บทที่ 2 ทฤษฎี/งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สบู่ดำ

สบู่ดำ (Physic nut or purging nut) มีชื่อเรียกทางวิทยาศาสตร์ว่า *Jatropha curcas* Linn. เป็นพืชในวงศ์ ยูฟอเบียซิ (Euphorbiaceae) วงศ์เดียวกับยางพารา ละหุ่ง และมันสำปะหลัง มีชื่อเรียกแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่น ภาคเหนือเรียกว่า มะหุ่งฮั้ว ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียกว่า หมากเย่า มะเยา หรือ สีหลอด ภาคใต้เรียกว่า หงส์เทศ และภาคกลางเรียกว่า สบู่ดำ [1] สบู่ดำจัดเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก กระจายอยู่ในเขตร้อนและกึ่งร้อน ค้นพบโดยพ่อค้าชาวโปรตุเกสที่เดินเรือไปทวีปอเมริกากลางนำเข้ามายังทวีปเอเชีย และแพร่หลายเข้ามายังประเทศไทยในสมัยกรุงศรีอยุธยาตอนปลาย ผู้คนสมัยนั้นนิยมนำมาปลูกเป็นรั้วบ้าน และเก็บเมล็ดขายเพื่อใช้ทำสบู่ สบู่ดำมีทั้งหมด 175 ชนิด แต่ในประเทศไทยพบเพียง 5 ชนิดคือ *J. gossypifolia* (สบู่แดง) *J. podagrica* (หนุมานนั่งแท่น) *J. integgerima* (ปัตตาเวีย) *J. multifida* (มะละกอฝรั่ง และฝิ่นต้น) และ *J. curcas* (สบู่ดำ)

สำหรับประเทศไทยสบู่ดำถือเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง เพราะน้ำมันที่ได้จากการบีบหรือสกัดด้วยตัวทำละลายในทางการค้าเรียกว่า **"น้ำมันสบู่ดำ"** (curcas oil) สามารถนำมาใช้กับเครื่องยนต์ดีเซลได้โดยไม่ต้องผสมกับน้ำมันชนิดอื่นก่อนใช้งาน นอกจากนี้ส่วนต่างๆของสบู่ดำยังใช้เป็นสมุนไพรรักษาโรคได้ เช่นเมล็ดสบู่ดำสามารถใช้เป็นยาถ่ายได้ ก่อนรับประทานต้องนำเมล็ดไปคั่วก่อน เพื่อทำลายสารคอร์ซิน (curcin) ซึ่งสารนี้เป็นสารพิษที่ก่อให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน และเกิดอาการระคายเคืองในกระเพาะอาหาร

2.1.1 ลักษณะทางพฤษศาสตร์

สบู่ดำเป็นไม้พุ่มยืนต้นขนาดกลาง ความสูง 2-7 เมตร อายุยืนไม่น้อยกว่า 20 ปี ลำต้นและยอดคล้ายละหุ่ง แต่ไม่มีขน เนื้อไม้ ไม่มีแก่น ใบคล้ายใบฝ้าย อยู่ในวงศ์ไม้ยางพารา สบู่แดง ปัตตาเวีย มะละกอฝรั่ง หนุมานนั่งแท่น โป๊ยเซียน มันสำปะหลัง มะยม มะขามป้อม ผักหวานบ้าน เป็นต้น เมื่อหักลำต้นส่วนยอดหรือส่วนก้านใบจะมียางสีขาวขุ่นคล้ายน้ำนมไหลออกมา มีกลิ่นเหม็นเขียว [13,14]

2.1.1.1 ดอก มีช่อดอกแบบ panicle หรือ panicle cyme ประกอบด้วยดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่ในช่อดอกเดียวกัน ดอกทั้งสองชนิด มีกลีบรอง และกลีบดอก อย่างละ 5 กลีบ ดอกตัวผู้มีเกสรเรียงเป็นวง 2 วงๆ ละ 5 อัน ดอกตัวเมียมีรังไข่ ก้านเกสรตัวเมียมี 6 แฉก ดอกมีขนาดเล็กสีเขียวแกมเหลือง มีกลิ่นหอมอ่อนๆ ออกเป็นช่อที่ซอกใบหรือปลายยอด ในช่อดอกเดียวกันมีดอกตัวผู้มากกว่าดอกตัวเมีย

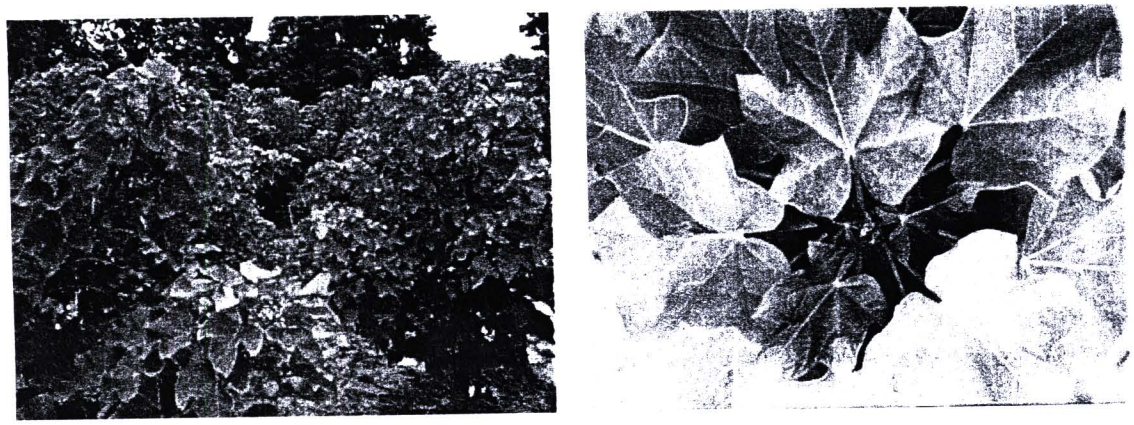
(อัตราดอกตัวผู้ : ดอกตัวเมีย เท่ากับ 6 : 1) ดอกแต่ละช่อบานไม่พร้อมกัน มีช่อดอกประมาณ 15-30 ช่อต่อต้น แต่ละช่อดอกมีดอกย่อย 70-120 ดอก แต่จะติดผลเพียง 8-14 ผล

2.1.1.2 ลำต้น มีเปลือกลำต้นเรียบ มีสีเทา-น้ำตาล ลำต้นเกลี้ยง อวบน้ำ เป็นไม้เนื้ออ่อน ไม่มีแก่น หักง่าย มีน้ำยางสีขาวใส

2.1.1.3 ใบ เป็นใบเดี่ยวรูปไข่ กว้างหรือค่อนข้างกลม จัดเรียงแบบสลับ โคนใบเว้ารูปหัวใจ ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบหรือหยักเว้า 3-5 หยัก (รูปที่ 2.1)

2.1.1.4 ผล ผลที่เกิดจากช่อดอกเดียวกันจะสุกแก่ไม่พร้อมกัน ผลอ่อนมีสีเขียว เมื่อแก่มีสีเหลืองคล้ายลูกจันทน์ ผลมีลักษณะกลมรีเล็กน้อย ผลมีขนาดปานกลาง กว้าง 2–3 เซนติเมตร ยาว 2.5-3.5 เซนติเมตร ผลมี 3 พูๆ ละ 1 เมล็ด เมื่อสุกแก่ผลจะปริแตก ผลสด 1 กิโลกรัม มีจำนวน 85-90 ผล (รูปที่ 2.2)

2.1.1.5 เมล็ด รูปกลมรี เปลือกนอกสีดำ เนื้อในสีขาว มีสารพิษ (curcin) หากบริโภคจะเกิดอาการอาเจียนและท้องเสีย เมล็ดกว้างประมาณ 1 เซนติเมตร ยาวประมาณ 2 เซนติเมตร น้ำหนัก 100 เมล็ด ประมาณ 70 กรัม เมล็ด 1 กิโลกรัม มีประมาณ 1,300-1,500 เมล็ด



รูปที่ 2.1 ลักษณะต้นและใบสบู่ดำ [15]

รูปที่ 2.2 ลักษณะดอกและผลสบู่ดำ [15]

2.1.2 ประโยชน์ของต้นสบู่ดำ

2.1.2.1 ยางจากก้านใบ ใช้ป้ายรักษาโรคปากนกกระจอก ห้ามเลือด แก้ปวดฟัน แก้ลิ้นเป็นฝ้าขาว โดยผสมกับน้ำนมมารดาป้ายลิ้น [1]

2.1.2.2 ลำต้น ตัดเป็นท่อนต้มน้ำให้เด็กกินแก้ซาง ตานขโมย ตัดเป็นท่อนแช่น้ำอาบแก้โรคพุพอง และทำเป็นรั้วล้อมรอบพื้นที่ปลูกพืชเศรษฐกิจหลักๆ เพื่อป้องกันวัวควายเข้ามาทำความเสียหายต่อพืชชนิดนั้น เนื่องจากวัวควายจะไม่กินใบหรือยอดอ่อนของสบู่ดำ นอกจากนี้ในอินเดียยังใช้ปลูกเป็นรั้วเพื่อป้องกันลมร้อนในฤดูร้อนที่ทำให้มีการระเหยของน้ำอย่างรวดเร็วในแปลงปลูกผัก

2.1.2.3 เมล็ด น้ำมันจากเมล็ดใช้ทดแทนน้ำมันดีเซล และใช้บำรุงรากผม กากที่เหลือจากการหีบน้ำมันใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์ ซึ่งมีธาตุอาหารหลักมากกว่าปุ๋ยหมักและมูลสัตว์หลายชนิด ยกเว้นมูลไก่ที่มีฟอสฟอรัส และโปรแตสเซียมมากกว่า นอกจากนั้นในเมล็ดสบู่ดำยังมีสารพิษ curcin ซึ่งมีฤทธิ์เหมือนสลอด เมื่อรับประทานจะทำให้ท้องเดิน

2.1.2.4 ในบางพื้นที่ของประเทศอินเดียปลูกพืชสมุนไพร ได้แก่ Asgandh (*Withania somnifera*) แซมในระหว่างต้นสบู่ดำ สารเคมีจากต้นสบู่ดำจะถูกปล่อยออกมาขับไล่แมลงศัตรูของพืชสมุนไพร [13]

2.1.2.5 กากสบู่ดำ (press cake) ใช้เป็นอาหารสัตว์ เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง แต่ประกอบด้วยสารพิษมากมายได้แก่ curcin phorbolic esters saponin protease inhibitors และ phytates ดังนั้นจึงต้องมีการนำกากสบู่ดำมาผ่านกระบวนการกำจัดสารพิษก่อนนำไปเลี้ยงสัตว์โดยการใช้ความร้อนร่วมกับการสกัดด้วยสารเคมี หรือการหมักกากน้ำมันสบู่ดำด้วยเชื้อรา *Rhizopus oryzae*

2.1.2.6 เปลือกต้น มีสารแทนนิน ทำให้มีรสฝาด ช่วยในการสมานแผล เมื่อนำไปต้มสามารถแก้โรคกระเพาะอาหารและท้องผูก นอกจากนั้นยังสามารถใช้อมแก้ปวดฟัน เหงือกอักเสบ และแผลในปาก

2.1.2.7 ใบ ใช้ชงกินเป็นยาแก้ไอ ทำเป็นยาต้มแก้ท้องเสีย ลดไข้ นำไปตำพอกหรือคั้นเอาแต่น้ำให้เด็กกินแก้ซาง ตานขโมย หรือตัดเป็นท่อนแช่น้ำอาบแก้โรคพุพอง

2.1.2.8 สบู่ดำยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อไวรัส [16]

