วารสาร ไทยไภษัชยนิพนธ์
ปีที่ 7 เดือนมกราคม – ธันวาคม 2555
บทความฟื้นฟูวิชาการ สำหรับการศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์ (on-line)

การสกัดพืชสมุนไพรโดยการสกัดด้วยของไหลความดันสูง

Herbal Extraction by Pressurized Liquid Extraction (PLE)

เภสัชกรหญิง รองศาสตราจารย์ ดร.ชุติมา ลิ้มมัทวาภิรัติ์
ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

เภสัชกร รองศาสตราจารย์ ดร.สนทยา ลิ้มมัทวาภิรัติ์
ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

รหัส 1-000-SPU-000-1207-01
จำนวนหน่วยกิต 2.0 หน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่อง
วันที่รับรอง : 30 กรกฎาคม 2555
วันที่หมดอายุ: 30 กรกฎาคม 2557

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. เพื่อให้ผู้อ่านทราบวิธีการสกัดพืชสมุนไพรโดยการสกัดด้วยของไหลความดันสูง
2. เพื่อให้ผู้อ่านทราบข้อดีและข้อเสียของการสกัดด้วยของไหลความดันสูง
3. เพื่อให้ผู้อ่านสามารถนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้งานด้านการสกัดได้อย่างเหมาะสม

บทคัดย่อ

การสกัดด้วยของไหลความดันสูง (pressurized liquid extraction, PLE) เป็นเทคนิคการสกัดที่ใช้ความดันและอุณหภูมิสูงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด เทคนิคนี้สามารถลดปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งเป็นพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม มีความสะดวก รวดเร็ว สามารถนำมาประยุกต์ใช้เตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพร เพื่อใช้เตรียมเป็นโภชนเภสัชภัณฑ์ (nutraceuticals) และใช้เตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพรสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดด้วยเทคนิค PLE ได้แก่ อุณหภูมิ ความดัน ตัวทำละลาย และความชื้นของพืชสมุนไพร เป็นต้น ซึ่งจะกล่าวถึงในรายละเอียดต่อไป

คำสำคัญ การสกัดด้วยของไหลความดันสูง การสกัดพืชสมุนไพร ตัวทำละลายอินทรีย์
Pressurized liquid extraction herbal extraction organic solvent

บทนำ

การสกัดพืชสมุนไพร (herbal extraction) ทำได้หลายวิธี เช่น การสกัดแบบซอกห์เลต (Soxhlet extraction) การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (sonication) การกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) และการสกัดของแข็งด้วยของเหลว (solid–liquid extraction) เป็นต้น[1] วิธีเหล่านี้มีความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) ค่อนข้างต่ำ ใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน รวมถึงต้องใช้พืชสมุนไพร ตัวดูดซับ (sorbent) และตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) ในปริมาณมากด้วย จึงส่งผลให้ค่าใช้จ่ายในการสกัดสูงขึ้นและก่อให้เกิดปัญหาในการกำจัดตัวทำละลายอินทรีย์เพิ่มขึ้น นอกจากนี้การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณมากยังเป็นการทำลายสิ่งแวดล้อมและเป็นอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์อีกด้วย การสกัดแบบดั้งเดิมจะได้สารสกัดหยาบ (crude extract) ที่มีองค์ประกอบทางเคมีที่ซับซ้อนมากจึงต้องเพิ่มขั้นตอนการเตรียมสารสกัดหยาบให้สะอาดขึ้น (clean-up) ก่อนทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่อไป ยิ่งไปกว่านั้นการสกัดสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) ด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม เช่น การสกัดแบบซอกห์เลต ที่ใช้ความร้อนเป็นระยะเวลานานจะมีผลทำลายสารที่ไม่ทนความร้อน (thermolabile substances) ส่งผลให้สารที่ไม่ทนความร้อนในสารสกัดหยาบมีความเข้มข้นลดลง[2] ตัวอย่างเช่น การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขมิ้นชัน (*Curcuma domestica*) ด้วยการสกัดแบบซอกห์เลตจะทำให้สารสำคัญหลายชนิดสลายตัวไประหว่างทำการสกัด[3] จากที่กล่าวมาจะเห็นถึงข้อเสียหลายประการของการสกัดแบบดั้งเดิม ประการหนึ่งที่ควรพิจารณา คือ การสกัดแบบดั้งเดิมใช้ตัวทำละลายที่เป็นพิษในปริมาณมาก จะก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตามในปัจจุบันได้มีเทคโนโลยีสีเขียว (green technology) เกิดขึ้นเพื่อลดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม เทคโนโลยีสีเขียวหรือเทคโนโลยีเพื่อสิ่งแวดล้อม เป็นเทคโนโลยีที่ช่วยอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมและทรัพยากรธรรมชาติ นอกจากนี้ยังช่วยลดผลเสียต่างๆ ที่เกิดจากการกระทำของมนุษย์ โดยเฉพาะการลดการใช้หรือการทำให้เกิดสารอันตราย หนึ่งในเทคนิคการสกัดที่จัดเป็นเทคโนโลยีสีเขียวที่ช่วยลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นอันตรายได้ คือ การสกัดด้วยของไหลความดันสูง (pressurized liquid extraction, PLE) โดยเฉพาะการสกัดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย[1] ในปัจจุบันนิยมนำเทคนิค PLE มาใช้เป็นขั้นตอนหนึ่งในการผลิตโภชนเภสัชภัณฑ์ (nutraceuticals) ซึ่งโภชนเภสัชภัณฑ์ จัดเป็นสารหรือองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากพืชสมุนไพรที่ผ่านการสกัดหรือการแยกเป็นสารบริสุทธิ์ แล้วนำมาพัฒนาเป็นรูปแบบต่างๆ เช่น เม็ดหรือแคปซูล มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ป้องกันโรคต่างๆ และเสริมสร้างสุขภาพ ในบทความนี้จะกล่าวถึงหลักการของการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรด้วยเทคนิค PLE การปรับสภาวะการสกัดให้เหมาะสม พารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการสกัด การใช้ตัวทำละลายผสมที่แตกต่างกัน และการใช้สารช่วยสกัด

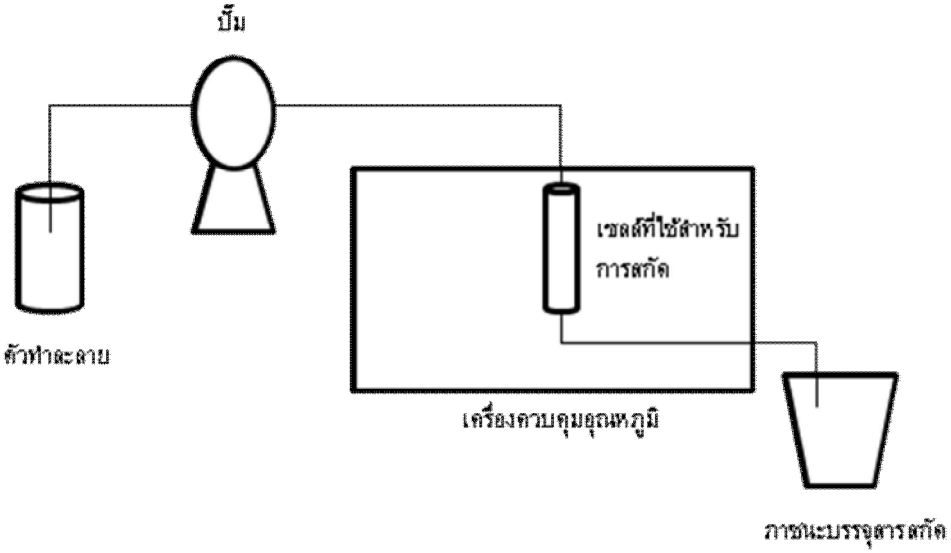
การสกัดด้วยของไหลความดันสูง (Pressurized liquid extraction, PLE)

PLE เป็นเทคนิคการสกัดที่ใช้ตัวทำละลายเป็นเฟสของเหลวโดยสกัดที่อุณหภูมิและความดันสูง[1,4] การสกัดที่อุณหภูมิสูงกว่าจุดเดือดของตัวทำละลายที่ความดันบรรยากาศจะมีผลเพิ่มทั้งการละลายของสารที่ต้องการสกัดและคุณสมบัติการถ่ายเทมวล (mass transfer property) ในปี ค.ศ. 1995 บริษัท Dionex ได้แนะนำเทคโนโลยีการสกัดด้วย accelerated solvent extraction technology (ASE®) ซึ่งในปัจจุบันเทคโนโลยีนี้ได้ครอบคลุมถึง pressurized liquid extraction (PLE), pressurized solvent extraction, accelerated solvent extraction และ enhanced solvent extraction ในกรณีของการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดจะหมายถึงเทคนิค pressurized hot water extraction (PHWE) ในที่นี้จะกล่าวเน้นถึงการสกัดด้วยเทคนิค PLE โดยครอบคลุมถึงเครื่องมือ ตัวทำละลาย พารามิเตอร์ของการสกัด และการประยุกต์ใช้เทคนิค PLE ในการสกัดพืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆ[1,4]

