichoke. *Carbohydrate Polymers*, 121: 315-319.
- Lingyun, W., Jianhua, W., Xiaodong, Z., Da, T., Yalin, Y., Chenggang, C., Tianhua, F. And Fan, Z. 2007. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. *Journal of Food Engineering*, 79: 1087-1093.
- Liu, C.F., Sun, R.C., Qin, M.H., Zhang, A.P., Ren, J.L., Xu, F., Ye, J. and Wu, S.B. 2007. Chemical modification of ultrasound-pretreated sugarcane bagasse with maleic anhydride. *Industrial Crops and Products*, 26: 212-219.

- Livingston, D.P. 1990. Fructan Precipitation from a Water/Ethanol Extract of Oats and Barley. *Plant Physiology*, 92: 767-769.
- Lou, Z., Wang, H., Wang, D. and Zhang, Y. 2009. Preparation of inulin and phenols-rich dietary fibre powder from burdock root. *Carbohydrate Polymers*, 78: 666-671.
- Ma, Y., Ye, X., Hao, Y., Xu, G., Xu, G. and Liu, D. 2008. Ultrasound-assisted extraction of hesperidin from Penggan (*Citrus reticulata*) peel. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15: 227-232.
- Ma, Y.Q., Chen, J.C., Liu, D.H. and Ye, X.Q. 2009. Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts : Effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16: 57-62.
- Milani, Elnaz, Koocheki, A. and Golimovahhed, Q.A. 2011. Extraction of inulin from Burdock root (*Arctium lappa*) using high intensity ultrasound. *International Journal of Food Science & Technology*, 46: 1699-1704.
- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31: 420-428.
- Ozcan, S., Tor, A. and Aydin, M.E. 2009. Application of ultrasound-assisted emulsification-micro-extraction for the analysis of organochlorine pesticides in waters. *Water Research*, 43: 4269-4377.
- Pan, J., Xia, X.X. and Liang, J. 2008. Analysis of pesticide multi-residues in leafy vegetables by ultrasonic solvent extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15: 25-32.
- Porto, C.D. and Decorti, D. 2009. Ultrasound-assisted extraction coupled with under vacuum distillation of flavor compounds from spearmint (carvone-rich) plants: Comparison with conventional hydrodistillation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16: 795-799.
- Rhee, S.K., K.B. Song, C.H. Kim, B.S. Park, E.K. Jang and K.H. Jang. 2002. Levan, pp. 351-377. *In* E.J. Vandamme, S. De Baets and A. Steinbuchel, eds. *Biopolymers*. vol 5. *Polysaccharides I: Polysaccharides from Prokaryotes*. Wiley-VCH, Weinheim.
- Riera, E., Blanco, A., Garcia, J., Benedito, J., Mulet, A., Gallego-Juarez, J.A. and Blasco, M. 2010. High-power ultrasonic system for the enhancement of mass transfer in supercritical CO₂ extraction processes. *Ultrasonics*, 50: 306-309.
- Riera, E., Golas, Y., Blanco, A., Gallego, J.A., Blasco, M. and Mulet, A. 2004. Mass transfer enhancement in supercritical fluids extraction by means of power ultrasound. *Ultrasonic Sonochemistry*, 11: 241-244.
- Rodrigues, S. and Pinto, G.A.S. 2007. Ultrasound extraction of phenolic compounds