2.2 อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

สารอนุมูลอิสระ (free radicals) หรือ Reactive Oxygen Species (ROS) เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร เนื่องจากมีอิเลคตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอก มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นเพื่อทำให้เกิดความเสถียรมากขึ้น อนุมูลอิสระชนิดที่สำคัญได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน (superoxide anion) ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ไฮดรอกซิลแรดดิเคิล (hydroxyl radical) เป็นต้น แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระพบได้จากสองแหล่งคือภายในร่างกาย ซึ่งเกิดจากการเผาผลาญอาหาร การหายใจ การออกกำลังกาย และจากภายนอกร่างกาย ซึ่งเกิดจากความเครียด การติดเชื้อ และมลพิษในอากาศ สารอนุมูลอิสระเกิดขึ้นจากการที่สารโมเลกุลอื่นได้รับความร้อน แสง หรืออิเลคตรอนจากโมเลกุลอื่น ไปกระตุ้นทำให้สารโมเลกุลอื่นเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระ โดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นนี้จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นเป็นลูกโซ่ต่อไป [17]

กลไกการเกิดอนุมูลอิสระสามารถแบ่งเป็น 2 กลไกดังนี้
ปฏิกิริยาการแยกอย่างสมมาตร (symmetric separation) ดังสมการที่ 2.1

$$X - X \text{ ------> } X^{\bullet} + X^{\bullet} \qquad (2.1)$$

ปฏิกิริยาการเกิดจากอนุมูลอิสระอื่น ดังสมการที่ 2.2

$$X^{\bullet} + HR \text{ ------> } HX + R^{\bullet} \qquad (2.2)$$

สารอนุมูลอิสระส่งผลทำให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อร่างกาย เกิดรอยเหี่ยวย่นบนใบหน้า รอบดวงตา และผิวพรรณ รวมทั้งก่อให้เกิดโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจขาดเลือด โรคต้อกระจก โรคความดันโลหิตสูง โรคอัลไซเมอร์ โรคเบาหวาน และโรคมะเร็ง เป็นต้น

ปกติเมื่อร่างกายได้รับอนุมูลอิสระเข้ามาในปริมาณมากเกินไป ร่างกายจะสร้างเอนไซม์ (enzyme) สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และสารคีเลทโลหะ (metal chelator) ออกมา เพื่อควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้มีความสมดุลภายในร่างกาย จึงทำให้ไม่ก่อให้เกิดโรคต่างๆขึ้นกับร่างกาย

เอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxide dismutase, SOD) เอนไซม์กูลตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathioneperoxidase, GPx) และเอนไซด์คาตาเลส (catalase, CAT) ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้จะอยู่ภายในเซลล์ คอยกำจัดอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ที่เป็นอนุมูลอิสระตั้งต้นในการเกิดอนุมูลอิสระต่อไป แต่ยังมีอนุมูลอิสระบางตัวที่ยังไม่ถูกกำจัดด้วยเอนไซม์ ดังนั้นจึงต้องถูกกำจัดโดยสารต้านอนุมูลอิสระต่อไป

สารต้านอนุมูลอิสระ คือสารที่ป้องกันหรือชะลอการเกิดกระบวนการออกซิเดชัน (oxidation) กระบวนการออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในร่างกายได้แก่ การย่อยสลายโปรตีนและไขมันจากอาหารที่รับประทานเข้าสู่ร่างกาย การอาศัยอยู่ในที่ที่มีมลพิษทางอากาศ รังสียูวี จะก่อให้เกิดอันตรายกับร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดจะป้องกันการเกิดออกซิเดชันได้แตกต่างกัน สารต้านอนุมูลอิสระสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้โดยตรง เพื่อกำจัดอนุมูลอิสระหรือเพื่อหยุดการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ร่างกายสามารถได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกร่างกาย โดยการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระเข้าไปในร่างกาย แหล่งที่พบสารต้านอนุมูลอิสระได้แก่ ผัก ผลไม้ และพืชสมุนไพร สารต้านอนุมูลอิสระที่รู้จักกันดี ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี ซีลีเนียม เบต้าแคโรทีน วิตามินเอ และพฤกษเคมีต่าง ๆ (phytochemical) เช่น โพลีฟีนอล (polyphenol) ไอโซฟลาโวน เป็นต้น [2,3,4,]

สารคีเลทโลหะ ส่วนใหญ่เป็นสารประเภทโปรตีนได้แก่ ทรานเฟอร์ริน (transferring) เฟอร์เรติน (ferritin) และแลกโตเฟอร์ริน (lactoferin) เป็นต้น หลักการทำงานคือจับและแยกโลหะทรานซิชันที่เป็นส่วนสำคัญในการทำให้อนุมูลอิสระเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ทำให้โลหะทรานซิชันไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระได้ ตัวอย่างโลหะทรานซิชันได้แก่ ธาตุเหล็กและทองแดง

2.2.1 กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ

2.2.1.1 การลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาเริ่มต้น ด้วยการทำให้เปอร์ออกไซด์แตกตัวและทำให้มีปริมาณลดลงโดยการเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ ตามสมการที่ 2.3 หรือเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของเปอร์ออกไซด์ไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัว ตามสมการที่ 2.4 ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระคือ เอนไซม์คาตาเลส กลูตาไทโอน และเปอร์ออกซิเดส กระบวนการที่เกี่ยวข้องมีดังนี้ [18]

$$ROOH \longrightarrow ROH \qquad (2.3)$$

$$R_3COOH \xrightarrow{(H^-)} R_2C{=}O + ROH \qquad (2.4)$$

2.2.1.2 การยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มนี้ เช่น สารประกอบฟีนอล หรือวงแหวนเอมีน (aromatic amines) โดยสารประกอบเหล่านี้จะให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นแบบลูกโซ่หยุดชะงักไปด้วย ดังสมการที่ 2.5 – 2.7

$$ROO^{\bullet} + AH \longrightarrow ROOH + A^{\bullet} \qquad (2.5)$$

$$RO^{\bullet} + AH \longrightarrow ROH + A^{\bullet} \qquad (2.6)$$

$$R^{\bullet} + AH \longrightarrow RH + A^{\bullet} \qquad (2.7)$$

เมื่ออนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (AH) ที่เติมลงไป จะเหลืออนุมูลอิสระของแอนติออกซิแดนท์ ($A^{\bullet}$) ซึ่งเกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่าอนุมูลอิสระมาก และจะเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบคงตัว ดังสมการที่ 2.8–2.9

$$A^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow A_2 \qquad (2.8)$$

$$ROO^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow ROOA \qquad (2.9)$$

2.3 โพลีฟีนอล

โพลีฟีนอลคือ สารประกอบที่เกิดจากกลุ่มฟังก์ชันฟีนอลต่างๆ เป็นสารธรรมชาติตระกูลใหญ่ ตามหลักฐานการศึกษาสารประเภทนี้ หรือเรียกตามคุณสมบัติของมันว่า “phenolic antioxidants” ซึ่งให้ผลในทางต่อต้านออกซิเดชันรุนแรงกว่า “vitamin antioxidants” [19] เช่น วิตามินซี หรือวิตามินอี มาก

โพลีฟีนอลแบ่งกว้าง ๆ ออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1. กรดฟีโนลิค (phenolic acids) มีอยู่หนึ่งในสามของโพลีฟีนอลที่เราบริโภค มีโมเลกุลง่าย ๆ เช่น กรดคาเฟอิก วานิลิน (vanillin) และกรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxyl cinnamic acid) ซึ่งพบทั่วไปในพืช

2. ฟลาโวนอยด์ มีอยู่สองในสามของโพลีฟีนอล พบทั่วไปในพืชแต่จะมีมากเป็นพิเศษในพืชบางชนิด โครงสร้างของฟลาโวนอยด์และแทนนิน (tannins) ไวต่อเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับออกซิเดชัน และสภาวะของการหุงต้มอาหารเป็นอย่างมาก

โพลีฟีนอลไม่ใช่สารเดี่ยวแต่ประกอบด้วยสารต่าง ๆ หลายร้อยชนิด ซึ่งแต่ละชนิดมีสมบัติในการทำหน้าที่ต่อต้านออกซิเดชันในแง่มุมที่แตกต่างกัน ปริมาณโพลีฟีนอลในพืชก็ยังแตกต่างกันด้วย โพลีฟีนอล พบมากในผักและผลไม้ที่นิยมรับประทานกันทั่วไปดังนี้ ผัก ได้แก่ กระเทียม คะน้า ผักโขม ลูกกะหล่ำ ดอกบร็อคโคลี พริกหวานลูกใหญ่สีแดง หอม ข้าวโพด และผลไม้ ได้แก่ ลูกไหน ส้ม องุ่น (โดยเฉพาะองุ่นแดง) กีวี (โดยเฉพาะเปลือก) แอปเปิล มะเขือเทศ [20]

สารประกอบฟีนอลที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในใบสบู่ดำคือ กรดแกลลิก กรดแอลลาจิก และคลอริลาจิน ซึ่งจัดอยู่ในสารประกอบกลุ่มแทนนิน

2.3.1 สารประกอบกลุ่มแทนนิน

สารประกอบกลุ่มแทนนิน (tannins) เป็นสารประกอบจำพวกฟีนอลที่ละลายน้ำ (water-soluble phenolics) มีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นจำนวนมาก และโมเลกุลมีโครงสร้างที่ซับซ้อน มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 500-3000 สารประกอบกลุ่มนี้พบมากในส่วนของเนื้อไม้ เปลือกไม้ เปลือกผล และส่วนที่เป็นโครงสร้างพิเศษ นอกจากนี้อาจพบในส่วนของใบ ผล และฝัก สามารถตกตะกอนกับโปรตีนในหนังสัตว์ และอัลคาลอยด์ รวมทั้งมาโครโมเลกุล (macromolecules) เช่น เซลลูโลส (cellulose) และเพกติน (pectin)

สารประกอบแทนนิน มีการกระจายทั่วไปในอาณาจักรพืช เป็นองค์ประกอบของพืชชั้นสูงโดยเฉพาะพืชใบเลี้ยงคู่ วงศ์พืชที่มีสารประกอบแทนนินค่อนข้างสูง ได้แก่ Combretaceae Fagaceae Hamamelidaceae Leguminosae Myrtaceae Polygonaceae Rosaceae Rubiaceae Guttiferae และ Salicaceae แต่อาจพบในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวได้บ้าง โดยเฉพาะพืชตระกูลปาล์ม

2.3.2 ประเภทของสารประกอบแทนนิน

สารประกอบแทนนินแบ่งตามความสามารถในการฟอกหนังสัตว์ ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ ดังนี้

2.3.2.1 True tannins เป็นกลุ่มที่สามารถฟอกหนังได้ ซึ่งสารประกอบแทนนินกลุ่มนี้แบ่งตามความสามารถในการทนต่อการสลายตัวต่อปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส (hydrolysis) ออกเป็น 2 กลุ่มย่อยได้แก่

ไฮโดรไลเซเบอแทนนิน (hydrolyzable tannins) เป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างประกอบด้วย 2 ส่วนใหญ่ๆ คือ ส่วนที่หนึ่งเป็นส่วนของน้ำตาล มักเป็นน้ำตาลกลูโคสเป็นส่วนใหญ่ หรือสารประกอบโพลีออล (polyols) อื่นๆ และส่วนที่สองเป็นกรดฟีโนลิค เช่น กรดแกลลิก หรือกรดเฮกซะไฮดรอก-ซิลไดฟีนิก (hexahydroxydiphenic acid, HHDP) หรืออนุพันธ์ของ HHDP ที่มักอยู่ในรูปของออกซิไดซ์ [19,21]

คอนเดนเซดแทนนิน (condensed tannins) เป็นสารประกอบโพลีฟีนอลที่มีความซับซ้อน การสลายตัวด้วยน้ำยากกว่ากลุ่มไฮโดรไลเซเบอแทนนิน โครงสร้างโพลีฟีนอลนั้นเป็นอนุพันธ์ของสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) พืชที่เป็นแหล่งของคอนเดนเซดแทนนินได้แก่ เปลือกอบเชย เปลือกชินโคนา เปลือกหลิว เปลือกโอ๊ค เปลือกโกโก้ และใบชา เป็นต้น