เครื่องมือ (Equipment)

เครื่องมือที่ใช้ในเทคนิค PLE มี 2 แบบ คือ static instrument และ dynamic instrument ในกรณีของ dynamic instrument จะใช้ตัวทำละลายสกัดสารอย่างต่อเนื่องโดยใช้ปั๊ม (pump) ที่มีความดันสูง ดังรูปที่ 1 ซึ่งแสดงแผนภาพการสกัดด้วยเทคนิค PLE ที่ในระบบจะต้องมีการควบคุมอุณหภูมิและความดันในการสกัด ในปัจจุบัน ASE-350® เป็นเครื่องมือที่สามารถสกัดสารได้ทั้ง static mode และ dynamic mode สำหรับการสกัดด้วย static mode จะมีจำนวนรอบของการสกัด (extraction cycle) เพียงรอบเดียวหรือหลายรอบ ซึ่งจะมีการแทนที่ของตัวทำละลายใหม่ในระหว่างรอบของการสกัด แต่ในกรณีของการสกัดด้วย dynamic (flow) mode ปั๊มจะส่งตัวทำละลายไปสกัดสารด้วยอัตราการไหล (flow rate) คงที่ตลอดเวลา อุณหภูมิในระหว่างการสกัดด้วยเทคนิค PLE จะค่อนข้างกว้าง ตั้งแต่อุณหภูมิห้องไปจนถึง 200 องศาเซลเซียส และความดันอยู่ในช่วง 35-200 บาร์[1] นอกจากนี้ประสิทธิภาพของการสกัดยังขึ้นอยู่กับลักษณะเมตริกซ์ของตัวอย่าง รวมถึงชนิดของสารช่วยกระจาย (dispersing agent) หรือสารช่วยทำให้แห้ง (drying agent) อีกด้วย hydromatrix (inert diatomaceous earth) หรือ sodium sulfate[1,4] เป็นสารช่วยกระจายและ/หรือสารดูดความชื้น (dehydrating agent) ที่ใช้ในการสกัด เนื่องจากความชื้นในเมตริกซ์ของตัวอย่างมักมีผลลดประสิทธิภาพในการสกัด ลูกแก้ว (glass bead) ใช้เป็นสารช่วยกระจายในกรณีที่ไม่ใช้สารดูดความชื้น ทั้งนี้สารช่วยกระจายจะทำหน้าที่เติมเต็มเซลล์ที่ใช้ในการสกัด (extraction cell) จึงช่วยลดปริมาณการใช้ตัวทำละลาย โดยการลดปริมาตรของเซลล์ (cell volume) ที่ใช้ในการสกัด เครื่องมือที่นำมาใช้ในเทคนิค PLE มักกำหนดระยะเวลาในแต่ละรอบของการสกัดแบบ static mode นานประมาณ 5-15 นาที และเมื่อการสกัดรอบสุดท้ายเสร็จสิ้น เซลล์ที่ใช้ในการสกัดและท่อนำส่งตัวทำละลายจะถูกเป่าด้วยแก๊สเฉื่อยเพื่อกำจัดตัวทำละลายที่ตกค้างอยู่ในเซลล์และท่อออกไป โดยทั่วไปเซลล์ที่ใช้ในการสกัดจะทำด้วยสเตนเลสมีขนาดบรรจุประมาณ 316 ลิตร จึงเป็นข้อจำกัดที่ไม่สามารถใช้สกัดสารในสภาวะ

ที่เป็นกรดหรือด่างสูงมากได้ ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาเซลล์ที่ใช้ในการสกัดที่ทำขึ้นจาก dionium ซึ่งสามารถทนต่อกรดหรือด่างที่มีความแรงสูงได้ และยังใช้เป็นเซลล์สำหรับปฏิกิริยา saponification ในกรณีของการสกัดไขมันได้อีกด้วย สำหรับการสกัดแบบ static mode นั้น ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการสกัด คือ อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด ประสิทธิภาพของการสกัดจะขึ้นอยู่กับการละลายและความสามารถในการกระจายตัวของสารที่ต้องการสกัดในตัวทำละลาย อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของการสกัดจะถูกจำกัดด้วยปริมาตรของตัวทำละลาย แต่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดได้ด้วยการเพิ่มจำนวนรอบของการสกัดให้มากขึ้น[1] ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดด้วยเทคนิค PLE ได้แก่ ตัวทำละลาย ความดัน อุณหภูมิ ขนาดอนุภาค และความชื้นของพืชสมุนไพร เป็นต้น กระบวนการสกัดด้วยเทคนิค PLE มี 2 ขั้นตอน คือ (1) การละลาย (solubility) และ (2) การแพร่ อุณหภูมิของตัวทำละลายและขนาดอนุภาคของเมตริกซ์จะมีผลมากต่อประสิทธิภาพการสกัด การเพิ่มอุณหภูมิและ/หรือการลดขนาดอนุภาคของเมตริกซ์จะทำให้การสกัดเร็วขึ้นและมีประสิทธิภาพดีขึ้น ในกรณีการสกัดโดยการควบคุมการละลายพบว่าประสิทธิภาพของการสกัดจะขึ้นอยู่กับการกระจายตัวของสารที่ต้องการสกัดระหว่างเมตริกซ์กับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ทั้งนี้ถ้าสารที่ต้องการสกัดกับเมตริกซ์จับกันด้วยแรงอ่อนๆ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดได้โดยการแทนที่ตัวทำละลายเก่าด้วยตัวทำลายใหม่ เทคนิค PLE สามารถนำมาใช้สกัดสารได้หลายชนิดทั้งสารประกอบที่มีขั้ว (polar compound) และสารประกอบที่ไม่มีขั้ว (nonpolar compound)[1]



รูปที่ 1 แผนภาพการสกัดด้วยเทคนิค PLE

ตัวทำละลาย (Solvents)

หลักการใช้ตัวทำละลายสำหรับการสกัด คือ like dissolves like ซึ่งหมายถึง ตัวถูกละลายที่มีขั้วจะละลายในตัวทำละลายที่มีขั้ว ในขณะที่ตัวถูกละลายที่ไม่มีขั้วจะละลายในตัวทำ

ละลายที่ไม่มีขั้ว[5] จึงชี้ให้เห็นว่าสารที่ต้องการสกัดจะต้องมีสภาพขั้วใกล้เคียงกับสภาพขั้วของตัวทำละลาย และตัวทำละลายที่ใช้จะต้องละลายสารอื่นที่ไม่ต้องการออกมาได้น้อยมากหรือไม่ละลายออกมาเลย ในระหว่างการสกัดสารที่มีความเข้มข้นน้อย ความเข้มข้นของสารที่ต้องการสกัดจะไม่มีผลต่ออัตราเร็วของการสกัด (rate of extraction) แต่จะมีผลต่ออัตราการถ่ายเทมวล (rate of mass transfer) ดังนั้นการเลือกใช้ตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการละลายและการปลดปล่อยสารที่ต้องการสกัดจึงเป็นสิ่งสำคัญ โดยทั่วไปการละลายของสารในตัวทำละลายจะขึ้นอยู่กับ Hansen solubility parameter ซึ่งเป็นพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุล (intermolecular force) แรงแผ่กระจาย (dispersion force) และพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) ที่มีความสัมพันธ์กับหลักการละลายของสารตามกฎ like dissolves like ซึ่งสารที่ถูกละลายจะมีความเป็นขั้วใกล้เคียงกับความเป็นขั้วของตัวทำละลาย อย่างไรก็ตามเนื่องจากมีปัจจัยหลายประการที่ส่งผลต่อการละลายในระหว่างกระบวนการสกัด จึงควรพิจารณาถึงความสามารถในการละลายของสารในตัวทำละลายร่วมไปกับการพิจารณาถึงค่าใช้จ่ายและความปลอดภัยในการเลือกใช้ตัวทำละลาย จากแนวความคิดของเทคโนโลยีสีเขียวได้สะท้อนให้เห็นถึงการใช้ตัวทำละลายที่จะส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการนำตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (green solvents) มาใช้ในกระบวนการสกัดมากขึ้น ได้แก่ สารในกลุ่มแอลกอฮอล์ (alcohols) เช่น เอทานอล (ethanol) และเมทานอล (methanol) รวมถึงสารในกลุ่มแอลเคน (alkanes) เช่น เฮปเทน (heptanes) และเฮกเซน (hexane) ซึ่งมีความปลอดภัยสูงกว่าตัวทำละลายบางชนิด เช่น ไดออกเซน (dioxane) อะซีโตไนไตรล์ (acetonitrile) กรด (acids) ฟอร์มาลดีไฮด์ (formaledyde) และเททระไฮโดรฟูแรน (tetrahydrofuran)[1] ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อนำตัวทำละลายมาผสมกัน เช่น เมธานอลผสมกับน้ำ หรือเอธานอลผสมกับน้ำ จะมีความปลอดภัยสูงกว่าการใช้เมธานอลหรือเอธานอลที่ไม่ผสมน้ำ และโพรพานอล (propanol) ผสมกับน้ำ การสกัดสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชสมุนไพรมักนิยมสกัดด้วยเทคนิค PLE โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ตัวอย่าง เช่น การสกัดสารในกลุ่ม capsaicinoids จากพริก (peppers) ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเมธานอลกับน้ำ การสกัดสารในกลุ่ม tocopherols และ tocotrienols จากซีเรียล (cereals) ด้วยเมธานอล การสกัดสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) จากพาร์สเลย์ (parsley) ด้วยตัวทำลายผสมระหว่างอะซีโตน (acetone) กับน้ำ และการสกัดสารในกลุ่ม isoflavones จากถั่วเหลือง (soybean) ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างไดเมธิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulphoxide) เอธานอล และน้ำ เป็นต้น[1]