- From coconut (*Cocos nucifera*) shell powder. *Journal of Food Engineering*, 80: 869-872.
- Roldan Gutierrez, J.M., Ruiz Jimenez, J. and Castro, M.D.L. 2008. Ultrasound-assisted dynamic extraction of valuable compounds from aromatic plants and flowers as compared with steam distillation and superheated liquid extraction. *Talanta*, 75: 1369-1375.
- Rubel, I. A., Pérez, E. E., Genovese, D. B. and Manrique, G. D. 2014. In vitro prebiotic activity of inulin-rich carbohydrates extracted from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers at different storage times by *Lactobacillus paracasei*. *Food Research International*, 62: 59-65.
- Saengthongpinit, W. and Sajjaanantakul, T. 2005. Influence of harvest time and storage temperature on characteristics of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. *Postharvest Biology and Technology*, 37: 93-100.
- Schnyder, H., Gillenberg, C. and Hinz, J. 1993. Fructan contents and dry matter deposition in different tissues of the wheat grain during development. *Plant Cell & Environment*, 16: 179-187.
- Sharma, A. and Gupta, M.N. 2006. Ultrasonic pre-irradiation effect upon aqueous enzymatic oil extraction from almond and apricot seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13: 529-534.
- Shoaib, M. Shehzada, A., Omar, M., Rakha, A., Razaa, H., Rizwan Sharif, H., Shakeela, A., Ansaria, A. and Niazi, S. Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate Polymers*, 147: 444-454.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of FolinCiocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299: 152-78.
- Stanisavljevic, I.T., Lazic, M.L. and Veljkovic, V.B. 2007. Ultrasonic extraction of oil from tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14: 646-652.
- Tabaraki, R. and Nateghi, A. 2011. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of natural antioxidant from rice bran using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18: 1279-1286.
- Van Loo, J., Coussement, P., Leenheer, L., Hoebregs, H. and Smits, G. 1995. On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35: 525-552.
- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L. and Bates, D. 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry - A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9: 161-169.

- Vinatoru, M. 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8: 303-313.
- Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y. and Li, X. 2008. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*, 106: 804–810.
- Wang, L., Wang, Z., Zhang, H., Li, X. and Zhang, H. 2009. Ultrasonic nebulization extraction coupled with headspace single drop microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for analysis of the essential oil in *Cuminum cyminum* L. *Analytica Chimica Acta*, 647: 72-77.
- Wang, Q., Liu, Y., Cui, J., Du, J., Chen, G. and Liu, H. 2011. Optimization of ultrasonic-assisted extraction for herbicidal activity of chicory root extracts. *Industrial Crops and Products*, 34: 1429-1438.
- Ying, Z., Han, X. and Li, J. 2011. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves. *Food Chemistry*. 127: 1273-1279.
- Yu, C., Zhu, L., Xiao, J., Tang, H., Guo, G., Zeng, Q. and Wang, X. 2009. Ultrasonic extraction and determination of cyanuric acid in pet food. *Food Control*, 20: 205-208.
- Zhang, H.F., Yang, X.H., Zhao, L.D. and Wang, Y. 2009. Ultrasonic-assisted extraction of epimedin C from fresh leaves of *Epimedium* and extraction mechanism. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10: 54-60.

ภาคผนวก

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

วิธีการ

1. อบ moisture can ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) และชั่งน้ำหนัก
2. ชั่งตัวอย่างใส่ใน moisture can ประมาณ 2 กรัม แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก
3. นำไปอบอีกครั้งที่สภาวะเดิม ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกว่าน้ำหนักจะคงที่