2.3.2.2 Pseudotannins เป็นสารประกอบที่มีขนาดเล็ก น้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า true tannins ส่วนมากเป็นสารประกอบเชิงเดี่ยว สารประกอบเหล่านี้สามารถตกตะกอนกับสารอื่นตัวอย่างเช่น คาเทชิน (catechin) และกรดแกลลิก

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

2.4 ไฮโดรไลเซเบอแทนนิน

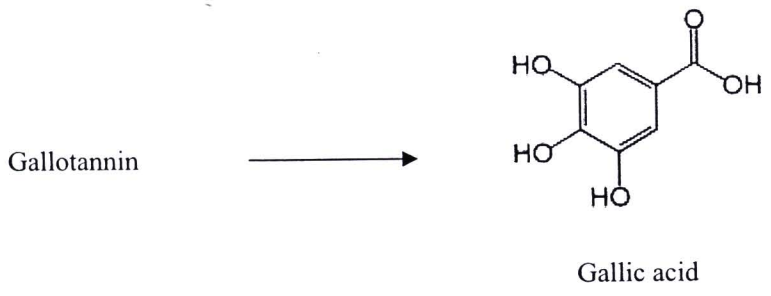
สารไฮโดรไลเซเบอแทนนิน (hydrolyzable tannins) เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มโพลีฟีโนลิค ซึ่งมีคุณสมบัติทางการแพทย์ คือ แก้อักเสบ แก้ไข้มาลาเรีย สารไฮโดรไลเซเบอแทนนิน แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อยได้ดังนี้ [20]

แกลโลแทนนิน (gallotannins) เป็นสารประกอบที่ประกอบด้วยกรดแกลลิก เชื่อมต่อกับน้ำตาลกลูโคสด้วยพันธะเอสเตอร์ เมื่อสลายตัวจะได้กรดแกลลิก และน้ำตาลกลูโคส ตัวอย่างของแกลโลแทนนิน ได้แก่ กรดแทนนิก (tannic acid) ตัวอย่างพืชที่เป็นแหล่งของแกลโลแทนนิน ได้แก่ โกศน้ำเต้า (rhubarb) กานพลู (cloves) กลีบกุหลาบแดง (red rose petals) และเหลือก (hamamelis) เป็นต้น

แอลลาจิกแทนนิน (ellagictannin) เป็นสารประกอบโพลีฟีนอล ที่ประกอบด้วยกรดเฮกซะไฮดรอกซิ-ไดฟีนิก (hexahydroxy diphenic acid) เช่น กรดชิบิวลิก (chebulic acid) และกรดไฮโดรเฮกซะไฮ-ดรอกซิไดฟีนิก (hydrohexahydroxydiphenic acid) เป็นต้น อยู่รวมกับน้ำตาล แอลลาจิกแทนนินเมื่อสลายตัวแบบกรดไฮดรอกซิไดฟีนิก (acid hydrolysis) ส่วนของกรดไฮโดรเฮกซะไฮดรอกซิไดฟีนิกจะแยกออกและเกิดปฏิกริยาแลกโตไนเซชัน (lactonization) ให้กรดแอลลาจิก ตัวอย่างพืชที่ใช้เป็นยาที่เป็นแหล่งของแอลลาจิกแทนนิน ได้แก่ เปลือกผลทับทิม (pomegranate rind) ผลสมอไทย (myrabolans) เปลือกต้นโอ๊ค (oak bark) และใบยูคาลิปตัส (eucalyptus leaves)
สารไฮโดรไลเซเบอแทนนินสกัดที่พบในใบสบู่ดำ ได้แก่ กรดแกลลิก คลอริลาจิน และกรดแอลลาจิก

2.4.1 กรดแกลลิก

กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารตั้งต้นของสารประกอบแทนนิน (รูปที่ 2.3) ซึ่งประกอบด้วยแกลโลแทนนินและแอลลาจิกแทนนิน [22] โดยกรดแกลลิกจะเกิดพันธะเอสเตอร์กับคาร์โบไฮเดรต เช่น กลูโคส คุณสมบัติทางเคมี แสดงดังตารางที่ 2.1

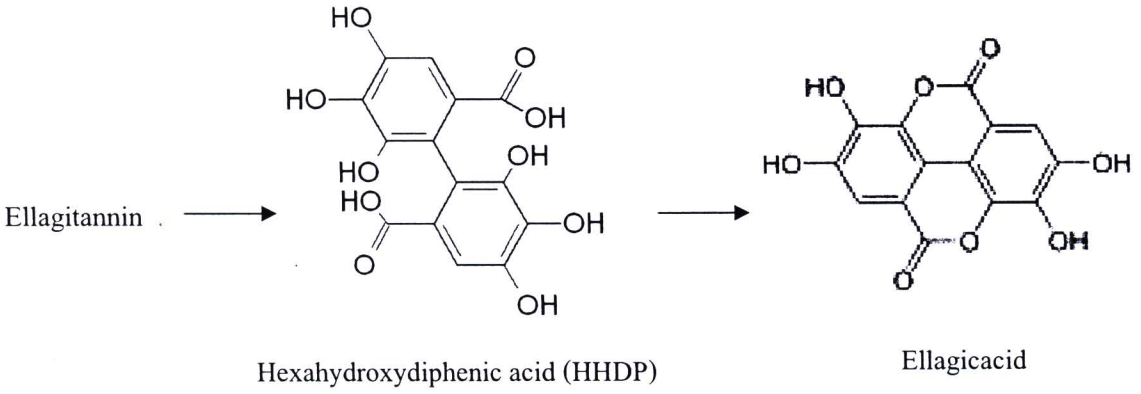


รูปที่ 2.3 โครงสร้างโมเลกุลของกรดแกลลิก [23]

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 21 มิ.ย. 2555
เลขทะเบียน 246394
เลขเรียกหนังสือ

2.4.2 กรดแอลลาจิก

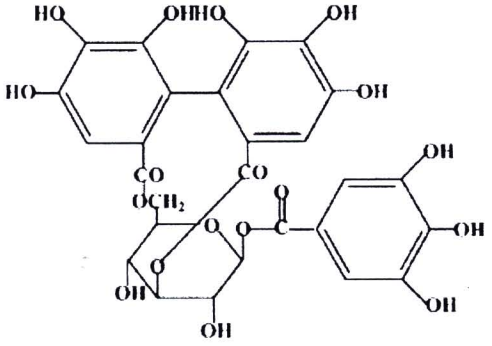
กรดแอลลาจิก (ellagic acid) คือ ไดเมอร์ (dimer) ของกรดแกลลิก (รูปที่ 2.4) และเป็นองค์ประกอบของสารประกอบแอลลาจิกแทนนิน ซึ่งมีมากในผลสตอเบอรี องุ่น สบู่ดำ และพืชอาหารชนิดอื่น คุณสมบัติทางเคมี แสดงดังตารางที่ 2.1



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของกรดแอลลาจิก [22]

2.4.3 คลอริลาจิน

คลอริลาจิน (corilagin) คือสารประกอบที่มีหมู่กรดเฮกซะไฮดรอกซีไดฟีนิก และหมู่แกลโลออล (galloyl group) เป็นองค์ประกอบที่เกาะอยู่กับกลูโคส (รูปที่ 2.5) คุณสมบัติทางเคมี แสดงดังตารางที่ 2.1



รูปที่ 2.5 โครงสร้างของคลอริลาจิน [22]

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติของกรดแกลลิก กรดแอลลาจิก และคลอริลาจิน [24]

ชื่อทางการค้า	คุณสมบัติ		
	กรดแกลิก (Gallic acid)	กรดแอลลาจิก (Ellagic acid)	คลอริลาจิน (corilagin)
ชื่อสารเคมีในระบบ IUPAC	3,4,5-hydroxybenzoic acid	4,4 5,5 6,6 - hexahydroxydiphenic acid 2,6,2,6-dilactone	1-0-galloyl-3,6-(R)-hexahydroxydiphenoyl-β-D-glucopyranose
สูตรโมเลกุล	$C_7H_6O_5$	$C_{14}H_6O_8$	$C_{27}H_{22}O_{18}$
น้ำหนักโมเลกุล (กรัมต่อโมล)	170.20	302.20	634.46
ความหนาแน่น (กรัมต่อซม^3)	1.694	1.677	-
ค่าการละลาย (กรัมต่อซม^3)	27.19	20.55	24.80

2.5 ประโยชน์ของสารประกอบแทนนิน

2.5.1 จากคุณสมบัติในการฟอกหนัง ซึ่งก็คือการตกตะกอนกับโปรตีน โดยสารประกอบแทนนินจะทำปฏิกิริยากับโปรตีน หนังที่ฟอกแล้วจะมีสีและไม่เน่าเสียหลังการฟอก นอกจากนี้ยังใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มบางชนิด เช่น การทำให้เบียร์ใส และทำให้เกิดรสขม ฝาด รวมทั้งกลิ่นในเครื่องดื่มเบียร์ ไวน์ ชา กาแฟ

2.5.2 ใช้ย้อมแห อวน เชือก และเรือใบ ทำให้ทนทานต่อการใช้งานที่สัมผัสกับน้ำเค็ม ซึ่งอาศัยคุณสมบัติการตกตะกอนกับมาโครโมเลกุล

2.5.3 ช่วยในการผลิตกาว สีย้อม และช่วยให้สีติดแน่นทนทาน เช่น โปรแอนโทรไซยานิดินแทนนิน (proanthocyanidin tannins) สามารถนำมาใช้ผลิตแผ่นไม้อัดแทนการใช้ฟีนอลสังเคราะห์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากปิโตรเคมี

2.5.4 สารประกอบแทนนินเป็นสารที่มีรสขมและฝาดในพืช ที่มีการนำมาใช้รับประทานเป็นยาแก้ท้องเสียหรือท้องเดิน (antidiarrheals) โดยสารประกอบแทนนินมีกลไกไปจับกับโปรตีนแบคทีเรีย (bacteria protein) โปรตีนไวรัส (viral protein) หรือมาโครโมเลกุลอื่นๆ ของเชื้อที่รุกราน ทำให้เชื้อไม่สามารถทำอันตรายกับร่างกายได้

2.5.5 นำมาใช้เป็นยาภายนอกในการรักษาแผล โดยสารประกอบแทนนินจะไปจับกับผิวหนังชั้นนอกและเนื้อเยื่อที่ผลิตเมือก (mucosa) คลุมผิวให้สามารถป้องกันน้ำได้ และมีฤทธิ์ทำให้เส้นเลือดหดตัว (vasoconstrictor) ต่อเส้นเลือดบริเวณผิวหนัง (superficial vessels) ได้ ทำให้ลดการสูญเสียน้ำจากบาดแผล ซึ่งเป็นผลให้เนื้อเยื่อที่เป็นแผลหรือเนื้อเยื่อที่โดนแผลไฟไหม้หรือน้ำร้อนลวกนั้น ซ่อมแซมตัวเองได้ดีขึ้น แผลจึงหายเร็วขึ้น

2.5.6 ลดการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกาย โดยสารประกอบแทนนินบางชนิดมีคุณสมบัติในการทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น และยับยั้งการเกิด superoxide ion ขึ้นมาใหม่อีกด้วย อาจจะช่วยลดการเกิดมะเร็งต่างๆได้

2.6 การสกัด

การสกัด (extraction) เป็นเทคนิคในการแยกสารสำคัญออกสารผสม โดยการเลือกใช้วิธีการสกัดและปัจจัยต่างๆ ให้เหมาะสม เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีสารสำคัญอยู่ในปริมาณมาก และมีความบริสุทธิ์สูง [20,21,22]

