



สัญญาเลขที่ RDG5850063

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตไขและแยกสารโภชนเภสัชจากกากหม้อกรองโรงงานน้ำตาล
เพื่อการสร้างมูลค่าเพิ่ม

The extraction and fractionation of waxes and nutraceuticals from
filter press mud obtained during sugar refining process

โดย

ดร. กิตติวุฒิ เกษมวงศ์ และคณะ

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย วช. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

แผนงานวิจัย เรื่อง การผลิตไข่และแยกสารโกลนเกล็ดจากกากหม้อกรองโรงงานน้ำตาล เพื่อการสร้างมูลค่าเพิ่ม ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยภายใต้ กลุ่มเรื่อง อ้อยและน้ำตาล ประจำปีงบประมาณ 2558 อันอยู่ภายใต้กรอบงานวิจัยมุ่งเป้าเพื่อตอบสนองความต้องการ ในการพัฒนาประเทศที่สอดคล้องกับนโยบายยุทธศาสตร์การวิจัยของชาติ ฉบับที่ 8 (พ.ศ.2555-2559) กำกับ ดูแล โดยสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และมอบหมายให้สำนักงานกองทุนสนับสนุน การวิจัย (สกว.) เป็นผู้บริหารจัดการ โดยแผนงานวิจัยชุดนี้ประกอบด้วย 2 โครงการย่อย คือ โครงการวิจัยย่อยที่ 1 เรื่อง การพัฒนากระบวนการสกัดไข่อ้อยจากกากหม้อกรองด้วย คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตในระดับกึ่งอุตสาหกรรม และโครงการวิจัยย่อยที่ 2 เรื่อง การพัฒนา ผลิตภัณฑ์พอลิโคซานอลเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาด้วยเทคนิคการควบคุมการปลดปล่อย ระดับนาโน จุดมุ่งหมายสำคัญของงานวิจัยชุดนี้ เพื่อนำเสนอการพัฒนาเทคนิคการสกัดไข่อ้อย ใน ระดับกึ่งอุตสาหกรรมที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และเพิ่มมูลค่าไข่อ้อยด้วยนาโนเทคโนโลยี โดยมุ่งหวังให้เกิดการพัฒนาต่อยอดต่อไปในเชิงพาณิชย์

ผลสัมฤทธิ์ของงานวิจัยชุดนี้บรรลุวัตถุประสงค์ได้ คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณสำนักงาน คณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ที่ได้ให้การสนับสนุน การงบประมาณวิจัย ขอขอบคุณคณะผู้ทรงคุณวุฒิที่ได้มอบข้อเสนอแนะ เพื่อแก้ไขปรับปรุงการ ทำงานให้เป็นไปตามเป้าประสงค์

คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า แผนงานวิจัย เรื่อง การผลิตไข่และแยกสารโกลนเกล็ดจาก กากหม้อกรองโรงงานน้ำตาลเพื่อการสร้างมูลค่าเพิ่ม จะเป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมอ้อย และ น้ำตาล และผู้ที่สนใจนำไปใช้ประโยชน์ได้ต่อไปในเชิงพาณิชย์

ดร.กิตติวุฒิ เกษมวงศ์
ผู้อำนวยการแผนงานฯ
เมษายน 2560

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ:	RDG5850063
แผนงานวิจัย:	การผลิตไข่และแยกสารโกลินเสส์จากกากหม้อกรองโรงงานน้ำตาล เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม
ผู้อำนวยการแผนงาน:	ดร.กิตติวุฒิ เกษมวงศ์ และคณะ
ระยะเวลาโครงการ:	12 เดือน (ตั้งแต่ 1 มิถุนายน 2558 ถึง 31 พฤษภาคม 2559)

โครงการวิจัยย่อยที่ 1 การพัฒนากระบวนการสกัดไข่อ้อยจากกากหม้อกรองด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตในระดับกึ่งอุตสาหกรรม

กากหม้อกรองที่ได้รับจากบริษัทอุตสาหกรรมน้ำตาลบ้านไร่ จำกัด จ.อุทัยธานี นำไปตากแห้งลดความชื้น จนเหลือความชื้นประมาณ 14-16% แล้วจึงนำไปสกัดหาปริมาณไข เบื้องต้นด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน เอทานอล และไอโซโพรพานอล พบว่าเฮกเซนสามารถสกัดไขออกมาได้ปริมาณมากที่สุดเฉลี่ยคือ 6.99% รองลงมาคือ เอทานอล (5.79%) และไอโซโพรพานอล (4.67%) ตามลำดับ โดยในการศึกษาการสกัดไข่อ้อยจากกากหม้อกรองด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด (sc-CO₂) ระดับกึ่งโรงงาน จะเลือกใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายร่วม เนื่องจากเอทานอลเป็นสารเคมีที่มีการใช้ในอาหารและยา และมีความเป็นมิตร ต่อสิ่งแวดล้อม มากกว่าเฮกเซนและไอโซโพรพานอล การสกัดไข่อ้อยจากกากหม้อกรองด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดระดับกึ่งโรงงาน ใช้เครื่องสกัดขนาด 50 ลิตร โดยจะศึกษา 3 ปัจจัย คือ ความดัน อุณหภูมิ และระยะเวลาการสกัด โดยพบว่า ภายใต้ความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและภายในเวลาสกัด 60 นาที ได้น้ำหนักไข่อ้อยสกัดแห้งเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 137.43 กรัมไข่อ้อยต่อกากหม้อกรอง 10 กิโลกรัม และปัจจัยที่มีผลต่อค่า % yield เรียงจากมากไปหาน้อย ได้ดังนี้ ระยะเวลาการสกัด ความดัน และอุณหภูมิ ตามลำดับ เมื่อนำไข่อ้อยที่สกัดได้ด้วยเทคนิค sc-CO₂ มาวิเคราะห์ค่า acid value ได้เท่ากับ 31.10±0.80 mg KOH/g sample, saponification value เท่ากับ 55.90±7.86 mg KOH/g sample, iodine value เท่ากับ 30.02 ± 1.88 g I₂/100 g sample และค่าจุดหลอมเหลว (m.p.) เท่ากับ 72.0±1.0 °C นำกากหม้อกรองก่อนสกัด และหลังสกัดไปวิเคราะห์ คุณสมบัติตามมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์พบว่ากากหม้อกรองก่อนสกัดไข และหลังจากสกัดไขออกไปแล้ว มีองค์ประกอบของธาตุอาหารไม่ต่างกัน โดยกากหม้อกรองมีค่าปริมาณธาตุอาหารโพแทสเซียมทั้งหมด (K₂O) ไม่ผ่านมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ และค่าการย่อยสลายที่สมบูรณ์มีค่าน้อยกว่า 80 % สามารถนำไปใช้เป็นวัสดุเพื่อปรับปรุงดินได้เท่านั้น เมื่อวิเคราะห์ องค์ประกอบของไข่อ้อยทั้งหมดที่สกัดได้พบว่าปริมาณไข่อ้อยที่สกัดได้จากโครงการวิจัยนี้ ได้รวม 5.148 กิโลกรัม โดยมีความชื้น 14.22% และมีปริมาณ policosanol ทั้งหมด 29.88% การวิเคราะห์ต้นทุนการสกัดไข่อ้อยด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด (sc-CO₂) ระดับกึ่งโรงงาน แบ่งออกเป็น 2 กรณีศึกษาคือ กรณีซื้อเครื่องสกัด และ กรณีเช่าเครื่องสกัด พบว่าการลงทุนซื้อเครื่องจักรเพื่อสกัดไข่อ้อยจากกากหม้อกรองด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด เมื่อกำหนดระยะเวลาคืนทุน ที่ 3 ปี 5 ปี และ 7 ปี ผลการประเมินราคาขายไข่อ้อย ณ จุดคุ้มทุน เท่ากับ 26.49, 21.65 และ 19.59 บาทต่อกรัมไข่อ้อยตามลำดับ และ

ได้ผลตอบแทนการลงทุนจากระยะเวลาคืนทุนที่ 3 ปี 5 ปี และ 7 ปี เท่ากับ 72.77%, 59.47% และ 53.81% ตามลำดับ และอัตราผลตอบแทนภายในจากระยะเวลาคืนทุน ที่ 3 ปี 5 ปี และ 7 ปีได้ เท่ากับ 2.8% ต่อปี, 2.6% ต่อปี และ 0.5% ต่อปีตามลำดับ ซึ่งได้ต่ำกว่าอัตราผลตอบแทนจากการลงทุนขั้นต่ำคือ 10% จึงไม่น่าลงทุนในโครงการซื้อชุดเครื่องสกัดเอง สำหรับโครงการเช่าเครื่องสกัด พบว่าราคาขายไขอ้อยเท่ากับ 11.74 บาทต่อกรัม ซึ่งนำลงทุนในโครงการเช่าเครื่องจักร เพราะสามารถตั้งราคาขายให้แข่งขันกับราคาราคาตลาดได้

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์พอลิโคซานอลเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา ด้วยเทคนิคการควบคุมการปลดปล่อยระดับนาโน

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาระบวนการสกัดแยกสาร policosanol ออกจากไขอ้อยและการทำให้มีความบริสุทธิ์สูงขึ้นด้วยกระบวนการทางเคมี โดยพบว่า การล้างไขอ้อยด้วยตัวทำละลายร้อนสามารถกำจัดสารเจือปนอื่นๆ ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารจำพวก phytosterols เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณของสาร policosanol ด้วยเทคนิค GC-MS พบว่า เอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการทำบริสุทธิ์ไขอ้อย เนื่องจากให้ตัวอย่าง (refined wax) ที่มีปริมาณสาร policosanol สูงที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า การทำปฏิกิริยาสaponification สามารถกำจัดสารจำพวก fatty aldehyde โดยไม่ปรากฏพีคของสารดังกล่าวในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS เมื่อทำการสกัดแยกสาร policosanol ออกจากตัวอย่างไขอ้อยที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์และกระบวนการsaponificationพบว่า สารสกัด policosanol ที่ได้มีปริมาณผลได้ของสารสกัด (yield) เท่ากับ 20.18% (w/w) และมีความบริสุทธิ์ เท่ากับ 78.29%(w/w) โดยมีองค์ประกอบของสาร policosanol 5 ชนิด ได้แก่ Tetracosanol (C24) , Hexacosanol (C26), Heptacosanol (C27), Octacosanol (C28) และ Triacosanol (C30) โดยสารสกัดที่ได้มีสัดส่วนของ Octacosanol (C28) สูงถึง 61.28 %(w/w) การพัฒนาสูตรตำรับอนุภาคนำส่งสาร policosanol ที่มีวัสดุตัวพาชนิดควบคุมการปลดปล่อยพบว่า สูตรตำรับที่เหมาะสมคือ การใช้แป้งดัดแปร HI-CAP® 100 ร่วมกับมอลโทเดกซ์ทรินที่อัตราส่วน 50/50 โดยสารละลายอิมัลชันที่ได้มีความคงตัวทางกายภาพดีที่อุณหภูมิห้อง เมื่อนำไปผ่านกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยพบว่า อนุภาคผงแห้งที่ได้มีปริมาณความชื้น 5.35% และมีคุณสมบัติการไหลที่ดีโดยมีค่า Carr's compressibility index และ Hausner ratio เท่ากับ 15.63 และ 1.19 ตามลำดับ เมื่อนำมาละลายน้ำเพื่อทำให้เกิดอิมัลชันอีกครั้งพบว่า มีขนาดอนุภาคของอิมัลชัน (median size; Dv50) เท่ากับ 3.10 ไมครอน และมีค่าประจุที่ผิวอนุภาค (zeta potential) เท่ากับ -27.47 mV

Abstract

Project Code: RDG5850063

Project Title: The extraction and fractionation of waxes and nutraceuticals from filter press mud obtained during sugar refining process

Principal Investigator: Dr.Kittiwut Kasemwong

Project Period: 12 Months (From June 1st, 2015 to May 31st, 2016)

Title of Sub Project 1: The extraction and fractionation of sugarcane wax from filter press mud using supercritical fluid carbon dioxide extraction in pilot scale

The filter cake obtained from Ban Rai Sugar Industry Company Limited, Uthaithani province, was dried until the moisture content was about 14-16%. The sugarcane wax was then extracted from dried filter cake with three different types of solvent i.e. hexane, ethanol and isopropanol. It was found that hexane was the most effective extracting solvent resulting in 6.99% yield of wax, followed by ethanol (5.79%) and isopropanol (4.67%) respectively. Ethanol was chose as a co-solvent for the extraction of the sugar cane wax by the super critical fluid carbon dioxide (sc-CO₂) technique due to its environmentally friendly solvent compared to hexane and isopropanol. In a 50-liter sc-CO₂ extractor, three parameters were studied: pressure, temperature and extraction time. It was found that under pressure of 200 bar, temperature of 70 °C and the extraction time of 60 minutes, the highest yield of sugarcane wax was obtained in 137.43 g/10 kg of dried filter cake. The factors that affecting the yield of the extraction were as follows: extraction time, pressure and temperature, respectively. The resulting wax extracted by sc-CO₂ was analyzed by means of the acid value of 31.10 ± 0.80 mg KOH/g sample, the saponification value of 55.90 ± 7.86 mg KOH/g sample and the iodine value of 30.02 ± 1.88 g I₂/100 g sample. The melting point of the sample was 72.0 ± 1.0 °C. There are no different in standard organic fertilizer protocol testing on the filter cake samples before/after extracting with sc-CO₂. In fact, the total potassium content (K₂O) did not pass organic fertilizer standards and the germination index was found to be less than 80%. Thus, this filter cake can only be used as soil amendment instead of organic fertilizer. In this research project, we could extract the sugarcane wax in 5.148 kilograms with

moisture content of 14.22% and a 29.88% of policosanol content. There are 2 cases on the cost analysis of sugar cane extraction process using the sc-CO₂ with semi-pilot scale.

In case of purchasing the extractor machine, it was found that with the payback period of 3 years, 5 years and 7 years, the sugarcane wax sale price evaluation at breakeven point was 26.49, 21.65 and 19.59 baht per gram of sugarcane wax respectively. The return on investment (ROI) from the payback period of 3 years, 5 years and 7 years was 72.77%, 59.47% and 53.81%, respectively, and the return on investment from the payback period of 3 years, 5 years and 7 years was equal to 2.8% per annum, 2.6% per annum and 0.5% per annum, respectively. These are lower than the minimum investment return of 10%. Therefore, this project is not proper to be invested. In case of machinery rental projects, the sugar cane sales price was 11.74 baht/gram of sugarcane wax so that the price can be set to compete with the market price. Thus, the latter project could be feasibly invested.

Title of Sub Project 2: Development of Policosanol Product for Food and Pharmaceuticals Industry by Nano-Controlled Release Technology

This research investigated the process of extracting policosanol from sugarcane wax and performed the additional purification processes to increase its purity by using chemical treatments. It was found that the cleaning process of sugarcane wax with hot solvent can remove most of other additives for instance, phytosterols. Ethyl acetate was a solvent of choice for sugarcane purification confirmed by GC-MS analysis which gave the highest content of policosanol. In addition, saponification can remove the fatty aldehyde impurities which were confirmed by the absence of the peaks of the substance on GC-MS analysis. Policosanol extraction yield was 20.18% (w/w) with a chemical purity of 78.29% (w/w). The policosanol extract contained Tetracosanol (C₂₄), Hexacosanol (C₂₆), Heptacosanol (C₂₇), Octacosanol (C₂₈) and Triacosanol (C₃₀) with the majority of Octacosanol (C₂₈) up to 61.28% (w/w). The controlled release formulation was successfully developed from the mixture of HI-CAP[®] 100 modified starch with maltodextrin at 50/50 by emulsion solution that showed good physical stability at room temperature. After spray drying process, dried powder particles had a moisture

content of 5.35% and showed good flow properties with Carr's compressibility index and Hausner ratio of 15.63 and 1.19, respectively. The particle size of the emulsion (median size; Dv50) was 3.10 microns and the zeta potential was -27.47 mV.

บทสรุปผู้บริหาร Exclusive Summary

แผนงานวิจัย: การผลิตไขและแยกสารโภชนเภสัชจากกากหม้อกรองโรงงานน้ำตาลเพื่อการสร้างมูลค่าเพิ่ม
The extraction and fractionation of waxes and nutraceuticals from filter press mud obtained during sugar refining process

ที่มาของปัญหา

กากหม้อกรอง (sugarcane filter press mud, sugarcane press mud, sugarcane filter cake mud, sugarcane filter cake หรือ sugarcane filter mud) ซึ่งเป็นตะกอนที่ได้หลังจากขั้นตอนการทำใส่น้ำอ้อยของโรงงานนั้นมีปริมาณเหลือทิ้งจากการผลิตน้ำตาลรวมทั้งประเทศประมาณ 2 ล้านตันต่อปี ในอดีตกากหม้อกรองไม่สามารถสร้างมูลค่าเพิ่มตัวเองได้นอกจากจะนำไปเป็นปุ๋ยหรือสารปรับปรุงดินใส่ในไร่อ้อย และผสมทำอาหารสัตว์ ด้วยปริมาณที่มากและเป็นอันตรายวัตถุที่เน่าเสียได้ โรงงานน้ำตาลจึงมุ่งเน้นกำจัดกากหม้อกรอง ด้วยการแจกให้กับเกษตรกรโดยไม่คิดมูลค่าเป็นหลัก เนื่องจากหากเก็บไว้นานกากหม้อกรองจะเน่าเสีย ส่งกลิ่น สร้างผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมให้กับโรงงานมากกว่าประโยชน์ใช้สอย กากหม้อกรองจึงจัดเป็นของเสียที่มีมูลค่าต่ำและมีประโยชน์ต่อโรงงานน้ำตาลน้อยมาก

จากการศึกษาข้อมูลงานวิจัยที่มีมาก่อนล่าสุดพบว่า ไขอ้อยที่สกัดได้จากกากหม้อกรองเป็นสารที่มีมูลค่าเชิงเศรษฐศาสตร์เป็นอย่างมาก เนื่องจากมีองค์ประกอบทางเคมีเป็นสารจำพวก long chain fatty ester, long chain fatty alcohol, long chain fatty acids และ phytosterols เป็นต้น สารมีมูลค่าเพิ่ม (high value added) ที่แยกได้จากไขอ้อยคือ fatty alcohol หรือ policosanol เป็นชื่อสามัญที่อ้างอิงถึงสารผสมของ long chain aliphatic primary alcohols (จำนวนคาร์บอนอะตอมอยู่ระหว่าง 20-36 คาร์บอนอะตอม) โดยที่ส่วนประกอบหลักที่พบในไขอ้อยนี้จะประกอบด้วย docasanol (C₂₂) tetracosanol (C₂₄) hexacosanol (C₂₆) octacosanol (C₂₈) และ triacontanol (C₃₀) จากรายงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า policosanol สามารถลดการจับตัวเป็นก้อนตกตะกอน ลดการถูกทำลายของเยื่อและลดการเกิด foam cell และจากการทดลองในระดับ *in vivo* และ *in vitro* พบว่าสาร policosanol ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ร่างกาย หรือเซลล์สืบพันธุ์ และในการศึกษาระดับ clinical ในระยะยาว ยืนยันว่า policosanol มีความปลอดภัยสูง และในปัจจุบัน policosanol มีการจำหน่ายเชิงพาณิชย์กันอย่างแพร่หลายในประเทศสหรัฐอเมริกา ได้รับการอนุญาตโดย US-FDA มีการผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ โดยเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ประเภทเครื่องสำอาง ยา และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

โครงการวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายพัฒนาการสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรอง ซึ่งเป็นกากวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลทรายจากอ้อย โดยใช้เทคโนโลยีการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์

เหนือวิกฤติ ในระดับกึ่งอุตสาหกรรม (ขนาดความจุ 50 ลิตรต่อครั้ง) โดยแบ่งการทำงานเป็น 2 ส่วนหลัก ได้แก่ (I) ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองให้ได้ปริมาณและมีความบริสุทธิ์สูงตามมาตรฐานที่ยอมรับ โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤติในระดับกึ่งอุตสาหกรรม และวิเคราะห์คุณภาพของไขอ้อยที่สกัดได้ (II) ศึกษาการสกัดสาร policosanol (long chain fatty alcohol) จากไขอ้อยที่สกัดจากส่วนที่ (I) นำมาผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ เพื่อให้เหมาะกับการนำไปใช้ในรูปแบบผลิตภัณฑ์อาหารเสริม ตลอดจนการจัดทำข้อกำหนดเพื่อควบคุมคุณภาพ และทำการประเมินต้นทุนของการผลิต policosanol เพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริม โดยใช้นาโนเทคโนโลยีสำหรับควบคุมการปลดปล่อยของสาร policosanol ซึ่งจะก่อให้เกิดการแปรรูปเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์นวัตกรรมที่มีมูลค่าเพิ่ม และสามารถผลิตได้ในเชิงพาณิชย์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนากระบวนการสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤติในระดับกึ่งอุตสาหกรรม และศึกษาต้นทุนการผลิตไขอ้อยเพื่อประเมินความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์
2. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์และสร้างมูลค่าเพิ่ม ด้วยการแยกสกัดสาร policosanol จากไขอ้อย และใช้นาโนเทคโนโลยีสำหรับควบคุมการปลดปล่อยของสาร policosanol ขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์ policosanol ชนิดเม็ดในระดับกึ่งอุตสาหกรรม

ระเบียบวิธีวิจัย

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองให้ได้ปริมาณและมีความบริสุทธิ์สูงตามมาตรฐาน โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤติในระดับกึ่งอุตสาหกรรม โดยแปรผันตัวแปร คือ ความดัน อุณหภูมิและเวลาในการสกัด และวิเคราะห์คุณภาพของสารสกัดไขอ้อยที่ได้
2. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยและตัวแปรในการสกัดและการทำให้บริสุทธิ์ของไขอ้อยในระดับกึ่งอุตสาหกรรมในเชิงสมการคณิตศาสตร์ เพื่อทำนายการเปลี่ยนแปลงและผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงจากสมการตัวแปรเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ได้จริงในเชิงอุตสาหกรรมการผลิตในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ได้ และศึกษาต้นทุนการผลิตไขอ้อยที่สกัดได้จากกากหม้อกรองโดยอาศัยแบบจำลองกระบวนการสกัดไขอ้อยที่สร้างขึ้นสำหรับใช้ประเมินความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์
3. ศึกษาการพัฒนากระบวนการสกัดสาร policosanol จากไขอ้อยจากกากหม้อ และพัฒนากระบวนการการเพิ่มความบริสุทธิ์ของสาร policosanol ในไขอ้อยให้มีสัดส่วนและปริมาณสูงมากขึ้นด้วยวิธีทางเคมี
4. ศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบ policosanol ในรูปของผลิตภัณฑ์อาหารเสริม โดยทำการขึ้นรูป policosanol ในรูปของสูตรตำรับที่มีวัสดุตัวพาชนิดควบคุมการปลดปล่อย

เพื่อให้มีการปลดปล่อยสาร policosanol ออกมาในระดับที่มีผลทางเภสัชวิทยา รวมไปถึง การทดสอบขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์ policosanol ชนิดเม็ดในระดับกึ่งอุตสาหกรรม

ผลการวิจัย

ศึกษาการสกัดไขมันจากกากหม้อกรองด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดระดับกึ่ง โรงงาน โดยแปรผัน 3 ตัวแปร คือ ความดัน อุณหภูมิและระยะเวลาการสกัด พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อค่า % yield จากมากไปหาน้อย คือ ระยะเวลาการสกัด ความดัน และอุณหภูมิ ตามลำดับ โดย สภาวะ การสกัดไขมันด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดภายใต้ความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และภายในเวลาสกัด 60 นาที ได้น้ำมันไขมันสกัดแห้งเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 137.43 กรัมไขมันต่อกากหม้อกรอง 10 กิโลกรัม ทั้งนี้สามารถสกัดไขมันจากกากหม้อกรอง ด้วยเทคนิค คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ได้รวม 5.148 กิโลกรัม โดยมีความชื้นประมาณ 14% และมีปริมาณ policosanol ทั้งหมดประมาณ 29%

การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตไขมันด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด แบ่ง ออกเป็น 2 กรณีศึกษาคือ กรณีซื้อเครื่องสกัด และ กรณีเช่าเครื่องสกัด พบว่าการลงทุนซื้อเครื่องจักร เพื่อสกัดไขมันจากกากหม้อกรองด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด เมื่อกำหนดระยะเวลา คืนทุน ที่ 3 ปี 5 ปี และ 7 ปี อัตราผลตอบแทนภายในจากระยะเวลาคืนทุน ที่ 3 ปี 5 ปี และ 7 ปีได้ เท่ากับ 2.8% ต่อปี, 2.6% ต่อปี และ 0.5% ต่อปีตามลำดับ ซึ่งได้ต่ำกว่าอัตราผลตอบแทนจากการ ลงทุนขั้นต่ำคือ 10% จึงไม่น่าลงทุนในโครงการซื้อชุดเครื่องสกัดเอง การศึกษาวิเคราะห์ต้นทุนและ ความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ สำหรับโครงการเช่าเครื่องสกัดพบว่าราคาขายไขมันเท่ากับ 11.74 บาทต่อกรัม ซึ่งน่าลงทุนในโครงการเช่าเครื่องจักร เพราะสามารถตั้งราคาขายให้แข่งขันกับราคาตลาด ได้



ไขอ้อยจากกากหม้อกรองซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำตาลทรายจากอ้อย ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

การพัฒนากระบวนการสกัดแยกสาร policosanol ออกจากไขอ้อยและการทำให้มีความบริสุทธิ์สูงขึ้นด้วยกระบวนการทางเคมี โดยพบว่า การล้างไขอ้อยด้วยตัวทำละลายร้อนสามารถกำจัดสารเจือปนอื่นๆ ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารจำพวก phytosterols โดยเอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการทำบริสุทธิ์ไขอ้อย เนื่องจากทำให้ตัวอย่าง refined wax ที่ได้มีปริมาณสาร policosanol สูงที่สุด และเมื่อนำ refined wax ผ่านการทำให้บริสุทธิ์และกระบวนการสaponification พบว่า สารสกัด policosanol ที่ได้มีปริมาณผลได้ของสารสกัด (yield) เท่ากับ 20.18% (w/w) และมีความบริสุทธิ์ เท่ากับ 78.29%(w/w) โดยสารสกัดที่ได้มีสัดส่วนของ Octacosanol (C_{28}) สูงถึง 61.28 % (w/w)