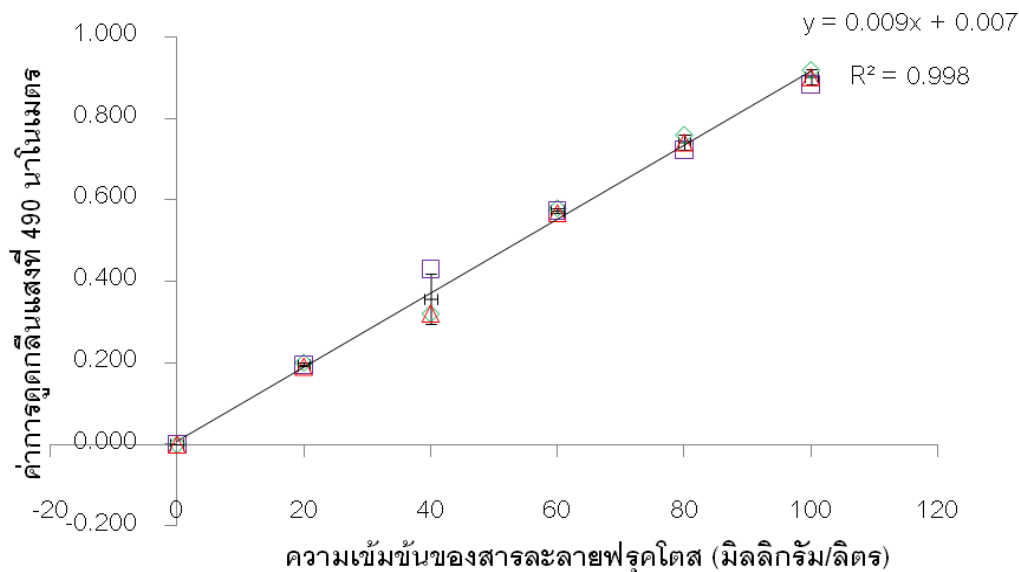
การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักแห้งตัวอย่าง (กรัม)}}$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดด้วยวิธี Phenol-sulfuric (Dubois และคณะ, 1956)

นำตัวอย่างปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 160×15 มิลลิเมตร เติมนิโกล (phenol) ร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอด ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ 10 นาที เมื่อครบเวลาให้นำตัวอย่างไปใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำตาลฟรุคโตสเป็นสารละลายมาตรฐาน

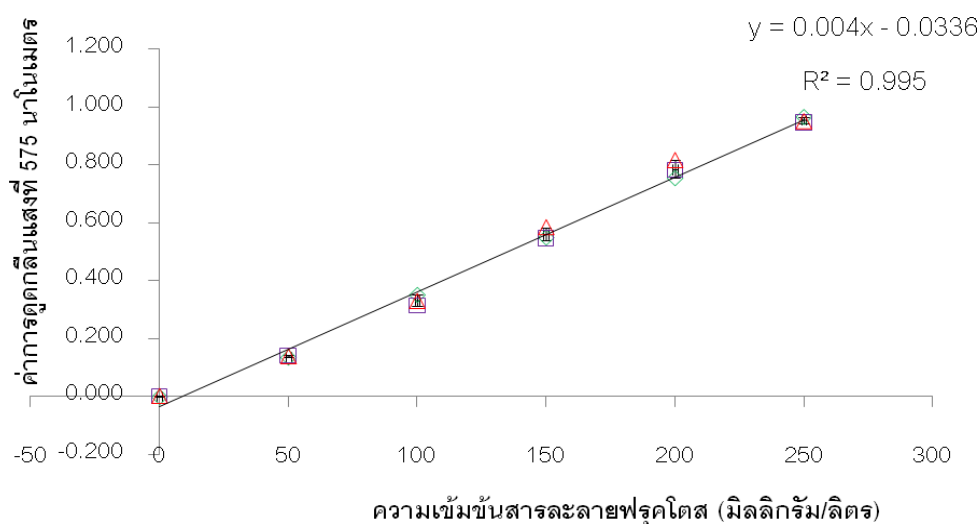
การทำกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรต ใช้ น้ำตาลฟรุคโตสเป็นสารมาตรฐาน เนื่องจากเป็นน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในแก่นตะวัน



ภาพที่ 12 กราฟมาตรฐานคาร์โบไฮเดรตที่วิเคราะห์ด้วยวิธีฟีนอลซัลฟิวริก

3. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (Miller, 1959)