2.6.1 วิธีการที่ใช้ในการสกัด

2.6.1.1 มาเซอเรชัน (maceration) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืช โดยการหมักสมุนไพรกับน้ำยาสกัดจนกระทั่งเนื้อเยื่อของสมุนไพรอ่อนนุ่ม และน้ำยาสกัดสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในผงสมุนไพรออกมา ในระหว่างการหมักควรมีการเขย่าหรือคนบ้าง เพื่อเพิ่มอัตราเร็วของการสกัด วิธีมาเซอเรชันเหมาะสำหรับส่วนของพืชที่มีโครงสร้างหรือเนื้อเยื่อไม่แข็งแรง เช่น ดอก และใบ ข้อเสียของการสกัดด้วยวิธีมาเซอเรชันคือ ใช้เวลานานในการสกัด
เนื่องจากการสกัดแบบมาเซอเรชันใช้เวลานานในการสกัด จึงมีการพัฒนากระบวนการสกัดโดยการนำคลื่นเสียงที่มีความถี่สูงเกิน 2000 เฮิรตซ์ มาช่วยในการสกัด โดยเรียกการสกัดดังกล่าวว่า การสกัดอัลตราซาวน์ (ultrasound extraction) [6]

2.6.1.2 เพอร์โคเลชัน (percolation) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร โดยการปล่อยให้น้ำยาสกัดไหลผ่านผงสมุนไพรอย่างช้า ๆ พร้อมกับละลายเอาองค์ประกอบออกจากผงสมุนไพร โดย

ใช้เครื่องมือที่เรียกว่า "เพอร์โคเลเตอร์" (percolator) และเติมตัวทำละลายใหม่เข้าแทนที่ตลอดเวลา ทำให้เปลืองตัวทำละลายมากและใช้เวลานานในการสกัด

2.6.1.3 การสกัดแบบต่อเนื่อง (continuous extraction) วิธีการสกัดเหมือนกับการสกัดด้วยวิธีเพอร์โคเลชัน แต่ในการสกัดวิธีนี้จะใช้ความร้อนและซอกซ์เลตเอกซ์แทรกเตอร์ (soxhlet extractor) เข้าช่วย วิธีการสกัดแบบต่อเนื่องเหมาะสำหรับสกัดสารที่ทนความร้อน

2.6.1.4 การสกัดน้ำมันหอมระเหย (extraction of volatile oil) มีให้เลือกใช้หลายวิธี ดังนี้

2.6.1.4.1 การกลั่น (distillation) มี 3 วิธีคือ [7]

การกลั่นแบบธรรมดา (simple distillation) มีหลักการคือ สารองค์ประกอบต้องมีจุดเดือดต่างกันมาก โดยตัวถูกละลายต้องมีจุดเดือดสูงกว่าตัวทำละลาย และต้องเป็นสารที่ระเหยยาก เช่น เกลือ น้ำตาล

การกลั่นลำดับส่วน (fractional distillation) เป็นวิธีที่ใช้แยกองค์ประกอบที่มีจุดเดือดใกล้เคียงกันมาก และมีสารหลายชนิดปนกันอยู่ เช่น การกลั่นน้ำมันปิโตรเลียม หรือ แอลกอฮอล์ปนน้ำ เป็นต้น

การกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) เป็นวิธีการสกัดสารออกจากของผสมโดยใช้ไอน้ำเป็นตัวทำละลาย วิธีนี้ใช้สำหรับแยกสารที่ระเหยง่าย ไม่ละลายน้ำ และไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำออกจากสารที่ระเหยยาก การสกัดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำนอกจากใช้สกัดสารระเหยง่ายออกจากสารระเหยยากแล้วยังสามารถใช้แยกสารที่มีจุดเดือดสูงและสลายตัวที่จุดเดือดของมันได้อีกด้วย

2.6.1.4.2 การบีบหรือการอัด (expression) เป็นวิธีที่ใช้กับการสกัดน้ำมันหอมระเหยที่ใช้การสกัดโดยวิธีการกลั่นไม่ได้ เนื่องจากสารสกัดจะถูกทำลายด้วยความร้อน วิธีการบีบคือ เอาพืชที่ต้องการสกัดไปบีบบนรางที่มีเข็มแหลมอยู่ โดยเข็มจะเป็นตัวที่แทงผ่านต่อมน้ำมันของพืชชนิดนั้นให้แตกออก น้ำมันที่ได้จะหยดบนรางที่ใช้เก็บน้ำมัน ตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยที่ได้คือ น้ำมันผิวมะนาว และน้ำมันผิวส้ม

2.6.1.4.3 การสกัดโดยใช้ไขมัน (enfleurage) เป็นวิธีที่เก่าแก่ มักใช้กับกลีบดอกไม้ซึ่งมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยปริมาณน้อย โดยอาศัยหลักการที่ไขมันและน้ำมันสามารถดูดซับและจับกับน้ำมันหอมระเหย

2.6.1.4.4 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) เป็นการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดพืช โดยทั่วไปนิยมใช้เฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์สกัดสารประกอบไม่มีขั้ว (non polar component) ที่มีอยู่ในสมุนไพร เช่นพวกไขมัน (lipid) สเตียรอยด์ (steroids) เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) เป็นต้น ในขณะที่คลอโรฟอร์มและอีเทอร์จัดเป็นตัวทำละลายที่มีขั้ว (polarity) ปานกลางใช้สกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้วไปจนถึงมีขั้วปานกลาง ส่วนเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญที่มีขั้ว (polar active component) เช่นเดียวกับเอทานอล

2.6.2 กลไกการสกัด

กระบวนการสกัดพืชด้วยตัวทำละลายเป็นการสกัดแบบของแข็ง-ของเหลว (solid-liquid extraction) ที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายเทมวลขององค์ประกอบทางเคมีจำนวนมาก ในระหว่างกระบวนการสกัดความเข้มข้นของตัวถูกละลายภายในอนุภาคของแข็งจะมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาหรืออยู่ในสภาวะไม่คงตัว (unsteady state) ปรากฏการณ์ของกระบวนการนี้เกิดขึ้นระหว่างตัวถูกละลายซึ่งสัมผัสกับตัวทำละลายที่มีผลต่อการแยก มีขั้นตอนดังนี้ [25]

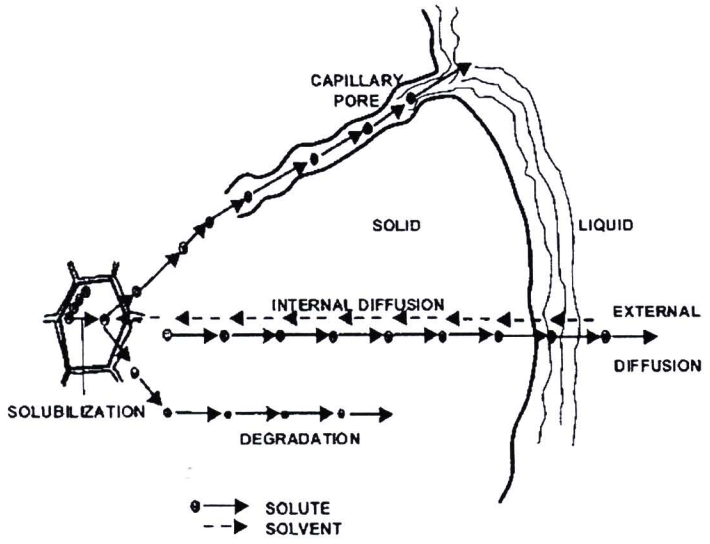
2.6.2.1 การเคลื่อนที่ของตัวทำละลายเข้าไปยังเมทริกซ์ (matrix) ของอนุภาคของแข็ง

2.6.2.2 การละลายและ/หรือการแตกออกขององค์ประกอบในอนุภาคของแข็ง

2.6.2.3 การถ่ายเทมวลของตัวถูกละลายในอนุภาคของแข็งไปยังชั้นผิวของตัวทำละลายรอบอนุภาคของแข็ง

2.6.2.4 การนำออกของสารสกัดตัวถูกละลายจากผิวภายนอกของของแข็งไปยังสารละลายรวม (bulk solution)

ขั้นตอนการถ่ายเทมวลของตัวถูกละลายออกจากของแข็งด้วยตัวทำละลายแสดงดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 ขั้นตอนการถ่ายเทมวลสารของการสกัดด้วยตัวทำละลายภายในอนุภาคของแข็ง [26]

2.6.3 อัลตราโซนิค

คลื่นเหนือเสียง หลายคนคงรู้จักกันเป็นอย่างดีในชื่อ "**อัลตราซาวนด์**" (ultrasound) มาจากคำว่า Ultra (beyond) + Sound เป็นคลื่นกลที่มีความถี่ 20 kHz–600 MHz จึงเป็นคลื่นเสียงที่อยู่เหนือขอบเขตการได้ยินของมนุษย์ หรือเรียกอีกอย่างว่า "**เสียงเงียบ**" อัลตราซาวนด์นั้นสามารถแบ่งการใช้งานออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงความถี่ประมาณ 2–10 เมกกะเฮิรตซ์ (MHz) เรียกช่วงนี้ว่า ช่วงให้พลังงานต่ำหรือช่วงความถี่สูง (low power หรือ high frequency ultrasound) ช่วงที่สองคือ ช่วงให้พลังงานสูงหรือช่วงความถี่ต่ำ (high power หรือ low frequency ultrasound) จะมีค่าความถี่ประมาณ 20–100 กิโลเฮิรตซ์ [8]

2.6.3.1 ประโยชน์ของคลื่นอัลตราโซนิค

คลื่นอัลตราโซนิคสามารถนำไปใช้งานได้หลายด้าน ดังนี้

2.6.3.1.1 โซนาร์ ใช้สำหรับวัดความลึกของแหล่งน้ำ การอาศัยหลักการการสะท้อนกลับของคลื่นเสียง โดยการส่งคลื่นอัลตราโซนิคออกจากตัวส่งคลื่นไปยังบริเวณใต้ท้องแหล่งน้ำ เมื่อคลื่นเดินทางไปกระทบกับวัตถุใต้แหล่งน้ำเช่น โขดหิน ฝูงปลา คลื่นอัลตราโซนิคก็จะสะท้อนขึ้นมายังตัวรับที่ด้านบนผิวน้ำ แล้วคำนวณออกมาเป็นระดับความลึก [8]

2.6.3.1.2 เครื่องทำความสะอาดผิวกาย อาศัยหลักการการส่งคลื่นอัลตราโซนิคที่มีความถี่สูงมากเข้าไปยังผิวหนัง เมื่อผิวหนังได้รับคลื่นอัลตราโซนิคก็จะเกิดการสั่นตัว ทำให้อุณหภูมิภายใต้ผิวหนังสูงขึ้น น้ำที่อยู่ใต้ผิวหนังก็จะถูกขับออกมาจากร่างกายพร้อมกับสิ่งสกปรกที่อยู่ตามรูขุมขนบนผิวหนังด้วย

2.6.3.1.3 เครื่องทำความสะอาดวัสดุ หลักการคือการส่งคลื่นที่มีความถี่สูงเข้าไปในของเหลวที่บรรจุอยู่ในถัง ทำให้เกิดส่วนอัดและส่วนขยายของของเหลวขึ้น ขณะที่เกิดส่วนขยายของเหลวจะแยกตัวออกเกิดเป็นฟองเล็กๆ ขึ้น ฟองเหล่านี้จะขยายตัวออกเรื่อยๆ จนสุด เมื่อความดันในของเหลวลดลงสู่ระดับปกติ ความดันจากส่วนอัดก็จะเกิดขึ้นทำให้ฟองอากาศยุบตัวลงอย่างรวดเร็ว เกิดการระเบิดส่งคลื่นกระแทกที่รุนแรงออกไป ปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่า "**แควิเทชัน**" (cavitation) ใช้ทำความสะอาดชิ้นส่วนเครื่องจักร ทำความสะอาดเครื่องมือแพทย์ และทำความสะอาดเครื่องประดับ เป็นต้น