ลักษณะของสารโพลิโคซานอล (Purified Policosanol) ที่แยกสกัดจากไขอ้อยบริสุทธิ์ (Refine Sugarcane Wax) และ อนุภาคนำส่งสารโพลิโคซานอล (Encapsulated Policosanol)

การพัฒนาสูตรตำรับอนุภาคนำส่งสาร policosanol ที่มีวัสดุตัวพาชนิดควบคุมการปลดปล่อย สำหรับนำไปใช้ประกอบเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบโพลิโคซานอลในรูปแบบอาหารเสริมชนิดเม็ด พบว่า สูตรตำรับที่เหมาะสมคือ การใช้แป้งตัดแปร HI-CAP® 100 ร่วมกับมอลโทเดกซ์ทรินที่อัตราส่วน 50/50 โดยสารละลายอิมัลชันที่ได้มีความคงตัวทางกายภาพดีที่อุณหภูมิห้อง เมื่อนำไปผ่านกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยพบว่า อนุภาคผงแห้งที่ได้มีปริมาณความชื้น 5.35% และมีคุณสมบัติการไหลที่ดีโดยมีค่า Carr's compressibility index และ Hausner ratio เท่ากับ 15.63 และ 1.19 ตามลำดับ เมื่อนำมาละลายน้ำเพื่อทำให้เกิดอิมัลชันอีกครั้งพบว่า มีขนาดอนุภาคของอิมัลชัน (median size; Dv_{50}) เท่ากับ 3.10 ไมครอน และมีค่าประจุที่ผิวอนุภาค (zeta potential) เท่ากับ -27.47 mV



ผลิตภัณฑ์ต้นแบบโพลิโคซานอล ในรูปของผลิตภัณฑ์อาหารเสริมชนิดเม็ด
(1 เม็ด ประกอบด้วยสารโพลิโคซานอล 10 มิลลิกรัม)

ข้อเสนอแนะ

1. การสกัดให้ได้ปริมาณไขมันมากขึ้นขึ้นอยู่กับคุณภาพของกากหม้อกรองแห้ง และแหล่งที่ได้มา ตัวอย่าง ควรทำการตรวจสอบ proximate total lipid ก่อนดำเนินการสกัดทุกครั้ง เพราะจะส่งผลถึงความคุ้มค่าในการสกัด
2. ควรทำการสกัดที่อุณหภูมิสูงกว่า 75 ถึง 80 °C ซึ่งเป็นจุดหลอมเหลวของไข ซึ่งจะช่วยให้ได้ผลสกัดที่ดีขึ้น
3. การเตรียมสูตรตำรับอนุภาคนำส่งสาร policosanol ที่มีวัสดุตัวพาชนิดควบคุมการปลดปล่อย อาจมีการเติมสาร anticaking agent อื่นๆ เพิ่มลงไป เช่น แคลเซียมคาร์บอเนต แมกนีเซียมคาร์บอเนต และแมนนิทอล เป็นต้น เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของอนุภาคนำส่งที่ได้

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	1
บทคัดย่อ	2
Abstract	5
บทสรุปผู้บริหาร	8
สารบัญ	14
สารบัญภาพ	15
สารบัญตาราง	22
โครงการวิจัยย่อยที่ 1	PI-1
การพัฒนากระบวนการสกัดไขมันจากกากหม้อกรองด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตในระดับกึ่งอุตสาหกรรม	
โครงการวิจัยย่อยที่ 2	PII-1
การพัฒนาผลิตภัณฑ์พอลิโคซานอลเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาด้วยเทคนิคการควบคุมการปลดปล่อยระดับนาโน	
ภาคผนวก ก.	ภาคผนวก-3
ตารางวิเคราะห์ ผลการวิเคราะห์ COA และคู่มือการทำงานของเครื่อง supercritical fluid extraction จากโครงการย่อยที่	
ภาคผนวก ข.	ภาคผนวก-38
ตารางแสดงกระแสเงินปัจจุบันที่จุดคืนทุนเวลาต่าง ๆ และรายการคำนวณค่าไฟฟ้าของโครงการย่อยที่ 1	
ภาคผนวก ค.	ภาคผนวก-50
เอกสารข้อมูล มาตรฐานควบคุมคุณภาพ และกฎระเบียบที่เกี่ยวข้องกับสาร policosanol	

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงแผนภาพของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะต่าง ๆ ได้แก่ของแข็งของเหลว ก๊าซ และของไหลเหนือวิกฤต	PI-8
2	แสดงตัวอย่างของเฟสไดอะแกรมของของผสม	PI-9
3	คณะวิจัยจากศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติเยี่ยมชมศูนย์พัฒนากระบวนการผลิตเภสัชภัณฑ์และสมุนไพรที่มีเครื่องสกัดคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตขนาด 50 ลิตร ร่วมกับวิศวกรจากโรงงานน้ำตาลไทยรุ่งเรือง	PI-11
4	ตัวอย่างกากหม้อกรองแห้งที่ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานอุตสาหกรรมน้ำตาลบ้านไร่	PI-11
5	ตัวอย่างกากหม้อกรองแห้งที่ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานอุตสาหกรรมน้ำตาลบ้านไร่ ที่ต้องมีการอบแห้งเพิ่มเติมในตู้อบลมร้อน	PI-12
6	ตู้อบลมร้อน เพื่อทำการอบตัวอย่างเพิ่มเติมให้ได้ความชื้นที่ต้องการ	PI-14
7	ไดอะแกรมกระบวนการสกัดด้วยตัวทำละลาย	PI-16
8	กระบวนการสกัดสารวิฤตยิ่งยวดโดยทั่วไป	PI-21
9	เปอร์เซ็นต์ yield ของการสกัดไขอ้อยโดยเฉลี่ยในสภาวะการทดลองต่าง ๆ (อุณหภูมิ ความดัน และระยะเวลาในการสกัด) ในรูปแบบแผนภูมิแท่งโดยใช้ข้อมูลจากตารางที่ 7	PI-32
10	Thin layer chromatography ของไขอ้อยที่สกัดได้จาก sc-CO ₂	PI-36
11	Thin layer chromatography ของไขอ้อยที่สกัดได้จาก sc-CO ₂	PI-37
12	Thin layer chromatography ของไขอ้อยที่สกัดได้จาก sc-CO ₂	PI-38
13	GC-MS โครมาโทแกรมของสารสกัดไขอ้อยที่สกัดด้วย supercritical fluid CO ₂ ที่สภาวะการสกัดแตกต่างกัน ที่เวลา 30 นาทีคงที่	PI-40

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
14	GC-MS โครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน policosanols ทั้ง 10 ประเภท ได้แก่ Eicosanol-C20 (24.685 นาที), Heneicosanol-C21 (25.579 นาที), Docosanol-C22 (26.433 นาที), Tricosanol-C23 (27.265 นาที), Tetracosanol-C24 (28.103 นาที), Pentacosanol-C25 (28.862 นาที), Hexacosanol-C26 (29.633 นาที), Heptacosanol-C27 (30.323 นาที), Octacosanol-C28 (31.208 นาที) และ Triacosanol-C30 (33.164 นาที)	PI-41
15	GC-MS โครมาโทแกรมแบบขยายส่วนของสารมาตรฐาน policosanols ทั้ง 10 ประเภท ได้แก่ Eicosanol-C20 (24.685 นาที), Heneicosanol-C21 (25.579 นาที), Docosanol-C22 (26.433 นาที), Tricosanol-C23 (27.265 นาที), Tetracosanol-C24 (28.103 นาที), Pentacosanol-C25 (28.862 นาที), Hexacosanol-C26 (29.633 นาที), Heptacosanol-C27 (30.323 นาที), Octacosanol-C28 (31.208 นาที) และ Triacosanol-C30 (33.164 นาที)	PI-42
16	แสดง mass spectrum ของสารมาตรฐาน policosanols ทั้ง 10 ชนิด : (15a)Eicosanol-C20 (24.685 นาที), (15b)Heneicosanol-C21 (25.579 นาที), (15c)Docosanol-C22 (26.433 นาที), (15d)Tricosanol-C23 (27.265 นาที), (15e)Tetracosanol-C24 (28.103 นาที), (15f)Pentacosanol-C25 (28.862 นาที), (15g) Hexacosanol-C26 (29.633 นาที), (15h)Heptacosanol-C27 (30.323 นาที), (15i)Octacosanol-C28 (31.208 นาที) และ (15j)Triacosanol-C30(33.164 นาที)	PI-46

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
17	GC-MS โครมาโทแกรมสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองเทียบกับสารมาตรฐาน policosanol ทั้ง 10 ประเภท ได้แก่ Eicosanol-C ₂₀ (24.685 นาที), Heneicosanol-C ₂₁ (25.579 นาที), Docosanol-C ₂₂ (26.433 นาที), Tricosanol-C ₂₃ (27.265 น า ที่), Tetracosanol-C ₂₄ (28.103 น า ที่), Pentacosanol-C ₂₅ (28.862 น า ที่), Hexacosanol-C ₂₆ (29.633 น า ที่), Heptacosanol-C ₂₇ (30.323 นาที), Octacosanol-C ₂₈ (31.208 นาที) และ Triacosanol-C ₃₀ (33.164 นาที)	PI-47
18	GC-MS โครมาโทแกรมแบบขยายส่วนของสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองเทียบกับสารมาตรฐาน policosanol ทั้ง 10 ประเภท ได้แก่ Eicosanol-C ₂₀ (24.685 น า ที่), Heneicosanol-C ₂₁ (25.579 น า ที่), Docosanol-C ₂₂ (26.433 นาที), Tricosanol-C ₂₃ (27.265 นาที), Tetracosanol-C ₂₄ (28.103 น า ที่), Pentacosanol-C ₂₅ (28.862 น า ที่), Hexacosanol-C ₂₆ (29.633 นาที), Heptacosanol-C ₂₇ (30.323 นาที), Octacosanol-C ₂₈ (31.208 นาที) และ Triacosanol-C ₃₀ (33.164 นาที)	PI-48
19	กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Tetracosanol-C ₂₄ ในการหาปริมาณ policosanol ในสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองที่สกัดด้วย supercritical fluid CO ₂	PI-49
20	กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Hexacosanol-C ₂₆ ในการหาปริมาณ policosanol ในสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองที่สกัดด้วย supercritical fluid CO ₂	PI-50
21	กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Octacosanol-C ₂₈ ในการหาปริมาณ policosanol ในสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองที่สกัดด้วย supercritical fluid CO ₂	PI-50
22	กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Triacosanol-C ₃₀ ในการหาปริมาณ policosanol ในสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองที่สกัดด้วย supercritical fluid CO ₂	PI-51

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
23	เปอร์เซ็นต์ yield ของสาร policosanol ทั้งหมดที่อยู่ในไขอ้อยที่สกัดได้โดย เฉลี่ยจากการสกัดกากหม้อกรองแห้ง	PI-58
24	ลักษณะไขอ้อยที่ไขออกมาจากเครื่อง (24a) และลักษณะไขอ้อยที่ค้างอยู่บนถัง สกัดกรณีที่ใช้ co-solvent ไม่เพียงพอ (24b)	PI-59
25	สารสกัดไขอ้อยสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์พอลิโคซานอล	PI-59
26	สารสกัดไขอ้อยหลังจากที่หลอมรวมทั้งหมด	PI-60
27	GC-MS โครมาโทแกรมของสารสกัดไขอ้อยรวมที่สกัดด้วย supercritical fluid CO ₂	PI-61
28	GC-MS โครมาโทแกรมของสารสกัดไขอ้อยที่สกัดด้วย supercritical fluid CO ₂ (a) และสาร policosanol ที่เป็นแบบ commercial (b)	PI-62
29	GC-MS โครมาโทแกรมของสารสกัดไขอ้อยที่สกัดด้วย supercritical fluid CO ₂ (29a) และไขอ้อยทางการค้า (29b)	PI-66
30	กระบวนการผลิตน้ำตาลในโรงงานน้ำตาล	PI-76
31	CO ₂ Pressure-Temperature phase diagram	PI-83
32	เครื่อง Supercritical CO ₂ Extraction รุ่น TH22-50x2 ส่วนควบคุม	PI-84
33	เครื่อง Supercritical CO ₂ Extraction ส่วนอุปกรณ์แลกเปลี่ยนความร้อน	PI-84
34	น้ำหนักเฉลี่ยของไขอ้อยแห้งของการทดลองที่ 1 ถึง 12	PI-91
35	น้ำหนักไขอ้อยที่สกัดได้ต่อกากหม้อกรอง 100 กิโลกรัม ภายใต้ความดัน 150 บาร์ และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เมื่อเปรียบเทียบเวลาการสกัด 30 นาที และ 60 นาที	PI-92
36	น้ำหนักไขอ้อยที่สกัดได้ต่อกากหม้อกรอง 100 กิโลกรัม ภายใต้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และเวลาการสกัด 60 นาที เมื่อเปรียบเทียบความดันในถังสกัด 150 บาร์ และ 200 บาร์	PI-93

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
37	น้ำหนักไข่อ้อยที่สกัดได้ต่อกากหม้อกรอง 100 กิโลกรัม ภายใต้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเวลาการสกัด 30 นาที เมื่อเปรียบเทียบความดันในถังสกัด 100 บาร์ และ 150 บาร์
38	น้ำหนักไข่อ้อยที่สกัดได้ต่อกากหม้อกรอง 100 กิโลกรัม ภายใต้ความดัน 200 บาร์ และเวลาการสกัด 60 นาที เมื่อเปรียบเทียบอุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส
39	แผนภูมิการไหลค่าใช้จ่ายต่างๆ (Cash flow diagram) ที่จุดคุ้มทุน 3 ปี
40	แผนภูมิการไหลค่าใช้จ่ายต่างๆ (Cash flow diagram) ที่จุดคุ้มทุน 5 ปี
41	แผนภูมิการไหลค่าใช้จ่ายต่างๆ (Cash flow diagram) ที่จุดคุ้มทุน 7 ปี
42	ราคาขายไข่อ้อย ณ จุดคุ้มทุน ซึ่งไข่อ้อยนี้สกัดภายใต้ ที่ความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที
43	ความสัมพันธ์ระหว่างราคาขายไข่อ้อย ณ จุดคุ้มทุน กับระยะเวลาคืนทุน ภายใต้ความดัน 200 บาร์ และเวลาการสกัด 60 นาที เมื่อเปรียบเทียบ อุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส
44	ความสัมพันธ์ระหว่างราคาขายไข่อ้อย ณ จุดคุ้มทุน กับระยะเวลาคืนทุน ภายใต้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและระยะเวลา 60 นาที เมื่อเปรียบเทียบ ความดัน 150 และ 200 บาร์
45	ความสัมพันธ์ระหว่างราคาขายไข่อ้อย ณ จุดคุ้มทุน กับระยะเวลาคืนทุน ภายใต้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและความดัน 200 บาร์เมื่อปรับเวลา 30 นาที
46	แผนภูมิการไหลค่าใช้จ่ายต่างๆ จากการเช่าเครื่อง(Cash flow diagram) ณ จุดคุ้มทุน เมื่อกำหนดระยะเวลาคืนทุนเท่ากับ 12 เดือน

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
1.1 แผนผังการสกัด wax และการแยก microcrystalline wax จากกากหม้อกรองจากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาล	PII-7
1.2 2 โครงสร้างทางเคมีโดยทั่วไปของ policosanols ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์โมเลกุลใหญ่ที่มีโครงสร้างเป็นเส้นตรง	PII-13
1.3 กลไกการทำงานของเอนไซม์ HMG CoA Reductase ในการเปลี่ยน HMG-CoA เป็น Mevalonate	PII-13
1.4 กลไกการทำงานของ policosanols ในการยับยั้งเอนไซม์ HMG CoA Reductase	PII-14
1.5 โครงสร้างทางเคมีของยาในกลุ่ม Statin (“Statins and Their Types ~ Latest Info to SIP with Tea” 2014)	PII-14
1.6 กลไกการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA Reductase โดย pitavastatin ด้วยการเข้าจับในบริเวณ active site ของเอนไซม์	PII-15
1.7 ตัวอย่างอนุภาคสำหรับนำส่งชนิดต่างๆ	PII-16
1.8 ลักษณะโครงสร้างของไลโปโซมชนิดต่างๆที่ใช้ในระบบนำส่ง	PII-17
1.9 กลไกการห่อหุ้มสารสำคัญด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย	PII-19
3.1 Thin layer chromatography ของสารมาตรฐาน (fatty acid, policosanols และ phytosterols) ไซออยเริ่มต้น และไซออยที่ผ่านการสกัดการทำให้บริสุทธิ์โดยการล้างด้วยเอทิลอะซิเตท	PII-31
3.2 GC-MS โครมาโทแกรมของ a) ไซออยเริ่มต้น และไซออยที่ผ่านการสกัดแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเอทิลอะซิเตท b) 3 ครั้ง c) 5 ครั้ง และ d) 7 ครั้ง	PII-32
3.3 GC-MS โครมาโทแกรมของไซออยก่อน (ด้านบน) และหลังผ่าน (ด้านหลัง) การทำสบอนนิฟิเคชัน (saponification)	PII-35
3.4 GC-MS โครมาโทแกรมของ (a) สารสกัด policosanols จากไซออย และ (b) commercial policosanols	PII-37
3.5 สาร policosanols ที่สกัดได้จากไซออย	PII-38
3.6 ลักษณะปรากฏของสารละลายอิมัลชันของ policosanols จากไซออย	PII-39

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
3.7	ลักษณะปรากฏของผงอนุภาคนำส่ง policosanol ที่เตรียมโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (ซ้าย) และการทำแห้งแบบพ่นฝอย (ขวา)	PII-40
3.8	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนำส่ง policosanol ที่เตรียมโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (ซ้าย) และการทำแห้งแบบพ่นฝอย (ขวา)	PII-41
3.9	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนำส่ง policosanol ที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยซึ่งเตรียมโดยใช้ HI-CAP® 100 ร่วมกับมอลโทเดกซ์ทรินที่อัตราส่วนต่างๆ a) H100/M0 b) H75/M25 c) H50/M50 b) H25/M75 และ d) H100/M0	PII-42
3.10	ภาพถ่ายจากกล้อง SEM ที่กำลังขยาย 3000 เท่า ของอนุภาคนำส่ง policosanol ที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยซึ่งเตรียมโดยใช้ HI-CAP® 100 เป็น wall material	PII-43
3.11	การกระจายขนาด (particle size distribution) ของอิมัลชันที่ได้จากอนุภาคนำส่ง policosanol	PII-44
3.12	ประจุบนผิวอนุภาค (zeta potential) ของอิมัลชันที่ได้จากอนุภาคนำส่ง policosanol	PII-47
3.13	ค่าการดูดความชื้น (hygroscopicity) ของผงอนุภาคนำส่ง policosanol สูตรต่างๆ	PII-50
3.14	X-ray diffraction pattern ของสาร policosanol และ wall materials	PII-52
3.15	X-ray diffraction pattern ของผงอนุภาคนำส่ง policosanol	PII-53

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงรายการวิเคราะห์ทดสอบมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ตามเกณฑ์มาตรฐานเพื่อ การขึ้นทะเบียน	PI-13
2	ผลการวิเคราะห์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์จากกากหม้อกรองเริ่มต้น เทียบกับหลัง ที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ	PI-15
3	ร้อยละปริมาณไขมันที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ จากกาก หม้อกรองแห้งที่เวลาต่างๆ	PI-18
4	ร้อยละปริมาณของกากหม้อกรองหลังจากที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ชนิดต่างๆ	PI-19
5	การจัดการทดลองแบบ factorial in CRD	PI-24
6	ผลการสกัดปริมาณไขมันด้วย เปอร์เซนต์ และ proximate total lipid) ด้วย supercritical carbondioxide ที่อุณหภูมิ ความดัน และเวลาต่าง ๆ โดย เริ่มต้นน้ำหนักกากหม้อกรองแห้ง 10 kg ตัวทำละลายรวมเอทานอล 5 ลิตร	PI-25
7	ค่าเฉลี่ย % ไขมันที่สกัดได้จากกากหม้อกรองด้วย supercritical carbondioxide ที่อุณหภูมิ ความดัน และเวลาต่าง ๆ โดยเริ่มต้นน้ำหนักกาก หม้อกรองแห้ง 10 kg ตัวทำละลายรวมเอทานอล 5 ลิตร จากข้อมูลดิบ ตารางที่ 6	PI-29
8	ผลการสกัดรอบที่ 2 (ปริมาณไขมัน และเปอร์เซนต์) ด้วย supercritical carbondioxide ที่อุณหภูมิ ความดัน และเวลาต่าง ๆ	PI-33
9	ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร policosanol ของสารสกัดไขมันจากกากหม้อ กรอง ที่สกัดด้วย supercritical fluid CO ₂ ได้จากการทำการวิเคราะห์เทียบกับ กับ calibration curve ใน GC-MS	PI-52
10	แสดง %Total PC โดยเฉลี่ยที่ สภาวะต่าง ๆ จากข้อมูลในตารางที่ 9	PI-56
11	ชนิดของสารที่พบในตัวอย่างไขมันที่สกัดได้จาก sc-CO ₂	PI-62
12	ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร policosanol ของสารสกัดไขมันทั้งหมดจาก กากหม้อกรอง ที่สกัดด้วย supercritical fluid CO ₂ ได้จากการทำการ วิเคราะห์เทียบกับ calibration curve ใน GC-MS	PI-63

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
13	ผลการวิเคราะห์ค่า acid value, saponification value, iodine value และค่าจุดหลอมเหลว (m.p.) ของไขอ้อยที่สกัดได้จากเทคนิคเทียบกับไขอ้อยที่ได้มาจากการคั่ว	PI-65
14	ข้อมูลธาตุอาหารต่างๆ ในกากหม้อกรองเก่าและใหม่	PI-75
15	ตัวอย่างการจัดการทดลองแบบ Two-level factorial ในแต่ละการทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง	PI-87
16	ผลการทดลองและปริมาณน้ำหนักรักไขอ้อยที่สกัดได้ต่อกากหม้อกรอง 10 กิโลกรัม	PI-89
17	สมมติฐานการวิเคราะห์ด้านการเงิน	PI-96
18	ผลตอบแทนจากการลงทุนที่คำนวณได้จากค่าผลได้ของไขอ้อยที่สกัดภายใต้ความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและในเวลา 60 นาทีสำหรับโครงการที่ลงทุนซื้อเครื่องสกัดเอง	PI-107
19	เปรียบเทียบราคาขายของไขอ้อย ณ จุดคຸ້ມທຸນ เมื่อประเมินที่อัตราผลตอบแทนเท่ากับอัตราดอกเบี้ยเงินกู้และอัตราผลตอบแทนการลงทุนขั้นต่ำสำหรับโครงการที่ลงทุนซื้อเครื่องสกัดเอง	PI-108
20	กระแสเงินปัจจุบันจากการเช่าเครื่องที่จุดคຸ້ມທຸນภายใน 12 เดือน	PI-110
1.1	องค์ประกอบทางเคมีของไขอ้อยที่ได้จากกากหม้อกรอง	PII-9
1.2	เปรียบเทียบไขอ้อยที่สกัดด้วยตัวทำละลายและ Supercritical CO ₂ extraction	PII-11
1.3	ปริมาณของ policosanol ในไขพืช	PII-12
1.4	ตัวอย่าง wall material และสภาวะที่ใช้ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย สำหรับการเก็บสารสำคัญชนิดต่างๆ	PII-18
2.1	ส่วนประกอบที่ใช้ในการเตรียมอิมัลชันของ policosanol	PII-25
2.2	สมบัติการไหลของผงยากับค่า Carr's compressibility index และ Hausner ratio	PII-27
3.1	ปริมาณไขอ้อย (%yields) หลังผ่านการล้างด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ	PII-29

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3.2	ปริมาณ policosanol ที่วิเคราะห์ได้จากไขมันที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ	PII-30
3.3	ปริมาณ policosanol ที่วิเคราะห์ได้จากไขมันที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วยเอทิลอะซิเตท	PII-33
3.4	ปริมาณและองค์ประกอบของสาร policosanol ที่สกัดได้	PII-35
3.5	ขนาด และการกระจายขนาดอนุภาค (Span) ของอิมัลชันที่ได้จากอนุภาคนำส่ง policosanol	PII-46
3.6	ปริมาณความชื้นของผงอนุภาคนำส่ง policosanol สูตรต่างๆ	PII-49
3.7	ค่า Carr's compressibility index และ Hausner ratio ของผงอนุภาคนำส่ง policosanol ที่เตรียมโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย	PII-51

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยย่อยที่ 1

การพัฒนาระบวนการสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือ
วิกฤตในระดับกึ่งอุตสาหกรรม

The extraction and fractionation of sugarcane wax from filter press
mud using supercritical fluid carbon dioxide extraction in pilot scale

คณะผู้วิจัย

ดร.สุวัชชัย จรัสโสภณ
ดร.กิตติวุฒิ เกษมวงศ์
ดร.นงพงา จรัสโสภณ
นางสาวภาวิณี พงษ์วัน
นางวันวิสาข์ สกลภาพ
นางสาวอรอุมา เกตุชาติ

เมษายน 2560

โครงการวิจัยย่อยที่ 1

การพัฒนากระบวนการสกัดไขมันจากกากหม้อกรองด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตในระดับ กึ่งอุตสาหกรรม