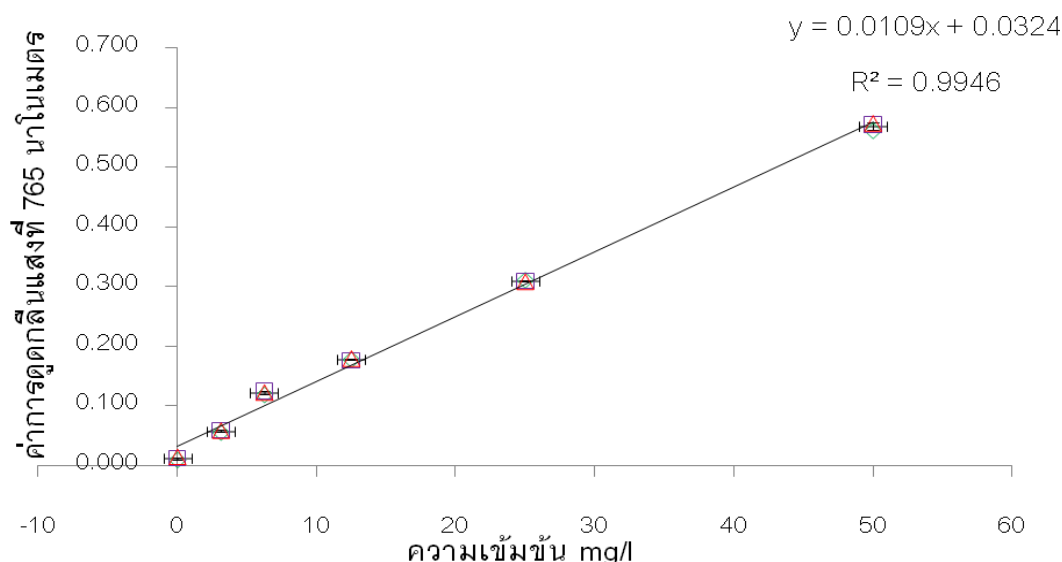
นำตัวอย่างปริมาตร 3 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 160×15 มิลลิเมตร เติม DNS ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน นำไปวางในน้ำที่มีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เมื่อครบเวลาให้นำตัวอย่างออกมาทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร โดยใช้น้ำตาลฟรุคโตสเป็นสารละลายมาตรฐาน



ภาพที่ 13 กราฟมาตรฐานน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic

4. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (Singleton และ คณะ, 1999)

นำตัวอย่างปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย Folin ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที หลังจากนั้นเติม 7.5% Na_2CO_3 ปริมาตร 1.6 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้ gallic acid เป็นสารละลายมาตรฐาน



ภาพที่ 14 กราฟมาตรฐานปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

5. การวิเคราะห์องค์ประกอบอินนูลินด้วยวิธี HPAEC (Saengthongpinit, 2005)

วิเคราะห์ด้วยเครื่อง High performance anion exchange chromatography (HPAEC) column ชนิด CarboPac 200 Analytical (Dionex, ประเทศเยอรมนี) ขนาด 4×250 มิลลิเมตร มีการใช้ตัวพาประกอบด้วยสาร 2 ชนิดคือ ตัวพา A คือ 0.15M Sodium hydroxide (NaOH) และตัวพา B คือ 0.15M Sodium hydroxide(NaOH)/0.50M Sodium acetate (NaAc) ตั้งอัตราการไหลเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตรต่อ นาที แสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 การปรับสัดส่วนของ mobile phase ที่เวลาต่างๆ

เวลา (นาที)	Eluent A (%)	Eluent B (%)
0-15	100	0
15-45	40	60
45-90	10	90
90-110	0	100
110-120	100	0

กรองตัวอย่างผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร ฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง HPAEC 25 ไมโครลิตร

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการศึกษาต่ออินนูลิน ใช้โปรแกรม SAS เวอร์ชัน 9.0 โดยนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวน เพื่อทดสอบอิทธิพลของแอมพลิจูด อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดและวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลผลการศึกษา ได้แก่ ปริมาณฟรุกโตส ปริมาณซูโครส และปริมาณอินนูลินแต่ละระดับการเกิดพอลิเมอร์ในตัวอย่าง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งในที่นี้ยกตัวอย่างการวิเคราะห์อิทธิพลของแอมพลิจูด อุณหภูมิและเวลาของอัลตราซาวด์ต่อปริมาณอินนูลินทั้งหมด