PHWE คือ เทคนิค PLE ที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย หากใช้น้ำ 100 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลายจะเรียกว่าเทคนิค subcritical water extraction (SWE) หรือ superheated water extraction[6] การเพิ่มอุณหภูมิให้กับน้ำในระหว่างการสกัดจะส่งผลให้ dielectric constant ของน้ำมีค่าลดลง และทำให้ความเป็นขั้ว (polarity) ของน้ำลดลงด้วย จึงส่งผลให้สามารถใช้น้ำร้อนสกัดสารที่มีขั้วค่อนข้างต่ำได้ นอกจากนี้อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะลดความหนืด (viscosity) และแรงตึงผิว (surface tension) ของน้ำ ส่งผลให้การแพร่ของน้ำเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ดังนั้นจึงสามารถใช้

น้ำร้อนในการสกัดสารที่มีขั้วค่อนข้างต่ำได้[1] PHWE เป็นเทคนิคการสกัดด้วยน้ำร้อนโดยใช้ความดันสูงและอุณหภูมิในการสกัดมีค่าระหว่าง 100 ถึง 374 องศาเซลเซียส ในช่วงอุณหภูมินี้น้ำมีจะประสิทธิภาพในการสกัดสารได้ดีและไม่ทำให้สารสลายตัวเนื่องจากความร้อนของน้ำ อย่างไรก็ตามสารประกอบที่ไม่ทนต่อความร้อนโดยเฉพาะสารต้านออกซิเดชัน (antioxidants) มักสลายตัวได้ง่ายเมื่อสกัดด้วยเทคนิค PHWE เช่น การสกัดแอนโธไซยานินส์ (anthocyanins) จากหอมแดง (red onion) และการสกัดสารต้านออกซิเดชันจากเปลือกไม้เบิร์ช (birch bark) เป็นต้น การใช้ตัวทำละลายผสมจะช่วยเพิ่มปริมาณของสารสกัดโดยมีผลเพิ่มการละลายและการทำปฏิกิริยาระหว่างสารที่ต้องการสกัดกับตัวทำละลาย ตัวอย่างเช่น การสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด (dual mixture) โดยที่ตัวทำละลายชนิดหนึ่งสามารถเพิ่มการละลายของสารที่ต้องการสกัดและตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่งสามารถเพิ่มการปลดปล่อยสารที่ต้องการสกัด[1] ในกรณีของเทคนิค PHWE น้ำจะทำให้เมตริกซ์แตกออกจากกัน และเกิดพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) ระหว่างสารที่ต้องการสกัดกับน้ำ การใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์กับน้ำสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (% recovery) ของสารในกลุ่มคาเทชิน (catechins) ที่สกัดจากใบชาและเมล็ดองุ่นได้ รวมทั้งเพิ่มเปอร์เซ็นต์การคืนกลับของสารประกอบฟีนอลจากการสกัดองุ่นด้วยเทคนิค PLE นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการสกัดสารที่ไม่ทนต่อความร้อนและสารที่มีขั้วต่ำจากพืชสมุนไพรด้วยเทคนิค PHWE ที่อุณหภูมิต่ำ จะมีประสิทธิภาพในการสกัดดีขึ้นเมื่อเติมสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ในระหว่างกระบวนการสกัด[1,3]

พารามิเตอร์ของการสกัด (Extraction parameters)

1. อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิในระหว่างการสกัดมีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพและความจำเพาะเจาะจง (selectivity) ของการสกัดด้วยเทคนิค PLE อุณหภูมิสูงจะเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดและช่วยขัดขวางการจับกันระหว่างสารที่ต้องการสกัดกับเมตริกซ์ของตัวอย่าง ซึ่งเป็นการจับกันด้วยแรงหรือพันธะอ่อนๆ เช่น แรงแวนเดอร์วาลส์ (van der Waals force) แรงดึงดูดระหว่างขั้ว (dipole–dipole interaction) และพันธะไฮโดรเจน[1] พลังงานความร้อน (thermal energy) จะทำลายการจับกันระหว่างโมเลกุลชนิดเดียวกัน (cohesive interactions) และการจับกันระหว่างโมเลกุลที่ต่างกัน (adhesive interactions) ในกรณีหลังนี้จะหมายถึงการจับกันระหว่างสารที่ต้องการสกัดกับเมตริกซ์ของตัวอย่าง ซึ่งการทำลายการจับกันในลักษณะเช่นนี้เกิดขึ้นจากการลดลงของพลังงานกระตุ้น (activation energy) ซึ่งจำเป็นต่อกระบวนการปลดปล่อย (desorption process) สารออกจากเมตริกซ์ ยิ่งไปกว่านั้นอุณหภูมิที่สูงขึ้นยังช่วยลดแรงตึงผิวของตัวทำละลาย ตัวถูกละลาย (solute) และเมตริกซ์ได้อีกด้วย จึงช่วยเพิ่มการทำให้เปียกด้วยตัวทำละลาย (solvent wetting) ที่มีต่อเมตริกซ์ของตัวอย่าง การลดลงของแรงตึงผิวของตัวทำละลายจะทำให้สารที่ต้องการสกัดละลายได้ง่ายในตัวทำละลาย การเพิ่มอุณหภูมิจะมีผลลดความหนืดของตัวทำละลายที่เป็นของเหลว จึงช่วยเพิ่มการซึมผ่าน (penetration) ของตัวทำละลาย

เข้าสู่อนุภาคของเมตริกซ์ ส่งผลให้การสกัดมีประสิทธิภาพดีขึ้น ข้อดีอีกอย่างหนึ่งของการสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีอุณหภูมิสูง คือ การเพิ่มขึ้นของอัตราการแพร่ (diffusion rate) ซึ่งจะมีผลเพิ่มการถ่ายเทมวลของสารที่ต้องการสกัดไปสู่ตัวทำละลาย ทำให้อัตราเร็วในการสกัดเพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้ามเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นสารอื่นๆ ที่ไม่ต้องการก็จะถูกสกัดออกมาด้วย ส่งผลให้ความจำเพาะเจาะจงในการสกัดลดลง นอกจากนี้อุณหภูมิที่สูงอาจมีผลทำลายสารประกอบที่ไม่ทนความร้อน โดยทำให้สารเกิดการแตกตัวหรือถูกทำลายด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) หลักสำคัญประการหนึ่งของการสกัดด้วยเทคนิค PLE คือการเพิ่มการแพร่ของสารที่ต้องการสกัดในตัวทำละลายที่เป็นของเหลว โดยใช้ตัวทำละลายในปริมาณต่ำ ซึ่งการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจะช่วยเพิ่มอัตราการแพร่ของสารในระหว่างการสกัดได้[1,3]

2. ความดัน (Pressure)

การเพิ่มความดันในกระบวนการสกัดจะส่งผลดีต่อการสกัดเมื่ออุณหภูมิในระหว่างการสกัดมีค่าสูงกว่าจุดเดือดของตัวทำละลาย เพราะความดันจะทำให้ตัวทำละลายยังคงอยู่ในสถานะของเหลว การเพิ่มความดันที่อุณหภูมิสูงและการลดแรงตึงผิวของตัวทำละลายจะช่วยผลักดันให้ตัวทำละลายเข้าสู่รูพรุนของเมตริกซ์ของตัวอย่างได้มากขึ้น จึงทำให้ตัวทำละลายสัมผัสกับสารที่ต้องการสกัดได้ดีขึ้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพของการสกัดดีขึ้น[1,3] การเพิ่มความดันในระหว่างกระบวนการสกัดจะทำให้เมตริกซ์ของตัวอย่างแตกออก ซึ่งจะมีผลเพิ่มการถ่ายเทมวลของสารที่ต้องการสกัดออกจากเมตริกซ์ไปสู่ตัวทำละลาย การควบคุมความดันในระหว่างกระบวนการสกัดมีความสัมพันธ์กับฟองอากาศ (air bubble) ที่อยู่ในเมตริกซ์ของตัวอย่าง ซึ่งฟองอากาศจะมีผลขัดขวางการสัมผัสระหว่างสารที่ต้องการสกัดกับตัวทำละลาย การสัมผัสกันนี้จะช่วยเพิ่มการละลายของสารและเพิ่มอัตราการปลดปล่อยสารออกจากเมตตริกซ์ของตัวอย่าง อย่างไรก็ตามในการสกัดน้ำมันหอมระเหย (essential oil) จากพืชสมุนไพรบางชนิดพบว่าความดันมีผลน้อยมากต่อเปอร์เซ็นต์การคืนกลับของการสกัด[1]