2.6.3.1.4 เครื่องไล่สัตว์ โดยอาศัยหลักการส่งคลื่นอัลตราโซนิคที่มีความถี่ในย่านที่มีผลต่อการได้ยินของสัตว์ที่ไม่พึงประสงค์ต่างๆ เช่น หนู และสุนัข เมื่อสัตว์เหล่านี้ได้ยินจะไม่เข้ามาใกล้บริเวณแหล่งกำเนิดคลื่นอัลตราโซนิคอีก

นอกจากนี้คลื่นอัลตราซาวนด์ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้งานในสาขาต่าง ๆ ได้หลากหลาย ดังตารางที่ 2.2

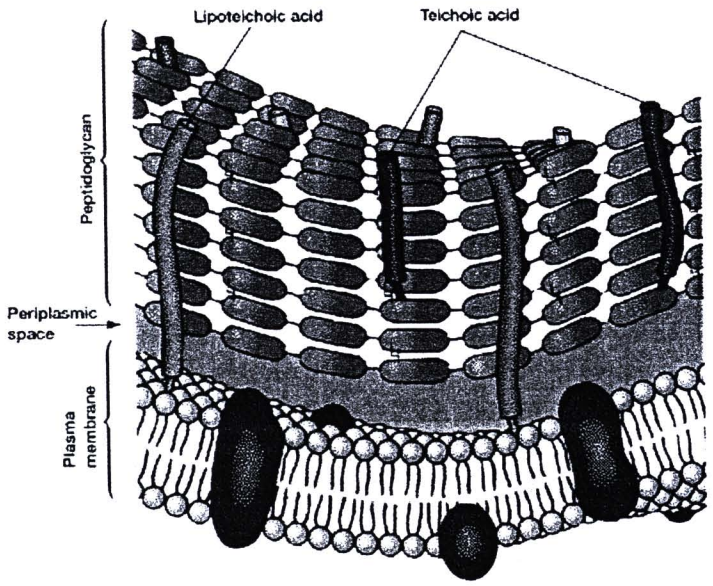
ตารางที่ 2.2 การประยุกต์ใช้งานคลื่นอัลตราซาวนด์ในสาขาต่าง ๆ [9]

สาขาที่ใช้	การประยุกต์ใช้งาน
เคมี ชีววิทยา และชีวเคมี	ใช้ในงานสังเคราะห์ (sonochemistry) การทำให้เซลล์แตกเพื่อให้ปลดปล่อยสารสำคัญออกมา
วิศวกรรมศาสตร์	ใช้วิเคราะห์แบบไม่ทำลาย (non-destructive testing) ใช้ในการตรวจหากัมมันตภาพรังสี หรือน้ำมัน ในน้ำ ดิน น้ำเสีย และปุ๋ย
ทันตกรรม	ใช้ทำความสะอาดและเจาะฟัน
ธรณีวิทยา	ใช้เพื่อหาตำแหน่งของสินแร่โดยใช้ Pulse/echo เรียกว่า SONAR
แพทยศาสตร์	ใช้เพื่อการถ่ายภาพอัลตราซาวนด์ของทารกในครรภ์ และหาตำแหน่งอวัยวะบางส่วนในร่างกาย เป็นต้น ใช้ในการแยกตัวอย่างดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ หรือโปรตีนที่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน

2.6.3.2 กลไกในการสกัดด้วยอัลตราโซนิค

Sonochemistry คือการเร่งปฏิกิริยาด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง อัลตราโซนิคเป็นคลื่นเสียงที่ส่งผ่านของเหลวด้วยพลังงานที่เหมาะสม โดยปกติเป็น 5–10 วัตต์ต่อตารางนิ้ว (W/in^2) หรือ 3.2–6.4 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร (W/cm^2) คลื่นเสียงนี้สามารถทำให้เกิดการสั่นของน้ำประมาณ 48,000 รอบต่อวินาที เมื่อปล่อยคลื่นเสียงอัลตราโซนิคลงสู่ของเหลว คลื่นเสียงความเข้มสูงที่ปล่อยลงไปจะประกอบไปด้วยช่วงอัดและช่วงขยาย ในช่วงขยายเมื่อคลื่นเสียงผ่านไปในของเหลวจะทำให้เกิดฟองอากาศ (bubble) ขนาดเล็กจำนวนมาก จากนั้นฟองอากาศที่ได้รับแรงเค้นในช่วงขยายจะเกิดการพองตัวขึ้นและเกิดการหดตัวลงอย่างรวดเร็วจนเกิดการระเบิดออกของฟองอากาศในช่วงอัด การระเบิดนี้จะสร้างความร้อนและแรงดันซึ่งจะไปเร่งปฏิกิริยาเคมีได้ ปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่า “แควิเทชัน” [9,10]

เซลล์พืชประกอบไปด้วยเยื่อหุ้มเซลล์ที่ห่อหุ้มด้วยผนังเซลล์ดังรูปที่ 2.7 จึงทำให้เซลล์พืชมีรูปร่างที่คงตัวและความแข็งแรงมากกว่าเซลล์อื่นๆ ดังนั้นการแตกเซลล์ด้วยวิธีทางเคมีและวิธีเชิงกลจึงทำได้ยาก วิธีการแตกเซลล์โดยใช้คลื่นอัลตราโซนิคเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากวิธีหนึ่ง เนื่องจากเป็นวิธีที่รวดเร็วและไม่ต้องใช้สารเคมี [27]



รูปที่ 2.7 โครงสร้างผนังเซลล์พืช [27]

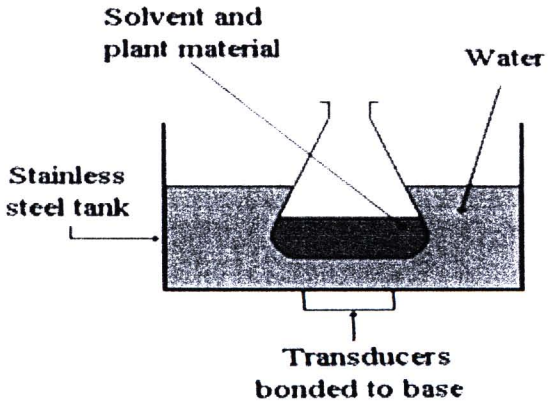
2.6.3.3 รูปแบบของการสกัดด้วยอัลตราโซนิค

รูปแบบของการสกัดด้วยอัลตราโซนิคมี 3 ลักษณะ [9] คือ

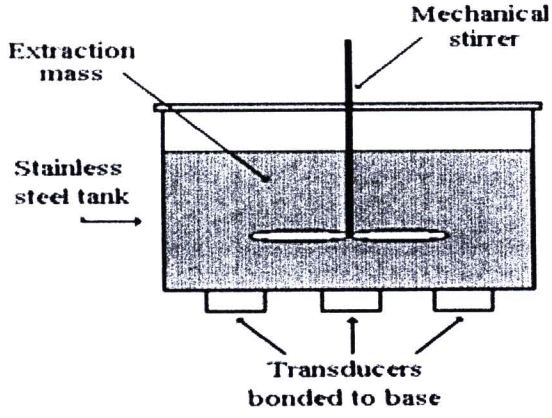
2.6.3.3.1 กระบวนการทางอ้อมโดยอาศัยตัวกลาง เช่น น้ำ ในการส่งผ่านคลื่นเสียง (รูปที่ 2.8)

2.6.3.3.2 กระบวนการโดยตรงแบบให้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงติดกับถังสกัด (รูปที่ 2.9)

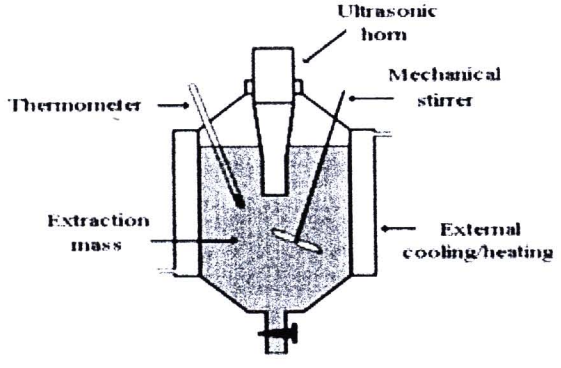
2.6.3.3.3 กระบวนการโดยตรงแบบใช้โพรบ (probe) หรือฮอร์น (horn) เป็นแหล่งกำเนิดคลื่นเสียง (รูปที่ 2.10)



รูปที่ 2.8 การสกัดแบบกระบวนการทางอ้อมโดยอาศัยตัวกลาง
ด้วยเครื่องล้างอัลตราโซนิค (cleaning bath) [9]



รูปที่ 2.9 การสกัดแบบกระบวนการโดยตรงแบบให้แหล่ง
กำเนิดคลื่นเสียงติดกับถังสกัด (ultrasonic bath) [9]



รูปที่ 2.10 การสกัดแบบกระบวนการโดยตรงแบบใช้โพรบหรือฮอร์น
เป็นแหล่งกำเนิดคลื่นเสียง (ultrasonic horn) [9]

2.6.3.4 ตัวแปรที่มีอิทธิพลต่อการสกัด

ตัวแปรที่มีอิทธิพลต่อการสกัด [28] ได้แก่

2.6.3.4.1 ขนาดของอนุภาค (particle size) ถ้าอนุภาคมีขนาดเล็กจะทำให้มีพื้นที่ผิวในการถ่ายเทมวลสารมากขึ้น และระยะทางของตัวถูกละลายที่อยู่ภายในของแข็งจะสั้นลง ทำให้ตัวถูกละลายแพร่กระจายออกสู่ตัวทำละลายได้เร็วขึ้น

2.6.3.4.2 ตัวทำละลาย (solvent) ตัวทำละลายที่ดีควรมีขั้วที่เหมาะสมกับตัวถูกละลาย และมีความหนืดต่ำ เพื่อให้มีการไหลเวียนที่ดี โดยทั่วไปจะนิยมใช้ตัวทำละลายบริสุทธิ์ ตัวทำละลายบริสุทธิ์จะไม่มีตัวถูกละลายอยู่เลย การสกัดจะอาศัยการละลายของสารเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นหลักการสำคัญจึงขึ้นอยู่กับการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม เพื่อให้สามารถสกัดสารที่ต้องการได้ในปริมาณสูง โดยทั่ว ๆ ไป ตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดควรมีสมบัติดังนี้ [28,29]

- ละลายสารที่ต้องการจะแยกได้เป็นอย่างดี
- ไม่ละลายสิ่งเจือปนหรือสารอื่น ๆ ที่ไม่ต้องการ หรือละลายได้น้อยมาก
- ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด
- ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับสารละลายของของผสม
- แยกออกจากสารละลายและสามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ง่าย เพื่อนำกลับไปใช้ใหม่ได้อีก
- ไม่เป็นพิษ
- มีความคงตัว
- ราคาถูก และหาง่าย

2.6.3.4.3 อุณหภูมิของตัวทำละลาย เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้อัตราการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิสูงขึ้นสัมประสิทธิ์การแพร่กระจาย (diffusivity) มีค่าเพิ่มขึ้น

2.6.3.4.4 เวลาในการสกัด ถ้าใช้เวลาในการสกัดน้อย สารที่ต้องการสกัดจะถูกสกัดออกมาน้อย ดังนั้นจึงต้องใช้เวลาในการสกัดที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด

2.7 พารามิเตอร์การละลาย

พารามิเตอร์การละลาย (solubility parameter, δ) เป็นค่าที่แสดงถึงความแข็งแรงของแรงระหว่างโมเลกุล ซึ่งสัมพันธ์กับพลังงานในการดึงดูดระหว่างโมเลกุล ค่าพารามิเตอร์การละลายสามารถนำไปใช้ในการพิจารณาการละลายของพอลิเมอร์ ความสามารถในการละลายของตัวยา และสามารถใช้อธิบายความมีขั้วของตัวทำละลายได้ เป็นต้น