บทนำ

โครงการวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาถึงการสกัดไขมันจากกากหม้อกรอง ซึ่งเป็นกากวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลทรายจากอ้อย โดยใช้เทคโนโลยีการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตขนาดความจุ 50 ลิตรต่อแบทช์ ที่พร้อมจะนำไปใช้ประโยชน์หลังจากการทำให้บริสุทธิ์ได้ สารสำคัญคือโพลีโคซานอล เพื่อใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดโคเลสเตอรอลอัดเม็ด งานวิจัยนี้จึงแบ่งออกเป็น 2 ส่วนหลัก ได้แก่ (I) การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการสกัดไขมันจากกากหม้อกรองให้ได้ปริมาณและมีความบริสุทธิ์สูงตามมาตรฐานที่ยอมรับ โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตในระดับกึ่งอุตสาหกรรม ที่สามารถระบุปัจจัย ตัวแปร และข้อจำกัดต่างๆในการสกัดไขมัน ที่จะส่งผลกับการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์ไขมันที่สกัดได้ รวมถึงวิธีการวิเคราะห์คุณภาพของสารสกัดไขมันที่ได้ โดยในรายละเอียดคือ มีการเลือกเก็บตัวอย่างกากหม้อกรองและควบคุมคุณภาพวัตถุดิบที่จะนำมาใช้สกัดไขมันจากโรงงานน้ำตาล มีกระบวนการทำแห้ง วัดค่าความชื้นของตัวอย่างกากหม้อกรอง วิเคราะห์หาโลหะหนักปนเปื้อน สังเกตสีและกลิ่น ลักษณะภายนอก วันที่เก็บตัวอย่าง แหล่งที่มา มีการตรวจสอบกากหม้อกรองแห้งตามมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ทั้งก่อนและหลังการสกัด วิเคราะห์องค์ประกอบสารสกัดไขมันในเชิงคุณภาพด้วยเทคนิค GC-MS เพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบกับสารสกัดกากหม้อกรองแห้งด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทานอลและไอโซโพรพานอล โดยใช้ Soxhlet extraction มีการควบคุมตัวแปรต่าง ๆ ในกระบวนการทั้งหมดที่จะส่งผลต่อคุณภาพของไขมันที่จะสกัดได้ มีออกแบบการทดลองเปลี่ยนแปลงตัวแปรได้แก่ อุณหภูมิ ความดัน เวลา และสัดส่วนของตัวทำละลายรวมที่เลือก ได้แก่ เอทานอล ในกระบวนการสกัดไขมัน (II) การสกัดไขมันตามการเปลี่ยนแปลงตัวแปรที่กำหนดไว้และสร้างสหสัมพันธ์ของตัวแปรในรูปแบบ response surface ที่ใช้อธิบายหรือทำนายผลการสกัดไขมันจากกากหม้อกรองจากการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรควบคุม ได้ต้นแบบกระบวนการสกัดไขมันจากกากหม้อกรอง ในระดับโรงงานต้นแบบ ที่มีการระบุเพิ่มเติมถึงปัญหา คำแนะนำ และข้อควรระวัง ในกระบวนการสกัดไขมัน คำนวณหาต้นทุนการสกัดไขมันในระดับกึ่งอุตสาหกรรม และส่งมอบปริมาณไขมันที่สกัดได้เทียบกับตัวอย่างกากหม้อกรองแห้ง จำนวน 5 กิโลกรัม รายงานฉบับสมบูรณ์

นี้จะกล่าวแยกเป็นบท โดยแต่ละบทประกอบด้วย บทนำ วิธีการทดลองและผลการทดลอง การอภิปรายผลและสรุปผลการทดลอง และเอกสารอ้างอิง ตามลำดับ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อติดตามหาสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองให้ได้ปริมาณและมีความบริสุทธิ์สูงตามมาตรฐาน โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤติในระดับกึ่งอุตสาหกรรม สามารถระบุปัจจัยและตัวแปรต่างๆ และข้อจำกัดในการสกัดไขอ้อย ที่ส่งผลกับการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่จะผลิตได้ รวมถึงวิธีการวิเคราะห์คุณภาพของสารสกัดไขอ้อยที่ได้
2. เพื่อเป็นการอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยและตัวแปรในการสกัดและการทำให้บริสุทธิ์ของไขอ้อยในระดับกึ่งอุตสาหกรรมในเชิงสมการคณิตศาสตร์ที่เข้าใจได้ง่าย สามารถคาดเดาหรือทำนายการเปลี่ยนแปลงและผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงจากสมการตัวแปรดังกล่าวได้อย่างแม่นยำ ประโยชน์เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ได้จริงในเชิงอุตสาหกรรมการผลิตในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ได้ และศึกษาต้นทุนการผลิตไขอ้อยที่สกัดได้จากกากหม้อกรองโดยอาศัยแบบจำลองกระบวนการสกัดไขอ้อยที่สร้างขึ้นสำหรับใช้ประเมินความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์

บทที่ 1

การศึกษาหาสถานะที่เหมาะสมของกระบวนการสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองให้ได้ปริมาณและมี ความบริสุทธิ์สูง

1.1 ที่มาและความสำคัญ

อุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลทรายเป็นอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศไทย จากข้อมูลที่ได้จาก United States Department of Agriculture (USDA)^[1] ระบุว่าความต้องการบริโภคน้ำตาลทั่วโลกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นที่อัตราประมาณ 2.5-3.0 เปอร์เซ็นต์ทุกปี โดยในปี 2556-2557 ประเทศไทยเป็นประเทศผู้ผลิตน้ำตาลทรายใหญ่โดยสามารถผลิตน้ำตาลได้เป็นลำดับที่ 5 ของโลกโดยผลิตน้ำตาลได้ประมาณ 11.39 ล้านตันต่อปี รองจากประเทศบราซิล อินเดีย สหภาพยุโรป และจีน ที่กำลังการผลิต 37.8, 27.1, 16.1 และ 14.3 ล้านตันต่อปี ตามลำดับ ที่สำคัญประเทศไทยนอกจากการใช้และการบริโภคภายในประเทศแล้วยังสามารถส่งออกน้ำตาลได้เป็นลำดับที่ 2 ของโลก โดยมีปริมาณการส่งออกมากถึงประมาณ 8 ล้านตันต่อปี

เป็นที่ทราบกันดีว่าโรงงานน้ำตาลนอกจากจะผลิตน้ำตาลทรายเป็นผลผลิตแล้วยังมีผลพลอยได้และของเสียจากกระบวนการผลิตน้ำตาลหลายชนิด อาทิ กากน้ำตาล กากอ้อย กากหม้อกรอง น้ำเสีย อย่างไรก็ตามกากน้ำตาลและกากอ้อยนั้นถือเป็นผลพลอยได้และของเสียที่มีมูลค่าในตัว แต่กากหม้อกรอง (sugarcane filter press mud, sugarcane press mud, sugarcane filter cake mud, sugarcane filtercake หรือ sugarcane filter mud) ซึ่งเป็นตะกอนที่ได้หลังจากขั้นตอนการทำใส่น้ำอ้อยของโรงงานนั้นมีปริมาณเหลือทิ้งจากการผลิตน้ำตาลรวมทั้งประเทศประมาณ 2 ล้านตันต่อปี ในอดีตไม่สามารถสร้างมูลค่าเพิ่มตัวเองได้นอกจากจะนำไปเป็นปุ๋ยหรือสารปรับปรุงดินใส่ในไร่อ้อย และผสมทำอาหารสัตว์ กากหม้อกรองจึงจัดเป็นของเสียของโรงงานที่มีมูลค่าต่ำ แต่จากการศึกษาข้อมูลงานวิจัยที่มีมาก่อนล่าสุดพบว่า ไขอ้อยที่สกัดได้จากกากหม้อกรองเป็นสารที่มีมูลค่าเชิงเศรษฐศาสตร์เป็นอย่างมาก เนื่องจากมีองค์ประกอบทางเคมีเป็นสารจำพวก fatty ester, fatty alcohol, free fatty acids และ phytosterols เป็นต้น สารเคมีดังกล่าวมีการนำไปใช้ประโยชน์เป็นส่วนผสมสำคัญในการผลิตผลิตภัณฑ์ในระดับอุตสาหกรรมหลายประเภท อาทิเช่น เครื่องสำอาง ยา และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร^[2]

กิตติวุฒิ เกษมวงศ์ และคณะ (2557) ^[3] ได้ทำการศึกษาถึงความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ของการสกัดไขมันจากกากหม้อกรองซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งในโรงงานผลิตน้ำตาลทรายจากอ้อย ด้วยเทคนิค sc-CO₂ จากการศึกษาพบว่า เมื่อเพิ่มความดันและอุณหภูมิส่งผลให้ความสามารถในการละลายของน้ำมันดีขึ้น จึงทำให้การสกัดดีขึ้น โดยในงานวิจัยนี้ ปริมาณไขมันที่สกัดได้สูงสุดเท่ากับร้อยละ 4.7 ที่สภาวะความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 80°C ในระยะเวลา 60 นาที โดยคุณภาพของไขมันที่ได้จะมีค่า acid value เท่ากับ 22.24 mg KOH/g ค่า saponification value เท่ากับ 43 mg KOH/g ค่า iodine value เท่ากับ 41 g I₂/100g และค่าจุดหลอมเหลวอยู่ในช่วง 70-74°C ซึ่งค่าต่างๆ เหล่านี้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานทางการค้าที่กำหนดไว้ และเมื่อทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีเชิงปริมาณของไขมันที่สกัดได้ด้วยเทคนิคเครื่อง Thin Layer Chromatography/Flame Ionization Detection (TLC/FID) พบว่าไขมันที่สกัดได้นั้นประกอบด้วย Wax ester (42.8%) Fatty aldehyde (8.8%) Free Fatty acid (25.5%) Fatty alcohol (15.4%) และ Sterol (1.9%) อย่างไรก็ตามพบว่าไขมันที่ได้จากการสกัดจะมีสีเขียวกะดกและกลิ่นที่รุนแรง ซึ่งจากการศึกษาพบว่าเป็นองค์ประกอบของคลอโรฟิลล์ ถูกสกัดออกมาปนกับไขมันเมื่อใช้สารละลายเอทานอลเป็นตัวร่วมในกระบวนการสกัด การปนเปื้อนของสารสีเขียวกะดกหรือคลอโรฟิลล์ ซึ่งกลายเป็นอุปสรรคอย่างมากต่อการนำไขมันไปใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์เป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง นอกจากนี้การศึกษาวิจัยดังกล่าว เป็นการศึกษาวิจัยในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งค่อนข้างยากต่อการนำไปประเมินถึงความคุ้มค่าในการลงทุนของผู้ประกอบการ ตลอดจนความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ในการลงทุน

ไขมัน (Sugarcane wax) เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำที่น่าสนใจ ส่วนมากไขมันจะได้จากการสกัดกากหม้อกรอง ในปัจจุบันมีประโยชน์ในแง่การนำเอาไปใช้เป็นสารตั้งต้นในอุตสาหกรรมยา และเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้แทน Carnauba wax ที่มีราคาแพงในการผลิตเครื่องสำอาง อาหาร และผลิตภัณฑ์ยาได้เป็นอย่างดี ^[4] การสกัดไขมันจากกากหม้อกรองมีส่วนช่วยให้กากหม้อกรองที่เหลือสามารถนำไปใช้เป็นปุ๋ยที่ย่อยสลายได้มากขึ้นเพราะเป็นการลดปริมาณไขมันที่จะใช้เป็นปุ๋ยทำให้การย่อยสลายในธรรมชาติเกิดขึ้นได้ดีกว่า^[5] ส่วนประกอบที่สำคัญที่มีอยู่ในไขมันมีหลายชนิดและมีปริมาณไม่แน่นอนคงที่คือ กลุ่ม Fatty acid คีโตน แอลดีไฮด์ เอสเทอร์ แอลกอฮอล์ที่ไม่ชอบน้ำหรือกลุ่ม Policosanol (a mixture of long chain primary aliphatic alcohols) และกลุ่มของสารพวก Phytosterols^[6] จากรายงานการวิจัยสาร policosanol และ phytosterols มีคุณสมบัติช่วยลดคอเลสเตอรอลในเลือดได้เป็นอย่างดี (cholesterol-lowering products)^[7-8] ในระหว่างกระบวนการผลิตน้ำตาลจากอ้อยนั้น ตัวไขมันโดยมากจะถูกทำให้ละลายผสมใน crude juice แล้วถูกกรองหลังจากการทำ defecation และ clarification ได้ของเหลือคือกากหม้อกรอง หรืออาจจะออกมาได้ของในรูปของกากสา (vinasse) วิธีการสกัดไขมันจากกาก

หม้อกรองนั้นมีหลายกลุ่มวิจัยได้มีการศึกษามาแล้วโดยการใช้การสกัดด้วยวิธีและตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ^[9-12] ส่วนการวิเคราะห์ไขอ้อยจากกากสำได้มีการศึกษาโดยคณะวิจัยของ Nussier^[13]

เทคโนโลยีที่ใช้ในการสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองโดยทั่วไปในปัจจุบันที่นิยมใช้เป็นการสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยตัวทำละลายที่ใช้จะเป็นตัวทำละลายอินทรีย์หลายชนิด เช่น ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane; CH_2Cl_2) คาร์บอนเตตระคลอไรด์ carbon tetrachloride (CCl_4) เฮกเซน (hexane; C_6H_{14}) และไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ (Isopropyl alcohol; $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$) เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่ามีการใช้ตัวทำละลายมากกว่า 1 ชนิดผสมกันอีกด้วย

การศึกษาของ Partha และ Sivasubramanian^[14] ได้ทดลองสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ Benzene Toluene และ Hexane และพบว่า Hexane สามารถสกัดไขอ้อยออกจากกากหม้อกรองได้มากกว่าการใช้ Benzene และ Toluene เป็นตัวทำละลาย

สมบัติ ขอทวีวัฒนา และคณะ^[2] ได้ทำการศึกษาและพัฒนากระบวนการสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรอง โดยอาศัยเทคนิค accelerated solvent extraction (ASE) ด้วยเอทานอล เปรียบเทียบกับการสกัดโดยเทคนิค reflux extraction ด้วย hexane พบว่า การสกัดโดย ASE ให้ปริมาณไขอ้อยในปริมาณ 12.49% ในขณะที่การสกัดโดยกระบวนการ reflux ด้วย hexane ให้ปริมาณไขอ้อยเพียง 9.03% โดยที่คุณลักษณะขององค์ประกอบของไขอ้อยที่ได้จากเทคนิค ASE ด้วยเอทานอล มีส่วนประกอบของ wax ester และ fatty alcohol สูงกว่าไขอ้อยที่ได้จากการสกัดด้วยเทคนิค reflux

ในปัจจุบันเทคโนโลยีที่ใช้ในการสกัดไขอ้อยจะใช้เทคนิคเดียวกันกับการสกัดไลปิด (Lipid) โดยใช้ตัวทำละลายเป็นสารเคมีหลักในการสกัด ตัวทำละลายที่นิยมใช้คือ ตัวทำละลายไม่มีขั้วได้แก่ Hexane ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมสกัดสารจากน้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ ในกรณีนี้หลังจากการสกัดด้วยตัวทำละลายแล้วจะทำให้เกิดของเสียตัวทำละลายปริมาณมากและยากแก่การนำกลับมาใช้ใหม่ เทคโนโลยีการสกัดโดยไม่ใช้ตัวทำละลายสามารถทำได้โดยการสกัดโดยของไหลเหนือวิกฤต (supercritical fluid extraction) ก๊าซที่นิยมนำมาใช้เป็นของไหล คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตจะอยู่ในภาวะที่จำแนกไม่ได้ว่าเป็นแก๊สหรือของเหลว โดยภาวะเช่นนี้สามารถอธิบายได้จากแผนภาพวัฏภาคของความดันและอุณหภูมิ (pressure-temperature phase diagram) ดังแสดงในรูปที่ 1^[15]

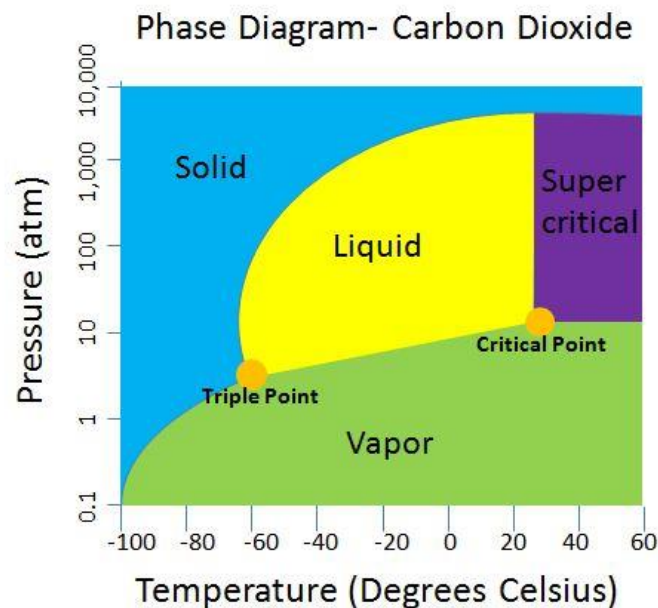


Image by Mavish Mahomed- University of California, Davis

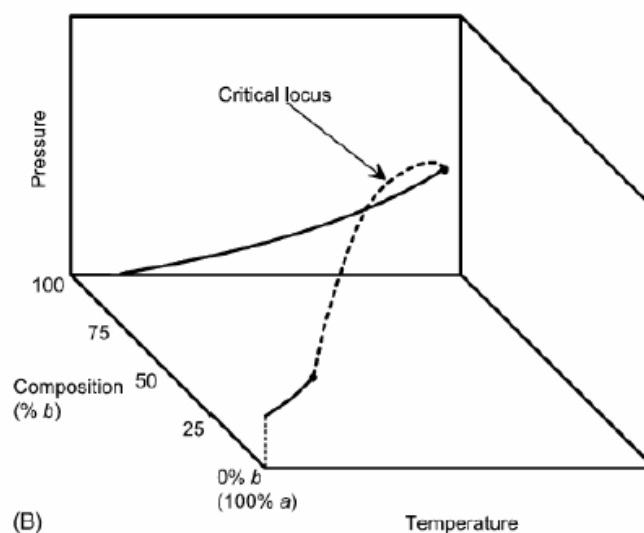
ภาพที่ 1 แสดงแผนภาพของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในสถานะต่าง ๆ ได้แก่ของแข็ง ของเหลว ก๊าซ และของไหลเหนือวิกฤต

จากแผนภาพจะเห็นว่าเส้น 3 เส้นที่แบ่งสารเป็น 3 บริเวณตามสถานะของแข็ง ของเหลว และก๊าซ โดยมีเส้นการระเหิด (sublimation line) อยู่ระหว่างบริเวณที่สารอยู่ในสถานะของแข็งกับก๊าซ เส้นการหลอมเหลว (melting line) จะอยู่ระหว่างสถานะของแข็งกับของเหลว และเส้นความดันไอ (vapour pressure line) อยู่ระหว่างสถานะก๊าซกับของเหลว และจุดที่อยู่ระหว่างทั้ง 3 สถานะเรียกว่า triple point โดยก๊าซสามารถเปลี่ยนสถานะเป็นของเหลวได้ 2 วิธีคือ การเพิ่มความดันหรือลดอุณหภูมิเพื่อลดพลังงานจลน์ แต่ที่อุณหภูมิสูงกว่าจุด ๆ หนึ่ง โมเลกุลของก๊าซจะมีพลังงานจลน์มาก แม้ให้ความดันเท่าใดก็ไม่สามารถทำให้ก๊าซเกิดการควบแน่นเป็นของเหลวได้ อุณหภูมิสูงสุดที่ก๊าซยังสามารถควบแน่นเป็นของเหลวได้ เรียกว่า อุณหภูมิวิกฤต (critical temperature) และความดันที่จุดนี้เรียกว่า ความดันวิกฤต (critical pressure) จุดที่อุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิวิกฤต และความดันเท่ากับความดันวิกฤตเรียกว่า จุดวิกฤต (critical point) ในกรณีของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ การที่จะเป็นของไหลเหนือวิกฤตได้จะต้องมีอุณหภูมิมากกว่า 31.1 °C และมีความดันมากกว่า 73 atm

การสกัดโดยใช้ของไหลภาวะเหนือวิกฤตนั้นบางครั้งมีข้อจำกัดในเรื่องของความสามารถของตัวทำละลายที่น้อย ดังนั้นจึงมีการใช้ตัวทำละลายร่วมหรือที่เรียกว่า co-solvent หรือ modifier ชนิดต่าง ๆ เพื่อนำเข้าไปผสมเพื่อเป็นการเพิ่มความสามารถของตัวทำละลายของของไหลภาวะเหนือวิกฤต

ทำให้การละลายสารสกัดที่ต้องการดีขึ้น เนื่องจากเกิดแรงดึงดูดที่แข็งแรงระหว่างโมเลกุลของ co-solvent กับโมเลกุลของสาร เช่นการเติมเอทานอลที่เป็นตัวทำละลายที่มีขั้วเพื่อช่วยละลายหรือสกัดสารที่มีขั้วในตัวอย่างได้ดีขึ้น ข้อดีจะช่วยลดเวลาในการสกัดลงและลดปริมาณของของไหลภาวะเหนือวิกฤตที่ใช้ลงด้วย อย่างไรก็ตามการเติม co-solvent นี้จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเฟสไดอะแกรม ดังนั้นการทำนายพฤติกรรมของตัวทำละลายจึงเป็นไปได้ยาก และต้องทำการศึกษาทุกครั้งที่มีการเปลี่ยนแปลง ^[16,17]

เฟสไดอะแกรมของสารบริสุทธิ์นั้นสามารถแสดงได้ดังรูปที่ 1 ซึ่งเป็นแบบ 2 มิติ แต่เมื่อมีการเพิ่มตัวแปรลงไปเช่น ต้องการใช้ระบบ co-solvent ระบบจะเป็นของผสมสองชนิด (binary mixtures) การอธิบายการประพฤติตัวของเฟสของของผสมนั้นจะต้องอธิบายด้วยแผนภาพสามมิติ ดังตัวอย่างรูปที่ 2 เส้นการเดือดของสารประกอบ 2 ชนิดคือ สาร a และ b จะอยู่ที่ระนาบแต่ละด้าน สารบริสุทธิ์จะมีจุดวิกฤตเฉพาะของแต่ละสาร ในทำนองเดียวกันที่มีองค์ประกอบหนึ่งนั้นจะมีจุดวิกฤตเฉพาะเช่นกัน โดยจุดวิกฤตของของผสม a กับ b ที่องค์ประกอบใด ๆ จะเชื่อมต่อกับจุดวิกฤตของสารบริสุทธิ์ a และ b ^[18]



ภาพที่ 2 แสดงตัวอย่างของเฟสไดอะแกรมของของผสม

Lucas และคณะ ^[19] ได้ทำการศึกษถึงการปรับปรุงการสกัดเพื่อให้ไขอ้อยมีความบริสุทธิ์มากขึ้น โดยทำการศึกษากการสกัดไขอ้อยบริสุทธิ์ ด้วยเทคนิค supercritical CO₂ สรุปว่า ไขอ้อยที่ได้จากวิธีการสกัดด้วย supercritical CO₂ extraction มีความบริสุทธิ์สูงกว่าไขที่สกัดด้วยตัวทำละลาย

และสามารถเก็บเกี่ยว สารประกอบในกลุ่ม wax alcohol หรือ policosanol ซึ่งเป็นสารโชนเภสัช ที่นิยมนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ออกมาได้ในปริมาณที่มากกว่าอีกด้วย

Lutermann และคณะ^[20] ศึกษาการสกัด Polycyclic aromatic hydrocarbon โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตร่วมกับ co-solvent และสารผสมของ co-solvent จากผลการศึกษาพบว่าสารที่สกัดได้นั้นมีอันตรกิริยากับโครงข่าย (Matrix) ในอนุภาคสูง โดยเป็นการยึดกันด้วยพันธะเคมี ดังนั้น การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตเพียงอย่างเดียวจึงไม่สามารถสกัดได้ดี การเติม co-solvent จะช่วยในการทำลายอันตรกิริยาระหว่างสารที่ต้องการสกัดกับโครงข่ายในอนุภาค จากการทดลองพบว่า การใช้ co-solvent แบบมีขั้ว เช่น เมทานอล ให้ผลดีกว่าการใช้คาร์บอนไดออกไซด์บริสุทธิ์เพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมกรดอะซิติกเพียงเล็กน้อยในเมทานอล (Binary modifiers) จะสามารถช่วยให้การสกัดดีขึ้นได้

Clark และคณะ^[21] รายงานการศึกษาการสกัดผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสกัดฟางข้าวสาลี (wheat straw) โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหลว (liquid CO₂) และคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต (supercritical CO₂) ที่สามารถเลือกส่วนประกอบสุดท้ายของผลิตภัณฑ์ตามความต้องการด้วยการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและความดัน นอกจากนี้ยังรายงานว่าการใช้ modifier (co-solvent) นำไปสู่การได้ไซที่ไม่สามารถควบคุมคุณภาพผลผลิตได้

1.2 วิธีการทดลองและผลการทดลอง

1.2.1 การเก็บตัวอย่างกากหม้อกรองจากโรงงาน

ทำการเก็บตัวอย่างกากหม้อกรองจากโรงงานน้ำตาลโดยได้รับความอนุเคราะห์ตัวอย่างกากหม้อกรองจากกลุ่มโรงงานน้ำตาลไทยรุ่งเรือง โรงงานอุตสาหกรรมน้ำตาลบ้านไร่ แหล่งที่มาจากจังหวัดอุทัยธานี หลังจากการเปิดหีบอ้อยช่วงเดือนพฤศจิกายน 2558 โดยได้รับตัวอย่างกากหม้อกรองเปียก ชุดแรก ในวันที่ 22 ธันวาคม 2558 จำนวนประมาณ 100 กิโลกรัม นำมาตากแห้งเองทำให้ได้ตัวอย่างกากหม้อกรองแห้งประมาณ 30 กิโลกรัม นำมาทำการบดละเอียดเพื่อนำไปใช้ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทานอล และไอโซโพรพานอล เพื่อให้ได้ข้อมูลใช้ในการเปรียบเทียบกับ การสกัดด้วยเครื่องสกัดคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตในระดับกึ่งอุตสาหกรรม ทั้งในเรื่องขององค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ไซอ้อยที่ได้ ปริมาณ yield ของไซอ้อยที่สกัดได้ และคุณภาพของกากหม้อกรองทั้งก่อนและหลังจากการสกัดดังกล่าว

ได้รับความอนุเคราะห์ตัวอย่างกากหม้อกรองแห้งจากโรงงาน ชุดที่ 2 ในวันที่ 21 มกราคม 2559 จำนวนประมาณ 400 กิโลกรัม นำส่งไปที่โรงงานสกัด ณ ศูนย์พัฒนาระบวนการผลิตเภสัชภัณฑ์และสมุนไพร อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี เพื่อเตรียมความพร้อมในการสกัดในชุดสกัดขนาด 50 ลิตร



