



วิทยานิพนธ์

การสกัดสารออกฤทธิ์จากฟ้าทะลายโจรโดยใช้กระบวนการ Gas Anti-Solvent
Extraction of Active Ingredients in Andrographis Paniculatanees using
Gas Anti-Solvent (GAS) Process

นายวุฒิชัย ตรีชัยสินันท์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2549



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมเคมี)
ปริญญา

วิศวกรรมเคมี สาขา วิศวกรรมเคมี ภาควิชา

เรื่อง การสกัดสารออกฤทธิ์จากฟ้าทะลายโจรโดยใช้กระบวนการ Gas Anti-Solvent

Extraction of Active Ingredients in Andrographis Paniculatanees using
Gas Anti-Solvent (GAS) Process

นามผู้วิจัย นายวุฒิชัย ตรีศิลานันท์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์มานพ เจริญไชยตระกูล, Ph. D.)
กรรมการ (รองศาสตราจารย์ไพศาล กองกาญจนาย, Ph. D.)
กรรมการ (อาจารย์ณัฏฐมล วงศ์ธนาสุนทร, D. Eng.)
หัวหน้าภาควิชา (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธำรงรัตน์ มุ่งเจริญ, Ph. D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อากงหาญ, M.A.)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 6 เดือน มีนาคม พ.ศ. 2549

วุฒิชัย ตรีศิลานันท์ 2549: การสกัดสารออกฤทธิ์จากฟ้าทะลายโจรโดยใช้กระบวนการ
Gas Anti-Solvent ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมเคมี) สาขาวิชา
วิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี ประธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์
มานพ เจริญไชยตระกูล, Ph.D. 133 หน้า
ISBN 974-16-1135-8

ปัจจุบันนี้กระบวนการ Gas Anti-Solvent (GAS) ซึ่งเป็นกระบวนการที่ใช้ของไหลที่
สถานะใกล้จุดวิกฤตเป็น anti-solvent เพื่อทำให้เกิดการตกตะกอนของสารที่ต้องการออกจาก
สารละลาย กำลังได้รับความสนใจ และมีการศึกษาอย่างกว้างขวาง เนื่องจากกระบวนการนี้ใช้
อุณหภูมิในการตกตะกอนที่ไม่สูงมากนัก ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่เกิดการเสื่อมสภาพ ด้วยความ
ร้อน นอกจากนี้ตัวทำละลายที่เหลือตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ยังมีปริมาณน้อยทำให้สามารถนำ
กระบวนการนี้กับผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริโภคได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำ
เทคนิคดังกล่าวมาใช้กับสาร Andrographolide ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญในฟ้าทะลายโจร โดย
โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะใกล้จุดวิกฤตเป็น anti-solvent และได้ศึกษาอิทธิพลของ
ตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดและลักษณะอนุภาคของสาร Andrographolide ได้แก่
อุณหภูมิ (35-45 °C) อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ (5-15 ml/min) และชนิดของตัวทำ
ละลาย ซึ่งได้แก่ เมทานอล เอทานอล อะซิโตน และไดเมทิลฟอร์มาไมด์ จากการศึกษาพบว่า
สาร Andrographolide ที่สกัดได้สูงสุดซึ่งถูกวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High Performance Liquid
Chromatography (HPLC) คือ 1.24 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมฟ้าทะลายโจร เมื่อใช้อุณหภูมิ 35 °C
และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 5 ml/min โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์
นอกจากนี้ยังพบว่าขนาดและรูปร่างของสาร Andrographolide ที่ตกตะกอนได้ไม่มีการ
เปลี่ยนแปลงมากนัก เมื่อทำการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิการสกัด อัตราการไหลของ
คาร์บอนไดออกไซด์ และชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์

วุฒิชัย ตรีศิลานันท์
1
ลายมือชื่อนิติ

มานพ เจริญไชยตระกูล
ลายมือชื่อประธานกรรมการ

28 / 2 / 2549

Wuttichai Trisilanun 2006: Extraction of Active Ingredients in *Andrographis Paniculatanees* using Gas Anti-Solvent (GAS) Process. Master of Engineering (Chemical Engineering), Major Field: Chemical Engineering, Department of Chemical Engineering. Thesis Advisor: Assistant Professor Manop Charoenchaitrakool, Ph.D.
133 pages.
ISBN 974-16-1135-8

Recently, dense gases have been utilized as anti-solvents for particle formation applications. This well known technique is called Gas Anti-Solvent (GAS) process. The major advantages of dense gas anti-solvent processing are the ability to produce micron-sized particles at mild operating temperature, the obtained products containing low solvent residue, and no need for additional solvent removal steps. Thus, this technique is suitable for food and pharmaceutical processing. In this research, the GAS technique was employed to extract Andrographolide, which is the active ingredient found in *Andrographis Paniculatanees*, using carbon dioxide as an anti-solvent. The effects of temperature, flow rate and solvent type on the extraction yield, particle size and morphology were investigated in this study. The experiments were conducted at the temperature ranging from 35-45°C, carbon dioxide flow rate of 5-15 ml/min, and various types of organic solvents (methanol, ethanol, acetone and N, N-dimethylformamide). The extracted product was analyzed using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The highest extraction yield was found to be 1.24 mg Andrographolide per 100 g of *Andrographis Paniculatanees* when using acetone as a solvent, carbon dioxide flow rate of 5 ml/min and the operating temperature of 35°C. It was also found that no significant change in size or morphology of the precipitates was observed when changing temperature, carbon dioxide flow rate and organic solvents.

Wuttichai Trisilanun
Student's signature

Manop Charoenchaitrakool
Thesis Advisor's signature

28 / 2 / 2006

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ. ดร. มานพ เจริญไชยตระกูล ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนการให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ขอกราบขอบพระคุณ รศ. ดร. ไพศาล คงกาญจนาย กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก อ. ดร. นฤมล วงศ์ธนาสุนทร กรรมการที่ปรึกษาวิชาการ และ อ. ดร. เพียงใจ พานิชกุล อาจารย์ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่สละเวลาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และกรุณาให้คำปรึกษาแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย และโครงการพัฒนาบัณฑิตและวิจัยด้านวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนและส่งเสริมการทำวิทยานิพนธ์ รวมทั้งภาควิชาวิศวกรรมเคมีที่ให้การสนับสนุนการศึกษาสำหรับข้าพเจ้า

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ปฏิบัติการ และเจ้าหน้าที่ธุรการของภาควิชาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ทุกท่านที่ช่วยในการติดต่อประสานงานต่าง ๆ จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวที่เป็นกำลังใจ พร้อมทั้งสนับสนุนในทุกด้านจนประสบความสำเร็จในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ และขอขอบคุณ พี่ๆ และเพื่อน ๆ ที่รักทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือ ชี้แนะ สนับสนุนและให้กำลังใจเสมอมา

วุฒิชัย ตระยศิริลำนันท์

มีนาคม 2549

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(3)
สารบัญภาพ	(4)
คำอธิบายอักษรย่อ	(17)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์และขอบเขตวิจัย	3
วัตถุประสงค์	3
ขอบเขตวิจัย	3
การตรวจเอกสาร	4
Dense gas processes	4
การสกัดสารโดยใช้ของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤต	15
อิทธิพลของตัวแปรต่างๆ ที่มีต่อการสกัดสารโดยใช้ของไหลที่	
สภาวะใกล้จุดวิกฤต	19
ฟ้าทะลายโจร	24
ข้อมูลทั่วไปของ Andrographolide	28
อุปกรณ์และวิธีการ	29
อุปกรณ์และสารเคมี	29
เครื่องมือวิเคราะห์	29
วิธีการ	29
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	33
การศึกษาเวลาที่ใช้ในการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนแท่งแม่เหล็ก	33
อิทธิพลของสภาวะต่างๆ ที่ใช้ในการสกัดสาร Andrographolide	
ด้วยเทคนิค GAS ต่อปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้	35
อิทธิพลของสภาวะต่างๆ ที่มีต่อลักษณะของอนุภาค	49
สรุปผลการทดลอง	57
ข้อเสนอแนะ	58
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	59

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณสมบัติทางกายภาพของก๊าซ ของเหลว และของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต (SCFs)	6
2	ตัวอย่างและคุณสมบัติของของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤต	7
3	ตัวแปรที่มีอิทธิพลต่อการสกัดสาร	19
4	องค์ประกอบทางเคมีพื้นฐานที่พบในฟ้าทะลายโจรหนัก 100 กรัม	26
5	การสกัดสาร Andrographolide ที่ได้ด้วยการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย	34
6	ปริมาณการสกัดสาร Andrographolide ด้วยการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยใช้เครื่องกวนแท่งแม่เหล็กเป็นเวลา 2 ชั่วโมง	35
ตารางผนวกที่		
ก1	สารที่สามารถลดขนาดได้โดยเทคนิค GAS	66
ข1	ข้อมูลปริมาณสาร Andrographolide	117
ฎ1	ความสามารถในการละลายของตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ	129
ฎ2	ความเป็นขั้ว (Polarity) ของตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ	129

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แผนภาพแสดงการเปลี่ยนแปลงความดันและอุณหภูมิของสารบริสุทธิ์	5
2	แผนภาพแสดงการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ใกล้ เคียงจุดวิกฤต	7
3	แผนภาพแสดงกระบวนการที่ใช้ของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤต	15
4	ฟ้าทะลายโจร	25
5	สูตรโครงสร้างของ Andrographolide	28
6	แผนภาพอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองด้วยเทคนิค GAS	31
7	ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักสาร Andrographolide สะสม (กรัม) ต่อ 100 กรัมฟ้าทะลายโจร กับเวลาที่ใช้ในการสกัด	34
8	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide กับ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 35 °C	37
9	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide กับ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 40 °C	37
10	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide กับ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 45 °C	38
11	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของฟ้าทะลายโจรกับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 35 °C	39
12	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของฟ้าทะลายโจรกับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 40 °C	39
13	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของฟ้าทะลายโจรกับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 45 °C	40

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
14	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide กับอุณหภูมิ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 5 ml/min	41
15	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide กับอุณหภูมิ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 10 ml/min	42
16	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide กับอุณหภูมิ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 15 ml/min	42
17	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของฟ้าทะลายโจรกับอุณหภูมิโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 5 ml/min	43
18	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของฟ้าทะลายโจรกับอุณหภูมิโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 10 ml/min	44
19	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของฟ้าทะลายโจรกับอุณหภูมิโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 15 ml/min	44
20	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide กับ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 35 °C	46
21	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide กับ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 40 °C	46
22	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide กับ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 45 °C	47

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
23	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของฟ้าทะลายโจรกับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 35 °C	48
24	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของฟ้าทะลายโจรกับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 40 °C	48
25	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของฟ้าทะลายโจรกับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 45 °C	49
26	ภาพแสดงขนาดอนุภาค (SEM micrographs) กำลังขยาย 400 เท่าของสาร Andrographolide บริสุทธิ์	50
27	ภาพแสดงขนาดอนุภาค (SEM micrographs) กำลังขยาย 400 เท่าของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS อุณหภูมิ 35 °C ใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ที่อัตราการไหลของ CO ₂ ต่างๆ ดังนี้ ก) 5 ml/min ข) 10 ml/min ค) 15 ml/min	51
28	ภาพแสดงขนาดอนุภาค (SEM micrographs) กำลังขยาย 400 เท่าของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS ที่อัตราการไหลของ CO ₂ 15 ml/min โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ และใช้อุณหภูมิต่างๆ ดังนี้ ก) 35 °C ข) 40 °C ค) 45 °C	52
29	ภาพแสดงขนาดอนุภาค (SEM micrographs) กำลังขยาย 800 เท่าของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS ที่อุณหภูมิ 35 °C อัตราการไหลของ CO ₂ 15 ml/min ในตัวทำละลายชนิดต่างๆ ดังนี้ ก) อะซีโตน ข) เอทานอล ค) เมทานอล	53
30	เวลาที่ใช้ในการอบสารละลายของฟ้าทะลายโจรปริมาณ 4 มิลลิกรัม โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45 °C	54
31	เวลาที่ใช้ในการอบสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS ที่อุณหภูมิ 45 °C	55

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
32	ลักษณะกราฟที่ได้ และพื้นที่ใต้กราฟของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS (เส้นสีน้ำเงิน) เปรียบเทียบกับสารที่สกัดได้จากการอบสารละลายของฟ้าทะลายโจรให้แห้งโดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย (เส้นสีแดง)	56
ภาพผนวกที่		
ข1	กราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสาร Andrographolide กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 545 นาโนเมตร	71
ง1	โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 1 (2 ชั่วโมงแรก) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 1)	77
ง2	โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 1 (2 ชั่วโมงแรก) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 2)	77
ง3	โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 1 (2 ชั่วโมงแรก) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 3)	78
ง4	โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 2 (ชั่วโมงที่ 4) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 1)	78
ง5	โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 2 (ชั่วโมงที่ 4) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 2)	79
ง6	โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 2 (ชั่วโมงที่ 4) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 3)	79

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
จ1 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 1)	86
จ2 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 2)	86
จ3 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 3)	87
จ4 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 4)	87
จ5 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 1)	88
จ6 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 2)	88
จ7 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 3)	89
จ8 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 1)	89
จ9 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 2)	90
จ10 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 3)	90
จ11 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์เป็นตัวทำละลาย	91

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
น1 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1 ml/min (ครั้งที่ 1)	93
น2 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1 ml/min (ครั้งที่ 2)	93
น3 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 3 ml/min (ครั้งที่ 1)	94
น4 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 3 ml/min (ครั้งที่ 2)	94
น5 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 25°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min	95
น6 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min	95
น7 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min	96
น8 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min	96
น9 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min	97

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
น10 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min	97
น11 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min	98
น12 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min	98
น13 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min	99
น14 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min	99
น15 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1 ml/min (ครั้งที่ 1)	100
น16 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1 ml/min (ครั้งที่ 2)	100
น17 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 3 ml/min (ครั้งที่ 1)	101
น18 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 3 ml/min (ครั้งที่ 2)	101

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
น19 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 25°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min	102
น20 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min	102
น21 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min	103
น22 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min	103
น23 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min	104
น24 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min	104
น25 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min	105
น26 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min	105
น27 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min	106

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
น28 โคโรมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min	106
น29 โคโรมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1 ml/min (ครั้งที่ 1)	107
น30 โคโรมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1 ml/min (ครั้งที่ 2)	107
น31 โคโรมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 3 ml/min	108
น32 โคโรมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 25 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min	108
น33 โคโรมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min	109
น34 โคโรมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min	109
น35 โคโรมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min	110
น36 โคโรมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min	110

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
น37 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min	111
น38 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min	111
น39 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min	112
น40 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min	112
น41 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min	113
น42 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์เป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1 ml/min	113
น43 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์เป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 3 ml/min	114
น44 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์เป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min	114

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
ฉ45 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์เป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ เท่ากับ 10 ml/min	115
ฉ46 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์เป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ เท่ากับ 15 ml/min	115
ซ1 ภาพแสดงขนาดอนุภาค (SEM micrographs) กำลังขยาย 800 เท่าของสารที่ สกัดได้จากเทคนิค GAS โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของ CO₂ ต่างๆ ดังนี้ ก) 5 ml/min ข) 10 ml/min ค) 15 ml/min	120
ซ2 ภาพแสดงขนาดอนุภาค (SEM micrographs) กำลังขยาย 800 เท่าของสารที่ สกัดได้จากเทคนิค GAS โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ที่อัตราการไหลของ CO₂ 15 ml/min และอุณหภูมิต่างๆ ดังนี้ ก) 35 °C ข) 40 °C ค) 45 °C	121
ซ3 ภาพแสดงขนาดอนุภาค (SEM micrographs) กำลังขยาย 400 เท่าของสารที่ สกัดได้จากเทคนิค GAS ที่อุณหภูมิ 35 °C อัตราการไหลของ CO₂ 15 ml/min ในตัวทำละลายชนิดต่างๆ ดังนี้ ก) อะซีโตน ข) เอทานอล ค) เมทานอล	122
ฉ1 จุดหลอมเหลวและพลังงานความร้อนในการหลอมเหลวของ Andrographolide บริสุทธิ์	124
ฉ2 จุดหลอมเหลวและพลังงานความร้อนในการหลอมเหลวของสารที่สกัดได้ จากเทคนิค GAS โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลเท่ากับ 5 ml/min	124
ฉ3 จุดหลอมเหลวและพลังงานความร้อนในการหลอมเหลวของสารที่สกัดได้ จากเทคนิค GAS โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลเท่ากับ 5 ml/min	125

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
ณ4 จุดหลอมเหลวและพลังงานความร้อนในการหลอมเหลวของสารที่สกัดได้ จากเทคนิค GAS โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลเท่ากับ 5 ml/min	125
ญ1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความดัน กับ อุณหภูมิของคาร์บอนไดออกไซด์	127
ญ2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่น กับ อุณหภูมิของ คาร์บอนไดออกไซด์	127
ฎ1 สมดุลวัฏภาคระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์กับเมทานอลที่ 313.14 K	131
ฎ2 สมดุลวัฏภาคระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์กับเอทานอลที่ 313.14 K	131
ฎ3 สมดุลวัฏภาคระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์กับอะซีโตนที่ 313.13 K	132
ฎ4 สมดุลวัฏภาคระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์กับไดเมทิลฟอร์มาไมด์ที่ 318.2 K	132

คำอธิบายอักษรย่อ

ASES	=	Aerosol Solvent Extraction System
DMF	=	Dimethylformamide
DSC	=	Differential Scanning Calorimetry
EtOH	=	Ethanol
g	=	gram
GAS	=	Gas Anti Solvent
MeOH	=	Methanol
min	=	Minute
ml	=	Milliliter
P	=	Pressure
P_c	=	Critical Pressure
P_r	=	Reduced Pressure
RESS	=	Rapid Expansion of Supercritical Solution
SCFs	=	Supercritical fluids
SEM	=	Scanning Electron Microscopy
T_c	=	Critical Temperature
T_r	=	Reduced Temperature

การสกัดสารออกฤทธิ์จากฟ้าทะลายโจรโดยใช้กระบวนการ Gas Anti-Solvent

Extraction of Active Ingredients in *Andrographis paniculata* using Gas Anti-Solvent (GAS) Process

คำนำ

ปัจจุบันนี้การควบคุมสารตกค้างในผลิตภัณฑ์ต่างๆมีความเข้มงวดมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์อาหารและยาที่ผู้บริโภคต้องรับประทานเข้าไป ดังนั้นการสกัดสารที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์เหล่านี้จึงต้องมีการทำให้มีความบริสุทธิ์มากพอ เนื่องจากการสกัดสารโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์มักจะมีตัวทำละลายอินทรีย์เหลือตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคจึงต้องมีการเพิ่มกระบวนการทำให้ผลิตภัณฑ์มีความบริสุทธิ์ขึ้น ซึ่งการเพิ่มกระบวนการทำให้สารบริสุทธิ์นี้เป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิตให้กับผู้ผลิตมากยิ่งขึ้น ดังนั้นจึงมีการศึกษาการสกัดสารด้วยวิธีใหม่ที่ไม่ต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ หรือใช้น้อยลงเพื่อที่จะไม่ต้องเพิ่มกระบวนการทำให้ผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์ จึงมีการใช้ของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตมาใช้งานด้านการสกัดสาร (Supercritical Fluid; SCF) แต่การสกัดสารด้วยวิธีนี้มีข้อจำกัด คือ สารที่ต้องการสกัดต้องสามารถละลายกับของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตได้ แต่ในกรณีที่สารที่ต้องการสกัดไม่สามารถละลายกับของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตได้สามารถใช้การสกัดด้วยการใช้ของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤตเพื่อทำให้สารที่ต้องการตกผลึกออกมาจากสารละลาย เรียกว่าของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤตนี้ว่า Anti-Solvent และเรียกเทคนิคนี้ว่า Gas Anti-Solvent (GAS)

เนื่องจากการสกัดสารด้วยการใช้สารละลายอินทรีย์เป็นตัวทำละลายมีข้อจำกัดในเรื่องของการตกค้างของตัวทำละลายอินทรีย์ในสารผลิตภัณฑ์ ซึ่งทำให้สารที่ต้องการสกัดไม่บริสุทธิ์เพียงพอ และบางครั้งการสกัดสารด้วยวิธีเหล่านี้อาจจะต้องใช้สถานะในการดำเนินการที่อุณหภูมิสูง อาจทำให้สารที่เราต้องการสกัดออกมานั้นเกิดการเสียสภาพจนไม่สามารถนำมาใช้งานได้ นอกจากนี้ตัวทำละลายบางชนิดที่ใช้ในการสกัดสารอาจมีความเป็นพิษ เมื่อมีการตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ก็อาจทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ จะเห็นได้ว่าการสกัดสารด้วยตัวทำละลายอินทรีย์มีข้อเสียมาก ประกอบกับการสกัดสารด้วยของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤตมีสมบัติที่เหมาะสมในการที่จะนำมาใช้สกัดสาร เพื่อแทนที่การสกัดสารด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ได้ในอนาคต จึงทำให้การสกัดสารด้วย

ของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตมีความน่าสนใจ โดยเฉพาะการสกัดสารที่ใช้สำหรับบริโภคทั้งที่เป็น ยารักษาโรค และอาหาร ซึ่งการสกัดสารด้วยของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตสามารถลดข้อจำกัดของการสกัดสารด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ได้ เช่นการใช้อุณหภูมิในกระบวนการที่ไม่สูงเกินไป ทำให้สามารถใช้สำหรับสกัดสารที่อาจเสื่อมสภาพได้ด้วยความร้อน ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการนำเทคนิค GAS มาใช้ในการสกัดสารต่างๆ อย่างแพร่หลาย ยกตัวอย่างเช่น การสกัดสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในพืช หรือสมุนไพร เป็นต้น

ในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์สำคัญในฟ้าทะลายโจรด้วยเทคนิค GAS โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตเป็น Anti-solvent เนื่องจากฟ้าทะลายโจรเป็นสมุนไพรที่มีสารออกฤทธิ์ในการเป็นยารักษาโรคอยู่หลายชนิดด้วยกัน สารสำคัญที่พบอยู่ภายในลำต้น ใบ และก้านของฟ้าทะลายโจร ได้แก่ แอนโดรกราโฟไลด์ (Andrographolide) คือออกซีแอนโดรกราโฟไลด์ (Deoxyandrographolide) และนีโอแอนโดรกราโฟไลด์ (Neoandrographolide) เป็นต้น ซึ่ง Andrographolide เป็นสารออกฤทธิ์ที่พบมากที่สุดใ้ในฟ้าทะลายโจร และเป็นสารที่ไม่สามารถละลายได้ในคาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะใกล้จุดวิกฤต ดังนั้นกระบวนการ GAS จึงเหมาะสำหรับการสกัดสาร Andrographolide จากฟ้าทะลายโจร นอกจากนี้ยังทำการศึกษาถึงอิทธิพลของตัวแปรต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ และชนิดของตัวทำละลาย ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide และลักษณะอนุภาคของสารที่สกัดได้

วัตถุประสงค์และขอบเขตวิจัย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาถึงอิทธิพลของตัวแปรต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ และชนิดของตัวทำละลาย สำหรับการสกัดสารจากฟ้าทะลายโจรโดยมุ่งศึกษาการสกัดสาร Andrographolide ด้วยเทคนิค Gas Anti-Solvent (GAS)
2. เพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติของสารที่สกัดได้ (ขนาด และรูปร่างของอนุภาค) ด้วยเทคนิค GAS

ขอบเขตวิจัย

ศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสกัด (% recovery) สาร Andrographolide จากฟ้าทะลายโจร โดยปัจจัยที่ทำการศึกษา คือ อุณหภูมิ (25 °C - 45 °C) อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ (1-15 ml/min) และชนิดของตัวทำละลาย (เมทานอล เอทานอล อะซีโตน และไดเมทิลฟอร์มาไมด์) รวมทั้งศึกษาขนาดอนุภาคของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตเป็น Anti-Solvent

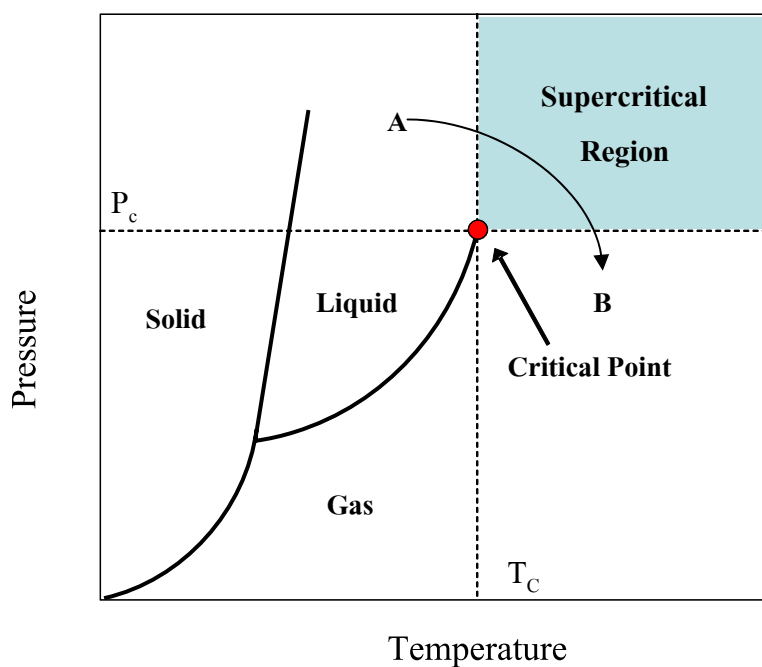
การตรวจเอกสาร

การสกัดสารที่ต้องการความบริสุทธิ์มากพอ โดยเฉพาะการสกัดผลิตภัณฑ์อาหารและยา โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์นั้นมักจะมีตัวทำละลายอินทรีย์เหลือตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค จึงมีการศึกษากระบวนการสกัดด้วยโดยใช้ของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤต (dense gas) เนื่องจากการสกัดด้วยวิธีนี้ไม่ต้องใช้อุณหภูมิที่สูงมากนัก และยังได้ผลิตภัณฑ์ที่มีตัวทำละลายตกค้างน้อยมากด้วย ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์สูง

1. Dense gas processes

Dense gas processes คือ กระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการใช้ของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤต หรือ Dense gas ในระหว่างขั้นตอนของกระบวนการ (Sze Tu *et al.*, 2002) เนื่องจากของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต (supercritical fluids, SCFs) เป็นส่วนหนึ่งของของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤต (dense gas) ดังนั้นจึงจะอธิบายสมบัติของ Dense gas ด้วยของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต

การที่สารบริสุทธิ์สามารถถูกเปลี่ยนให้เป็นของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตได้นั้น อุณหภูมิและความดันของสารต้องมีค่าสูงกว่าจุดวิกฤต (critical point) ซึ่งเป็นจุดสุดท้ายที่ไอ (vapor) กับของเหลว (liquid) สามารถอยู่ร่วมกันได้ ดังแสดงอยู่ในกราฟสมดุลวัฏภาค (phase diagram) ตามภาพที่ 1 พบว่าการแบ่งสถานะของสารบริสุทธิ์นี้จะขึ้นกับความดันและอุณหภูมิ ในแต่ละเส้นจะแสดงถึงสมดุลวัฏภาคของ 2 สถานะ และสำหรับเส้นสมดุลวัฏภาคระหว่างของเหลวและก๊าซ (Vaporization line) จะไปสิ้นสุดที่จุดวิกฤต (critical point) อุณหภูมิที่จุดวิกฤตนี้เรียกว่าอุณหภูมิจุดวิกฤต (critical temperature, T_c) และความดันที่จุดนี้เรียกว่าความดันจุดวิกฤต (critical pressure, P_c) ส่วนบริเวณที่อยู่เหนือจุดวิกฤตขึ้นไปเรียกว่า Supercritical fluid region ซึ่งบริเวณนี้ไม่สามารถแบ่งสถานะของสารได้ เมื่อมีการเปลี่ยนสถานะจากของเหลวมาเป็นก๊าซ โดยที่ไม่ผ่านขอบเขตของการแบ่งวัฏภาค (phase boundary) แสดงได้ตามรูปที่ 1 จาก A ไป B จึงทำให้ไม่เกิดการเปลี่ยนวัฏภาค (phase transition) เกิดขึ้น



ภาพที่ 1 แผนภาพแสดงการเปลี่ยนแปลงความดันและอุณหภูมิของสารบริสุทธิ์

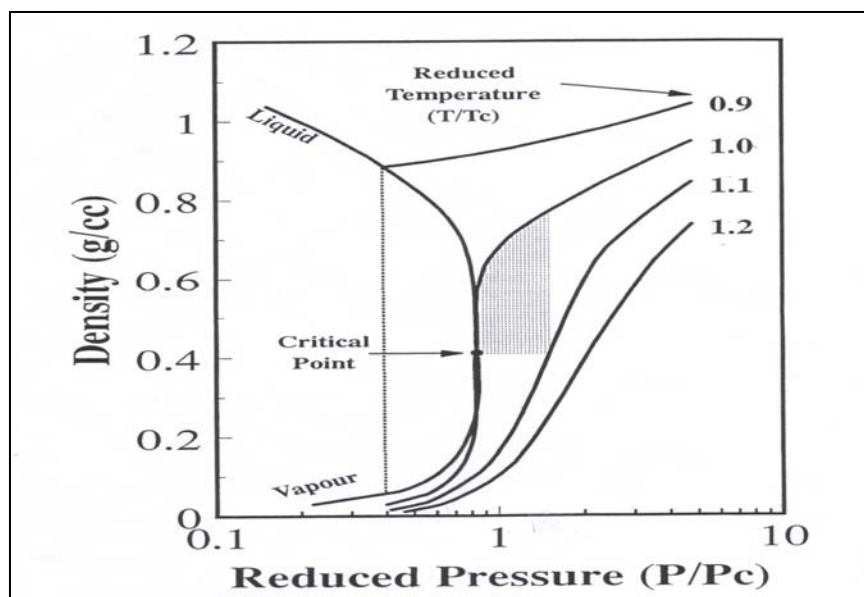
เนื่องจากของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤต (Supercritical Fluid; SCF) ไม่สามารถแยก วัฏภาคได้ว่าเป็นของเหลว หรือก๊าซ ทำให้ของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตนี้มีสมบัติอยู่ระหว่าง ของเหลวและก๊าซ คุณสมบัติที่สำคัญของของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตที่เหมือนกับก๊าซคือ ค่า สัมประสิทธิ์ของการแพร่ (diffusivity) ความหนืด (viscosity) แรงตึงผิวต่ำ และการทนต่อแรงอัดได้ สูง ส่วนคุณสมบัติที่เหมือนกับของเหลวคือ ความหนาแน่น (density) จากคุณสมบัติเหล่านี้จึงเหมาะ ที่จะนำของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตมาประยุกต์ใช้งานได้อย่างหลากหลาย เช่น ใช้ในการสกัด (extraction) ใช้เป็นตัวกลางในการเกิดปฏิกิริยา (reaction medium) และใช้ในการลดขนาดของ อนุภาค (particle formation process) เป็นต้น การเปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพของก๊าซ ของเหลว และของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤต แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางกายภาพของก๊าซ ของเหลว และของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤต (SCFs)

สถานะ	ความหนาแน่น (g/cm ³)	การแพร่ (cm ² /s)	ความหนืด (cP)
ก๊าซ	(0.6-2)x10 ⁻³	0.1-0.4	0.01-0.03
SCFs	0.2-1.0	(2-7)x10 ⁻⁴	0.01-0.09
ของเหลว	0.6-1.6	(0.2-2)x10 ⁻⁵	0.2-3.0

ที่มา: Raynie (1997)

จากตารางที่ 1 พบว่าของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตจะมีความหนาแน่น (density) ใกล้เคียงกับของเหลว ส่วนคุณสมบัติเกี่ยวกับการเคลื่อนที่ (transport property) ของของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตได้แก่ ความหนืด (viscosity) และการแพร่ (diffusivity) จะดีกว่าของเหลว ทำให้เกิดการถ่ายเทมวล (mass transfer) ได้เร็วเหมือนกับก๊าซ ซึ่งของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตนี้จะมีคุณสมบัติที่เปลี่ยนแปลงไปขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและความดัน ดังภาพที่ 2 ที่แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่บริเวณใกล้จุดวิกฤต จากกราฟจะเห็นว่า ความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นกับอุณหภูมิตด (reduced temperature, T_r) และความดันลด (reduced pressure, P_r) ในบริเวณของของไหลเหนือจุดวิกฤตอยู่ที่ประมาณ $1 < T_r < 1.2$ และ $P_r > 1$ ของไหลเหนือจุดวิกฤตจะมีความสามารถในการอัดตัวได้สูง ส่วนในบริเวณใกล้เคียงจุดวิกฤตเมื่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและความดันเพียงเล็กน้อยจะส่งผลทำให้ความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ (ซึ่งเกี่ยวข้องกับค่าความหนาแน่น) มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมาก ตัวอย่างเช่น ที่ $T_r=1.1$ ความดันเพิ่มจาก $P_r < 1$ เป็น $P_r > 1$ มีผลให้ความหนาแน่นเพิ่มจากความหนาแน่นที่คล้ายก๊าซเป็นความหนาแน่นที่คล้ายของเหลวที่อุณหภูมิตด และที่ $P_r=1.5$ ความหนาแน่นจะเพิ่มขึ้นโดยที่อุณหภูมิตดลง ในขณะที่ $P_r > 1.5$ ความหนาแน่นจะมีการเปลี่ยนแปลงน้อยลงเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เนื่องจากความสามารถในการทำละลายของของไหลเหนือจุดวิกฤตจะแปรผันกับความหนาแน่นของของไหลเหนือจุดวิกฤตนั้นๆ ซึ่งลักษณะเช่นนี้จึงเป็นที่น่าสนใจในการนำของไหลเหนือจุดวิกฤตมาใช้ในการกระบวนการแยกสารที่ต้องการ รวมถึงการลดขนาดอนุภาคของตัวถูกละลายในสารละลาย



ภาพที่ 2 แผนภาพแสดงการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ใกล้กับจุดวิกฤต
ที่มา: Denghani (1996)

ของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤตที่ใช้ในอุตสาหกรรมแสดงในตารางที่ 2 พบว่าของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤตที่นิยมใช้กันมากในอุตสาหกรรมได้แก่ น้ำ และคาร์บอนไดออกไซด์ เนื่องจากไม่เป็นปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม ไม่ติดไฟ ไม่เป็นพิษ ไม่กัดกร่อน สามารถหาได้ง่ายและราคาถูก ซึ่งสมบัติของคาร์บอนไดออกไซด์แสดงดังภาพผนวก ๓

ตารางที่ 2 ตัวอย่างและคุณสมบัติของของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤต

สารละลาย	อุณหภูมิวิกฤต (°C)	ความดันวิกฤต (bar)	ความหนาแน่นวิกฤต (g/cm ³)
แอมโมเนีย	133	112.7	0.24
คาร์บอนไดออกไซด์	31	73.8	0.47
คลอโรไตรฟลูออโรมีเทน	29	39.2	0.58
อีเทน	32	48.8	0.20
เอทานอล	243	63.8	0.28
เอทิลีน	9	50.4	0.22
n-เฮกเซน	234	29.7	0.23
มีเทน	-83	46.0	0.16

ตารางที่ 2 (ต่อ)

สารละลาย	อุณหภูมิวิกฤต (°C)	ความดันวิกฤต (bar)	ความหนาแน่นวิกฤต (g/cm ³)
ไนโตรสออกไซด์	36	72.4	0.45
n-เพนเทน	196.6	33.7	0.24
โพรเพน	97	42.4	0.22
โพรพิลีน	92	46.2	0.23
ไตรคลอโรฟลูออโรมีเทน	198	44.1	0.55
น้ำ	374	220.6	0.32

ที่มา: Reid *et al.* (1977)

กระบวนการที่ใช้ของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตสามารถแบ่งออกเป็นเทคนิคต่างๆ ได้ดังนี้

1.1 Aerosol Solvent Extraction System (ASES)

Aerosol Solvent Extraction System (ASES) เป็นเทคนิคที่มีการดกตะกอนอย่างต่อเนื่อง เมื่อพ่นสารละลายผ่านหัวฉีดเข้าสู่ของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตที่ใช้เป็น anti-solvent ความสามารถในการทำละลายจะลดลงเมื่อบางส่วนหรือทั้งหมดของของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตผสมกับตัวทำละลายอินทรีย์ เมื่อปริมาตรขยายตัวถึงค่าวิกฤตแล้วสารละลายจะอิ่มตัว เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตมากขึ้น จะทำให้สารละลายกลายเป็นสารละลายอิ่มตัวยิ่งยวด (supersaturated) ดังนั้นตัวถูกละลายก็จะตกตะกอนออกจากสารละลาย (Sze Tu *et al.*, 2002) ซึ่งวิธีนี้ขนาดของอนุภาคจะขึ้นกับขนาดของหัวฉีด ความดัน อุณหภูมิ ความเข้มข้นของสารละลาย อัตราการเปลี่ยนแปลงความดัน ซึ่งลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ได้ อาจจะเป็นทรงกลม เส้นใย เส้นใยกลวงหรือเป็นแผ่นฟิล์ม เนื่องจากเทคนิค ASES สามารถดกตะกอนอนุภาคให้มีขนาดเล็กในระดับไมโครเมตร โดยขนาดของอนุภาคจะขึ้นอยู่กับสภาวะที่ใช้ในการทดลอง เช่น ขนาดของหัวฉีด ความดัน อุณหภูมิ เป็นต้น จึงได้นำเทคนิคนี้มาใช้ในการลดขนาดอนุภาคพอลิเมอร์ ดังงานวิจัยต่อไปนี้

Engwicht *et al.* (2000) ศึกษาลักษณะของโคพอลิเมอร์ (co-polymer) ระหว่าง lactic และ glycolic acid ด้วยเทคนิค Aerosol Solvent Extraction System พบว่า โคพอลิเมอร์จะเกิดเป็น two- and three- block copolymers และ ความเป็นผลึก (crystallinity) จะเพิ่มขึ้น เมื่อโคมอนอเมอร์ L-lactide, D,L- Lactide และ glycolide นั้นแยกเป็น three blocks ในส่วนของเวลาที่ใช้ในการสังเคราะห์จะมีผลด้วยเช่นกัน โดยถ้าเพิ่มเวลาในการสังเคราะห์จะทำให้ความเป็นผลึกและ block length เพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งเวลาที่เหมาะสมที่สุดคือ 8 ชั่วโมง เพราะจะทำให้เกิดพอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สุด

1.2 Rapid Expansion of Supercritical Solution (RESS)

กระบวนการขยายตัวอย่างรวดเร็วของสารละลายเหนือจุดวิกฤต หรือเทคนิค RESS ได้ถูกพัฒนาสำหรับการลดขนาดอนุภาค การสร้างแผ่นฟิล์มเส้นใย และการผสมของผง ในการลดขนาดของอนุภาคทำได้ โดยละลายตัวถูกละลายในวัฏภาคของของไหลเหนือจุดวิกฤต จากนั้นทำการลดความดันโดยการสเปรย์สารละลายที่สถานะเหนือจุดวิกฤตผ่านหัวฉีดที่มีขนาดเล็ก ผลที่ได้คือ อนุภาคที่ตกตะกอน จะมีขนาดเล็กและช่วงการกระจายตัวแคบ เนื่องจากความสามารถในการละลายของ ตัวถูกละลายในสารละลายเหนือจุดวิกฤต มีค่าสูงกว่าที่ละลายในก๊าซอุดมคติถึง 10^{12} เท่า นอกจากนี้การลดความดันของของไหลเหนือจุดวิกฤตที่มีตัวถูกละลายรวมอยู่ด้วย สามารถทำได้อย่างรวดเร็ว (ต่ำกว่า 10^{-4} วินาที) ผลที่ได้จากเทคนิคนี้คือ สามารถเกิดการอิ่มตัวยิ่งยวด (supersaturating) สูงมาก และมีกลไกของกระบวนการเกิดอย่างรวดเร็ว อัตราการเกิดนิวเคลียส (nucleation rate) สูง ซึ่งอนุภาคเล็ก ๆ ที่เกิดขึ้น เป็นผลมาจากอัตราส่วนของการอิ่มตัวยิ่งยวดที่มีค่าสูง จากการที่กลไกของกระบวนการเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดสถานะเหมือนกันในการเกิดนิวเคลียส ดังนั้นอนุภาคที่ตกตะกอน จึงมีการกระจายตัวของอนุภาคที่แคบ

ข้อดีของการทำอนุภาคให้มีขนาดเล็ก โดยเทคนิค RESS คือสามารถเกิดอนุภาคที่ไม่มีตัวละลาย หรือสารลดแรงตึงผิวปนเปื้อนในการตกตะกอน และไม่มีขั้นตอนการทำสารให้บริสุทธิ์ อีกทั้งก๊าซ ที่เกิดหลังจากสิ้นสุดกระบวนการ สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ตัวทำละลายที่มีอุณหภูมิวิกฤตต่ำ เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) สามารถใช้ในการตกตะกอนของวัสดุที่ไม่ทนความร้อน โดยไม่ทำให้สารเสื่อมประสิทธิภาพลง นอกจากเทคนิคนี้ยังสามารถทำให้เกิดฟิล์มบาง ไฟเบอร์ รวมถึง การเกิดผงวัสดุที่ผสมกัน (Tom and Debenedetti, 1991)

เนื่องจากเทคนิค RESS สามารถตกตะกอนได้อนุภาคที่มีขนาดเล็ก และการกระจายตัวสม่ำเสมอ จึงถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมผลิตยา ซึ่งงานวิจัยที่เลือกใช้เทคนิค RESS ในการลดขนาดยา และ microencapsulation มีดังนี้

Frank and Ye (2000) ใช้เทคนิค RESS เพื่อลดขนาดของยา lidocaine ซึ่งไม่ละลายน้ำ โดยสภาวะที่ใช้ในการศึกษา คืออุณหภูมิในช่วง 35-37 °C และความดันในช่วง 3500-7100 psi จากการทดลองพบว่าภายหลังกระบวนการ RESS ไม่สามารถที่จะเปลี่ยนรูปผลึกของ lidocaine ได้ แต่อัตราการละลายของ lidocaine ที่มีการลดขนาดลงโดยกระบวนการ RESS จะเพิ่มสูงขึ้น รวมทั้งอัตราการละลายของ lidocaine ก็เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน ทั้งนี้เพราะขนาดของ lidocaine ที่ลดลง ทำให้ lidocaine มีพื้นที่ผิวเพิ่มขึ้น

Mishima *et al.* (2000) ศึกษา microencapsulation ของโปรตีน เช่น lysozyme และ lipase ด้วยพอลิเมอร์ คือ poly(ethylene glycol) (PEG), poly(methyl methacrylate) (PMMA), poly(L-lactic acid) (L-PLA), poly(DL-lactide-co-glycolide) (PGLA) and PEG-poly(propylene glycol) (PPG) – PEG triblock copolymer โดยเทคนิค Rapid Expansion of Supercritical Solution (RESS) พบว่าเมื่อใช้เทคนิคนี้จะสามารถผลิตไมโครแคปซูลที่มี lysozyme และ lipase โดยไม่เกิดการรวมตัวกันเป็นก้อนของ lysozyme และ lipase อีกทั้งเมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายร่วมกับคาร์บอนไดออกไซด์จะละลายพอลิเมอร์ได้ดีกว่าการใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลายเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ยังพบว่า การกระจายตัวของขนาดอนุภาคในไมโครแคปซูลสามารถควบคุมได้ โดยการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบต่างๆที่ใช้ และเปลี่ยนสภาวะที่ใช้ในการทดลอง

1.3 Particles from Gas Saturated Solution (PGSS)

Particles from Gas Saturated Solution เป็นวิธีการที่ของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตจะละลายในสารที่หลอมเหลวที่อุณหภูมิและความดันพอประมาณ ความหนืดของสารที่หลอมเหลวจะลดลงเมื่อก๊าซละลายในของเหลว เมื่อสารละลายที่อิ่มตัวไปด้วยก๊าซถูกสเปรย์ผ่านหัวฉีดจะทำให้สารละลายนั้นขยายตัวและสารละลายจะถูกทำให้เย็นลง เนื่องจากการระเหยของของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตทำให้สารที่ได้เป็นของแข็งคล้ายผงขนาดเล็ก ซึ่งขนาดและการกระจายตัวของอนุภาคจะขึ้นกับอุณหภูมิ ขนาดและรูปร่างของหัวฉีด และปริมาณของของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตที่ละลายในของเหลว ซึ่งวิธีนี้ประสบความสำเร็จอย่างมากในกระบวนการลดขนาดอนุภาคของ

พอลิเอทิลีนไกลคอล (polyethyleneglycol), (Weidner *et al.*, 1996) และกลีเซอไรด์ (Glyceride), (Knez and Novak, 1998)

เนื่องจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ประสบความสำเร็จในการนำเทคนิค PGSS มาใช้ในการลดขนาดอนุภาคของพอลิเอทิลีนไกลคอล หลังจากนั้นจึงได้มีงานวิจัยที่นำเทคนิคนี้มาใช้ในการลดขนาดอนุภาคของยา ดังงานวิจัยที่กล่าวถึงต่อไปนี้

Kerc *et al.* (1999) ได้ทำการลดขนาดของยาที่ละลายน้ำได้น้อยได้แก่ nifedipine และ fenofibrate เพื่อเพิ่มอัตราการละลายของยาโดยใช้กระบวนการ PGSS จากผลการทดลองพบว่าอนุภาคของ nifedipine สามารถลดขนาดจากขนาดอนุภาค 50 μm เหลือ 15-30 μm ได้ ซึ่งขึ้นอยู่กับสภาวะการทดลอง นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มความดันทำให้ขนาดของอนุภาคเล็กลงด้วย แต่ในกรณีของ fenofibrate ไม่สามารถลดขนาดอนุภาคได้โดยวิธี PGSS ซึ่งผลการทดลองพบว่าเมื่อทำการเพิ่มความดัน ขนาดของอนุภาคของ fenofibrate กลับเพิ่มจาก 4 μm เป็น 32 μm

1.4 Gas Anti-Solvent (GAS)

Gas Anti-Solvent (GAS) เป็นกระบวนการที่ใช้ของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตเป็น anti-solvent และทำในเครื่องปฏิกรณ์แบบงวด (batch) หรือแบบกึ่งงวด (semi-batch) ซึ่งวิธี GAS จะเติมของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตลงในสารละลายซึ่งจะทำให้ตัวถูกละลายตกตะกอนออกมาเป็นผลึกที่ความดันหนึ่ง ที่เรียกว่า threshold pressure โดยของแข็งที่สนใจจะต้องมีความสามารถในการละลายที่ต่ำในของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤต แต่สามารถที่จะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ ความสามารถในการทำละลายจะลดลงเมื่อบางส่วนหรือทั้งหมดของของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตผสมกับตัวทำละลาย เมื่อปริมาตรขยายตัวถึงค่าวิกฤตแล้วสารละลายจะอิ่มตัว เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตมากขึ้น จะทำให้ของเหลวกลายเป็นสารละลายอิ่มตัวยิ่งยวด (supersaturated) ดังนั้นตัวถูกละลายก็จะตกตะกอนออกจากสารละลายและได้อนุภาคที่มีขนาดเท่ากัน จากนั้นทำการแยกผลิตภัณฑ์ที่ต้องการออกจากตัวทำละลายและ anti-solvent โดยการล้างด้วย anti-solvent บริสุทธิ์

เนื่องจากเทคนิค GAS เป็นเทคนิคที่เหมาะสมกับสารที่ไม่ละลายในของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤต ซึ่งสามารถผลิตอนุภาคที่มีขนาดใกล้เคียงกัน จึงได้มีการวิจัยโดยเลือกใช้เทคนิค GAS ดังต่อไปนี้

Foster *et al.* (1997) ศึกษากระบวนการ Gas Anti-Solvent โดยใช้ ortho- และ para-hydroxybenzoic acids (*o*-HBA, *p*-HBA) เป็นตัวถูกละลาย ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย และใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็น anti-solvent โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และใช้สารผสม 50 : 50 ของ *o*-HBA และ *p*-HBA ในสารละลายเมทานอล พบว่า ผลลัพธ์ที่ได้เมื่อผ่านกระบวนการ GAS จะมี *p*-HBA สูงถึง 99 wt%

นอกจากงานวิจัยที่ได้กล่าวมาแล้ว เนื่องจากเทคนิค GAS มีข้อดีหลายอย่าง จึงได้มีงานวิจัยที่เลือกเทคนิค GAS มาใช้เพื่อศึกษาสารที่สนใจ ดังงานวิจัยต่อไปนี้

Cai Jian-Guo *et al.* (1997) ศึกษาการฟอร์มตัวของอนุภาคและการตกผลึกของ 1, 3, 5, 7 – tetranitro – 1, 3, 5, 7 – tetraazacyclooctane (HMX or Octogen) ในสารละลายอะซิโตน โดยใช้เทคนิค Gas Anti-Solvent ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์เป็น anti-solvent จากผลการทดลอง พบว่าได้อนุภาค HMX ที่มีขนาดประมาณ 2-5 ไมโครเมตร และมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่แคบ และเมื่อเปรียบเทียบผลการตกผลึกที่ได้จากการทดลองดังกล่าวกับการตกผลึกด้วยกระบวนการทั่วไป พบว่าเทคนิคนี้มีความปลอดภัยและน่าเชื่อถือมากกว่า เพราะทำการทดลองที่อุณหภูมิห้อง และใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็น anti-solvent ซึ่งคาร์บอนไดออกไซด์จะไม่ติดไฟ

Amaro-González *et al.* (2000) ได้ศึกษาถึงการตกผลึกของ lobenzarit ด้วยเทคนิค GAS โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่มีตัวทำละลายร่วมเป็นของผสมระหว่างเอทานอลกับน้ำ เป็นสาร Anti-solvent ซึ่งสถานะที่ใช้ทดลองคือ ความดันในช่วง 0-400 บาร์ และอุณหภูมิในช่วง 278-323 K เพื่อศึกษาถึงสัณฐานวิทยา ขนาด และการกระจายตัวของขนาดผลึกที่เกิดขึ้นได้ จากการศึกษาพบว่า เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ความดันคงที่โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่มีตัวทำละลายร่วมเป็นของผสมระหว่างเอทานอลกับน้ำเป็นสาร anti-solvent มีการเกิดผลึกที่ดีที่สถานะใกล้จุดวิกฤต ทั้งนี้เนื่องจากความสามารถในการละลายของน้ำ (water solubility) ในวัฏภาคของคาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิใกล้จุดวิกฤตมีค่าลดลง ทำให้เกิดการแยกตัวของวัฏภาคของเหลวเพิ่มมากขึ้น