3. สารเพิ่มประสิทธิภาพ (Additives)

การเติมสารเพิ่มประสิทธิภาพลงไปในกระบวนการสกัดด้วยเทคนิค PLE จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดได้[1] ตัวอย่างเช่น การสกัดชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra*) และหมาหวง (*Ephedra sinica*) ด้วยเทคนิค PLE โดยใช้น้ำผสมสารลดแรงตึงผิว sodium dodecyl sulfate และ Triton X-100 มีประสิทธิภาพในการสกัดดีเท่ากับหรือดีกว่าการสกัดด้วยเมธานอลร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง การสกัดที่ทำให้เกิดไมเซลล์โดยใช้น้ำผสมสารลดแรงตึงผิวสามารถลดการสลายตัวของสารสำคัญได้ดีกว่าการสกัดด้วยน้ำเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้การเติมสารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดอื่นๆ เช่น สารต้านออกซิเดชัน โดยเฉพาะกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) หรือบิวทิเลเตดไฮดรอกซีโทลูอีน (butylated hydroxytoluene, BHT) จะช่วยลดการสลายตัวของสารที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ในบางครั้งการสกัดจะเติมแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ลงไปเพื่อทำให้น้ำมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ซึ่งจะเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารบางชนิดได้[1]

เทคนิคคู่ต่อและเทคนิคผสมผสาน (Hyphenated and combined techniques)

เทคนิคคู่ต่อและเทคนิคผสมผสานเป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้นมาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดและสามารถพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีของสารได้ นอกจากนี้ยังช่วยลดขั้นตอนของการสกัดและการวิเคราะห์สารได้ด้วย เครื่องมือที่นำมาต่อคู่กันจะเป็นเครื่องมือทางโครมาโทกราฟฟีสำหรับแยกสารและเครื่องมือทางสเปกโตรสโกปีสำหรับพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกได้ มีรายงานว่าเทคนิคคู่ต่อสามารถใช้แยกสารประกอบฟีนอลิค และสารประกอบไฮโดรคาร์บอน เช่น aliphatic hydrocarbons และ polycyclic aromatic hydrocarbons หรือ polychlorinated biphenyls จากพืชสมุนไพรได้ มีรายงานการใช้เทคนิคผสมผสานในการสกัด *trans*-resveratrol จากผลองุ่น โดยใช้การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งที่ความดันสูง (pressurized solid-phase extraction) ร่วมกับเทคนิค PLE นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการใช้เทคนิคผสมผสานระหว่างเทคนิค PLE กับคลื่นเสียงความถี่สูงสามารถสกัด isoflavone จากถั่วเหลืองได้ และพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การคืนกลับที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงหรือการสกัดแบบซอกห์เลต[1]

การประยุกต์ใช้เทคนิค PLE

โภชนเภสัชภัณฑ์ หมายถึงสารต่างๆ ที่เป็นอาหารหรือส่วนประกอบของอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกาย ใช้ป้องกันหรือรักษาโรคได้ โภชนเภสัชภัณฑ์จัดเป็นเภสัชภัณฑ์ (pharmaceutics) ที่มีผลต่อการทำงานหรือเมตาบอลิซึมของร่างกาย ยิ่งไปกว่านั้นโภชนเภสัชภัณฑ์ยังช่วยเสริมสร้างสุขภาพร่างกายอีกด้วย โภชนเภสัชภัณฑ์อาจหมายรวมถึงใยอาหาร (dietary fibers) สารประกอบฟีนอลิค (phenolic compounds) สารต้านออกซิเดชัน (antioxidants) กรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (polyunsaturated fatty acids) กรดอะมิโน (amino acids) โปรตีน (proteins) และแร่ธาตุ (minerals) ในปัจจุบันนิยมใช้เทคนิค PLE ในการสกัดสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิดเพื่อเตรียมเป็นโภชนเภสัชภัณฑ์ เนื่องจากเทคนิค PLE ทำได้ง่าย ใช้เวลาน้อย ใช้ตัวทำละลายในปริมาณต่ำ สามารถปรับสภาวะของการสกัดให้เหมาะสมกับสารที่ไวต่อการถูกทำลายด้วยออกซิเจนและแสง นอกจากนี้ยังเตรียมเมตริกซ์ของตัวอย่างก่อนทำการสกัดได้ง่ายโดยเฉพาะตัวอย่างที่ไม่มีไขมัน ซึ่งการเตรียมตัวอย่างทำได้โดยการลดขนาดตัวอย่างหรือทำให้ตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกันด้วยกระบวนการโฮโมจีไนเซชัน (homogenization) หรือร่วมกับการทำแห้ง (drying)[1] ในปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้เทคนิค PLE ในการเตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพร ซึ่งในที่นี้จะกล่าวถึงการประยุกต์ใช้เทคนิค PLE ในการเตรียมสารสกัดต่างๆ จากพืชสมุนไพร

1. สารประกอบฟีนอลิค (Phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิคจัดเป็นเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่พบได้ในผัก ผลไม้ ธัญพืช ถั่วเมล็ดแห้ง และถั่วเปลือกแข็งต่างๆ อาหารที่อุดมด้วยสารประกอบฟีนอลิค

จะช่วยเสริมสร้างสุขภาพร่างกาย ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary heart disease) มะเร็ง (cancer) ความดันเลือดสูง (hypertension) เบาหวาน (diabetes) และกระบวนการอักเสบ (inflammatory processes) เป็นต้น[1] การสกัดสารประกอบฟีนอลิคด้วยเทคนิค PLE ให้ปริมาณสารสกัดมากกว่าการสกัดด้วยเทคนิคดั้งเดิม นอกจากนี้ยังประหยัดทั้งเวลาและตัวทำละลายอีกด้วย ตัวอย่างการสกัดสารประกอบฟีนอล เช่น การสกัดคาเทชินและอิพิคาเทชิน (epicatechin) ด้วยเทคนิค PLE โดยใช้น้ำ เมทานอล และเอธิลอะซีเตด (ethyl acetate) เป็นตัวทำละลาย สกัดที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน 10 นาที ให้เปอร์เซ็นต์การคืนกลับสูงกว่าการสกัดด้วยการคน (magnetic stirring) และการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง นอกจากนี้ยังใช้ระยะเวลาในการสกัดสั้นกว่าอีกด้วย การสกัดที่อุณหภูมิสูงสามารถลดแรงยึดเหนี่ยวระหว่างสารสำคัญกับเมตริกซ์ได้ ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการสกัดดีขึ้น อย่างไรก็ตามอุณหภูมิที่สูงมากอาจทำให้สารสำคัญสลายตัว[7] การสกัดสารประกอบฟีนอลจากผลแอปเปิ้ล โดยใช้เทคนิค PLE ร่วมกับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์สามารถเพิ่มการละลายของสารประกอบฟีนอลได้ การใช้เทคนิค PLE ร่วมกับการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ (enzymatic hydrolysis) เช่น cellulase, hemicellulase, pectinase และ protease เหมาะสำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอลจากหนามของต้นสน *Pinus taiwanensis* และ *Pinus morrisonicola* ทั้งนี้พบว่าการสกัดด้วย dynamic mode มีประสิทธิภาพในการสกัดดีกว่า static mode มีรายงานว่าสารในกลุ่ม isoflavones ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบได้ในถั่วเหลืองมักอยู่ในรูปของ free aglycones หรือการจับคู่ (conjugate) อยู่กับน้ำตาลและ/หรือกรด จะถูกสกัดออกมาได้ดีด้วยเทคนิค PLE โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างไดเมธิลซัลฟอกไซด์:เอธานอล:น้ำ (5:70:25 โดยปริมาตร) และมีเปอร์เซ็นต์การคืนกลับของไอโซเฟลโวน (isoflavones) สูงกว่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับของไอโซเฟลโวนที่ได้จากการสกัดด้วยเทคนิคอื่นๆ เช่น การเขย่า (shaking) เครื่องกวนสารแบบวอร์เทกซ์ (vortexing) คลื่นเสียงความถี่สูง การกวนสารละลาย และการสกัดแบบซอกห์เลต[1]