ภาพที่ 3 คณะวิจัยจากศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติเยี่ยมชมศูนย์พัฒนาระบวนการผลิตเภสัชภัณฑ์และสมุนไพรที่มีเครื่องสกัดคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตขนาด 50 ลิตร ร่วมกับวิศวกรจากโรงงานน้ำตาลไทยรุ่งเรือง



ภาพที่ 4 ตัวอย่างกากหม้อกรองแห้งที่ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานอุตสาหกรรมน้ำตาลบ้านไร่



ภาพที่ 5 ตัวอย่างกากหม้อกรองแห้งที่ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานอุตสาหกรรมน้ำตาลบ้านไร่ ที่ต้องมีการอบแห้งเพิ่มเติมในตู้อบลมร้อน

1.2.2 การวิเคราะห์ตามมาตรฐานปุ๋ยของตัวอย่างกากหม้อกรองก่อนและหลังจากการสกัด

1.2.2.1 หาค่าความชื้น (moisture content) นำตัวอย่างกากหม้อกรองแห้งชุดแรก มาวัดค่าความชื้น ได้ค่าเท่ากับ 16.39% (ตากแดดในที่โล่งเป็นเวลา 2 วัน) ตัวอย่างกากหม้อกรองชุดที่ 2 ที่ได้รับมา (หลังจากตากแดดในที่โล่งจากทางโรงงานเป็นเวลา 1 วัน) นำมาวัดค่าความชื้นพบว่า ยังมีความชื้นมากกว่า 25% เนื่องจากกากหม้อกรองที่จะนำมาทำการสกัดควรต้องมีความชื้นน้อย เพื่อยับยั้งกิจกรรมการย่อย/หมักของจุลินทรีย์ ดังนั้นจึงมีการอบลมร้อนเพิ่มเติมด้วยเครื่องอบลมร้อน จนทำให้ได้ค่าความชื้นลดลงเหลือเท่ากับ 16.40% ก่อนที่จะถูกนำไปสกัดด้วย ตัวทำละลาย (ภาพที่ 6) นำตัวอย่างกากหม้อกรองที่เก็บรวบรวมได้มาวิเคราะห์เบื้องต้นเพื่อสร้างมาตรฐานเบื้องต้น โดยทำการวิเคราะห์ทดสอบค่าตามมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ตามรายการที่มีการตรวจสอบ แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงรายการวิเคราะห์ทดสอบมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ตามเกณฑ์มาตรฐานเพื่อการขึ้นทะเบียน

ลำดับ	รายการวิเคราะห์/ทดสอบ	เกณฑ์มาตรฐาน
1	ขนาดปุ๋ย	ไม่เกิน 12.5 x 12.5 มิลลิเมตร
2	ปริมาณความชื้นและสิ่งิที่ระเหยได้	ไม่เกิน 30% โดยน้ำหนัก
3	ปริมาณ หิน กรวด ทราย	ขนาดใหญ่กว่า 5 มิลลิเมตร ไม่เกิน 2% โดยน้ำหนัก
4	พลาสติก แก้ว วัสดุมีคม และโลหะอื่นๆ	ต้องไม่พบ
5	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	5.5 - 8.5
6	ค่าการนำไฟฟ้า (EC)	ไม่เกิน 10 เดซิซีเมน/เมตร
7	ค่าอินทรีย์วัตถุ (OM)	ไม่น้อยกว่า 20% โดยน้ำหนัก
8	ไนโตรเจนทั้งหมด (total N)	ไม่น้อยกว่า 1.0% โดยน้ำหนัก
9	ฟอสเฟตทั้งหมด (total P ₂ O ₅)	ไม่น้อยกว่า 0.5% โดยน้ำหนัก
10	โพแทสเซียมทั้งหมด (total K ₂ O)	ไม่น้อยกว่า 0.5% โดยน้ำหนัก
11	อัตราส่วนของธาตุคาร์บอนต่อธาตุไนโตรเจน (C/N Ratio)	ไม่เกิน 20:1
12	การย่อยสลายที่สมบูรณ์ (GI)	มากกว่า 80%
13	ปริมาณเกลือ (Na)	ไม่เกิน 1% โดยน้ำหนัก
14	สารหนู (As)	ไม่เกิน 50 mg/kg
15	แคดเมียม (Cd)	ไม่เกิน 5 mg/kg
16	ตะกั่ว (Pb)	ไม่เกิน 500 mg/kg
17	โครเมียม (Cr)	ไม่เกิน 300 mg/kg
18	ทองแดง (Cu)	ไม่เกิน 500 mg/kg
19	ปรอท (Hg)	ไม่เกิน 2 mg/kg

ที่มา: <http://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2548/00172707.PDF>



ภาพที่ 6 ตู้อบลมร้อน เพื่อทำการอบตัวอย่างเพิ่มเติมให้ได้ความชื้นที่ต้องการ

จากค่าการวิเคราะห์ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2 อ้างอิงตามมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ (ตารางที่ 1) พบว่า ตัวอย่างกากหม้อกรองแห้งที่ได้จากโรงงานแห่งนี้ ไม่สามารถระบุหรือให้คำนิยามว่าเป็นปุ๋ยอินทรีย์ ได้ เนื่องจากปริมาณธาตุอาหารโพแทสเซียมทั้งหมด (K_2O) ไม่ผ่านมาตรฐานคือมีน้อยกว่า 0.5 % และค่าการย่อยสลายที่สมบูรณ์มีค่าน้อยกว่า 80 % ซึ่งกากหม้อกรองจากโรงงานนั้นถ้าจะนำมาใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์จำเป็นต้องมีการหมักและเพิ่มเติมธาตุอาหารโพแทสเซียมให้พร้อมที่จะนำไปใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์ต่อไปได้ เบื้องต้นจากการวิเคราะห์สามารถระบุนำไปใช้เป็นวัสดุเพื่อปรับปรุงดินได้เท่านั้น และจากผลการทดลองหลังจากที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ เฮกเซน เอทานอล ไอโซโพรพานอล และการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต ไม่ได้ทำให้ค่าการวิเคราะห์แตกต่างจากกากหม้อกรองแห้งที่ได้จากโรงงานเบื้องต้น อย่างมีนัยยะสำคัญ เพียงแต่การสกัดไข้อยากากหม้อกรองด้วยตัวทำละลายดังกล่าว มีส่วนช่วยให้กากหม้อกรองที่เหลือสามารถนำไปใช้เป็นปุ๋ยที่ย่อยสลายได้ดี/มากขึ้นเพราะเป็นการลดปริมาณไขก่อนที่จะใช้เป็นปุ๋ย ทำให้การย่อยสลายในธรรมชาติเกิดขึ้นได้ดีกว่า^[5] ดังนั้น การสกัดเอาไข้อยู่และสารสำคัญออกจากกากหม้อกรองไม่ว่าจะด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายหรือการใช้ของไหลยิ่งวิกฤตคาร์บอนไดออกไซด์ ไม่กระทบกับการนำกากหม้อกรองที่เหลือไปใช้เป็นวัสดุปรับปรุงดินในแปลงไร่อ้อยของเกษตรกร ในทางกลับกันการสกัดดังกล่าวสามารถสร้างมูลค่าเพิ่มจากการใช้ประโยชน์ไข้อยู่และสารสำคัญที่สกัดออกมาได้เป็นอย่างดี

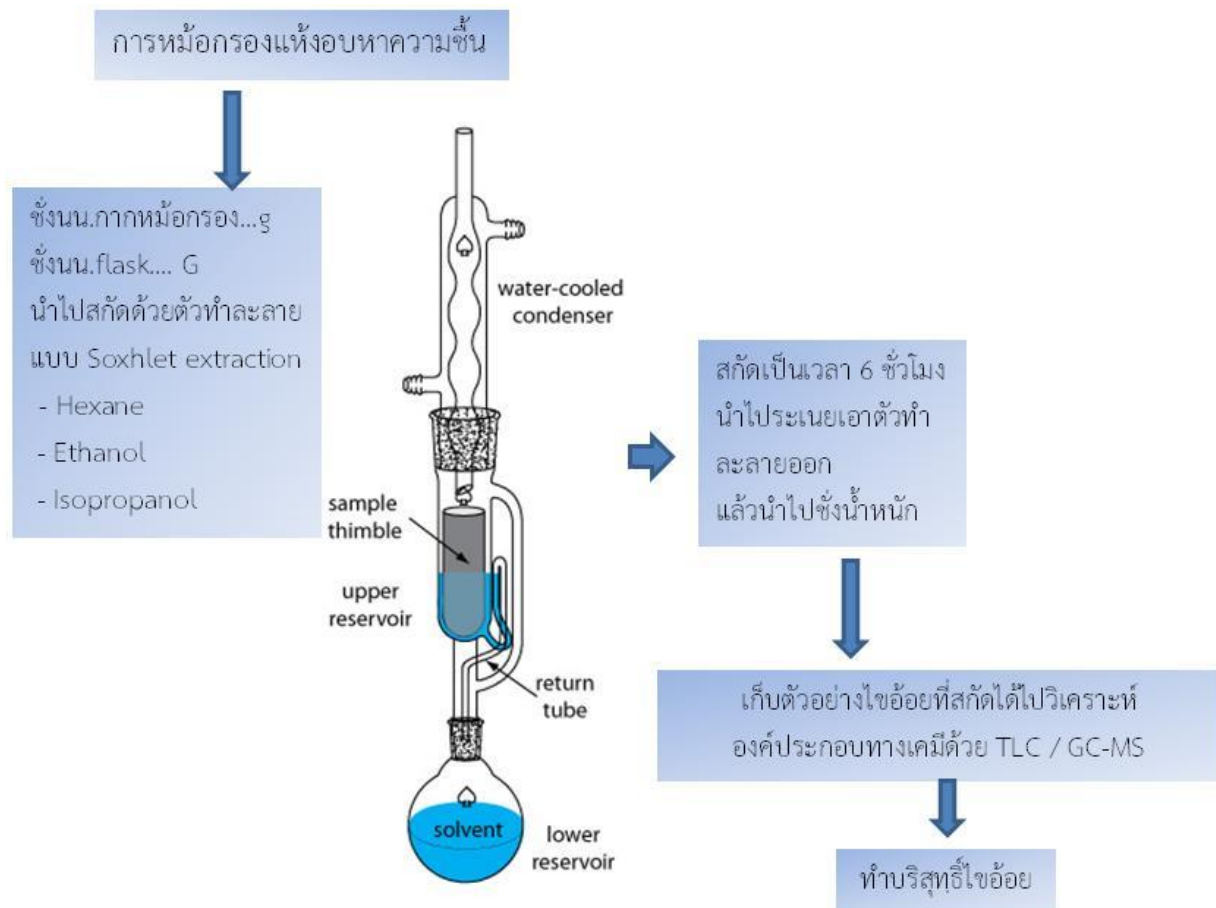
ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์จากกากหม้อกรองเริ่มต้น เทียบกับหลังที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ

รายการวิเคราะห์ทดสอบ	ตัวอย่างกากหม้อกรองเริ่มต้น	หลังจากสกัดด้วยเฮกเซน	หลังจากสกัดด้วยเอทานอล	หลังจากสกัดด้วยไอโซโพรพานอล	หลังจากสกัดด้วย supercritical CO ₂
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	8.50	8.00	8.30	8.30	8.10
ค่าการนำไฟฟ้า (EC)	0.89 dS/m	1.40 dS/m	0.56 dS/m	1.29 dS/m	0.67 dS/m
Organic Carbon ทั้งหมด (TOC)	25.70 %	28.20 %	29.60 %	30.20 %	24.50 %
ค่าอินทรีย์วัตถุ (OM)	44.30 %	48.60 %	51.00 %	52.00 %	42.20 %
ไนโตรเจนทั้งหมด (Total N), (%)	1.40	1.60	1.60	1.50	1.20
ฟอสเฟตทั้งหมด (P ₂ O ₅), (%)	2.60	3.10	3.10	3.00	2.30
โพแทสเซียมทั้งหมด (K ₂ O), (%)	0.40	0.43	0.39	0.39	0.40
การย่อยสลายที่สมบูรณ์ (GI)	54.24 %	56.36 %	51.82 %	53.33 %	54.54 %
(C/N Ratio)	18.36 : 1	17.62 : 1	18.50 : 1	20.13 : 1	20.42 : 1

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาปริมาณโลหะหนักซึ่งเป็นปริมาณสารอินทรีย์ ที่ไม่ได้มีผลหลังจากการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ค่าที่จะผ่านมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์จะขึ้นอยู่กับค่าที่วัดได้จากตัวอย่างกากหม้อกรองแห้งเริ่มต้นเท่านั้น จึงไม่ได้ทำการวัดค่าดังที่ได้มีการเสนอไว้ในโครงการ แต่ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณเบื้องต้นของโลหะหนักแคดเมียม (Cd) ได้ค่าน้อยกว่า 1 ppm และตะกั่ว (Pb) ได้ค่าน้อยกว่า 20 ppm ซึ่งไม่ได้เกินมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ที่ได้มีการระบุไว้

1.2.3 การสกัดกากหม้อกรองแห้งด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทานอล และไอโซโพรพานอล ด้วยวิธีการสกัดแบบ Soxhlet

ทำการสกัดกากหม้อกรองแห้ง (10 กรัม) บนชุด Soxhlet ด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ เฮกเซน เอทานอล และไอโซโพรพานอลเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 ไดอะแกรมกระบวนการสกัดด้วยตัวทำละลาย

รายละเอียดวิธีการสกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction

1.2.3.1 นำกากหม้อกรองไปอบหาความชื้น บันทึกผล

1.2.3.2 ชั่งน้ำหนักกากหม้อกรองแห้งที่ได้จาก 2.3.1 ปริมาณ 10 กรัม จำนวน 3 ชุด

1.2.3.3 เริ่มสกัดด้วยชุดการสกัด Soxhlet เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยใช้ตัวทำละลาย ได้แก่

- Hexane ปริมาตร 300 ml ที่อุณหภูมิ 72 °C
- Isopropanol ปริมาตร 300 ml ที่อุณหภูมิ 86 °C
- Ethanol ปริมาตร 300 ml ที่อุณหภูมิ 82 °C

1.2.3.4 นำสารตัวอย่างที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator

1.2.3.5 บันทึกน้ำหนักสารตัวอย่าง (ไขอ้อย) ที่ได้ เพื่อหาปริมาณร้อยละน้ำหนักของไขที่สกัดได้และปริมาณร้อยละของกากหม้อกรองหลังจากการสกัดได้ดังตารางที่ 3 และตารางที่ 4

ตารางที่ 3 ร้อยละปริมาณไขอ้อยที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ จากกากหม้อกรองแห้งที่เวลาต่างๆ

วันที่	นน.กากหม้อกรองเริ่มต้น (g)			เวลา สกัด (hr)	น้ำหนักไขอ้อยที่สกัดได้ (g)			% ไขอ้อยที่สกัดด้วยตัวทำ ละลายในกากหม้อกรอง		
	เฮกเซน	ไอโซโพรพานอล	เอทานอล		เฮกเซน	ไอโซโพรพานอล	เอทานอล	เฮกเซน	ไอโซโพรพานอล	เอทานอล
1/11/2558	10.0900	10.0700	10.0800	6.05	0.6500	0.3800	0.4600	6.44	3.77	4.56
18/1/2559	10.0033	10.0063	10.0013	6.04	0.7078	0.6111	0.4290	7.08	6.11	4.29
25/1/2559	10.0058	10.0069	10.0006	6.00	0.6928	0.5312	0.4089	6.92	5.31	4.09
28/1/2559	10.0007	10.0014	10.0009	6.00	0.7687	0.6543	0.5662	7.69	6.54	5.66
29/1/2559	10.0021	10.0009	10.0013	6.00	0.6442	0.6055	0.4218	6.44	6.05	4.22
2/1/2559	10.0001	10.0027	10.0006	6.07	0.7155	0.6624	0.5889	7.15	6.62	5.89
2/4/2559	10.0001	10.0017	10.0001	6.03	0.7238	0.6133	0.3965	7.24	6.13	3.96
เฉลี่ย								6.99	5.79	4.67

ตารางที่ 4 ร้อยละปริมาณของกากหม้อกรองหลังจากที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ

วันที่	นน.กากหม้อกรองเริ่มต้น (g)			เวลา สกัด (hr)	น้ำหนักกากหม้อกรองหลังสกัด (g)			% กากหม้อกรองหลังสกัดด้วยตัวทำ ละลาย		
	เฮกเซน	ไอโซโพรพานอล	เอทานอล		เฮกเซน	ไอโซโพรพานอล	เอทานอล	เฮกเซน	ไอโซโพรพานอล	เอทานอล
1/11/2558	10.0900	10.0700	10.0800	6.05	7.796	8.3103	7.7414	77.26	82.53	76.80
18/1/2559	10.0033	10.0063	10.0013	6.04	7.512	8.0196	7.5965	75.09	80.15	75.96
25/1/2559	10.0058	10.0069	10.0006	6.00	7.886	8.1224	8.2079	78.81	81.17	82.07
28/1/2559	10.0007	10.0014	10.0009	6.00	7.894	8.2092	8.5477	78.93	82.08	85.47
29/1/2559	10.0021	10.0009	10.0013	6.00	8.25	8.3585	8.2086	82.48	83.58	82.08
2/1/2559	10.0001	10.0027	10.0006	6.07	8.102	8.0899	8.1031	81.02	80.88	81.03
2/4/2559	10.0001	10.0017	10.0001	6.03	8.24	8.4312	8.6042	82.39	84.30	86.04
เฉลี่ย								68.15	82.10	81.35

จากผลการทดลองการสกัดไขมันจากกากหม้อกรอง (ความชื้นตัวอย่างประมาณ 14-16%) ด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ เฮกเซน เอทานอล และไอโซโพรพานอล ในตารางที่ 3 และตารางที่ 4 พบว่าตัวทำละลายเฮกเซนสามารถสกัดไขมันออกมาได้ปริมาณมากที่สุดเฉลี่ยคือ 6.99% รองลงมาคือ เอทานอล (5.79%) และไอโซโพรพานอล (4.67%) ตามลำดับ และเหลือกากหม้อกรองหลังจากการสกัดด้วยตัวทำละลายแล้ว คือ 68.15% 82.10% และ 81.35% ตามลำดับ เมื่อนำไปเทียบผลการสกัดไขมันที่ได้มีการทำในรายงานของสมบัติและคณะ^[3] จากกากหม้อกรองของโรงงานมิตรภูเขียว จังหวัดชัยภูมิ พบว่ามีค่าน้อยกว่าค่อนข้างมากโดยสมบัติและคณะ^[3] ได้ทำการสกัดแบบ Soxhlet Extraction ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทานอล และไอโซโพรพานอล ในครั้งที่ 1 และ 2 ได้สารสกัดหยาบเฉลี่ย 18.49% 16.91% และ 20.13% ตามลำดับ ส่วนในการสกัดครั้งที่ 3 (ตัวอย่างกากหม้อกรองคนละชุดกับ ครั้งที่ 1 และ 2) พบว่าเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดหยาบที่ได้น้อยกว่าการสกัดในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 และมีลักษณะของสารสกัดที่ได้เป็นสีเขียวเข้ม อันเนื่องมาจากลักษณะของสารตัวอย่างที่นำมาสกัดในครั้งที่ 3 นั้น มีคุณลักษณะที่แตกต่างจากตัวอย่างที่เก็บได้ในครั้งแรก นั่นคือในการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 และ 2 ซึ่งสารตัวอย่างจะมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเป็นผงละเอียดและมีน้ำหนักเบา ในส่วนของสารตัวอย่างที่ใช้ในสกัดครั้งที่ 3 นั้นสารตัวอย่างมีคุณลักษณะเป็นสีเขียวและเป็นก้อนจึงต้องนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดละเอียดก่อนทำการสกัด ทำให้สรุปว่าคุณภาพและแหล่งที่มาของตัวอย่างกากหม้อกรองแห่งเริ่มต้นมีผลกับการปริมาณไขมันที่สกัดได้เป็นอย่างมาก แนะนำให้มีการตรวจสอบอาจจะเป็นการทำ soxhlet extraction ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน หรือทำ proximate total lipid ก่อนทำการสกัดด้วยระบบ sc-CO₂ ทุกครั้งเพื่อควบคุมคุณภาพในการสกัด

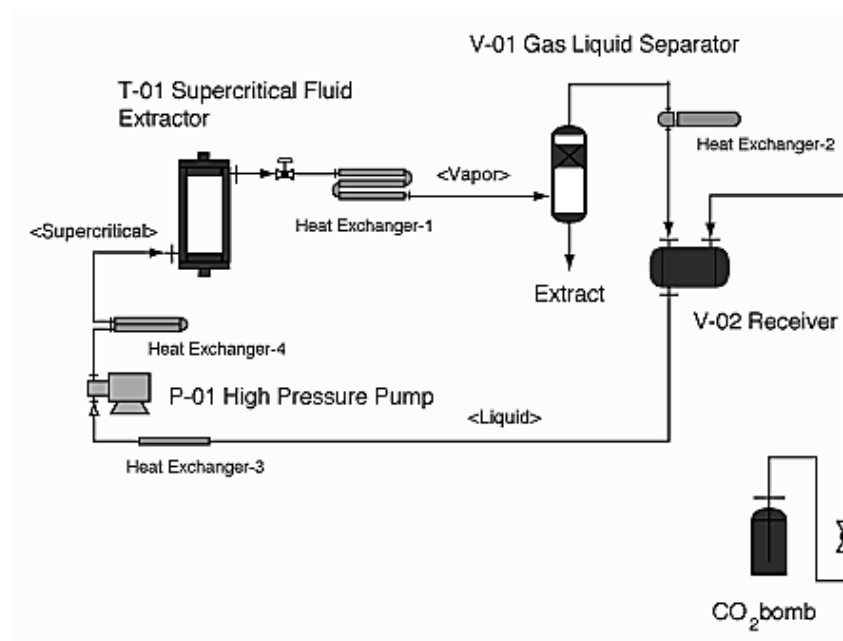
1.2.4 การวางแผนการทดลองการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดไขมันจากกากหม้อกรองด้วย Supercritical Fluid Carbon Dioxide (SFC)

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดไขมันจากกากหม้อกรองด้วย Supercritical Fluid Carbon Dioxide (SFC) เครื่องที่ศูนย์พัฒนากระบวนการผลิตเภสัชภัณฑ์และสมุนไพร (Super Critical Extraction Model TH 22 50Lx2) คู่มือคุณภาพผนวก สำหรับกระบวนการเดินเครื่องเพื่อการสกัด

โดยปัจจัยศึกษา คือ อุณหภูมิการสกัด ความดัน และเวลา โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่สามารถให้ผลได้ (Extraction Yield) สูงที่สุด สภาวะที่เหมาะสมคุ้มค่าเชิงเศรษฐศาสตร์ และสภาวะที่สามารถสกัด Policosanol ได้ปริมาณที่สูงสุด

1.2.4.1 กระบวนการสกัดโดยของไหลวิกฤตยิ่งยวด

กระบวนการสกัดโดยของไหลวิกฤตยิ่งยวดโดยทั่วไปแล้วมักจะทำแบบ batch ธรรมดาและใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดเป็นตัวทำละลายจากภาพที่ 8 เป็นกระบวนการแบบ batch cycle ซึ่งของแข็งหรือสารละลายของเหลวที่ต้องการจะถูกใส่เข้าไปในเครื่องสกัดสารวิกฤตยิ่งยวด (T-01) จากนั้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกเติมเข้าไปใน receiver vessel (V-02) เนื่องจากเกิดการสูญเสียก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากการสกัดครั้งก่อน จากนั้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกนำเข้าไปผ่าน heat exchanger-3 และ pump (P-01) เพื่อเพิ่มความดันและความร้อน จากนั้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิวิกฤตโดย exchanger-4 จากนั้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกนำเข้าไปสกัดสารใน T-01 โดยทั่วไปอุณหภูมิและความดันที่ใช้ในการสกัดอยู่ในช่วง 32-48 °C และ 1,070 psi (73 atm) – 3,500 psi (238 atm) ตามลำดับ หลังจากทำการสกัดเรียบร้อยแล้วก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกแยกออกจากตัวถูกละลายโดยการผ่าน valve จากนั้นจะถูกทำให้เย็นโดย heat exchanger-1 ซึ่งส่วนผสมจะถูกแยกใน separator (V-01) ซึ่งหลังจากที่สกัดเสร็จเรียบร้อยแล้วให้นำของแข็งหรือของเหลวออกจากเครื่องสกัดก็จะนำสารตั้งต้นใส่เข้าไปในเครื่องสกัดใหม่เพื่อทำการสกัดต่อไป ซึ่งกระบวนการแบบ batch นี้สามารถเปลี่ยนให้เป็นกระบวนการแบบต่อเนื่องได้โดยเพิ่มเครื่องสกัดเข้าไป ซึ่งหน่วยที่เพิ่มเข้าไปนี้ต้องต่อเชื่อมกับแบบขนานกับระบบซึ่งวิธีการทำแบบต่อเนื่องนี้จะทำให้ใช้เวลาในการสกัดน้อยลง [22]



ภาพที่ 8 กระบวนการสกัดสารวิกฤตยิ่งยวดโดยทั่วไป [23]

1.2.4.3 ตัวแปรที่มีอิทธิพลต่อการสกัด ^[24]

1. ขนาดอนุภาค (Particle Size) ขนาดอนุภาคถ้ามีขนาดเล็กจะทำให้พื้นที่ผิวในการถ่ายเทมวลสารมากขึ้น และระยะทางของตัวถูกละลายที่อยู่ภายในของแข็งจะสั้นลงทำให้ตัวถูกละลายแพร่กระจายออกสู่ตัวทำละลายได้เร็วขึ้น

2. ตัวทำละลาย (Solvent) ตัวทำละลายที่ดีควรมีขั้วที่เหมาะสมกับตัวถูกละลาย และมีความหนืดต่ำ เพื่อให้มีการไหลเวียนที่ดี โดยทั่วไปจะใช้ตัวทำละลายบริสุทธิ์ ตัวทำละลายบริสุทธิ์จะไม่มีตัวถูกละลายอยู่แล้ว ระหว่างการสกัดความเข้มข้นของตัวถูกละลายจะเพิ่มขึ้น จนกระทั่งผลต่างความเข้มข้นของตัวถูกละลายในตัวทำละลายและตัวอย่างที่นำมาสกัดมีค่าลดลง ทำให้สกัดตัวถูกละลายได้น้อยลง