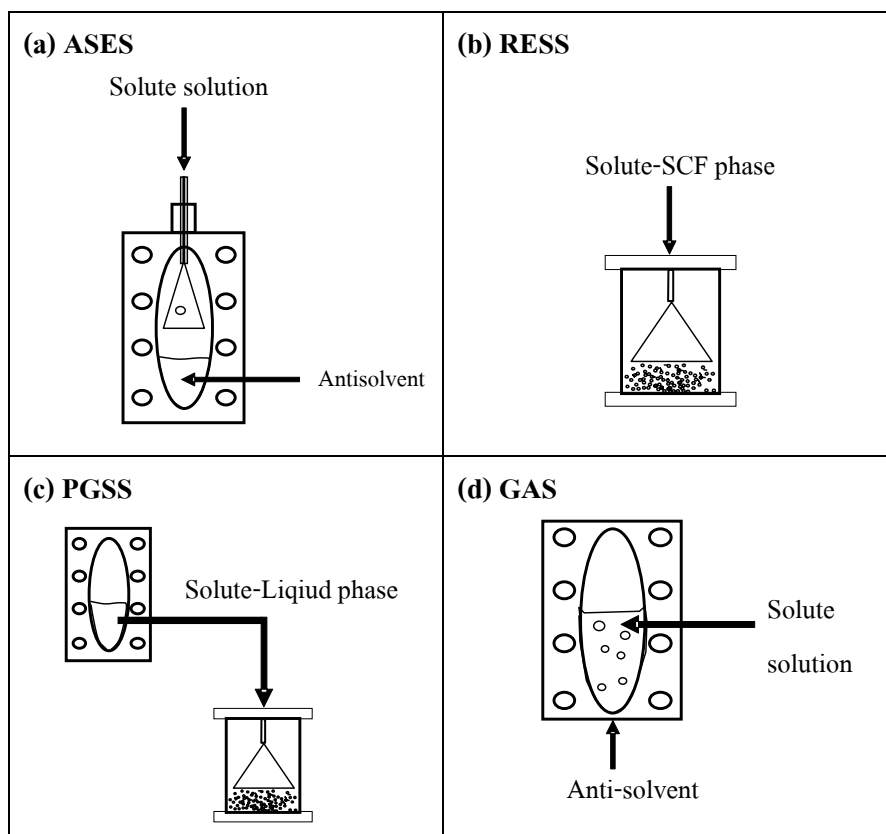
Cocero and Ferrero (2002) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลต่างๆ ที่มีผลต่อการตกผลึกของ β -carotene ด้วยเทคนิค GAS โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็น anti-solvent เนื่องจากความสามารถในการละลายของ β -carotene ในคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่ำจึงทำให้ได้เปอร์เซ็นต์การสกัดที่สูงถึง 98% ซึ่งตัวแปรที่ทำการศึกษาคือ ความเข้มข้น อุณหภูมิ และ ชนิดของตัวทำละลาย จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่า สภาพที่ใช้กับการทดลองนั้นแท้จริงแล้วขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ที่ต้องการนำสารนั้นไปใช้ ถ้าต้องการให้ผลึกมีขนาดเล็ก (น้อยกว่า $1\ \mu\text{m}$) และมีการกระจายตัวของผลึกที่แคบ ต้องทำการทดลองที่อุณหภูมิต่ำ (298 K) และความเข้มข้นของสารละลายเริ่มต้นต้องน้อยกว่า $1\ \text{g/l}$ แต่ถ้าต้องการเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร β -carotene ที่สูง จะต้องใช้สภาพในการทดลองที่อุณหภูมิที่สูง (313-333 K) และความเข้มข้นของสารละลายที่สูงด้วย เพื่อให้ได้ผลึกที่มีขนาดใหญ่ประมาณ $5\ \mu\text{m}$

Warwick *et al.* (2002) ได้ทำการศึกษาการลดขนาดยา Copper Indomethacin ด้วยกระบวนการ Gas Anti-Solvent โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤต และใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (DMF) เป็นตัวทำละลาย พบว่ากระบวนการ Gas Anti-Solvent สามารถทำการลดขนาดยา Copper Indomethacin ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังทำให้อัตราการละลายของยา Copper Indomethacin ที่ผ่านกระบวนการแล้วนั้นมีอัตราการละลายเพิ่มขึ้นเป็นแปดเท่าเมื่อเทียบกับยา Copper Indomethacin ที่ยังไม่ได้ผ่านกระบวนการ และนอกจากนี้พบว่า ความเข้มข้นของสารละลาย และชนิดตัวทำละลาย เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อขนาดและสัณฐานวิทยาของอนุภาคยา Copper Indomethacin ที่ได้

จณา (2005) ได้ทำการศึกษาการผลิตอนุภาคคอมพอสิตระหว่าง *para*-hydroxybenzoic acid (*p*-HBA) กับ poly(methyl methacrylate) และ (PMMA) poly(L-lactic acid) (L-PLA) ด้วยกระบวนการที่ใช้ของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤต จากการทดลองพบว่า การเปลี่ยนชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ (เมทานอล เอทานอล และอะซีโตน) มีผลต่อขนาดของ *p*-HBA โดยเมื่อใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายจะทำให้ขนาดอนุภาคของ *p*-HBA เล็กที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีความแข็งแรง (solvent strength) มากกว่าเอทานอล และอะซีโตน ทำให้มีแรงกระทำระหว่างตัวทำละลายและตัวถูกละลายสูง จึงไปรบกวนการเจริญเติบโตของอนุภาค ทำให้ได้อนุภาคที่เล็ก นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย ส่งผลให้ขนาดอนุภาคของ *p*-HBA ที่ได้มีขนาดลดลงซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sze Tu *et al.* (2002)

ต่อมา Chen *et al.* (2005) ได้ศึกษากระบวนการ Supercritical Anti-Solvent (SAS) ซึ่งเป็นกระบวนการเดียวกันกับกระบวนการ Gas Anti-Solvent (GAS) ต่างกันตรงที่ของไหลที่ใช้เป็น anti-solvent ในกระบวนการ SAS นั้นเป็นของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤต ซึ่งถือว่าเป็นส่วนหนึ่งของของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤตที่ใช้ในกระบวนการ GAS โดยในงานวิจัยนี้ได้ใช้อทานอลเป็นตัวทำละลาย และใช้ CO₂ เป็น anti-solvent นอกจากนั้นยังศึกษาผลกระทบของตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อการตกผลึกของสาร ได้แก่ ความดัน อัตราการไหลของสารละลายอินทรีย์ และความเข้มข้นของสารละลาย Andrographolide จากการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มความดันและอัตราการไหลของสารละลาย ผลึกที่ได้มีลักษณะภายนอกเป็น Column like และขนาดของผลึกที่ได้จะบางและเล็กลง เนื่องจากการเพิ่มความดันที่สูงขึ้นนั้นส่งผลให้เกิดนิวเคลียส (nucleation) จำนวนมาก และมีอัตราการเติบโตของผลึก (crystal growth) ที่ช้าลง ดังนั้นจึงทำให้ผลึกที่ได้มีขนาดเล็กลง ในขณะที่การเพิ่มอัตราการไหลส่งผลให้ค่า capillary number ซึ่งเป็นอัตราส่วนระหว่าง inertial force ต่อแรงตึงผิว (surface tension) เพิ่มขึ้น เป็นผลทำให้เกิดการแตกย่อยของอนุภาคให้มีขนาดเล็กลง เมื่อทำการทดสอบผลึกด้วยเทคนิค XRD และ DSC เพื่อศึกษาถึงลักษณะภายในของผลึกได้แก่ ความเป็นผลึก (degree of crystallinity) ของ Andrographolide พบว่าเมื่อเพิ่มความดัน ความเป็นผลึกจะเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากผลของอัตราการเติบโตของผลึกที่ช้าลง จากลักษณะกราฟของ DSC ที่ความดันที่แตกต่างกัน พบว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของของแข็งกับของแข็ง (solid-solid) เกิดขึ้น มีเพียง peak ที่บ่งบอกถึง fusion transition ที่อุณหภูมิ 227 °C ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าผลึกที่เกิดขึ้นจาก SAS recrystallization สามารถคงรูปได้จนถึงอุณหภูมิหลอมเหลวของผลึก (melting point) จากงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น จะเห็นได้ว่ากระบวนการ SAS recrystallization สามารถผลิตยาที่มีโครงสร้างผลึกหลากหลาย ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างมากต่ออุตสาหกรรมยา

ลักษณะของกระบวนการที่ใช้ของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤตที่แบ่งเป็นเทคนิคต่างๆ แสดงได้ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แผนภาพแสดงกระบวนการที่ใช้ของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤต
ที่มา: Charoenchaitrakool (2000)

2. การสกัดสารโดยใช้ของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤต

การสกัดสารโดยใช้ของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤต เป็นเทคนิคใหม่ที่น่าสนใจในการสกัดสารกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ซึ่งข้อดีและข้อเสียของการสกัดด้วยเทคนิคนี้สามารถแสดงได้ดังต่อไปนี้

2.1 ข้อดีของการสกัดสารโดยใช้ของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤต

เนื่องจากของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตมีความสามารถในการทำละลาย (solvating power) คล้ายกับตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นของเหลว แต่ของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตจะมีการแพร่ (diffusivity) สูงกว่าของเหลว และมีความหนืด (viscosity) และความตึงผิว (surface tension) ที่ต่ำกว่าตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นของเหลว ดังนั้นของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตจึงสามารถแพร่

ผ่านสารที่นำมาสกัดได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับตัวทำละลายที่มีความหนืด นอกจากนี้ของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตยังมีความสามารถในการทำละลายที่สามารถปรับเปลี่ยนได้โดยการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิหรือความดัน ทำให้การแยกสารที่ต้องการออกจากตัวทำละลายที่เป็นของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตทำได้ง่ายและเร็ว ผลลัพธ์ที่ได้จากการสกัดสารด้วยของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตนี้จะไม่มีการตกค้างของตัวทำละลาย อีกทั้งของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตนี้มีความไม่เป็นพิษเมื่อเทียบกับตัวทำละลายอินทรีย์ ในอนาคตอาจมีการหันมาใช้ตัวทำละลายอินทรีย์มาใช้งานเนื่องจากความเป็นพิษต่อทั้งมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ทำให้การสกัดสารด้วยวิธีนี้มีความสำคัญมากขึ้น รวมทั้งการสกัดด้วยวิธีนี้ไม่จำเป็นต้องใช้อุณหภูมิที่สูง จึงทำให้การสกัดสารบางชนิดที่มีความไวต่อการเสื่อมสภาพจากความร้อนที่สูงสามารถที่จะนำมาสกัดได้ด้วยวิธีนี้ ดังนั้นวิธีการสกัดสารด้วยของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตนี้ ทำให้สารที่ต้องการสกัดไม่เกิดการเสียสภาพ นอกจากนี้การเติมตัวทำละลายร่วม (co-solvent) ลงไปในของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤต เช่น เติมนีโตนอลลงไปในคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้ความเป็นขั้วของของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตเพิ่มขึ้นได้ ส่งผลต่อความจำเพาะเจาะจงในการแยกสารได้ดีขึ้น ทำให้สารที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์ อีกทั้งของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตที่เลือกมาใช้ส่วนใหญ่มีราคาถูก ทำให้ต้นทุนในการแยกสารบางกรณีต่ำกว่าการแยกสารด้วยวิธีการใช้ตัวทำละลาย และในระดับอุตสาหกรรมของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตสามารถถูกนำมาหมุนเวียนใช้อีกได้

ในงานวิจัยโดยส่วนใหญ่แล้วมักใช้คาร์บอนไดออกไซด์มาเป็นของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤต เนื่องมาจากการใช้คาร์บอนไดออกไซด์มีข้อดีในด้านต่างๆ คือ มีปริมาณมาก ราคาไม่แพง ไม่ติดไฟ ไม่เป็นพิษ เป็นตัวทำละลายที่ดีสำหรับสารที่ไม่มีขั้ว สามารถใช้ร่วมกับตัวทำละลายร่วม (Co-solvents) ชนิดอื่นได้ เช่น แอลกอฮอล์ อีเทอร์ แอลดีไฮด์ และคีโตน เป็นต้น ซึ่งตัวอย่างของงานวิจัยที่นำคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้เป็นของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤต เช่น

Westerman *et al.*, (2006) ได้ทำการศึกษาการสกัดน้ำมันจากเมล็ดของ Amaranth โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะเหนือจุดวิกฤตเป็นตัวทำละลาย ซึ่งสถานะที่ทำการศึกษาคือ อุณหภูมิในช่วง 35 – 50 °C ความดันในช่วง 100-300 bar จากการศึกษาพบว่า เมื่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อทั้งอัตราการสกัดสาร และปริมาณสารที่สกัดได้ ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิส่งผลต่อความหนาแน่นของตัวทำละลายเช่นเดียวกับอิทธิพลของความดันที่เมื่อมีการเพิ่มความดันของระบบที่ใช้ในการสกัดสารให้เพิ่มขึ้น พบว่าปริมาณสารที่สกัดได้มีค่าสูงขึ้น ทั้งนี้

เนื่องมาจากการเพิ่มความดันส่งผลให้ความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตมีค่าสูงขึ้น

จากคุณสมบัติของของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตที่กล่าวมาข้างต้น ของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตจึงมีความสามารถในการทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายที่ดี ดังนั้นจึงสามารถนำของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตไปประยุกต์ใช้ได้กับงานได้อย่างหลากหลาย เช่น การสกัดสาร โดยส่วนมากมักใช้ก๊าซที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำเป็นของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต เนื่องจากสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลจะมีจุดวิกฤตต่ำด้วย เมื่อจุดวิกฤตของของไหลมีค่าต่ำ ทำให้สามารถนำของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตเหล่านี้มาใช้ในกระบวนการที่อุณหภูมิและความดันไม่สูงมากนักได้ เช่น อุตสาหกรรมการผลิตยา เนื่องจากความร้อนจะทำให้ตัวยาเสื่อมคุณภาพ อีกทั้งยังมีข้อได้เปรียบกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ตรงที่ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการที่ใช้ของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตนี้จะไม่มีการตกค้างของสารละลายเหลืออยู่ หรือเหลือในปริมาณที่น้อยมาก ดังนั้นจึงสามารถใช้ของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตในการผลิตอนุภาคที่ต้องการความบริสุทธิ์อย่างมากได้ เช่น สารประกอบจำพวกโปรตีน พอลิเมอร์ชนิด Biocompatible และยา เป็นต้น (Foster *et al.*, 2003)

2.2 ข้อจำกัดของการสกัดสารโดยใช้ของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต

การสกัดด้วยของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตมักมีข้อจำกัดของการสกัดสารที่มีขั้ว เนื่องจากของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตส่วนใหญ่ที่นำมาใช้สกัดสารมักจะเป็นของไหลที่ไม่มีขั้ว และมีอุณหภูมิวิกฤตอยู่ระหว่าง 0 -100 °C ทำให้การสกัดสารที่มีขั้วมีข้อจำกัด ดังตัวอย่างเช่น การนำคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้เป็นของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต คาร์บอนไดออกไซด์นี้เป็นสารที่ไม่มีขั้วทำให้การสกัดสารที่มีขั้วได้ประสิทธิภาพที่ต่ำ เนื่องจากความสามารถในการละลาย (solubility) ของตัวถูกละลายในตัวทำละลายต่ำ ถึงแม้ว่าจะมีการเติมตัวทำละลายร่วม (co-solvent) ลงไปเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารแล้วก็ตาม แต่บางครั้งการใช้ตัวทำละลายร่วมก็มีข้อเสีย เช่น ลดความจำเพาะเจาะจงของสารที่ต้องการสกัด ทำให้ได้สารหลายชนิดมากขึ้น ยกที่จะเลือกตัว ทำละลายร่วมให้มีความเหมาะสมกับสารที่ต้องการสกัดได้ เช่น ไม่สามารถใช้น้ำร่วมกับคาร์บอนไดออกไซด์ได้ เพราะคาร์บอนไดออกไซด์ละลายในน้ำได้น้อย นอกจากนี้การใช้น้ำแทนอล ยังมีผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมและเป็นพิษต่อมนุษย์ ถ้าความเข้มข้นของตัวทำละลายร่วมไม่เหมาะสม ก็อาจส่งผลกระทบต่อปริมาณสารที่ต้องการสกัดได้เช่นเดียวกัน ซึ่งอาจจำเป็นต้องเพิ่มปริมาณตัว

ทำละลายร่วมให้สูงขึ้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด ซึ่งอาจเกิดการตกค้างของตัวทำละลายร่วมในสารที่สกัดได้ ถ้าเลือกใช้ตัวทำละลายร่วมที่มีความดันหรืออุณหภูมิวิกฤตสูงก็จะส่งผลให้ต้องใช้ความดันหรืออุณหภูมิของระบบที่สูงขึ้นตาม ซึ่งอาจส่งผลเสียได้ในกรณีที่สารที่ต้องการสกัดไม่ทนต่อสภาวะที่ใช้ในการสกัดสารเหล่านี้ นอกจากนี้การใช้ตัวทำละลายร่วมอาจส่งผลให้ต้นทุนการผลิตมีราคาที่สูงขึ้นได้ ตัวอย่างของตัวทำละลายร่วมที่นิยมใช้ร่วมกับคาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต เช่น เอทานอล เป็นต้น

เนื่องจากในกรณีที่สารที่ต้องการสกัดไม่สามารถละลายในของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตได้ ซึ่งอาจเป็นเพราะความมีขั้วของตัวถูกละลายกับตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ดังนั้นการใช้ตัวทำละลายร่วมก็สามารถที่จะเพิ่มปริมาณการสกัดสารที่ต้องการได้ แต่นอกจากการใช้ตัวทำละลายร่วมแล้ว ในกรณีที่ตัวถูกละลายไม่สามารถละลายในตัวทำละลายที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตได้แล้ว การเปลี่ยนกระบวนการในการตกตะกอนสารที่ต้องการ เช่นการใช้ของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตเพื่อทำการตกตะกอนสารที่ต้องการก็สามารถช่วยให้ได้สารที่ต้องการได้เช่นเดียวกัน

จากการศึกษาการใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตนั้นให้ผลการทดลองเป็นที่น่าพึงพอใจ ต่อมาจึงนำเทคนิคนี้มาใช้กับพอลิเมอร์ เพื่อให้เกิดเป็นพอลิเมอร์ที่มีขนาดในระดับไมครอน และมีการกระจายตัวที่ดีขึ้น จึงได้มีการปรับปรุงโดยการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ร่วมกับไนโตรเจนเป็นของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤต ดังงานวิจัยต่อไปนี้

Raouf Ghaderi *et al.* (2000) ศึกษาการผลิตอนุภาคพอลิเมอร์ คือ poly(D,L-lactide-co-glycolide) ที่มีขนาดในระดับไมครอน โดยการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ร่วมกับไนโตรเจนเป็นของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤต พบว่า การรวมคาร์บอนไดออกไซด์กับไนโตรเจนเป็นของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตนั้น ทำให้พอลิเมอร์มีการกระจายตัวที่ดีกว่าและยังเกิดเป็นอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าที่ใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตเพียงอย่างเดียว โดยพอลิเมอร์ที่ได้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 10 ไมครอนเมตร

ดังนั้นการที่จะพัฒนาการสกัดสารเพื่อให้ได้ปริมาณและคุณภาพตามที่ต้องการจึงต้องเข้าใจองค์ประกอบของสารที่ต้องการสกัดและสมบัติของสารที่นำมาใช้ในการสกัดด้วย ซึ่งตัวแปรที่มีอิทธิพลต่อการสกัดสารสามารถแสดงได้ดังตารางที่ 3 ซึ่งจะพบว่าตัวแปรที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดสารมีทั้งความหนาแน่นของของไหล อุณหภูมิ องค์ประกอบของของไหล และอัตรา

การไหล ดังนั้นจึงมีผู้ทำการศึกษาถึงอิทธิพลของตัวแปรต่างๆ เหล่านี้ว่ามีผลอย่างไรต่อการสกัดสาร

ตารางที่ 3 ตัวแปรที่มีอิทธิพลต่อการสกัดสาร

ตัวแปรทางกายภาพ (Physical parameter)	ตัวแปรสำหรับการทดลอง (Experimental parameter)
ความสามารถในการทำละลาย (Solvating power)	ความหนาแน่นของของไหล (Fluid density)
	อุณหภูมิ (Temperature)
	องค์ประกอบของของไหล (Fluid composition)
การสัมผัสกับตัวทำละลาย (Solvent contact)	อัตราการไหล (Flow rate)
	เวลาที่ใช้ในการสกัด (Extraction time)
	วิธีที่ใช้ในการสกัด (Extraction mode ; static / dynamic)

3. อิทธิพลของตัวแปรต่างๆ ที่มีต่อการสกัดสารโดยใช้ของไหลที่สถานะเหนือจุดวิกฤต

3.1 อิทธิพลของอุณหภูมิต่อการสกัดสาร

Tonthubthimthong *et al.* (2001) ได้ทำการสกัดนินบิน (nimbin) จากเมล็ดนินม (neem seed) โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะเหนือจุดวิกฤตที่สภาวะการสกัด 20 MPa น้ำหนักของเมล็ดนินม 2 กรัม อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 0.62 มิลลิเมตรต่อนาทีคงที่ และทำการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วง 308 ถึง 333 K พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิทำให้ปริมาณการสกัดสารมีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่สูงขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการทำละลายของคาร์บอนไดออกไซด์ลดลง

Cocero and Ferrero (2002) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลต่างๆ ที่มีผลต่อการตกผลึกของ β -carotene ด้วยเทคนิค GAS โดยผลของอุณหภูมิที่มีต่อขนาดและรูปร่างของผลึก พบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ขนาดอนุภาคของผลึกจะใหญ่ขึ้น เนื่องจากสารละลายจะเกิดการละลายกลับไปยังวัฏภาคของของเหลว (redissolution) หรืออาจเกิดเนื่องจากการรวมกันเป็นกลุ่มก้อนของ

สารละลาย จากอันตรกิริยาระหว่างวัฏภาคของตัวทำละลายที่ละลายได้ใน anti-solvent กับอนุภาคขนาดเล็กของตัวถูกละลาย ดังนั้นจึงทำให้อนุภาคของสารละลาย β -carotene ที่สกัดได้มีขนาดใหญ่ขึ้น

Azevedo *et al.* (2003) ทำการศึกษาการสกัดไขมัน (fat) จากเมล็ดของ Cupuacu โดยใช้เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะเหนือจุดวิกฤต จากการทดลองพบว่าการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะเหนือจุดวิกฤต จะให้การสกัดที่ดีกว่าเอทานอลที่สถานะเหนือจุดวิกฤตเดียวกัน ทั้งนี้เนื่องมาจากไขมันจากการสกัดเกิดอันตรกิริยากับเอทานอลได้ดีกว่าคาร์บอนไดออกไซด์ และเมื่อทำการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจาก 50 °C เป็น 70 °C โดยยังคงใช้ความดันคงที่ในช่วง 15 ถึง 40 MPa พบว่าที่อุณหภูมิ 50 °C สำหรับคาร์บอนไดออกไซด์ให้ผลการสกัดที่ดีกว่าการใช้อุณหภูมิ 70 °C ในช่วงความดันคงที่ที่ 15 ถึง 31.7 MPa แต่ในช่วงความดันคงที่ที่ 31.7 ถึง 35 MPa พบว่าการใช้อุณหภูมิ 70 °C ให้ผลการสกัดที่ดีกว่าการใช้อุณหภูมิ 50 °C และเมื่อทำการสกัดโดยใช้เอทานอลแทนคาร์บอนไดออกไซด์พบว่าเมื่อความดันคงที่ในช่วง 20 ถึง 26 MPa การใช้อุณหภูมิ 50 °C ให้ผลการสกัดที่ดีกว่าการใช้อุณหภูมิ 70 °C แต่ถ้าใช้ความดันคงที่ในช่วง 26 ถึง 35 MPa พบว่าการใช้อุณหภูมิ 70 °C ให้ผลการสกัดที่ดีกว่าการใช้อุณหภูมิ 50 °C จากผลการทดลองนี้จึงสรุปได้ว่า ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณสารที่สกัดได้จะขึ้นอยู่กับความดันที่ใช้ด้วย ถึงแม้ว่าการเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้ความหนาแน่นของของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤตลดลง ส่งผลให้ความสามารถในการทำละลาย (solubility) ลดลง ทำให้การสกัดสารได้ปริมาณน้อยลง แต่การเพิ่มอุณหภูมิก็นำไปสู่การสกัดสารได้ในกรณีที่ช่วยเพิ่มความสามารถในการแพร่ของของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤต

Louli *et al.* (2003) ได้ทำการศึกษาการสกัดน้ำมัน (oil) จากเมล็ดผักชีฝรั่ง (Parsley seed) โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะใกล้จุดวิกฤต โดยใช้ความดันที่ 10 MPa ขนาดอนุภาค 293 ไมโครเมตร และอัตราการไหลที่ 1.1 กิโลกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อชั่วโมง แต่ทำการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจาก 308 K เป็น 318 K พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นส่งผลให้อัตราการสกัดสาร (extraction rate) ลดลง จึงสรุปได้ว่าการเพิ่มอุณหภูมิส่งผลให้ความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ลดลง และเป็นตัวแปรที่มีอิทธิพลมากกว่าการเพิ่มขึ้นของความดันไอของตัวถูกละลายจากการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ จึงส่งผลให้อัตราการสกัดสารลดลง

Döker *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาการสกัด β -carotene จาก apricot bagasse ที่ได้จากโรงงานผลิตน้ำผลไม้ โดยการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะใกล้จุดวิกฤตมาทำการสกัด

ในเครื่องสกัดแบบแพคเบด (packed bed extractor) ที่มีปริมาตรของหอสกัด 10×10^{-3} ลูกบาศก์เมตร มีน้ำหนักสารในหอสกัด 2×10^{-3} กิโลกรัม จากการทดลองพบว่าถ้ามีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดสารจาก 313 K เป็น 333 K แต่ยังคงใช้ความดันคงที่ที่ 30.4 MPa จะทำให้การสกัดสารได้สูงขึ้น เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้การแพร่ของคาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะใกล้จุดวิกฤตสูงขึ้น เช่นเดียวกับความเข้มข้นอิ่มตัว (saturation concentration) ของ β -carotene ในวัฏภาคของไหลก็จะสูงขึ้นด้วย

3.2 อิทธิพลของความดันต่อการสกัดสาร

Tonthubthimthong *et al.* (2001) ได้ทำการสกัดนินบิน (nimbין) จากเมล็ดนิน (neem seed) โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะเหนือจุดวิกฤตที่สถานะการสกัด 328 K น้ำหนักของเมล็ดนิน 2 กรัม อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 0.62 มิลลิลิตรต่อนาทีคงที่ แต่ทำการเปลี่ยนแปลงความดันที่ใช้ที่ 10, 18, 20, 23 และ 26 MPa พบว่าเมื่อความดันเพิ่มขึ้นในช่วง 10 ถึง 23 MPa อัตราการสกัดสารจะสูงขึ้น เนื่องจากเมื่อความดันสูงขึ้นความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะเหนือจุดวิกฤต จะมีค่าใกล้เคียงกับคาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะของเหลวยิ่งขึ้น ทำให้ความสามารถในการทำละลายของคาร์บอนไดออกไซด์สูงขึ้นด้วย แต่ถ้าใช้ความดันเพิ่มขึ้นจาก 20 เป็น 26 MPa พบว่าอัตราการสกัดสารจะลดลง แสดงให้เห็นว่าการสกัดสารด้วยของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤตจะมีความดันที่เหมาะสมอยู่ค่าหนึ่ง ถ้าเพิ่มความดันเกินจุดนี้แล้วจะทำให้อัตราการสกัดสารที่ได้ลดน้อยลง ทั้งนี้เนื่องจากความดันที่สูงเกินไปจะทำให้ความสามารถในการแพร่ของของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤตลดลง และยังส่งผลให้เกิดการอัดแน่นของวัสดุที่นำมาสกัด ทำให้ช่องว่าง (void fraction) ลดลง

Azevedo *et al.* (2003) ทำการศึกษาการสกัดไขมัน (Fat) จาก เมล็ดของ Cupuacu โดยใช้เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะเหนือจุดวิกฤต จากการทดลองพบว่าเมื่อทำการเพิ่มความดันจาก 24.8 เป็น 25.3 31.7 และ 35.2 MPa แต่ยังคงใช้อุณหภูมิคงที่ที่ 50 °C และ 70 °C จะทำให้การสกัดไขมันโดยใช้เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะเหนือจุดวิกฤตเพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มความดันเมื่ออุณหภูมิคงที่จะส่งผลให้ความหนาแน่นของตัวทำละลายสูงขึ้น เป็นผลให้ไขมันสามารถละลายในตัวทำละลายได้มากยิ่งขึ้น

Doker *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาการสกัด β -carotene จาก apricot bagasse ที่ได้จากโรงงานผลิตน้ำผลไม้ โดยการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะเหนือจุดวิกฤตมาทำการสกัดในเครื่องสกัดแบบแพคเบด (packed bed extractor) ที่มีปริมาตรของหอสกัด 10×10^{-3} ลูกบาศก์เมตร มีน้ำหนักสารในหอสกัด 2×10^{-3} กิโลกรัม จากการทดลองพบว่าการเพิ่มความดันขึ้นจาก 30.4 เป็น 40.5 และ 50.7 MPa แต่ยังคงอุณหภูมิให้คงที่ที่ 313 K เช่นเดียวกับขนาดอนุภาคที่ใช้ 300×10^{-6} เมตร อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 3.3×10^{-6} ลูกบาศก์เมตรต่อวินาที พบว่าสามารถสกัดสาร β -carotene ได้เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากการเพิ่มความดันจะทำให้ β -carotene ละลายในคาร์บอนไดออกไซด์ได้เพิ่มมากขึ้น ถึงแม้ว่าการเพิ่มความดันจะส่งผลต่อความสามารถในการแพร่ของคาร์บอนไดออกไซด์ให้ลดลงก็ตาม แต่จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความดันจะส่งผลต่อการละลายของ β -carotene มากกว่าการแพร่

3.3 อิทธิพลของอัตราการไหลต่อการสกัดสาร

Cocero and Ferrero (2002) ได้ศึกษาถึงผลของอัตราการไหลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีต่อการตกผลึกของ β -carotene ด้วยเทคนิค GAS พบว่าอัตราการไหลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์นั้น ส่งผลโดยตรงกับเวลาที่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ใช้ในการละลายเข้าไปในวัฏภาคของของเหลว ดังนั้นถ้ามีการผสมระหว่างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับของเหลวที่ดีเวลาที่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ใช้สำหรับการขยายตัวทางปริมาตรของสารละลาย (volumetric expansion) ให้มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันก็จะใช้เวลาน้อยลง จากการทดลองพบว่าการที่มีอัตราการไหลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่สูง จะทำให้ขนาดอนุภาคโดยเฉลี่ยของสารที่ตกตะกอนมีขนาดเล็กลง เนื่องจากการกระจายตัวของอนุภาคในลักษณะ unimodal แต่ถ้ามีอัตราการไหลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่ำจะส่งผลให้เกิดการกระจายตัวของอนุภาคในลักษณะ bimodal ดังนั้นขนาดอนุภาคจึงมีขนาดใหญ่ขึ้น

Louli *et al.* (2003) ได้ทำการศึกษาการสกัดน้ำมัน (oil) จากเมล็ดผักชีฝรั่ง (Parsley seed) โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะเหนือจุดวิกฤต โดยใช้ความดันที่ 10 MPa ขนาดอนุภาค 293 ไมโครเมตร และอุณหภูมิ 318 K แต่ทำการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ใช้เป็น 0.7 1.1 และ 2 กิโลกรัมต่อชั่วโมง พบว่าการเพิ่มอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ส่งผลให้อัตราการสกัดสารลดลง ทั้งนี้เนื่องจากอัตราการสกัดสารถูกควบคุมโดยการแพร่ภายในอนุภาค (Intraparticle diffusion)

Doker *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาการสกัด β -carotene จาก apricot bagasse ที่ได้จากโรงงานผลิตน้ำผลไม้ โดยการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตมาทำการสกัด ในเครื่องสกัดแบบแพคเบด (packed bed extractor) ที่มีปริมาตรของหอสกัด 10×10^{-3} ลูกบาศก์เมตร มีน้ำหนักสารในหอสกัด 2×10^{-3} กิโลกรัม จากการทดลองพบว่า การเพิ่มขึ้นของอัตราการไหลที่ใช้ในการทดลองจาก 1.16×10^{-8} ลูกบาศก์เมตรต่อวินาที เป็น 3.33×10^{-8} ลูกบาศก์เมตรต่อวินาที จะทำให้การสกัดสารได้ปริมาณสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มอัตราการไหลจะทำให้ความหนาของชั้นฟิล์มที่อยู่รอบๆ อนุภาคของของแข็งบางลง ส่งผลให้ความต้านทานการแพร่ของสารที่อยู่รอบๆ อนุภาคของของแข็งลดลง ปริมาณสารที่สกัดได้จึงสูงขึ้น

3.4 อิทธิพลของขนาดอนุภาคต่อการสกัดสาร

นอกจากปัจจัยดังกล่าวข้างต้นแล้ว ขนาดอนุภาคของวัตถุที่นำมาใช้ในการสกัดยังส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดสาร ดังตัวอย่างที่พบในงานวิจัยดังต่อไปนี้

Louli *et al.* (2003) ได้ทำการศึกษาการสกัดน้ำมัน (oil) จากเมล็ดผักชีฝรั่ง (Parsley seed) โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต โดยใช้ความดันที่ 10 MPa อุณหภูมิ 318 K และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์คงที่ที่ 1.1 กิโลกรัมต่อชั่วโมง แต่ทำการปรับเปลี่ยนขนาดอนุภาคของเมล็ดผักชีฝรั่งบดที่นำมาสกัดจาก 293 ไมโครเมตร เป็น 495 ไมโครเมตร พบว่าอัตราการสกัดสารจะลดลงเมื่อเพิ่มขนาดอนุภาคของเมล็ดผักชีฝรั่งบด ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์ของเมล็ด (The seed cells) จะถูกทำลายจากการบดเพิ่มขึ้น เมื่อขนาดอนุภาคยิ่งเล็กลงทำให้การสกัดสารทำได้ง่ายขึ้น อัตราการสกัดสารจึงสูงขึ้น

Doker *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาการสกัด β -carotene จาก apricot bagasse ที่ได้จากโรงงานผลิตน้ำผลไม้ โดยการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตมาทำการสกัด พบว่าการลดรัศมีของอนุภาคลงจาก 300×10^{-6} เมตร เป็น 106×10^{-6} เมตร จะทำให้การสกัดสาร β -carotene ได้เพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากการลดขนาดอนุภาคจะทำให้ความต้านทานการแพร่ภายในอนุภาค (Intraparticle diffusion resistance) ลดลง เนื่องจากเส้นทางการแพร่จะลดลง

นอกจากนี้ยังมีผู้ทำการศึกษาอิทธิพลของการเติมตัวทำละลายร่วมหรือสารปรับปรุง (modifier) ต่อประสิทธิภาพการสกัด ดังต่อไปนี้

Kim *et al.* (In press) ได้ทำการศึกษาการสกัดสารอนุพันธ์ของ schisandrin (schisandrin derivatives) จากใบ (leaves) ก้าน (stem) และผล (fruit) ของ Schisandra Chinensis โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะเหนือจุดวิกฤตที่ไม่เติมตัวทำละลายร่วม และเติมเอทานอลเป็นตัวทำละลายร่วม โดยใช้สภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 60 °C ความดัน 34 MPa มาทำการเปรียบเทียบกับ การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์โดยใช้เมทานอล พบว่าเมื่อใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะเหนือจุดวิกฤตโดยไม่เติมสารปรับปรุง ในส่วนของใบจะสามารถสกัดได้เพียง 36.9% เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ขณะที่ในส่วนของก้านและผลสามารถสกัดได้มากกว่า 80% เมื่อเปรียบเทียบกับ การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ แต่ถ้ามีการเติมสารปรับปรุงลงไปพร้อมกับคาร์บอนไดออกไซด์ 10% V/V พบว่าสามารถช่วยเพิ่มปริมาณการสกัดได้มากขึ้นถึง 4 เท่า แต่จะช่วยเพิ่มปริมาณการสกัดในส่วนของก้านและผลได้เพียงเล็กน้อย เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะเหนือจุดวิกฤตโดยไม่เติมสารปรับปรุง ทั้งนี้เป็นเพราะว่าการเติมเอทานอลจะช่วยเพิ่มความเป็นขั้วให้กับตัวทำละลายมากยิ่งขึ้น เป็นผลให้สารอนุพันธ์ของ schisandrin สามารถละลายเข้ากับตัวทำละลายได้เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจึงสามารถสกัดสารได้ปริมาณมากขึ้น อย่างไรก็ตามการสกัดสารในแต่ละส่วนของพืชจะได้ไม่เท่ากัน เนื่องจากสารที่ต้องการในแต่ละส่วนมีปริมาณไม่เท่ากัน

4. ฟ้าทะลายโจร

ฟ้าทะลายโจรพบได้ทั่วไปในประเทศจีน อินเดีย อินโดนีเซีย (เกาะชวา) และประเทศไทย ฟ้าทะลายโจรเป็นสมุนไพรดังภาพที่ 4 ที่มีการนำมาใช้เป็นยารักษาโรคมานานแล้ว โดยเฉพาะในประเทศจีนได้มีการค้นคว้าสรรพคุณต่างๆ ทางเภสัชวิทยา จนได้จัดจากฟ้าทะลายโจรไว้เป็นยาตำราหลวง ใช้ในการรักษาโรคได้หลายโรค สามารถใช้เป็นยาเดี่ยวๆ ได้ เพราะมีฤทธิ์ที่เด่นชัดมาก ในส่วนของประเทศไทยก็เป็นที่นิยมใช้อย่างแพร่หลาย โดยใช้เป็นยาแก้เจ็บคอ แก้ท้องเสีย แก้บิด แก้ไข้ และแก้แมลงสัตว์กัดต่อย โดยพอจะสรุปสรรพคุณและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของฟ้าทะลายโจรได้ดังต่อไปนี้ เช่น แก้ไอ เจ็บคอ ต่อมทอนซิลอักเสบ แก้ปวดท้อง ท้องเสีย บิด ลำไส้อักเสบ แก้ไข้หวัด ช่วยให้เจริญอาหาร รักษาโรคติดเชื้อ ช่วยขับปัสสาวะ บำรุงรักษาดับ มีฤทธิ์เพิ่มการหลั่งน้ำลายในลำคอ ทำให้ชุ่มคอ ช่วยกระตุ้นให้มีการสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย ใช้รักษาฝี แผลบวม อักเสบ แผลติดเชื้อ มีหนอง รักษาผื่นคัน แมลงสัตว์กัดต่อย และ โรคผิวหนังบางชนิด



ภาพที่ 4 ฟัทะลายโจร

4.1 ส่วนประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีพื้นฐานของฟัทะลายโจรที่สำคัญ สามารถแสดงได้ดังตารางที่ 4 โดยสมุนไพรฟัทะลายโจรมีสารออกฤทธิ์อยู่ด้วยกันหลายชนิด ที่มีผลเป็นสารออกฤทธิ์เพื่อใช้ในการเป็นยารักษาโรคต่างๆ ได้แก่

- 1.ฤทธิ์การบีบตัวของลำไส้ มีสารออกฤทธิ์ คือ 14 Deoxy-11, 12 dihydro-andrographolide andrographolide neoandrographolide และ deoxyandrographolide
- 2.ฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย มีสารออกฤทธิ์ คือ andrographolide และ deoxyandrographolide
- 3.ฤทธิ์ลดการอักเสบ มีสารออกฤทธิ์ คือ andrographolide deoxyandrographolide และ neoandrographolide
- 4.ฤทธิ์ในการรักษาอาการท้องเสีย
- 5.ฤทธิ์เพิ่มการหลั่งน้ำลายทำให้ชุ่มคอ
- 6.ฤทธิ์การสร้างภูมิคุ้มกัน

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีพื้นฐานที่พบในฟ้าทะลายโจรหนัก 100 กรัม

สารประกอบที่พบในฟ้าทะลายโจร	ปริมาณ (กรัม)
Andrographolide	1.7
14-deoxy-11, 12-didehydroandrographolide	0.9
Neoandrographolide	0.1
Deoxyandrographolide-19-D-glucose	0.055
KH ₂ PO ₄	3.8

ที่มา: สมุนไพรม (2542)

4.2 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของฟ้าทะลายโจร

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall.ex nees

ชื่อวงศ์ : Acanthaceae

ชื่อสามัญ : The Creat, Creyat Toot, Halviva, Kariyat, Green Chiretta, Kreat

ชื่อท้องถิ่น : ฟ้าทะลาย น้ำลายพังพอน (กรุงเทพฯ) สามสิบดี (ร้อยเอ็ด) เมฆทะลา (ยะลา) หญ้ากันงู (สงขลา) ฟ้าสาบ (พิจิตร) เขยตายายคลุม (โพธาราม) ฟ้าสะท้าน (พัทลุง) คีปิงอี (ประเทศจีน)

4.3 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของฟ้าทะลายโจร

ต้น : เป็นไม้ล้มลุกฤดูเดียว สูง 30-60 เซนติเมตร ลำต้นตั้งตรง กิ่งก้านเป็นสันสี่เหลี่ยม เป็นพืชล้มลุก กระจุกเดียวกับต้นด้อยดิ่ง มีอายุไม่เกิน 1 ปี ลำต้น กิ่ง และก้านมีลักษณะเป็นกิ่งอ่อน สี่เหลี่ยมแตกกิ่งมาก เปราะหักง่าย

ใบ : ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามกันเป็นคู่ กว้าง 1-1.25 เซนติเมตร ยาว 4-10 เซนติเมตร โคนใบ และปลายใบแหลมมีลักษณะยาวรีคล้ายรูปหอก ขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่นเล็กน้อย เนื้อใบ สีเขียวเข้ม ก้านใบยาว 2-8 มิลลิเมตร

ดอก: ดอกช่อแยกแขนงออกที่ซอกใบ และปลายกิ่ง ออกดอกเป็นช่อที่ยอด และตามซอกใบ ดอกมีสีขาวกระม่วงแดง โคนกลีบดอกติดกันเป็นหลอด มีสีขาว ปลายแยก ออกเป็น 2 ปาก ปากบนแยก 3 แฉก ปากล่างเล็กกว่าแยกเป็น 2 แฉก

เกสร: มีเกสรตัวผู้ 2 อัน ติดอยู่กับกลีบดอก อับเรณูมีสีม่วงดำ มีรังไข่ 1 อัน ท่อเกสรตัวเมียยาวเรียว

ผล : ออกผลเป็นฝัก ลักษณะคล้ายฝักด้อยติ่ง แต่ฝักเล็ก และสั้นกว่า ขนาดฝักกว้างประมาณ 0.3-0.5 เซนติเมตร เมื่อแก่ฝักจะแตกออกเป็น 2 ซีก ภายในมีเมล็ดสีน้ำตาล แบนๆ หลายเมล็ด

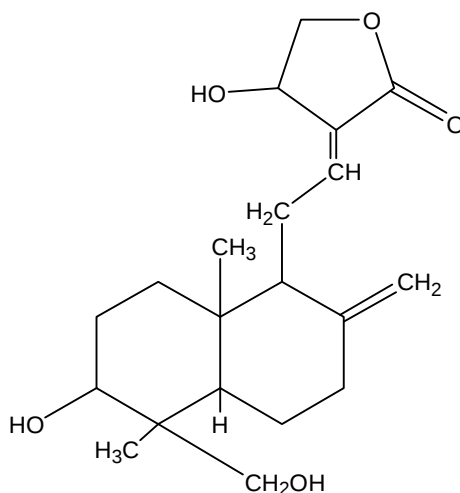
4.4 การขยายพันธุ์

ฟ้าทะลายโจรเป็นไม้ที่ปลูกขึ้นได้ง่ายมาก เพียงใช้เมล็ดที่แกะออกจากฝักเล็กๆ นำมาโปรยก่อนฤดูฝนก็สามารถขึ้นได้เอง ฟ้าทะลายโจรนี้สามารถขึ้นได้ทั้งที่ร่ม และกลางแจ้ง ในที่แจ้งต้นจะเตี้ย ใบเล็ก และหนา ในที่ร่มต้นจะสูง ใบใหญ่บาง จึงควรปลูกฟ้าทะลายโจรในที่ที่ร่มไม่แฉะนัก และควรปลูกในฤดูฝนจะดีที่สุด เนื่องจากไม่จำเป็นต้องใช้น้ำ มาก

4.5 การนำมาใช้งาน

ฟ้าทะลายโจรจะมีรสขมมาก สามารถนำมาใช้งานได้ทุกส่วน และเมื่อปลูกได้ 3-5 เดือนจึงจะสามารถเก็บมาใช้ได้ แต่ถ้าจะให้ดีควรจะเก็บใบขณะที่ต้นเริ่มออกดอก เพราะจะได้ใบที่มีเนื้อยามากที่สุด และมีฤทธิ์ดีที่สุด ในใบของฟ้าทะลายโจรจะมีสารสำคัญที่เรียกว่า Andrographolide ซึ่งมีอยู่ในปริมาณที่แสดงดังตารางที่ 4 โดยทั่วไปแล้วสาร Andrographolide จะมีรสขม สามารถละลายได้ทั้งในน้ำและแอลกอฮอล์ อีกทั้งยังเป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ต่างๆ ทำให้ในปัจจุบันมีการนำสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ออกวางขายตามท้องตลาดอย่างกว้างขวาง ซึ่งสามารถนำมาใช้งานได้หลากหลายรูปแบบ เช่น ยาขง ยาต้ม ยาเม็ด ยาแคปซูล ใช้กวาดคอ ใช้ใบสดอม เป็นต้น

5. ข้อมูลทั่วไปของสาร Andrographolide



ภาพที่ 5 สูตรโครงสร้างของสาร Andrographolide

Andrographolide เป็นสารประกอบประเภทแลคโตน ผลึกเป็นรูปเหลี่ยมยาว ไม่มีสี สามารถละลายได้ดีในเมทานอล เอทานอล อะซีโตน และละลายได้เล็กน้อยในน้ำและคลอโรฟอร์ม แต่ไม่ละลายในอีเทอร์ มีสูตรเคมีคือ $C_{20}H_{30}O_5$ มีน้ำหนักโมเลกุล 350.4 มีจุดหลอมเหลว 228-230 องศาเซลเซียส Andrographolide เป็นสารที่พบมากที่สุดโดยพบในฟ้าทะลายโจรที่ปลูกในประเทศไทยถึง 1.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าที่ปลูกในจีนคือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณของ Andrographolide จะขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการเก็บเกี่ยว หากเก็บในช่วงก่อนออกดอก (คือเดือนกันยายนถึงเดือนตุลาคม) จะมีปริมาณ 2-5 เปอร์เซ็นต์ หากเก็บในฤดูใบไม้ผลิจะมีปริมาณที่ต่ำกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์

ในอดีตมีการนำ Andrographolide มาใช้ในการรักษาโรคต่างๆ ซึ่งส่วนใหญ่จะใช้สำหรับปัญหาของการย่อยอาหาร แผลที่เกิดจากงูกัด การติดเชื้อจากโรคมาลาเรียและโรคบิด ใช้ต่อต้านเชื้อโรค ต่อต้านการอักเสบ ป้องกันตับและป้องกันการจับถ่านน้ำดี

จากการศึกษากระบวนการสกัดฟ้าทะลายโจรในห้องปฏิบัติการ พบว่าการอบแห้งสารสกัดฟ้าทะลายโจรควรอบแห้งที่อุณหภูมิไม่สูงกว่า 55 องศาเซลเซียส เพื่อไม่ให้ตัวยาเสื่อมคุณภาพ (ยรรยง, 2547)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์และสารเคมี

1. ปัมเพิ่มความดัน ISCO รุ่น 260 D
2. เครื่อง Ultrasonic bath
3. ตู้อบสุญญากาศ รุ่น DZF 6021
4. เมทานอล (ความบริสุทธิ์ 99.8% จากบริษัท ITALMAR)
5. เอทานอล (ความบริสุทธิ์ 99.8% จากบริษัท ITALMAR)
6. อะซิโตน (ความบริสุทธิ์ 99.8% จากบริษัท ITALMAR)
7. ไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (ความบริสุทธิ์ 99.8% จากบริษัท ITALMAR)
8. ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (high purity grade จากบริษัท TIG)
9. ผงฟ้าทะเลทรายโบริบดจากส่วนของกิ่งก้าน และใบ (บริษัท เจ้ากรมเปือ จำกัด)
10. Andrographolide มาตรฐาน (ความบริสุทธิ์ 98% ของ Aldrich)

เครื่องมือวิเคราะห์

1. เครื่อง High Performance Liquid Chromatographic (HPLC; Spectra System Isocratic Pump)
2. เครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM; JEOL, JSM-5600LV)
3. เครื่อง Differential Scanning Calorimetry (DSC; Simultaneous DSC-TGA Analyzer, STD 2960)

วิธีการ

1. การสกัดสาร Andrographolides ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (Conventional Extraction)

- 1.1 ทำการชั่งน้ำหนักฟ้าทะลายโจรสดแห้งให้ได้ประมาณ 50 กรัม
- 1.2 เติมตัวทำละลายอินทรีย์ที่ต้องการใช้สกัดสาร Andrographolides จากฟ้าทะลายโจร (เอทานอล เมทานอล อะซีโตน และไดเมทิลฟอร์มาไมด์) 100 มิลลิลิตรลงไปผสมกับฟ้าทะลายโจร จากข้อ 1.1 ทำการปั่นกวนด้วยเครื่องกวน (magnetic stirrer) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- 1.3 ทำการกรองสารละลายในข้อ 1.2 ส่วนหนึ่งนำมาใช้ในการวัดหาปริมาณ Andrographolide ที่สกัดได้ด้วยเทคนิค HPLC และส่วนที่เหลือนำมาใช้เพื่อทำการทดลองใน ขั้นตอน Gas Anti-Solvent (GAS)

2. การสกัดสาร Andrographolide ด้วยเทคนิค Gas Anti-solvent (GAS)

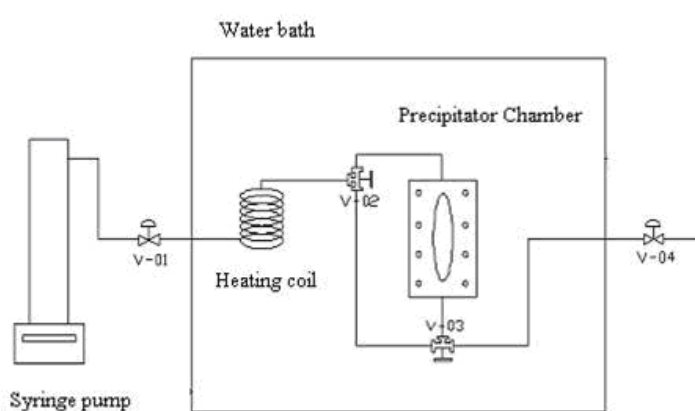
เทคนิคที่ใช้ในงานวิจัย คือ GAS ซึ่งเป็นเทคนิคหนึ่งในกระบวนการที่ใช้ของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤต โดยขั้นตอนในการทดลองมีดังต่อไปนี้