การสกัดสารในกลุ่ม gingerol-related compounds ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากขิง (*Zingiber officinale*) ด้วยเทคนิค PLE โดยใช้ไบโอเอธานอล (bioethanol) เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำเป็นตัวทำละลาย ความดัน 1500 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส สกัดเป็นระยะเวลานาน 20 นาที พบว่าให้ปริมาณสารสกัดและองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใกล้เคียงกับการสกัดแบบซอกห์เลต ที่ต้องใช้ระยะเวลาในการสกัดนานถึง 8 ชั่วโมง และใช้เอทานอลที่ปราศจากน้ำ (absolute ethanol) เป็นตัวทำละลาย ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเทคนิค PLE ช่วยประหยัดทั้งเวลา ค่าใช้จ่าย และลดการทำลายสิ่งแวดล้อม จึงนับว่าเป็นการสกัดสีเขียว (green extraction)[8] หยิมเยียงขักหรืออิมเอี่ยขัก (Herba Epimedii) เป็นยาสมุนไพรจีนที่ประกอบด้วยส่วนเหนือดินของพืชสมุนไพร 5 ชนิด คือ *Epimedium brevicornu*, *Epimedium sagittatum*, *Epimedium pubescens*, *Epimedium wushanense* หรือ *Epimedium koreanum* ยาสมุนไพรจีนที่ประกอบด้วยพืชสมุนไพรเหล่านี้มีสารสำคัญเป็นฟลาโวนอยด์ เช่น

hexandraside E, kaempferol-3-*O*-rhamnoside, hexandraside F, epimedin A, epimedin B, epimedin C, icariin, epimedoside C, baohuoside II, caohuoside C, baohuoside VII, sagittatoside A, sagittatoside B, 2"-*O*-rhamnosyl icariside II และ baohuoside I สามารถใช้เทคนิค PLE ในการสกัดฟลาโวนอยด์ออกจากพืชสมุนไพรเหล่านี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยใช้เอธานอลเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย ผงสมุนไพรขนาดผ่านแร่งเบอร์ 60-80 สกัดที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน 10 นาที ความดัน 1500 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว[9]

ลิกแนนจัดเป็นสารประกอบฟีนอลิคชนิดหนึ่งที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย จึงมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นโภชนเภสัชภัณฑ์ พืชที่เป็นแหล่งสำคัญของลิกแนน ได้แก่ เมล็ดลินิน (flax seed) เมล็ดงา (sesame seed) ข้าวไรย์ (rye) ข้าวสาลี (wheat) และข้าวบาร์เลย์ (barley) เป็นต้น เทคนิคที่ใช้ในการแยกลิกแนน ได้แก่ โครมาโทกราฟฟี (chromatography) อิเล็กโตรไมเกรชัน (electromigration) และวิธีการคู่ต่อ (hyphenated method) เป็นต้น มีรายงานว่าการสกัดลิกแนนและสารประกอบฟีนอลจากเมล็ดลินินด้วยเทคนิค PLE โดยใช้น้ำร้อน และปรับสภาวะของการสกัดให้มีพีเอชเป็นด่างจะได้สารสกัดในปริมาณสูง[1] ผลชิซานดร้าจากพืช *Schisandra chinensis* เป็นสมุนไพรจีนสำหรับบำรุงร่างกายและแก้ไอ มีสารสำคัญในกลุ่มลิกแนน เช่น schisandrol A, gomisin J, schisandrol B, tigloylgomisin H, angeloylgomisin H, schisandrin A, γ-schisandrin, gomisin N และ schisandrin C สามารถสกัดลิกแนนเหล่านี้ได้ด้วยเทคนิค PLE โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย สกัดที่อุณหภูมิ 125 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัดนาน 5 นาที ซึ่งเทคนิค PLE ดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการสกัดดีกว่าการสกัดแบบไหลย้อนกลับและการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง[1] ที่ต้องใช้ระยะเวลาในการสกัดนานถึง 3 ชั่วโมง อีกทั้งเทคนิค PLE ยังช่วยลดปริมาณการใช้ตัวทำละลาย ประหยัดเวลา และทำได้ง่าย การเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจะช่วยเร่งกลไกการสกัด (extraction kinetics) และลดความหนืดของตัวทำละลาย จึงส่งผลให้ตัวทำละลายสามารถซึมผ่าน (penetration) เมตริกซ์ของพืชได้ดี และทำให้แรงยึดเหนี่ยวระหว่างตัวทำละลายกับเมตริกซ์ลดลงอีกด้วย การเพิ่มความดันจะทำให้ตัวทำละลายอยู่ในสถานะของเหลวและสามารถแทรกเข้าสู่รูพรุนของเมตริกซ์ได้ดี ส่งผลให้การสกัดมีประสิทธิภาพดีขึ้น[10]

2. แคโรทีนอยด์ (Carotenoids)

แคโรทีนอยด์เป็นสารสีที่ละลายในไขมัน (fat-soluble pigment) พบได้ตามธรรมชาติโดยเฉพาะในผักและผลไม้ สามารถแบ่งแคโรทีนอยด์ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ xanthophylls และ carotenes การรับประทานอาหารที่อุดมด้วยแคโรทีนอยด์สามารถลดความเสี่ยงในการเกิดโรคเบาหวาน มะเร็ง โรคกระดูกพรุน โรคหัวใจและหลอดเลือด การสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยวิธีดั้งเดิมมักใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น อะซีโตน ปิโตรเลียม อีเธอร์ (petroleum ether) ไดเอธิลอีเธอร์ เททระไฮโดรฟูแรน เมทานอล เฮกเซน (hexane) ไดคลอโรมีเธน และตัวทำละลายผสมเมธานอลกับคลอโรฟอร์ม เป็นต้น การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ดังกล่าวในปริมาณสูงจะทำให้เกิด

มลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นจึงได้มีการนำเทคนิค PLE มาใช้ในการสกัดแคโรทีนอยด์จากชา สมุนไพร และการสกัด capsaicinoids จากพริก ซึ่งจะใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณน้อยและประหยัดเวลาในการสกัด[1]

3. น้ำมันและไขมัน (Oils and lipids)

ได้มีการใช้เทคนิค PLE ในการสกัดไขมันที่มีขั้ว (polar lipids) และไขมันที่ไม่มีขั้ว (nonpolar lipids) จากข้าวโพดและข้าวโอ๊ต ในการสกัดข้าวโพดด้วยเอทานอลที่ร้อน และไดคลอโรมีเธนที่ร้อน พบว่าปริมาณ phytosterols ทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 0.6 และ 2.1 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ซึ่งการเพิ่มความร้อนจะสามารถเพิ่มการละลายของสารได้ ในขณะที่การสกัดข้าวโอ๊ตด้วยเฮกเซนที่เย็น และเอธานอลที่ร้อน พบว่าปริมาณของ digalactosyldiacylglycerol ในสารสกัดซึ่งเป็นไขมันที่มีขั้วมีค่าเท่ากับ 1.6 และ 4.3 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ตามลำดับ นอกจากนี้ยังสามารถใช้เทคนิค PLE ในการสกัดไขมันที่มีขั้วจากใบของพืช *Lochroma gesnerioides* และสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่นที่อุดมด้วยวิตามินอี โดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย โดยมีประสิทธิภาพในการสกัดดีกว่าการสกัดแบบซอกห์เลต ซึ่งเมื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณของสารสำคัญในสารสกัดที่ได้จากเมล็ดองุ่น พบว่าสารสกัดด้วยเทคนิค PLE มีปริมาณวิตามินอีสูงกว่าสารสกัดแบบซอกห์เลต[1] จากที่กล่าวมาสรุปได้ว่าการสกัดด้วยเทคนิค PLE ที่มีการปรับสภาวะของการสกัดโดยการเลือกใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม การควบคุมอุณหภูมิและความดันให้เหมาะสม จะช่วยให้ประสิทธิภาพในการสกัดดีขึ้น

4. น้ำมันหอมระเหย (Essential oils)

น้ำมันหอมระเหยเป็นสารประกอบที่มีกลิ่นหอมและระเหยได้ มักพบในพืชสมุนไพร นิยมนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร ยา และเครื่องสำอาง นอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยบางชนิดยังมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ (antimicrobial activity) ฤทธิ์ต้านเชื้อรา (antifungal activity) และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant activity)[1] ในการสกัดน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากแห้วหมู *Cyperus rotundus* พบว่าการสกัดด้วยเทคนิค PLE มีประสิทธิภาพในการสกัด α-copaene, cyperene, β-selinene, β-cyperone และ α-cyperone ได้ดี[1]

5. อัลคาลอยด์ (Alkaloids)