3. อุณหภูมิของตัวทำละลาย เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้อัตราการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นสัมประสิทธิ์การแพร่กระจาย (Diffusivity) มีค่าเพิ่มขึ้น

4. เวลาในการสกัด ถ้าใช้เวลาในการสกัดน้อยสารที่ต้องการสกัดจะถูกสกัดออกมาน้อย ดังนั้นจะต้องใช้เวลาในการสกัดที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด

5. การกวนของของไหล เป็นสิ่งสำคัญมากเพราะจะช่วยเพิ่มอัตราการสกัด เนื่องจากเกิดการแพร่ในสภาวะปั่นป่วนทำให้อัตราการแพร่สูงขึ้น การถ่ายเทมวลสารจากผิวสัมผัสของอนุภาคไปยังของเหลวภายนอกดีขึ้น การกวนจะทำให้อนุภาคลอยตัวผสมกันได้ดี และการลอยตัวขึ้นนี้มีผลทำให้พื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างของแข็งและของเหลวมีมากขึ้น การสกัดดีขึ้น

1.2.4.4 ปัจจัยในการเลือกตัวทำละลาย ^[24]

การเลือกใช้ตัวทำละลายในการสกัดผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากพืช มีปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงดังนี้

1. ความสามารถในการละลายสารที่ต้องการสกัด

2. ความปลอดภัย กล่าวคือตัวทำละลายจะต้องไม่เป็นพิษ และไม่เป็นอันตราย เช่น ไม่ติดไฟง่าย และไม่ระเบิดง่าย

3. ตัวทำละลายที่ใช้ไม่ควรมีราคาแพงเกินไป และควรเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถผลิตได้ในประเทศ

4. ความสะดวกและความปลอดภัยในการแปรรูปของผสมที่สกัดได้ โดยทั่วไปของผสมที่สกัดจากพืชจะต้องมีการแปรรูปก่อนนำไปใช้ เช่น ทำให้มีความเข้มข้นสูงขึ้น ทำให้แห้งเป็นผง ซึ่งในกระบวนการเหล่านี้ต้องใช้ความร้อน ดังนั้นจึงควรเลือกตัวทำละลายที่สามารถทำแห้งได้ง่าย

การออกแบบและแผนการดำเนินงาน

1. จัดการทดลองแบบ factorial in CRD ดังนี้ เป็นวิธีการออกแบบการทดลองที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ในกรณีที่มีปัจจัย ตั้งแต่ 2 ปัจจัยขึ้นไป โดยทุก treatment combination ของปัจจัย ทุกตัวที่ศึกษาจะถูกพิจารณาไปพร้อมๆ กัน มีวัตถุประสงค์หลักคือ ศึกษาผลกระทบร่วมระหว่างปัจจัย (interactions) ในงานวิจัยนี้จัดเป็นกรณีที่ศึกษาผลกระทบร่วมระหว่าง 3 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัย A คือ ความดัน, ปัจจัย B คือ อุณหภูมิ และปัจจัย C คือ ระยะเวลาในการสกัด ผลกระทบที่เกิดขึ้นสามารถจำแนกได้ 3 ประเภท คือ ผลกระทบหลัก (main effect) ผลกระทบร่วมระหว่าง 2 ปัจจัย (two-factor interaction) และผลกระทบร่วม 3 ปัจจัย (three-factor interaction) การออกแบบที่เหมาะสมที่สุดในงานวิจัยนี้คือ full factorial design แบบ 2^3 factorial design เพราะมีเพียงปัจจัยเดียวคือ ความดันที่มีค่าจุดกึ่งกลาง และต้องการทดสอบทุก ๆ ทางเลือกที่เป็นไปได้ของปัจจัยทั้งหมดที่มีผลตอบสนองต่อ % yield ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การจัดการทดลองแบบ factorial in CRD

Treatment	Combination
1	$a_1b_1c_1$
2	$a_1b_2c_1$
3	$a_1b_3c_1$
4	$a_1b_1c_2$
5	$a_1b_2c_2$
6	$a_1b_3c_2$
7	$a_2b_1c_1$
8	$a_2b_2c_1$
9	$a_2b_3c_1$
10	$a_2b_1c_2$
11	$a_2b_2c_2$
12	$a_2b_3c_2$

ตัวแปรที่ศึกษา

- ความดัน (Pressure, bar, factor b) จำนวน 3 ค่า คือ 100 (a_1) 150 (a_2) และ 200 bar (a_3)
- อุณหภูมิ (Temperature, $^{\circ}\text{C}$, factor a) จำนวน 2 ค่า คือ 50 $^{\circ}\text{C}$ (b_1) และ 70 $^{\circ}\text{C}$ (b_2)
- ระยะเวลาในการสกัด (Time, factor c) จำนวน 2 ค่า คือ 30 (c_1) และ 60(c_2) นาที

โดยใช้ตัวทำละลายรวมคือเอทานอล 50%, 5L (volume of commercial ethanol/dried filter cake weight) หรือ เอทานอล 10% (volume of commercial ethanol/volume of vessel)

ตัวแปรทั้ง 3 จะมีผลตอบสนอง (response) ต่อ % yield ที่ได้ จำนวนชุดการทดลองเบื้องต้นมีจำนวน 12 การทดลอง โดยแต่ละการทดลองจะทำการสกัดจำนวน 3 ครั้ง (3 replications) ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ผลการสกัดปริมาณไขมันด้วย เพอร์เซ็นต์ และ proximate total lipid) ด้วย supercritical carbon dioxide ที่อุณหภูมิ ความดัน และเวลาต่าง ๆ โดยเริ่มต้นน้ำหนักกากหม้อกรองแห้ง 10 kg ตัวทำละลายรวมเอทานอล 5 ลิตร

	วันที่	ความดัน			อุณหภูมิ		เวลา		น้ำหนักไขมันหลังจากทำแห้ง (g)	% ไขมันที่สกัดได้จากกากหม้อกรอง	Proximate total lipid จากกากหม้อกรองหลังสกัด
		100 (bar)	150 (bar)	200 (bar)	50 (°C)	70 (°C)	30 (min)	60 (min)			
1	11/3/2559	100			50		20		10.89	0.11	-
2	18/4/2559	100			49.6		30		64.38	0.64	-
3	19/3/2559	100			49.6		30		79.75	0.80	1.17
4	25/3/2559	100			51.2		30		190.17	1.90	2.19
5	11/3/2559	100			52			60	32.52	0.33	2.16
6	19/3/2559	100			50.4			60	112.01	1.12	1.95
7	31/3/2559	100			47.2			60	204.14	2.04	-
8	18/3/2559	100				75.2	30		47.1	0.47	1.47
9	1/4/2559	100				71.2	30		40.65	0.41	1.34
10	1/4/2559	100				73.6	30		20.77	0.21	2.29
11	18/3/2559	100				72.8		60	36.83	0.37	0.83
12	25/3/2559	100				73		60	38.51	0.39	0
13	31/3/2559	100				72.8		60	40.12	0.40	1.44
14	24/3/2559		150		51.2		30		83.71	0.84	-
15	31/3/2559		150		50.2		30		79.87	0.80	1.73
16	31/3/2559		150		46.4		30		75.05	0.75	0.67
17	11/3/2559		150		48		15		77.83	0.78	0.5
18	11/3/2559		150		51.4			60	203.09	2.03	-
19	24/3/2559		150		47.2			60	37.64	0.38	0
20	1/4/2559		150		46.4			60	63.28	0.63	2.27
21	1/4/2559		150			73.6	30		38.74	0.39	2.3
22	1/4/2559		150			71.2	30		33.37	0.33	1.21
23	20/3/2559		150			70.5	30		64.74	0.65	0
24	18/3/2559		150			67.2		60	108.16	1.08	2.28
25	20/3/2559		150			72		60	106.12	1.06	2.19
26	25/3/2559		150			68		60	156.23	1.56	2.85,1.42
27	19/3/2559			200	50.4		30		101.85	1.02	0

ตารางที่ 6 (ต่อ) ผลการสกัด (ปริมาณไซออย เปอร์เซ็นต์ และ proximate total lipid) ด้วย supercritical carbon dioxide ที่อุณหภูมิ ความดัน และเวลาต่าง ๆ โดยเริ่มต้นน้ำหนักกากหม้อกรองแห้ง 10 kg ตัวทำละลายรวมเอทานอล 5 ลิตร

	วันที่	ความดัน			อุณหภูมิ		เวลา		น้ำหนัก ไซรวม หลังจาก ทำแห้ง (g)	% ไขมันที่ สกัดได้ จากกาก หม้อ กรอง	Proximate total lipid จากกากหม้อ กรองหลัง สกัด
		100 (bar)	150 (bar)	200 (bar)	50 (°C)	70 (°C)	30 (min)	60 (min)			
28	24/3/2559			200	52		30		43.37	0.43	1.39
29	2/4/2559			200	49.6		30		37.63	0.38	0
30	19/3/2559			200	48			60	18.69	0.19	1.34
31	24/3/2559			200	51.2			60	98.06	0.98	0
32	2/4/2559			200	47.2			60	109.54	1.10	1.09
33	18/4/2559			200		75	30		41.97	0.42	1.79
34	25/3/2559			200		72.6	30		237.4	2.37	1.44
35	2/4/2559			200		72.8	30		36.12	0.36	2.14
36	3/3/2559			200		65		60	115.07	1.15	-
37	17/3/2559			200		82		60	123.01	1.23	1.47
38	17/3/2559			200		68		60	174.2	1.74	1.29
รวม									3,182.58		

จากข้อมูลในตารางที่ 6 แสดงผลการสกัดด้วยเครื่อง sc-CO₂ ตามที่ได้มีการวางแผนไว้ที่สภาวะต่าง ๆ รอบที่ 1 เพื่อพยายามหาความสัมพันธ์ของตัวแปรในการที่จะระบุสภาวะที่จะทำให้ได้ % yield ในการสกัดพบว่า % yield ที่ได้ในแต่ละสภาวะมีค่าแกว่งมากโดย % ไซออยที่สกัดได้ในการ 3 ซ้ำมีค่า reproducibility ต่ำ เนื่องมาจากตัวเครื่องสกัดที่ใช้มีข้อด้อยในเรื่องของการทำอุณหภูมิให้ได้อุณหภูมิที่ต้องการ ประกอบกับข้อต่อระหว่างถังสกัด กับถังแยกมีช่วงห่างที่ยาว ทำให้การเก็บตัวอย่างมีปัญหา อีกทั้งธรรมชาติของไซออยคือ เป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง ทำให้การเก็บตัวอย่างต้องมีการให้ความร้อนช่วยตามท่อส่งผ่านเพื่อไม่ให้เกิดปัญหาการแข็งตัวอุดตันของไซออยของท่อส่งในระบบ จากการทดลองทั้งหมด สามารถรวบรวมไซออยได้ ปริมาณ 3.183 กิโลกรัมแห้ง สภาวะที่ให้ % yield สูงสุดคือ ที่ ความดัน 200 bar อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และใช้เวลา 30 นาทีในการสกัด ได้ ไซออยเท่ากับ 2.37% ส่วนสภาวะที่ให้ค่าเฉลี่ย % yield สูงสุด ได้แก่ที่ ความดัน 200 bar อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และใช้เวลา 60 นาทีในการสกัด ได้ไซออยเท่ากับ 1.374%

เนื่องจากผลการทดลองที่ได้มีความคลาดเคลื่อนสูง ทางทีมวิจัยจึงได้ทำการตรวจสอบกลับโดยการวิเคราะห์ Proximate total lipid จากกากหม้อกรองหลังสกัดเพื่อดูไซออยที่เหลืออยู่ใน

ตัวอย่างการหมักกรองว่าสอดคล้องกับผลการสกัดที่ได้หรือไม่ พบว่ามีค่าไม่คงที่ (สมมติฐานคือ ผลรวมปริมาณไข่อ้อยที่สกัดได้ด้วยเทคนิค sc-CO₂ ในแต่ละสภาวะกับ Proximate total lipid จาก การหมักกรองหลังสกัด ควรมีค่าคงที่ ค่าใดค่าหนึ่ง) ทำให้สามารถระบุได้ว่า ประสิทธิภาพการสกัด และความน่าเชื่อถือในการหาความสัมพันธ์กับข้อมูลการสกัดชุดนี้นี้น้อย

จากผลการสกัดที่ได้นำมาวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม Minitab® โดยใช้วิธีการวิเคราะห์แบบ 2 level factorial design และภายใต้ค่าความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% ซึ่งใช้การทดสอบแบบ Two-sided test ($\alpha = 0.025$)

โดยมีสมมติฐานทางสถิติดังนี้

สมมติฐานหลัก (H₀) : %yield ที่ได้ > %yield เกลี้ยที่ได้

โดยพิจารณาสมมติฐานจากค่า P-value ของพจน์ตัวแปร ความดัน อุณหภูมิ และ ระยะเวลาในการสกัด ภายใต้ความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% ซึ่งใช้วิธีการทดสอบแบบ two-sided test ($\alpha = 0.025$) โดยพิจารณาตัวแปรหลักตัวใดมีค่า P-value มากกว่า 0.025 แสดงว่าตัวแปรนั้นมีผลต่อการทดลองมาก สมมติฐานหลักถูกยอมรับ แปลว่าสมมติฐานหลักที่ตั้งไว้เป็นจริง แต่ถ้าตัวแปรใดมีค่า P-value น้อยกว่า 0.025 สมมติฐานหลักจะถูกปฏิเสธ คือ ตัวแปรนั้นไม่อยู่ในภายใต้ค่าความเชื่อมั่นที่ 95% ใช้ข้อมูลจากตารางที่ 6 มาทำนายได้ดังผลข้างล่าง

Regression Analysis: % yield versus Pressure, Temperature, Time

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	7	3.4954	0.499344	1.68	0.154
Pressure	1	0.1160	0.116043	0.39	0.537
Temperature	1	0.1605	0.160463	0.54	0.468
Time	1	0.0068	0.006792	0.02	0.881
Pressure*Temperature	1	0.1036	0.103579	0.35	0.559
Pressure*Time	1	0.0115	0.011530	0.04	0.845
Temperature*Time	1	0.0101	0.010124	0.03	0.855
Pressure*Temperature*Time	1	0.0284	0.028446	0.10	0.759
Error	28	8.3023	0.296510		
Lack-of-Fit	26	8.2890	0.318809	48.12	0.021
Pure Error	2	0.0133	0.006625		
Total	35	11.7977			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.544528	29.63%	12.03%	0.00%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	4.97	5.89	0.84	0.405	

Pressure	-0.0237	0.0379	-0.63	0.537	290.04
Temperature	-0.0690	0.0938	-0.74	0.468	144.33
Time	0.019	0.123	0.15	0.881	412.55
Pressure*Temperature	0.000356	0.000603	0.59	0.559	418.24
Pressure*Time	-0.000155	0.000784	-0.20	0.845	657.72
Temperature*Time	-0.00036	0.00197	-0.18	0.855	507.70
Pressure*Temperature*Time	0.000004	0.000013	0.31	0.759	731.69

Regression Equation

% yield = 4.97 - 0.0237 Pressure - 0.0690 Temperature + 0.019 Time
+ 0.000356 Pressure*Temperature - 0.000155 Pressure*Time
- 0.00036 Temperature*Time + 0.000004 Pressure*Temperature*Time

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	% yield	Fit	Resid	Std Resid
32	2.370	0.929	1.441	3.08 R

R Large residual

จากผลข้างต้นพบว่าค่า R^2 มีค่า 29.63% มีค่าไม่ใกล้เคียง 100% แสดงว่าค่าที่ได้จากผลการทดลองมีความแตกต่างกับค่าที่ทำนายด้วยสมการค่อนข้างมาก แต่อย่างไรก็ดีค่า P-value ของแต่ละพจน์มีค่ามากกว่า 0.025 ดังนั้นจึงมีการปรับปรุงสมการโดยคิดค่า response เป็นค่า %yield เฉลี่ย และควบคุมตัวแปรอุณหภูมิที่ควบคุมได้ยากให้เป็นค่าคงที่ที่ 50 และ 70 องศาเซลเซียส ทำการจากตารางที่ 7 ได้ผลการทำนายดังข้างล่าง

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ย % ไขมันที่สกัดได้จากกากหม้อกรองด้วย supercritical carbon dioxide ที่ อุณหภูมิ ความดัน และเวลาต่าง ๆ โดยเริ่มต้นน้ำหนักกากหม้อกรองแห้ง 10 kg ตัวทำละลายร่วม เอทานอล 5 ลิตร จากข้อมูลดิบ ตารางที่ 6

การทดลอง	ความดัน	อุณหภูมิ	เวลา	% ไขมันที่สกัดได้จากกากหม้อกรอง (เฉลี่ย)	ค่า S.D.
1	100	50	30	1.114	0.069
2	100	50	60	1.162	0.086
3	100	70	30	0.362	0.014
4	100	70	60	0.385	0.002
5	150	50	30	0.795	0.005
6	150	50	60	1.013	0.089
7	150	70	30	0.456	0.017
8	150	70	60	1.235	0.028
9	200	50	30	0.610	0.036
10	200	50	60	0.754	0.049
11	200	70	30	1.052	0.114
12	200	70	60	1.374	0.032

Regression Analysis: avg. % yield versus P, Temp, Time

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	7	1.20435	0.172050	5.24	0.064
P	1	0.05119	0.051195	1.56	0.280
Temp	1	0.07793	0.077934	2.37	0.198
Time	1	0.00014	0.000141	0.00	0.951
P*Temp	1	0.04910	0.049104	1.50	0.288
P*Time	1	0.00229	0.002288	0.07	0.805
Temp*Time	1	0.00023	0.000229	0.01	0.937
P*Temp*Time	1	0.00515	0.005151	0.16	0.712
Error	4	0.13126	0.032816		
Total	11	1.33561			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.181152	90.17%	72.97%	0.00%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	6.46	3.83	1.69	0.167	
P	-0.0308	0.0246	-1.25	0.280	370.00
Temp	-0.0970	0.0630	-1.54	0.198	145.00
Time	0.0053	0.0808	0.07	0.951	536.50
P*Temp	0.000495	0.000405	1.22	0.288	505.00
P*Time	-0.000137	0.000519	-0.26	0.805	869.50
Temp*Time	-0.00011	0.00133	-0.08	0.937	667.00
P*Temp*Time	0.000003	0.000009	0.40	0.712	991.00

Regression Equation

Avg. % yield = 6.46 - 0.0308 P - 0.0970 Temp + 0.0053 Time + 0.000495 P*Temp
- 0.000137 P*Time - 0.00011 Temp*Time + 0.000003 P*Temp*Time

จากผลการวิเคราะห์ข้างต้นพบว่าค่า R^2 มีค่า 90.17% มีค่าใกล้เคียง 100% โดยค่า P-value ของแต่ละพจน์มีค่ามากกว่า 0.025 ดังนั้นสมการที่น่าจะใช้เป็นตัวแทนในการทดสอบสมมติฐาน และใช้เป็นสมการที่จะพิจารณาความสำคัญของปัจจัยที่มีต่อค่า % yield

ทำการทดสอบความแม่นยำของสมการเมื่อแทนค่าสมการทำนายค่าของ % yield ดังสมการ
ข้างล่าง

Avg. % yield = 6.46 - 0.0308 P - 0.0970 Temp + 0.0053 Time + 0.000495 P*Temp
- 0.000137 P*Time - 0.00011 Temp*Time + 0.000003 P*Temp*Time

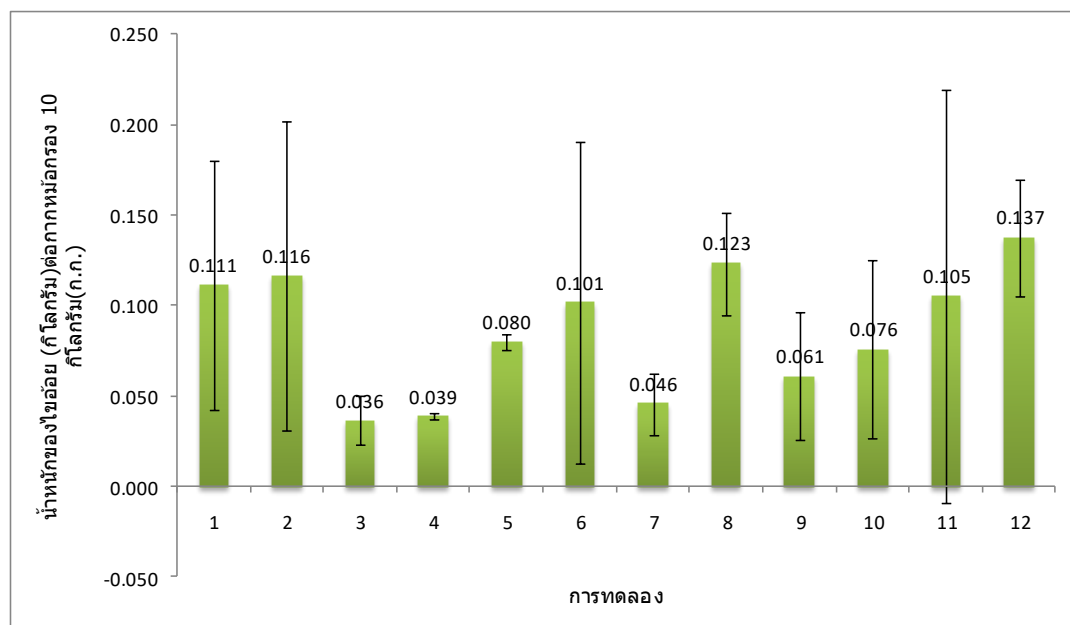
โดยอ้างอิงผลการทดลองที่ให้ค่า % yield เฉลี่ยมากที่สุดนั้นคือการสกัดไข่อ้อยด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตยิ่งยวดภายใต้สภาวะความดันที่ 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 60 นาที ซึ่งให้ค่า % yield เฉลี่ยเท่ากับ 1.374 % ซึ่งจะเปรียบเทียบกับ % yield ที่ได้จากการทำนายด้วยสมการดังนี้

$$\begin{aligned} \% \text{ yield} &= 6.46 - 0.0308 (200) - 0.0970 (70) + 0.0053 (60) \\ &+ 0.000495 (200) * (70) \\ &\quad - 0.000137 (200) * (60) - 0.00011 (70) * (60) \\ &\quad + 0.000003 (200) * (70) * (60) \\ &= 1.172 \% \end{aligned}$$

จากค่า % yield ที่ได้จากการแทนค่าสมการตัวแทนทำนายค่าเท่ากับ 1.172% โดยมีร้อยละความแตกต่างกับผลการทดลองสภาวะที่ดีที่สุด (1.374%) เท่ากับ 14.70% และเมื่อพิจารณาจากค่า P-value ซึ่งใช้วิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่ โดยพิจารณาจากค่า P-value ของพจน์ของตัวแปร ความดัน อุณหภูมิ และระยะเวลาในการสกัด พบว่า P-value ของตัวแปรหลักมีค่ามากกว่า 0.025 แสดงว่าสมมติฐานหลักที่ตั้งไว้ถูกยอมรับและเมื่อเปรียบเทียบค่า P-value ของตัวแปรหลักดังกล่าว พบว่าสามารถเรียงลำดับความสำคัญของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อค่า % yield จากมากไปหาน้อย ได้ดังนี้ ระยะเวลาการสกัด ความดัน และอุณหภูมิ ตามลำดับ

เมื่อนำข้อมูลในตารางที่ 7 มาเขียนกราฟแผนภูมิแท่งดังภาพที่ 9 พิจารณาจากปัจจัยแรก เรื่องของระยะเวลาในการสกัดที่ 30 และ 60 นาที เมื่อกำหนดปัจจัยเรื่องความดันและอุณหภูมิคงที่จะเห็นว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดจาก 30 เป็น 60 นาทีจะได้ปริมาณ % yield ของไข่อ้อยเพิ่มขึ้นในทุกกรณี (1->2, 3->4, 5->6, 7->8, 9->10, 11->12) ปัจจัยที่ 2 คือเรื่องของความดัน เมื่อทำการศึกษาผลของความดันในถึงสกัดที่มีต่อค่า % yield ของไข่อ้อย พบว่าไข่อ้อยที่สกัดจากกากหม้อกรองด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวด ภายใต้อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดเท่ากัน เมื่อเพิ่มความดันในระบบจะมีผลทำให้ % yield ของไข่อ้อยที่สกัดได้จะเพิ่มขึ้นในกรณีที่ใช้อุณหภูมิสูงที่ 70 องศาเซลเซียสในการสกัดและเวลาในการสกัดเป็นไปได้ทั้ง 30 และ 60 นาที (การทดลองที่ 3,4 เทียบกับ 7,8 เทียบกับ 11,12) อย่างไรก็ตามผลของ % yield ของการสกัดจะลดลงเมื่อเพิ่มความดันในระบบที่สกัดด้วยอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส (การทดลองที่ 1,2 เทียบกับ 5,6 เทียบกับ 9,10) และปัจจัยสุดท้ายคือ อุณหภูมิ จะเห็นว่า % yield เฉลี่ยของผลผลิตไข่อ้อยที่สกัดได้จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อทำการสกัดที่ความดันสูง (200 บาร์) และระยะเวลาในการสกัดที่ 60 นาที ซึ่งเมื่อพิจารณาจากแนวโน้มทำให้การทำนายปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดไข่อ้อยจากกากหม้อกรองด้วยไข่อ้อยที่สกัดจากกากหม้อกรองด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวด สอดคล้องกับสมการทำนายการสกัดข้างต้น แต่มีข้อควร

ระว่างคือผลการสกัดที่ระบุว่าจะขึ้นอยู่กับปัจจัยเรื่องของอุณหภูมิค่อนข้างน้อย อาจจะเกิดจากตัวเครื่องสกัดเองว่าไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ดี ทำให้การประมาณค่าคลาดเคลื่อนไป