การคำนวณค่าพารามิเตอร์การละลายสามารถคำนวณได้หลายวิธีได้แก่ การคำนวณค่าพารามิเตอร์การละลายแบบแฮนเซนโดยวิธีพิจารณากลุ่มองค์ประกอบ (group contribution) วิธีพิจารณากลุ่มองค์ประกอบของ Hoftyzer และ Van – Krevelen วิธีพิจารณากลุ่มองค์ประกอบของ Hoy และวิธีพิจารณากลุ่มองค์ประกอบของ Beerbower

วิธีพิจารณากลุ่มองค์ประกอบของ Hoftyzer และ Van – Krevelen
วิธีการหาค่าพารามิเตอร์การละลาย โดยใช้วิธีพิจารณากลุ่มองค์ประกอบของ Hoftyzer และ Van Krevelen [11] เป็นวิธีดั้งเดิมที่ใช้หาค่าพารามิเตอร์การละลายแบบแฮนเซน และสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับพอลิเมอร์โดยใช้มวลเชิงโมล (molar mass) ของหน่วยซ้ำ (repeating unit) โดยไม่จำเป็นต้องทราบความยาวของสายโซ่

องค์ประกอบของค่าพารามิเตอร์การละลาย (δ) สามารถคำนวณได้จากสมการ (2.10-2.13) เพื่อคำนวณค่าองค์ประกอบพารามิเตอร์การละลายของอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่มีขั้ว (δ_d) อันตรกิริยาของส่วนที่มีขั้ว (δ_p) และอันตรกิริยาในส่วนของพันธะไฮโดรเจน (δ_h) สำหรับตัวอย่างผลการคำนวณค่าพารามิเตอร์การละลายของลินาโลนอลและ 6,6 พอลิเอไมด์ แสดงในตารางที่ 2.3 และ 2.4 ตามลำดับ

$$\delta_d = \frac{\sum F_{di}}{V} \tag{2.10}$$

$$\delta_p = \frac{\sqrt{\sum F_{pi}^2}}{V} \tag{2.11}$$

$$\delta_h = \sqrt{\frac{\sum E_{hi}}{V}} \tag{2.12}$$

$$\delta = \sqrt{\delta_d^2 + \delta_p^2 + \delta_h^2} \tag{2.13}$$

โดยที่ δ_d คือ ค่าพารามิเตอร์การละลายของส่วนที่ไม่มีขั้ว

δ_p คือ ค่าพารามิเตอร์การละลายของส่วนที่มีขั้ว

δ_h คือ ค่าพารามิเตอร์การละลายของพันธะไฮโดรเจน

δ คือ ค่าพารามิเตอร์การละลายรวม

F_{di} คือ พลังงานยึดเหนี่ยวภายในของส่วนที่ไม่มีขั้วขององค์ประกอบ i

F_{pi} คือ พลังงานยึดเหนี่ยวภายในของส่วนที่มีขั้วขององค์ประกอบ i

E_{hi} คือ พลังงานยึดเหนี่ยวภายในของพันธะไฮโดรเจนขององค์ประกอบ i

V คือ ปริมาตรเชิงโมล

ตารางที่ 2.3 การคำนวณค่าพารามิเตอร์การละลายแบบแฮนเซนของลินาโลออล โดยวิธีของ Hoftyzer–Van Krevelen [11]

หมู่โครงสร้าง	จำนวนหมู่ (N)	$N*F_{di}$	$N*F_{pi}^2$	$N*E_{hi}$
$-CH_3$	3	1260	0	0
$>CH_2$	2	540	0	0
>C<	1	-70	0	0
$=CH_2$	1	400	0	0
=CH-	2	400	0	0
=C<	1	70	0	0
-OH	1	210	250,000	20,000
	Sum:	2,810	250,000	20,000
	δ_d	δ_p	δ_h	δ_T
HSP :	15.8	2.8	10.6	19.2

ตารางที่ 2.4 การคำนวณค่าพารามิเตอร์การละลายแบบแฮนเซนของ 6,6 พอลิเอไมด์โดยวิธีของ Hoftyzer–Van Krevelen [11]

หมู่โครงสร้าง	จำนวนหมู่ (N)	$N*F_{di}$	$N*F^2_{pi}$	$N*E_{hi}$
$>CH_2$	10	2700	0	0
-CO-	2	580	2,371,600	4,000
-NH-	2	320	176,400	6,200
	Sum:	3,600	2,548,000	10,200
	δ_d	δ_p	δ_h	δ_T
HSP :	18.1	8.0	7.2	21.1

2.8 High Performance Liquid Chromatography

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) บางครั้งถูกเรียกว่า high speed liquid chromatography เป็นวิธีการแยกสารแบบหนึ่งในเทคนิคลิควิดโครมาโทรกราฟี (liquid chromatography) ที่กำลังได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง เป็นการแยกสารผสมในคอลัมน์ปิด ซึ่งภายในคอลัมน์จะบรรจุด้วยของแข็งขนาดเล็ก ที่มีรูพรุนเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 150 ไมครอน เรียกว่า เฟสคงที่ (stationary phase) โดยสารผสมจะถูกฉีดเข้าไปทางด้านบนของคอลัมน์ หลังจากนั้นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) จะพาสารผ่านไปยังคอลัมน์ สารประกอบแต่ละตัวจะถูกดูดซับและถูกทำให้หลุดออกจากการดูดซับ (desorption) บนอนุภาคของแข็งที่ถูกบรรจุอยู่ในคอลัมน์ ทำให้สารประกอบเคลื่อนที่ไปตามคอลัมน์ช้าลง และอัตราเร็วของการเคลื่อนที่จะขึ้นอยู่กับสัมพรรคภาพ (affinity) ของสารกับอนุภาคที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ สารประกอบแต่ละชนิดจะมีอัตราการเคลื่อนที่แตกต่างกันไป ด้วยเหตุนี้จึงทำให้เกิดการแยกสารประกอบขึ้นภายในคอลัมน์ จากนั้นเฟสเคลื่อนที่จะเป็นตัวพาสารประกอบผ่านออกมาจากคอลัมน์อย่างต่อเนื่องไปสู่ดีเทคเตอร์ (detector) ซึ่งเป็นตัววัดสมบัติทางกายภาพหรือทางเคมีของตัวถูกละลายหรือเฟสเคลื่อนที่ ซึ่งจะแสดงผลออกกมาในลักษณะของโครมาโทรแกรมของสารละลายซึ่งประกอบด้วยสารประกอบหลายชนิด [30]

2.8.1 กลไกการแยก

กลไกการแยกโดยอาศัยเฟสมี 4 รูปแบบดังต่อไปนี้

2.8.1.1 Adsorption chromatography liquid-solid chromatography เป็นเทคนิคที่เหมาะกับสารที่มีขั้ว (polar) เช่นการแยกสารประกอบพวกแอลกอฮอล์ (alcohol) ออกจาก aromatic hydrocarbon หลักการการแยกสารนั้นอาศัยการเกิดอันตรกิริยา (interaction) ระหว่างสารประกอบที่ต้องการแยกกับตำแหน่ง

ซึ่ง active บนผิวของตัวดูดซับซึ่งใช้เป็นเฟสคงที่ โดยตัวถูกดูดซับจะต้องเป็นของแข็งที่มีพื้นที่ผิวและรูพรุนมาก เช่น ผงซิลิกาเจล (silica gel) อะลูมินา (alumin) หรือถ่าน (charcoal) ตำแหน่งที่ว่องไว (active) เช่น หมู่ซิลานอล (silanol group) ที่อยู่บนผิวของซิลิกาเจล ซึ่งสามารถเกิดอันตรกิริยากับสารประกอบที่มีฟังค์ชันนัลกรุ๊ปที่มีขั้ว (polar functional group) ได้

2.8.1.2 Partition chromatography เรียกว่า liquid-liquid chromatography เป็นเทคนิคที่เหมาะสมกับสารประกอบพวกโฮโมลอกส์ (homologs) และไอโซเมอร์ (isomers) โดยการเอาเฟสอยู่กับที่ไปทำให้เกิดพันธะทางเคมีกับวัสดุที่ใช้เป็นตัวรองรับ (support) เฟสอยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่จะต้องมีสภาพขั้ว (polarity) ที่แตกต่างกันมากๆ โดยถ้าเฟสอยู่กับที่มีสภาพไม่มีขั้ว เฟสเคลื่อนที่จะต้องมีขั้ว ถ้าสารประกอบที่ต้องการวิเคราะห์เป็นสารที่มีขั้วก็จะชอบเฟสเคลื่อนที่ จึงทำให้สารประกอบเหล่านี้ถูกชะล้างออกมาอย่างรวดเร็ว เทคนิคนี้คือ Reverse-Phase Chromatography (RPC) นิยมใช้กันมากใน HPLC

2.8.1.3 Ion-exchange chromatography เป็นเทคนิคที่เหมาะสมในการแยกพวกไอออนโลหะและสารประกอบทางชีวภาพ (biological sample) ที่ละลายน้ำได้ เช่น แยกพวกโปรตีน และกรดอะมิโน หลักการแยกสารประกอบขึ้นอยู่กับสัมพรรคภาพของไอออนในสารละลายกับไอออนที่มีประจุตรงข้าม ซึ่งอยู่ที่ผิวของเฟสที่อยู่กับที่ เฟสเคลื่อนที่จะใช้เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ ไอออนในเฟสเคลื่อนที่จะมีประจุเหมือนกับไอออนที่ต้องการแยก จึงทำให้เกิดการครอบครองตำแหน่งที่มีประจุผิวของเฟสอยู่กับที่ทำให้เกิดการยึดเกาะขึ้น

2.8.1.4 Size exclusion chromatography เป็นเทคนิคที่เหมาะสมกับการแยกสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เช่นโพลีเมอร์ (polymer) และไบโอโพลีเมอร์ (biopolymers) ออกจากสารโมเลกุลเล็กๆ หลักการคือสารประกอบจะถูกแยกออกจากกันด้วยขนาดของโมเลกุล เมื่อเทียบกับขนาดของรูของอนุภาคที่ถูกบรรจุอยู่ในคอลัมน์ โมเลกุลเล็กจะสามารถผ่านเข้าไปในรูเล็ก ส่วนโมเลกุลใหญ่จะถูกกันออกไป และไม่สามารถผ่านเข้ารูได้

HPLC เป็นเทคนิคที่แยกสารผสมได้อย่างรวดเร็ว resolution และ sensitivity ดี สะดวก ง่ายต่อการทำปริมาณวิเคราะห์ กลไกการแยกสารด้วยวิธีลิควิดโครมาโทรกราฟี และวิธี HPLC ยังคงเหมือนเดิม แตกต่างกันคือเครื่องมือและเทคนิคในการปฏิบัติเท่านั้น เพราะ HPLC ต้องการปั๊มความดันสูง มีเครื่องอิเล็กทรอนิกส์สำหรับทำโปรแกรม ต้องมีคอลัมน์ที่บรรจุด้วยอนุภาคเล็กๆ และเครื่องตรวจวัดที่มีสภาพความไวสูง

2.8.2 องค์ประกอบของเครื่อง HPLC

2.8.2.1 เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ควรมีความบริสุทธิ์สูง ความหนืดต่ำ จุดเดือดสูงกว่าอุณหภูมิคอลัมน์ มีความเสถียร ไม่รวมกับเฟสที่อยู่นิ่ง (stationary phase) ใช้ได้กับเครื่องดีเทคเตอร์ ไม่เป็นพิษ ไม่ติดไฟ ราคาถูก บรรจุอยู่ในขวดที่มีอุปกรณ์ในการไล่อากาศที่ละลายอยู่ เพื่อไล่แก๊สออกซิเจนซึ่งอาจทำปฏิกิริยากับเฟสเคลื่อนที่บางชนิด