- 2.1 เริ่มต้นการทดลองแต่ละครั้ง จะทำการประกอบเครื่องมือสำหรับเทคนิค GAS ดังภาพที่ 6
- 2.2 นำสารละลายที่ได้จากฟ้าทะลายโจร ที่เตรียมไว้ในข้อ 1.3 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร จีกลงใน Precipitator chamber
- 2.3 ตรวจสอบทิศทางการไหลของ dense CO_2 โดยเปิด V-02 ให้ทิศทางการไหล ไหลลงด้านล่าง และเปิด V-03 ให้ทิศทางการไหล ไหลเข้าด้านล่างของ Precipitator chamber (ดังภาพที่ 6)
- 2.4 ทำการปรับอุณหภูมิภายใน water bath ให้ได้อุณหภูมิที่ต้องการ ($35^\circ\text{C} - 45^\circ\text{C}$)
- 2.5 เริ่มการทดลองโดยเปิด V-01 แล้วทำการเดินปั๊มให้ dense CO_2 ไหลออกจากปั๊มและไหลเข้ากระบวนการโดยจะเลือกปั๊มให้อยู่ใน mode ของอัตราการไหลคงที่ที่ต้องการ (5 10 และ 15 มิลลิลิตรต่อนาที)
- 2.6 Dense CO_2 ที่ไหลเข้า Precipitator chamber จะเกิดการสัมผัสกับสารละลาย
- 2.7 สังเกตการเกิดตะกอนของอนุภาค หลังจากนั้นเพิ่มความดันต่อไปจนความดันคงที่ที่ 90 บาร์ ซึ่งเป็นความดันที่ใช้ในการล้างตัวทำละลายออกจากผลึกของอนุภาค

2.8 เปลี่ยนทิศทางการไหลของวาล์ว V-02 เพื่อให้ dense CO₂ ไหลเข้าด้านบนของ Precipitator chamber เป็นการล้างตัวทำละลายออกจาก Precipitator chamber (ป้องกันอนุภาคไม่ให้ละลายกลับในตัวทำละลายอีก)

2.9 เปลี่ยนทิศทางการไหลของวาล์ว V-03 และเปิดวาล์ว V-04 เพื่อให้ dense CO₂ และตัวทำละลายที่เป็นสารอินทรีย์ไหลออกจากระบบ

2.10 เก็บอนุภาคของตัวอย่างที่ได้จาก Precipitator chamber จากนั้นทำการวิเคราะห์ผลด้วยเครื่อง HPLC



ภาพที่ 6 แผนภาพอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองด้วยเทคนิค GAS

3. การคำนวณหาปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้ด้วยเทคนิค GAS

การคำนวณหาปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้ด้วยเทคนิค GAS สามารถทำได้โดยนำผลการวิเคราะห์จาก HPLC มาคำนวณหาน้ำหนักสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค GAS เปรียบเทียบกับน้ำหนักสาร Andrographolide ที่สกัดได้จาก Conventional extraction ดังสมการต่อไปนี้

% การสกัด (%Recovery)

$$= \frac{\text{น้ำหนัก Andrographolide จากเทคนิค GAS} \times 100}{\text{น้ำหนัก Andrographolide จากการสกัดด้วย Conventional Extraction}}$$

4. การวิเคราะห์ลักษณะอนุภาคของสาร Andrographolide ด้วย Scanning Electron Microscopy (SEM)

ทำการวิเคราะห์ลักษณะอนุภาค (ขนาด และรูปร่าง) ของสาร Andrographilide ที่สกัดได้ด้วย SEM โดยการนำสารตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งแล้วมาทำการเคลือบทอง จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscopy ยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM-5600LV

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองของงานวิจัยนี้แบ่งเป็น 4 ส่วน ส่วนแรกคือ การศึกษาเวลาที่ใช้ในการปั่นกวนสำหรับการสกัดสาร Andrographolide ด้วยเอทานอล และปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ ส่วนที่สอง คือการศึกษาอิทธิพลของสภาวะที่ใช้สกัดสาร Andrographolide ได้แก่ อุณหภูมิ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ และ ชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ ได้แก่ เมทานอล เอทานอล อะซีโตน และไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (DMF) ต่อปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้ ส่วนที่สาม คือ การศึกษาอิทธิพลของสภาวะที่ใช้สกัดสารต่อลักษณะอนุภาคที่สกัดได้ และส่วนสุดท้ายคือ การเปรียบเทียบการสกัดสารด้วยเทคนิค GAS กับ การอบแห้งสารละลายของฟ้าทะลายโจร

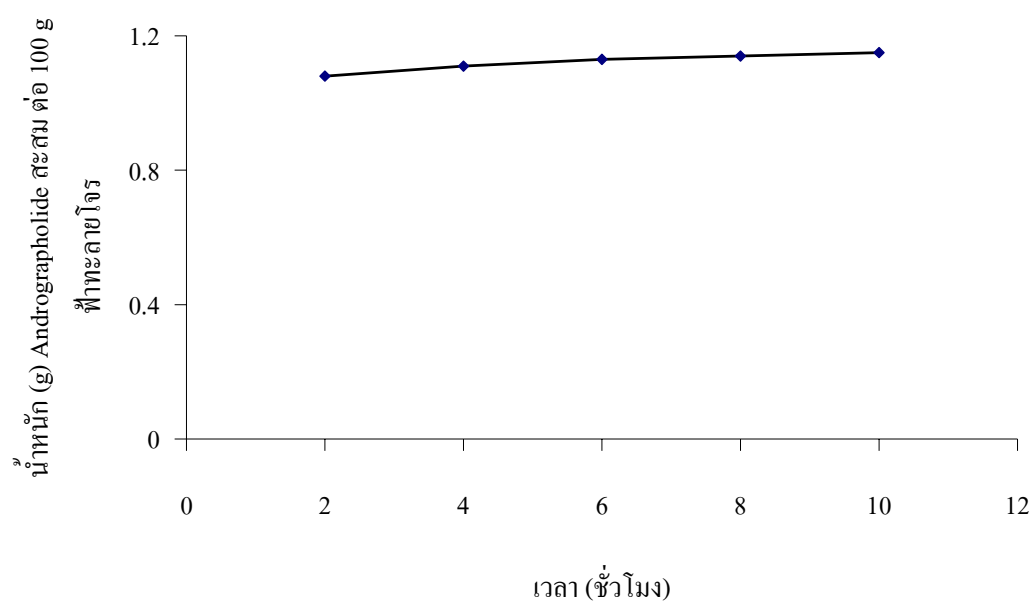
1. การศึกษาเวลาที่ใช้ในการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนแท่งแม่เหล็ก

การทดลองในส่วนนี้เป็นการนำผงฟ้าทะลายโจรมาละลายในตัวทำละลายเอทานอล ปริมาณ 100 มิลลิลิตร แล้วนำมาปั่นกวนด้วยเครื่องกวนแท่งแม่เหล็ก ความเร็วรอบ 600-700 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการกรองแยกกากที่ได้นำไปอบให้แห้ง แล้วนำมาทำการสกัดด้วยเอทานอลใหม่อีกครั้งด้วยเครื่องกวนแท่งแม่เหล็ก เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เช่นเดียวกัน ทำการทดลองต่อไปจนกระทั่งครบ 5 ครั้ง สารละลายที่กรองได้จะถูกนำมาหาปริมาณสาร Andrographolide ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) จากการศึกษาสามารถแสดงผลการทดลองได้ดังตารางที่ 5 โดยการสกัดในครั้งที่ 3 ถึง 5 ได้ใช้ปริมาณตัวทำละลายลดลงเป็น 80 มิลลิลิตร ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณสาร Andrographolide ที่เหลือในกากมีปริมาณที่น้อยลง จึงไม่มีความจำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายในปริมาณที่มาก

ตารางที่ 5 การสกัดสาร Andrographolide โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

การสกัด ครั้งที่	ปริมาตรเอทานอล ที่ใช้ (ml)	น้ำหนัก Andrographolide (mg)	น้ำหนัก Andrographolide (g) ต่อ 100 (g) ฟัทะลายโจร
1	100	109.18	1.08
2	100	2.47	0.03
3	80	1.79	0.02
4	80	0.93	0.01
5	80	0.75	0.01

จากตารางที่ 5 สามารถแสดงน้ำหนักสาร Andrographolide (g) สะสม ที่สกัดได้ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักสาร Andrographolide สะสม (กรัม) ต่อ 100 กรัม ฟัทะลายโจร กับเวลาที่ใช้ในการสกัด

จากตารางที่ 5 และภาพที่ 7 พบว่า การใช้เวลาในการปั่นกว 2 ชั่วโมงเพียงพอต่อการสกัดสาร Andrographolide ด้วยเอทานอล เนื่องจากสามารถสกัดสารได้ในปริมาณที่สูง คิดเป็น 93.91 เปอร์เซ็นต์ ของสาร Andrographolide ที่สามารถสกัดได้ทั้งหมด และสำหรับการสกัดสาร Andrographolide ด้วยตัวทำละลายชนิดอื่นๆ ที่เวลาการสกัด 2 ชั่วโมง สามารถแสดงได้ดังตารางที่ 6 จากตารางพบว่า การใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์เป็นตัวทำละลายสามารถสกัดสาร Andrographolide ได้สูงที่สุด รองลงมาคือ อะซีโตน เมทานอล และเอทานอล ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจาก DMF เป็นสารที่มีค่า dipole moment และ ค่า dielectric constant ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความเป็นขั้วของสาร สูงที่สุด ในขณะที่อะซีโตน เมทานอล และเอทานอล จะมีค่า dipole moment รองลงมาตามลำดับ ดังภาพผนวก ฎ ดังนั้นสาร Andrographolide ซึ่งเป็นสารที่มีขั้วเช่นเดียวกัน จึงสามารถละลายใน DMF ได้ดีที่สุด แต่เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้ในการทดลองนี้กับปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากงานวิจัยก่อนนี้ ดังแสดงตามตารางที่ 4 พบว่าการทดลองนี้สามารถสกัดสาร Andrographolide ได้น้อยกว่า ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณสาร Andrographolide ที่มีอยู่ในฟ้าทะลายโจรในแต่ละฤดูกาลก็จะมี ความแตกต่างกัน เช่นเดียวกับการนำส่วนต่างๆ ของฟ้าทะลายโจรที่ต่างกัน เช่นส่วนของใบ กับลำต้น มาทำการสกัดสาร Andrographolide ก็จะได้ปริมาณแตกต่างกันด้วย

ตารางที่ 6 ปริมาณการสกัดสาร Andrographolide ด้วยการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยใช้เครื่องกวนแท่งแม่เหล็กเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ตัวทำละลาย	น้ำหนัก Andrographolide (กรัม) ต่อ 100 กรัมฟ้าทะลายโจร
DMF	1.48
อะซีโตน	1.28
เมทานอล	1.27
เอทานอล	1.08

2. อิทธิพลของสภาวะต่างๆ ที่ใช้ในการสกัดสาร Andrographolide ด้วยเทคนิค GAS ต่อปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้

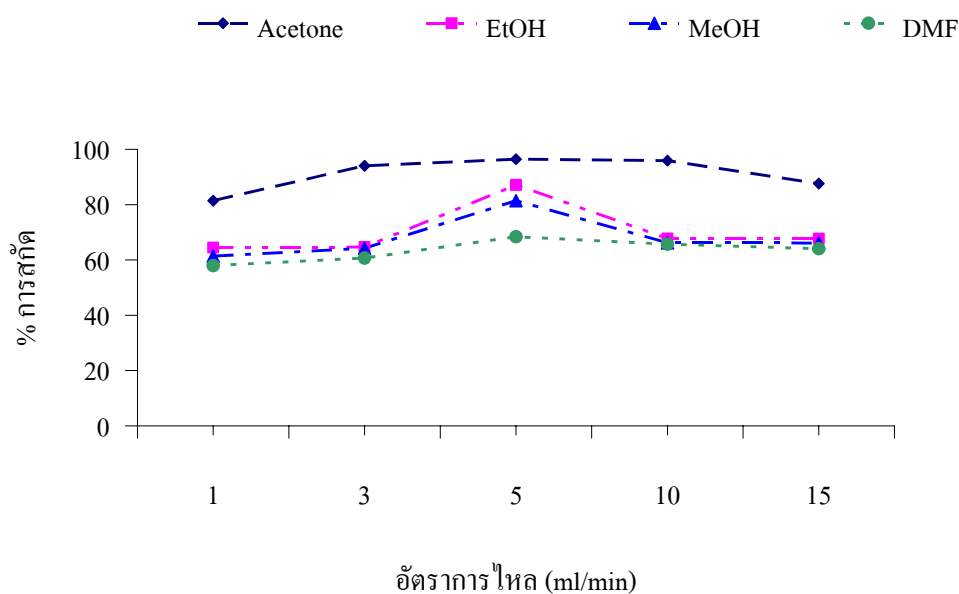
การทดลองในส่วนที่สองนี้เป็นการศึกษาอิทธิพลของสภาวะที่ใช้ในการสกัดสาร Andrographolide จากฟ้าทะลายโจรด้วยเทคนิค GAS ต่อปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้

โดยจะทำการศึกษาอิทธิพลของอัตราการใช้ของคาร์บอนไดออกไซด์ อุณหภูมิ และชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ เมทานอล เอทานอล อะซีโตน และไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (DMF) จากนั้นทำการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร (% recovery) ที่ได้ด้วยเครื่อง HPLC ดังแสดงได้ดังต่อไปนี้

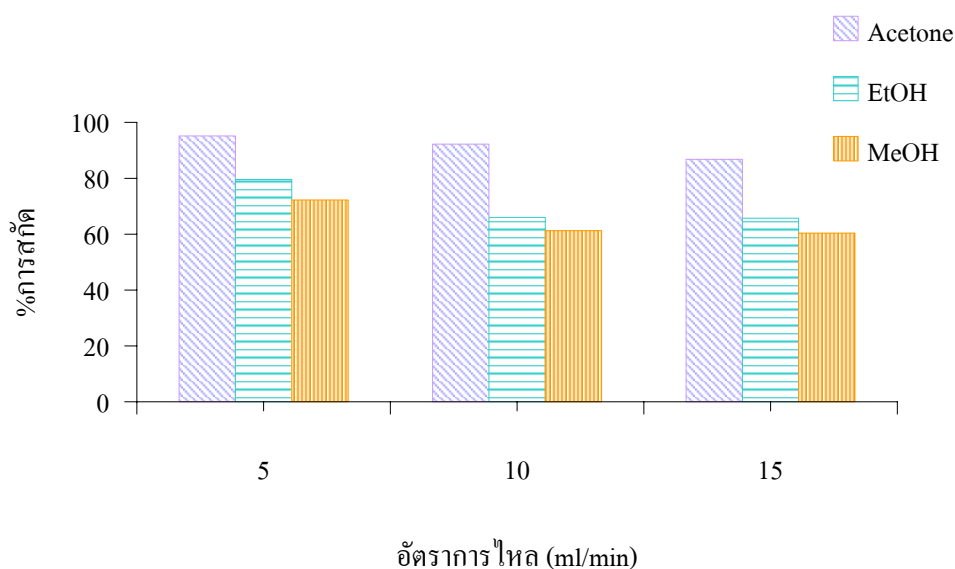
2.1 อิทธิพลของอัตราการใช้ของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้

การทดลองในส่วนนี้เป็นการศึกษาอิทธิพลของอัตราการใช้ของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ใช้ในการสกัดสาร Andrographolide ด้วยเทคนิค GAS ที่มีต่อปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้ โดยอัตราการใช้ของคาร์บอนไดออกไซด์ที่เลือกใช้สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ คือ 1 3 5 10 และ 15 มิลลิลิตรต่อนาที จากภาพที่ 8 พบว่าเมื่อทำการลดอัตราการใช้ของคาร์บอนไดออกไซด์จาก 15 มิลลิลิตรต่อนาทีเป็น 10 และ 5 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้อุณหภูมิ 35 °C และใช้เมทานอล เอทานอล อะซีโตน และไดเมทิลฟอร์มาไมด์ เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ พบว่าเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide ที่สกัดได้มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการลดลงของอัตราการใช้ของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ใช้ในการสกัดส่งผลให้ระบบมีเวลาในการเข้าสู่สมดุลได้มากขึ้น (Thiering, 1998) ทำให้เกิดการตกตะกอนของสาร Andrographolide ได้มากขึ้น จึงเป็นผลให้ปริมาณการสกัดสาร Andrographolide เพิ่มขึ้น แต่เมื่อมีการลดอัตราการใช้ของคาร์บอนไดออกไซด์ให้ต่ำกว่า 5 มิลลิลิตรต่อนาทีเป็น 3 และ 1 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide ที่สกัดได้มีแนวโน้มลดลง ดังภาพที่ 8 ทั้งนี้เนื่องจากการลดอัตราการใช้ของคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำจนเกินไปจะส่งผลให้อัตราการขยายตัวของสารละลาย (Solution expansion rate) เกิดได้ในอัตราที่ต่ำ ทำให้เกิดการอึดตัวของสารละลายลดลง จึงทำให้การตกตะกอนของตัวถูกละลายเกิดได้น้อยลง ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการใช้อุณหภูมิในการสกัดที่ 40 °C และ 45 °C โดยมีเมทานอล เอทานอล และอะซีโตนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ดังภาพที่ 9 และ 10 ด้วยเช่นเดียวกัน

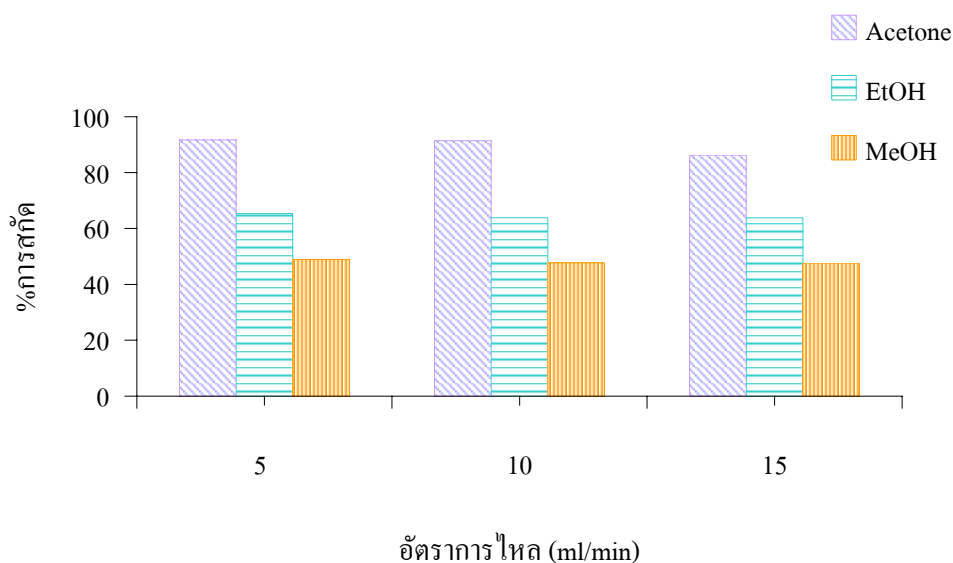
จากผลการทดลองที่ได้ สรุปได้ว่าการใช้อัตราการใช้ของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 5 มิลลิลิตรต่อนาทีสามารถสกัดสาร Andrographolide ด้วยเทคนิค GAS ได้ดีที่สุด



ภาพที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide กับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 35 °C

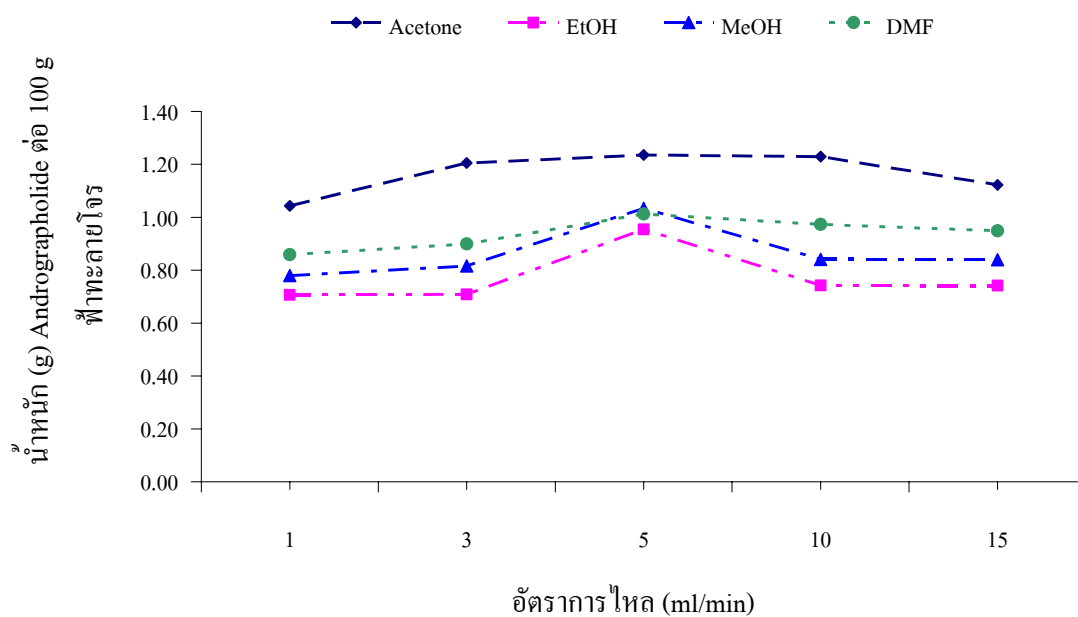


ภาพที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide กับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 40 °C

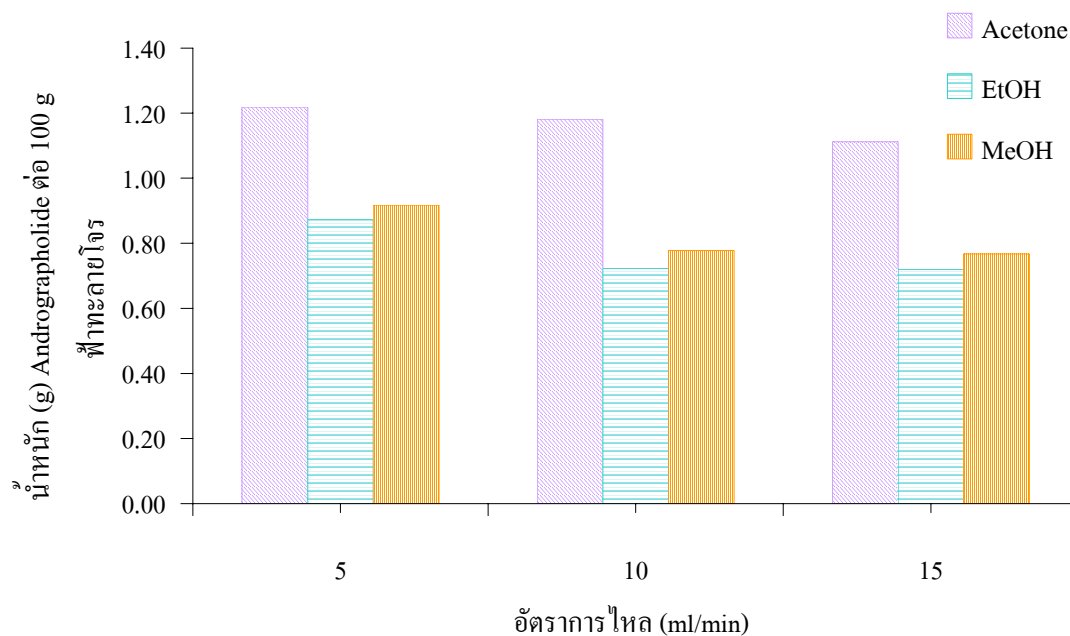


ภาพที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide กับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 45 °C

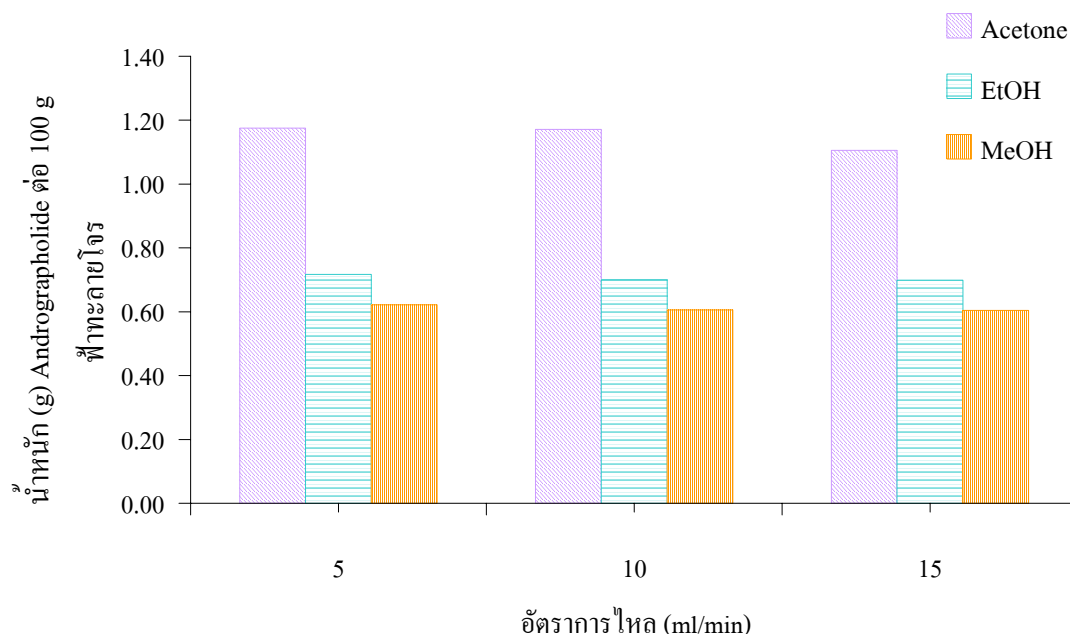
เมื่อนำเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide ที่สกัดด้วยเทคนิค GAS มาทำการคำนวณหาปริมาณสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของฟ้าทะลายโจร พบว่าอิทธิพลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีต่ออัตราส่วนน้ำหนักสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของฟ้าทะลายโจรให้ผลการทดลองที่มีแนวโน้มเช่นเดียวกับอิทธิพลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide ดังแสดงได้ดังภาพที่ 11 12 และ 13



ภาพที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของ ฟัทะลายโจรกับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 35 °C



ภาพที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของ ฟัทะลายโจรกับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 40 °C

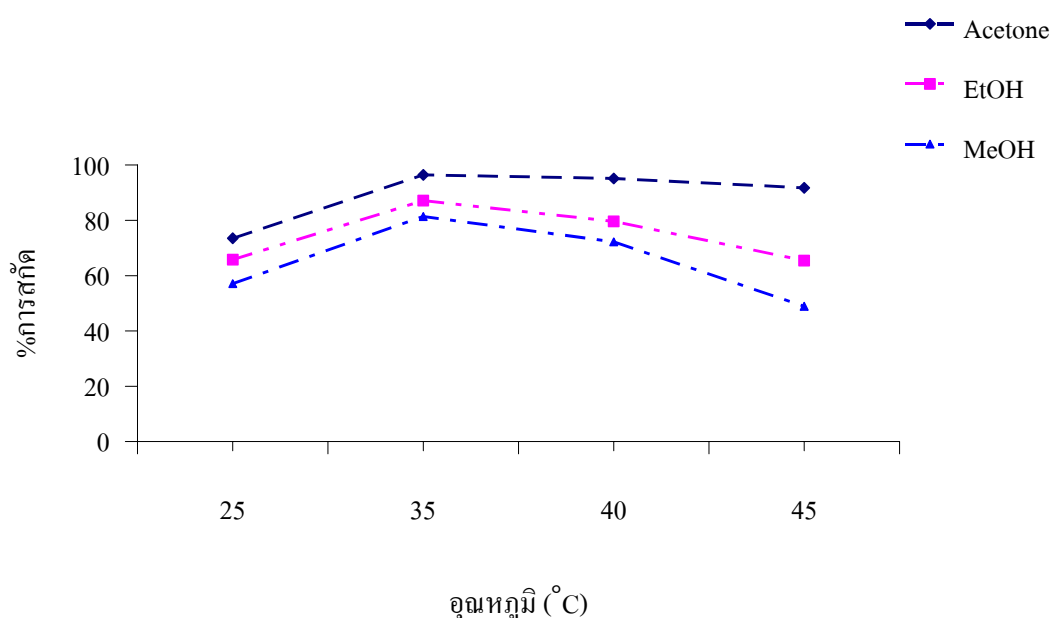


ภาพที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของ ฟัทะลายโจรกับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ อุณหภูมิ 45 °C

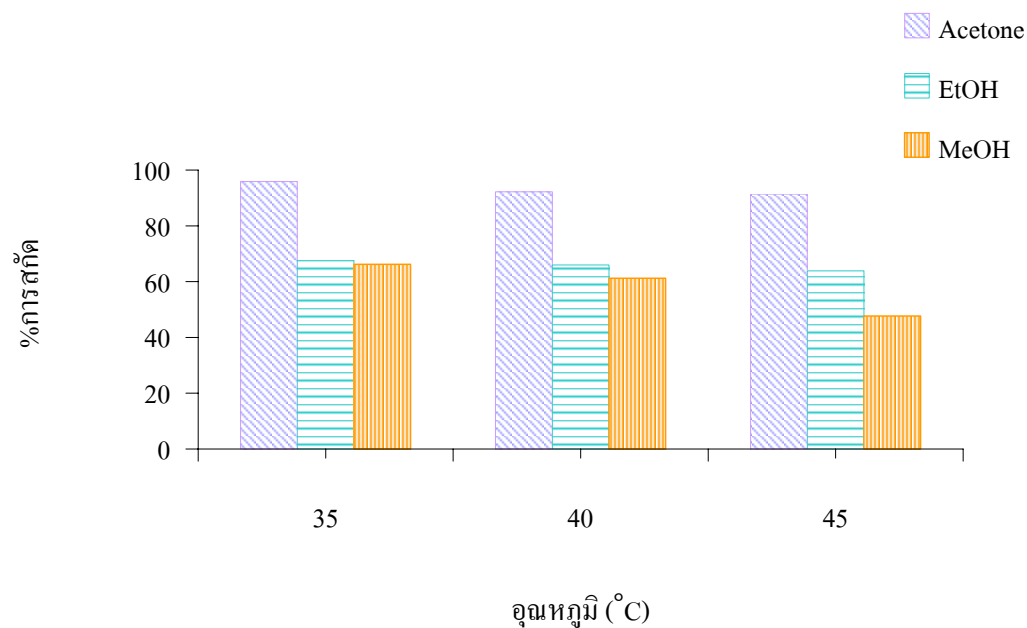
2.2 อิทธิพลของอุณหภูมิต่อปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้

การทดลองในส่วนนี้เป็นการศึกษาการสกัดสาร Andrographolide จาก สารละลายอินทรีย์ที่มีเมทานอล เอทานอล และอะซีโตน เป็นตัวทำละลายด้วยเทคนิค GAS โดยใช้ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 5 มิลลิตรต่อนาที แต่ทำการปรับเปลี่ยนอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดโดยอุณหภูมิที่เลือกใช้สำหรับการทดลองในส่วนนี้คือ 25 °C ถึง 45 °C จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดสาร Andrographolide จาก 25 °C เป็น 35 °C โดยใช้ เมทานอล เอทานอล และ อะซีโตน เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ พบว่าจะส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การสกัดที่ได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นดังภาพที่ 14 ทั้งนี้เนื่องจากความสามารถในการแพร่ของคาร์บอนไดออกไซด์ จะสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น จึงส่งผลให้เกิดการอิมตัวของวัฏภาคของเหลวได้ดีกว่า ทำให้การตกผลึกของตัวถูกละลายเกิดได้สูงกว่า ดังนั้นปริมาณการสกัดสาร Andrographolide ที่ได้จึงเพิ่มขึ้นด้วยเหตุนี้การใช้อุณหภูมิที่ 35 °C จึงดีกว่าการใช้อุณหภูมิที่ 25 °C แต่เมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงกว่า 35 °C เป็น 40 °C และ 45 °C จะพบว่าเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide ที่ได้มีแนวโน้มลดลง ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากเมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น ส่งผลให้ความสามารถใน

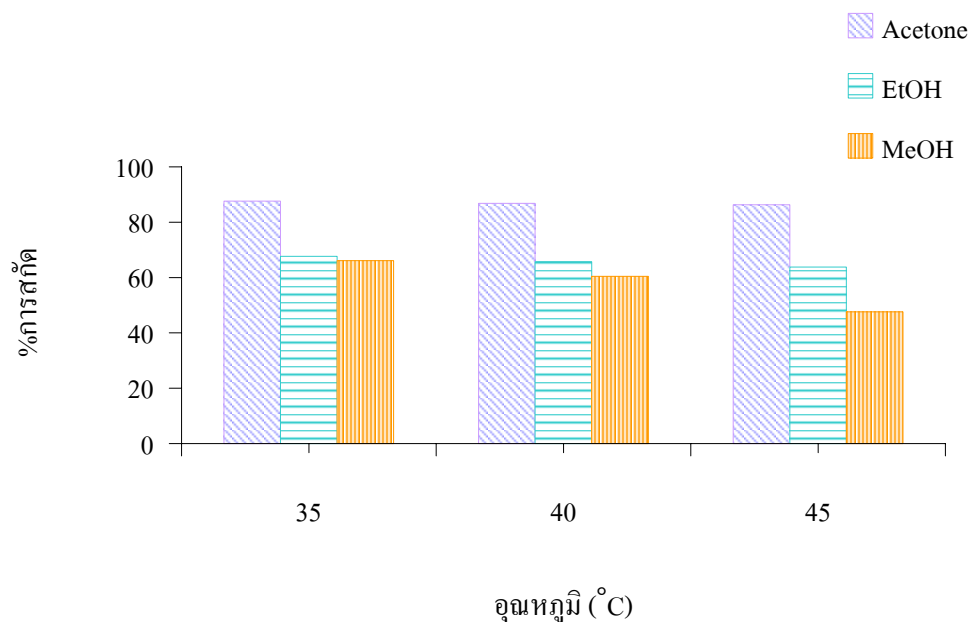
การละลายของสาร Andrographolide ในตัวทำละลายผสม (ตัวทำละลายอินทรีย์ผสมกับคาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะใกล้จุดวิกฤต) เพิ่มขึ้น (Thiering, 1998) และนอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ ยังส่งผลให้ความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ลดลงด้วย ส่งผลให้การอิมตัวของสารละลายจากการเติม dense CO_2 ช้ากว่าการใช้อุณหภูมิที่ต่ำ จึงทำให้ปริมาณการสกัดสารที่ได้ลดลง ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการใช้อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 10 และ 15 มิลลิตรต่อนาที โดยมีเมทานอล เอทานอล และอะซีโตนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ดังภาพที่ 15 และ 16 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการใช้อุณหภูมิที่ $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ ในการสกัดสาร Andrographolide จะได้ประสิทธิภาพในการสกัดสารที่สูงสุด



ภาพที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide กับอุณหภูมิโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 5 ml/min

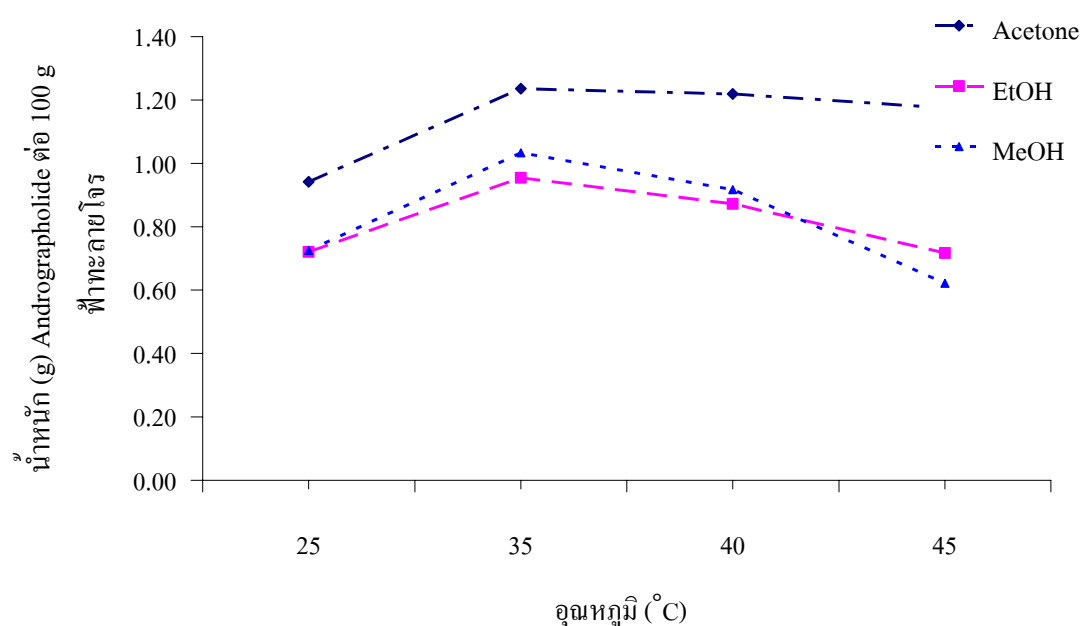


ภาพที่ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสํักสาร Andrographolide กับอุณหภูมิโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 10 ml/min

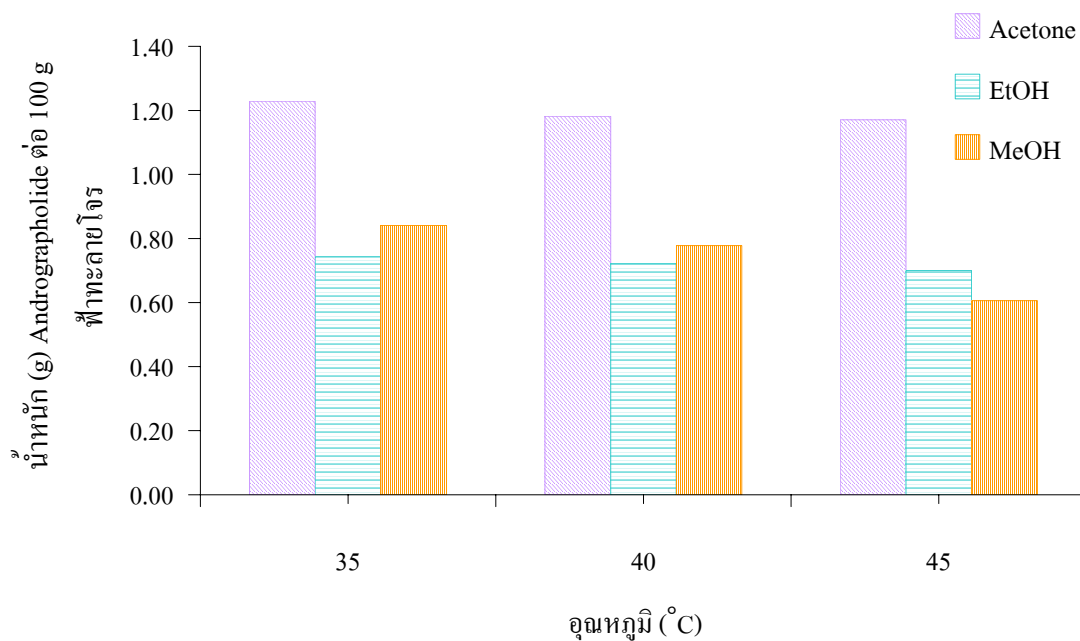


ภาพที่ 16 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสํักสาร Andrographolide กับอุณหภูมิโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 15 ml/min

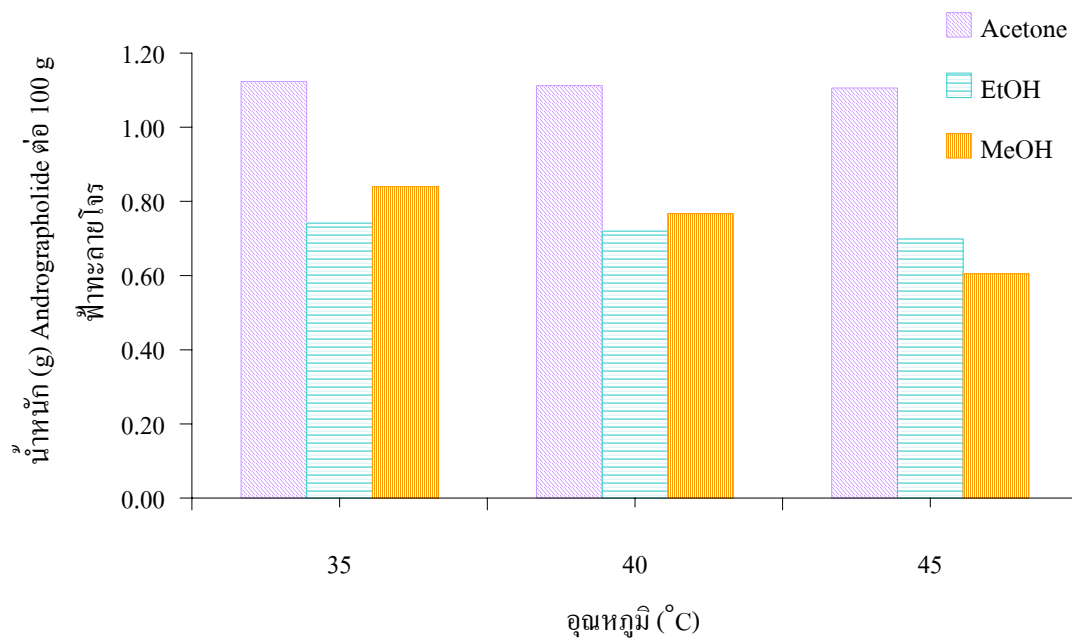
เมื่อนำเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide ที่สกัดด้วยเทคนิค GAS มาทำการคำนวณหาปริมาณสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของฟ้าทะลายโจร พบว่าอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีต่ออัตราส่วนน้ำหนักสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของฟ้าทะลายโจรให้ผลการทดลองที่มีแนวโน้มเช่นเดียวกันกับอิทธิพลของอุณหภูมิต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide ดังแสดงได้ดังภาพที่ 17 18 และ 19



ภาพที่ 17 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของฟ้าทะลายโจรกับอุณหภูมิโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 5 ml/min



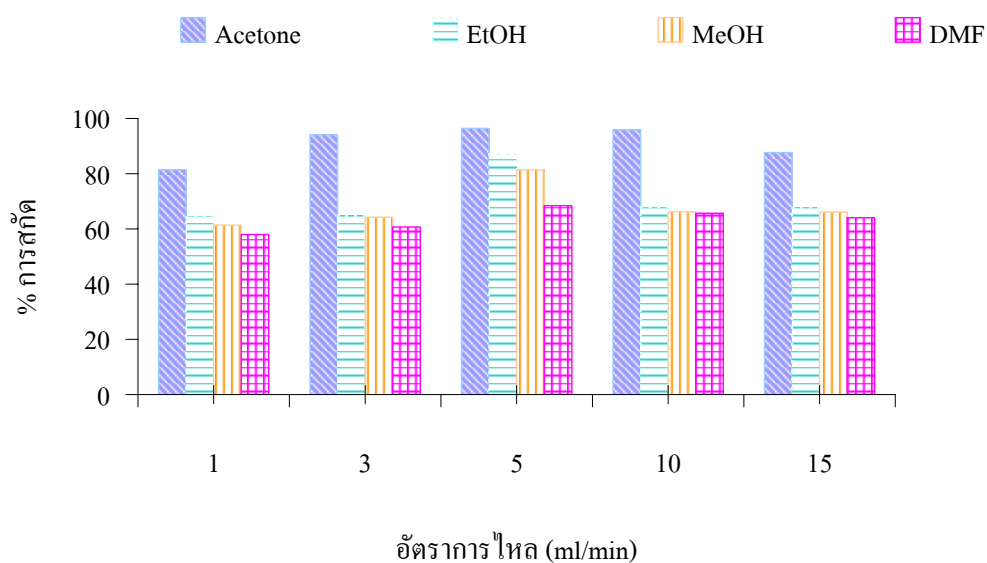
ภาพที่ 18 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของ
ฟัทะลายโจรกับอุณหภูมิโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อัตราการไหลของ
คาร์บอนไดออกไซด์ 10 ml/min



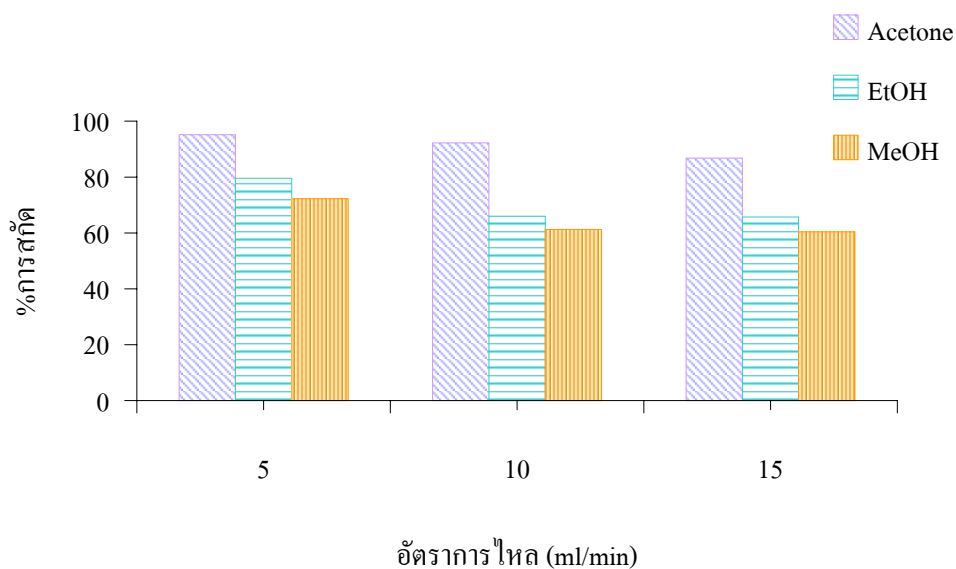
ภาพที่ 19 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของ
ฟัทะลายโจรกับอุณหภูมิโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อัตราการไหลของ
คาร์บอนไดออกไซด์ 15 ml/min

2.3 อิทธิพลของชนิดตัวทำละลายต่อปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้

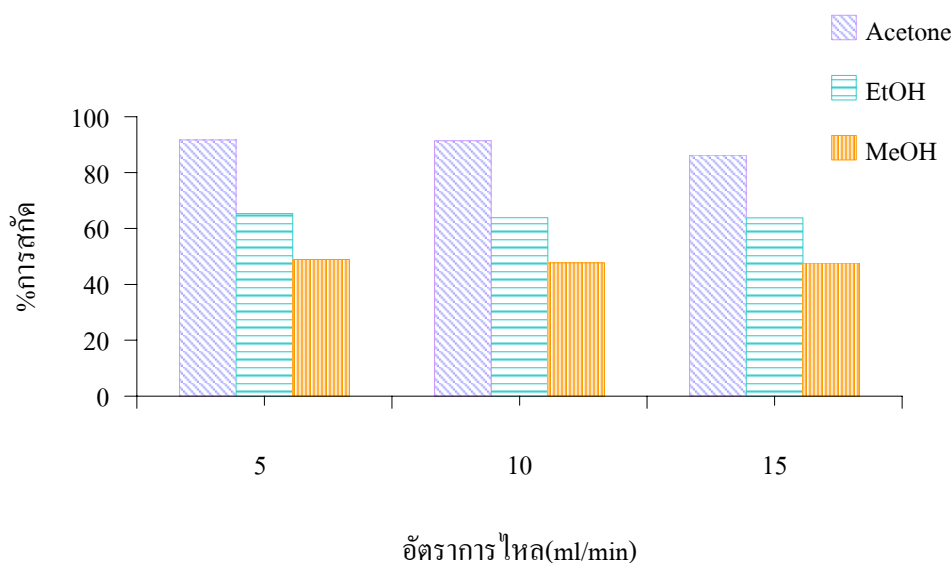
การทดลองในส่วนนี้เป็นการศึกษาการสกัดสาร Andrographolide ด้วยเทคนิค GAS ที่มีตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้แก่ เมทานอล เอทานอล อะซีโตน และ ไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (DMF) โดยมีการควบคุมอุณหภูมิในช่วง 25-45 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ ในช่วง 1-15 มิลลิลิตรต่อนาที จากผลของอิทธิพลของตัวทำละลายพบว่า ที่สภาวะการสกัดเดียวกัน (อุณหภูมิ และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์) การใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายจะให้เปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide สูงกว่าการใช้เอทานอล เมทานอล และไดเมทิลฟอร์มาไมด์ ดังภาพที่ 20 21 และ 22 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากคาร์บอนไดออกไซด์สามารถละลายในวัฏภาคของเหลวที่มีการใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายได้ดีกว่าการใช้เอทานอล เมทานอล และไดเมทิลฟอร์มาไมด์ จึงส่งผลให้เกิดการอิมตัวในวัฏภาคของเหลวได้ดีกว่า เป็นผลให้การตกตะกอนของสาร Andrographolide ที่ใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายจึงสูงกว่าการใช้เอทานอล เมทานอล และไดเมทิลฟอร์มาไมด์ ดังสมมูลวัฏภาคระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ กับคาร์บอนไดออกไซด์ ที่แสดงดังภาคผนวก ก ซึ่งพบว่าที่ความดันเท่ากัน ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่สามารถละลายในเฟสของเหลวที่มีอะซีโตนเป็นตัวทำละลาย จะมีค่าสูงกว่าการใช้เอทานอล เมทานอล และไดเมทิลฟอร์มาไมด์ เป็นตัวทำละลาย



ภาพที่ 20 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide กับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 35 °C