ตัวอย่างโปรแกรม SAS ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอิทธิพลต่างๆ ต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

```
data sugar;
```

```
input time rep temp amp carbo;
```

```
cards;
```

1	1	25	20	0.5854
5	1	25	20	0.5906
10	1	25	20	0.6134
1	1	25	40	0.5796
5	1	25	40	0.5776
10	1	25	40	0.7288
1	1	25	60	0.5922
5	1	25	60	0.5826
10	1	25	60	0.6929
1	1	25	80	0.6442
5	1	25	80	0.6350
10	1	25	80	0.7663
1	1	25	100	0.6615
5	1	25	100	0.6790
10	1	25	100	0.7172
1	1	80	20	0.5833
5	1	80	20	0.5977
10	1	80	20	0.7449
1	1	80	40	0.5944
5	1	80	40	0.6283
10	1	80	40	0.7770
1	1	80	60	0.6192
5	1	80	60	0.6446
10	1	80	60	0.6963
1	1	80	80	0.6646
5	1	80	80	0.7240
10	1	80	80	0.8379
1	1	80	100	0.6906

5	1	80	100	0.7687
10	1	80	100	0.7807
1	2	25	20	0.5644
5	2	25	20	0.5867
10	2	25	20	0.6574
1	2	25	40	0.5990
5	2	25	40	0.6346
10	2	25	40	0.6810
1	2	25	60	0.5887
5	2	25	60	0.6009
10	2	25	60	0.7240
1	2	25	80	0.6216
5	2	25	80	0.6473
10	2	25	80	0.7617
1	2	25	100	0.6867
5	2	25	100	0.8072
10	2	25	100	0.8138
1	2	80	20	0.5803
5	2	80	20	0.6096
10	2	80	20	0.7160
1	2	80	40	0.5992
5	2	80	40	0.6357
10	2	80	40	0.7526
1	2	80	60	0.6192
5	2	80	60	0.6595
10	2	80	60	0.8893
1	2	80	80	0.6626
5	2	80	80	0.7217
10	2	80	80	0.8249
1	2	80	100	0.7147
5	2	80	100	0.8482
10	2	80	100	0.8944

;

```
proc glm data=sugar;
```

```
class time temp amp;
```

```
model carbo=time|temp|amp;
```

```
means time|temp|amp/tukey alpha=0.05;
```

```
run;
```

```
quit;
```

ผลที่ได้จากการวิเคราะห์

The GLM Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
time	3	1 5 10
temp	2	25 80
amp	5	20 40 60 80 100

Number of observations 60

The GLM Procedure
Dependent Variable: carbo

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	29	0.38566391	0.01329876	8.33	<.0001
Error	30	0.04791942	0.00159731		
Corrected Total	59	0.43358333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	carbo Mean
0.889480	5.891652	0.039966	0.678357

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
time	2	0.18276159	0.09138080	57.21	<.0001
temp	1	0.03546829	0.03546829	22.20	<.0001
time*temp	2	0.00764479	0.00382239	2.39	0.1086
amp	4	0.13927979	0.03481995	21.80	<.0001
time*amp	8	0.01598571	0.00199821	1.25	0.3052
temp*amp	4	0.00197077	0.00049269	0.31	0.8700
time*temp*amp	8	0.00255297	0.00031912	0.20	0.9887

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
time	2	0.18276159	0.09138080	57.21	<.0001
temp	1	0.03546829	0.03546829	22.20	<.0001
time*temp	2	0.00764479	0.00382239	2.39	0.1086
amp	4	0.13927979	0.03481995	21.80	<.0001
time*amp	8	0.01598571	0.00199821	1.25	0.3052
temp*amp	4	0.00197077	0.00049269	0.31	0.8700
time*temp*amp	8	0.00255297	0.00031912	0.20	0.9887

การเผยแพร่ผลงานวิจัย

ชุตติมา วันเพ็ญ, บุษราภรณ์ งามปัญญา, สุวัฒนา พุกกะศรี, พิมพ์ชนก จตุรพิริย์ และ ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ.
(2556) ผลของการพรีทรีทเมนต์ด้วยอัลตราซาวด์ต่อการสกัดอินนูลินจากหัวแก่นตะวัน. วารสารวิจัยและ
พัฒนา มจร. ปีที่ 36 ฉบับที่ 2 (เมษายน-มิถุนายน) หน้า 249 - 258.