ภาพที่ 9 เปอร์เซ็นต์ yield ของการสกัดไขอ้อยโดยเฉลี่ยในสภาวะการทดลองต่าง ๆ (อุณหภูมิ ความดัน และระยะเวลาในการสกัด) ในรูปแบบแผนภูมิแท่งโดยใช้ข้อมูลจากตารางที่ 7

ผลการสกัดที่สภาวะต่าง ๆ ในรอบที่ 2 (ตารางที่ 8) โดยเป็นการสกัดซ้ำจากตัวอย่างเดิมพบว่าสามารถสกัดไขอ้อยได้เพิ่มจากเดิม โดยเน้นที่อุณหภูมิการสกัดสูงและเวลาในการสกัดนานขึ้น นอกจากนี้ยังมีการสกัดซ้ำตัวอย่างเดิมโดยไม่มีการถ่ายเอากากหมักกรองออกมาและเติมเอทานอลเพิ่มเติมด้วย เพื่อที่จะให้ได้ % yiled ของการสกัดมากที่สุด ทีมวิจัยได้ทำการเก็บรวบรวมไขอ้อยที่สกัดได้ปริมาณรวมทั้งหมด คือ 1.965 กิโลกรัม จากการทดลองการสกัดทั้ง 2 รอบ ได้ปริมาณไขอ้อยทั้งหมด **5.148 กิโลกรัม** (ครั้งที่ 1 สกัดไขอ้อยรวมทั้งหมดได้ 3.183 กิโลกรัม ครั้งที่ 2 สกัดไขอ้อยรวมทั้งหมดได้ 1.965 กิโลกรัม)

ตารางที่ 8 ผลการสกัดรอบที่ 2 (ปริมาณไซออย และเปอร์เซ็นต์) ด้วย supercritical carbon dioxide ที่อุณหภูมิ ความดัน และเวลาต่าง ๆ

	วันที่ทำการสกัด	น้ำหนักกากหม้อกรอง/ปริมาณ EtOH	ความดัน			อุณหภูมิ		เวลา	น้ำหนักไซรวมหลังจากทำแห้ง (g)	% ไขมันที่สกัดได้จากกากหม้อกรอง
			100 (bar)	150 (bar)	200 (bar)	50 (°C)	70 (°C)	30 (min)		
39	27/4/2559	15kg/5L		150		48.8		45	21.75	0.15
40	27/4/2559	15kg/5L	75			60.8		45	22.53	0.15
41 (1)	16/6/2559	15kg/5L			200		70.2	45	174.09	1.16
41 (2)	16/6/2559	/5L รอบ# 2			200		70.2	45	37.30	0.25
42 (1)	22/6/2559	13.5kg/5L		150		46.5		30	84.37	0.65
42 (2)	22/6/2559	/5L รอบ# 2		150		46.5		30	109.97	0.85
42 (3)	22/6/2559	/5L รอบ# 3		150		50		30	83.66	0.64
43 (1)	22/6/2559	8.5kg/5L			200		65.6	30	95.59	1.12
43 (2)	22/6/2559	/5L รอบ# 2			200		65.6	30	119.73	1.41
44 (1)	22/6/2559	15kg/5L			200		62	30	115.20	0.77
44 (2)	22/6/2559	/5L รอบ# 2			200		72	30	112.43	0.75
44 (3)	22/6/2559	/5L รอบ# 3			200		72.2	30	48.93	0.33
45	16/6/2559	15kg/5L		150		48.4		45	195.16	1.30
46 (1)	23/6/2559	15kg/5L		150		48.8		30	77.69	0.52
46 (2)	23/6/2559	/5L รอบ# 2		150		48.8		30	31.53	0.21
47 (1)	23/6/2559	15kg/5L		150		48.8		30	49.71	0.33
47 (2)	23/6/2559	/5L รอบ# 2		150		48.8		30	59.58	0.40
48 (1)	23/6/2559	8kg/5L			200		75.2	30	118.22	1.48
48 (2)	23/6/2559	/5L รอบ# 2			200		72.8	30	89.97	1.12
49 (1)	24/6/2559	15kg/5L		150		47.2		30	87.96	0.59
49 (2)	24/6/2559	/5L รอบ# 2		150		47.8		30	35.00	0.23
50	17/6/2559								194.48	
รวม									1,964.84	
รวมทั้งหมด									5,147.42	

1.2.5 การวิเคราะห์ปริมาณ Policosanol ในสารสกัดไขอ้อยเทคนิค gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS)

1.2.5.1 สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ

1. Chloroform จากบริษัท CARLO ERBA Reagents ประเทศฝรั่งเศส
2. สารมาตรฐาน Policosanol (Eicosanol-C₂₀, Heneicosanol-C₂₁, Docosanol-C₂₂, Tricosanol-C₂₃, Tetracosanol-C₂₄, Pentacosanol-C₂₅, Hexacosanol-C₂₆, Heptacosanol-C₂₇, Octacosanol-C₂₈, Triacosanol-C₃₀) จากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสิงคโปร์
3. Nylon membrane (pore size 0.45 ไมครอน)
4. Syringe ขนาดความจุ 1 มิลลิลิตร ผลิตภัณท์ Nipro
5. GC vial (amber glass) ขนาดความจุ 2 มิลลิลิตร
6. เครื่องดูดจ่ายสารละลาย (Micropipette) ของบริษัท Gilson ประเทศสหรัฐอเมริกา
7. เครื่องชั่งดิจิตอล ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Electronic balance) รุ่น AB204-S ของบริษัท Mettler-Toledo จำกัด ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
8. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Gas chromatography-Mass spectrometer; GC-MS) รุ่น 7890A-5975C, Agilent Technologies

1.2.5.2 การศึกษาองค์ประกอบของสาร Policosanol ที่สกัดได้ด้วยเทคนิค GC-MS

นำสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองมาหาองค์ประกอบโดยใช้เทคนิค GC-MS ในสภาวะดังต่อไปนี้

GC-MS: 7890A-5975C, Agilent Technologies

คอลัมน์: J&W Scientific, DB-5MS column, ความยาว 30 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร

- แก๊สตัวพา (Carrier gas) : แก๊สฮีเลียม (99.9999%)
- อุณหภูมิ : อินเจกเตอร์ (Injector port) 300 องศาเซลเซียส
: เครื่องตรวจวัด (Detector) 300 องศาเซลเซียส

:เตาอบ (Oven) แบบสภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ (Temperature program)
อุณหภูมิเริ่มต้น 50 องศาเซลเซียส เพิ่มขึ้น เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นอุณหภูมิเพิ่มขึ้น 10 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

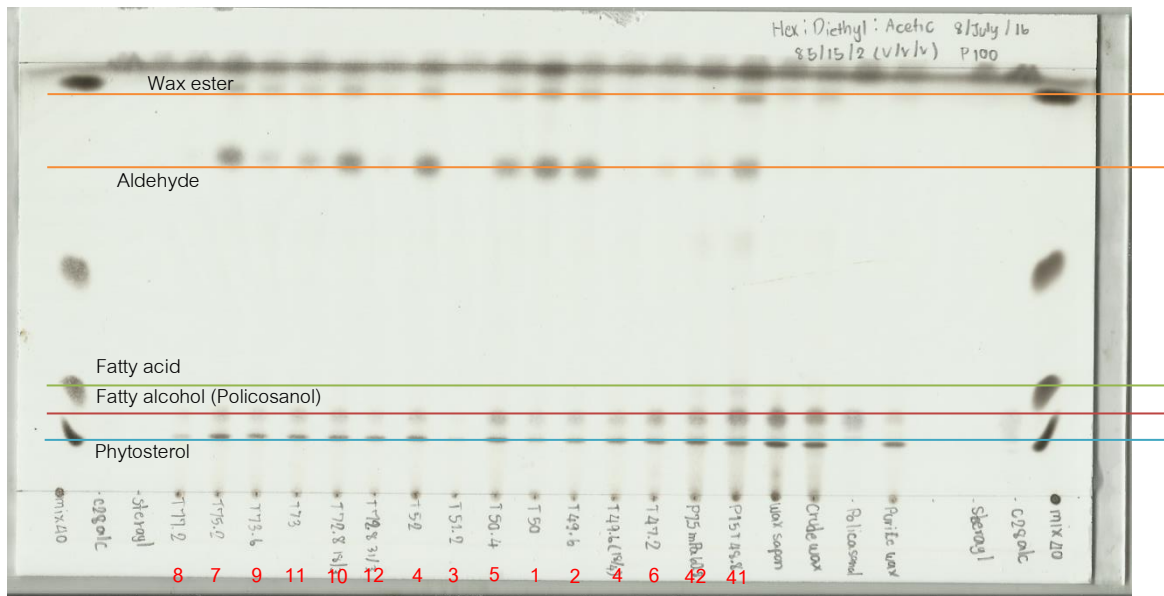
- ปริมาณสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไป: 5 ไมโครลิตร split ratio 50:1
- Acquisition mode:scan

1.2.5.3 การเตรียมสารตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (Qualitative analysis) และเชิงปริมาณ (Quantitative analysis)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน policosanols ทั้ง 10 ชนิด ได้แก่ Eicosanol-C₂₀, Heneicosanol-C₂₁, Docosanol-C₂₂, Tricosanol-C₂₃, Tetracosanol-C₂₄, Pentacosanol-C₂₅, Hexacosanol-C₂₆, Heptacosanol-C₂₇, Octacosanol-C₂₈ และ Triacosanol-C₃₀ โดยการชั่งสาร Policosanols มาตรฐานประมาณ 1-10 mg และทำละลายด้วย chloroform 1 mL (stock solution) จากนั้นทำการ dilute ที่ 1/2, 1/5, 1/10, 1/20, 1/50, 1/100, 1/200, 1/500, 1/1000 ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้จากการสกัดโดยวิธีต่าง ๆ มาชั่งน้ำหนักประมาณ 10-30 mg แล้วทำละลายด้วย chloroform 2 mL นำสารละลายที่ได้กรองผ่าน syringe filter nylon membrane ขนาด 0.45 ไมครอน จากนั้นนำไปฉีดบน GC-MS ครั้งละ 5 μ L

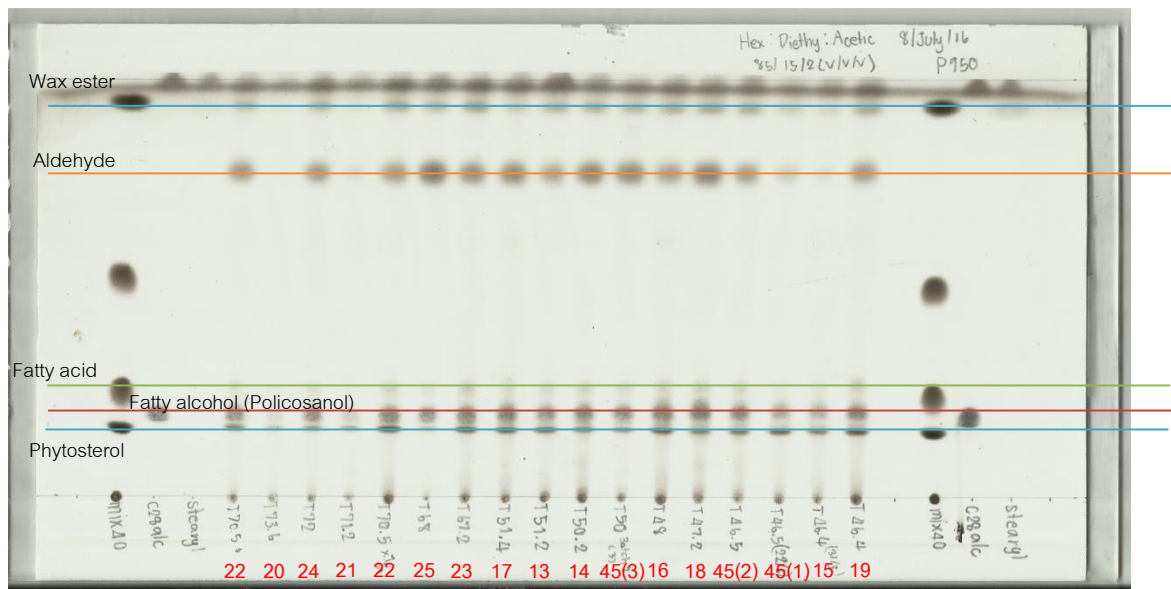
1.2.5.4 ผลการทดลองการวิเคราะห์องค์ประกอบในสารสกัดไขอ้อย

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบในสารสกัดไขอ้อยที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂ โดยศึกษาผลของความดัน อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัด ด้วย Thin layer chromatography ระบบการพัฒนาการแยกบน silica gel plate คือ Hexane/Diethyl ether/acetic acid (85/15/2; v/v/v) ใช้ตัวอย่างที่สกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองที่สภาวะต่าง ๆ (crude wax) พบว่า ตัวอย่างจากทุกสภาวะประกอบด้วยสารประกอบ wax ester, aldehyde, fatty acid, fatty alcohol และ phytosterol โดยเป็นสารที่พบดังแสดงใน GC-MS โครมาโทแกรม ภาพที่ 13 โดยสารที่พบเป็นสารในกลุ่ม fatty acid, aldehyde, policosanols และ phytosterol ตรงตามกับผลของ TLC ที่ได้ ส่วน wax ester ที่พบในการวิเคราะห์ด้วย TLC ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ด้วย GC-MS เพราะเกิดการแตกตัวเป็น fatty acid กับ fatty alcohol นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบ GC chromatogram ของสภาวะการสกัดต่าง ๆ ที่เวลาการสกัด 30 นาที พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน



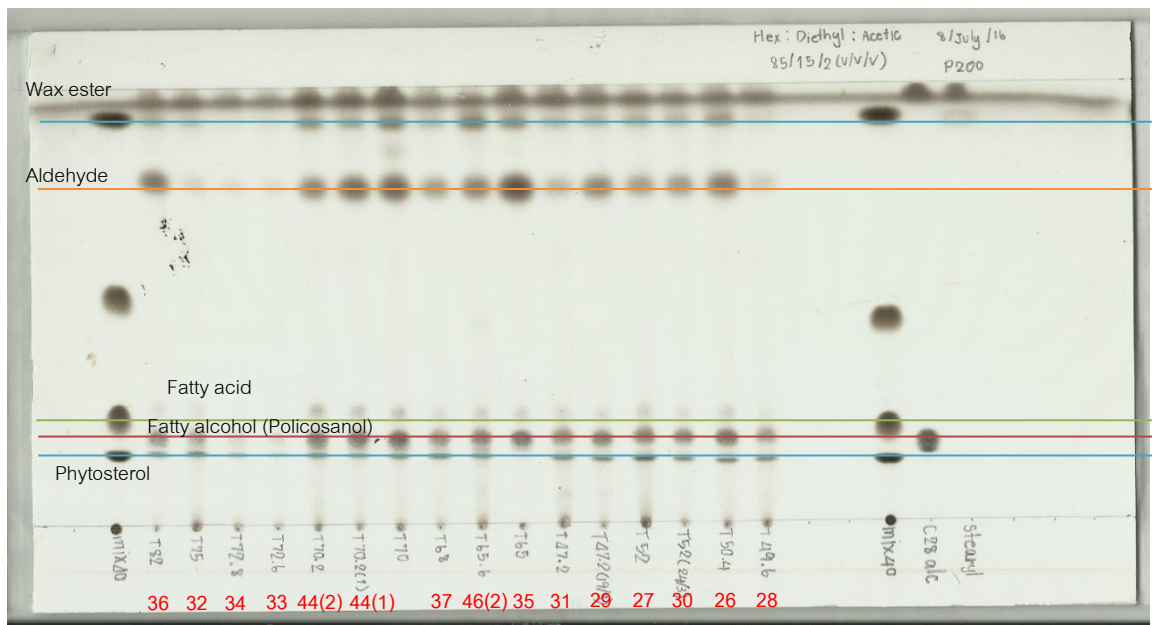
ภาพที่ 10 Thin layer chromatography ของไขอ้อยที่สกัดได้จาก sc-CO₂ ของสารดังนี้

- | | | |
|--------------------------|---------------------------|-----------------------|
| 1 = P100-T50-20min | 2 = P100-T49.6-30min | 3 = P100-T51.2-30min |
| 4 = P100-T52-60min | 5 = P100-T50.4-60min | 6 = P100-T47.2-60min |
| 7 = P100-T75.2-30min | 8 = P100-T71.2-30min | 9 = P100-T73.6-30min |
| 10 = P100-T72.8-60min | 11 = P100-T73-60min | 12 = P100-T72.8-60min |
| 41 = P15 MPa-T48.8-45min | 42 = P7.5 MPa-T60.8-45min | |



ภาพที่ 11 Thin layer chromatography ของไข้อยู่ที่สกัดได้จาก sc-CO₂ของสารดังนี้

13 = P150-T51.2-30min	14 = P150-T50.2-30min	15 = P150-T46.4-30min
16 = P150-T48-15min	17 = P150-T51.4-60min	18 = P150-T47.2-60min
19 = P150-T46.4-60min	20 = P150-T73.6-30min	21 = P150-T71.2-30min
22 = P150-T70.5-30min	23 = P150-T67.2-60min	24 = P150-T72-60min
25 = P150-T68-60min	45(1) = P150-T46.5-30min	45(2) = P150-T46.5-30min
45(3) = P150-T50-30min		



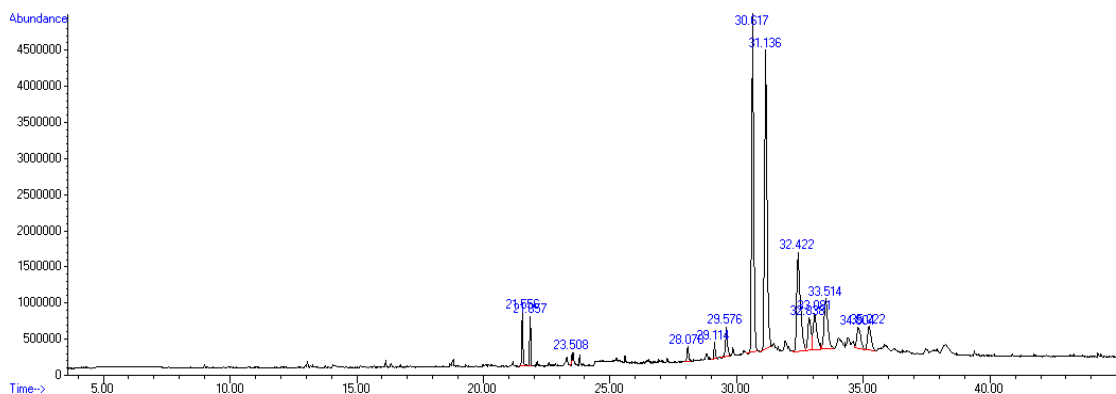
ภาพที่ 12 Thin layer chromatography ของไข้อยู่ที่สกัดได้จาก sc-CO₂ของสารดังนี้

26 = P200-T50.4-30min	27 = P200-T52-30min	28 = P200-T49.6-30min
29 = P200-T48-60min	30 = P200-T51.2-60min	31 = P200-T47.2-60min
32 = P200-T75-30min	33 = P200-T72.6-30min	34 = P200-T72.8-30min
35 = P200-T65-60min	36 = P200-T82-60min	37 = P200-T68-60min
44(1) = P200-T70.2-45min	44(2) = P200-T70.2-45min	46(2) = P200-T65.6-30min

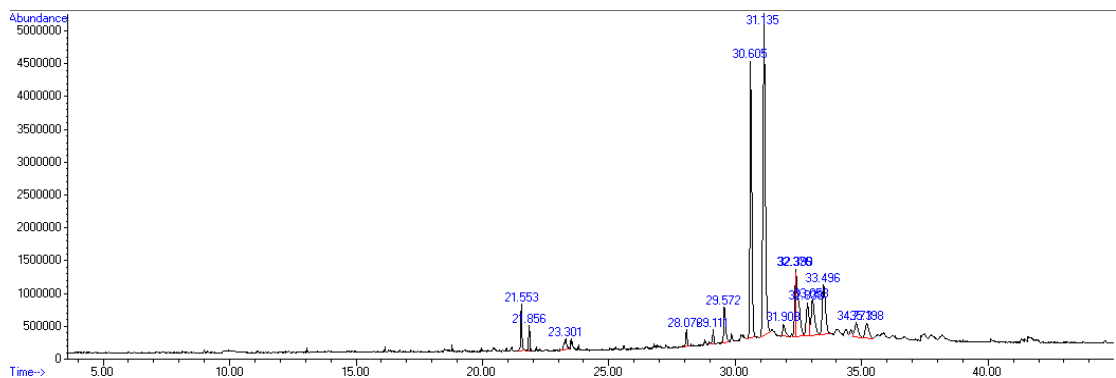
1.2.5.5 การเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของไขอ้อยที่สกัดได้ที่ความดัน (100, 150 และ 200 bar) อุณหภูมิ (50 และ 70 องศาเซลเซียส) โดยใช้เวลาคงที่ 30 นาที

ภาพที่ 13 แสดงการเปรียบเทียบการสกัดไขอ้อยที่สภาวะต่าง โดยกำหนดเวลาในการสกัดคงที่ที่ 30 นาที พบว่าองค์ประกอบของสารที่พบที่แสดงใน GC chromatogram มีลักษณะคล้ายคลึงกัน ประกอบไปด้วยสารพวก fatty acid, fatty aldehyde, fatty alcohol (policosanol) และ phytosterols ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้จากการทำ TLC

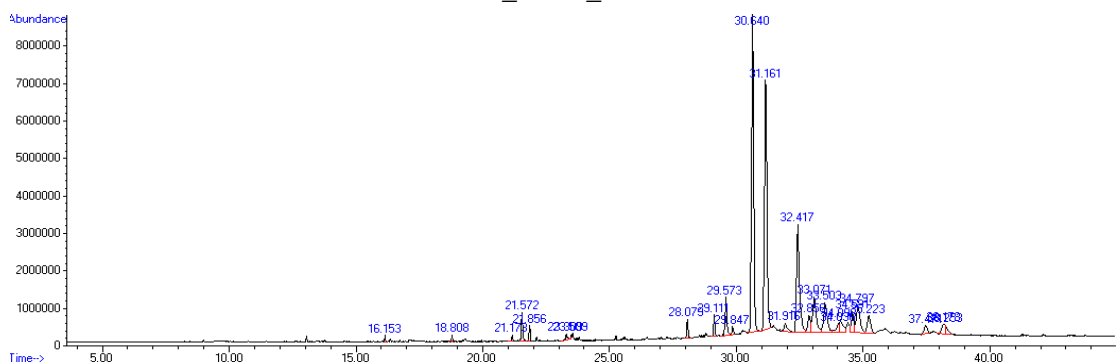
P100_T49.6_30min

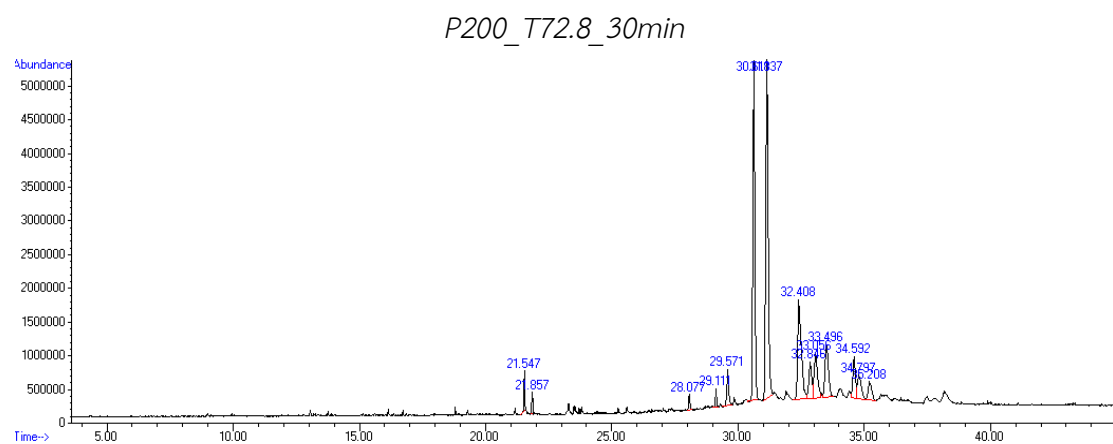
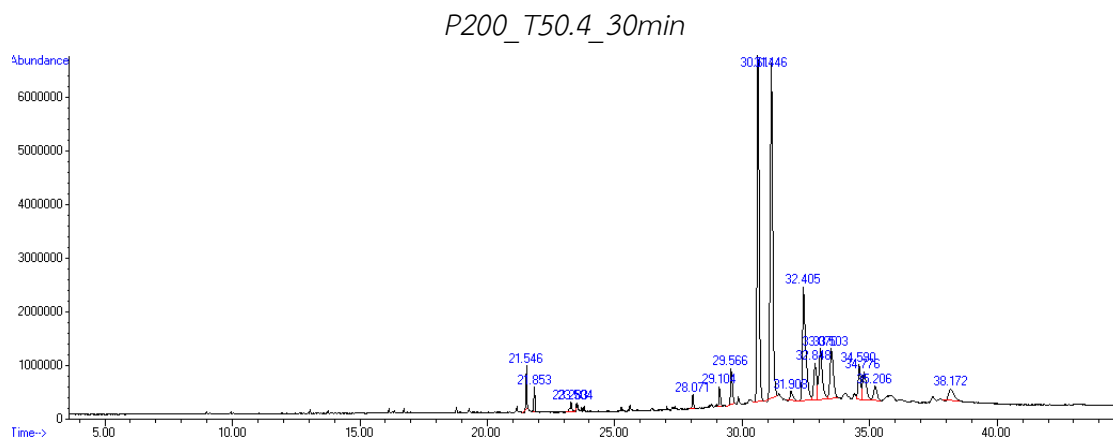
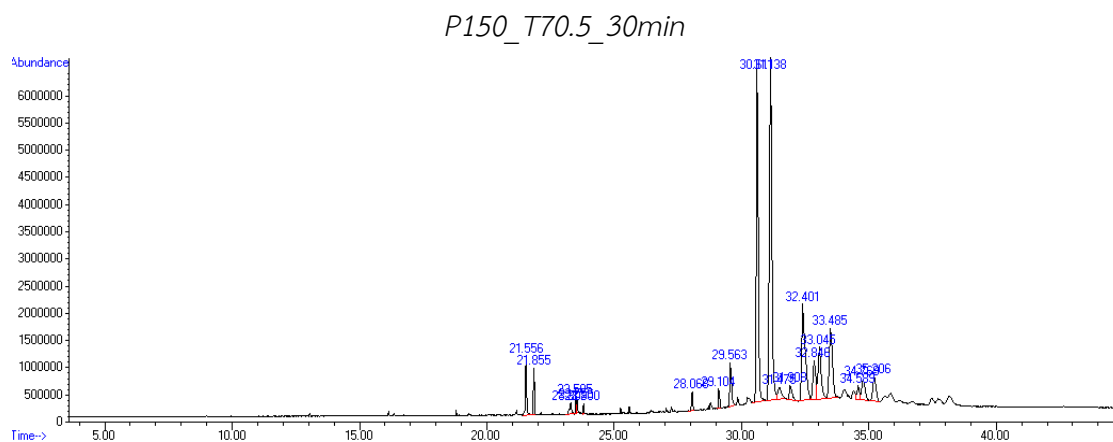