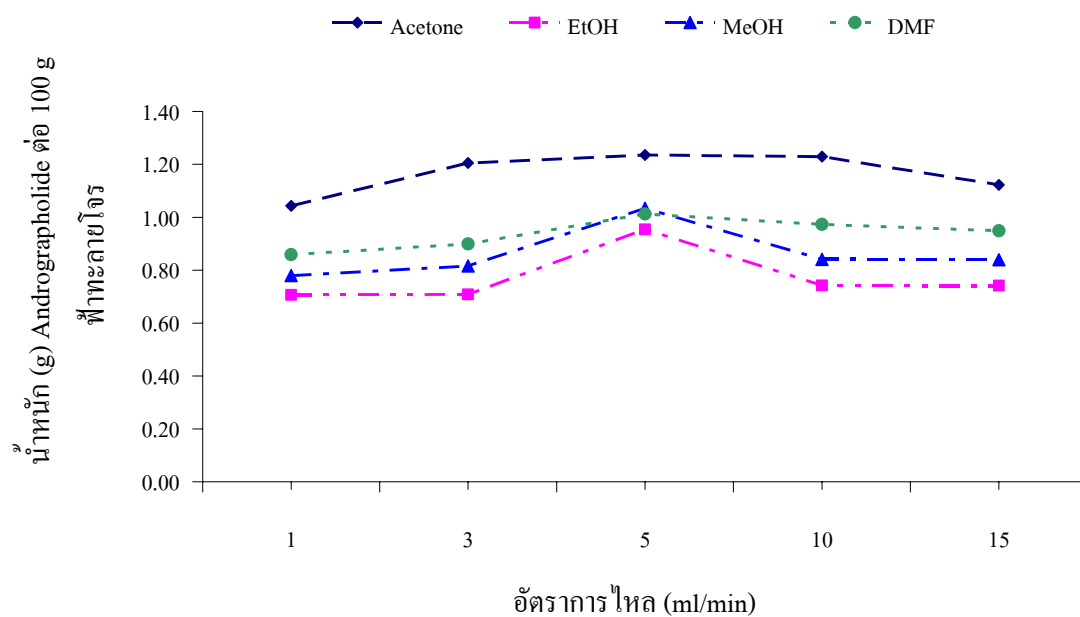


ภาพที่ 21 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide กับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 40 °C

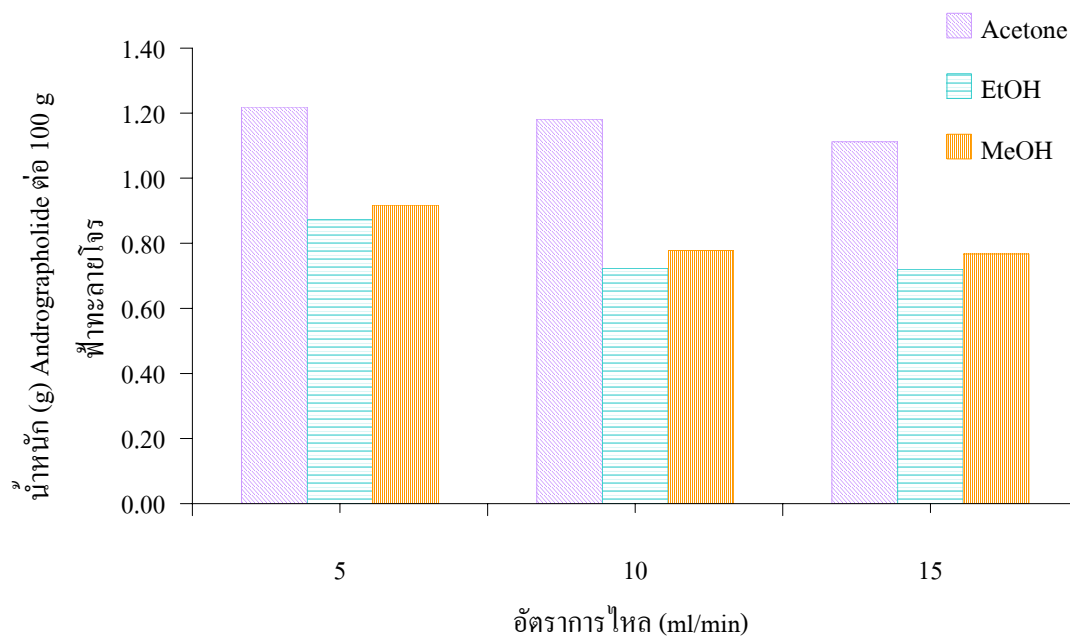


ภาพที่ 22 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide กับอัตราการไหลของ คาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 45 °C

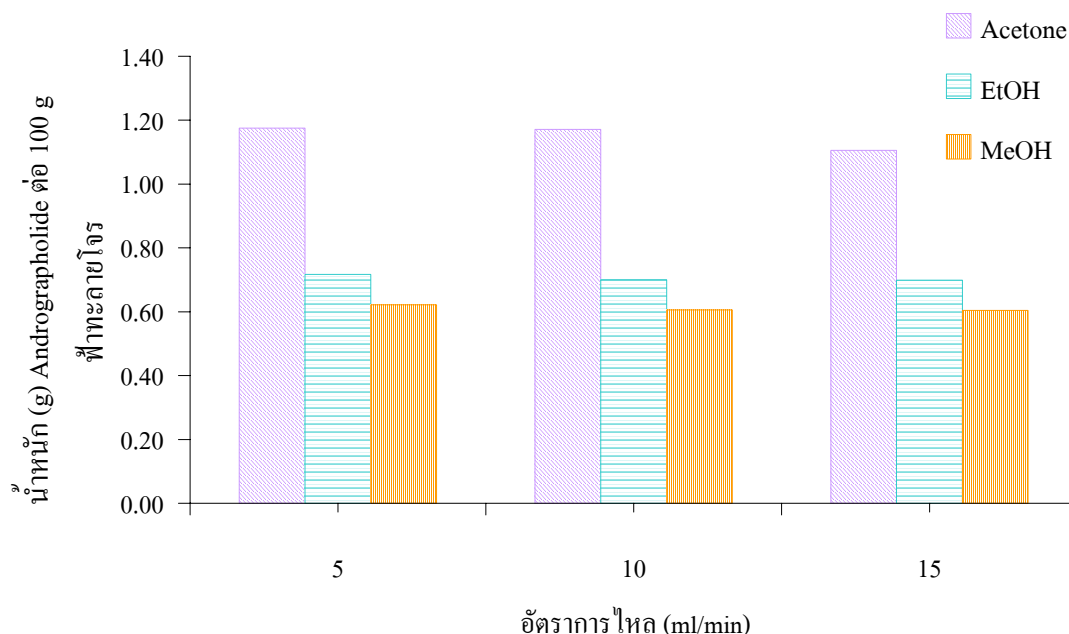
เมื่อนำเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร Andrographolide ที่สกัดด้วยเทคนิค GAS มาทำการ คำนวณหาปริมาณสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของฟ้าทะลายโจร ดังภาพที่ 23 24 และ 25 พบว่าการใช้เอะซีโตนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ยังก่อให้เกิดการสกัดสาร Andrographolide ในปริมาณ ที่สูงที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าการสกัดสาร Andrographolide ด้วยเทคนิค GAS โดยใช้ ไดเมทิล ฟอร์มาไมด์ เป็นตัวทำละลายอินทรีย์จะทำให้ปริมาณสาร Andrographolide ที่คิดเป็นน้ำหนักสาร Andrographolide (กรัม) ต่อ 100 กรัมฟ้าทะลายโจร ที่สูงกว่าการใช้เมทานอล และเอทานอล ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องมาจากการสกัดสาร Andrographolide ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์โดยใช้การ ปั่นกวนด้วยเครื่องกวนแท่งแม่เหล็กดังแสดงในตารางที่ 5 นั้นพบว่าการใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์เป็น ตัวทำละลายอินทรีย์สามารถสกัดสาร Andrographolide ได้ดีกว่าการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิด อื่นๆ



ภาพที่ 23 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของ ฟัทะลายโจรกับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 35 °C



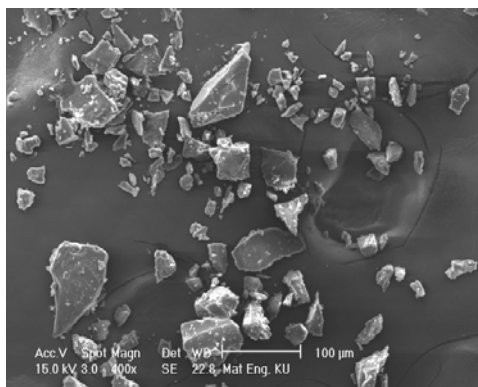
ภาพที่ 24 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของ ฟัทะลายโจรกับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 40 °C



ภาพที่ 25 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนน้ำหนักของสาร Andrographolide ต่อ 100 กรัมของ ฟัทะลายโจรกับอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 45 °C

3. อิทธิพลของสถานะต่างๆ ที่มีต่อลักษณะของอนุภาค

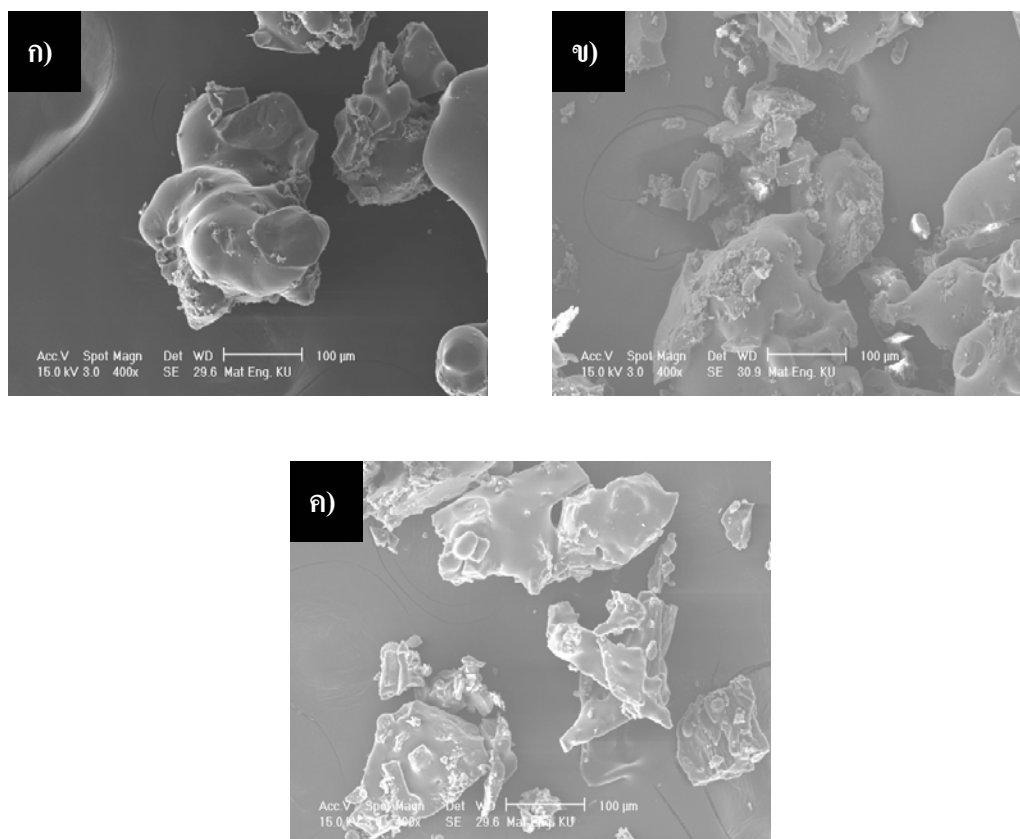
การทดลองในส่วนที่สามนี้เป็นการศึกษาอิทธิพลของสถานะที่ใช้ในการสกัดสาร Andrographolide จากฟัทะลายโจรด้วยเทคนิค GAS ที่มีผลต่อขนาดและรูปร่างอนุภาคของสาร Andrographolide ที่สกัดได้ ทั้งนี้เนื่องมาจากการสกัดสารโดยใช้เทคนิค GAS นี้สามารถลดขนาดของอนุภาคสารที่เกิดจากการตกตะกอนได้ ด้วยเหตุนี้กระบวนการ GAS จึงส่งผลดีต่อการผลิตสารที่ต้องการใช้ประโยชน์จากขนาดอนุภาคของสารที่เล็กลงโดยเฉพาะยารักษาโรค ทั้งนี้เนื่องจากขนาดของยาที่เล็กลงจะทำให้อัตราการละลายของยา และการดูดซึมตัวยาสารสามารถเกิดได้ดีขึ้น ทำให้การรักษาโรคมมีประสิทธิภาพมากขึ้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาอิทธิพลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ อุณหภูมิ และชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ เมทานอล เอทานอล และอะซีโตน ที่มีผลต่อลักษณะอนุภาคของสารที่สกัดได้โดยอนุภาคที่ได้จะถูกนำไปศึกษาลักษณะ และขนาดของอนุภาค โดยใช้เครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM) และทำการเปรียบเทียบกับอนุภาคของ Andrographolide บริสุทธิ์ ที่แสดงดังภาพที่ 26



ภาพที่ 26 ภาพแสดงขนาดอนุภาค (SEM micrograph) กำลังขยาย 400 เท่าของสาร Andrographolide บริสุทธิ์ จากบริษัท Aldrich

3.1 อิทธิพลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ใช้ในการสกัดต่อลักษณะอนุภาคของสารที่สกัดได้

การทดลองในส่วนนี้เป็นการศึกษาอิทธิพลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลักษณะอนุภาคของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS ทั้งนี้เนื่องมาจากมีการศึกษา พบว่าการใช้อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่แตกต่างกันจะส่งผลต่อขนาดอนุภาคของสารที่ตกผลึกได้ (Chen *et al.*, 2005) ดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาอิทธิพลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลักษณะอนุภาค และขนาดของสารที่สกัดได้ และได้เลือกใช้สภาวะสำหรับการศึกษาอิทธิพลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ ที่อัตราการไหล 5 10 และ 15 มิลลิลิตรต่อนาที และอุณหภูมิสำหรับการสกัดสารด้วยเทคนิค GAS คือ 35 °C โดยมีอะซีโตนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ จากการทดลองที่ได้สามารถแสดงผลการทดลองได้ดังภาพที่ 27 พบว่าการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ไม่ส่งผลต่อลักษณะอนุภาคของสารที่ตกตะกอนออกมามากนัก เมื่อเทียบกับอนุภาคของ Andrographolide บริสุทธิ์ ดังภาพที่ 26 โดยตะกอนของ Andrographolide ที่สกัดได้มีลักษณะที่ไม่แน่นอนทั้งรูปร่าง และขนาด ทั้งนี้อาจเนื่องจากอนุภาคของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS นั้นจะมีลักษณะที่ไม่เป็นผลึกและมีความเหนียว และนอกจากนี้การตกตะกอนของสารมีมากกว่าหนึ่งชนิด จึงทำให้ลักษณะอนุภาคที่ได้มีรูปร่างและขนาดที่ไม่แน่นอน

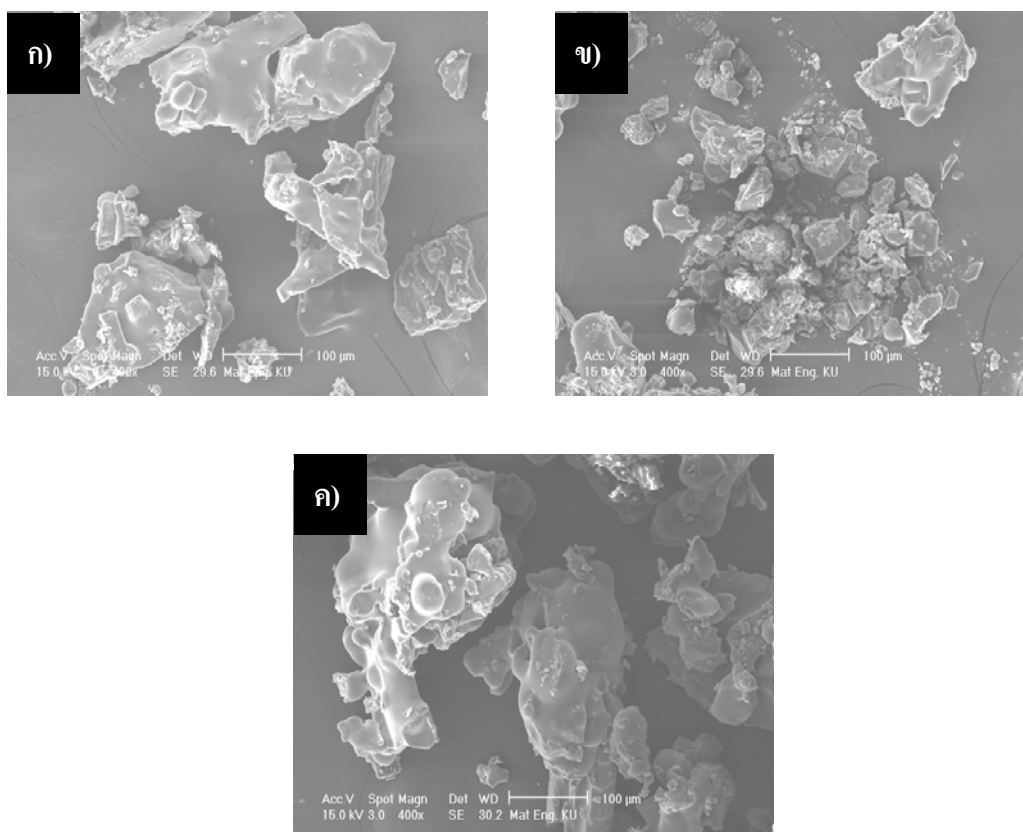


ภาพที่ 27 ภาพแสดงขนาดอนุภาค (SEM micrographs) กำลังขยาย 400 เท่าของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS อุณหภูมิ 35 °C ใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ที่อัตราการไหลของ CO₂ ต่างๆ ดังนี้ ก) 5 ml/min ข) 10 ml/min ค) 15 ml/min

3.2 อิทธิพลของอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

การทดลองในส่วนนี้เป็นการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่อลักษณะอนุภาคของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS ทั้งนี้เนื่องมาจากมีงานวิจัยที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น (Amaro-González *et al.*, 2000) พบว่าการใช้อุณหภูมิที่แตกต่างกันจะส่งผลต่อขนาดอนุภาคของสารที่ตกผลึกได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษอิทธิพลของอุณหภูมิต่อลักษณะอนุภาคของสารที่สกัดได้ โดยเลือกใช้สภาวะสำหรับการศึกษอิทธิพลของอุณหภูมิต่อลักษณะอนุภาคของสารที่สกัดได้ในครั้งนี้ คือการใช้อุณหภูมิ 35 40 และ 45 °C และควบคุมอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ให้คงที่ที่ 15 มิลลิลิตรต่อนาที ด้วยการใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย จากการทดลองที่ได้สามารถแสดงผลการทดลองได้ดังภาพที่ 28 พบว่าการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิไม่ส่งผลต่อลักษณะอนุภาคของสารที่ตกตะกอนออกมามากนักโดยอนุภาคที่ได้มีลักษณะที่ไม่แน่นอนทั้งขนาดและรูปร่าง ทั้งนี้อาจเนื่อง

เหตุผลเดียวกับอิทธิพลของอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลักษณะอนุภาคของสารที่สกัด โดยจากการตกตะกอนของสาร พบว่าลักษณะสารที่ได้มีความเหนียว จับตัวกันเป็นก้อนขนาดใหญ่ นอกจากนี้จากการวิเคราะห์สารที่ตกตะกอนด้วย HPLC ยังพบว่ามีการตกตะกอนมากกว่าหนึ่งชนิด ด้วยเหตุนี้จึงอาจทำให้ลักษณะอนุภาคที่ได้มีรูปร่างและขนาดที่ไม่แน่นอน

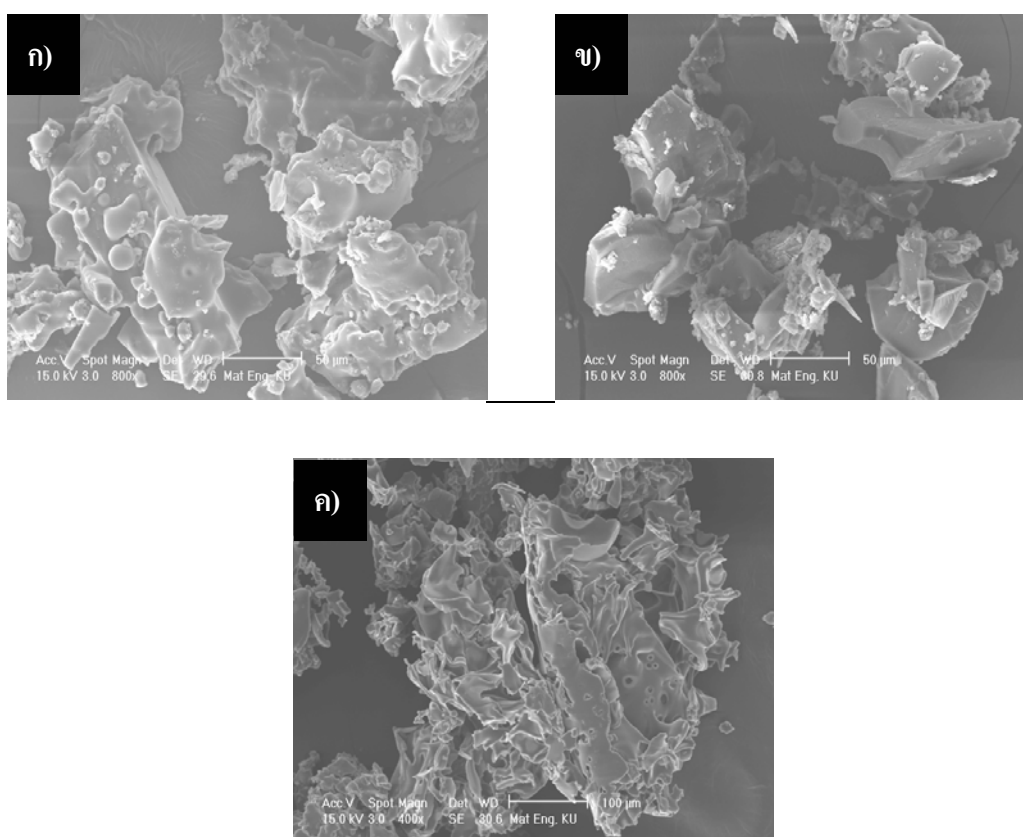


ภาพที่ 28 ภาพแสดงขนาดอนุภาค(SEM micrographs) กำลังขยาย 400 เท่าของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS ที่อัตราการไหลของ CO₂ 15 ml/min โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ และใช้อุณหภูมิต่างๆ ดังนี้ ก) 35 °C ข) 40 °C ค) 45 °C

3.3 อิทธิพลของชนิดตัวทำละลายอินทรีย์

การทดลองในส่วนนี้เป็นการศึกษาอิทธิพลของชนิดตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ต่อลักษณะอนุภาคของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS ทั้งนี้เนื่องมาจากการวิจัยก่อนหน้านี้ (จณา, 2005) พบว่าการใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันจะส่งผลให้ลักษณะอนุภาคของสารที่ได้มีความแตกต่างกันด้วย ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาอิทธิพลของชนิดตัวทำละลายอินทรีย์ต่อลักษณะ

อนุภาคของสารที่สกัดได้ โดยเลือกใช้สภาวะสำหรับการศึกษาอิทธิพลของชนิดตัวทำละลายต่อลักษณะอนุภาคของสารที่สกัดได้ในครั้งนี้ คือการใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ เมทานอล เอทานอล และอะซีโตน โดยมีการควบคุมอุณหภูมิ และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ให้คงที่ที่ 35°C และ 15 มิลลิเมตรต่อนาที ตามลำดับ จากการศึกษาสามารถแสดงผลการทดลองได้ดังภาพที่ 29 พบว่าการเปลี่ยนแปลงตัวทำละลายจะส่งผลให้ลักษณะอนุภาคของสารที่ตกตะกอนออกมามีลักษณะที่แตกต่างกันได้ แต่ลักษณะตะกอนที่ได้จะมีรูปร่างไม่แน่นอน ทั้งนี้อาจเนื่องจากลักษณะที่เหนียวของสารที่ตกตะกอนได้ รวมถึงสารที่ตกตะกอนออกมามีสารมากกว่าหนึ่งชนิด จึงอาจส่งผลต่อลักษณะของอนุภาคที่ได้จากการตกตะกอนของสารด้วยเทคนิค GAS

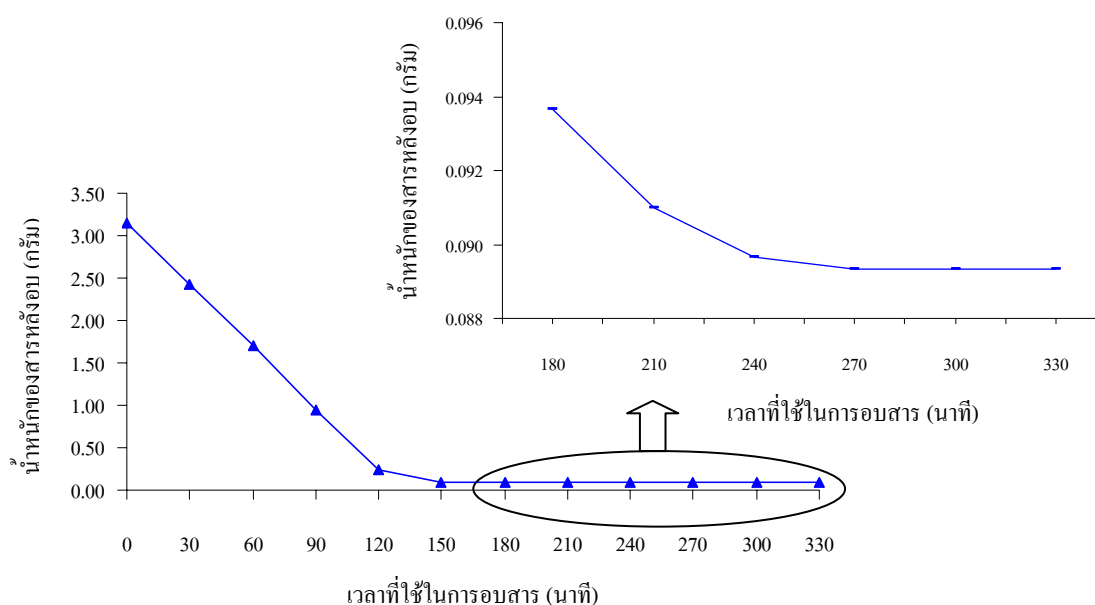


ภาพที่ 29 ภาพแสดงขนาดอนุภาค (SEM micrographs) กำลังขยาย 800 เท่าของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS ที่อุณหภูมิ 35°C อัตราการไหลของ CO_2 15 ml/min ในตัวทำละลายชนิดต่างๆ ดังนี้ ก) อะซีโตน ข) เอทานอล ค) เมทานอล

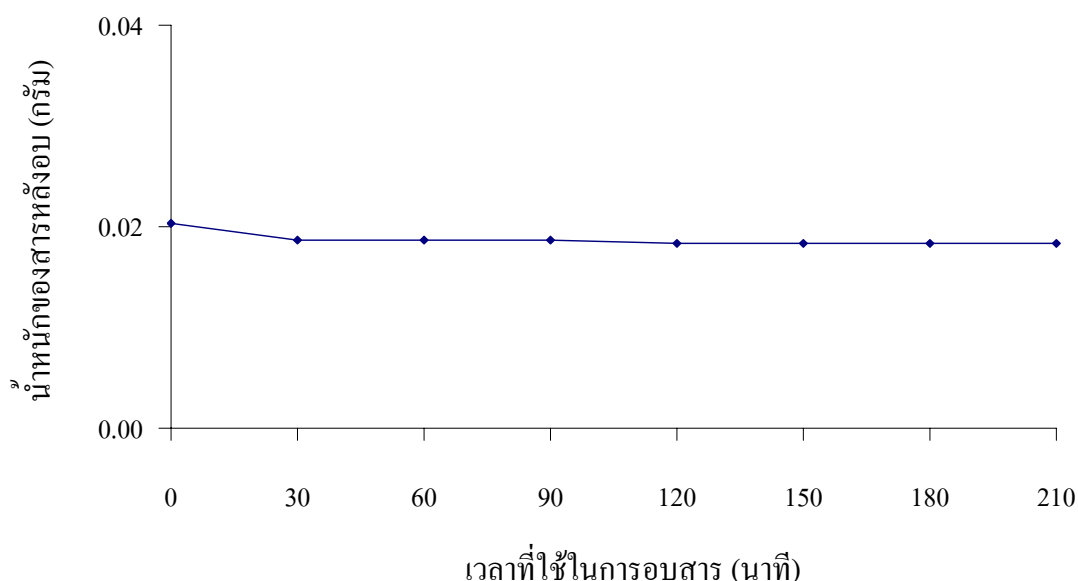
4. การเปรียบเทียบการสกัดสารด้วยเทคนิค GAS กับการอบสารละลายของฟ้าทะลายโจรให้แห้ง

ผลการทดลองส่วนนี้เป็นการเปรียบเทียบลักษณะสารที่ได้จากการสกัดฟ้าทะลายโจรด้วยเทคนิค GAS กับการอบสารละลายฟ้าทะลายโจรให้แห้ง โดยแบ่งออกเป็นสองส่วน ส่วนแรกเป็นการเปรียบเทียบเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดสาร Andrographolide ด้วยวิธีการอบสารละลายฟ้าทะลายโจรให้แห้ง กับการสกัดสาร Andrographolide จากเทคนิค GAS โดยใช้ปริมาณสารละลายของฟ้าทะลายโจรเริ่มต้นเท่ากันคือ 4 มิลลิลิตร ส่วนที่สองเป็นการเปรียบเทียบความจำเพาะในการสกัดสาร Andrographolide

จากภาพที่ 30 และ 31 พบว่าต้องใช้เวลาราว 270 นาที ในการอบสารละลายฟ้าทะลายโจรที่ได้จากการปั่นควนด้วยแท่งแม่เหล็ก ที่อุณหภูมิ 45 °C ความดันบรรยากาศ จึงจะทำให้สารแห้ง ซึ่งแตกต่างกับการสกัดสาร Andrographolide ด้วยเทคนิค GAS ที่ใช้เวลาในกระบวนการสกัดสารเพียง 120 นาที แต่ได้สารที่แห้งมากพอที่ทำให้ไม่ต้องการอบสารเพิ่ม แต่อย่างไรก็ตามลักษณะอนุภาคของสารที่สกัดได้จากทั้งสองวิธีนี้ถึงแม้จะแห้ง แต่อนุภาคที่ได้ก็ยังมีลักษณะที่เหนียวเหนียว

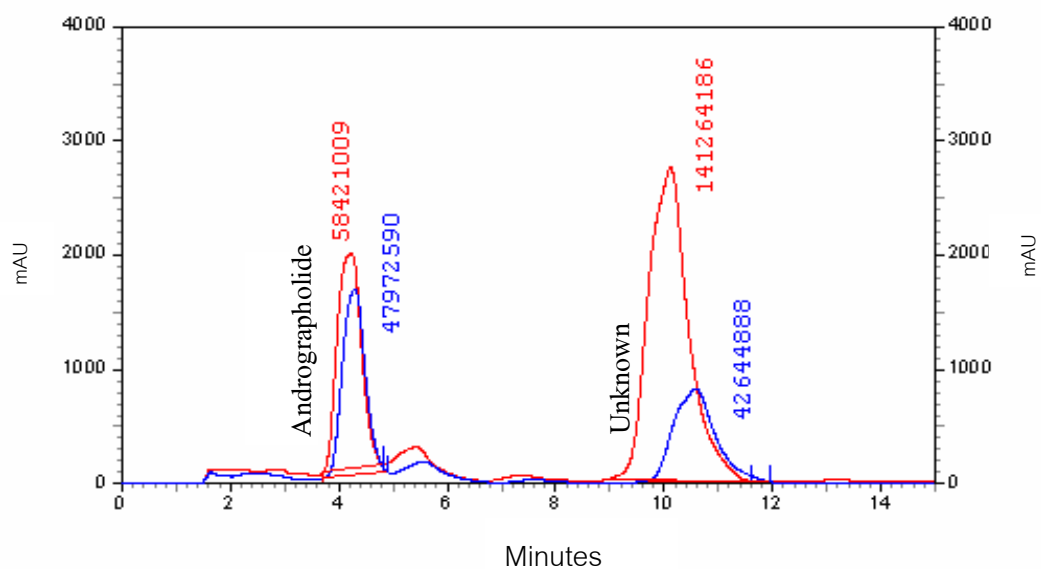


ภาพที่ 30 เวลาที่ใช้ในการอบสารละลายของฟ้าทะลายโจรปริมาณ 4 มิลลิลิตร โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45 °C



ภาพที่ 31 เวลาที่ใช้ในการอบสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS ที่อุณหภูมิ 45 °C

เนื่องจากการสกัดสารจากฟ้าทะลายโจรด้วยเทคนิค GAS ด้วยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ สามารถสกัดสารอื่นนอกเหนือจากสาร Andrographolide ออกมาได้ ดังภาพที่ 32 เมื่อทำการเปรียบเทียบความจำเพาะในการสกัดสาร Andrographolide ที่ได้จากทั้งสองวิธีนี้ พบว่าอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ใต้กราฟของสาร Andrographolide ต่อพื้นที่ใต้กราฟของของสารเจือปนชนิดอื่นที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์นั้นมีค่าเท่ากับ 0.41 ซึ่งจะต่ำกว่าสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS ที่ให้อัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟของสาร Andrographolide ต่อพื้นที่ใต้กราฟของของสารเจือปนชนิดอื่นเท่ากับ 1.12 นั้นหมายความว่า การสกัดสาร Andrographolide ด้วยเทคนิค GAS จะให้ผลการสกัดสารที่มีความจำเพาะเจาะจงสำหรับการสกัดสาร Andrographolide ที่สูงกว่าการสกัดสารด้วยตัวทำละลายอินทรีย์



ภาพที่ 32 ลักษณะกราฟที่ได้ และพื้นที่ใต้กราฟของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS (เส้นสีน้ำเงิน) เปรียบเทียบกับสารที่สกัดได้จากการอบสารละลายของฟ้าทะลายโจรให้แห้งโดยใช้ อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย (เส้นสีแดง)

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการสกัดสาร Andrographolide ลักษณะอนุภาคของสารที่สกัดได้ด้วยเทคนิค GAS โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นของไหลที่สภาวะใกล้จุดวิกฤต โดยปัจจัยที่ทำการศึกษา คือ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ อุณหภูมิ และชนิดของตัวทำละลาย จากการศึกษาสามารถสรุปผลได้ดังนี้

1. การสกัดสารโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ด้วยการปั่นกววนโดยใช้เครื่องกววนแท่งแม่เหล็ก พบว่าเวลา 2 ชั่วโมงเพียงพอต่อการสกัด เนื่องจากปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้สูงถึง 93.91 เปอร์เซ็นต์ ของสาร Andrographolide ที่สกัดได้ทั้งหมด

2. การสกัดสาร Andrographolide ด้วยเครื่องกววนแท่งแม่เหล็กโดยใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ จะให้ปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้สูงสุด รองลงมาคือ อะซิโตน เมทานอล และ เอทานอล ตามลำดับ

3. จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่ใช้ทำการสกัดสาร Andrographolide ที่ดีที่สุด คือการใช้ อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 5 มิลลิตรต่อนาที อุณหภูมิ 35 °C และใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย โดยปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้สูงสุด คือ 1.24 กรัมต่อ 100 กรัมของ ฟัทะลายโจร

4. จากการศึกษาอิทธิพลของสภาวะที่ใช้ในการสกัดสาร Andrographolide ด้วยเทคนิค GAS ต่อลักษณะอนุภาคของสารที่ตกผลึกได้พบว่าอัตราการไหล และอุณหภูมิไม่มีอิทธิพลต่อลักษณะอนุภาคของสารที่ตกผลึกได้ แต่เมื่อทำการเปลี่ยนแปลงชนิดตัวทำละลายที่ใช้ พบว่าลักษณะอนุภาคที่ได้จะมีความแตกต่างกัน แต่รูปร่างของผลึกที่ได้จะมีรูปร่างที่ไม่แน่นอน

5. ในส่วนของการศึกษาการเปรียบเทียบการสกัดสาร Andrographolide ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ กับการสกัดด้วยเทคนิค GAS พบว่าการสกัดสาร Andrographolide ด้วยเทคนิค GAS จะใช้เวลาในการสกัดที่น้อยกว่าการสกัดสาร Andrographolide ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เนื่องจากการสกัดสาร Andrographolide ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต้องทำการระเหยตัวทำละลายอินทรีย์เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่แห้ง ซึ่งต้องใช้เวลาในการระเหยที่นาน

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากสารที่สกัดได้ในการทดลองนี้จากเทคนิค Gas Anti-Solvent จะมีลักษณะเหนียวหนืด ทำให้อนุภาคที่ได้มีการเกาะรวมกัน เมื่อนำมาศึกษาลักษณะอนุภาคของสารที่ได้นี้พบว่ามีลักษณะรูปร่าง และขนาดที่ไม่แน่นอน ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาหาวิธีทำให้สารที่ได้นี้มีความบริสุทธิ์ และสามารถทำให้อนุภาคที่ได้มีลักษณะที่แห้งไม่จับตัวกันเป็นกลุ่มก้อน เพื่อที่จะสามารถศึกษาอิทธิพลของสภาวะการสกัดที่มีต่อขนาด และรูปร่างของ Andrographolide ได้อย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น

2. ควรมีการศึกษาหาวิธีการทำให้สารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS นี้มีความบริสุทธิ์ 100% เพื่อสามารถใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ต่อไปได้ และเนื่องจากในการทดลองครั้งนี้เป็นการทดลองเบื้องต้น จึงยังไม่ได้มีการวิเคราะห์หาปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ที่ตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ และสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในฟ้าทะลายโจรชนิดอื่นๆ ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปควรมีการวิเคราะห์หาสารออกฤทธิ์ชนิดอื่นที่สามารถสกัดได้จากฟ้าทะลายโจร นอกเหนือจากสาร Andrographolide และควรมีการทดสอบหาปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ที่ตกค้างอยู่ในสารที่สกัดได้ ถึงแม้ในการทดลองครั้งนี้พบว่าสารที่สกัดได้จากกระบวนการ GAS จะมีลักษณะที่ค่อนข้างแห้งก็ตาม

3. ก่อนทำการทดลองต้องตรวจสอบรอยรั่วของข้อต่อต่างๆ เนื่องจากการทดลองนี้ต้องใช้ที่ความดันสูง ซึ่งอาจทำให้เกิดอันตรายได้ และควรทำการล้างท่อและข้อต่อต่างๆ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของสารเจือปน

4. การสกัดสาร Andrographolide ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ในงานวิจัยนี้ ได้ใช้การปั่นกวาดด้วยแท่งแม่เหล็ก ซึ่งเป็นอุปกรณ์อย่างง่าย จึงอาจทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดสารที่ได้มีค่าต่ำ ดังนั้นอาจจะมีการทดลองใช้อุปกรณ์ที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสารเพิ่มขึ้น เช่นการใช้ถังกวนที่สามารถควบคุมอุณหภูมิ อัตราการปั่นกวาด รวมถึงประสิทธิภาพในการปั่นกวนสารให้มีความเป็นเนื้อเดียวกันมากกว่าอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองนี้

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- จณา ทัพพลี. 2548. การผลิตอนุภาคคอมพอลิเมอร์-ยาด้วยกระบวนการที่ใช้ของไหลที่สถานะใกล้จุดวิกฤต. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นันทิยา หวังศรีโรจน์. 2545. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ฟ้าทะลายโจรในรูปแบบสารสกัดเข้มข้น. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- ยรรยง สุขคล้าย. 2547. การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรฟ้าทะลายโจรโดยใช้ถังกวนขนาดก่อนโรงงานต้นแบบ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วันวิสาข์ เอี่ยมวิเชียร และ ศิริรัตน์ งามจิตรวิทยากุล. 2542. การศึกษากระบวนการสกัดฟ้าทะลายโจรในระดับห้องปฏิบัติการ. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Amaro-González, D., G. Mabe, M. Zabalo and E.A. Brignole, 2000. Gas antisolvent crystallization of organic salts from aqueous solutions. *Journal of Supercritical Fluids*. 17: 249-258.
- Azevedo, A., Uiram Kopcak and Rahoma S. Mohamed. 2003. Extraction of fat from fermented Cupuacu seeds with supercritical solvents. **Journal of Supercritical Fluids**. 27: 223-237.
- Bright, F.V. and P. Mary Ellen McNally. 1992. **Supercritical fluid technology: theoretical and applied approaches to analytical chemistry**. American Chemical Society, Washington, D.C.
- Burke, J. 1984. **Solubility Parameters: Theory and Application**. The Oakland Museum of California

- Charoenchaitrakool, M., F. Dehghani, N.R. Foster and H.K. Chan. 2000. Micronization by Rapid Expansion of Supercritical Solution to Enhance the Dissolution Rates of Poorly Water Soluble. **Ind. Eng. Chem. Res.** 39: 4794-4802.
- Chen, K., X. Zhang, J. Pan and W. Yin. 2005. Recrystallization of andrographolide using the supercritical fluid antisolvent process. **Journal of Crystal Growth.** 274: 226-232.
- Cocero M. J. and S. Ferrero. 2002. Crystallization of β -carotene by GAS process in bath Effect of operating conditions. **Journal of Supercritical Fluids.** 22: 237-245.
- Day, C.Y., J.C. Chiehming and Y.C. Chiu. 1996. Phase Equilibrium of Ethanol + CO₂ and Acetone + CO₂ at Elevated Pressures. **J. Chem. Eng. Data.** 41: 893-843
- Dehghani, F. 1996. **Extraction of rare earth metals using the dense gas process.** Ph.D. Thesis, The University of New South Wales.
- Döker, O., U. Salgin, I. Sanal, Ü Mehmetolu and A. Çalimli. 2004. Modeling of extraction of β -carotene from apricot bagases using supercritical CO₂ in packed bed extractor. **Journal of Supercritical Fluids.** 28: 11-19.
- Engwicht, A., U. Girreser and B.W. Muller. 2000. Characterization of co-polymers of lactic and glycolic acid for supercritical fluid processing. **Biomaterials.** 21: 1587-1593
- Frank, S. G. and C. Ye. 2000. Small Particle Formation and Dissolution Rate Enhancement of Relatively Insoluble Drugs Using Rapid Expansion of Supercritical Solution (RESS) Processing. *In The Proceedings of the 5th International Symposium of Supercritical Fluids.* Atlanta.
- Foster, N.R., S.L.J. Yun, A. Dillow, P.A. Wells and F.P. Lucien. 1997. A fundamental Study of the Gas Anti-solvent Process, pp. 27-29. *In The 4th International Symposium on*

Supercritical Fluids, International Society for the Advancement of Supercritical Fluids (ISASF).

- Foster, N., R. Mammucari, F. Dehghani, A. Barrett, K. Bezanehtak, E. Coen, G. Combes, L. Meure, A. Ng, H.L. Regtop and A. Tandy. 2003. Processing Pharmaceutical Compounds Using Dense Gas Technology. **Ind. Eng. Chem. Res.** 42: 6476-6493.
- Ghaderi, R., P. Artursson and J. Carlfors. 2000. **A new method for preparing biodegradable microparticles and entrapment of hydrocortisone in DL-PLG microparticles using supercritical fluids.** 10: 1-9.
- Jha, S. K. and G. Madras. 2005. Correlations for binary phase equilibria in high-pressure carbon dioxide. **Fluid Phase Equilibria.** 238: 174-179.
- Jian-Guo, C., X. C. Liao and Z. Y. Zhou. 1997. Microparticle Formation and crystallization rate of HMX Using Supercritical Carbon Dioxide Antisolvent Recrystallization. *In* **The 4th International Symposium on Supercritical Fluids.**
- Kerc, J., S. Srcic, Z. Knez and P. Sencar-Bozic. 1999. Micronization of Drugs Using Supercritical Carbon Dioxide. **Int. J. Pharm.** 182: 33-39.
- Kim, Y., Y. H. Choi, Y.W. Chin, Y. P. Jang, Y. C. Kim and J. Kim. **Effect of Plant Matrix and Fluid Ethanol Concentration on SFE Efficiency of Schisandrin Derivatives.** College of Pharmacy and Reseach Institute of Pharemaceutical Sciences, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea.
- Knez, Z. and Z. Novak. 1998. Materials Processing with Dense Gases, pp. 13-19. *In* **Preceeding of the 5 th ed. Meeting on Supercritical Fluids.**

- Lang, Q. and C. M. Wai. 2001. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies-a practical review. **Talanta**. 53: 771-782.
- Librando, V., O. Hutzinger, G. Tringali and M. Aresta. 2004. Supercritical fluid extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from marine sediments and soil samples. **Chemosphere**. 54: 1189-1197.
- Louli, V., G. Folas, E. Voutsas and K. Magoulas. 2003. Extraction of parsley seed oil by supercritical CO₂. **Journal of Supercritical Fluids**. (In pressed).
- Mishima, K., K. Matsuyama, D. Tanabe, S. Yamauchi, T.J. Young and K.P. Johnston. 2000. Microencapsulation of Proteins by Rapid Expansion of Supercritical Solution with a Nonsolvent. **AIChE Journal**. 46: 857-865.
- Raynie, D. E. 1997. Chapter 5 Meeting the Natural Products Challenge with Supercritical Fluids. 68-75. In Abraham, M. A.; Sunol, A. K., eds. **Supercritical Fluids: Extraction and Pollution**. ACS Symposium Series 670. American Chemical Society. Washington, DC.
- Reid, R. C., J.M. Prausnitz and T.K. Sherwood. 1977. **The Properties of Gases and Liquids**; 3 th- ed. McGraw-Hill Book Co. New York.
- Savage, P.E., S. Gopalan, T. I. Mizan, C. J. Martino and E. E. Brock. 1995. Reactions at Supercritical Conditions: Applications and Fundamentals. **AIChE J.** 41: 1723-1778.
- Sze, T. L., F. Dehghani and Foster N.R. 2002. Micronisation and microencapsulation of pharmaceuticals using a carbon dioxide antisolvent. **Power Technology**. 126: 134-149.
- Thiering, R., M. Charoenchaitrakool, L. Sze Tu, F. Dehghani, A.K. Dillow and N.R. Foster 1998. Crystallization of para-hydroxybenzoic acid by solvent expansion with dense

carbon dioxide, pp. 291-296. *In Proc. 5th Meeting on Supercrit. Fluids, Nice, France, International Society for the Advancement of Supercritical Fluids (ISASF).*

Tonthubthimthong, P., C. Supaporn, P. Douglas and W. Luewisutthichat. 2001. Supercritical CO₂ extraction of nimbin from neem seeds-an experimental study. **Journal of Food Engineering**. 47: 289-293.

Tom J.W. and Debenedetti. 1991. Partical formation with supercritical fluids-a review. **Journal of Aerosol Science**. 22: 555-584.

Warwick, B., F. Dehghani and N. R. Foster. 2002. Micronization of Copper Indomethacin Using Gas Antisolvent Processes. **Ind. Eng. Chem. Res.** 41: 1993-2004.

Weidner, E.,R. Steiner and Z. Knez. 1996. Powder Generation from Polyethyleneglycols with Compressible Fluids. **High Pressure Chemical Engineering**. P. R. von Rohn, C. Trepp (Eds.). Elsevier. 223-228.