การสกัดคาเฟอีน (caffeine) ซึ่งเป็นสารในกลุ่มอัลคาลอยด์จากใบชาเขียวหรือเมล็ดกาแฟทำได้หลายวิธี ได้แก่ การสกัดด้วยเทคนิค PLE วิธีชง (infusion) วิธีชงร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasonic assisted infusion) การสกัดด้วยตัวทำละลายร่วมกับคลื่นไมโครเวฟ (microwave assisted solvent extraction, MASE) และการกระจายวัฏภาคของแข็งในเมตริกซ์ (matrix solid-phase dispersion, MSPD) ทั้งนี้การสกัดคาเฟอีนด้วยเทคนิค PLE โดยใช้เครื่องมือ Dionex ASE200 และเติมแก้วที่มีความเป็นกลาง (neutral glass) ผสมลงไปกับตัวอย่างที่ต้องการสกัด เพื่อให้แก้วที่เป็นสารเฉื่อยช่วยลดปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ความดัน 60 บาร์ ใช้เวลาสกัดนาน 10 นาที พบว่ามีประสิทธิภาพในการสกัดดีกว่าการสกัดด้วยวิธีแช่ร่วมกับคลื่น

เสียงความถี่สูง นอกจากนี้ยังพบว่าการสกัดด้วยเทคนิค PLE โดยการเพิ่มความดันจะสามารถเพิ่มการแพร่ของคาเฟอีนออกจากกาแฟ แต่ในทางตรงกันข้ามกลับมีผลขัดขวางการสกัดคาเฟอีนออกจากใบชาเขียว[11] สามารถสกัดอัลคาลอยด์ berberine และกรด aristolochic acids I และ II จาก Coptidis rhizome และ Radix Aristolochiae ตามลำดับ ได้ด้วยเทคนิค PLE โดยใช้ dynamic mode ซึ่งการสกัดด้วยเทคนิค PLE มีข้อดีเหนือกว่าการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงและการสกัดแบบซอกห์เลต เนื่องจากเทคนิค PLE เป็นการสกัดด้วยความดันและอุณหภูมิที่สูงกว่าจุดเดือดของตัวทำละลาย จึงส่งผลให้สารสำคัญสามารถละลายหรือถูกสกัดออกมาได้ดี เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นสารสำคัญจะมีอัตราการแพร่สูงขึ้น และเกิดการทำลายอันตรกิริยาระหว่างสารสำคัญกับเมตริกซ์ได้ง่าย โดยมีการทำลายพันธะไฮโดรเจน แรงดึงดูดระหว่างขั้ว และแรงแวนเดอร์วาลส์ นอกจากนี้เทคนิค PLE ยังทำได้ง่าย รวดเร็ว และใช้ตัวทำละลายในปริมาณต่ำ[12] รากของต้นแปะเซียงพ้วย (*Dictamnus dasycarpus*) ใช้รักษาโรคและอาการต่างๆ ได้แก่ ผิวหนังอักเสบ ผื่นคัน ข้ออักเสบรูมาตอยด์ โรคหิด และดีซ่าน เป็นต้น พืชชนิดนี้มี dictamnine เป็นอัลคาลอยด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ตัวทำละลายที่เหมาะสำหรับการสกัดอัลคาลอยด์ ได้แก่ เมทานอล เอทานอล และอะซีโตไนไตรล์ ทั้งนี้ตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอลกับน้ำมีประสิทธิภาพในการสกัดสูงที่สุด การสกัดอัลคาลอยด์ด้วยเทคนิค PLE ที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ความดัน 1,500 ปอนด์/ตารางนิ้ว ให้เปอร์เซ็นต์การคืนกลับสูงเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดระหว่างเทคนิค PLE กับเทคนิคอื่นๆ พบว่าการสกัดด้วยเทคนิค PLE มีประสิทธิภาพในการสกัดใกล้เคียงกับการสกัดแบบซอกห์เลต แต่มีประสิทธิภาพดีกว่าการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง นอกจากนี้เทคนิค PLE ยังช่วยประหยัดเวลาและลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายอีกด้วย ในขณะที่การสกัดแบบซอกห์เลตจะต้องใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน และสิ้นเปลืองตัวทำละลาย จึงค่อนข้างยุ่งยาก[13]

6. เทอร์ปีน (Terpenes)

ในการสกัดสารกลุ่มเทอร์ปีน เช่น terpenic alcohols และ phytosterols จากใบของพืช *Piper gaudichaudianum* Kunth ที่ใช้บรรเทาอาการปวดฟันและต้านอักเสบ พบว่าเทคนิค PLE มีประสิทธิภาพในการสกัดดีกว่า ใช้ระยะเวลาในการสกัดสั้นกว่า และใช้ปริมาณตัวทำละลายต่ำกว่า การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงและการสกัดแบบซอกห์เลต ทั้งนี้การสกัดด้วยเทคนิค PLE จะใช้ความดันและอุณหภูมิสูง แต่ใช้ระยะเวลาสั้น จึงช่วยลดการสลายตัวของสำคัญในระหว่างกระบวนการสกัด นอกจากนี้ยังช่วยละลายสารสำคัญออกมาได้ดี เนื่องจากที่อุณหภูมิและความดันสูง ตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าสู่เมตริกซ์ได้ดี[14] สารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายและมีสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (aqueous non-ionic surfactant solution) เป็นตัวทำละลายอีกประเภทหนึ่งที่นำมาใช้กับการสกัดพืชสมุนไพรด้วยเทคนิค PLE ได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีรายงานว่าสามารถใช้เทคนิค PLE ร่วมกับตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบและมี Triton X-100 เป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ ในการสกัด ginsenosides ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม triterpene saponins ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ จากรากโสมอเมริกัน (American ginseng)

ซึ่งการสกัดดังกล่าวมีประสิทธิภาพดีกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ประกอบด้วยน้ำหรือเมทานอลเพียงอย่างเดียว[15]

7. สารประกอบอื่น ๆ ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (Other bioactive compounds)

มะระขี้นก (bitter melon) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Momordica charantia* เป็นพืชพื้นเมืองในแถบเอเชีย ประกอบด้วยสารสำคัญหลายกลุ่ม ได้แก่ ไทรเทอร์ปีน (triterpenes) โปรตีน (proteins) และสเตียรอยด์ (steroids) ผลและเมล็ดของมะระขี้นกมีฤทธิ์ต้านไวรัสเอดส์ ต้านจุลชีพ ต้านอักเสบ และต้านเนื้องอก เป็นต้น[16] นอกจากนี้ยังพบว่าผลดิบของมะระขี้นกมีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดคล้ายกับอินซูลิน สารสำคัญที่มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด คือ charantin ซึ่งประกอบด้วย steroidal glycosides 2 ชนิด คือ sitosteryl glucoside และ stigmasteryl glucoside โครงสร้างทางเคมีของ charantin ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน คือ aglycone หรือเรียกว่า steroidal portion ส่วนนี้สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายไม่มีขั้วหรือมีขั้วต่ำ เช่น คลอโรฟอร์ม (chloroform) และไดคลอโรมีเธน (dichloromethane) เป็นต้น และส่วนที่เรียกว่า glucosides ที่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น เอทานอล และเมทานอล เป็นต้น ซึ่ง charantin จะละลายได้ไม่ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำมาก เช่น เฮกเซน (hexane) การสกัด charantin ด้วยการสกัดแบบซอกห์เลต ซึ่งเป็นเทคนิคดั้งเดิมพบว่ามีข้อเสีย คือ คลอโรฟอร์มที่ใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดมีความเป็นพิษสูงและเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogenic agents) ทั้งนี้ต่อมาได้มีการนำไดคลอโรมีเธนมาใช้แทนคลอโรฟอร์มเพื่อลดความเป็นพิษดังกล่าว อย่างไรก็ตามไดคลอโรมีเธนก็ยังคงเป็นอันตรายต่อสุขภาพร่างกายอยู่บ้าง และมีรายงานว่าการสัมผัสกับไดคลอโรมีเธนเป็นระยะเวลานานจะก่อให้เกิดมะเร็งที่ปอด ตับ และตับอ่อน ในสัตว์ทดลอง นอกจากนี้ไดคลอโรมีเธนยังทำให้สตรีมีครรภ์ให้กำเนิดทารกพิการได้อีกด้วย ถึงแม้ว่า charantin จะละลายได้น้อยในเอทานอลก็ตาม แต่เอทานอลก็มีความปลอดภัยสูงกว่าตัวทำละลายขั้วต่ำดังกล่าว เนื่องจาก charantin ละลายได้น้อยในเอธานอล ดังนั้นการสกัด charantin ด้วยเอทานอลจึงต้องใช้ระยะเวลานานขึ้น เมื่อศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการสกัดด้วยเทคนิค PLE โดยใช้เอธานอล ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อัตราเร็วในการไหล 2 มิลลิลิตร/นาที ใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน 60 นาที กับการสกัดแบบซอกห์เลต ที่ใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน 150 นาที พบว่าทั้งสองเทคนิคนี้มีเปอร์เซ็นต์การคืนกลับของ charantin เท่ากัน แต่เทคนิค PLE ใช้ตัวทำละลายในปริมาณที่ต่ำกว่าและระยะเวลาที่สั้นกว่าการสกัดแบบซอกห์เลต นอกจากนี้การสกัด charantin ด้วยเทคนิค PLE ยังสามารถเลือกใช้เอธานอลเป็นตัวทำละลายแทนการใช้คลอโรฟอร์มหรือไดคลอโรมีเธนซึ่งเป็นพิษได้อีกด้วย[16]