P100_T71.2_30min



P150_T51.2_30min

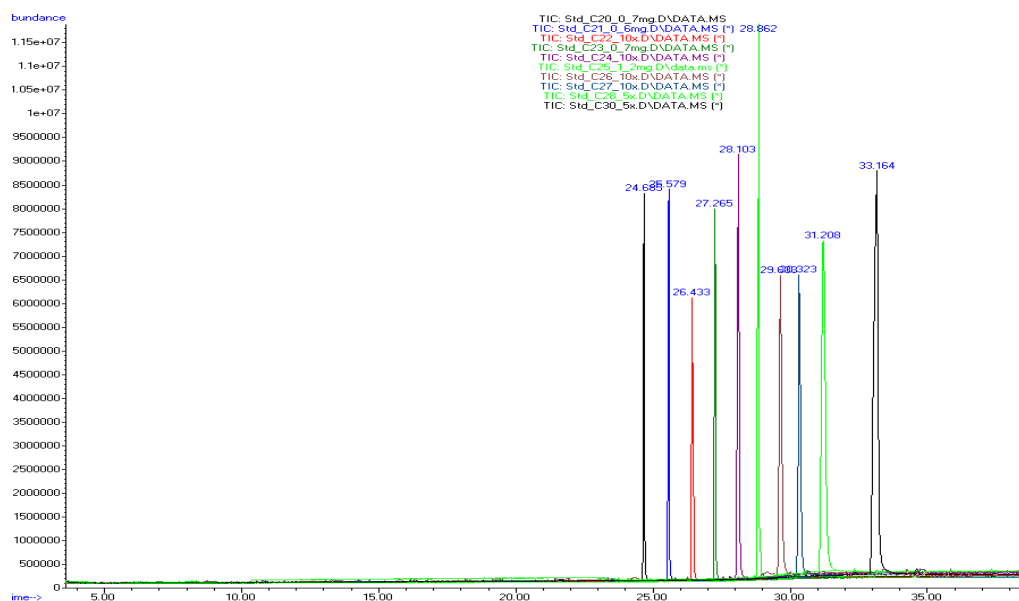




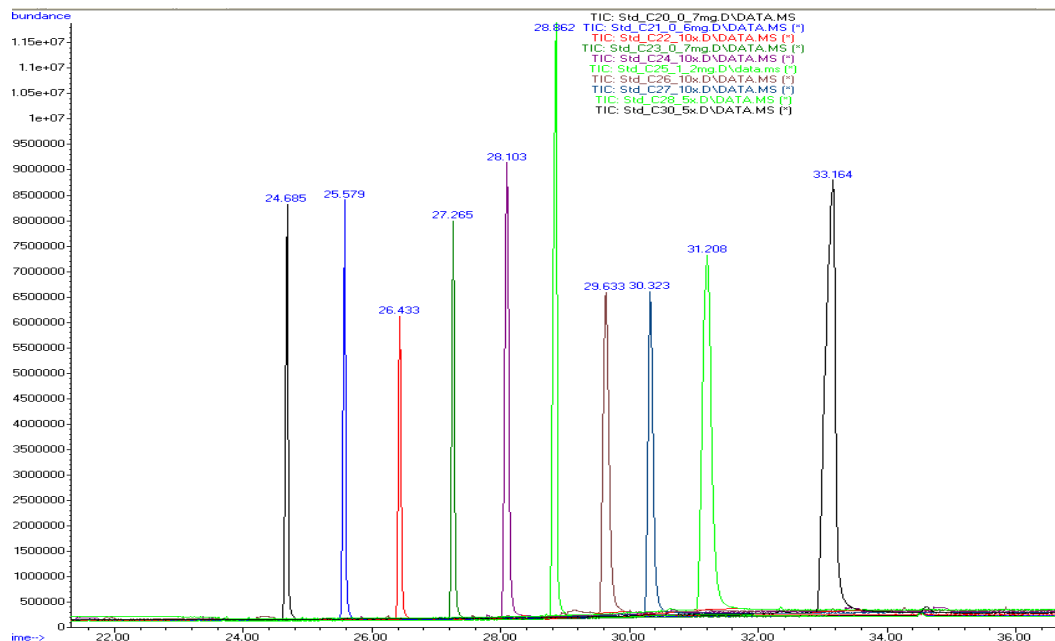
ภาพที่ 13 GC-MS โครมาโทแกรมของสารสกัดไธออยที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂ ที่สภาวะการสกัดแตกต่างกัน ที่เวลา 30 นาทีคงที่

1.2.5.6 การศึกษาองค์ประกอบของสาร Policosanol ในสารสกัดไขอ้อย

ผลการวิเคราะห์สารในกลุ่ม policosanol โดยนำมาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ทั้งหมด 10 ชนิด ได้แก่ Eicosanol-C₂₀, Heneicosanol-C₂₁, Docosanol-C₂₂, Tricosanol-C₂₃, Tetracosanol-C₂₄, Pentacosanol-C₂₅, Hexacosanol-C₂₆, Heptacosanol-C₂₇, Octacosanol-C₂₈ และ Triacosanol-C₃₀ ซึ่งพบพีคที่ 24.685, 25.579, 26.433, 27.265, 28.103, 28.862, 29.633, 30.323, 31.208 และ 33.164 นาที ตามลำดับ (ภาพที่ 14) และแสดง GC-MS โครมาโทแกรมแบบขยายส่วนของสารมาตรฐาน policosanol ดังภาพที่ 15



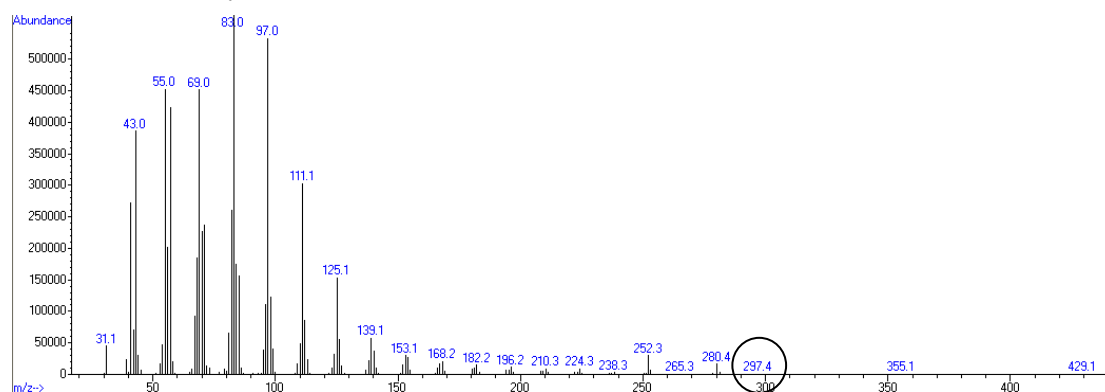
ภาพที่ 14 GC-MS โครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน policosanol ทั้ง 10 ประเภท ได้แก่ Eicosanol-C₂₀ (24.685 นาที), Heneicosanol-C₂₁ (25.579 นาที), Docosanol-C₂₂ (26.433 นาที), Tricosanol-C₂₃ (27.265 นาที), Tetracosanol-C₂₄ (28.103 นาที), Pentacosanol-C₂₅ (28.862 นาที), Hexacosanol-C₂₆ (29.633 นาที), Heptacosanol-C₂₇ (30.323 นาที), Octacosanol-C₂₈ (31.208 นาที) และ Triacosanol-C₃₀ (33.164 นาที)



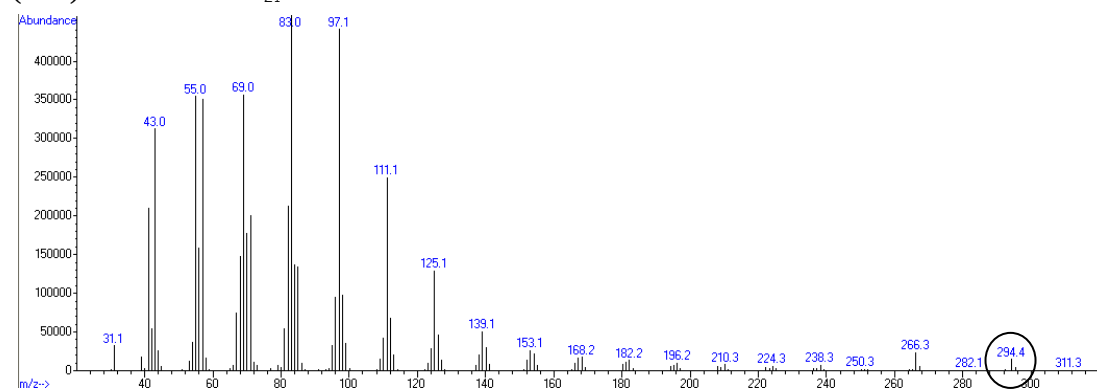
ภาพที่ 15 GC-MS โครมาโทแกรมแบบขยายส่วนของสารมาตรฐาน policosanol ทั้ง 10 ประเภท ได้แก่ Eicosanol-C₂₀ (24.685 นาที), Heneicosanol-C₂₁ (25.579 นาที), Docosanol-C₂₂ (26.433 นาที), Tricosanol-C₂₃ (27.265 นาที), Tetracosanol-C₂₄ (28.103 นาที), Pentacosanol-C₂₅ (28.862 นาที), Hexacosanol-C₂₆ (29.633 นาที), Heptacosanol-C₂₇ (30.323 นาที), Octacosanol-C₂₈ (31.208 นาที) และ Triacosanol-C₃₀ (33.164 นาที)

ซึ่งในแต่ละพีคของสารมาตรฐาน policosanol เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย mass spectrometry แล้ว พบว่ามีลักษณะการแตกตัวบน MS (fragmentation pattern) คล้ายกัน แต่ต่างกันที่จำนวนคาร์บอนในสายโซ่ และมี molecular mass ในวงกลม ดังในภาพที่ 16

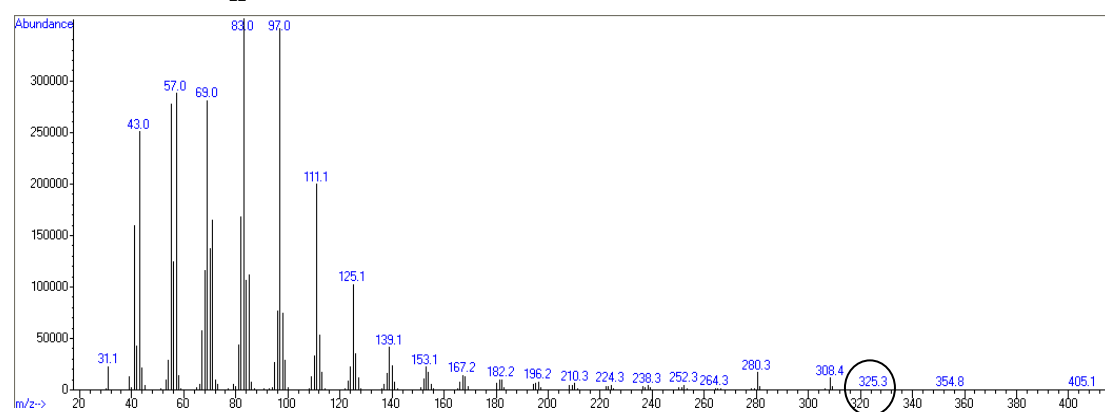
(16a) Eicosanol-C₂₀ (24.685 นาที)



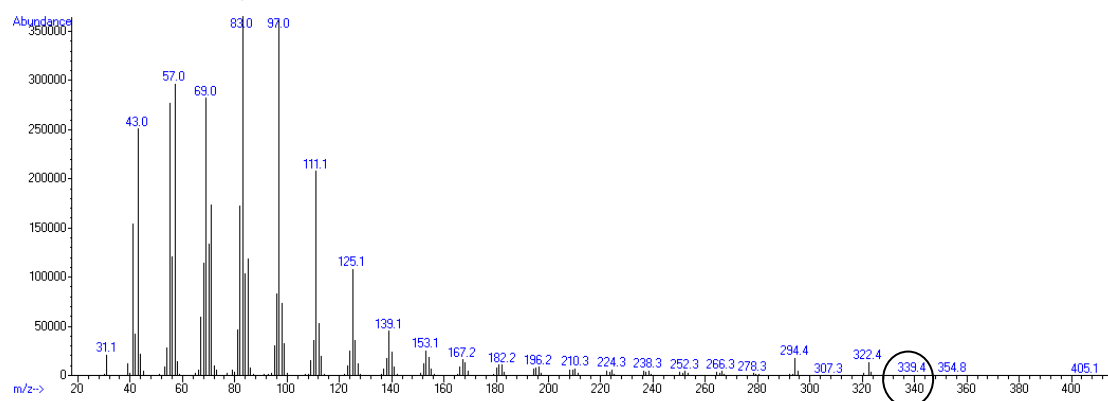
(16b) Heneicosanol-C₂₁ (25.579 นาที)



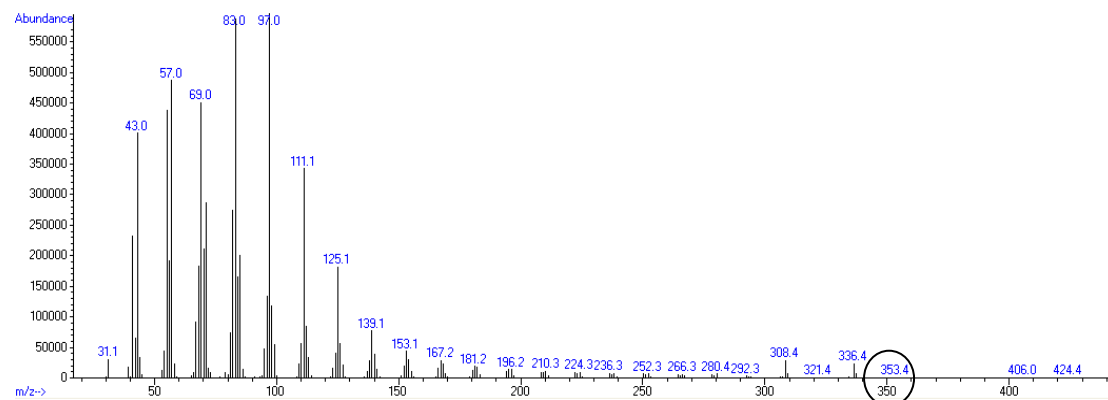
(16c) Docosanol-C₂₂ (26.433 นาที)



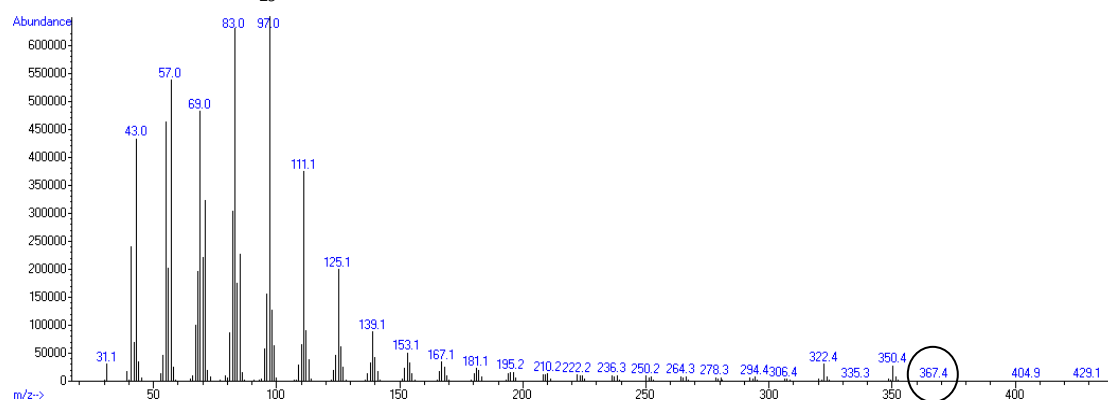
(16d) Tricosanol-C₂₃ (27.265 นาที)



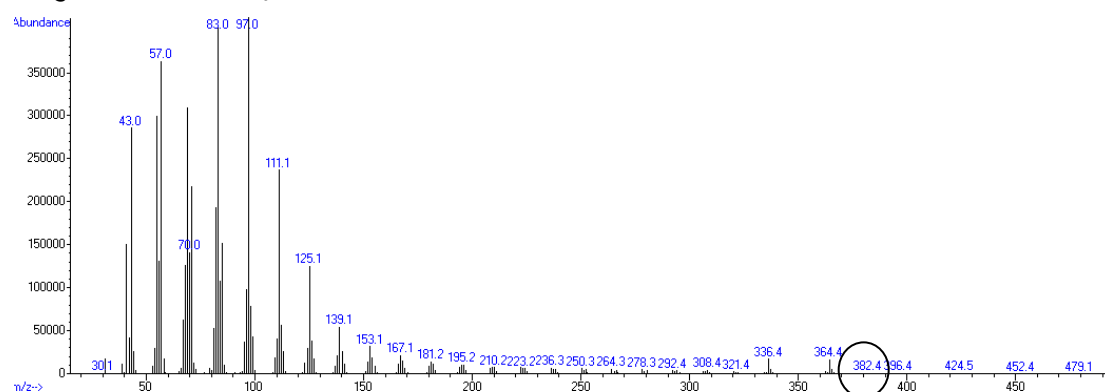
(16e) Tetracosanol-C₂₄ (28.103 นาที)



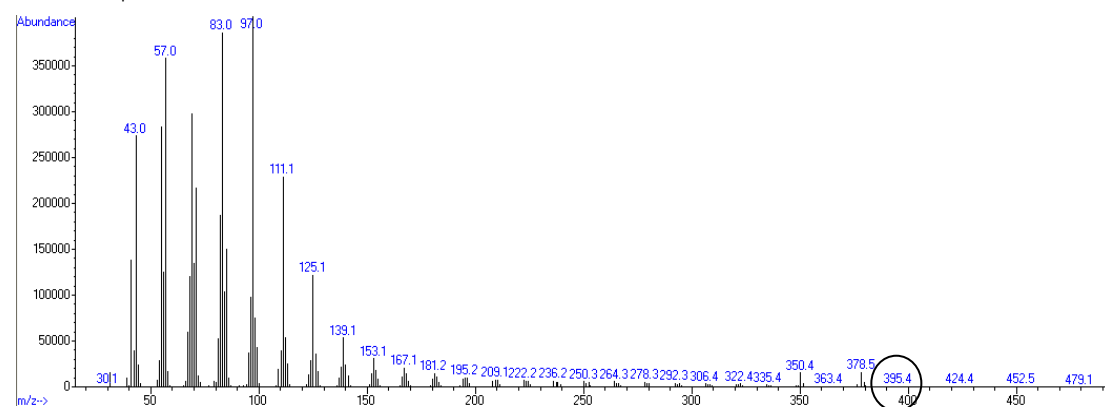
(16f) Pentacosanol-C₂₅ (28.862 นาที)



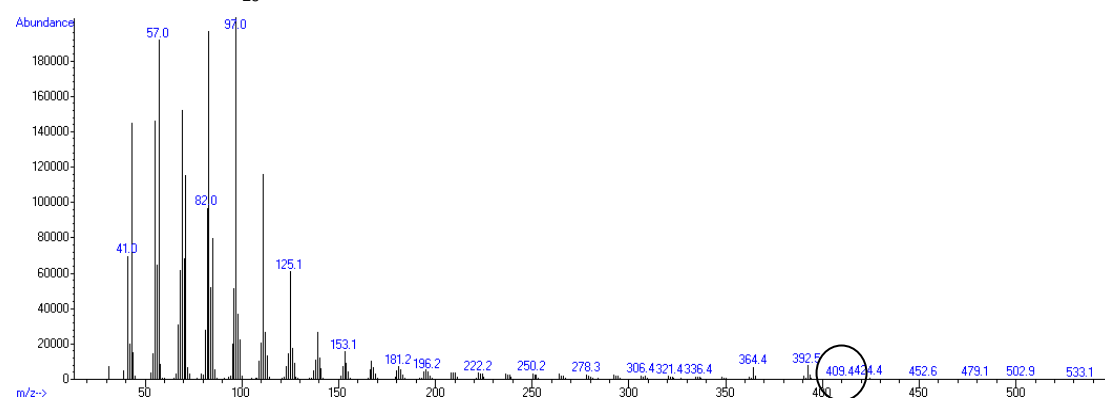
(16g) Hexacosanol-C₂₆ (29.633 นาที)



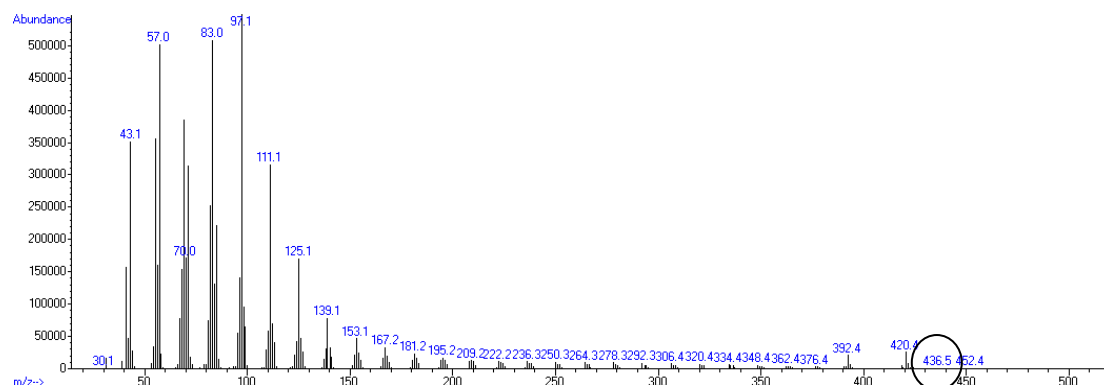
(16h) Heptacosanol-C₂₇ (30.323 นาที)



(16i) Octacosanol-C₂₈ (31.208 นาที)

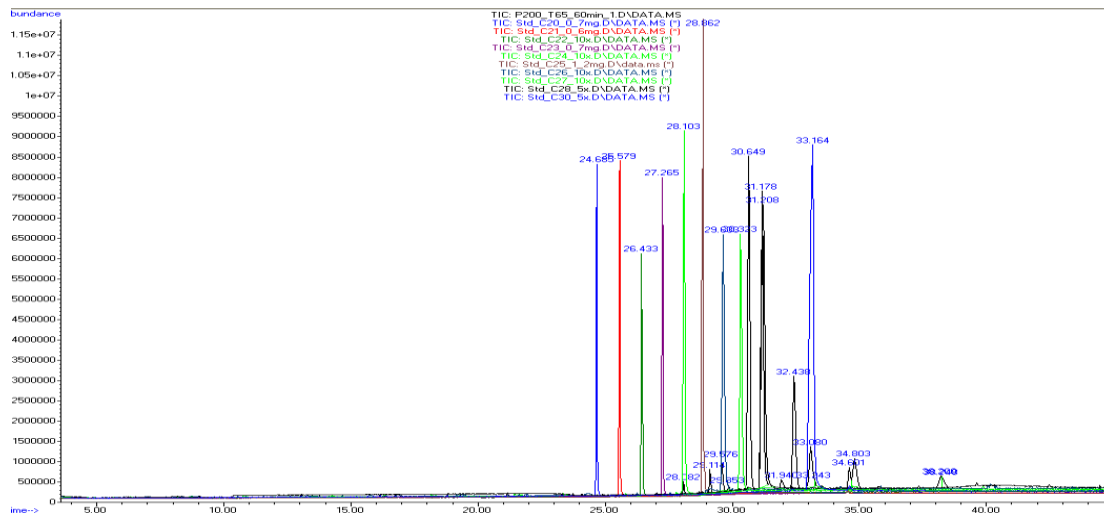


(16j) Triacosanol-C₃₀ (33.164 นาที)

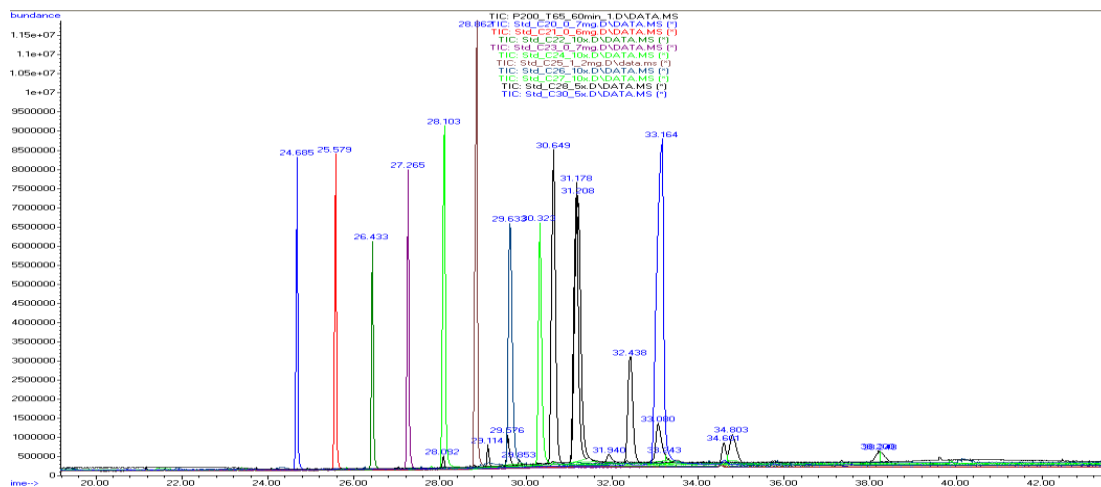


ภาพที่ 16 แสดง mass spectrum ของสารมาตรฐาน policosanol ทั้ง 10 ชนิด : (15a)Eicosanol-C₂₀ (24.685 นาที), (15b)Heneicosanol-C₂₁ (25.579 นาที), (15c)Docosanol-C₂₂ (26.433 นาที), (15d)Tricosanol-C₂₃ (27.265 นาที), (15e)Tetracosanol-C₂₄ (28.103 นาที), (15f)Pentacosanol-C₂₅ (28.862 นาที), (15g) Hexacosanol-C₂₆ (29.633 นาที), (15h)Heptacosanol-C₂₇ (30.323 นาที), (15i)Octacosanol-C₂₈ (31.208 นาที) และ (15j)Triacosanol-C₃₀ (33.164 นาที)