Wells, S.L., E. Buhler, A. Dobrynin, M. Adam, J. M. DeSimone and M. Rubinstein.
Investigation of Polymeric Surfactants in CO₂ by Light Scattering Techniques. Chemistry Department University of North Carolina at Chapel Hill

Westerman, D., R.C.D. Santos, J.A. Bosley, J.S. Rogers and B. Al-Duri. 2006. Extraction of Amaranth seed oil by supercritical carbon dioxide. **J. of Supercritical Fluids**. 37: 38-52.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
สารที่สามารถลดขนาดได้โดยเทคนิค GAS

ตารางผนวกที่ ก1 แสดงตัวอย่างสารที่สามารถลดขนาดได้โดยใช้เทคนิค GAS

Chemical	Solvent	Anti-solvent	Reference
GAS Process			
Insulin	Dimethylsulfoxide (DMSO)	CO ₂	Yeo <i>et al.</i> (1993)
Prednisolone, Dexamethasone, Flunisolide, Triamcinolone- Acetonide	Acetone, Ethanol	CO ₂	Gallagher-Wetmore <i>et al.</i> (1994)
Bilirubin	DMSO	CO ₂	Jianguo <i>et al.</i> (1996)
Phenanthrene	Toluene	CO ₂	Berends <i>et al.</i> (1996)
Sulfathiazole	Ethanol	CO ₂	Kitamura <i>et al.</i> (1997)
Acetaminophen	Ethanol	CO ₂	Wubbolts <i>et al.</i> (1998)
Para-hydroxybenzoic acid	Methanol, Ethanol, Acetone, Ethyl acetate	CO ₂	Thiering <i>et al.</i> (1998)
ASES process			
DL-PLA, L-PLA, DL-PLGA	CH ₂ Cl ₂	CO ₂	Bleich <i>et al.</i> (1993)
Catalase, Insulin	DMSO	CO ₂	Debenedetti <i>et al.</i> (1993b)
L-PLA	DMSO	CO ₂	Randolph <i>et al.</i> (1993b)

ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

Chemical	Solvent	Antisolvent	Reference
Trypsin, Lysozyme, Insulin	DMSO	CO ₂	Winters et al. (1996)
HYAFF-11	DMSO	CO ₂	Benedetti et al.(1997)
8 Steroids/ surface acting agent	CH ₂ Cl ₂	CO ₂	Steckel et al. (1997)
Hydroquinone	Acetone	CO ₂	Wubbolts et al.(1997)
Lactose monohydrate	Water	CO ₂	Palakodaty et al. (1999)
Samarium acetate, Yttrium acetate, Neodymium acetate	DMSO	CO ₂	Reverchon et al. (1998)
Hyoscine butylbromide with L- PLA	MeOH/ CH ₂ Cl ₂	CO ₂	Bleich et al. (1994)
Naproxen with L- PLA	Acetone	CO ₂	Chou and Tomasko (1997)
Rifampin, Naltrexone, Gentamycin sulfate with L-PLA	CH ₂ Cl ₂	CO ₂	Falk et al. (1997)

Source: Charoenchaitrakool (2000)

ภาคผนวก ข

ข้อมูลการสกัดสารสำคัญจากฟ้าทะลายโจร

การหาปริมาณสาร Andrographolide

1. เครื่องมือ และอุปกรณ์ ที่ใช้ในการหาปริมาณสาร Andrographolide ด้วย HPLC

- 1.1 High Performance Liquid Chromatographic System, Spectra System Isocratic Pump, P-1000 uv/vis Detector
- 1.2 Column Inersil ODS-3 (5 μ m, 4.6 mm ID. x 15 cm)
- 1.3 Cellulose acetate membrane filter 0.45 μ m

2. วิธีการหาปริมาณสาร Andrographolide ด้วย HPLC

2.1 สภาวะที่ใช้สำหรับทดสอบสารด้วย HPLC

Column	:	Inerstil ODS-3 (5 μ m, 4.6 mm ID. x 15 cm)
Mobile phase	:	เมทานอล / น้ำ (60:40, v/v)
Flow rate	:	1 ml/min
Wave length	:	256 nm
Injection volume	:	20 μ l

2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ชั่งสารมาตรฐาน Andrographolide ให้มีความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ของผสมระหว่างเมทานอลต่อน้ำในอัตราส่วน 50 : 50 โดยปริมาตร เป็นตัวทำละลาย

2.3 การทำกราฟมาตรฐาน

ปิเปตสารละลายมาตรฐานจากข้อ 2.2 ปริมาตร 0.8, 1.0, 1.4, 1.8, 2.0 มิลลิลิตรใส่ลงใน 10 ml volumetric flask แยกกัน ละลายและปรับปริมาตรด้วยของผสมระหว่างเมทานอลต่อน้ำในอัตราส่วน 50 : 50 โดยปริมาตร

2.4 การเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ด้วย HPLC

2.4.1 การเตรียมสารตัวอย่างจากการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

ซึ่งผงฟ้าทะลายโจร 50 กรัม มาละลายด้วยตัวทำละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนแท่งแม่เหล็กเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรอง จากนั้นทำการปิเปตสารละลายที่กรองได้มา 0.2 มิลลิลิตรใส่ลงใน 50 ml volumetric flask ทำการปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร จากนั้นทำการกรองด้วยตัวกรองขนาด 0.45 μm แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC

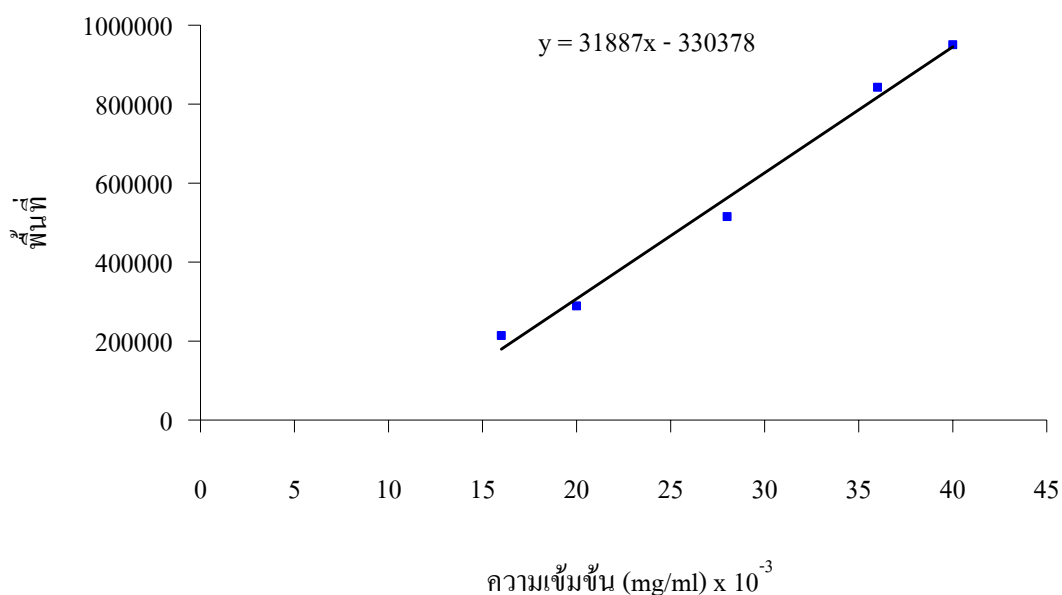
2.4.2 การเตรียมสารตัวอย่างจากการสกัดด้วยเทคนิค GAS

ซึ่งผงฟ้าทะลายโจร 50 กรัม มาละลายด้วยตัวทำละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนแท่งแม่เหล็กเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรอง จากนั้นทำการปิเปตสารละลายที่กรองได้มา 4 มิลลิลิตร นำมาทำการสกัดด้วยเทคนิค GAS นำผลึกที่ได้หลังการทดลองมาทำการละลายในตัวทำละลาย 15 มิลลิลิตร จากนั้นทำการปิเปตสารละลายที่ได้มา 0.4 มิลลิลิตรใส่ลงใน 25 ml volumetric flask ทำการปรับปริมาตรให้ครบ 25 มิลลิลิตร จากนั้นทำการกรองด้วยตัวกรองขนาด 0.45 μm แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC

2.5 การคำนวณหาปริมาณสาร Andrographolide

การคำนวณหาปริมาณสาร Andrographolide ในสารที่สกัดจากทั้งวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ จากเทคนิค GAS นั้นสามารถทำได้โดยการใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatographic (HPLC) แล้วนำมาเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ดังเช่นภาพผนวกที่ ข1) เพื่อหาน้ำหนักสาร Andrographolide จากทั้งสองวิธีข้างต้น จากนั้นนำน้ำหนักของทั้งสองวิธีที่ได้นี้มาใช้ในการคำนวณเปอร์เซ็นต์การสกัดสารโดยใช้สูตรดังสมการที่ 1

$$\% \text{การสกัดสาร} = \frac{\text{น้ำหนักสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค GAS} \times 100}{\text{น้ำหนักสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากตัวทำละลายอินทรีย์}} \quad (1)$$

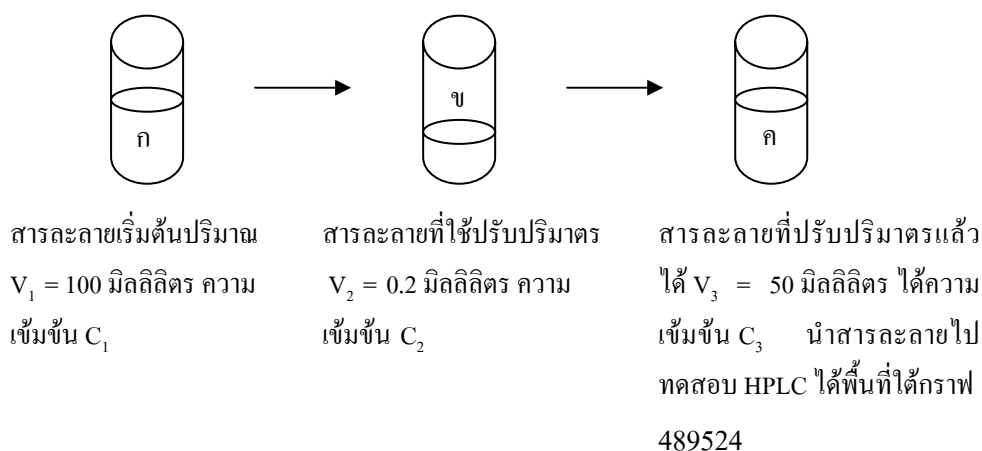


ภาพผนวกที่ ข1 กราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสาร Andrographolide กับพื้นที่ที่ได้กราฟ จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC

ตัวอย่างการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร

1. การคำนวณหาน้ำหนักสาร Andrographolide จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

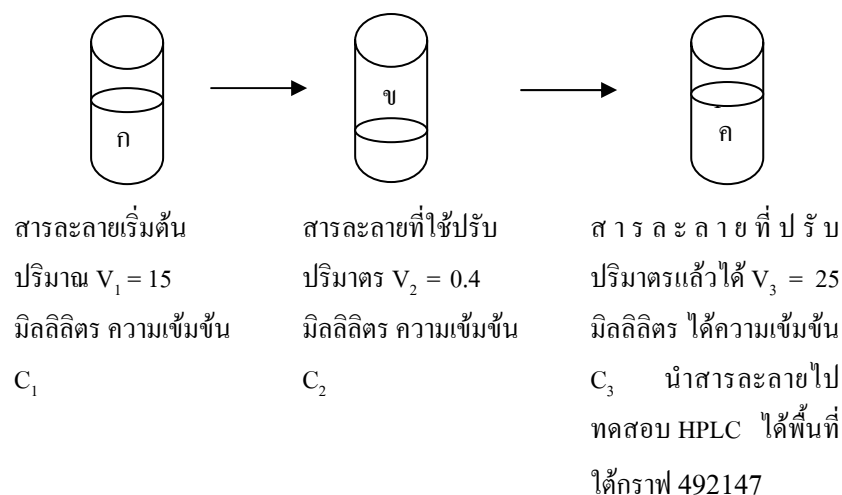
ตัวอย่างการคำนวณหาน้ำหนักสาร Andrographolide จากการใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร ผงฟ้าทะลายโจร 50 กรัมโดยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนแท่งแม่เหล็ก (magnetic stirrer) เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ความดันบรรยากาศ เมื่อนำสารที่สกัดได้ 0.2 มิลลิลิตรมาทำการปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตรด้วยขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตรแล้วนำไปทดสอบด้วยเครื่อง HPLC พบว่าสามารถดูดกลืนแสงได้พื้นที่ได้กราฟเท่ากับ 489524 ดังนั้นเมื่อมาเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ดังเช่นภาพผนวกที่ ข1) เพื่อหาความเข้มข้นของสาร Andrographolide ที่สกัดได้ โดยมีวิธีดังนี้



1. จากรูป ก. พื้นที่ใต้กราฟ 489524 สามารถเทียบกับกราฟมาตรฐานจากภาพผนวกที่ ข1 ได้ความเข้มข้น $C_3 = 25.71$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. จากรูป ข. สามารถหาความเข้มข้น C_2 เมื่อรู้ค่า $C_3 = 25.71$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากสูตร $C_2 V_2 = C_3 V_3$ ดังนั้นค่า $C_2 = \frac{25.71 \times 50}{0.2 \times 1000} = 6.43$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
3. จากรูป ก. สามารถหาความเข้มข้น C_1 ได้เพราะว่า $C_1 = C_2 = 6.43$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นน้ำหนักสาร Andrographolide ที่สกัดได้ด้วยอะซีโตนนี้เท่ากับ $6.43 \times 100 = 643$ มิลลิกรัม

2. การคำนวณน้ำหนักสาร Andrographolide จากการสกัดด้วยเทคนิค GAS

ตัวอย่างการคำนวณน้ำหนักสาร Andrographolide ที่สกัดจากเทคนิค Gas Anti-Solvent จากสารละลายฟ้าทะลายโจรเริ่มต้น 4 มิลลิลิตรด้วยการใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย อุณหภูมิการสกัดที่ 35°C อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 3 มิลลิลิตรต่อนาที เมื่อนำสารที่สกัดได้มาละลายในตัวทำละลายปริมาตร 15 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายนี้มาทำการปรับปริมาตรจาก 0.4 มิลลิลิตร เป็น 25 มิลลิลิตรด้วยขวดวัดปริมาตร มิลลิลิตรแล้วนำไปทดสอบด้วยเครื่อง HPLC พบว่าสามารถดูคลื่นแสงได้พื้นที่ใต้กราฟเท่ากับ 492147 ดังนั้นเมื่อมาเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ดังเช่นภาพผนวกที่ ค1) เพื่อหาความเข้มข้นของสาร Andrographolide ที่สกัดได้ โดยมีวิธีดังนี้



- จากรูป ก. พื้นที่ได้กราฟ 492147 สามารถเทียบกับกราฟมาตรฐานจากภาพผนวกที่ ข1 ได้ความเข้มข้น $C_3 = 25.79$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- จากรูป ข. สามารถหาความเข้มข้น C_2 เมื่อรู้ค่า $C_3 = 25.79$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากสูตร $C_2 V_2 = C_3 V_3$ ดังนั้นค่า $C_2 = \frac{25.79 \times 25}{0.4 \times 1000} = 1.61$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
- จากรูป ก. สามารถหาความเข้มข้น C_1 ได้เพราะว่า $C_1 = C_2 = 1.61$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นน้ำหนักสาร Andrographolide ที่สกัดได้ด้วยอะซีโตนนี้เท่ากับ $1.61 \times 15 = 24.18$ มิลลิกรัม
- เนื่องจากปริมาณสารละลายฟ้าทะลายโจรเริ่มต้น 4 มิลลิลิตรสามารถสกัดสาร Andrographolide ได้ 24.18 มิลลิกรัม แต่จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ใช้ปริมาตรตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร ดังนั้นจะสามารถสกัดสาร Andrographolide ด้วยเทคนิค GAS ได้ทั้งหมด $\frac{24.18 \times 100}{4} = 604.57$ มิลลิกรัม
- จากการคำนวณหาน้ำหนักสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ได้ 642.8 มิลลิกรัมและจากการคำนวณหาน้ำหนักสาร Andrographolide ที่สกัดได้ด้วยเทคนิค GAS ได้ 604.57 มิลลิกรัม ดังนั้นเปอร์เซ็นต์การสกัดสารที่ได้จึงเท่ากับ $\frac{604.57 \times 100}{643} = 94.02$

ภาคผนวก ค

การตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

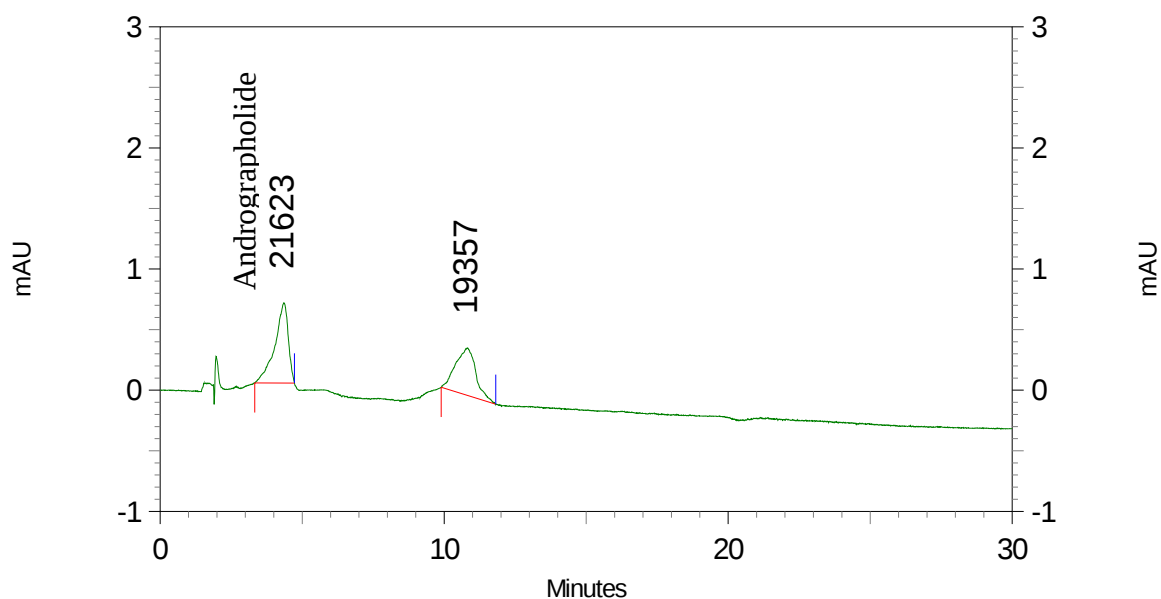
การวิเคราะห์ด้วย High Performance Liquid Chromatographic (HPLC)

การแยกสารที่มีสมบัติเฉพาะของสาร เช่น การละลายเข้ากันของสารกับวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือยึดติดกับวัฏภาคหยุดนิ่ง (stationary phase) ที่ต่างกันของสารต่างๆในสารละลายทำให้สารเหล่านี้ในสารละลายเกิดการแยกออกจากกันซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยใช้ High Performance Liquid Chromatographic (HPLC) สารที่แยกออกจากกันแล้วนั้นจะเคลื่อนผ่าน detector (UV-detector) ที่เวลาแตกต่างกันทำให้เกิดการดูดกลืนรังสีในช่วง UV ได้แตกต่างกัน เมื่อเครื่องทำการประมวลผลจะแสดงผลที่ได้ออกมาเป็นความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าการดูดกลืนแสง (mAU) และเวลา (min) ข้อมูลจาก HPLC สามารถนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารจากพื้นที่ใต้กราฟที่ได้ ซึ่งขั้นตอนในการวิเคราะห์ด้วย HPLC มีดังนี้

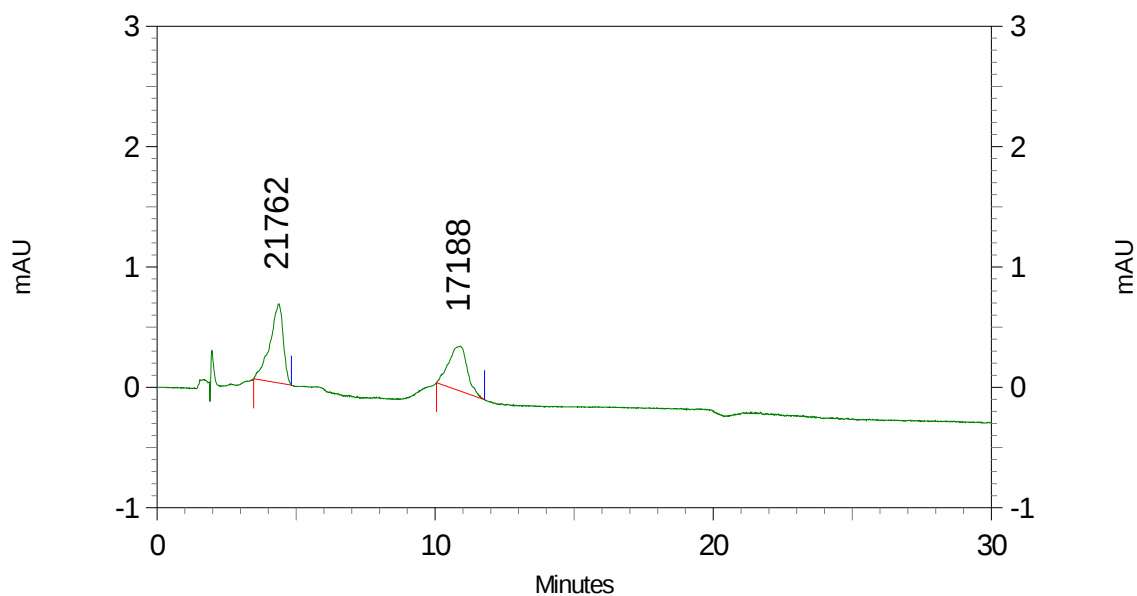
1. ตรวจสอบปริมาณ mobile phase ว่าหมดหรือเปล่า
2. เปิด PLC-1055
3. เปิด SCM 1000
4. เปิดปั๊ม P2000
5. ทำการไล่อากาศในท่อของ mobile phase ออก (purge)
6. เปิด AS 3000
7. ทำการล้างเข็มสำหรับฉีดสาร
8. เปิด UV 6000
9. เปิด SN 4000
10. เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์
11. เปิดโปรแกรม ChromQuest
12. ทำการตั้งสถานะที่จะใช้สำหรับการทดลอง ได้แก่ ส่วนผสมของวัฏภาคเคลื่อนที่ อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ ปริมาณสารที่ฉีด ความยาวคลื่นแสงที่ใช้ เป็นต้น นำสารที่ต้องการฉีดมาทำการทดลอง

ภาคผนวก ง

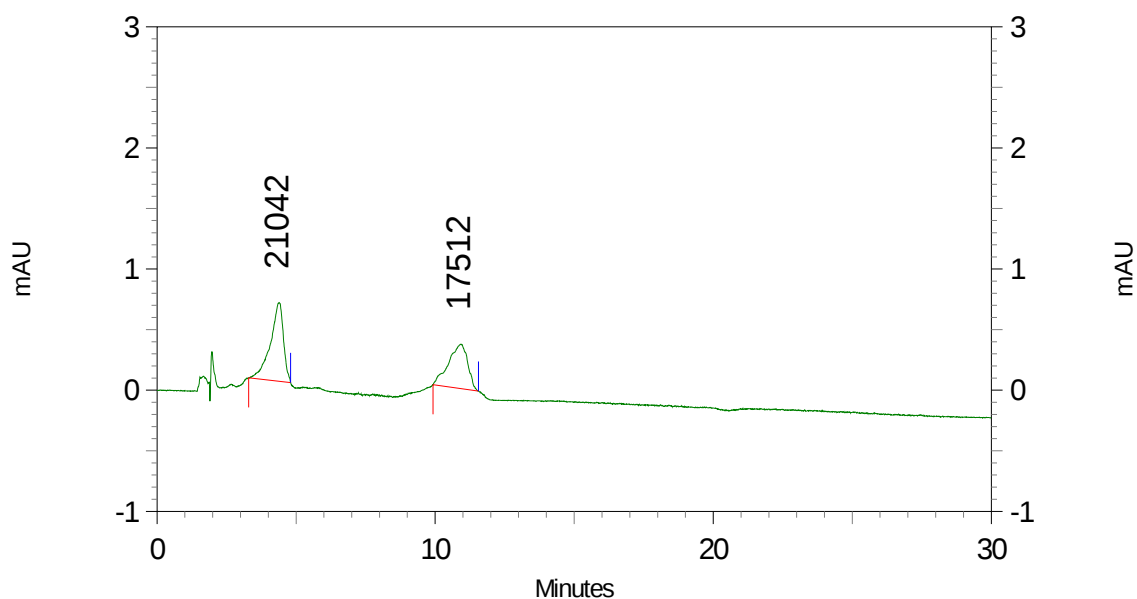
ภาพการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) จากการศึกษาถึงเวลาที่ใช้ในการปั่นกวนด้วยเครื่องกวน (Magnetic stirrer)



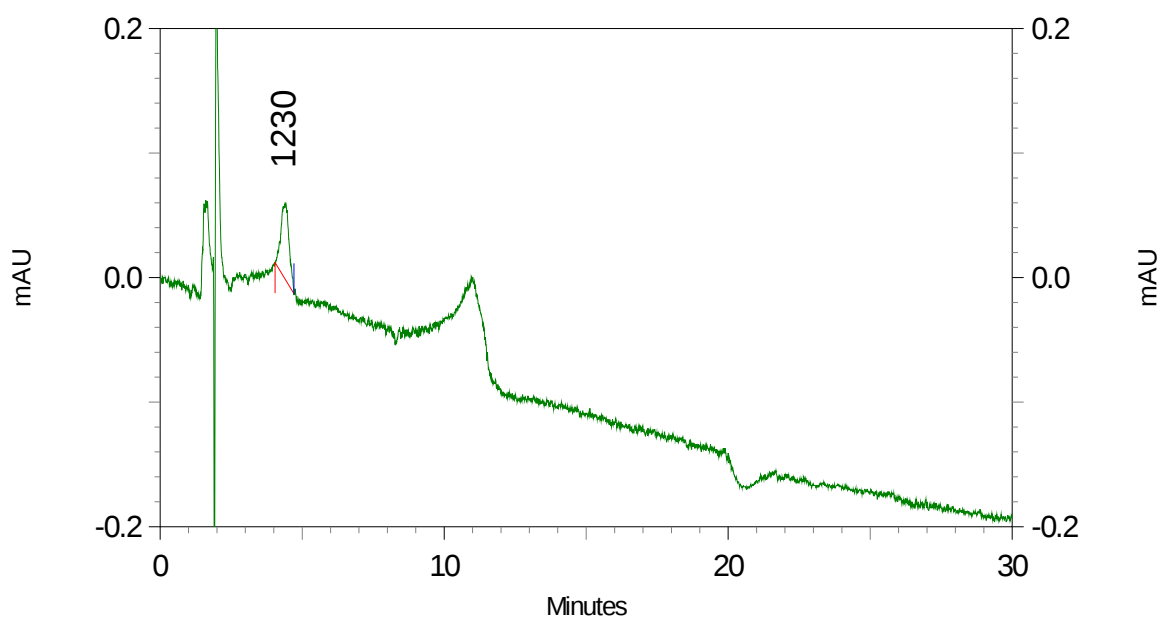
ภาพผนวกที่ 1 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 1 (2 ชั่วโมงแรก) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 1)



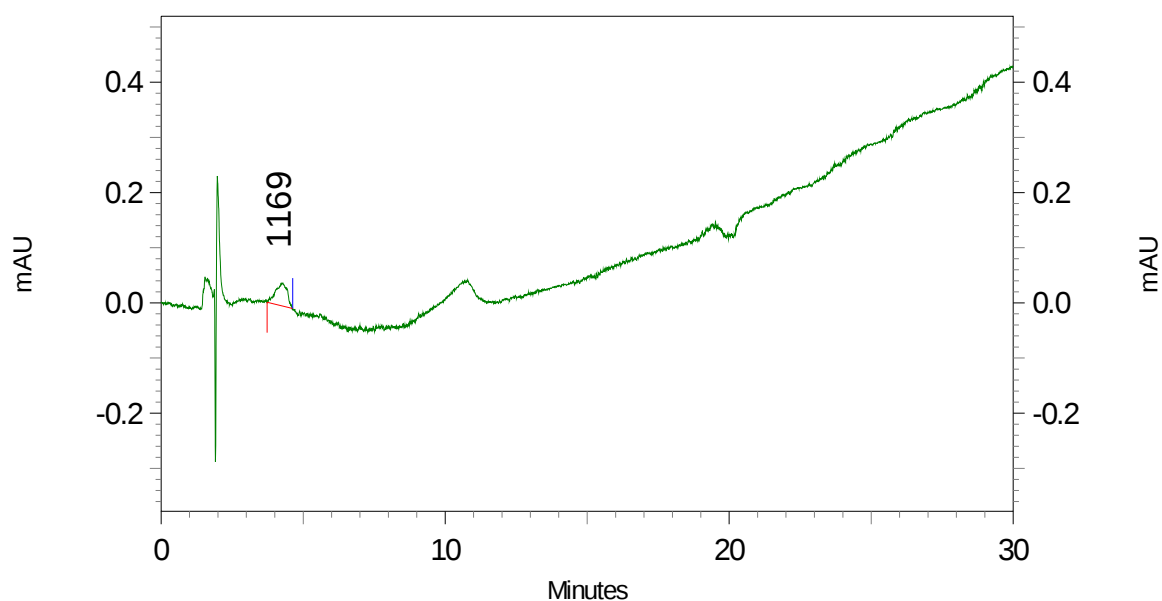
ภาพผนวกที่ 2 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 1 (2 ชั่วโมงแรก) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 2)



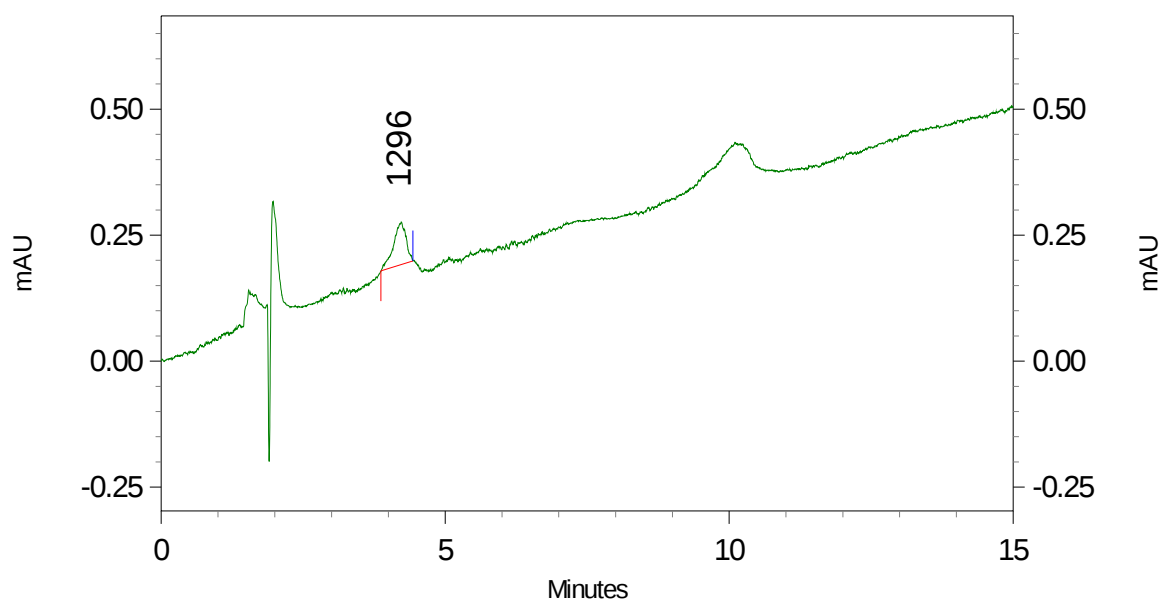
ภาพผนวกที่ 3 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 1 (2 ชั่วโมงแรก) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 3)



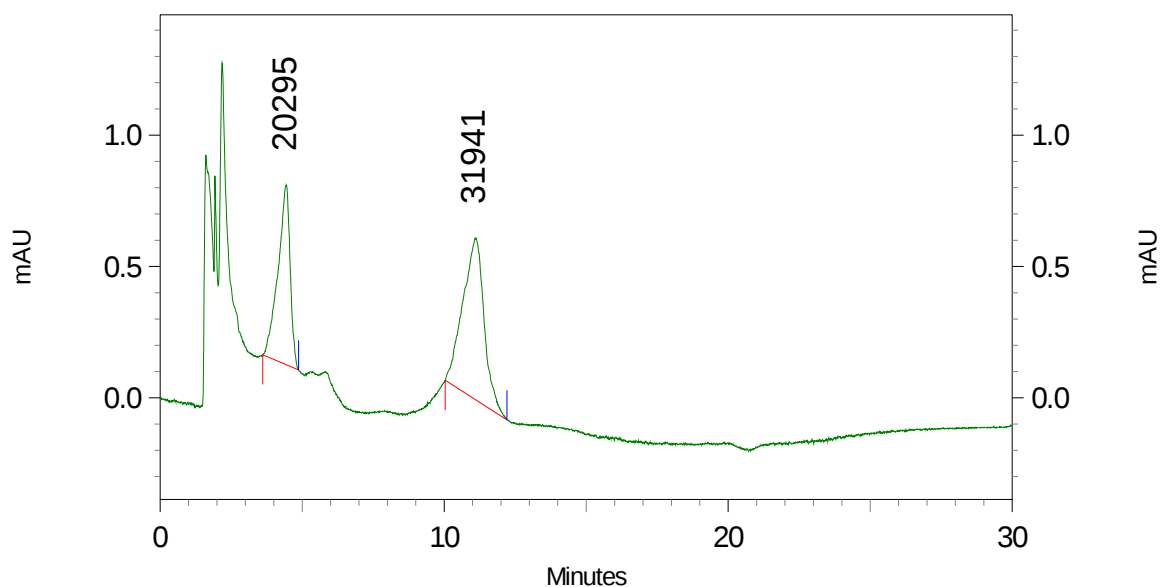
ภาพผนวกที่ 4 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 2 (ชั่วโมงที่ 4) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 1)



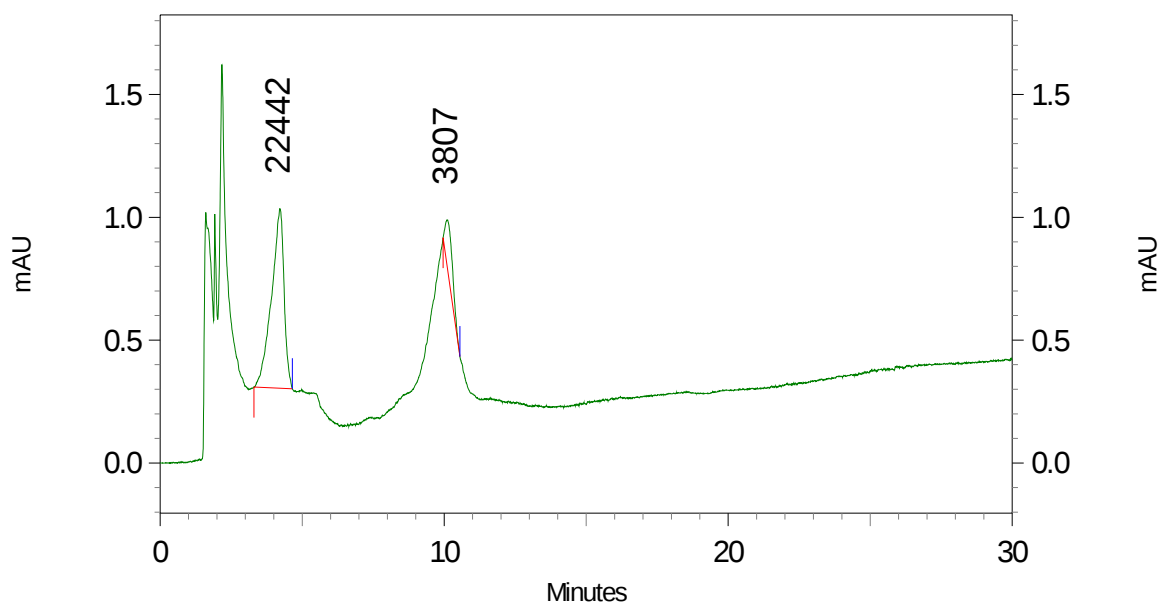
ภาพผนวกที่ 5 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 2 (ชั่วโมงที่ 4) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 2)



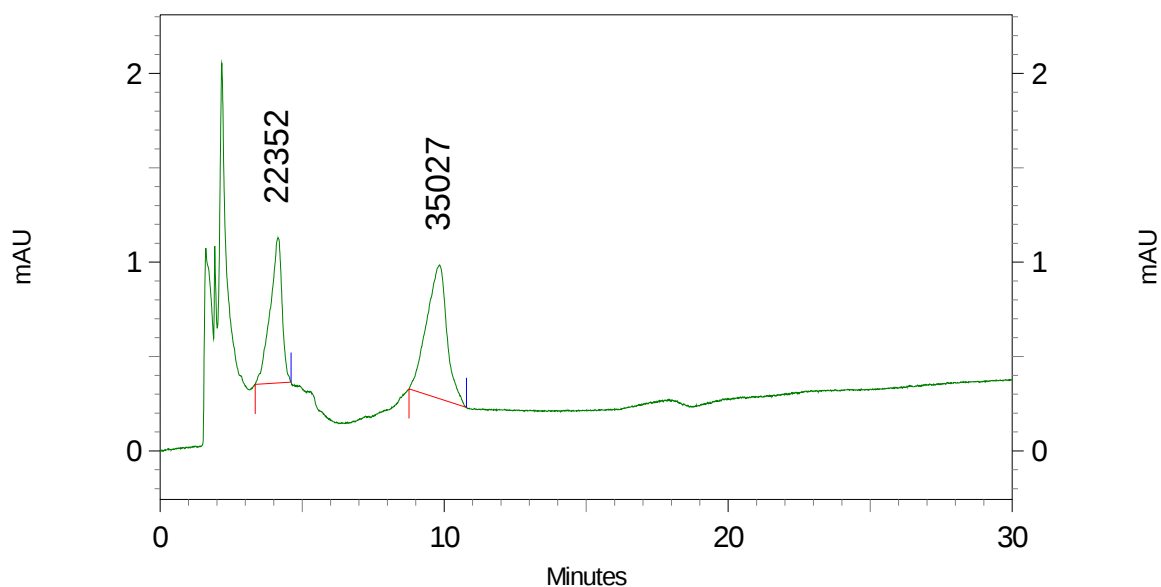
ภาพผนวกที่ 6 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 2 (ชั่วโมงที่ 4) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 3)



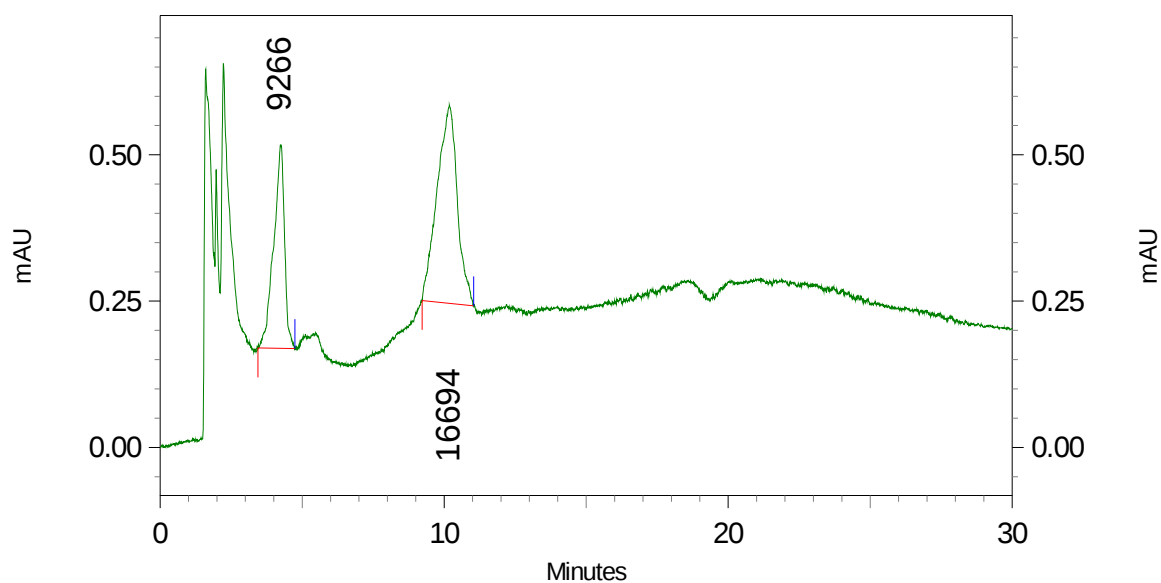
ภาพผนวกที่ ๗ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 2 (ชั่วโมงที่ 6) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 1)



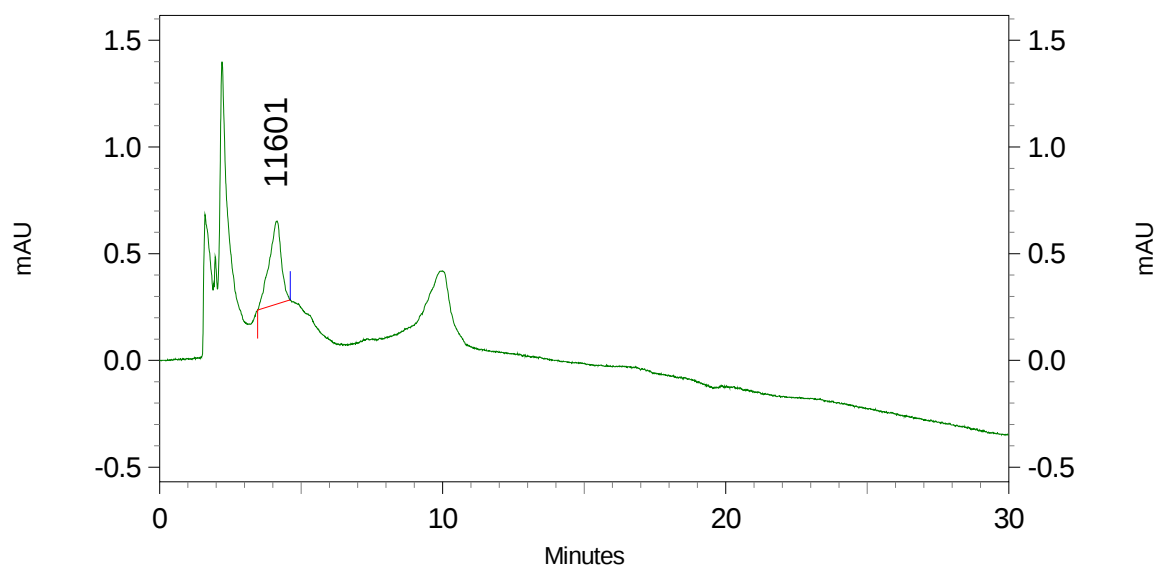
ภาพผนวกที่ ๘ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 2 (ชั่วโมงที่ 6) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 2)



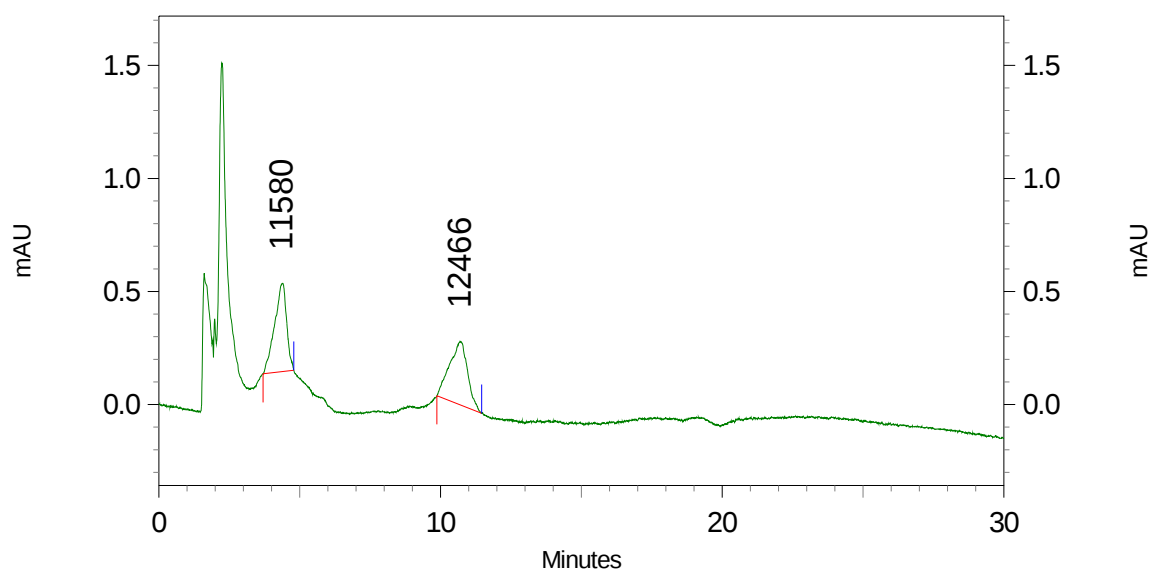
ภาพผนวกที่ ๙ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 2 (ชั่วโมงที่ 6) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 3)



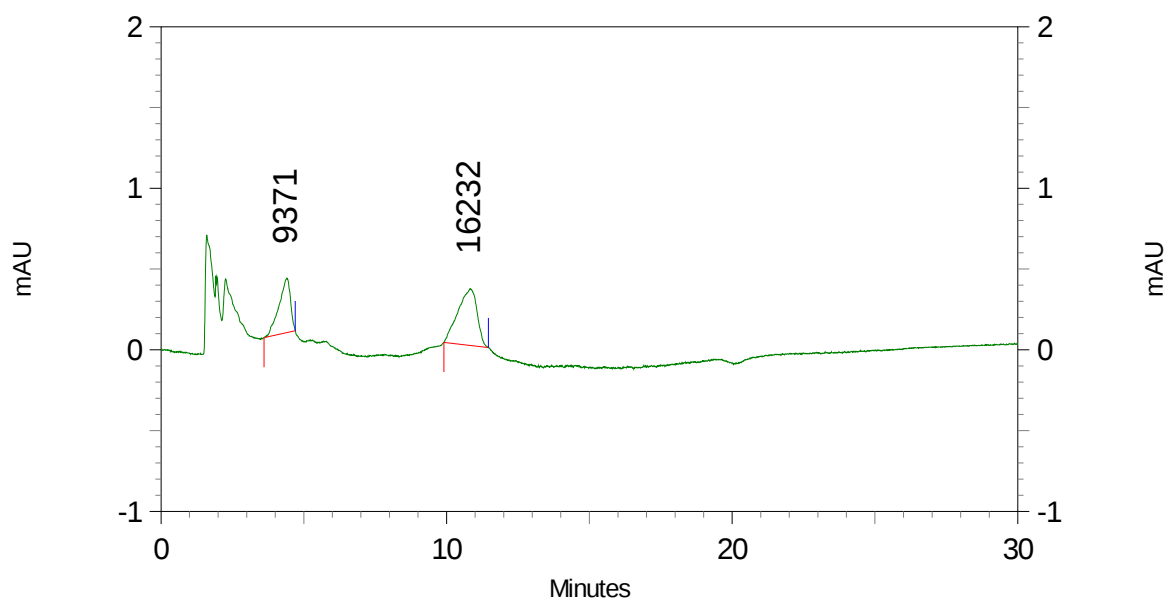
ภาพผนวกที่ 10 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 2 (ชั่วโมงที่ 8) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 1)



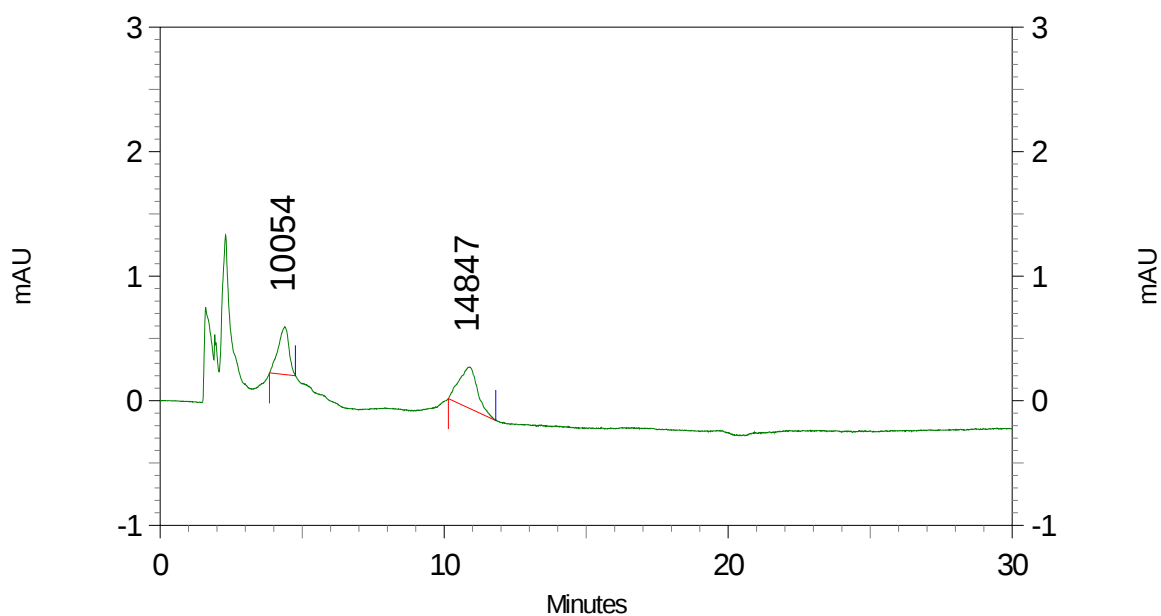
ภาพผนวกที่ 11 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้
สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกลำดับที่ 2 (ชั่วโมงที่ 8) โดยใช้
เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 2)



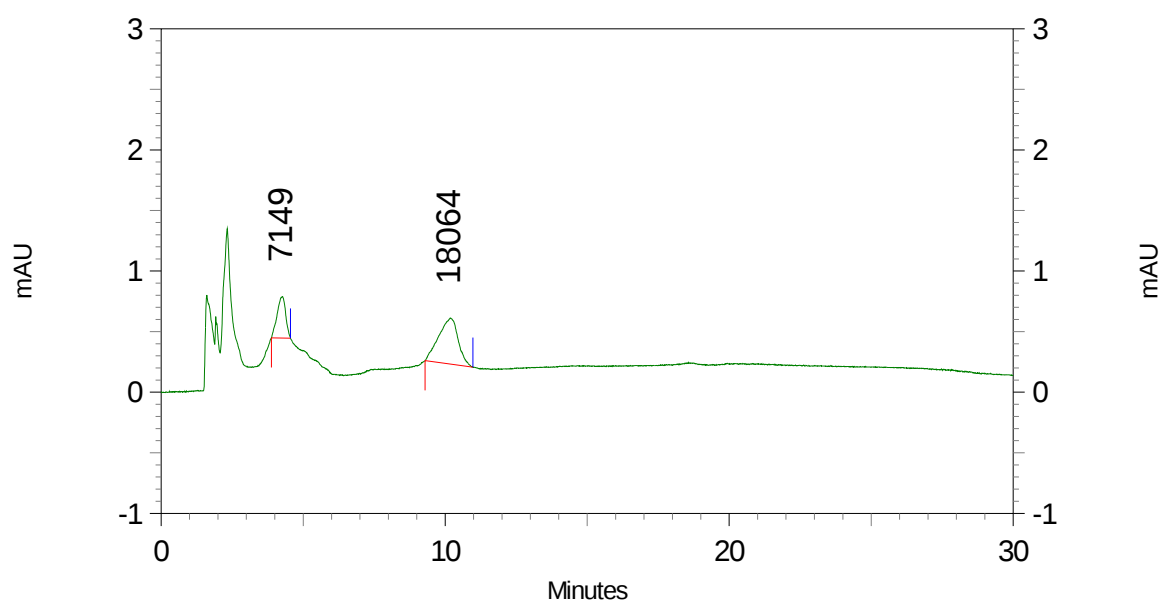
ภาพผนวกที่ 12 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้
สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกลำดับที่ 2 (ชั่วโมงที่ 8) โดยใช้
เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 3)



ภาพผนวกที่ 13 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้
สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 2 (ชั่วโมงที่ 10) โดยใช้
เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 1)



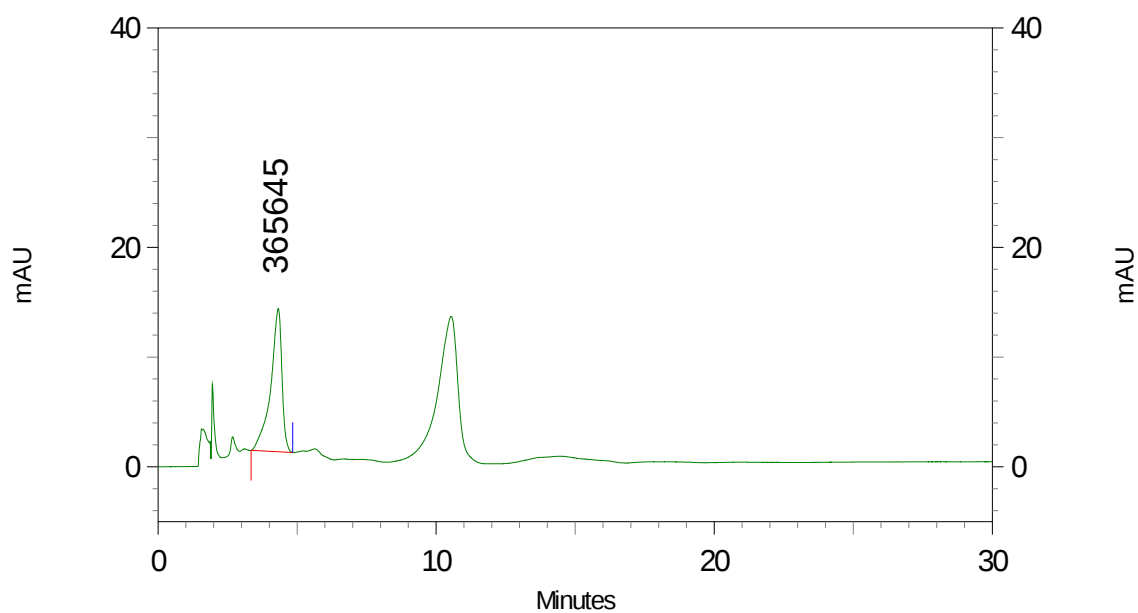
ภาพผนวกที่ 14 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้
สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 2 (ชั่วโมงที่ 10) โดยใช้
เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 2)