Chutima Wanpen and Pramote Khuwijitjaru (2012). Effect of ultrasonic pretreatment on hot
water extraction of Jerusalem artichoke. Food Innovation Asia Conference 2012, 14-15 June
2012 BITEC, Bangkok, Thailand (Poster)

ประวัติผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย นายปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ (Pramote Khuwijitjaru)
ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม
โทรศัพท์ 034-219361 โทรสาร 034-272194 e-mail:
khuwijitjaru_p@su.ac.th

ประวัติการศึกษา

- ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีที่จบ 2539
- ปริญญาโท Master of Agricultural Science, Kyoto University ประเทศญี่ปุ่น
ปีที่จบ 2544
- ปริญญาเอก Doctor of Agricultural Science, Kyoto University ประเทศญี่ปุ่น
ปีที่จบ 2547

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1. Klinchongkon, K.; Chanthong, N.; Ruchain, K.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Effect of ethanol addition on subcritical water extraction of pectic polysaccharides from passion fruit peel. Journal of Food Processing and Preservation (in press).
2. Khuwijitjaru, P.; Koomyart, I.; Kobayashi, T.; Adachi, S., Hydrolysis of konjac flour under subcritical water conditions. Chiang Mai Journal of Science (in press).
3. Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Adachi, S., Degradation kinetics of trisaccharides comprising glucose residues in subcritical water. Journal of Carbohydrate Chemistry (in press).
4. Wiboonsirikul, J.; Watanabe, Y.; Omori, A.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Antioxidative properties of stearyl ascorbate in a food matrix system. Journal of Oleo Science 2016, 65, 487-492
5. Watanabe, Y.; Khuwijitjaru, P.; Hamai, Y.; Wiboonsirikul, J.; Adachi, S., Antioxidative property of acyl ascorbate in cookies containing iron. Japan Journal of Food Engineering 2016, 17, 77 - 81.
6. Tamiya, S.; Koomyart, I.; Kobayashi, T.; Shiga, H.; Yoshii, H.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Preparation of liquid and solid seasonings with shrimp-like flavor from Isada krill under subcritical water conditions by steam injection. Food Science and Technology Research 2016, 22, 317-323.
7. Soisangwan, N.; Gao, D.-M.; Kobayashi, T.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Kinetic analysis for the isomerization of cellobiose to cellobiulose in subcritical aqueous ethanol. Carbohydrate Research 2016, 433, 67-72.
8. Soisangwan, N.; Gao, D.-M.; Kobayashi, T.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Production of lactulose from lactose in subcritical aqueous ethanol. Journal of Food Process Engineering 2016, DOI: 10.1111/jfpe.12413.
9. Rungpichayapichet, P.; Mahayothee, B.; Nagle, M.; Khuwijitjaru, P.; Müller, J., Robust NIRS models for non-destructive prediction of fruit ripeness and quality in mango. Postharvest Biology and Technology 2016, 111, 31-40.