2.8.2.2 ปั๊ม (pump) ภายในเครื่อง HPLC มีความต้านทานการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่จะไหลผ่านคอลัมน์ซึ่งมีอนุภาคขนาดเล็กบรรจุอยู่ ความต้านทานจะมากเมื่อใช้อนุภาคขนาดเล็กๆ และคอลัมน์ที่มีขนาดเล็ก จึงจำเป็นที่จะต้องใช้ความดันที่สูงดันเฟสเคลื่อนที่ให้ไหลไป

ปั๊มแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

2.8.2.2.1 Mechanical pump เป็นปั๊มที่ควบคุมให้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่มีค่าคงที่

2.8.2.2.2 Pneumatic pump เป็นปั๊มที่ควบคุมให้ความดันของการไหลของเฟสเคลื่อนที่มีค่าคงที่

2.8.2.3 การนำสารตัวอย่างเข้าไปในเครื่อง วิธีที่นิยมใช้คือ microsampling valve ส่วนวิธีที่ง่ายที่สุด คือ การฉีดสารตัวอย่างผ่าน septum ด้วย microsyringe มีความสำคัญอย่างมากต่อการแยกสาร

2.8.2.4 คอลัมน์ (column) องค์ประกอบมีดังนี้

2.8.2.4.1 Preparative column เป็นคอลัมน์ที่ใช้ในการเตรียมและการแยกสารปริมาณมากๆ

2.8.2.4.2 Analytical column เป็นคอลัมน์ที่ใช้ในการแยกสารเพื่อการวิเคราะห์และควบคุมคุณภาพ

2.8.2.4.3 Guard column ทำหน้าที่ป้องกันอันตรายที่อาจเกิดกับคอลัมน์ ทำให้คอลัมน์มีอายุการใช้งานที่ยาวนาน

2.8.2.4.4 Precolumn filter ทำหน้าที่กรองอนุภาค

2.8.2.5 เครื่องตรวจวัด (detector) เป็นเครื่องมือซึ่งสามารถทำการตรวจวัดสิ่งที่ออกมาจากคอลัมน์ได้อย่างต่อเนื่อง เครื่องตรวจวัดที่ใช้ได้กับเครื่อง HPLC มีหลายชนิดควรเลือกใช้ให้เหมาะสมกับคุณสมบัติของสารนั้นๆ เช่น ยูวี-วิสิเบิล ดีเทคเตอร์ (UV-vis detector) จะอาศัยการดูดกลืนแสงยูวีของสารตัวอย่าง มีลักษณะพิเศษคือไม่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของการไหลและอุณหภูมิ แต่ค่อนข้างจะมีความไวสูงกับสารประกอบอินทรีย์เป็นส่วนใหญ่

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

รัฐพล อมรสิน และคณะ [31] สกัดสารประกอบแทนนินจากใบสบู่ดำ ด้วยตัวทำละลายของเหลว ทำการสกัดโดยใช้เครื่องเขย่าที่ความเร็ว 140 รอบต่อนาที ขนาดอนุภาคเฉลี่ยของใบสบู่ดำเท่ากับ 1.19-2.00 มิลลิเมตร ปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่ อุณหภูมิ ชนิดของตัวทำละลาย และตัวทำละลายร่วมที่ใช้ในการสกัด อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองคือ 35 40 60 และ 70 องศาเซลเซียส ตัวทำละลายที่ใช้ได้แก่ เมทานอล น้ำ และ ตัวทำละลายร่วมระหว่างเมทานอลและน้ำที่อัตราส่วน 30:70 50:50 และ 70:30 โดยปริมาตร และศึกษาความคงตัวของสารสกัดที่ได้ในสภาวะการเก็บรักษาในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองพบว่าอัตราส่วนของตัวทำละลายร่วมระหว่างเมทานอลกับน้ำที่เหมาะสมในการสกัดกรดแกลลิกและคลอริลาจินที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส คือ 50:50 และ 70:30 โดยปริมาตร พบว่าสามารถสกัดกรดแกลลิกและคลอริลาจินได้สูงสุดถึง 1,966.53 และ 2,849.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมใบสบู่ดำแห้ง ตามลำดับ ส่วนการสกัดกรดแอลลาจิก อัตราส่วนของตัวทำละลายร่วมระหว่างเมทานอลกับน้ำที่เหมาะสมในการสกัด คือ 50:50 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สามารถสกัดสารได้สูงสุดถึง 518.46 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมใบสบู่ดำแห้ง สำหรับผลการศึกษาความคงตัวพบว่า สารสกัดที่ผ่านการเก็บรักษาในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สารคลอริลาจินมีปริมาณลดลงมากที่สุด รองลงมาคือกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิก ตามลำดับ

ญาติกา โยธา และคณะ [32] สกัดสารแอนติออกซิแดนท์ ได้แก่ เบตาไซยานิน สารประกอบฟีนอล และฟลาโวนอยด์ จากเปลือกแก้วมังกร (*Hylocereus undatus*) โดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์เสริม (ultrasound-assisted extraction) และใช้ตัวทำละลายร่วมระหว่างเอทานอลกับน้ำ เพื่อศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ (30–60 องศาเซลเซียส) ความเข้มข้นของเอทานอล (40–80 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (3–7) โดยออกแบบการทดลองแบบบ๊อกซ์-เบ็นเกน (Box-Behnken design) และหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารแอนติออกซิแดนท์จากเปลือกแก้วมังกร โดยการวิเคราะห์ผลในรูปพื้นผิวตอบสนอง (response surface methodology) จากผลการทดลองพบว่าปริมาณเบตาไซยานินสูงสุดที่สกัดได้เท่ากับ 1.56 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเปลือกแก้วมังกร ซึ่งได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5 และใช้เอทานอลความเข้มข้น 60

เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอลได้ปริมาณสูงสุด 21.07 มิลลิกรัมเทียบเท่ากรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเปลือกแก้วมังกร จากการสกัดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง 2 และใช้เอทานอลความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ในขณะที่การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.5 จะได้ฟลาโวนอยด์ปริมาณสูงที่สุดเท่ากับ 4.47 มิลลิกรัมเทียบเท่าคาเทชินต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเปลือกแก้วมังกร และยังพบว่าสภาวะที่สามารถสกัดสารแอนติออกซิแดนท์ที่มีคุณสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้สูงสุดเท่ากับ 9.91 มิลลิกรัมเทียบเท่าวิตามินซีต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเปลือกแก้วมังกร คือการสกัดโดยใช้เอทานอลความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-ด่าง 2 เมื่อวิเคราะห์ความเสถียรของสารสกัดเปลือกแก้วมังกรพบว่า สารสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5 และใช้ เอทานอลความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เบตาไซยานินที่สกัดได้จะมีความเสถียรมากที่สุด และสภาวะที่สารสกัดมีคุณสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเสถียรที่สุดในระหว่างการเก็บรักษาคือ สารที่สกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด-ด่าง 5 และใช้เอทานอลความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

ปทุมพร แม้นพงษ์ และคณะ [33] สกัดสารประกอบฟีนอลิกในใบสบู่ดำ ได้แก่ กรดแกลลิก กรดแอลลาจิก และคลอริลาจิน โดยการสกัดด้วยของไหลเหนือวิกฤต (Supercritical Fluid Extraction, SFE) ขนาดอนุภาคเฉลี่ยของใบสบู่ดำที่ใช้เท่ากับ 10–16 mesh ปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่ ความดัน อุณหภูมิ และตัวทำละลายร่วมที่ใช้ในการสกัด ความดันที่ใช้ในการทดลองคือ 10-30 เมกกะปาสคาล อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองคือ 40-80 องศาเซลเซียส ตัวทำละลายร่วมที่ใช้ได้แก่เมทานอลและน้ำที่อัตราส่วน 30-70 โดยปริมาตร โดยออกแบบการทดลองแบบบ๊อกซ์-เบ็นเกน และหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากใบสบู่ดำ โดยการวิเคราะห์ผลในรูปพื้นผิวตอบสนอง จากผลการทดลองพบว่ากรดแกลลิกสามารถสกัดได้สูงสุดที่ความดัน 10 เมกกะปาสคาล อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของตัวทำละลายร่วมระหว่างเมทานอลกับน้ำที่เหมาะสมในการสกัด คือ 30 : 70 โดยปริมาตร กรดแอลลาจิกสามารถสกัดได้สูงสุดที่ความดัน 30 เมกกะปาสคาล อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของตัวทำละลายร่วมระหว่างเมทานอลกับน้ำที่เหมาะสมในการสกัด คือ 50 : 50 โดยปริมาตร และคลอริลาจินสามารถสกัดได้สูงสุดที่ความดัน 20 เมกกะปาสคาล อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของตัวทำละลายร่วมระหว่างเมทานอลกับน้ำที่เหมาะสมในการสกัด คือ 30 : 70 โดยปริมาตร

Rangkadilok และ คณะ [34] สกัดสารสำคัญที่มีคุณค่าทางยาได้จากส่วนต่างๆ ของผลลำไย คือ สารสำคัญประเภทโพลีฟีนอลสามชนิด ได้แก่ กรดแกลลิก กรดแอลลาจิก และคลอริลาจิน จากเมล็ด เนื้อ และเปลือกของผลลำไยพันธุ์ต่างๆ โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายของเหลว ทำการสกัดโดยใช้เครื่องเขย่า สัดส่วนของแข็งต่อของเหลวที่ใช้ในการสกัดคือ 0.4 กรัม ต่อ 15 มิลลิลิตร จากผลการทดลองพบว่าส่วนต่างๆ ของผลลำไยจะมีปริมาณสารสำคัญแตกต่างกัน และสารสกัดจากเมล็ดลำไยมีสารสำคัญทั้งสามชนิดมากที่สุด โดยอัตราส่วนของตัวทำละลายร่วมระหว่างเมทานอลกับน้ำที่เหมาะสมในการสกัดกรดแกลลิก กรดแอลลาจิก และคลอริลาจินคือที่ 70:30 โดยปริมาตร โดยที่ส่วนต่างๆ ของผลลำไยจะมีปริมาณสารสำคัญนี้แตกต่างกันพบว่า เมล็ดลำไยให้ปริมาณสารสกัดสูงสุด แต่เปลือกลำไยให้ปริมาณสารสกัดต่ำสุด เมื่อพิจารณาที่สายพันธุ์ของลำไยพบว่าพันธุ์อีดอมีปริมาณกรดแกลลิก และกรดแอลลาจิก สูงสุด ส่วนพันธุ์สีชมพูมีปริมาณสารคลอริลาจินมากที่สุดเมื่อเทียบกับลำไยพันธุ์อื่น

Rodrigues และคณะ [35] สกัดสารประกอบฟีนอลจากเปลือกมะพร้าว โดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์เสริม ปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เวลา และสัดส่วนของแข็งต่อของเหลวที่ใช้ในการสกัด อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดคือ 35 45 และ 60 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ใช้คือ 4.5 5.5 และ 6.5 เวลาที่ใช้คือ 20 40 และ 60 นาที และสัดส่วนของแข็งต่อของเหลวที่ใช้คือ 20 35 และ 50 ทำการวิเคราะห์ผลการทดลองในรูปพื้นผิวตอบสนอง จากผลการทดลองพบว่าการสกัดสารประกอบฟีนอลขึ้นกับปัจจัยที่ทำการศึกษาทั้งหมดได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เวลา และสัดส่วนของแข็งต่อของเหลวที่ใช้ในการสกัด และสภาวะการสกัดที่ได้ปริมาณสารประกอบฟีโนลิคสูงที่สุดคือ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 6.5 เวลาที่ใช้สกัด 15 นาที และสัดส่วนของแข็งต่อของเหลวที่ใช้เท่ากับ 50 พบว่าสามารถสกัดสารประกอบฟีโนลิคได้สูงสุดถึง 22.44 มิลลิกรัมต่อกรัมเปลือกมะพร้าว