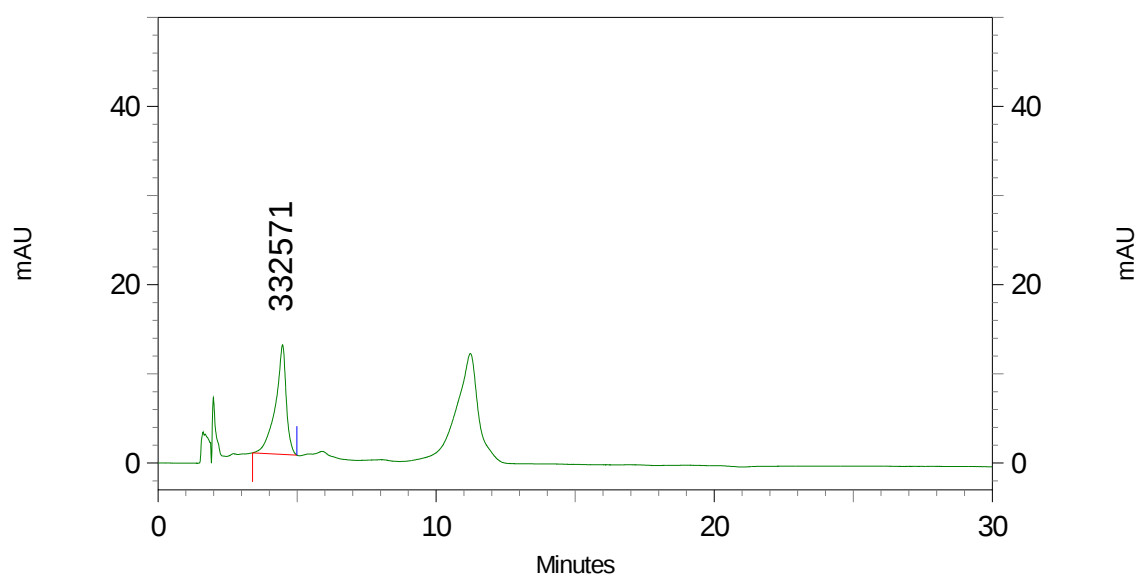
ภาพผนวกที่ 15 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากการศึกษาเวลาที่ใช้
สำหรับการสกัดด้วยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนลำดับที่ 2 (ชั่วโมงที่ 10) โดยใช้
เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 3)

ภาคผนวก จ

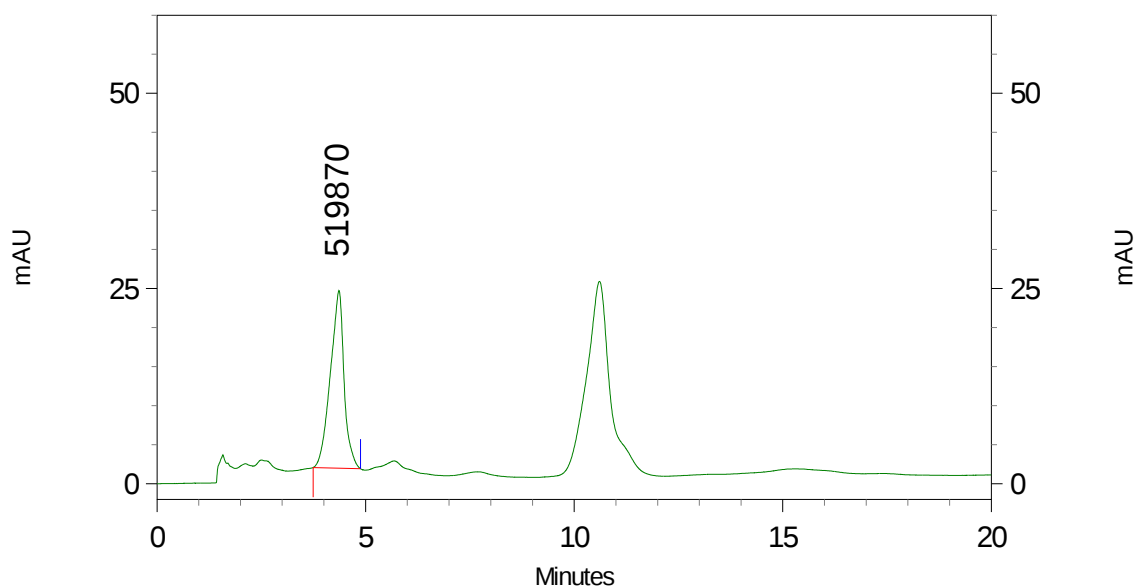
**ภาพการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography
(HPLC) จากเทคนิค Conventional Extraction**



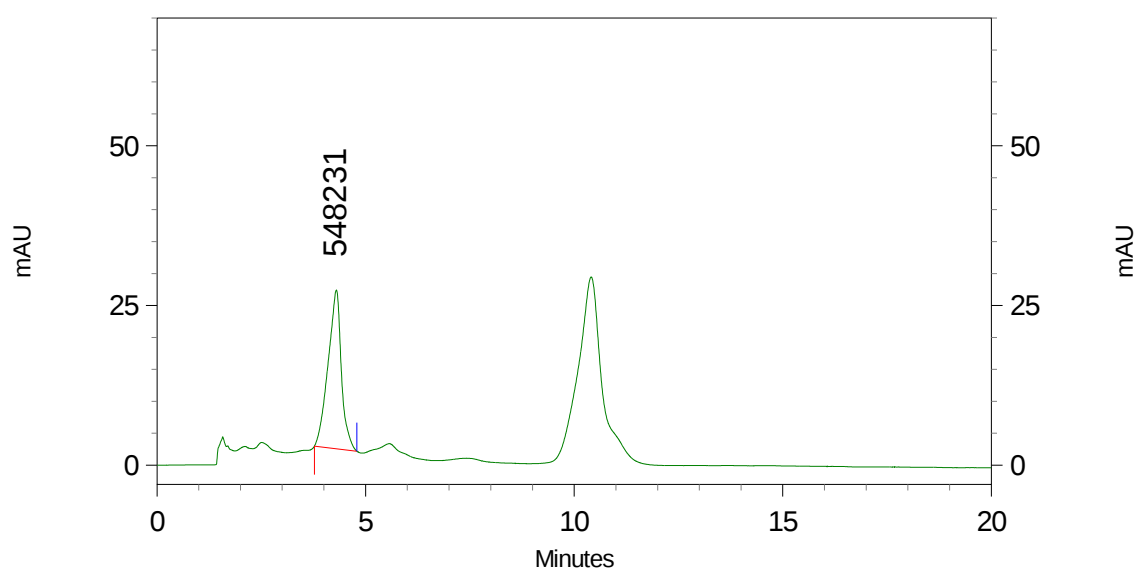
ภาพผนวกที่ จ1 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 1)



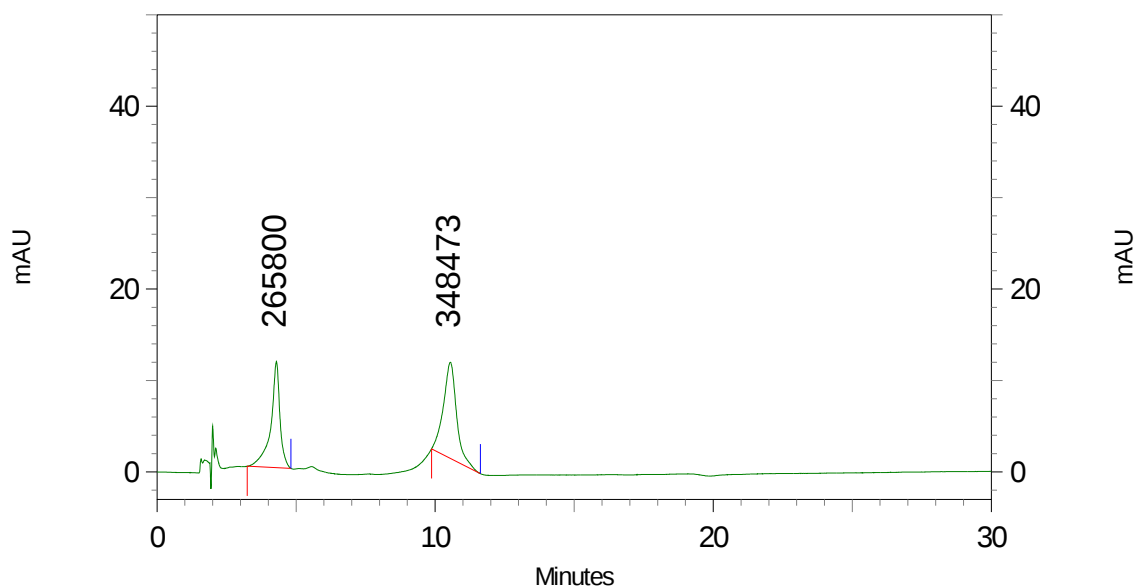
ภาพผนวกที่ จ2 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 2)



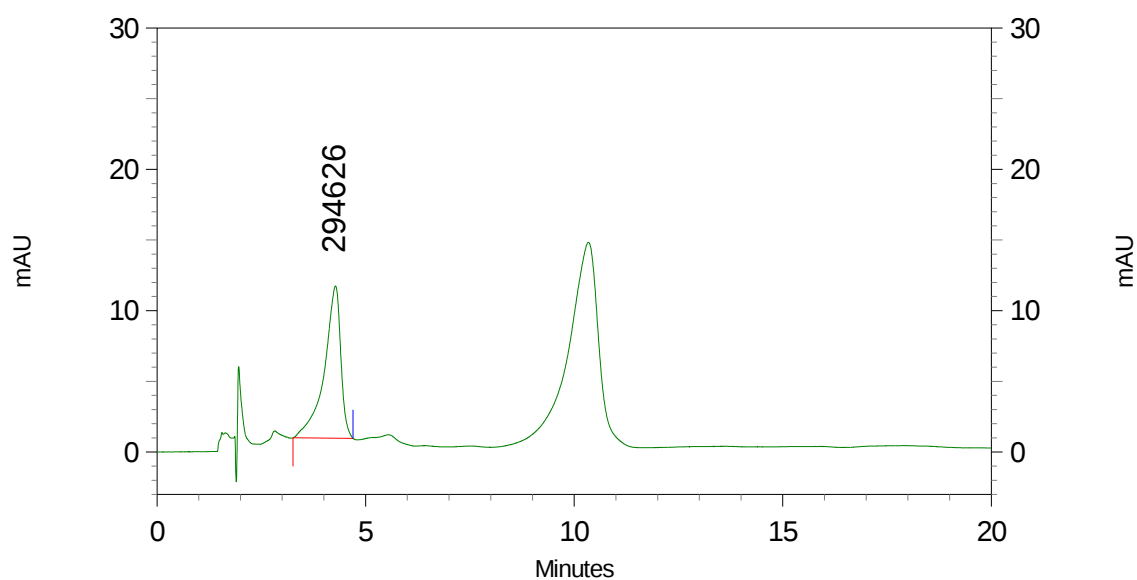
ภาพผนวกที่ จ3 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 3)



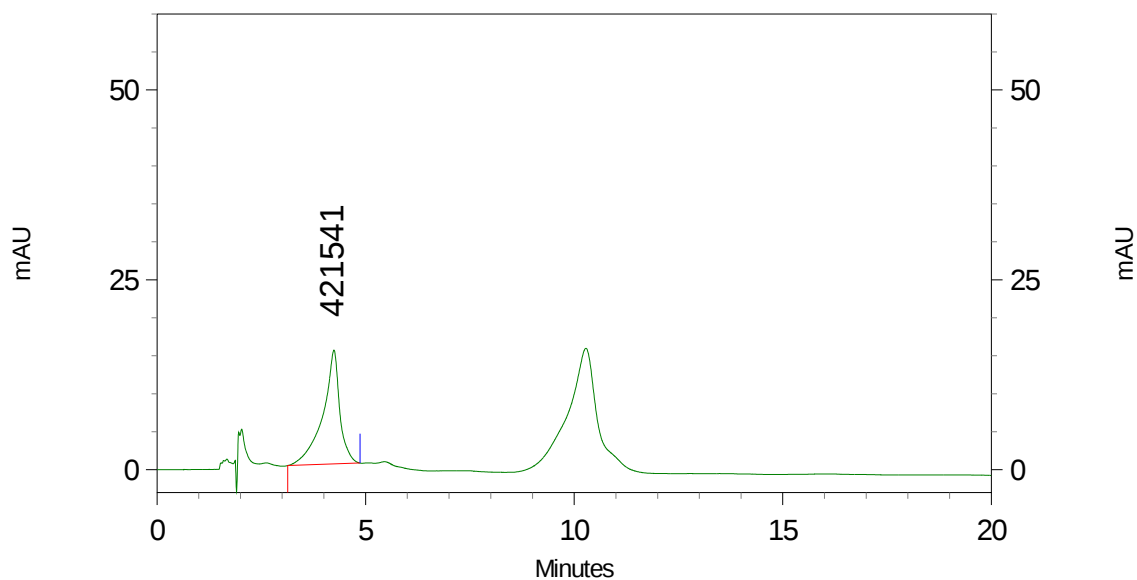
ภาพผนวกที่ จ4 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 4)



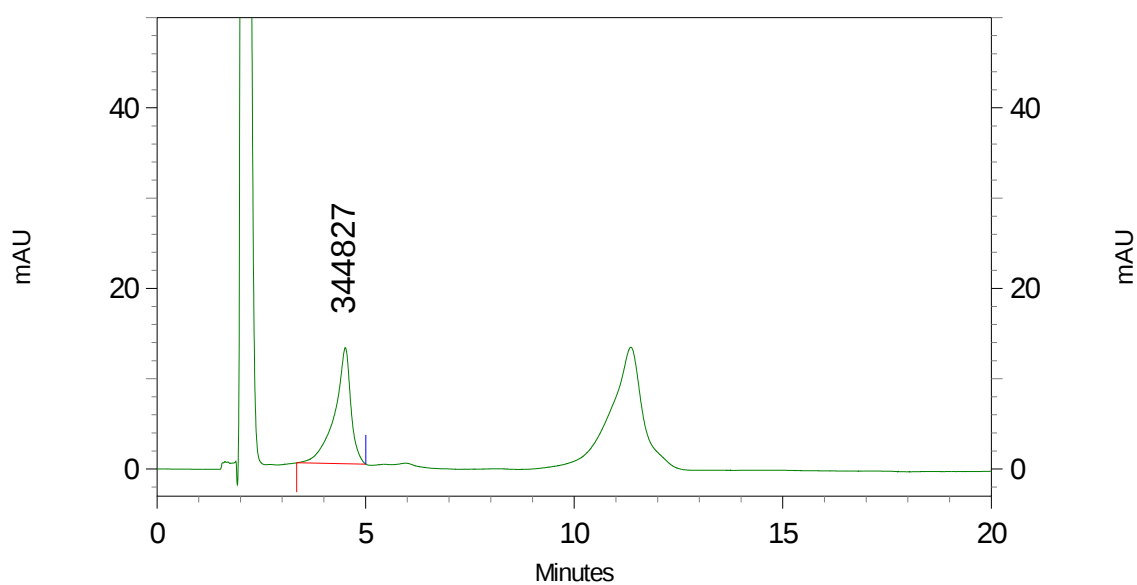
ภาพผนวกที่ จ5 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 1)



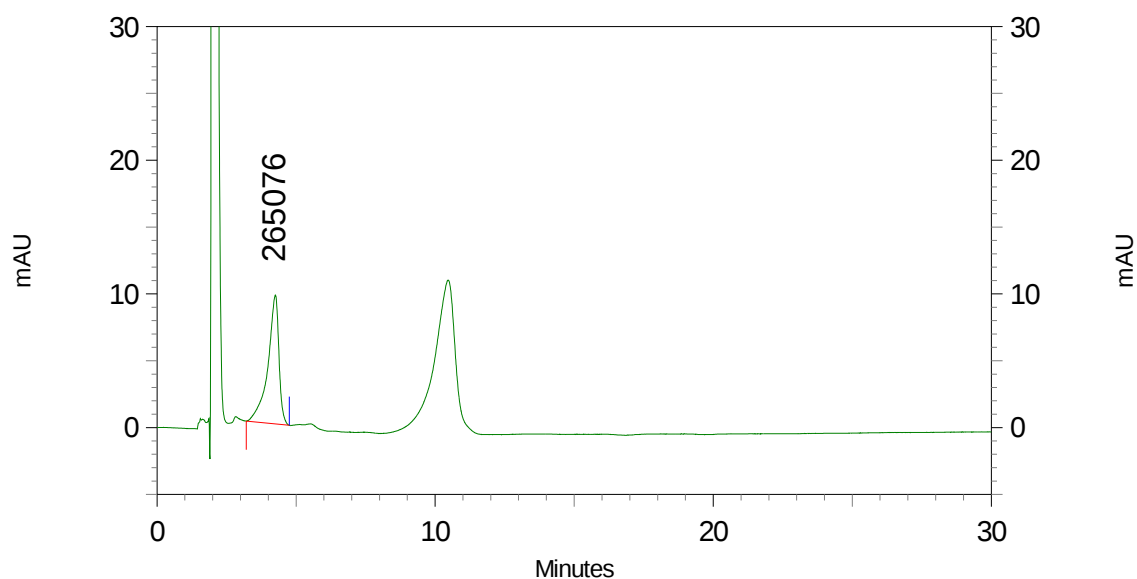
ภาพผนวกที่ จ6 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 2)



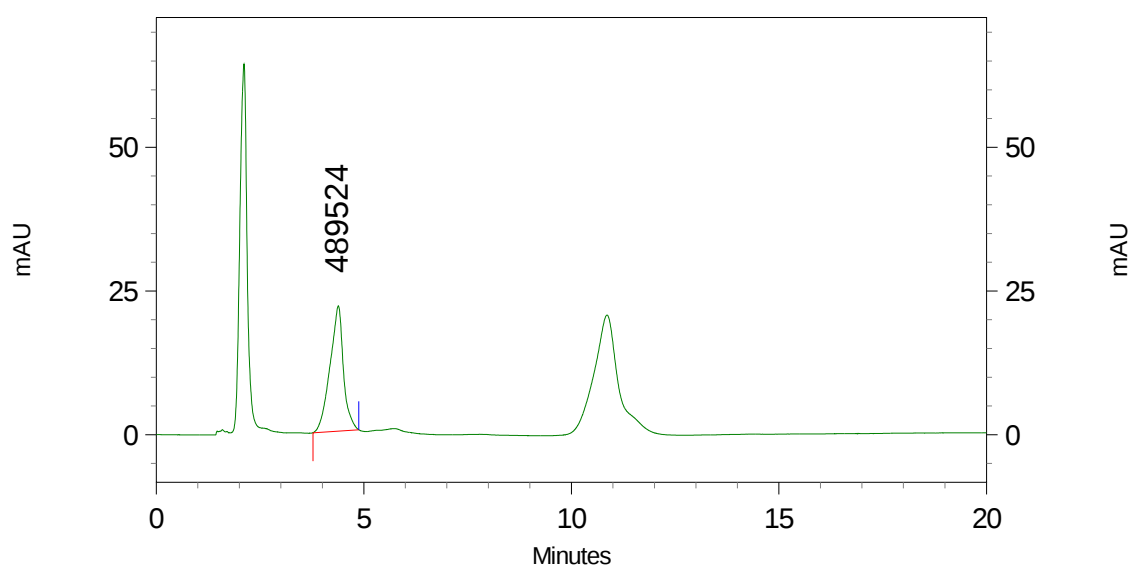
ภาพผนวกที่ ๗ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 3)



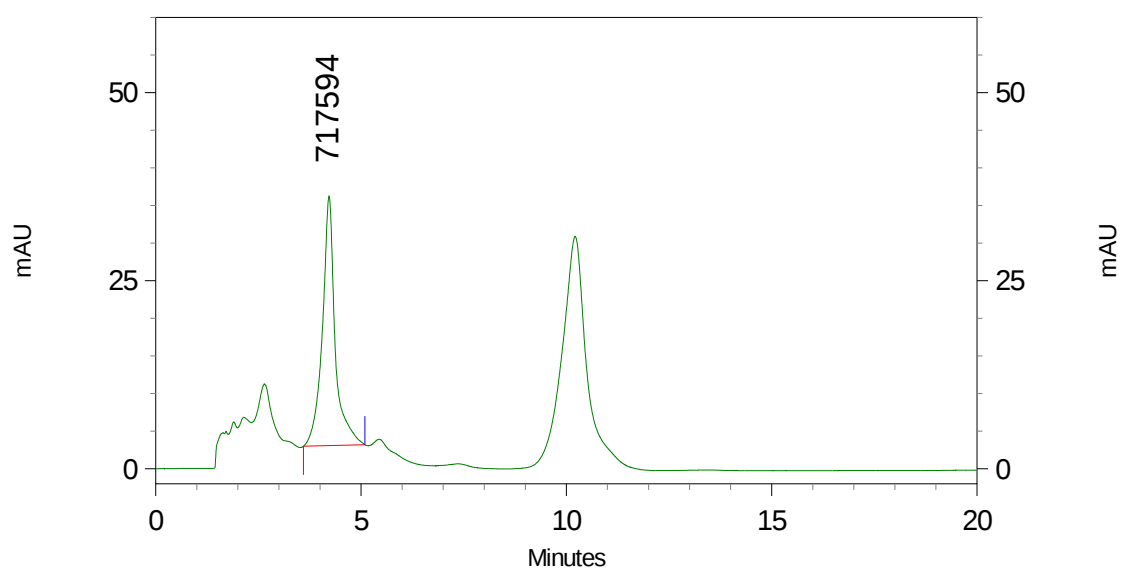
ภาพผนวกที่ ๘ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 1)



ภาพผนวกที่ ๑๑ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 2)



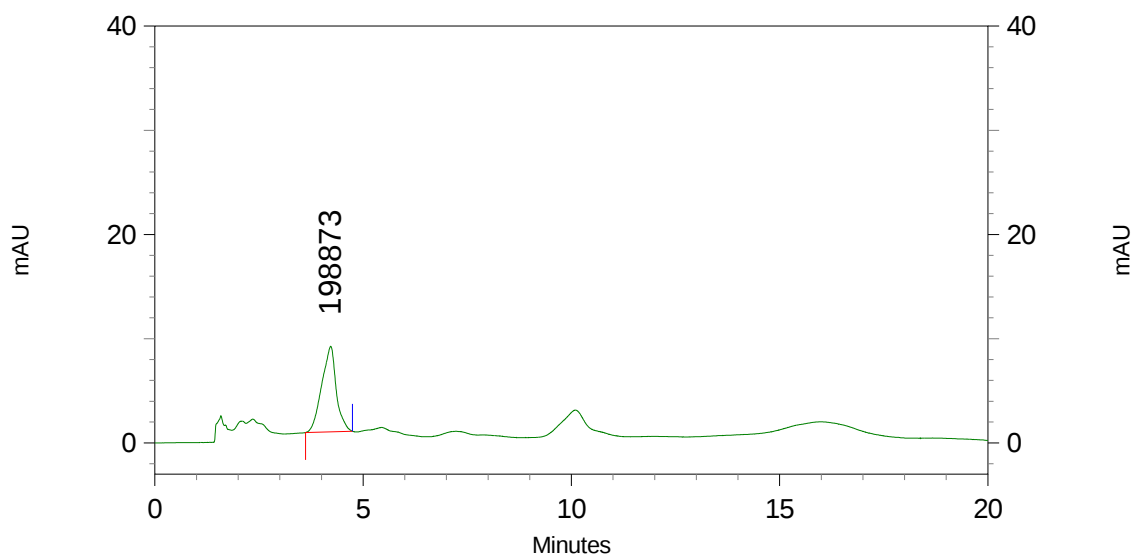
ภาพผนวกที่ ๑๑๐ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย (ครั้งที่ 3)



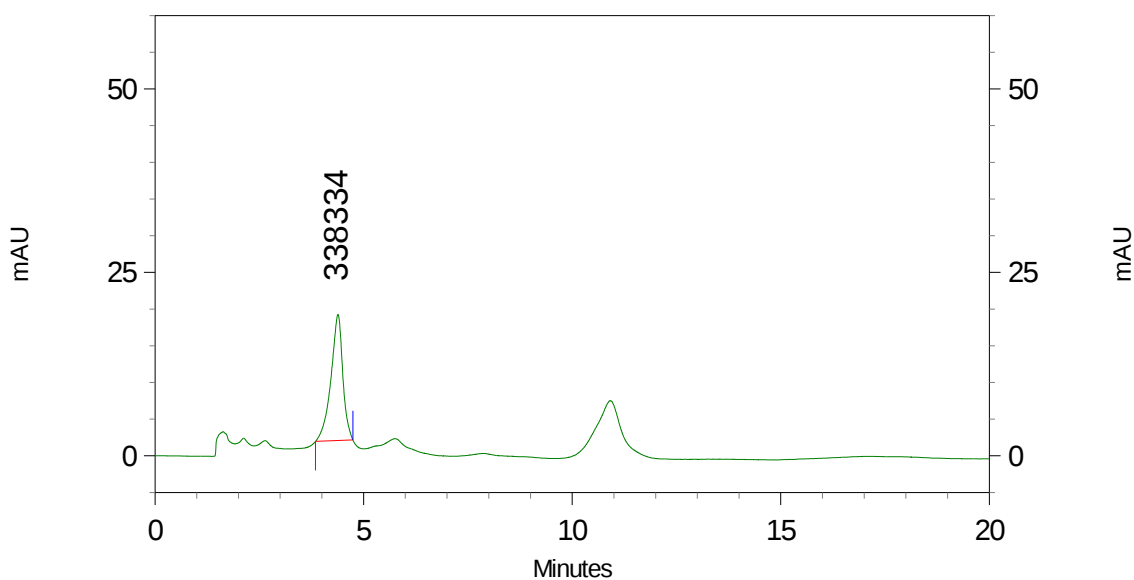
ภาพผนวกที่ จ11 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Conventional Extraction โดยใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์เป็นตัวทำละลาย

ภาคผนวก จ

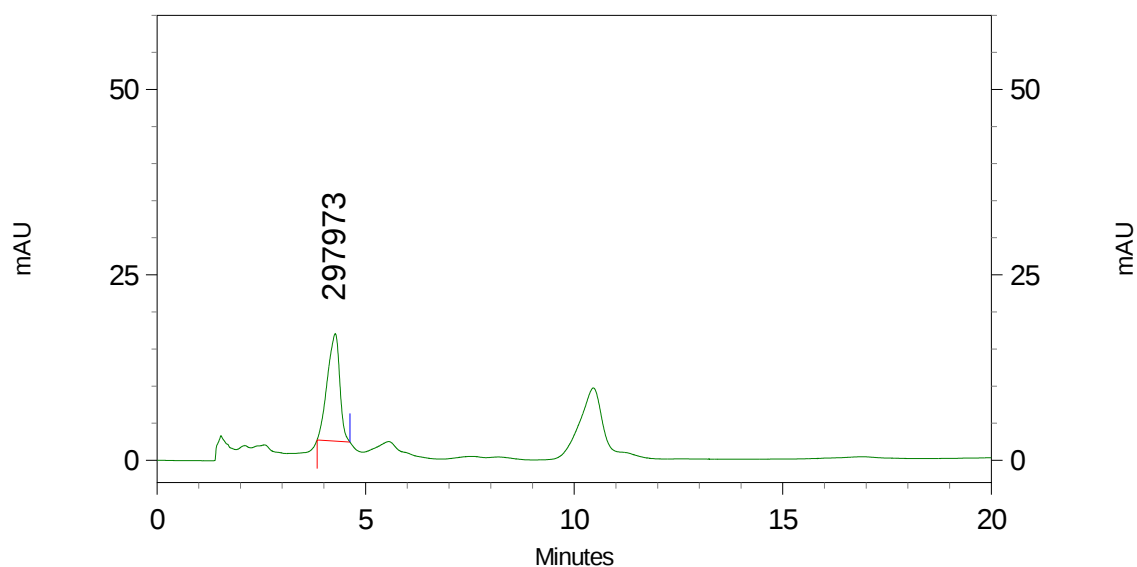
**ภาพการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography
(HPLC) จากเทคนิค Gas Anti-solvent**



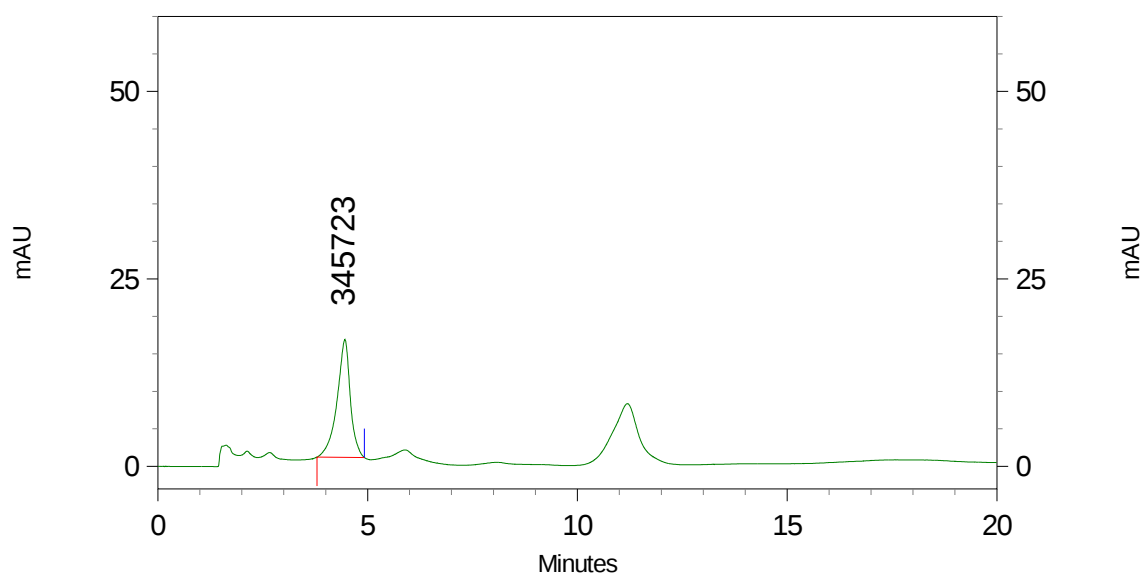
ภาพผนวกที่ ๑1 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35⁰C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1 ml/min (ครั้งที่ 1)



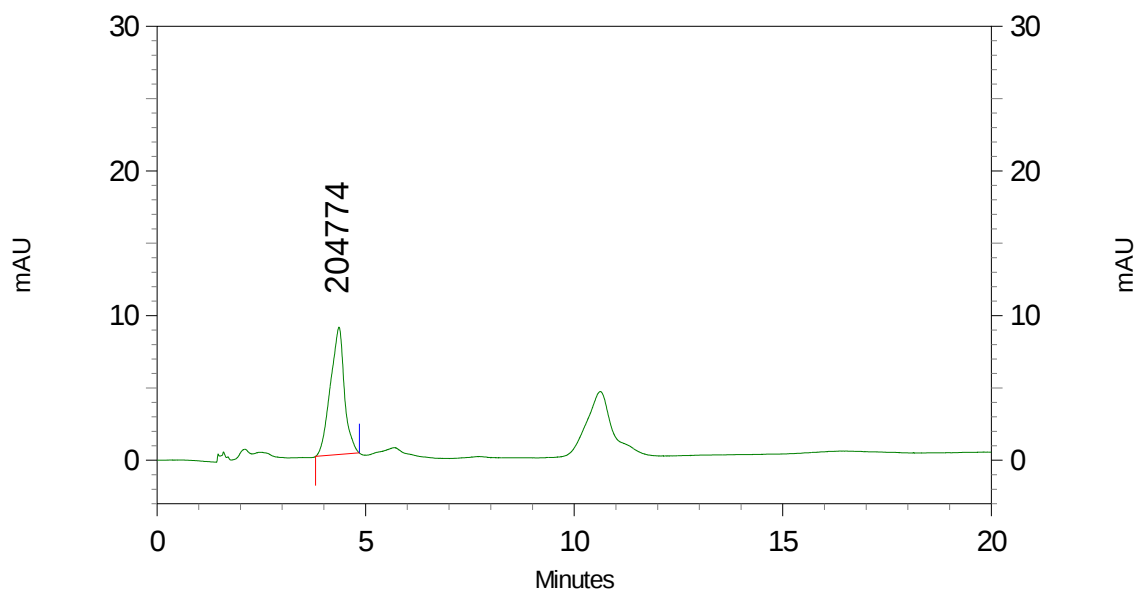
ภาพผนวกที่ ๑2 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35⁰C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1 ml/min (ครั้งที่ 2)



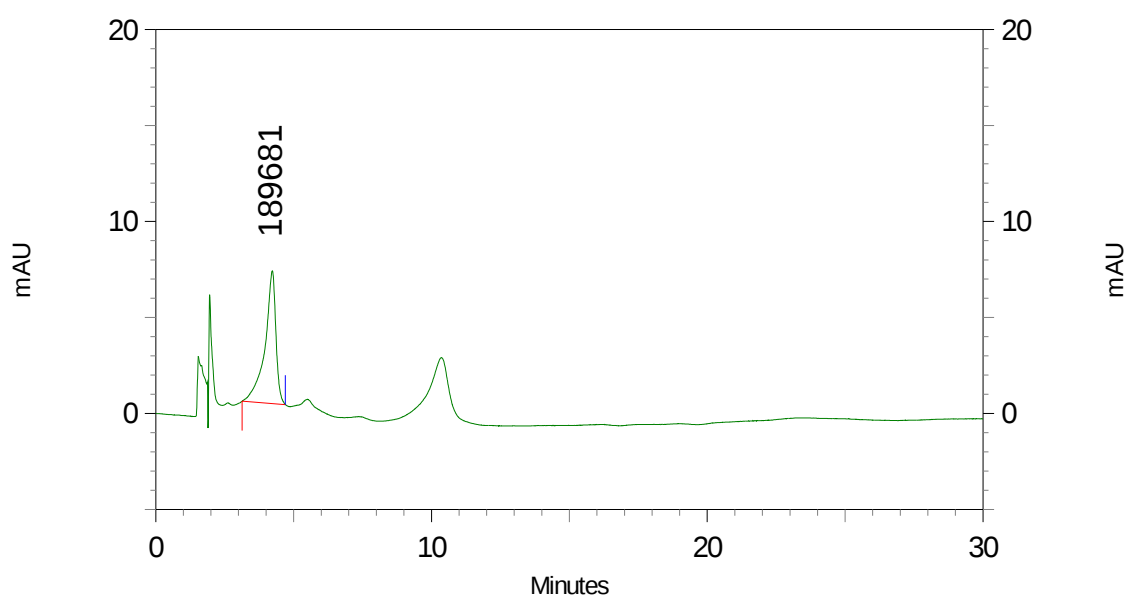
ภาพผนวกที่ ๓ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 3 ml/min (ครั้งที่ 1)



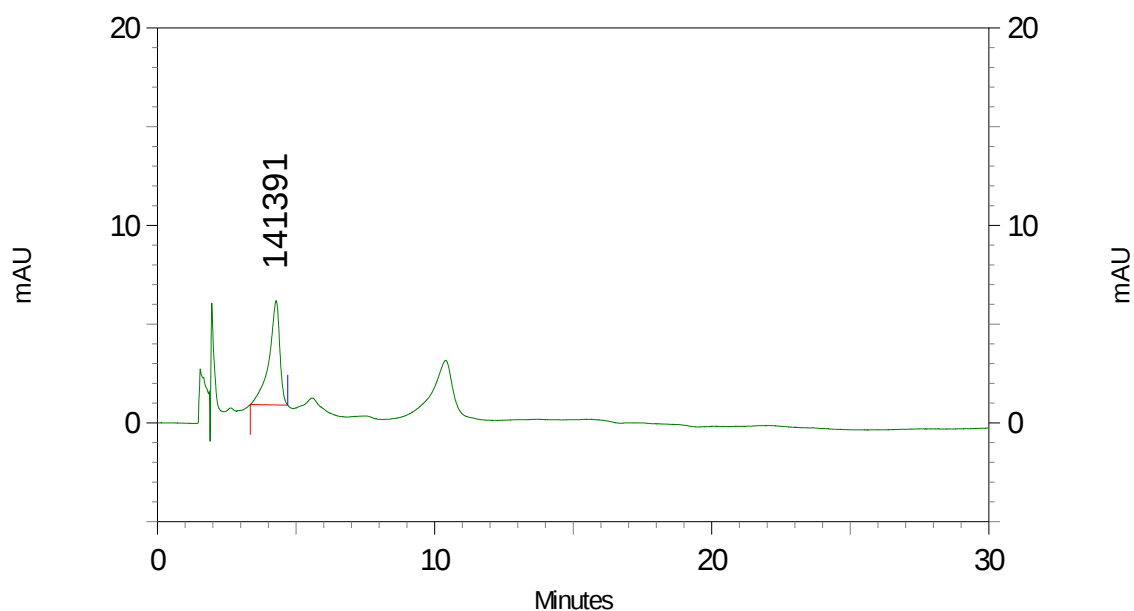
ภาพผนวกที่ ๔ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 3 ml/min (ครั้งที่ 2)



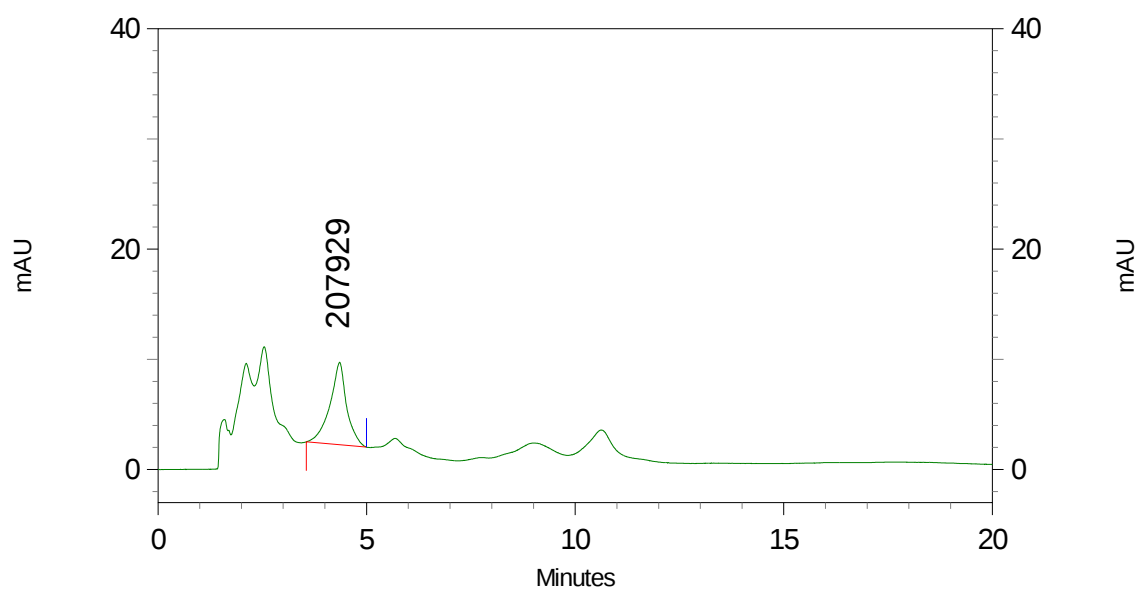
ภาพผนวกที่ จ5 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 25°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min



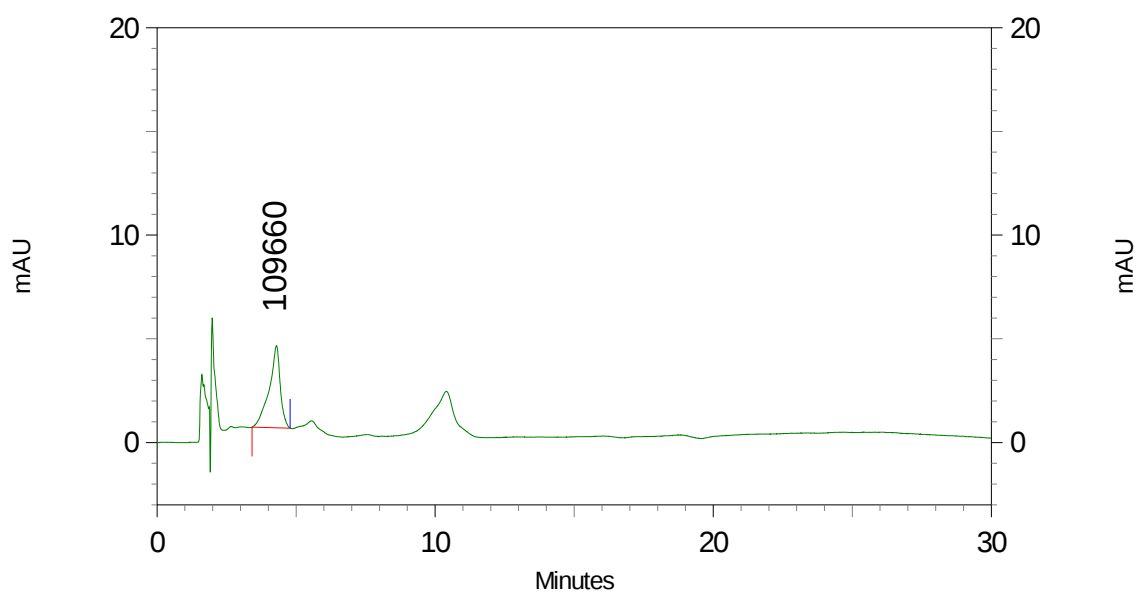
ภาพผนวกที่ จ6 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min



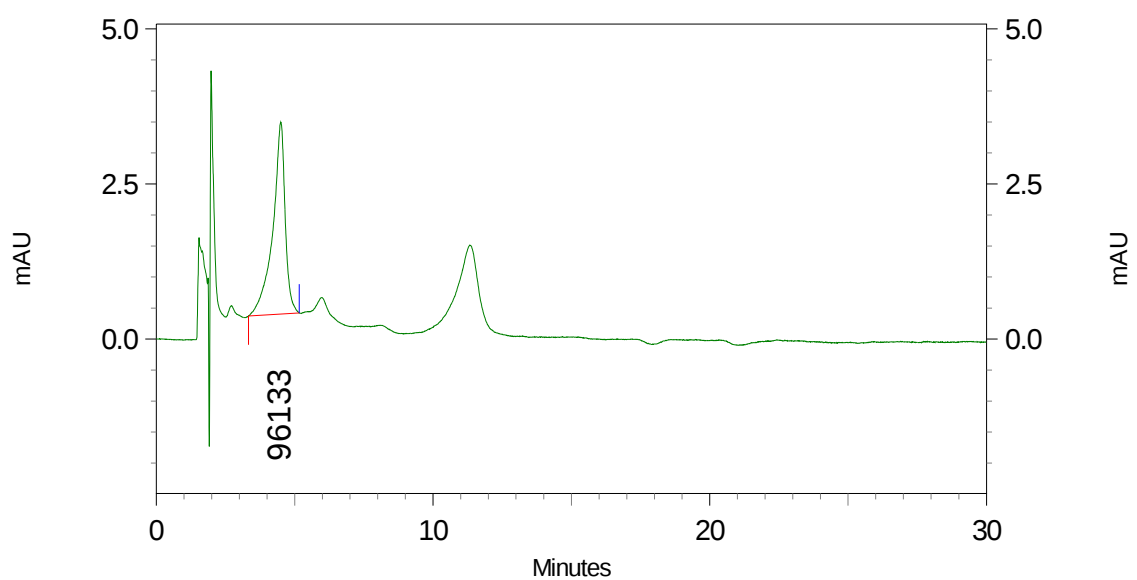
ภาพผนวกที่ ๗ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min



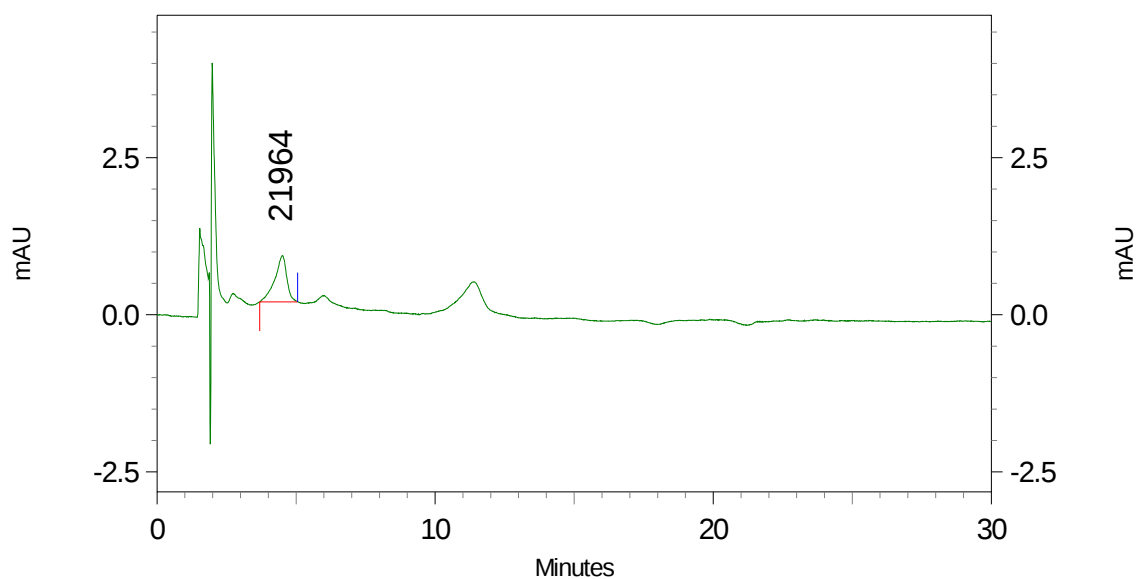
ภาพผนวกที่ ๘ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min



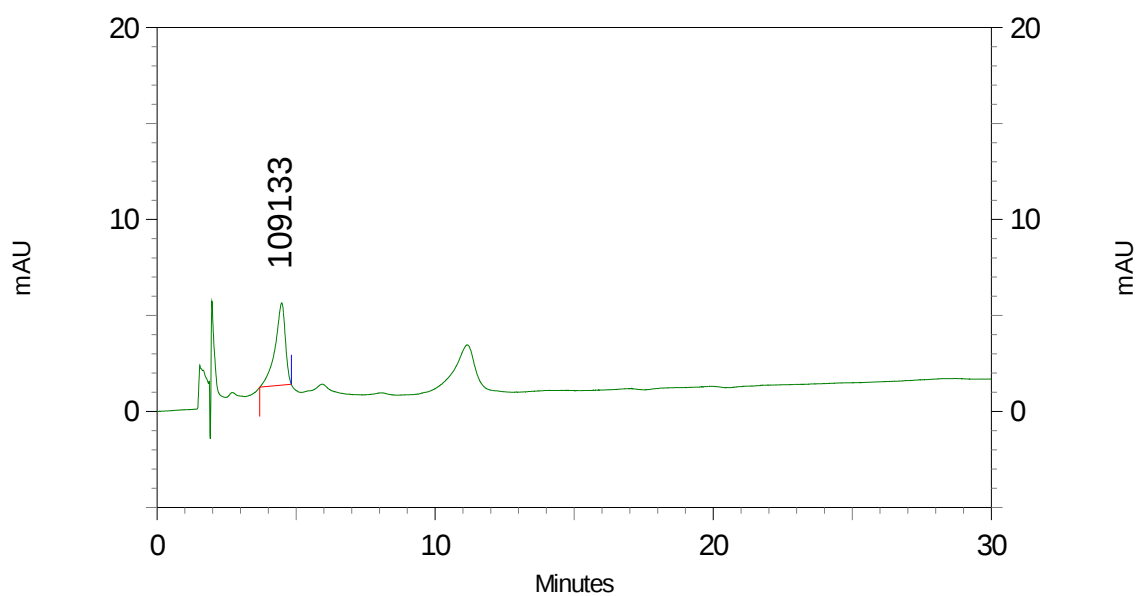
ภาพผนวกที่ ๙ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min



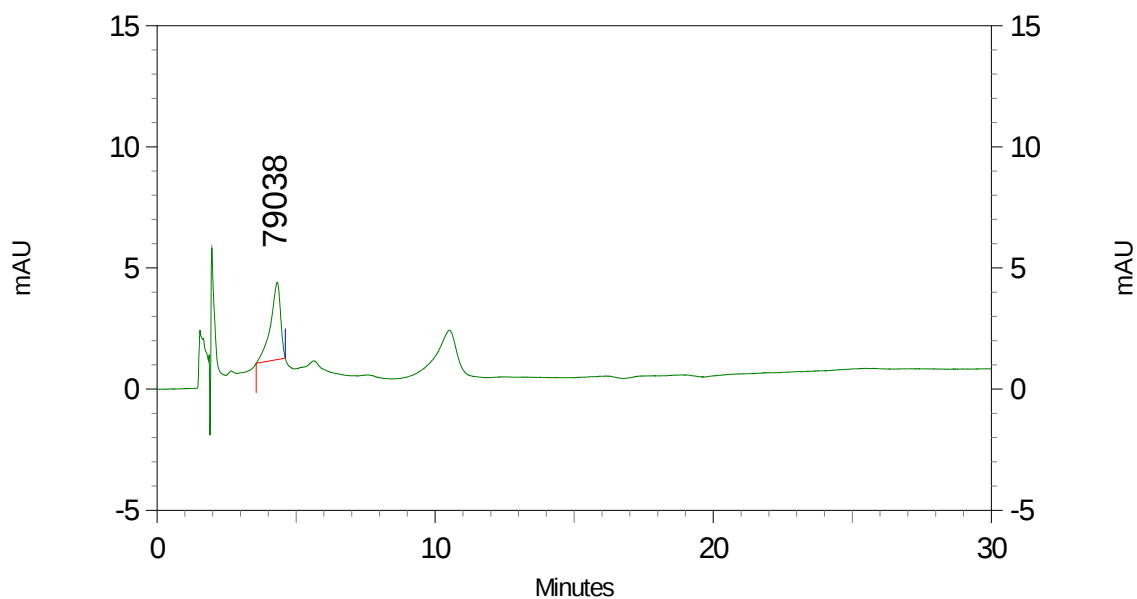
ภาพผนวกที่ ๑๐ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min



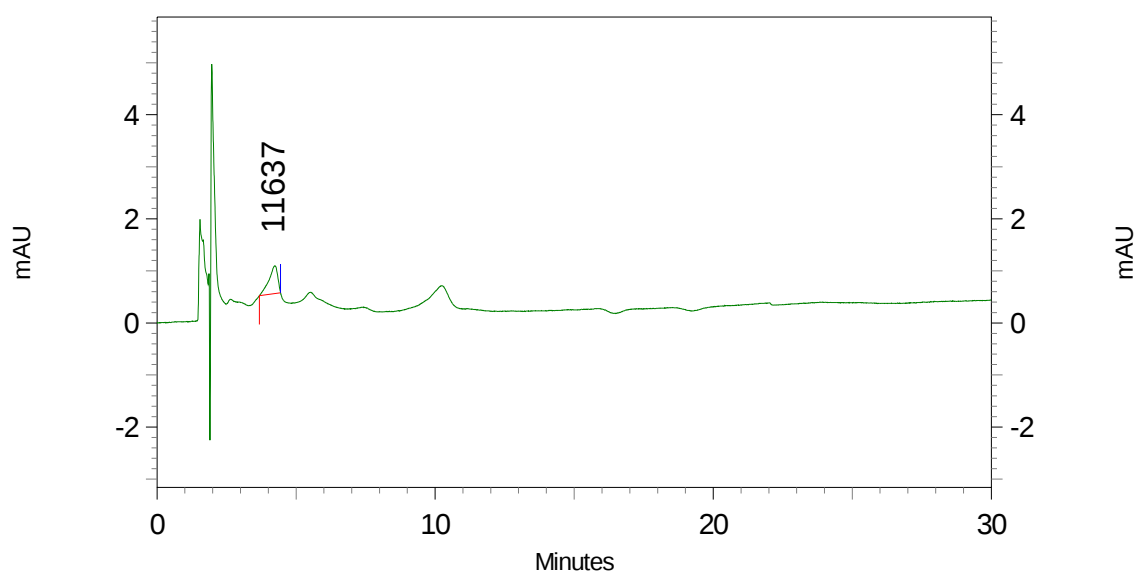
ภาพผนวกที่ ๑1 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min