10. Mahayothee, B.; Koomyart, I.; Khuwijitjaru, P.; Siriwongwilaichat, P.; Nagle, M.; Müller, J., Phenolic compounds, antioxidant activity, and medium chain fatty acids profiles of coconut water and meat at different maturity stages. *International Journal of Food Properties* 2016, 19, 2041-2051.
11. Koomyart, I.; Nagamizu, H.; Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Shiga, H.; Yoshii, H.; Adachi, S., Using severity factor as a parameter to optimize krill treatment under subcritical water conditions. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 2016, DOI:10.1080/09168451.2016.1204220.
12. Koomyart, I.; Nagamizu, H.; Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Shiga, H.; Yoshii, H.; Adachi, S., Direct treatment of Isada krill under subcritical water conditions to produce seasoning with shrimp-like flavor. *Food Technology and Biotechnology* 2016, DOI: 10.17113/ftb.54.03.16.4271.
13. Khuwijitjaru, P., Utilization of plant-based agricultural waste by subcritical water treatment *Japan Journal of Food Engineering* 2016, 17, 33-39.
14. Wiboonsirikul, J.; Nakata, Y.; Kobayashi, T.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Degradation of disaccharides containing two glucose units in subcritical water. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering* 2015, 10, 681-686.
15. Rungpichayapichet, P.; Mahayothee, B.; Khuwijitjaru, P.; Nagle, M.; Müller, J., Non-destructive determination of β - carotene content in mango by NIR spectroscopy compared with colorimetric measurements. *Journal of Food Composition and Analysis* 2015, 38, 32-41.
16. Koomyart, I.; Nagamizu, H.; Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Shiga, H.; Yoshii, H.; Adachi, S., Compositions, flavour and antiradical properties of products from subcritical water treatment of raw Isada krill. *International Journal of Food Science and Technology* 2015, 50, 1632-1639.
17. Klinchongkon, K.; Khuwijitjaru, P.; Wiboonsirikul, J.; Adachi, S., Extraction of oligosaccharides from passion fruit peel by subcritical water treatment. *Journal of Food Process Engineering* 2015, doi:10.1111/jfpe.12269.
18. Koomyart, I.; Nagamizu, H.; Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Shiga, H.; Yoshii, H.; Adachi, S., Subcritical water treatment for producing seasoning from semidried Isada krill. *Journal of Food Process Engineering* 2014, 37, 567-574.
19. Khuwijitjaru, P.; Suaylam, B.; Adachi, S., Degradation of caffeic acid in subcritical water and on-line HPLC-DPPH assay of degradation products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2014, 62, 1945-1949.
20. Khuwijitjaru, P.; Pokpong, A.; Klinchongkon, K.; Adachi, S., Production of oligosaccharides from coconut meal by subcritical water treatment. *International Journal of Food Science and Technology* 2014, 49, 1946-1952.
21. Khuwijitjaru, P.; Plernjit, J.; Suaylam, B.; Samuhaseneetoo, S.; Pongsawatmanit, R.; Adachi, S., Stability of some phenolic compounds in subcritical water and radical scavenging activity of their degradation products. *Can. J. Chem. Eng.* 2014, 92, 810-815.
22. Wiboonsirikul, J.; Mori, M.; Khuwijitjaru, P.; Adachi, S., Properties of extract from okara by its subcritical water treatment. *International Journal of Food Properties* 2013, 16, 974-982.
23. Wanpen, C.; Ngampanya, B.; Pruksasri, S.; Jaturapiree, P.; Khuwijitjaru, P., The effect of ultrasonic pretreatment on inulin extraction from Jerusalem artichoke tuber. *KMUTT Research and Development Journal* 2013, 36, 261-270.
24. Murayama, Y.; Wiboonsirikul, J.; Khuwijitjaru, P.; Kobayashi, T.; Adachi, S., Antioxidant characteristics of extracts from cereal residues by their subcritical water treatment. *Journal of Oleo Science* 2012, 61, 465-468.