Wang และคณะ [36] สกัดสารประกอบฟีนอลจากแกลบ โดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์เสริม ปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ในการสกัด อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดคือ 33 40 50 60 และ 67 องศาเซลเซียส ตัวทำละลายที่ใช้ได้แก่ ตัวทำละลายร่วมระหว่างเมทานอลและน้ำที่อัตราส่วน 43:57 50:50 60:40 70:30 และ77:23 โดยปริมาตร เวลาที่ใช้ได้แก่ 11 15 20 25 และ 29 นาที โดยออกแบบการทดลองแบบ central composite rotatable design และหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลจากแกลบ โดยการวิเคราะห์ผลในรูปพื้นผิวตอบสนอง จากผลการทดลองพบว่าสภาวะที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงที่สุดคืออุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ใช้ตัวทำละลายร่วมระหว่างเอทานอลและน้ำที่อัตราส่วน 64:36 โดยปริมาตร เวลาในการสกัด 25 นาที สามารถสกัดกรดแกลลิกได้สูงสุดถึง 3.12 มิลลิกรัมต่อกรัมแกลบแห้ง

Bucic-Kojic และคณะ [37] สกัดสารประกอบฟีนอลจากเมล็ดองุ่น โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่ อุณหภูมิ ขนาดของผงเมล็ดองุ่น และสัดส่วนของแข็งต่อของเหลวที่ใช้ในการสกัด อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองคือ 25 40 50 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส ขนาดของเมล็ดองุ่นที่ใช้ได้แก่ ขนาดใหญ่กว่า 0.63 มิลลิเมตร ขนาดอยู่ในช่วง 0.63-0.4 0.4-0.16 และ 0.16-0.125 มิลลิเมตร สัดส่วนของแข็งต่อของเหลวที่ใช้ได้แก่ 10 20 30 และ 40 มิลลิลิตรต่อกรัม จากผลการทดลองพบว่าสภาวะที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงที่สุดคืออุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ขนาดของเมล็ดองุ่นอยู่ในช่วง 0.16-0.125 มิลลิเมตร สัดส่วนของแข็งต่อของเหลว 40 มิลลิลิตรต่อกรัม โดยสกัดสารประกอบฟีนอลได้สูงสุดถึง 66.81 มิลลิกรัมเทียบเท่ากรดแกลลิกต่อกรัมเมล็ดองุ่นแห้ง

Qin Ma และคณะ [38] สกัดสารประกอบฟีนอลจากเปลือกส้ม ด้วยวิธีมาเซอเรชัน (maceration) และวิธีอัลตราโซนิค วิธีมาเซอเรชันใช้เวลาในการสกัดเท่ากับ 1 และ 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ส่วนวิธี อัลตราโซนิคใช้เวลาในการสกัดเท่ากับ 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดคือเมทานอลความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้พบว่าการสกัดด้วยวิธีอัลตราโซนิคที่เวลา 1 ชั่วโมงให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลมากกว่าการสกัดด้วยวิธีมาเซอเรชัน 8 ชั่วโมง จึงเลือกใช้วิธีอัลตราโซนิคในการสกัดสารประกอบฟีนอล โดยปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่ อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ในการสกัด อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองคือ 15 30 และ 40 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการสกัดได้แก่ 10 20 30 40 50 และ 60 นาที จากผลการทดลองที่ได้พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารฟีนอลคือ 30 องศาเซลเซียส และใช้เวลาในการสกัด 40 นาที

Jerman และคณะ [39] สกัดสารประกอบฟีนอลจากมะกอก โดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์เสริม และใช้ตัวทำละลายร่วมระหว่างเมทานอลกับน้ำ เพื่อศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ ความเข้มข้นของเอทานอล จำนวนครั้งในการสกัดซ้ำ และเวลาที่ใช้ในการสกัด อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองคือ 25 และ 45 องศาเซลเซียส ตัวทำละลายที่ใช้ได้แก่ เมทานอล และตัวทำละลายร่วมระหว่างเมทานอลกับน้ำที่อัตราส่วน 80:20 โดยปริมาตร จำนวนครั้งในการสกัดซ้ำคือ 1-5 ครั้ง เวลาที่ใช้ได้แก่ 4 15 20 และ 30 นาที จากผลการทดลองพบว่าสารประกอบฟีนอลสามารถสกัดได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ทำการสกัดทั้งหมด 3 ครั้ง เวลาที่ใช้ในการสกัดคือ 20 นาที ได้ค่าเปอร์เซ็นต์การนำกลับ (percent recovery) อยู่ในช่วงร้อยละ 94.1-98.7 จากมะกอกแห้ง 1.5 กรัม

Luque-Garcia และคณะ [40] สกัดไขมันจากเมล็ดน้ำมันได้แก่ เมล็ดทานตะวัน เมล็ดถั่ว และกากเมล็ดองุ่น ด้วยวิธีอัลตราโซนิคและวิธีซอกเล็ตร่วมกับอัลตราโซนิค พบว่าการสกัดโดยใช้อนุภาคที่มีขนาดต่ำกว่า 2 มิลลิลิตร สำหรับการสกัดด้วยวิธีซอกเล็ตใช้เวลาในการสกัด 12 ชั่วโมง ในขณะที่การสกัดด้วยวิธีซอกเล็ตร่วมกับอัลตราโซนิคใช้เวลาในการสกัดประมาณ 90 นาที ซึ่งทั้งสองวิธีมีประสิทธิภาพในการสกัด 99 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบผลกับการสกัดตาม International Organization for Standardization (ISO) จะเห็นได้ว่าวิธีซอกเล็ตร่วมกับอัลตราโซนิค สามารถสกัดน้ำมันได้ปริมาณเท่ากับวิธีซอกเล็ตแต่ใช้เวลาในการสกัดน้อยลง และเมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากเมล็ดทานตะวัน เมล็ดถั่ว และกากเมล็ดองุ่น ด้วยวิธีซอกเล็ตร่วมกับอัลตราโซนิคและวิธี ISO พบว่าปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากทั้งสองวิธีใกล้เคียงกัน

Shahrzad และคณะ [41] ศึกษาปริมาณกรดฟีโนลิคที่ออกฤทธิ์ทางยาจากน้ำผลไม้โดยวิธีโครมาโตร - กราฟีแบบของเหลว โดยการนำน้ำผลไม้สองชนิดคือ น้ำเชอร์รี่ น้ำองุ่นเขียวและน้ำองุ่นดำ แบ่งเป็นสองกลุ่ม กลุ่มแรกไม่ต้องทำการย่อยสลาย (non–hydrolysis) กลุ่มที่สองนำไปย่อยสลาย (hydrolysis) ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ สำหรับน้ำเชอร์รี่ใช้ระยะเวลาในการย่อยสลาย 48 ชั่วโมง ส่วนน้ำองุ่นใช้ระยะเวลาในการย่อยสลาย 62 ชั่วโมง จากนั้นสกัดกรดฟีโนลิคจากน้ำผลไม้ทั้งสองชนิดด้วยสารละลายเอทิลอะซีเตต แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีโนลิคด้วยเครื่องโครมาโตรกราฟีแบบของเหลว พบว่ากรดฟีโนลิคที่ออกฤทธิ์ทางยาได้แก่ กรดแกลลิก กรดคลอโรจีนิค (chlorogenic acid) กรดคาเฟอิก (caffeic acid) กรดเฟรูลิก (ferulic acid) และกรดแอลลาจิก น้ำเชอร์รี่พบปริมาณกรดคลอโรจีนิคสูงถึง 85 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนน้ำองุ่นเขียวและน้ำองุ่นดำพบปริมาณกรดแกลลิกสูงถึง 110 และ 79 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ

Yean Soong และคณะ [42] สกัดกรดแกลลิก และกรดแอลลาจิก จากเมล็ดลำไยและเมล็ดมะม่วง และวิเคราะห์หาปริมาณสารสกัดด้วยเครื่องโครมาโตรกราฟีแบบของเหลว ปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่ตัวทำละลาย (เอทานอล และเมทานอล) วิธีการเตรียมตัวอย่าง (อบแห้ง และแช่แข็ง) การย่อยสลายตัวอย่างด้วยกรดไฮโดรคลอลิก (ย่อยสลาย และไม่ย่อยสลาย) อุณหภูมิ (35 70 และ 85 องศาเซลเซียส) เวลาในการสกัด (1 2 และ 16 ชั่วโมง) จากผลการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเมล็ดลำไยคือการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีแช่แข็ง ตัวทำละลายที่ใช้คือเอทานอล สกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปริมาณกรดแกลลิกและแอลลาจิกที่สกัดได้คือ 23.3 และ 156 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมเมล็ดลำไย ส่วนสภาวะที่เหมาะสมกับการสกัดกรดแกลลิกในเมล็ดมะม่วงคือเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีอบแห้ง ตัวทำละลายที่ใช้คือเอทานอล สกัดที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ปริมาณกรดแกลลิกที่สกัดได้คือ 838 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมเมล็ดมะม่วง ซึ่งปริมาณกรดแกลลิกที่สกัดได้จากเมล็ดมะม่วงมากกว่าปริมาณที่สกัดได้จากเมล็ดลำไย 87 เปอร์เซ็นต์ และ

สภาวะที่เหมาะสมกับการสกัดกรดแอลลาจิกในเมล็ดมะม่วงคือเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีแช่แข็ง ตัวทำละลายที่ใช้คือเอทานอล สกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปริมาณกรดแอลลาจิกที่สกัดได้คือ 118 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมเมล็ดมะม่วง ซึ่งปริมาณกรดแอลลาจิกที่สกัดได้จากเมล็ดมะม่วงน้อยกว่าปริมาณที่สกัดได้จากเมล็ดลำไย 32 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการศึกษาคุณสมบัติในการต้านสารอนุมูลอิสระ จากผลการทดลองพบว่าเมล็ดลำไยและเมล็ดมะม่วงเป็นแหล่งสำคัญที่มีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่ในปริมาณมาก

Muchuweti และคณะ[43] สกัดสารแทนนิน (tannin) แกลโลแทนนิน (gallotannin) และฟลาโวนอยด์ (flavonoid) จากผลซูการ์พลัม (Uapaca kirkiana) ตัวทำละลายที่ใช้คือเมทานอล 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่วิธีการเตรียมตัวอย่าง (อบแห้ง และตากแดด) ส่วนต่างๆของผล (เปลือก เนื้อเยื่อ เปลือกหุ้มเมล็ด และต้นอ่อน) ลักษณะของผลซูการ์พลัม (สุก และไม่สุก) จากผลการทดลองพบว่าสารแทนนินทั้งหมดจะพบมาก (0.171 มิลลิกรัมต่อกรัมต้นอ่อนแห้ง) ในผลที่ไม่สุกในส่วนของต้นอ่อนที่ผ่านการอบแห้ง ส่วนฟลาโวนอยด์จะพบมาก (0.0149 มิลลิกรัมต่อกรัมต้นอ่อนแห้ง) ในส่วนของต้นอ่อนของผลที่สุกที่ผ่านการอบแห้ง และแกลโลแทนนินจะพบมาก (0.0076 มิลลิกรัมต่อกรัมต้นอ่อนแห้ง) ในส่วนของต้นอ่อนของผลที่ไม่สุกที่ผ่านการอบแห้ง จะเห็นได้ว่าสารแทนนิน แกลโลแทนนิน และฟลาโวนอยด์ จากผลซูการ์พลัม จะมีปริมาณมากสุดในส่วนของต้นอ่อนรองลงมาคือเปลือก เนื้อเยื่อ และเปลือกหุ้มเมล็ด ตามลำดับ