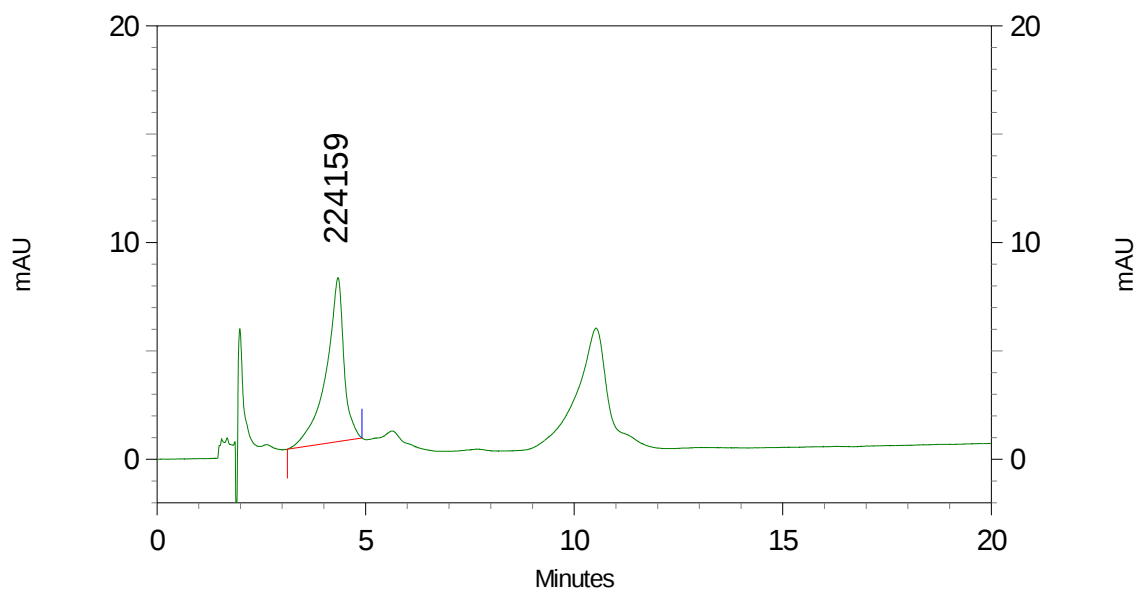
ภาพผนวกที่ ๑2 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min



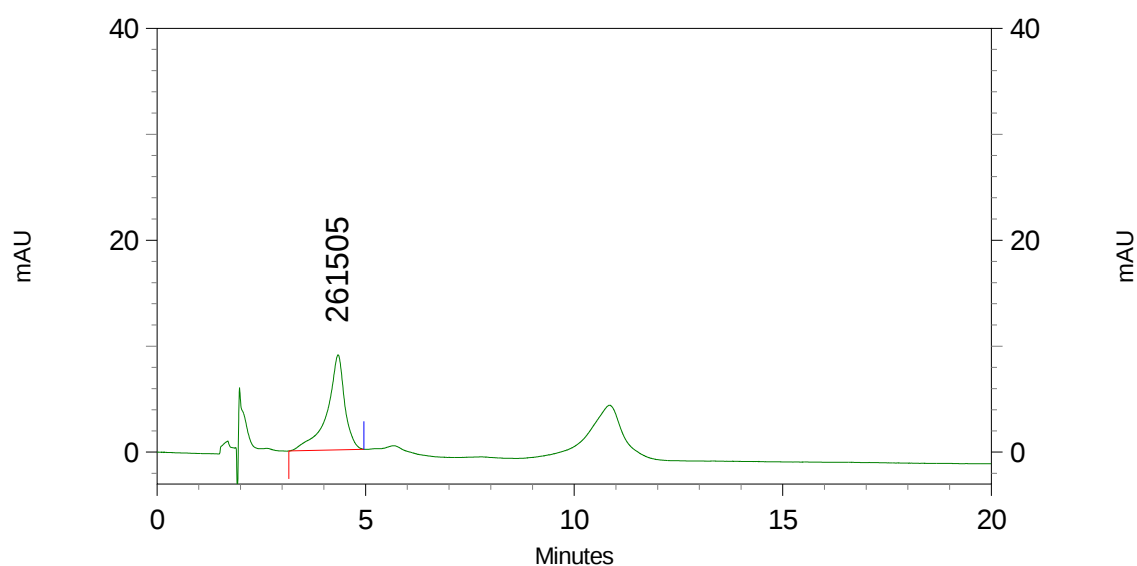
ภาพผนวกที่ ๑๓ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min



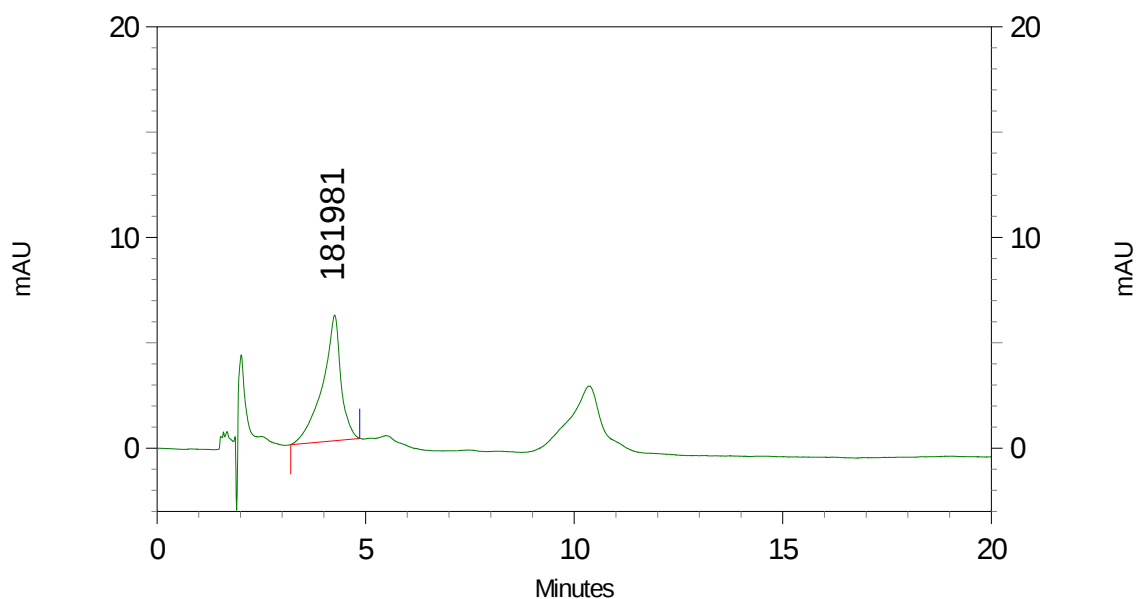
ภาพผนวกที่ ๑๔ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min



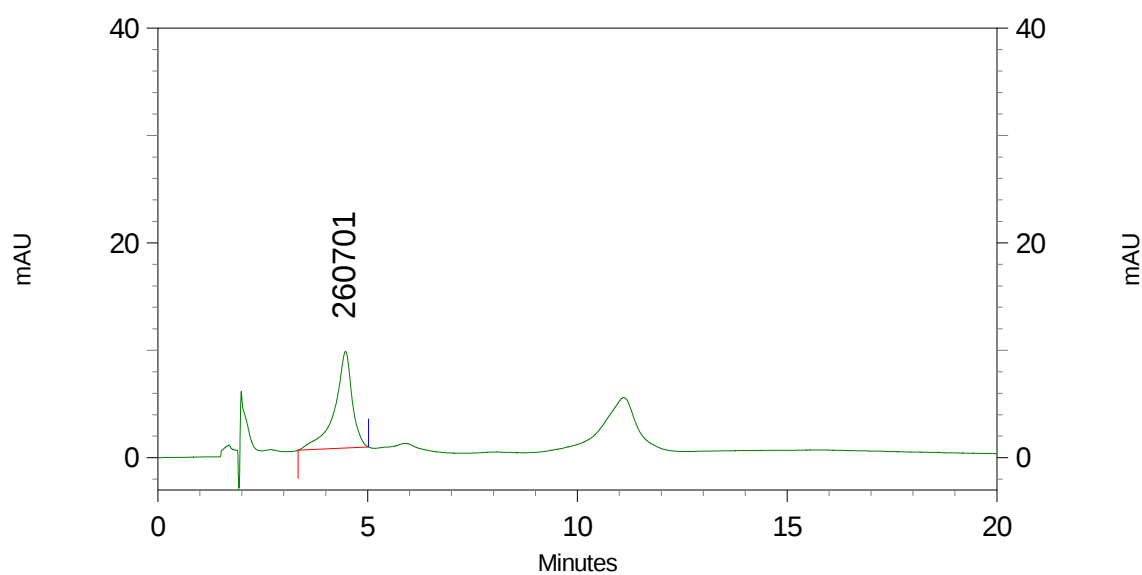
ภาพผนวกที่ ๑15 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1 ml/min (ครั้งที่ 1)



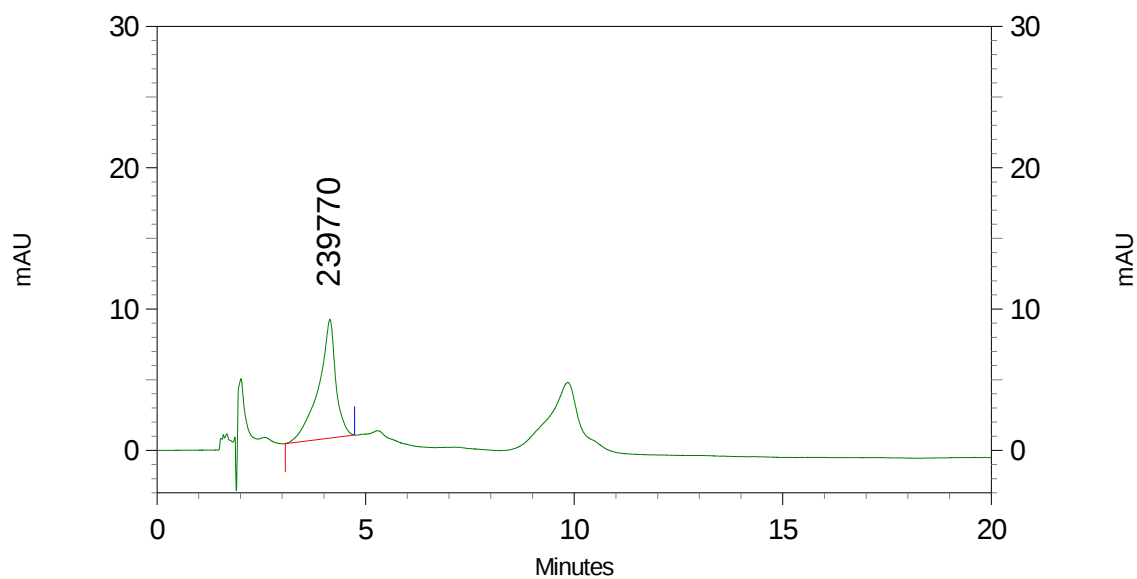
ภาพผนวกที่ ๑16 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1 ml/min (ครั้งที่ 2)



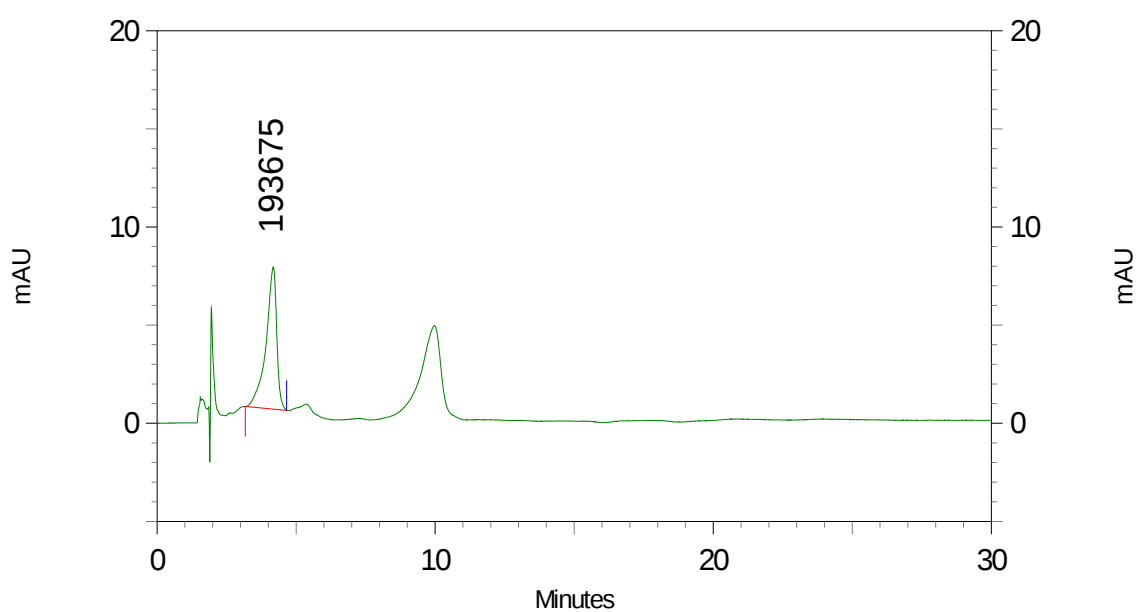
ภาพผนวกที่ ๑๗ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 3 ml/min (ครั้งที่ 1)



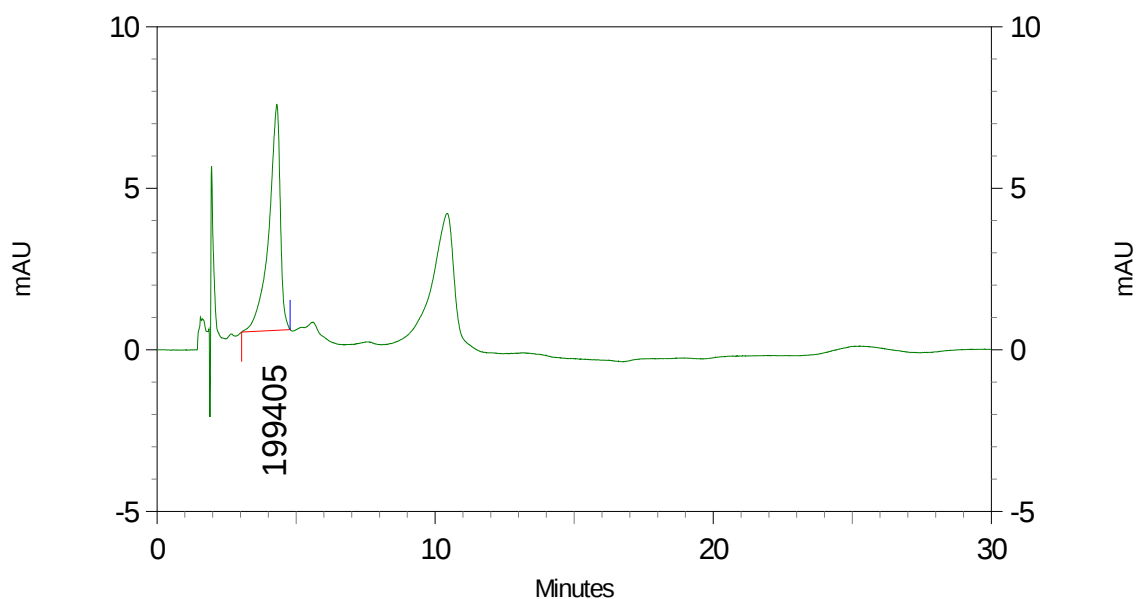
ภาพผนวกที่ ๑๘ โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 3 ml/min (ครั้งที่ 2)



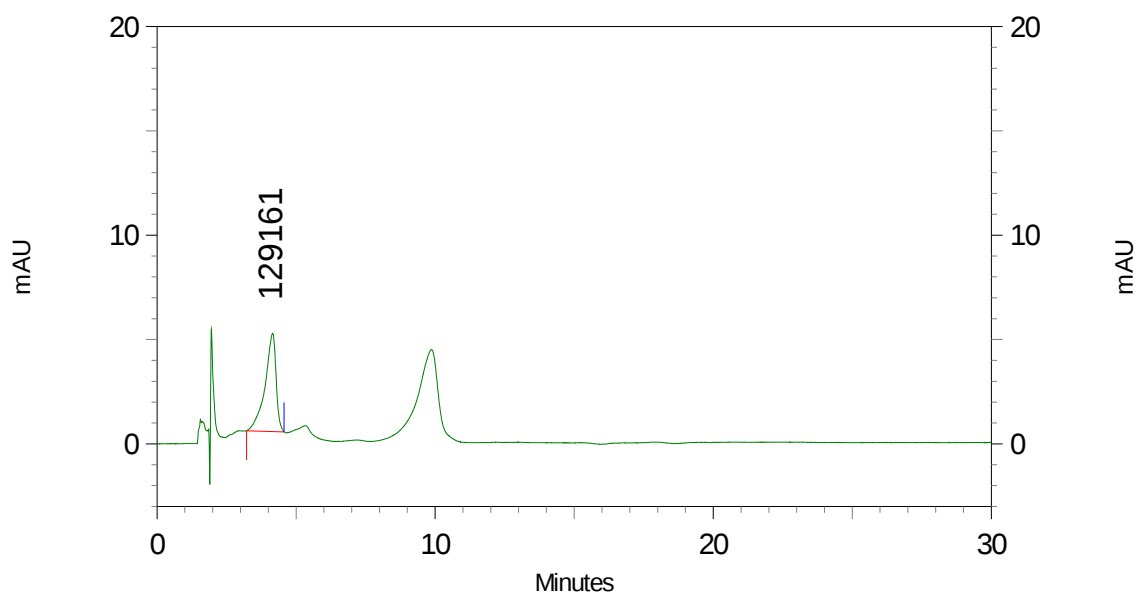
ภาพผนวกที่ จ19 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 25°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min



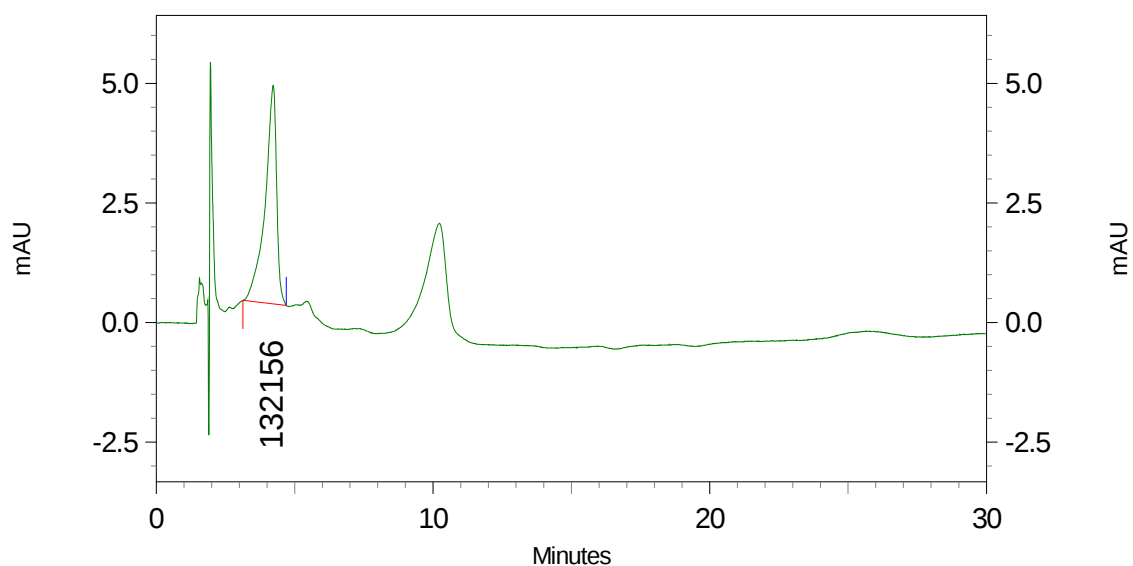
ภาพผนวกที่ จ20 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min



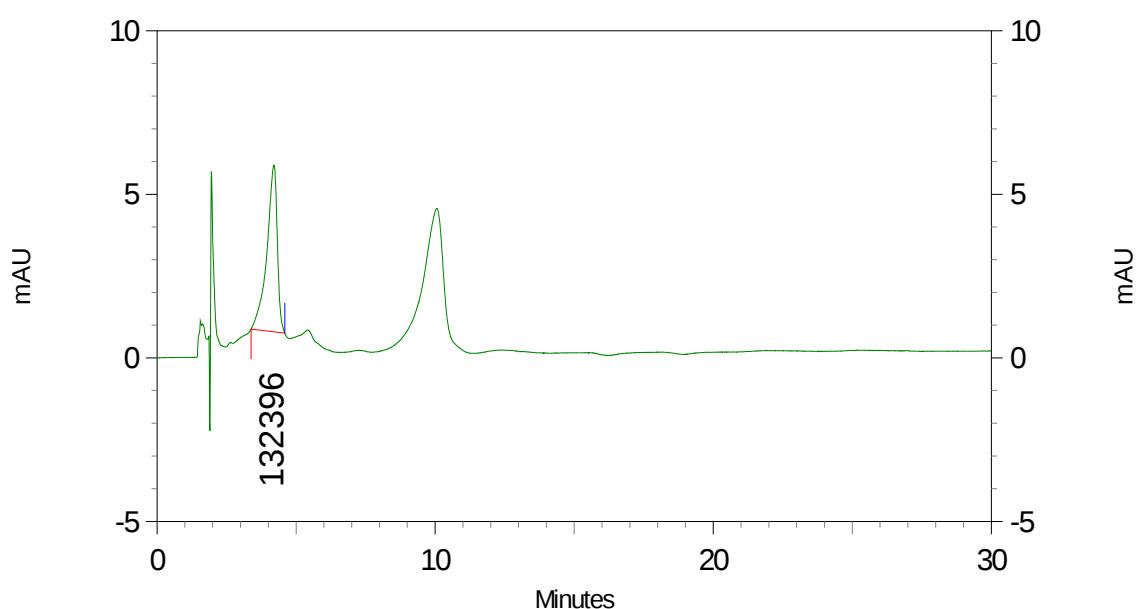
ภาพผนวกที่ ฉ21 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min



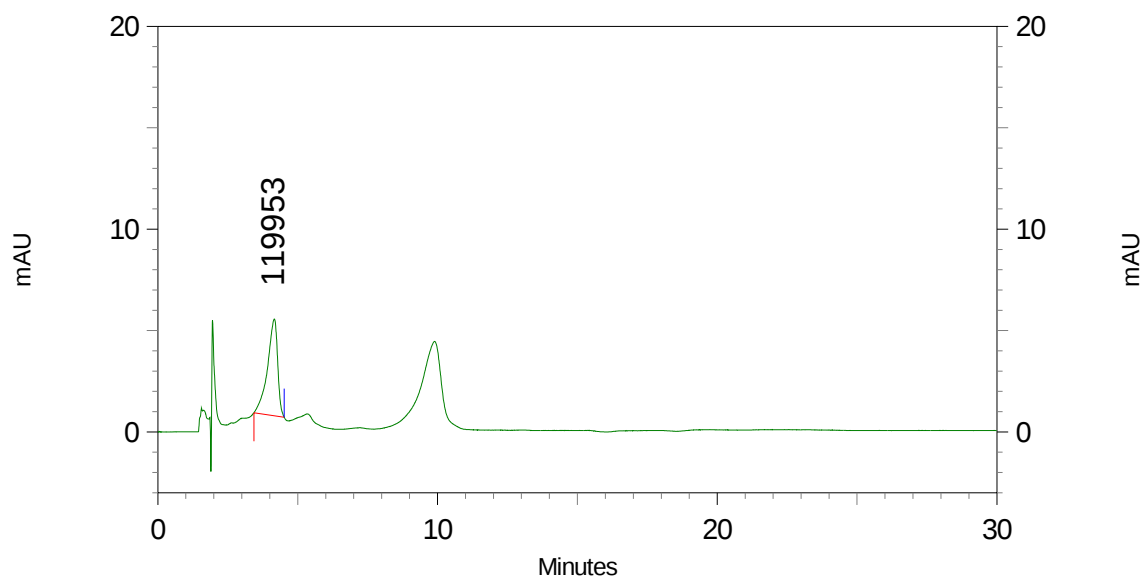
ภาพผนวกที่ ฉ22 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min



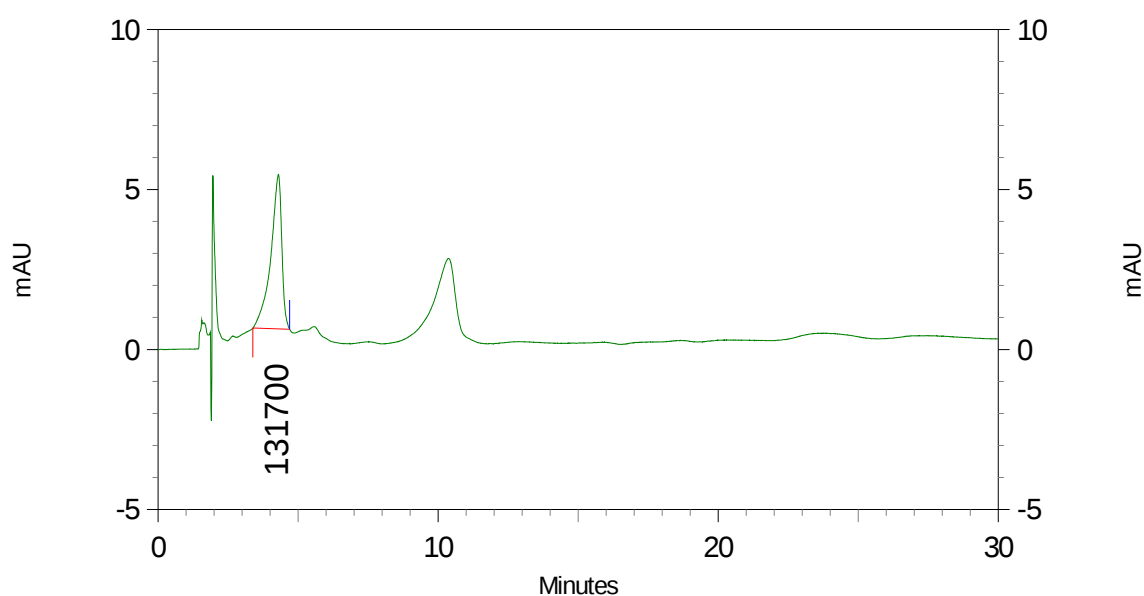
ภาพผนวกที่ น23 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min



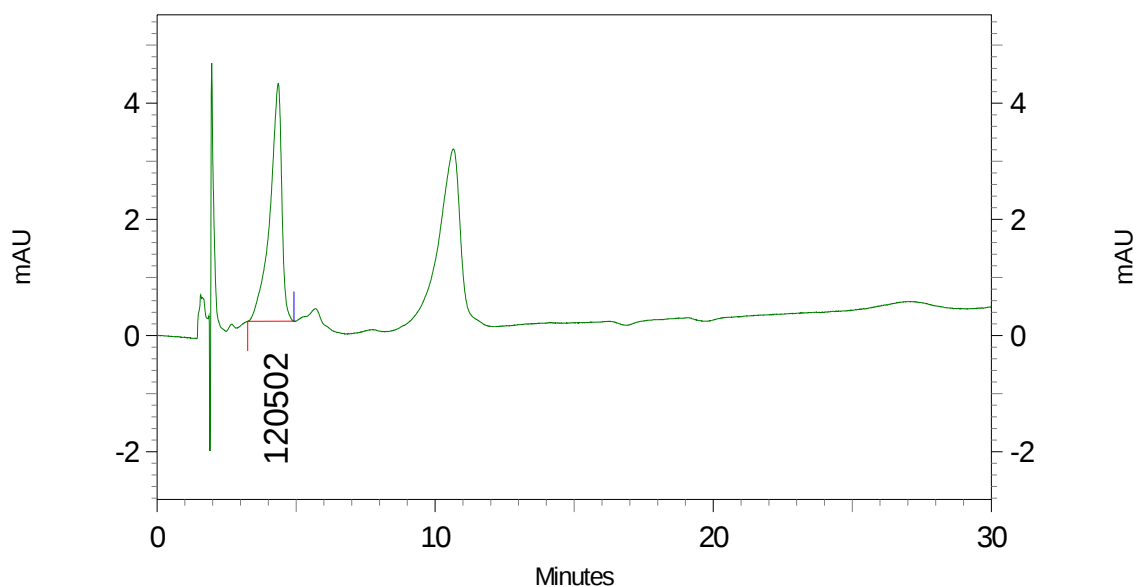
ภาพผนวกที่ น24 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min



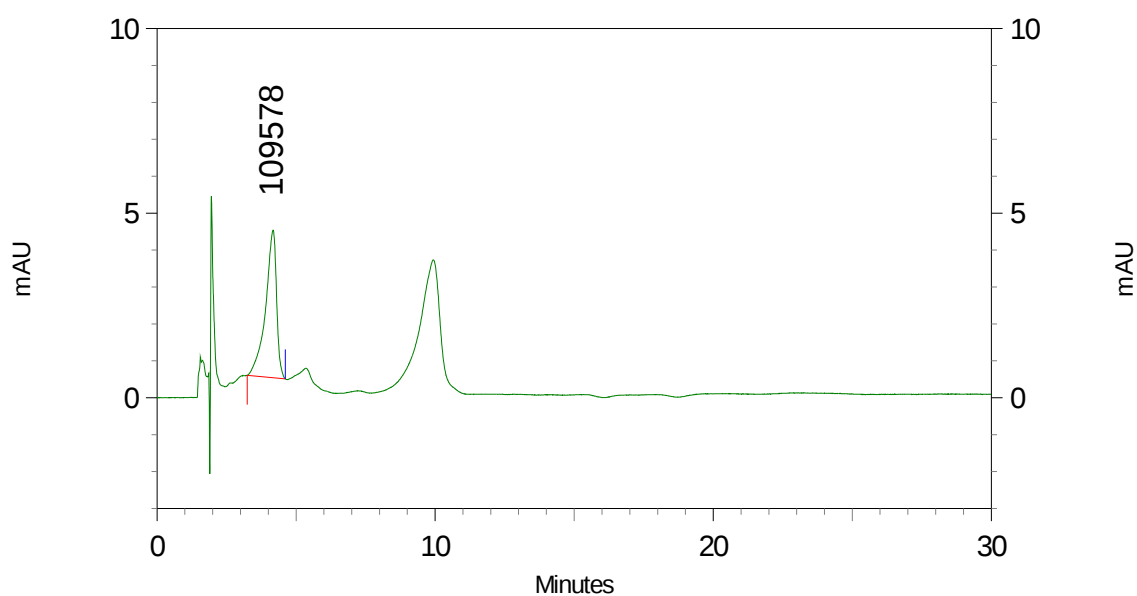
ภาพผนวกที่ จ25 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min



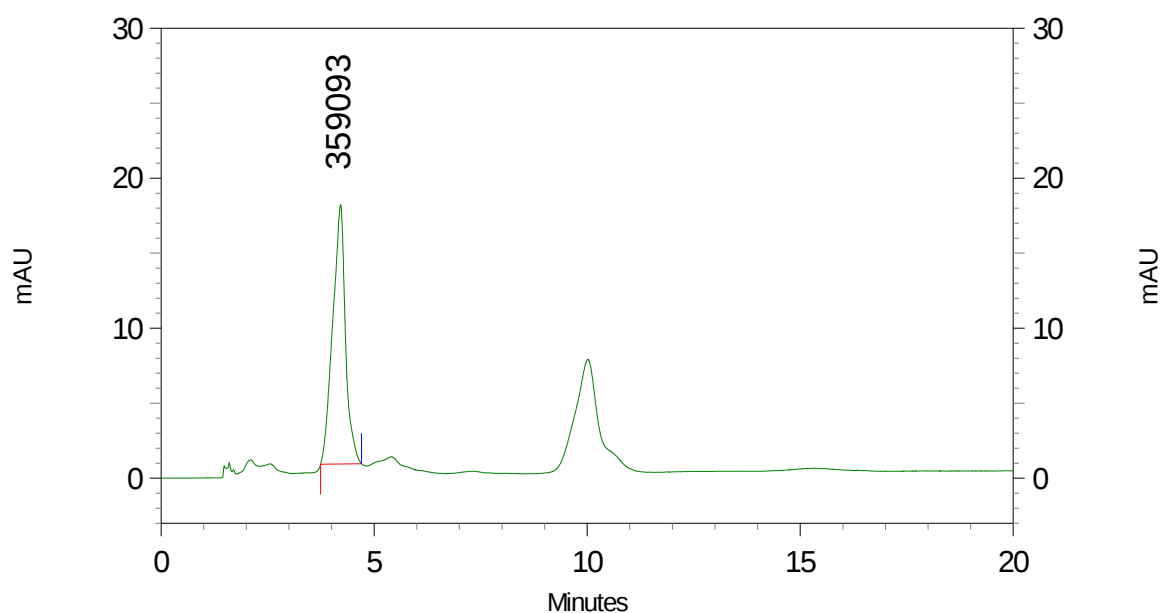
ภาพผนวกที่ จ26 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min



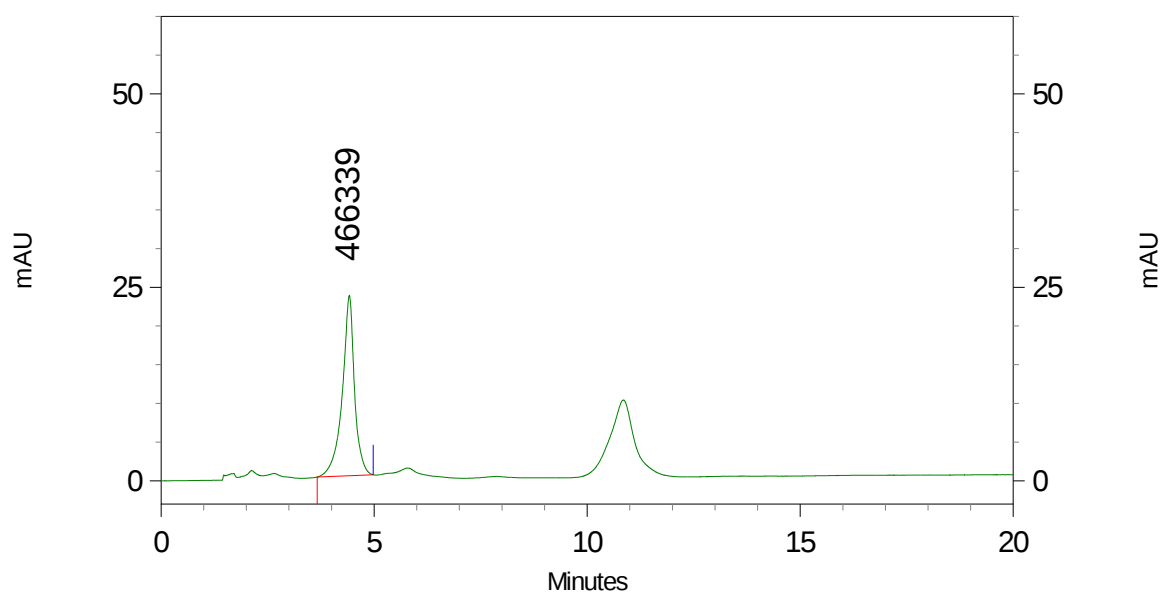
ภาพผนวกที่ น27 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min



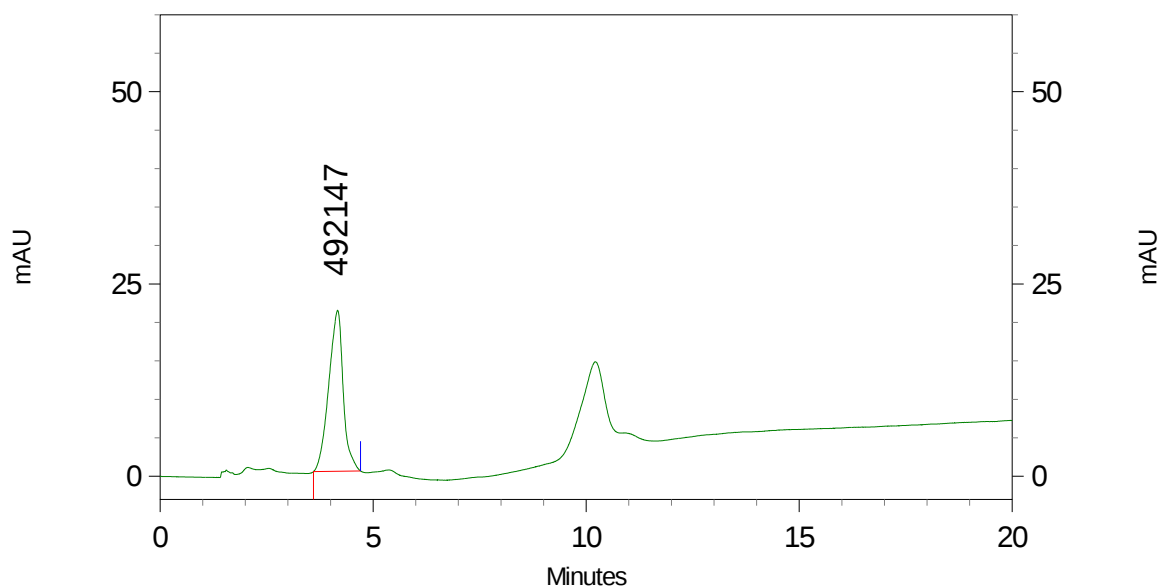
ภาพผนวกที่ น28 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45°C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min



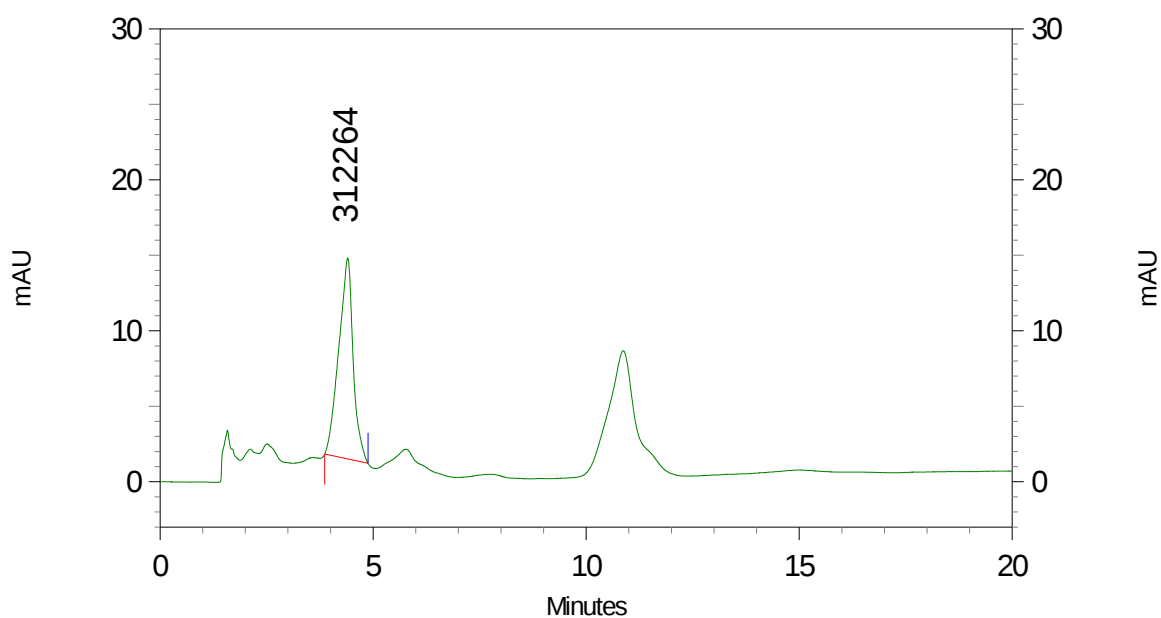
ภาพผนวกที่ น29 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1 ml/min (ครั้งที่ 1)



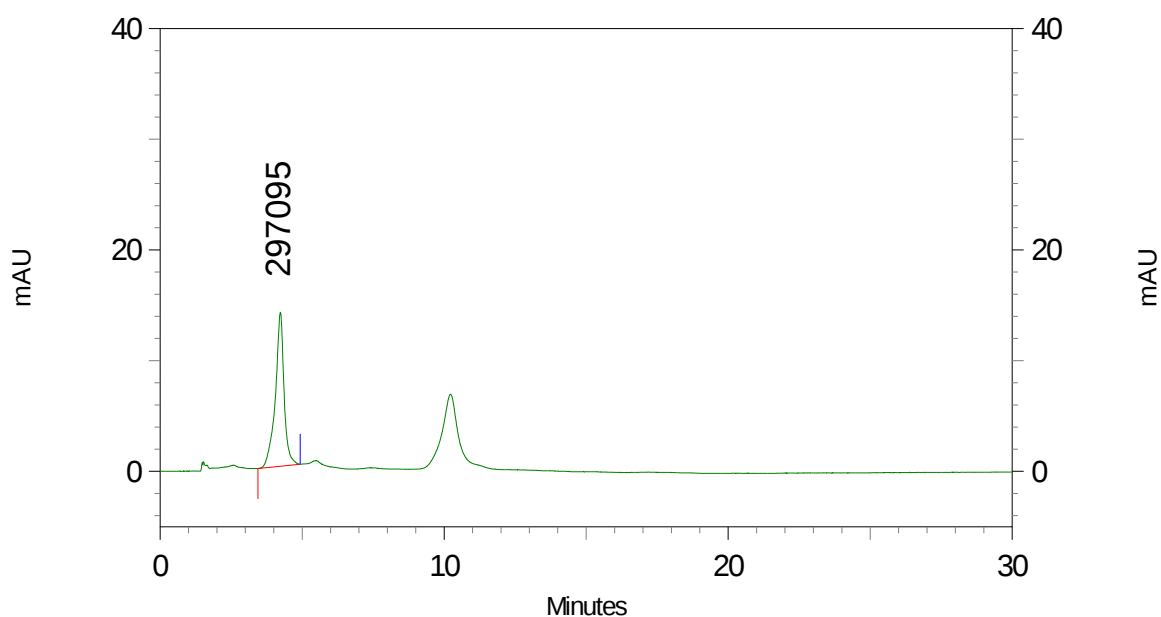
ภาพผนวกที่ น30 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1 ml/min (ครั้งที่ 2)



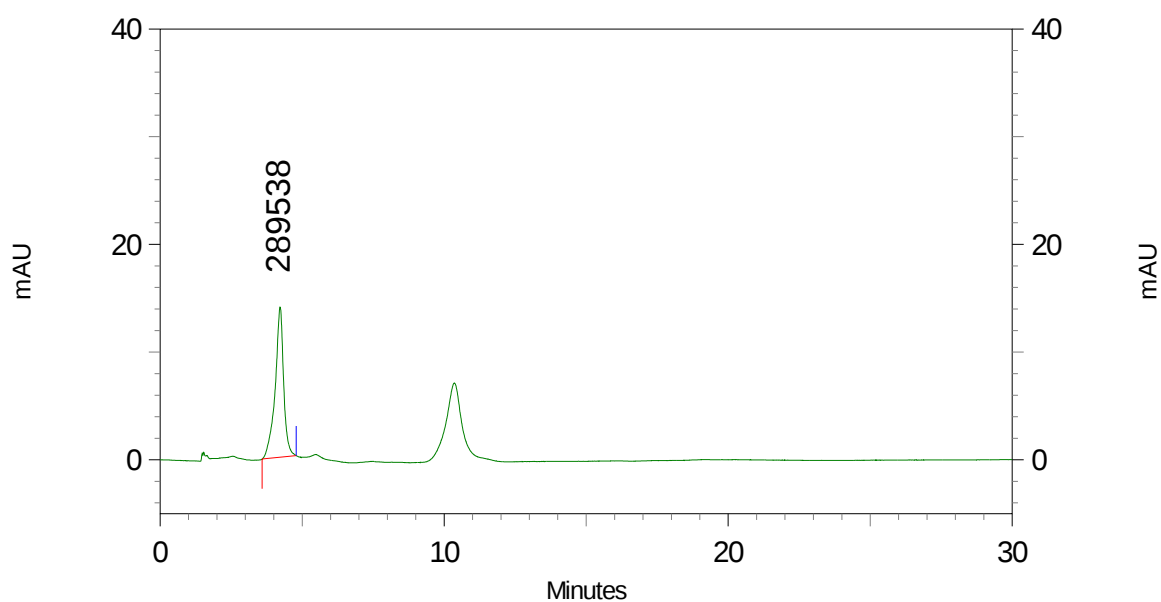
ภาพผนวกที่ น31 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอซีโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 3 ml/min



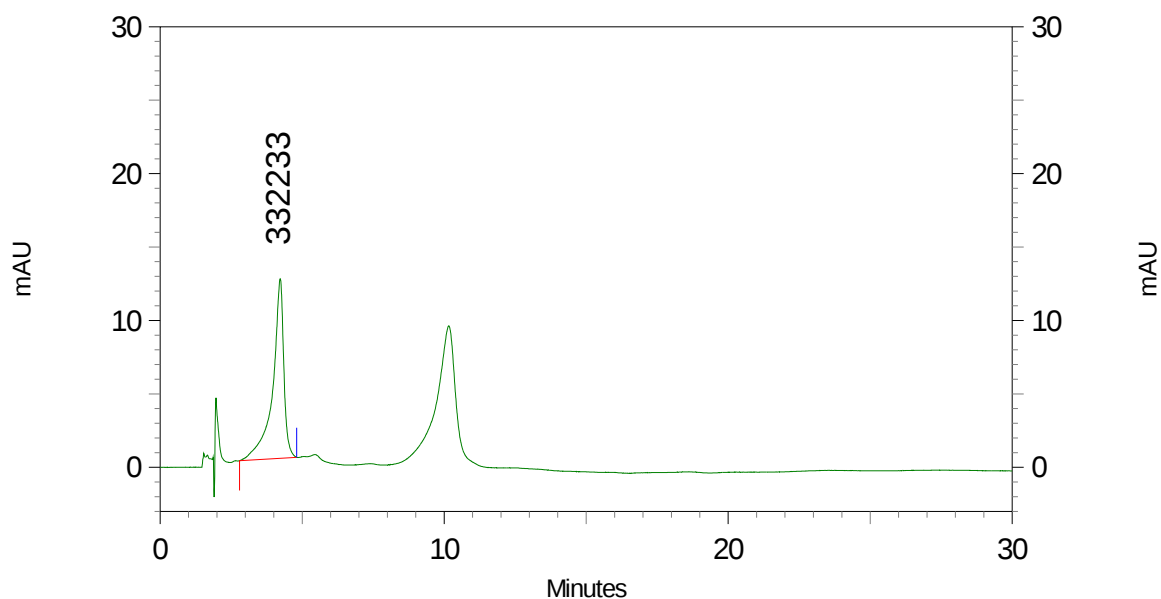
ภาพผนวกที่ น32 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้เอซีโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 25 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min



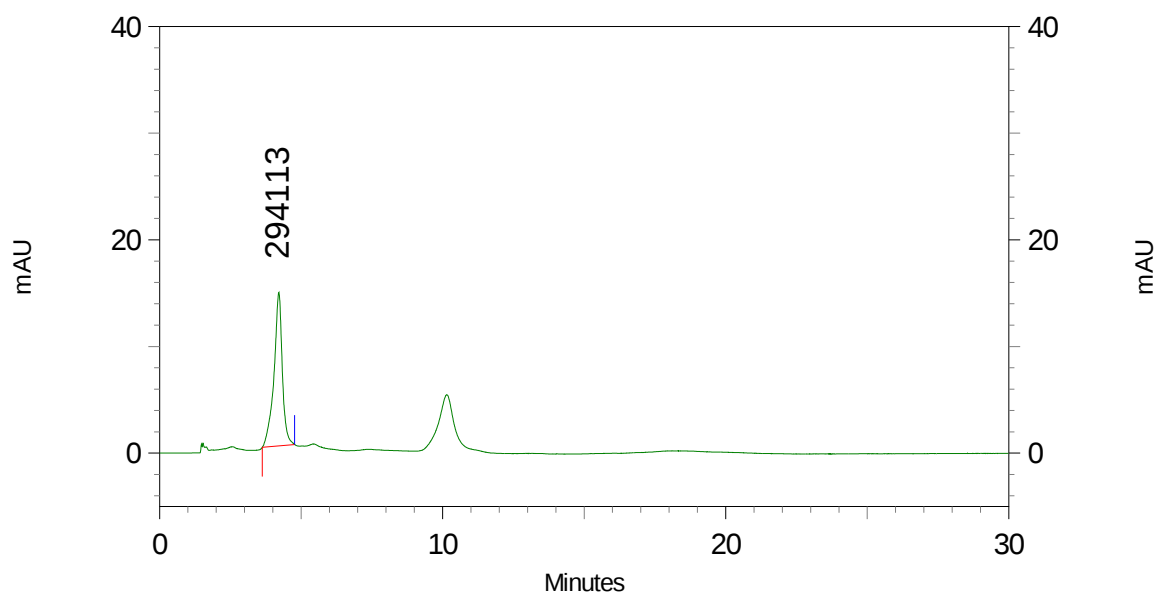
ภาพผนวกที่ น33 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min