25. Khuwijitjaru, P.; Watsanit, K.; Adachi, S., Carbohydrate content and composition of product from subcritical water treatment of coconut meal. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 2012, 18, 225-229.
26. Khuwijitjaru, P.; Sayputikasikorn, N.; Samuhasaneetoo, S.; Penroj, P.; Siri Wongwilaichat, P.; Adachi, S., Subcritical water extraction of flavoring and phenolic compounds from cinnamon bark (*Cinnamomum zeylanicum*). *Journal of Oleo Science* 2012, 61, 349-355.
27. Leelayuwapan, H.; Hiangratch, K.; Liangpaiboon, T.; Khuwijitjaru, P.; Boonyarattanakalin, S. In Identification of Products Obtained from Subcritical Water Hydrolysis of Coconut Meal, PACCON2011, Thailand, 2011; Thailand, 2011; pp 124-127.
28. Khuwijitjaru, P.; Yuenyong, T.; Pongsawatmanit, R.; Adachi, S., Effects of ferric chloride on thermal degradation of γ -oryzanol and oxidation of rice bran oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* 2011, 113, 652-657.
29. Khuwijitjaru, P.; Anantanasuwong, P.; Adachi, S., Emulsifying and foaming properties of defatted soy meal extracts obtained by subcritical water treatment. *International Journal of Food Properties* 2011, 14, 9-16.
30. Khuwijitjaru, P.; Suthasirisup, T., Properties of breader prepared from rice flour. *KKU Research Journal* 2010, 15, 965-972.
31. Khuwijitjaru, P.; Yuenyong, T.; Pongsawatmanit, R.; Adachi, S., Degradation kinetics of gamma-oryzanol in antioxidant-stripped rice bran oil during thermal oxidation. *Journal of Oleo Science* 2009, 58, 491-497.
32. Khuwijitjaru, P.; Wanpen, C.; Mala, T.; Ariyakriangkrai, M.; Adachi, S., Effect of subcritical water pretreatment on enzymatic digestibility of rice straw, corn stover and sugar cane bagasse. *KKU Research Journal* 2009, 14, 1084-1090 (in Thai).
33. Khuwijitjaru, P.; Chaloodong, K.; Adachi, S., Phenolic content and radical scavenging capacity of kaffir lime fruit peel extract obtained by pressurized hot water extraction. *Food Science and Technology Research* 2008, 14, 1-4.
34. Wiboonsirikul, J.; Khuwijitjaru, P.; Kimura, Y.; Morita, H.; Tsuno, T.; Adachi, S., Production optimization of the extract with high phenolic content and radical scavenging activity from defatted rice bran by subcritical water treatment. *Japan Journal of Food Engineering* 2007, 8, 311-315.
35. Khuwijitjaru, P.; Nualchan, P.; Adachi, S., Foaming and emulsifying properties of rice bran extracts obtained by subcritical water treatment. *Silpakorn University Science and Technology Journal* 2007, 1, 7-12.
36. Fujii, T.; Khuwijitjaru, P.; Kimura, Y.; Adachi, S., Decomposition kinetics of monoacyl glycerol and fatty acid in subcritical water under temperature-programmed heating conditions. *Food Chemistry* 2006, 94, 341-347.
37. Khuwijitjaru, P.; Taengtieng, N.; Changprasit, S., Degradation of gamma-oryzanol in rice bran oil during heating: An analysis using derivative UV-spectrophotometry. *Silpakorn University International Journal* 2004, 4, 154-165.
38. Khuwijitjaru, P.; Kimura, Y.; Matsuno, R.; Adachi, S., Solubility of oleic and linoleic acids in subcritical water. *Food Science and Technology Research* 2004, 10, 261-263.
39. Khuwijitjaru, P.; Kimura, Y.; Matsuno, R.; Adachi, S., Preparation of finely dispersed O/W emulsion from fatty acid solubilized in subcritical water. *Journal of Colloid and Interface Science* 2004, 278, 192-197.

40. Khuwijitjaru, P.; Fujii, T.; Adachi, S.; Kimura, Y.; Matsuno, R., Kinetics on the hydrolysis of fatty acid esters in subcritical water. *Chemical Engineering Journal* 2004, 99, 1-4.
41. Khuwijitjaru, P. Solubility of fatty acids and hydrolysis of their esters in subcritical water. Dissertation, Kyoto University, Kyoto, 2004.
42. Khuwijitjaru, P.; Adachi, S.; Matsuno, R., Solubility of saturated fatty acids in water at elevated temperatures. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 2002, 66, 1723-1726.