จากการสกัด ephedrine จากพืช *Ephedra sinica* ด้วยเทคนิค PLE กับการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง โดยใช้สารลดแรงตึงผิว (surfactant) ผสมในตัวทำละลายที่ใช้สกัด พบว่าการสกัดด้วยเทคนิค PLE มีประสิทธิภาพดีกว่าการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง นอกจากนี้ยังพบว่าสารลดแรงตึงผิว sodium dodecyl sulfate (SDS) มีประสิทธิภาพในการสกัดดีกว่าสารลด

แรงตึงผิว Triton X-100 ทั้งนี้ยังพบว่าเทคนิค PLE สามารถสกัด ephedrine จากสมุนไพรดังกล่าวได้ โดยทำการสกัดที่อุณหภูมิห้องเท่านั้น[17]

สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติมักเป็นสารประกอบฟีนอลในกลุ่ม flavonoids, tocopherols และ phenolic acids เป็นต้น สามารถสกัดสารต้านออกซิเดชันจากพืชในแฟมิลี Lamiaceae เช่น โรสแมรี (rosemary) ออริกาโน (oregano) และมาจอแรม (marjoram) ด้วยเทคนิค PLE สกัดที่อุณหภูมิ 129 องศาเซลเซียส โดยใช้เมธานอลเข้มข้น 56 และ 57 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการสกัดสารต้านออกซิเดชันจากโรสแมรี และมาจอแรม ตามลำดับ ในขณะที่ความเข้มข้นของเมธานอลในระดับต่ำๆ สามารถสกัดสารต้านออกซิเดชันจากออริกาโนได้ดี นอกจากนี้ยังพบว่าการสกัดสารต้านออกซิเดชันจากโรสแมรีด้วยเทคนิค PLE โดยใช้น้ำผสมกับเอธานอลเป็นตัวทำละลายมีประสิทธิภาพดีกว่าการสกัดด้วยของเหลวยิ่งยวด (supercritical fluid extraction, SFE) ในกรณีการสกัดสารต้านออกซิเดชันจากเปลือกองุ่น โดยการสกัดด้วยเทคนิค PLE ร่วมกับการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารที่สกัดได้ด้วยเทคนิค electron paramagnetic resonance spectroscopy พบว่ามีประสิทธิภาพสูงในการสกัดสารในกลุ่มแอนโธไซยานินส์จากเปลือกผลองุ่น[1] ทั้งนี้มีรายงานว่าการใช้ sulphured water ซึ่งเป็นสารละลายของ sodium thiosulfate ในน้ำ เป็นตัวทำละลายในการสกัดเปลือกองุ่น จะเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารในกลุ่มแอนโธไซยานินส์ คาดว่าตัวทำละลายดังกล่าวสามารถเพิ่มการละลายและการซึมผ่านผนังเซลล์ของพืช ปฏิกิริยาระหว่างสารในกลุ่มแอนโธไซยานินส์กับ sodium thiosulfate จะได้สารประกอบที่ละลายน้ำได้ดี จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพในการสกัดดีขึ้น[6]

การใช้เทคนิค PLE เตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพรสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญตามที่ระบุในเภสัชตำรับ (Pharmacopoeia)

ก่อนการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในพืชสมุนไพรตามที่ระบุในเภสัชตำรับจะต้องทำการสกัดพืชสมุนไพรนั้นๆ ก่อน เทคนิคที่เหมาะสมกับการสกัดพืชสมุนไพรควรเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสูง ทำได้ง่าย ราคาถูก และไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม เทคนิคการสกัดที่ระบุไว้ในเภสัชตำรับ ได้แก่ การสกัดแบบซอกห์เลต การหมัก (maceration) การย่อยหรือการตุ๋น (digestion) การกลั่นด้วยไอน้ำ การสกัดแบบการกลั่นไหลกลับ (reflux) และการแช่สกัดต่อเนื่อง (percolation) ซึ่งเป็นการสกัดด้วยการให้ตัวทำละลายไหลผ่านคอลัมน์ที่บรรจุสมุนไพรอย่างช้าๆ ทั้งนี้เภสัชตำรับไม่ได้ระบุถึงการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง และ turboextraction ซึ่งเป็นการสกัดด้วยเครื่องมือที่สามารถบดพืชสมุนไพรให้เป็นผงขนาดเล็กอย่างสม่ำเสมอ มีอัตราเร็วในการสกัดสูง โดยใช้ตัวทำละลายในปริมาณน้อย อย่างไรก็ตามเทคนิคการสกัดต่างๆ ดังกล่าวจะค่อนข้างยุ่งยาก เสียเวลา และหลายๆ เทคนิคใช้ตัวทำละลายในปริมาณสูง จึงก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม[18]

มีรายงานว่าการสกัด curcuminoids จากขมิ้นด้วยเทคนิค PLE มีประสิทธิภาพสูงกว่าการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมที่ระบุในเภสัชตำรับ dianthrons ซึ่งเป็นสารสีแดงที่พบใน St. John's

Wort จะละลายได้ยากในตัวทำละลายอินทรีย์ทั่วไป แต่สามารถสกัดได้ด้วยเทคนิค PLE โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 50-100 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ก่อนการสกัดจะต้องกำจัดไขมันออกไปก่อนโดยใช้ไดคลอโรมีเธนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส[4,18] มีรายงานว่าเทคนิค PLE สามารถสกัดสารในกลุ่มซาโปนินส์ (saponins) โดยเฉพาะ escin ที่มีฤทธิ์ต้านอักเสบ จากเมล็ด horse chestnut ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อใช้เมธานอล เข้มข้น 65 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ก่อนการสกัดซาโปนินส์จะต้องกำจัดไขมันออกไปก่อนโดยใช้ไดคลอโรมีเธนเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส มีรายงานว่าผลของต้นมิลค์ทิสเทิล (Milk Thistle) เป็นแหล่งของ flavonolignan โดยเฉพาะ silybin ที่มีฤทธิ์ปกป้องเซลล์ตับ สามารถใช้เทคนิค PLE สกัดสารสำคัญดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ทั้งนี้ก่อนการสกัดสารสำคัญจะต้องสกัดไขมันออกไปก่อนด้วยเฮกเซน มีรายงานว่าการสกัดน้ำมันหอมระเหย thyme oil จาก Herba Thymi ด้วยเทคนิค PLE โดยใช้ไดคลอโรมีเธนเป็นตัวทำละลาย มีประสิทธิภาพในการสกัดดีกว่าการกลั่นด้วยไอน้ำ ซึ่งเป็นเทคนิคการสกัดแบบดั้งเดิมที่ระบุไว้ในเภสัชตำรับของยุโรป (European Pharmacopoeia 1997) นอกจากนี้เทคนิค PLE ยังใช้ระยะเวลาในการสกัดเพียง 5 นาที/รอบ ในขณะที่การสกัดด้วยไอน้ำจะต้องใช้ระยะเวลานานกว่า 2 ชั่วโมง[18] จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่าสามารถประยุกต์ใช้เทคนิค PLE ในการเตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพรสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญตามที่ระบุในเภสัชตำรับได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้ต้องมีการ validation วิธีในการสกัดด้วย ซึ่งยังคงต้องมีการศึกษาและพัฒนาต่อไป

สรุป

PLE เป็นเทคนิคสีเขียวที่ช่วยลดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมและประหยัดค่าใช้จ่ายในแง่ของการใช้ตัวทำละลายในปริมาณน้อย PLE เป็นการสกัดที่ใช้อุณหภูมิและความดันสูงซึ่งทำได้ง่าย รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพสูงในการสกัดสารจากพืชสมุนไพร อย่างไรก็ตามเครื่องมือยังคงมีราคาค่อนข้างสูง เพราะอุปกรณ์ควบคุมความดันที่ใช้ในเทคนิคนี้มีราคาแพง ในปัจจุบันสามารถใช้เทคนิค PLE สกัดสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชสมุนไพรหลายชนิดเพื่อเตรียมเป็นโภชนเภสัชภัณฑ์ หรือใช้ในการเตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพรสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญตามที่ระบุในเภสัชตำรับได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีปัจจัยหลายอย่างที่ควรคำนึงถึงในการสกัดด้วยเทคนิค PLE ได้แก่ สารที่ไวต่อออกซิเจนและแสง สารไม่ทนความร้อน ซึ่งสารเหล่านี้อาจสลายตัวได้ง่ายหากไม่ควบคุมสภาวะในการสกัดให้เหมาะสม กลุ่มสารที่นิยมแยกด้วยเทคนิค PLE มักเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพและมีราคาสูงในท้องตลาด จึงนับว่าคุ้มค่ากับราคาเครื่องมือที่ค่อนข้างสูง อย่างไรก็ตามการพิจารณาเลือกใช้เทคนิค PLE จะต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายอย่างโดยเฉพาะคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของสารสำคัญที่ต้องการสกัด เครื่องมือ งบประมาณ และสิ่งแวดล้อม เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