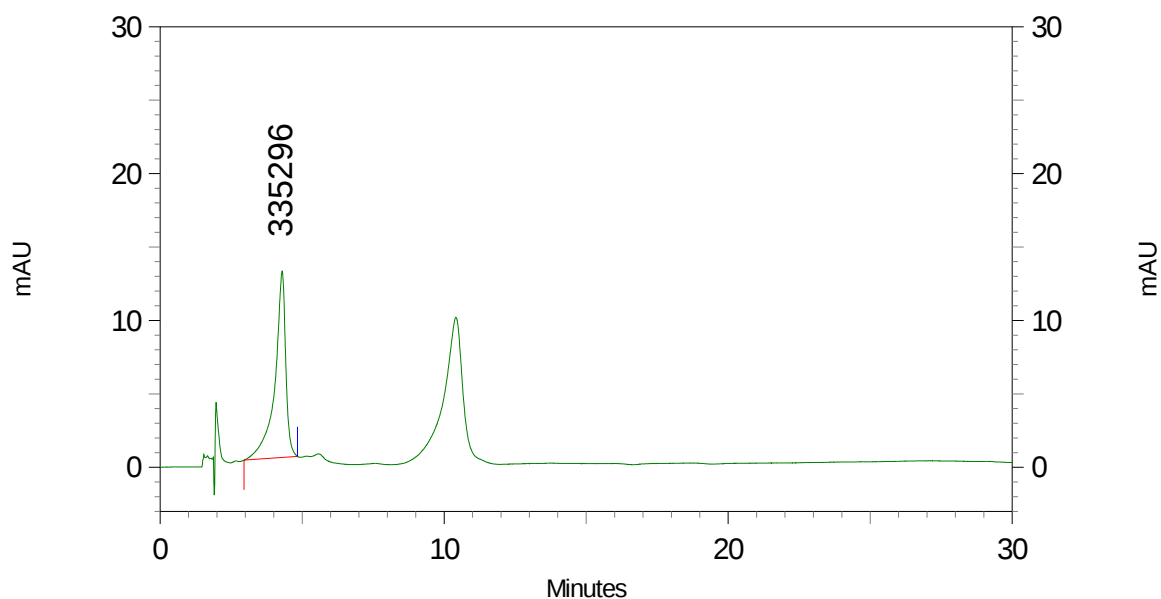
ภาพผนวกที่ น34 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min



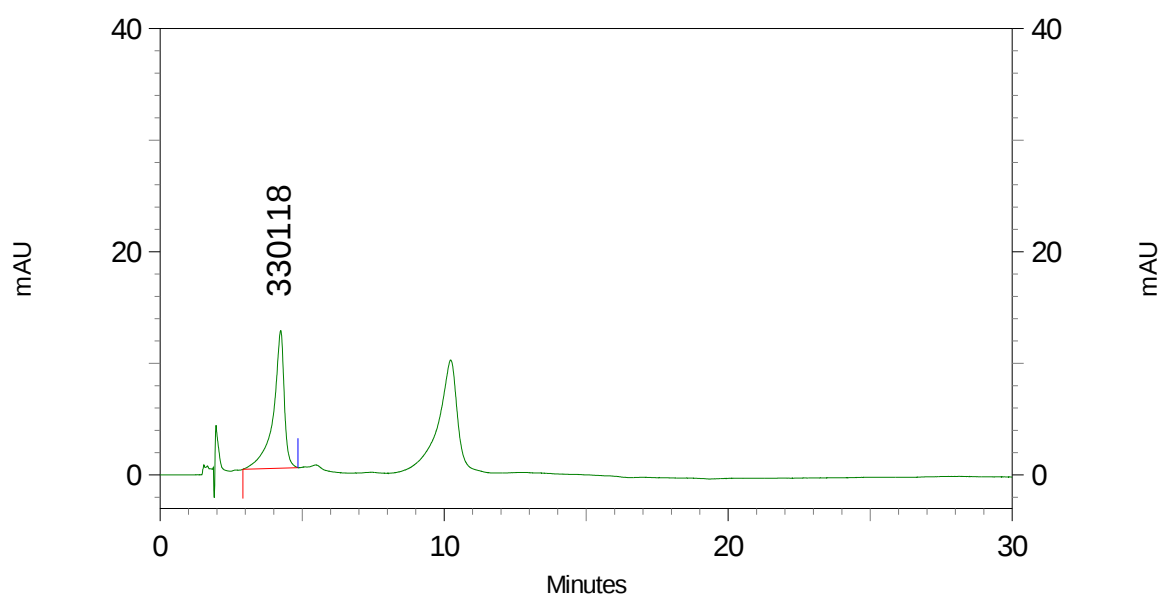
ภาพผนวกที่ น35 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min



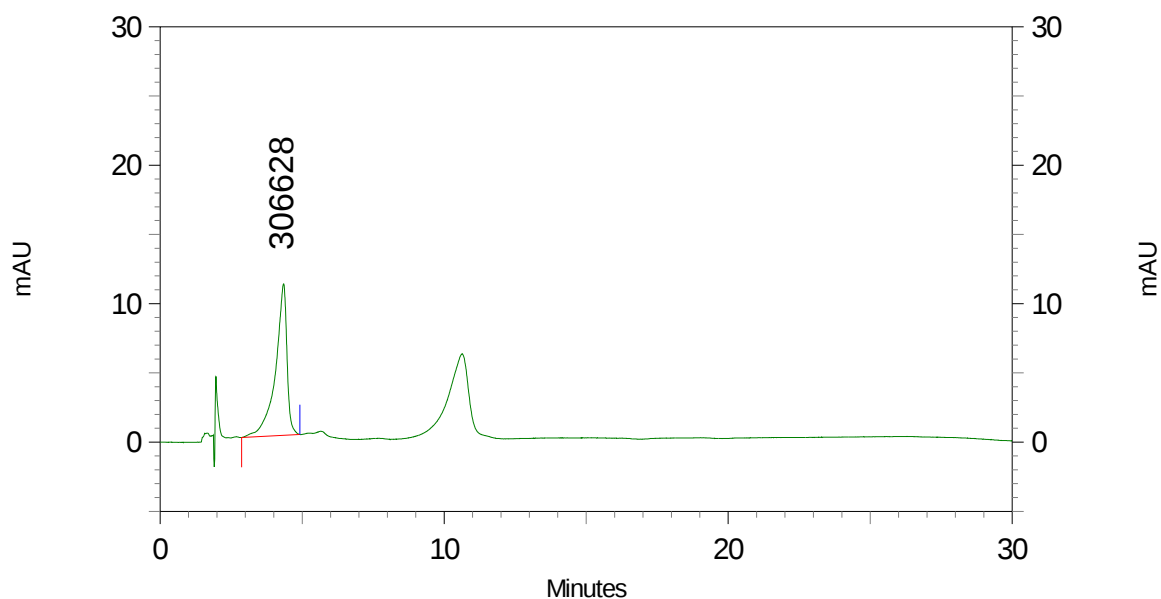
ภาพผนวกที่ น36 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min



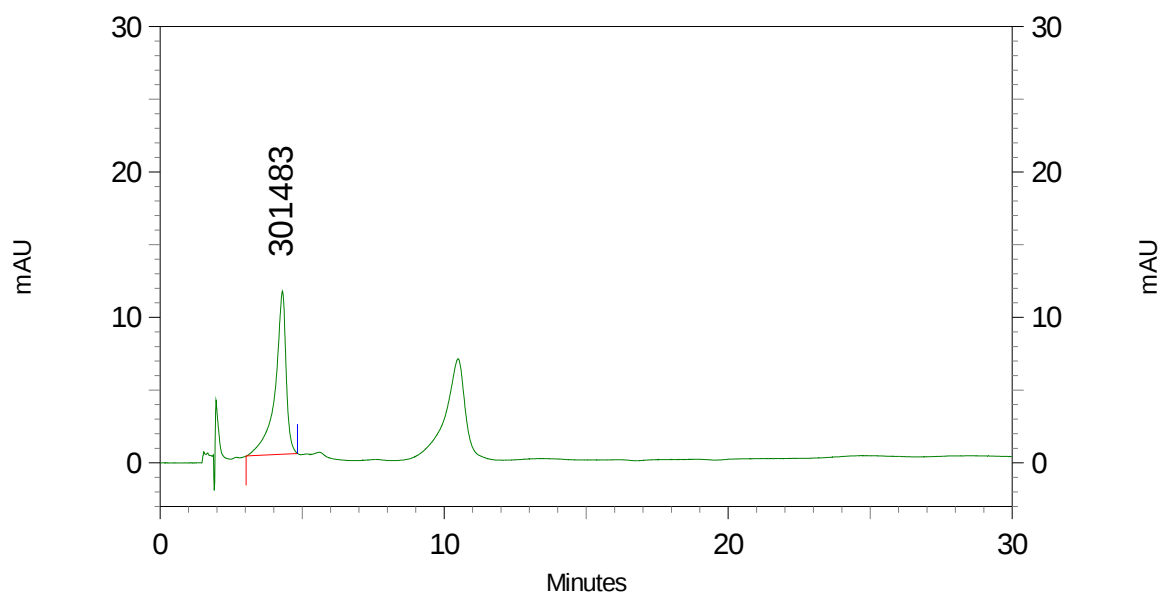
ภาพผนวกที่ น37 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min



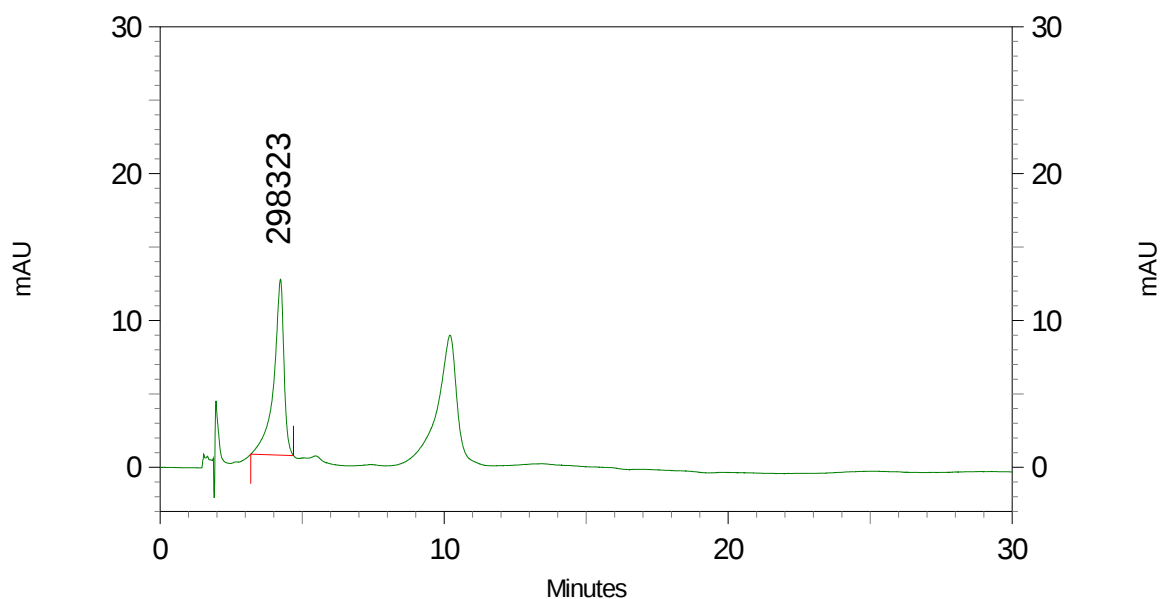
ภาพผนวกที่ น38 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min



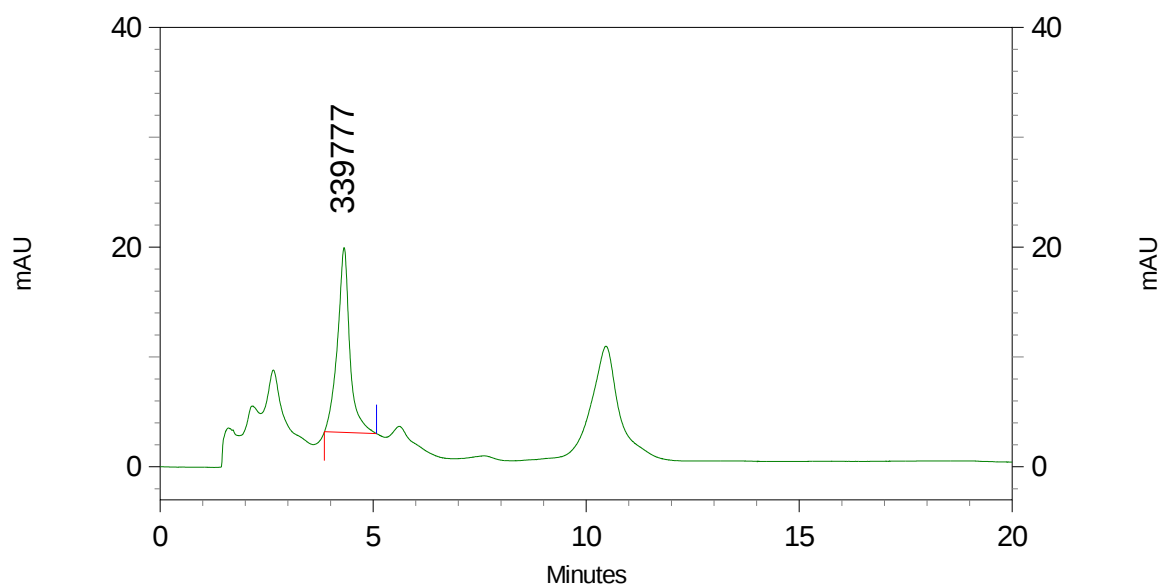
ภาพผนวกที่ น39 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min



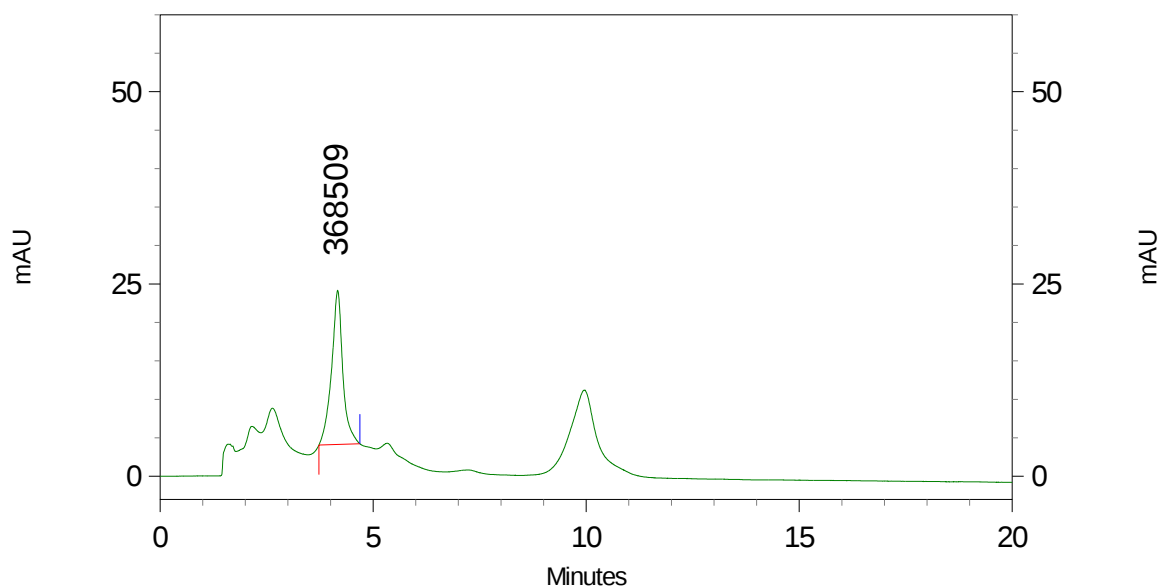
ภาพผนวกที่ น40 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 40 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min



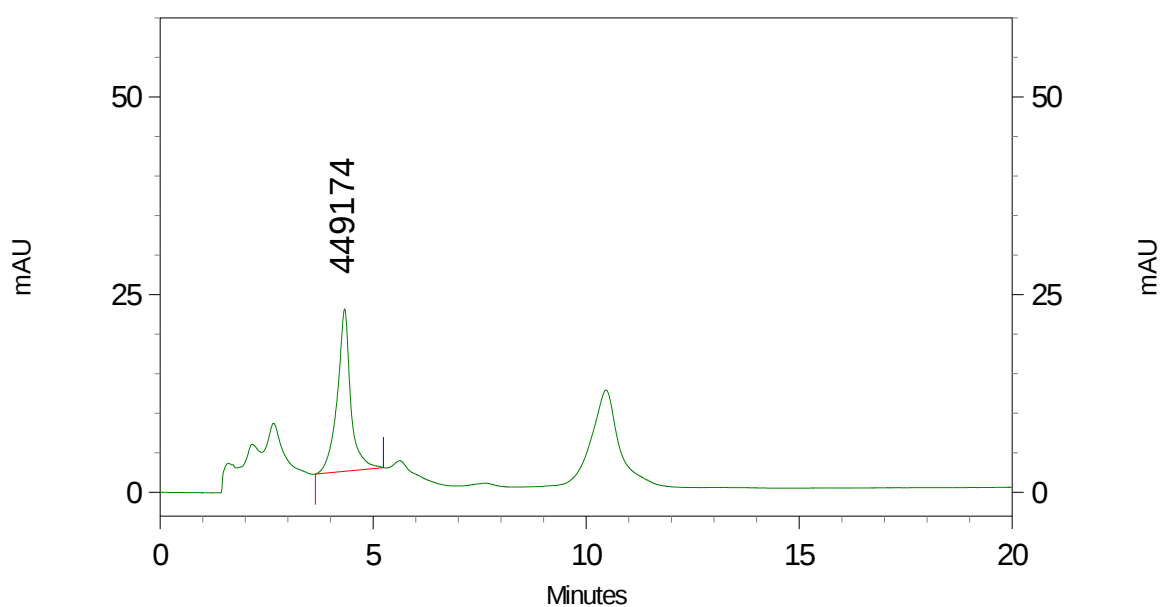
ภาพผนวกที่ ๓41 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้ไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min



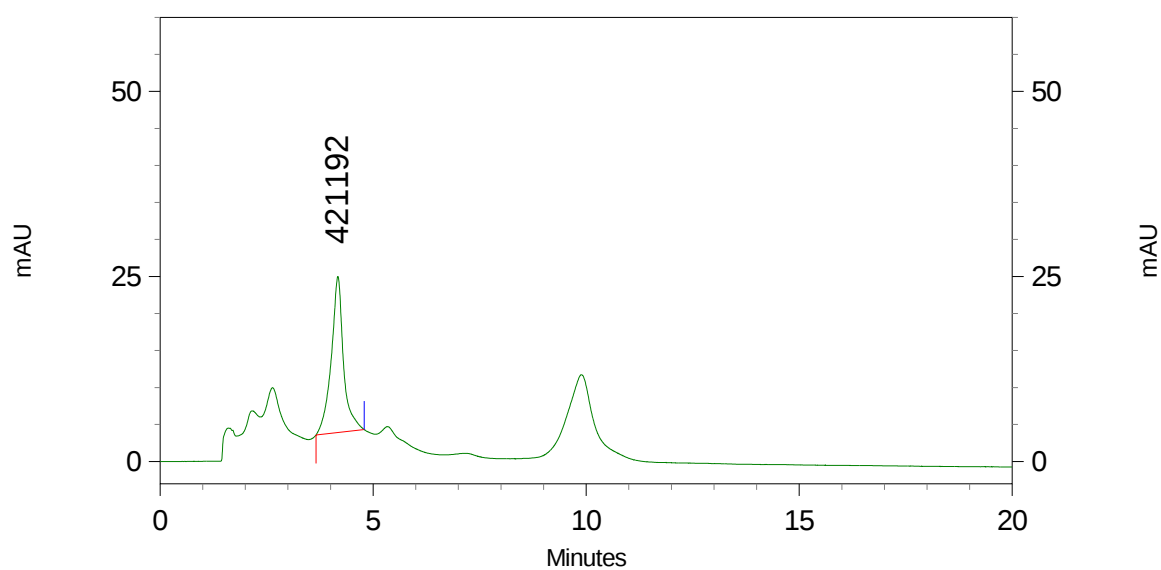
ภาพผนวกที่ ๓42 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้ไดเมทิลฟอร์มมาไมด์เป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1 ml/min



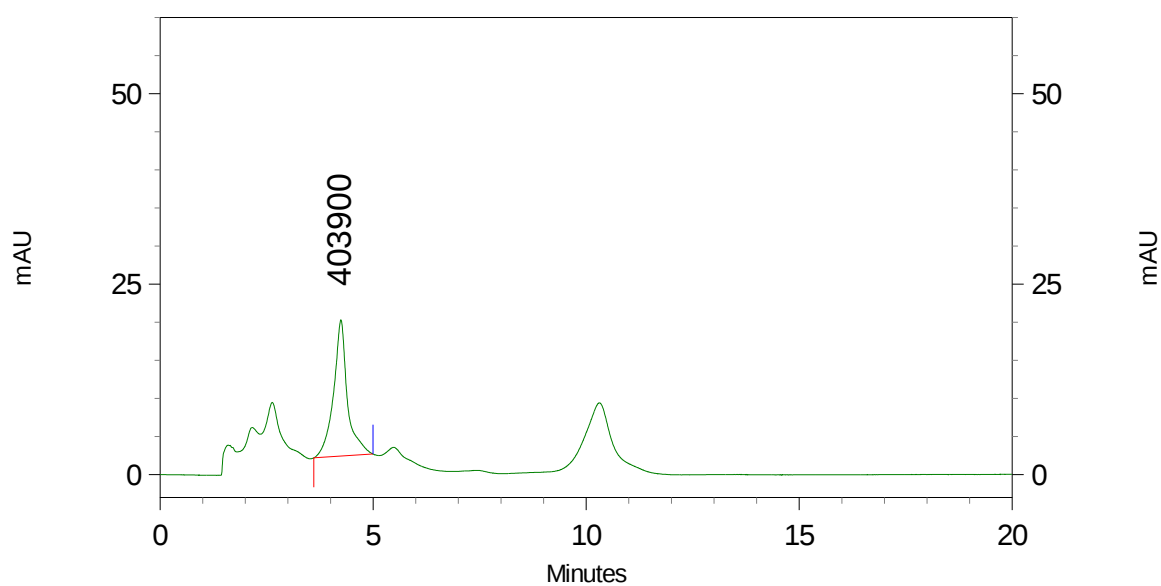
ภาพผนวกที่ น43 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์เป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 3 ml/min



ภาพผนวกที่ น44 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์เป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 ml/min



ภาพผนวกที่ น45 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์เป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 10 ml/min



ภาพผนวกที่ น46 โครมาโตแกรมของสาร Andrographolide ที่สกัดได้จากเทคนิค Gas Anti-solvent โดยใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์เป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 ml/min

ภาคผนวก ข

ข้อมูลปริมาณสาร Andrographolide

ตารางผนวกที่ ข1 ข้อมูลปริมาณสาร Andrographolide ที่สกัดได้

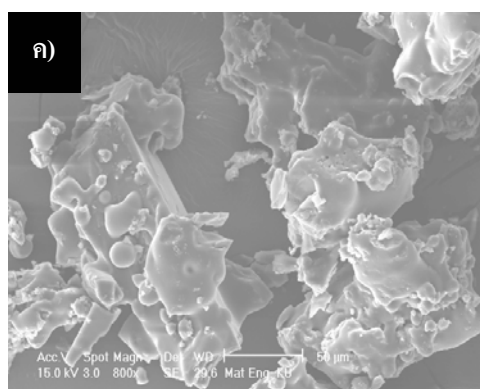
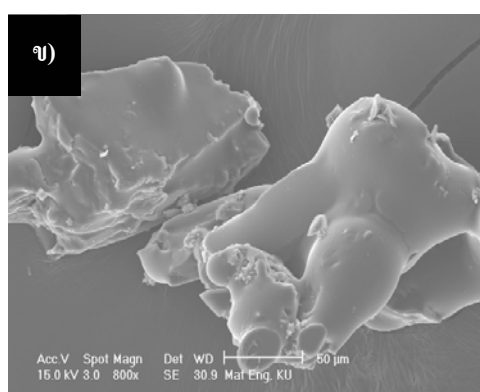
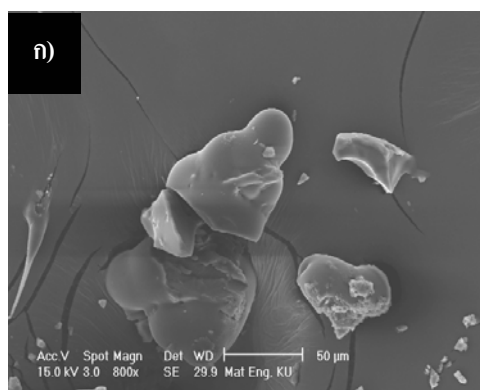
ชนิด ตัวทำ ละลาย	สภาวะการสกัด		ปริมาณสาร Andrographolide (mg)		% Yield
	อุณหภูมิ (°C)	อัตราการ ไหล CO ₂ (ml/min)	GAS	Convectional Extraction	
เมทานอล	25	5	393.35	688.85	57.10
	35	1	416.45	677.73	64.44
	35	3	442.50	688.85	65.28
	35	5	472.61	580.70	81.39
	35	10	384.48	580.70	66.21
	35	15	383.90	580.70	66.11
	40	5	419.43	580.70	72.23
	40	10	369.58	603.43	61.25
	40	15	350.75	580.70	60.40
	45	5	337.02	688.85	48.93
	45	10	287.89	603.43	47.71
	45	15	276.52	580.70	47.62
เอทานอล	25	5	387.69	589.52	65.76
	35	1	380.21	589.52	64.49
	35	3	381.38	589.52	64.69
	35	5	465.37	534.18	87.12
	35	10	413.75	519.81	79.60
	35	15	349.54	534.18	65.43
	40	5	413.75	519.81	79.60
	40	10	352.50	534.18	65.99
	40	15	341.62	519.81	65.72
	45	5	349.54	534.18	65.43

ตารางผนวกที่ ๑๑ (ต่อ)

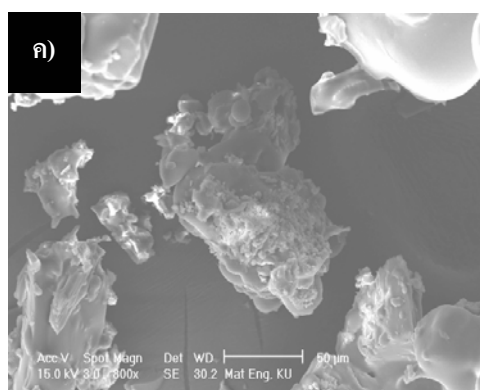
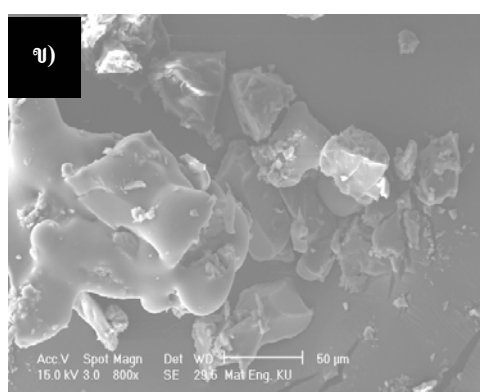
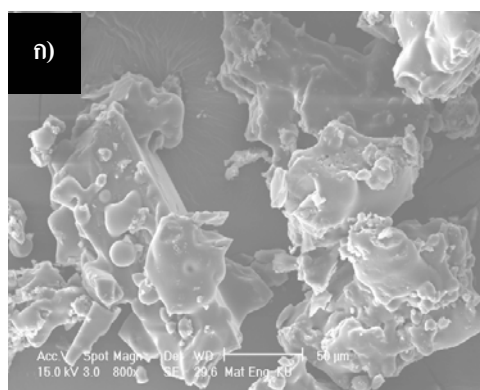
ชนิดตัว ทำละลาย	สภาวะการสกัด		ปริมาณสาร Andrographolide (mg)		% Yield
	อุณหภูมิ (°C)	อัตราการ ไหล CO ₂ (ml/min)	GAS	Convectional Extraction	
เอทานอล	45	10	341.12	534.18	63.86
	45	15	331.64	519.81	63.80
อะซีโตน	25	5	472.35	642.82	73.48
	35	1	523.44	642.82	81.43
	35	3	604.57	642.82	94.05
	35	5	571.54	592.70	96.43
	35	10	568.48	592.70	95.91
	35	15	601.42	686.39	87.62
	40	5	563.78	592.70	95.12
	40	10	632.99	686.39	92.22
	40	15	595.75	686.39	86.79
	45	5	629.62	686.39	91.73
	45	10	627.29	686.39	91.39
	45	15	592.27	686.39	86.29
ไดเมทิล ฟอร์มามิด	35	1	429.43	740.52	57.99
	35	3	449.57	740.52	60.71
	35	5	506.11	740.52	68.34
	35	10	486.50	740.52	65.70
	35	15	474.38	740.52	64.06

ภาคผนวก ข

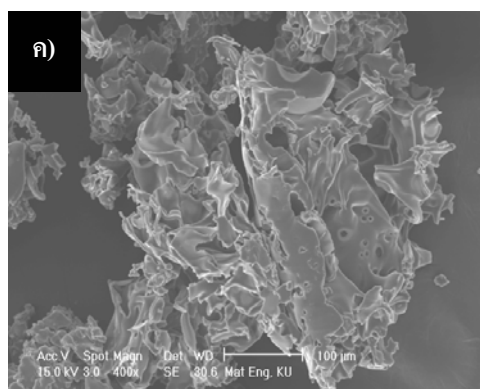
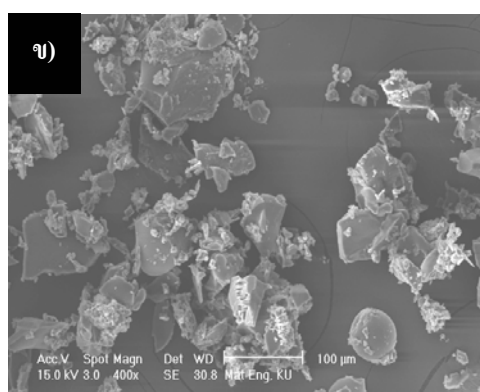
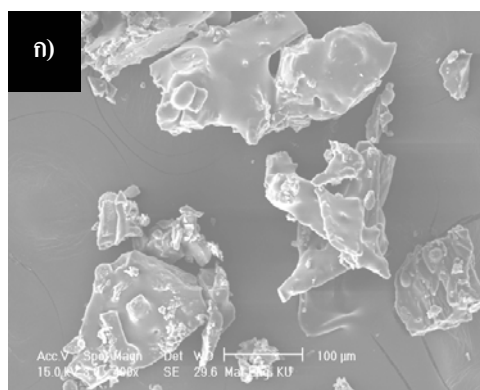
ภาพการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM)



ภาพผนวกที่ ข1 ภาพแสดงขนาดอนุภาค (SEM micrographs) กำลังขยาย 800 เท่าของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 35 °C และอัตราการไหลของ CO₂ ต่างๆ ดังนี้ ก) 5 ml/min ข) 10 ml/min ค) 15 ml/min



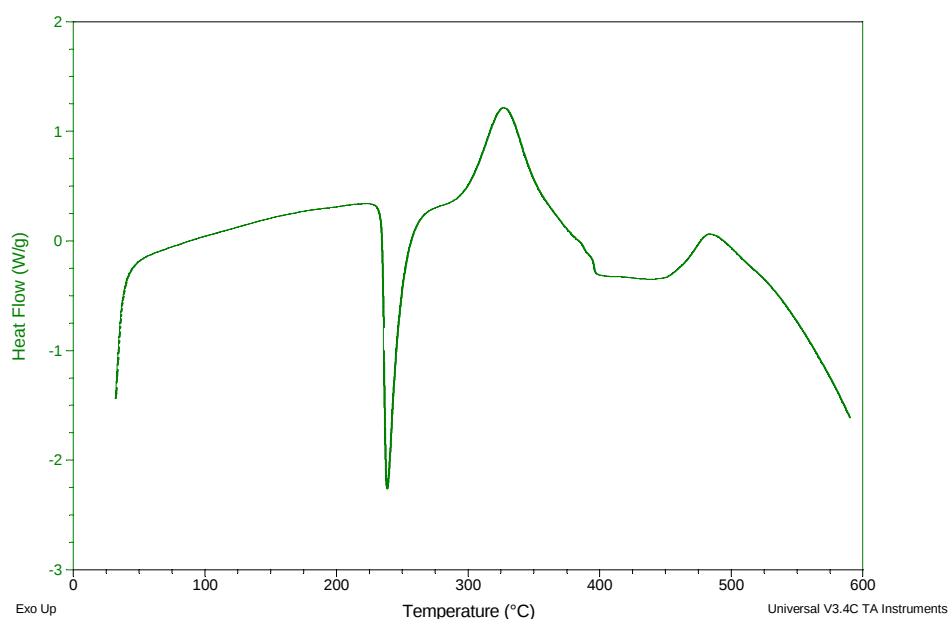
ภาพผนวกที่ ข2 ภาพแสดงขนาดอนุภาค (SEM micrographs) กำลังขยาย 800 เท่าของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ที่อัตราการไหลของ CO_2 15 ml/min และอุณหภูมิต่างๆ ดังนี้ ก) 35 °C ข) 40 °C ค) 45 °C



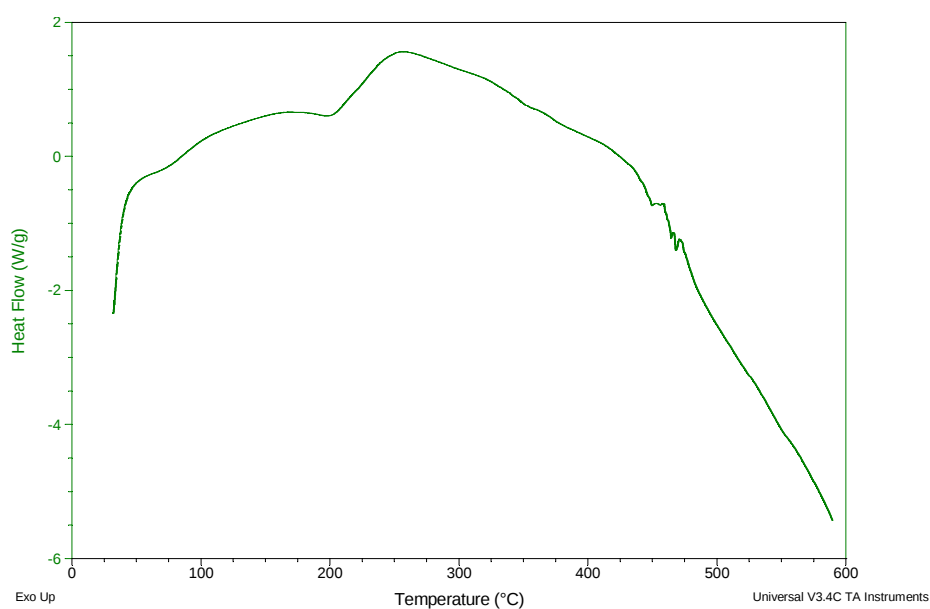
ภาพผนวกที่ ข3 ภาพแสดงขนาดอนุภาค (SEM micrographs) กำลังขยาย 400 เท่าของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS ที่อุณหภูมิ 35 °C อัตราการไหลของ CO_2 15 ml/min ในตัวทำละลายชนิดต่างๆ ดังนี้ ก) อะซีโตน ข) เอทานอล ค) เมทานอล

ภาคผนวก ฅ

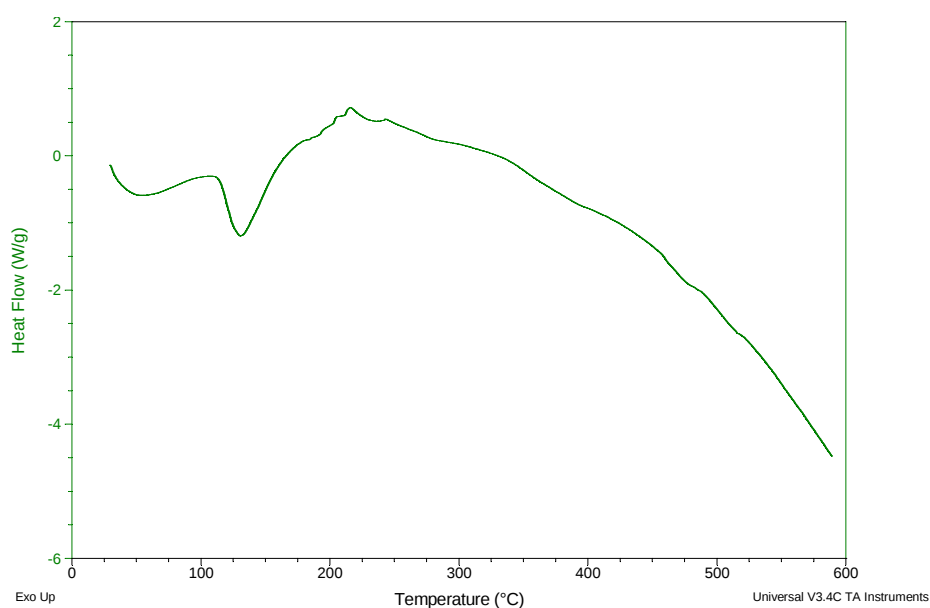
ภาพการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimetry (DSC)



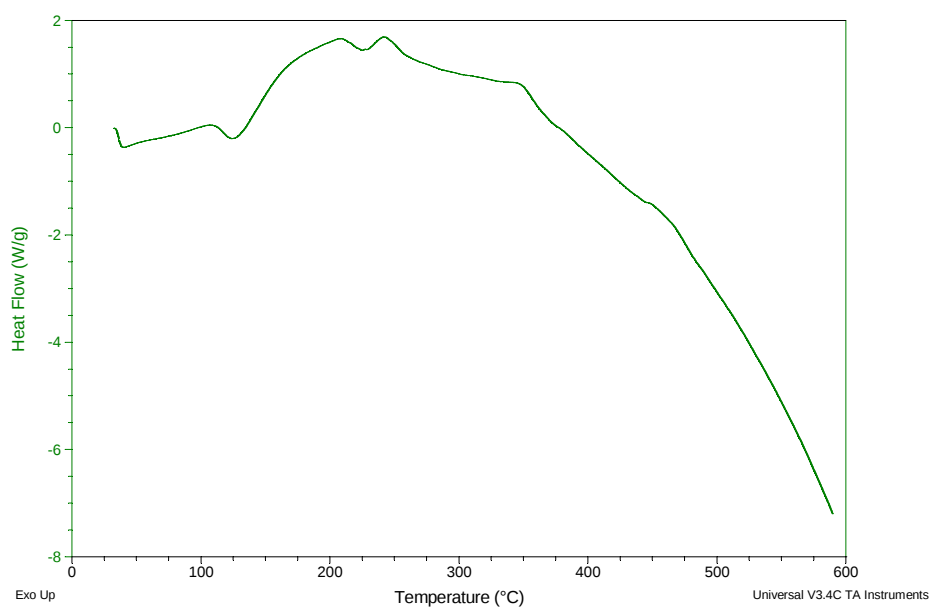
ภาพผนวกที่ ๓1 จุดหลอมเหลวและพลังงานความร้อนในการหลอมเหลวของ *Andrographolide* บริสุทธิ์



ภาพผนวกที่ ๓2 จุดหลอมเหลวและพลังงานความร้อนในการหลอมเหลวของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลเท่ากับ 5 ml/min

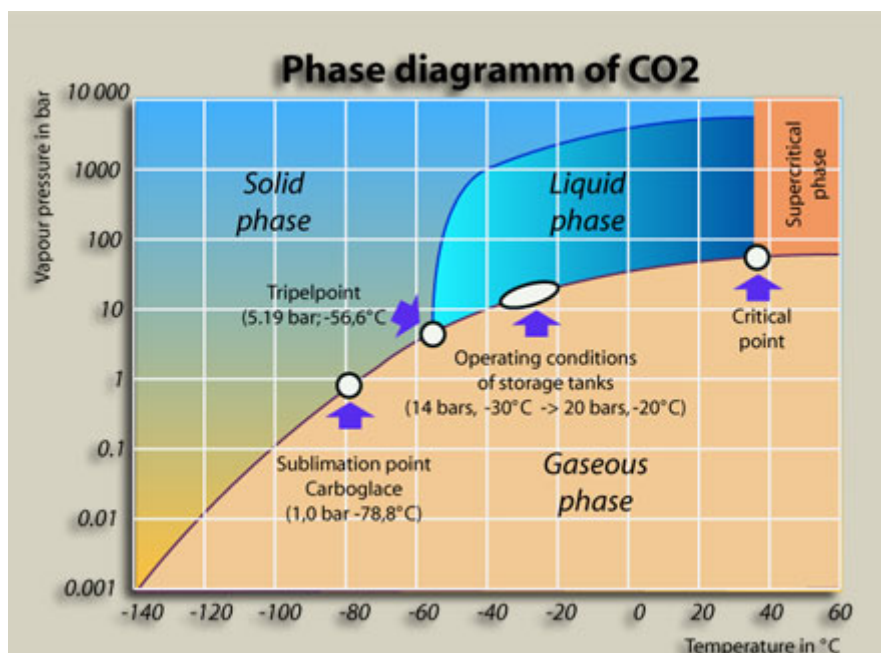


ภาพผนวกที่ ๓ จุดหลอมเหลวและพลังงานความร้อนในการหลอมเหลวของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลเท่ากับ 5 ml/min

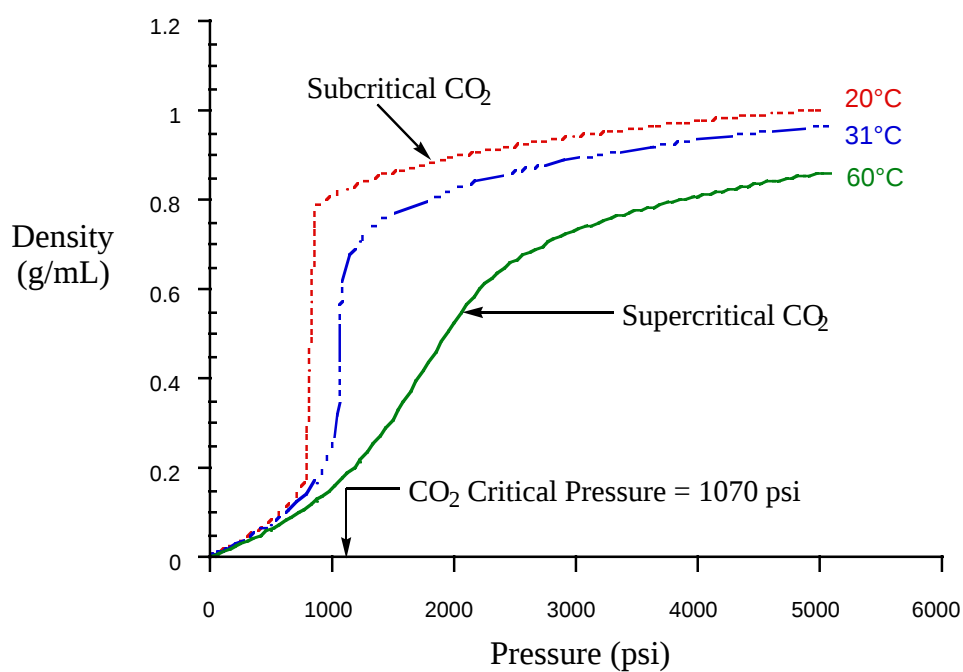


ภาพผนวกที่ ๔ จุดหลอมเหลวและพลังงานความร้อนในการหลอมเหลวของสารที่สกัดได้จากเทคนิค GAS โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 35°C และอัตราการไหลเท่ากับ 5 ml/min

ภาคผนวก ญ
สมบัติของคาร์บอนไดออกไซด์



ภาพผนวกที่ ๑ กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความดัน กับอุณหภูมิ ของคาร์บอนไดออกไซด์



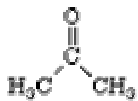
ภาพผนวกที่ ๒ กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่น กับอุณหภูมิ ของคาร์บอนไดออกไซด์
ที่มา : Wells *et.al.*

ภาคผนวก ก
ความสามารถในการละลาย (Solubility) และความเป็นขั้ว (Polarity)
ของตัวทำละลายอินทรีย์

ตารางผนวกที่ ๑ ความสามารถในการละลาย (Solubility) ของตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ
ที่มา : Burke, 1984

Solvent	δ	δ (SI)
Acetone	9.77	19.7
Dimethylformamide	12.14	24.7
Ethyl alcohol	12.92	26.2
Methyl alcohol	14.28	29.7

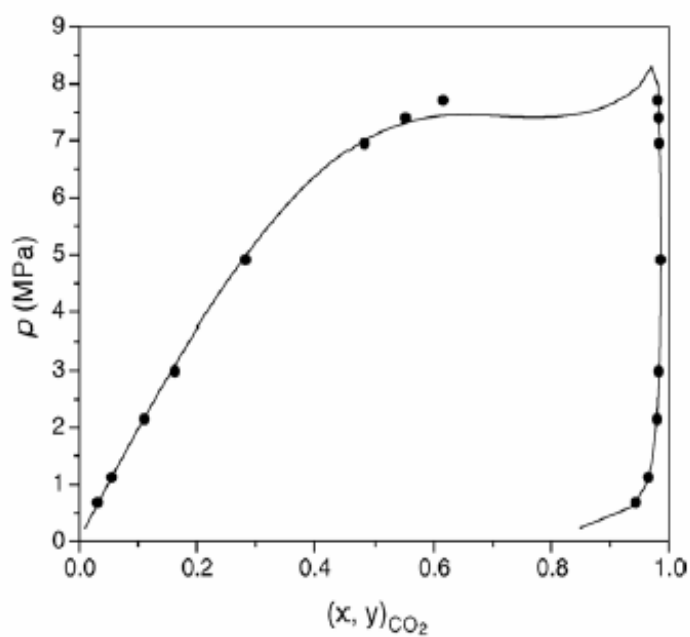
ตารางผนวกที่ ๒ ความเป็นขั้ว (Polarity) ของตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ

Name	Structure	bp (°C)	dipole moment	dielectric constant
methanol	CH ₃ -OH	68	1.70	33
ethanol	CH ₃ CH ₂ -OH	78	1.69	24.3
acetone		56	2.88	20.7
N,N-dimethylformamide (DMF)		153	3.82	38.3

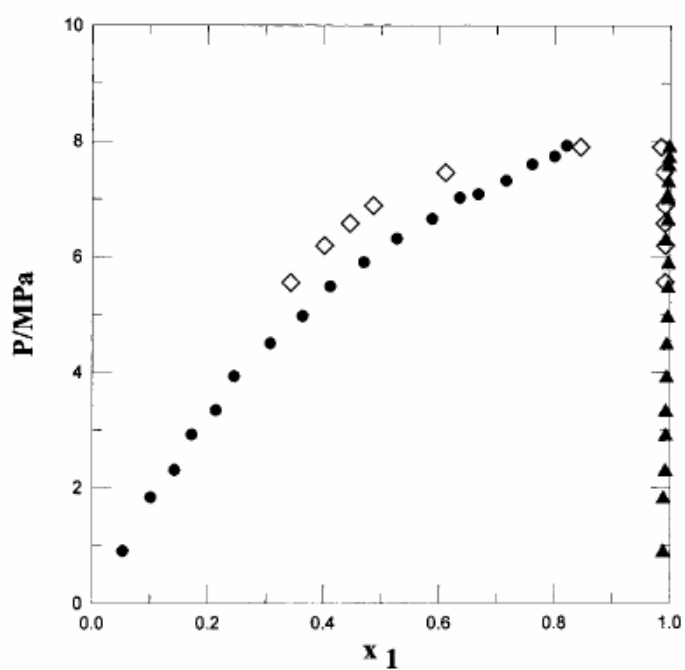
ที่มา : http://www.usm.maine.edu/~newton/Chy251_253/Lectures/Solvents/Solvents.html

ภาคผนวก ก

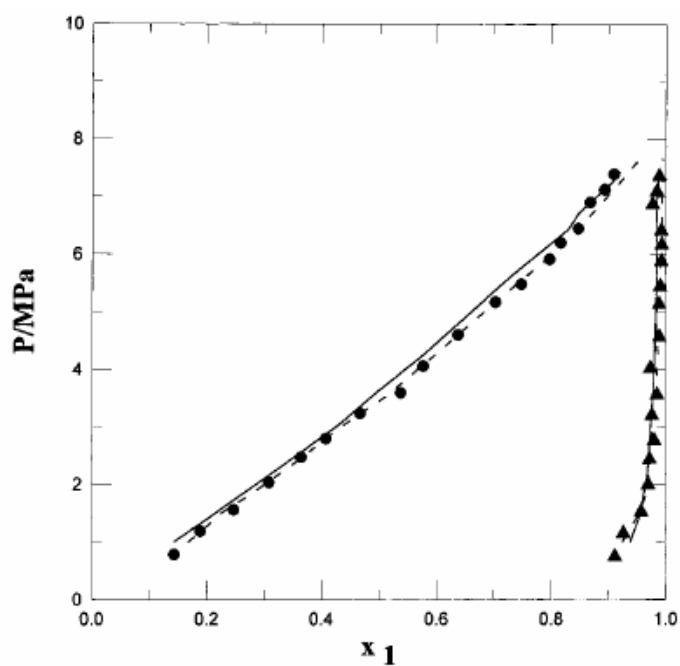
สมดุลวัฏภาคของคาร์บอนไดออกไซด์ กับตัวทำละลายอินทรีย์



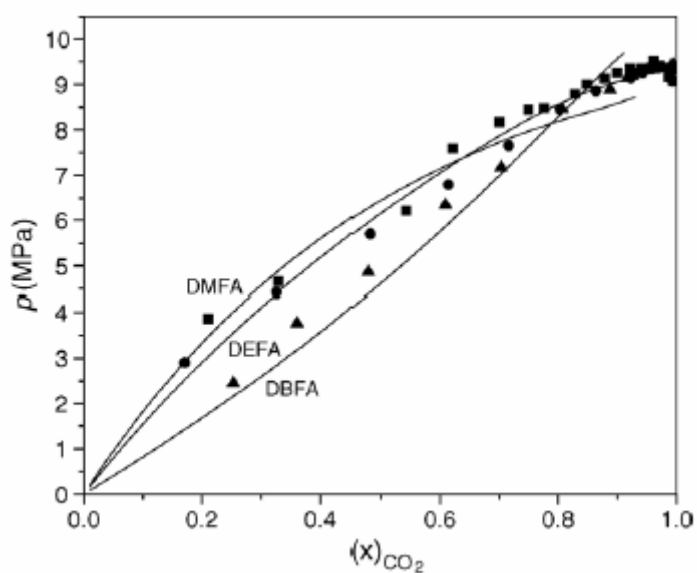
ภาพผนวกที่ ๑1 แสดงสมดุลวัฏภาคระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์กับเมทานอลที่ 313.14 K
ที่มา : Jha and Madras, (2005)



ภาพผนวกที่ ๑2 สมดุลวัฏภาคระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์กับเอทานอลที่ 313.14 K
ที่มา : Day *et.al.*, (1996)



ภาพผนวกที่ ๓ สมดุลวัฏภาคระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์กับอะซิโตนที่ 313.13 K
ที่มา : Day *et.al.*, (1996)



ภาพผนวกที่ ๔ สมดุลวัฏภาคระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์กับไดเมทิลฟอร์มาไมด์ที่ 318.2 K
ที่มา : Jha and Madras, (2005)

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ นายวุฒิชัย ตรีศิลานันท์

วัน เดือน ปีเกิด 9 มีนาคม พ.ศ. 2524

สถานที่เกิด นครราชสีมา

ประวัติการศึกษา

ระดับมัธยมศึกษา โรงเรียนบุญวัฒนา, นครราชสีมา

วท.บ. (วิทยาศาสตร์) ภาควิชาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร (พ.ศ. 2545)

ทุนการศึกษาที่ได้รับ

ได้รับทุนจาก Asian Development Bank-Kasetsart University (ADB-KU) และจาก

โครงการบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์