1. Mustafa A, Turner C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. Analytica Chimica Acta 2011; 703(1): 8-18.
2. Castro MDL, Priego-Capote F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. Journal of Chromatography A 2010; 1217(16): 2383-9.
3. Zaibunnisa AH, Norashikin S, Mamot S, et al. An experimental design approach for the extraction of volatile compounds from turmeric leaves (*Curcuma domestica*) using pressurised liquid extraction (PLE). LWT-Food Science and Technology 2009; 42(1): 233-8.
4. Ramos L. Critical overview of selected contemporary sample preparation techniques. Journal of Chromatography A 2012; 1221: 84-98.
5. Bicking MKL. EXTRACTION | Analytical Extractions. Encyclopedia of Separation Science 2000: 1371-82.
6. Wijngaard H, Hossain MB, Rai DK, et al. Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant. Food Research International 2012; 46(2): 505-13.
7. Piñeiro Z, Palma M, Barroso CG. Determination of catechins by means of extraction with pressurized liquids. Journal of Chromatography A 2004; 1026(1-2):19-23.
8. Hu J, Guo Z, Glasius M, et al. Pressurized liquid extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) with bioethanol: An efficient and sustainable approach. Journal of Chromatography A 2011; 1218(34): 5765-73.
9. Chen XJ, Guo BL, Li SP, et al. Simultaneous determination of 15 flavonoids in Epimedium using pressurized liquid extraction and high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography A 2007; 1163(1-2): 96-104.
10. Lee HJ, Kim CY. Simultaneous determination of nine lignans using pressurized liquid extraction and HPLC-DAD in the fruits of *Schisandra chinensis*. Food Chemistry 2010; 120(4): 1224-8.
11. Dawidowicz AL, Wianowska D. PLE in the analysis of plant compounds: Part I. The application of PLE for HPLC analysis of caffeine in green tea leaves. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2005; 37(5): 1155-9.
12. Ong E, Woo S, Yong Y. Pressurized liquid extraction of berberine and aristolochic acids in medicinal plants. Journal of Chromatography A 2000; 904(1): 57-64.

13. Jiang Y, Li SP, Chang HT, et al. Pressurized liquid extraction followed by high-performance liquid chromatography for determination of seven active compounds in Cortex Dictamni. Journal of Chromatography A 2006; 1108(2): 268-72.
14. Péres VF, Saffi J, Melecchi MI, et al. Comparison of soxhlet, ultrasound-assisted and pressurized liquid extraction of terpenes, fatty acids and Vitamin E from *Piper gaudichaudianum* Kunth. Journal of Chromatography A 2006; 1105(1-2): 115-8.
15. Choi MP, Chan KK, Leung HW, et al. Pressurized liquid extraction of active ingredients (ginsenosides) from medicinal plants using non-ionic surfactant solutions. Journal of Chromatography A 2003; 983(1-2): 153-62.
16. Pitipanapong J, Chitprasert S, Goto M, et al. New approach for extraction of charantin from *Momordica charantia* with pressurized liquid extraction. Separation and Purification Technology 2007; 52(3): 416-22.
17. Eng AT, Heng MY, Ong ES. Evaluation of surfactant assisted pressurized liquid extraction for the determination of glycyrrhizin and ephedrine in medicinal plants. Analytica Chimica Acta 2007; 583(2): 289-95.
18. Benthin B, Danz H, Hamburger M. Pressurized liquid extraction of medicinal plants. Journal of Chromatography A 1999; 837(1-2): 211-9.

คำถาม

1. ข้อใด**ไม่ใช่**ข้อดีของเทคนิค PLE
    1) ประหยัดเวลา
    2) สะดวก รวดเร็ว
    3) เครื่องมือราคาถูก
    4) ลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นพิษ
    5) มีประสิทธิภาพในการสกัดสูงหากปรับสภาวะการสกัดให้เหมาะสม
2. ข้อใด**ผิด**เกี่ยวกับการสกัดพืชสมุนไพรด้วยเทคนิค PLE
    1) ความดันในการสกัดอยู่ในช่วง 35-200 บาร์
    2) อุณหภูมิในการสกัดสูงได้เพียง 50 องศาเซลเซียส
    3) ประสิทธิภาพของการสกัดขึ้นอยู่กับลักษณะเมตริกซ์ของพืชสมุนไพร
    4) ประสิทธิภาพของการสกัดขึ้นอยู่กับความชื้นในเมตริกซ์ของพืชสมุนไพร
    5) ประสิทธิภาพของการสกัดขึ้นอยู่กับการละลายและการแพร่ของสารในพืชสมุนไพร
3. ข้อใดคือสารดูดความชื้นที่ใช้ในการสกัดด้วยเทคนิค PLE
    1) dionium
    2) glass bead

3) hydromatrix

4) Triton X-100

5) sodium dodecyl sulfate

4. ข้อใดจัดเป็น green solvent

1) ethanol

2) dioxane

3) acetonitrile

4) formaledyde

5) tetrahydrofuran

5. ข้อใด**ผิด**เกี่ยวกับเทคนิค PHWE

1) คือเทคนิค PLE ที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

2) ที่อุณหภูมิสูงสามารถสกัดสารที่ไม่มีขั้วได้

3) เหมาะสำหรับการสกัดสารที่มีขั้วสูงหรือมีขั้วปานกลาง

4) อุณหภูมิในการสกัดอยู่ระหว่าง 100 ถึง 374 องศาเซลเซียส

5) อุณหภูมิในการสกัดที่สูงขึ้นจะส่งผลให้ dielectric constant ของน้ำมีค่าเพิ่มขึ้น

6. ข้อใด**ผิด**เกี่ยวกับเทคนิค PLE เมื่อเพิ่มความดันที่อุณหภูมิสูง

1) มีผลเพิ่มการถ่ายเทมวลของสารที่ต้องการสกัดออกจากเมตริกซ์ไปสู่ตัวทำละลาย

2) ช่วยผลักดันให้ตัวทำละลายเข้าสู่รูพรุนของเมตริกซ์ของพืชสมุนไพรได้ดีขึ้น

3) ช่วยให้ตัวทำละลายสัมผัสกับสารที่ต้องการสกัดได้ดีขึ้น

4) ทำให้ตัวทำละลายยังคงอยู่ในสถานะของเหลว

5) ทำให้เมตริกซ์ของตัวอย่างแตกออก

7. ข้อใด**ไม่สามารถ**เพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดคาเฟอีนจากกาแฟได้

1) การลดขนาดอนุภาคของเมล็ดกาแฟ

2) การปรับอุณหภูมิในการสกัดให้เหมาะสม

3) การปรับความดันในการสกัดให้เหมาะสม

4) การเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม

5) การเติม neutral glass

8. ข้อใด**ผิด**เกี่ยวกับเทคนิคคู่ต่อและเทคนิคผสมผสาน

1) ใช้ในการสกัดแยกสารและศึกษาโครงสร้างทางเคมี

2) เป็นการเชื่อมต่อกันระหว่างเครื่องมือทางโครมาโทกราฟฟีกับ
เครื่องมือทางสเปกโตรสโกปี

3) มีรายงานว่าใช้แยกสารประกอบฟีนอลได้

4) รายงานว่าใช้แยกสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้

5) ไม่สามารถนำเทคนิค PLE มาใช้ร่วมกับเทคนิคคู่ต่อและเทคนิคผสมผสานได้

9. ข้อใด**ผิด**เกี่ยวกับการสกัด charantin จากมะระขี้นก

1) ควรใช้อีเธอร์เป็นตัวทำละลายและสกัดด้วยเทคนิค PHWE
2) ควรใช้เอธานอลเป็นตัวทำละลายและสกัดด้วยเทคนิค PLE
3) ควรใช้ไดคลอโรมีเธนเป็นตัวทำละลายแทนการใช้คลอโรฟอร์ม
4) ส่วนของ aglycone ละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำ เช่น คลอโรฟอร์ม
5) ส่วนของ glucosides ละลายได้ในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น เอธานอล

10. ควรเลือกใช้ตัวทำละลายชนิดใดในการสกัดไขมันที่มีขั้วต่ำออกจากพืชสมุนไพร ก่อนทำการสกัดสารสำคัญที่มีขั้วสูงด้วยเทคนิค PLE

1) เฮกเซน
2) เอทานอล
3) เมธานอล
4) น้ำ
5) น้ำผสมเมทานอล