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสาร policosanol ในสารสกัดไขอ้อยจากกกากหม้อกรอง โดยนำไปเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน policosanol พบว่าในสารสกัดไขอ้อยมี policosanol ทั้งหมด 4 ประเภท คือ *Tetracosanol-C₂₄*, *Hexacosanol-C₂₆*, *Octacosanol-C₂₈* และ *Triacosanol-C₃₀* ดังภาพที่ 17 และแสดง GC-MS โครมาโทแกรมแบบขยายส่วน ดังภาพที่ 18

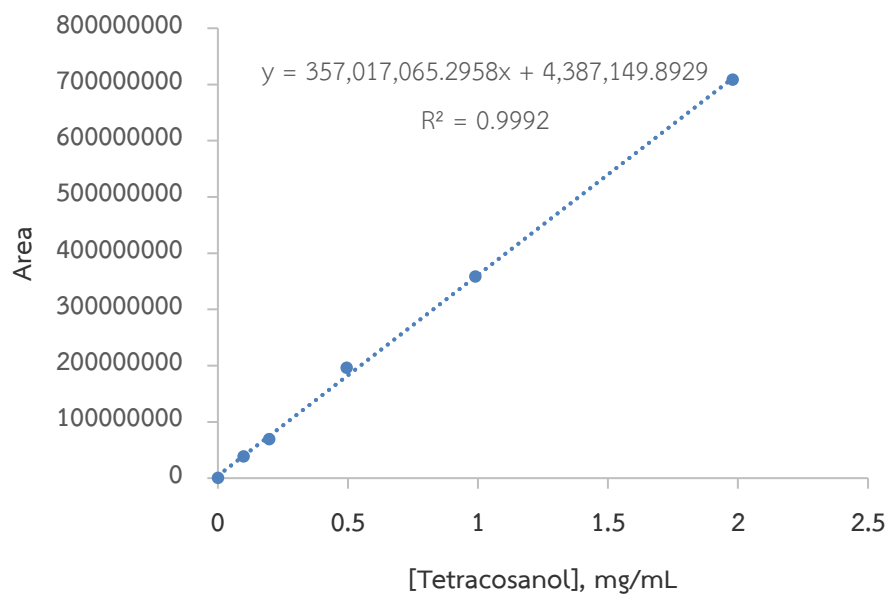


ภาพที่ 17 GC-MS โครมาโทแกรมสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองเทียบกับสารมาตรฐาน policosanol ทั้ง 10 ประเภท ได้แก่ Eicosanol- C_{20} (24.685 นาที), Heneicosanol- C_{21} (25.579 นาที), Docosanol- C_{22} (26.433 นาที), Tricosanol- C_{23} (27.265 นาที), Tetracosanol- C_{24} (28.103 นาที), Pentacosanol- C_{25} (28.862 นาที), Hexacosanol- C_{26} (29.633 นาที), Heptacosanol- C_{27} (30.549 นาที), Octacosanol- C_{28} (31.208 นาที) และ Triacosanol- C_{30} (33.164 นาที)

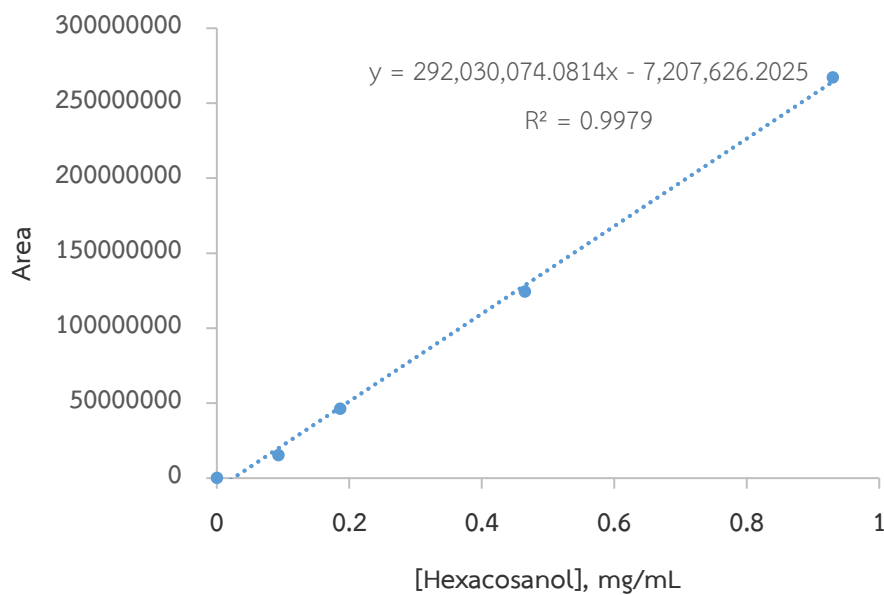


ภาพที่ 18 GC-MS โครมาโทแกรมแบบขยายส่วนของสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองเทียบกับสารมาตรฐาน policosanol ทั้ง 10 ประเภท ได้แก่ Eicosanol-C₂₀ (24.685 นาที), Heneicosanol-C₂₁ (25.579 นาที), Docosanol-C₂₂ (26.433 นาที), Tricosanol-C₂₃ (27.265 นาที), Tetracosanol-C₂₄ (28.103 นาที), Pentacosanol-C₂₅ (28.862 นาที), Hexacosanol-C₂₆ (29.633 นาที), Heptacosanol-C₂₇ (30.323 นาที), Octacosanol-C₂₈ (31.208 นาที) และ Triacosanol-C₃₀ (33.164 นาที)

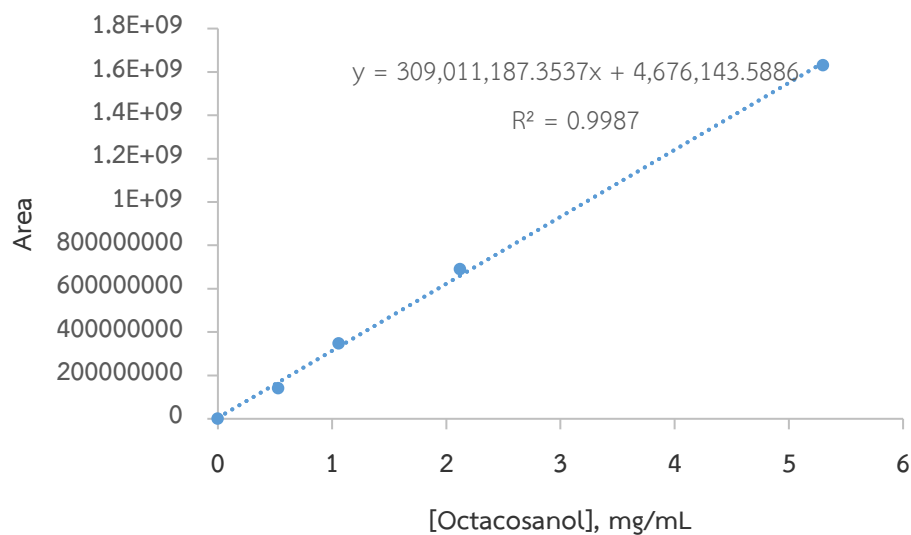
ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ policosanol ในสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂ โดยการคำนวณจากกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน policosanol ทั้ง 4 ประเภท คือ Tetracosanol-C₂₄, Hexacosanol-C₂₆, Octacosanol-C₂₈ และ Triacosanol-C₃₀ (ภาพที่ 19-22 ตามลำดับ) โดยปริมาณ policosanol คำนวณได้จากผลรวมของปริมาณ Tetracosanol-C₂₄, Hexacosanol-C₂₆, Octacosanol-C₂₈ และ Triacosanol-C₃₀ ซึ่งผลการวิเคราะห์หาปริมาณ policosanol ของสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂ ในแต่ละสภาวะ แสดงดังตารางที่ 9



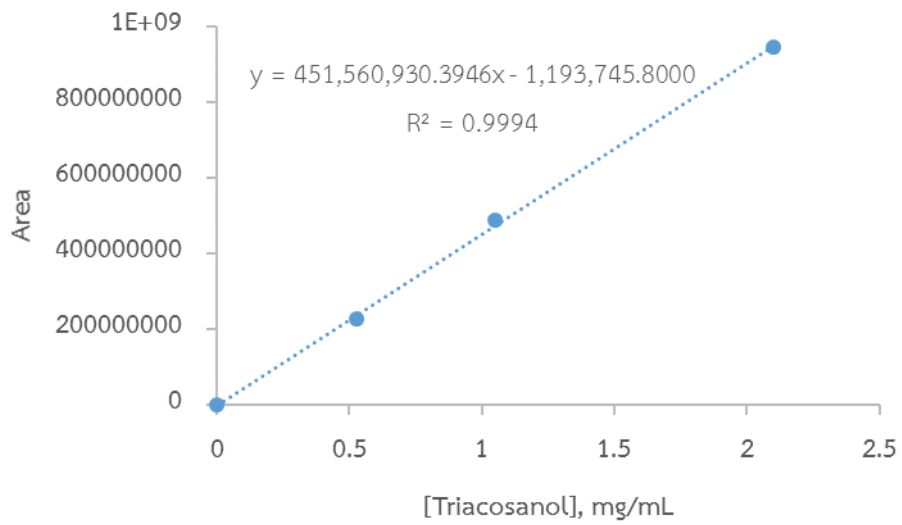
ภาพที่ 19 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Tetracosanol-C₂₄ ในการหาปริมาณ policosanol ในสารสกัดไขอ้อยจากกากหมักกรองที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂



ภาพที่ 20 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Hexacosanol-C₂₆ ในการหาปริมาณ policosanol ในสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂



ภาพที่ 21 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Octacosanol-C₂₈ ในการหาปริมาณ policosanol ในสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂



ภาพที่ 22 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Triacosanol-C₃₀ ในการหาปริมาณ policosanol ในสารสกัดไขอ้อยจากกากหมักกรองที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂

ตารางที่ 9 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร policosanol ของสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรอง ที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂ ได้จากการทำการวิเคราะห์เทียบกับ calibration curve ใน GC-MS

Condition	Filter cake เริ่มต้น (kg)	Crude extract (g)	%Yield	Total Policosanol (PC) (mg/g)	%Total PC
P100-T49.6-30 min	10	79.75	0.80	128.72±1.10	12.87±0.11
P100-T51.2-30 min	10	190.17	1.90	120.63±0.22	12.06±0.02
P100-T52-60 min	10	32.52	0.33	127.34±0.09	12.73±0.01
P100-T50.4-60 min	10	112.01	1.12	123.13±3.03	12.31±0.30
P100-T47.2-60 min	10	204.14	2.04	115.47±7.00	11.55±0.70
P100-T75.2-30 min	10	47.1	0.47	105.95±2.03	10.60±0.20
P100-T71.2-30 min	10	40.65	0.41	132.94±6.19	13.29±0.62
P100-T73.6-30 min	10	20.77	0.21	91.37±2.01	9.14±0.20
P100-T72.8-60 min	10	36.83	0.37	136.80±1.08	13.68±0.11
P100-T73-60 min	10	38.51	0.39	94.61±5.43	9.46±0.54
P100-T72.8-60 min	10	40.12	0.40	71.06±1.93	7.11±0.19
P150-T51.2-30 min	10	83.71	0.84	146.33±1.62	14.63±0.16
P150-T50.2-30 min	10	79.87	0.80	148.30±3.40	14.83±0.34
P150-T46.4-30 min	10	75.05	0.75	70.18±7.06	7.02±0.71
P150-T48-15 min	10	77.83	0.78	254.51±19.36	25.45±1.94
P150-T51.4-60 min	10	203.09	2.03	267.00±14.43	26.70±1.44
P150-T47.2-60 min	10	37.64	0.38	213.03±1.94	21.30±0.19
P150-T46.4-60 min	10	63.28	0.63	143.40±12.42	14.34±1.24
P150-T73.6-30 min	10	38.74	0.39	227.46±9.49	22.75±0.95
P150-T71.2-30 min	10	33.37	0.33	188.18±2.68	18.82±0.27
P150-T70.5-30 min	10	64.74	0.65	257.52±3.74	25.75±0.37
P150-T67.2-60 min	10	108.16	1.08	320.12±2.61	32.01±0.26
P150-T72-60 min	10	106.12	1.06	201.06±4.23	20.11±0.42
P150-T68-60 min	10	156.23	1.56	205.01±3.84	20.50±0.38

หมายเหตุ: P = Pressure, T = Temperature

Total PC = ผลรวมปริมาณ policosanol ของ C₂₄, C₂₆, C₂₈ และ C₃₀

ข้อมูลที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 9 (ต่อ)ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร policosanol ของสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรอง ที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂ ได้จากการทำการวิเคราะห์เทียบกับ calibration curve ใน GC-MS

Condition	Filter cake (kg)	Crude extract (g)		%Yield		Total Policosanol (PC) (mg/g)	%Total PC
P200-T50.4-30 min	10	101.85		1.02		289.59±14.14	28.96±1.41
P200-T52-30 min	10	43.37		0.43		226.25±14.99	22.63±1.50
P200-T49.6-30 min	10	37.63		0.38		206.09±13.89	20.61±1.39
P200-T48-60 min	10	18.69		0.19		232.33±25.96	23.23±2.60
P200-T51.2-60 min	10	98.06		0.98		210.66±18.50	21.07±1.85
P200-T47.2-60 min	10	109.54		1.10		231.98±5.14	23.20±0.51
P200-T75-30 min	10	41.97		0.42		220.53±3.20	22.05±0.32
P200-T72.6-30 min	10	237.4		2.37		217.76±31.39	21.78±3.14
P200-T72.8-30 min	10	36.12		0.36		237.44±3.50	23.74±0.35
P200-T65-60 min	10	115.07		1.15		187.31±4.21	18.73±0.42
P200-T82-60 min	10	123.01		1.23		219.65±1.80	21.97±0.18
P200-T68-60 min	10	174.2		1.74		176.95±8.40	17.70±0.84
P200-T70.2-45 min_44 (1)	15	174.09	211.39	1.16	1.41	245.24±72.18	24.52±7.22
P200-T70.2-45 min_44 (2)		37.30		0.25		245.18±2.62	24.52±0.26
P150-T46.5-30 min_45(1)	13.5	84.37	278	0.62	2.06	209.40±3.57	20.94±0.36
P150-T46.5-30 min_45(2)		109.97		0.81		147.06±8.22	14.71±0.82
P150-T50-30 min_45(3)		83.66		0.62		258.26±49.49	25.83±4.95

หมายเหตุ: P = Pressure, T = Temperature

Total PC = ผลรวมปริมาณ policosanol ของ C₂₄, C₂₆, C₂₈ และ C₃₀

ข้อมูลที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 9 (ต่อ)ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร policosanol ของสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรอง ที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂ ได้จากการทำการวิเคราะห์เทียบกับ calibration curve ใน GC-MS

Condition	Filter cake (kg)	Crude extract (g)		%Yield		Total Policosanol (PC) (mg/g)	%Total PC
P200-T65.6-30 min_46(1)	8.5	95.59	215.32	1.12	2.53	195.09±12.39	19.51±1.24
P200-T65.6-30 min_46(2)		119.73		1.41		161.22±24.66	16.12±2.47
P200-T62-30 min_47(1)	15	115.20	276.56	0.77	1.84	236.48±49.44	23.65±4.94
P200-T72-30 min_47(2)		112.43		0.75		191.92±31.06	19.19±3.11
P200-T72.8-30 min_47(3)		48.93		0.33		167.68±7.33	16.77±0.73
P150-T48.4-45 min (48)	15	195.16		1.30		183.28±2.16	18.33±0.22
P150-T48.8-30 min_49(1)	15	77.69	109.22	0.52	0.73	239.89±22.34	23.99±2.23
P150-T48.8-30 min_49(2)		31.53		0.21		155.74±3.64	15.57±0.36
P150-T48.8-30 min_50(1)	15	49.71	109.29	0.33	0.73	230.71±6.28	23.07±0.63
P150-T48.8-30 min_50(2)		59.58		0.40		150.78±30.23	15.08±3.02
P200-T71.2-30 min_51(1)	8	115.97	324.16	1.45	4.05	163.19±3.69	16.32±0.37
P200-T75.2-30 min_51(2)		118.22		1.48		110.19±5.16	11.02±0.52
P200-T72.8-30 min_51(3)		89.97		1.12		201.63±21.23	20.16±2.12
P150-T47.2-30 min_52(1)	15	87.96	122.96	0.59	0.82	154.39±8.74	15.44±0.87
P150-T47.8-30 min_52(2)		35.00		0.23		147.47±1.75	14.75±0.17

หมายเหตุ: P = Pressure, T = Temperature

Total PC = ผลรวมปริมาณ policosanol ของ C24, C26, C28 และ C30

ข้อมูลที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากตารางที่ 9 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร policosanol ของสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂ ได้จากการทำการเทียบกับ calibration curve ใน GC-MS เมื่อนำไปทำนายผลปริมาณ policosanol ที่สกัดได้โดยปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ความดัน อุณหภูมิ และ

ระยะเวลาในการสกัดจากข้อมูลในตารางที่ 9 ที่ความดัน 100 150 และ 200 กำหนดค่าตัวแปรต่าง ๆ เช่นเดียวกับ การหาสมการทำนาย % yield การสกัดก่อนหน้า ได้ค่า regression analysis ดังนี้

Regression Analysis: %Total PC versus Pressure, Temperature, Time

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	7	693.89	99.127	4.07	0.004
Pressure	1	18.21	18.212	0.75	0.395
Temperature	1	15.26	15.263	0.63	0.436
Time	1	17.48	17.480	0.72	0.404
Pressure*Temperature	1	5.89	5.886	0.24	0.627
Pressure*Time	1	7.69	7.693	0.32	0.579
Temperature*Time	1	12.74	12.739	0.52	0.476
Pressure*Temperature*Time	1	4.72	4.717	0.19	0.663
Error	26	632.65	24.333		
Lack-of-Fit	25	611.07	24.443	1.13	0.644
Pure Error	1	21.58	21.582		
Total	33	1326.54			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
4.93282	52.31%	39.47%	25.28%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	-59.7	68.2	-0.88	0.389	
Pressure	0.359	0.415	0.87	0.395	387.28
Temperature	0.82	1.03	0.79	0.436	200.79
Time	1.12	1.32	0.85	0.404	545.58
Pressure*Temperature	-0.00311	0.00633	-0.49	0.627	502.34
Pressure*Time	-0.00455	0.00810	-0.56	0.579	775.27
Temperature*Time	-0.0147	0.0203	-0.72	0.476	604.28
Pressure*Temperature*Time	0.000055	0.000126	0.44	0.663	801.35

Regression Equation

%Total PC = -59.7 + 0.359 Pressure + 0.82 Temperature + 1.12 Time
 - 0.00311 Pressure*Temperature - 0.00455 Pressure*Time
 - 0.0147 Temperature*Time + 0.000055 Pressure*Temperature*Time

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	%Total PC	Fit	Resid	Std Resid	
20	32.01	17.97	14.04	2.96	R

R Large residual

จากผลข้างต้นพบว่าค่า R^2 มีค่า 52.31% มีค่าไม่ใกล้เคียง 100% แสดงว่าค่าที่ได้จากผลการทดลองมีความแตกต่างกับค่าที่ทำนายด้วยสมการค่อนข้างมาก แต่อย่างไรก็ดีค่า P-value ของแต่ละพจน์มีค่ามากกว่า 0.025 ดังนั้นจึงมีการปรับปรุงสมการโดยคิดค่า response เป็นค่า % Total PC เฉลี่ย และควบคุมตัวแปรอุณหภูมิที่ควบคุมได้ยากให้เป็นค่าคงที่ที่ 50 และ 70 องศาเซลเซียส ทำการจากตารางที่ 10 ได้ผลการทำนายดังข้างล่าง

ตารางที่ 10 แสดง %Total PC โดยเฉลี่ยที่ สภาวะต่าง ๆ จากข้อมูลในตารางที่ 9

Test	Pressure	Temperature	Time	avg.% Total PC	ค่า S.D.
1	100	50	30	12.06	0.00
2	100	50	60	12.20	0.60
3	100	70	30	11.01	2.11
4	100	70	60	10.08	3.33
5	150	50	30	12.16	4.45
6	150	50	60	20.78	6.20
7	150	70	30	22.44	3.48
8	150	70	60	24.21	6.76
9	200	50	30	24.07	4.36
10	200	50	60	22.50	1.24
11	200	70	30	22.52	1.06
12	200	70	60	19.47	2.23

Regression Analysis: avg.% Total PC versus Pressure, Temperature, Time

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	7	247.863	35.4090	1.27	0.433
Pressure	1	1.041	1.0409	0.04	0.856
Temperature	1	0.695	0.6955	0.02	0.882
Time	1	0.700	0.7003	0.03	0.882
Pressure*Temperature	1	0.000	0.0002	0.00	0.998
Pressure*Time	1	0.005	0.0055	0.00	0.990
Temperature*Time	1	0.322	0.3221	0.01	0.920
Pressure*Temperature*Time	1	0.023	0.0228	0.00	0.979
Error	4	111.846	27.9615		
Total	11	359.709			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
5.28786	68.91%	14.49%	0.00%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	-21	112	-0.19	0.858	
Pressure	0.139	0.719	0.19	0.856	370.00
Temperature	0.29	1.84	0.16	0.882	145.00
Time	0.37	2.36	0.16	0.882	536.50
Pressure*Temperature	-0.0000	0.0118	-0.00	0.998	505.00
Pressure*Time	-0.0002	0.0152	-0.01	0.990	869.50
Temperature*Time	-0.0042	0.0388	-0.11	0.920	667.00
Pressure*Temperature*Time	-0.000007	0.000249	-0.03	0.979	991.00

Regression Equation

avg.% Total PC = -21 + 0.139 Pressure + 0.29 Temperature + 0.37 Time
- 0.0000 Pressure*Temperature - 0.0002 Pressure*Time
- 0.0042 Temperature*Time
- 0.000007 Pressure*Temperature*Time

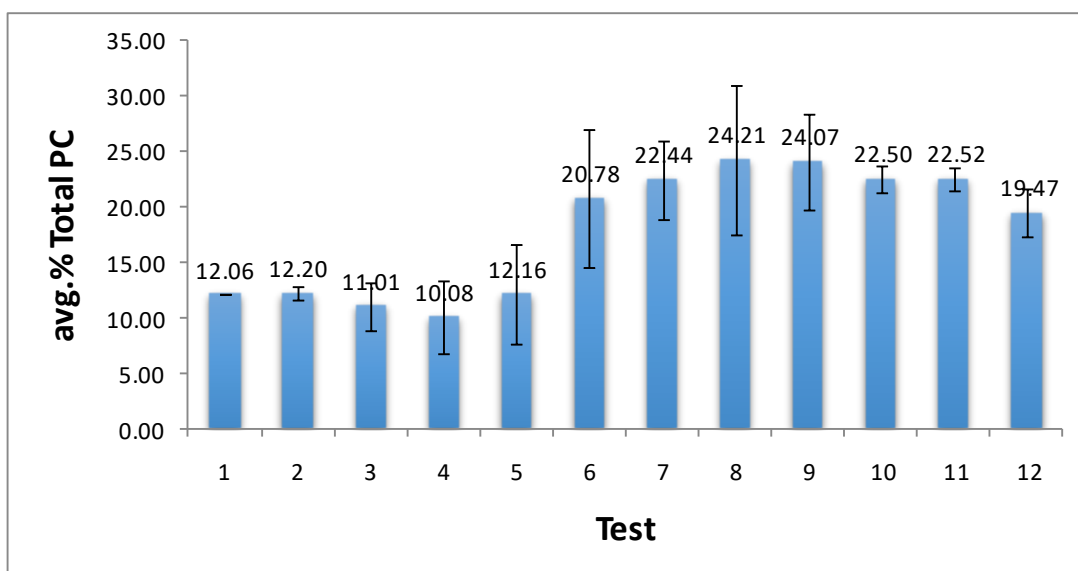
จากผลการวิเคราะห์ข้างต้นพบว่าค่า R^2 ดีขึ้นจากเดิมและมีค่าเท่ากับ 68.91% โดยค่า P-value ของแต่ละพจน์มีค่ามากกว่า 0.025 ดังนั้นสมการที่ได้น่าจะใช้เป็นตัวแทนในการทดสอบสมมติฐานและใช้เป็นสมการที่จะพิจารณาความสำคัญของปัจจัยที่มีต่อค่า % Total PC

ทำการทดสอบความแม่นยำของสมการเมื่อแทนค่าสมการทำนายค่าของ %Total PC โดยอ้างอิงผลการทดลองที่ให้ค่า % Total PC เฉลี่ยมากที่สุดนั่นคือการสกัดไข้อยู่ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตยิ่งยวดภายใต้สภาวะความดันที่ 150 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 60 นาที ซึ่งให้ค่า % yield เฉลี่ยเท่ากับ 24.21% ซึ่งจะเปรียบเทียบกับ % Total PC ที่ได้จากการทำนายด้วยสมการดังนี้

$$\begin{aligned}
 \text{avg.\% Total PC} &= -21 + 0.139 \text{ Pressure} + 0.29 \text{ Temperature} + 0.37 \text{ Time} \\
 &\quad - 0.0000 \text{ Pressure*Temperature} - 0.0002 \text{ Pressure*Time} \\
 &\quad - 0.0042 \text{ Temperature*Time} \\
 &\quad - 0.000007 \text{ Pressure*Temperature*Time} \\
 &= 18.5\%
 \end{aligned}$$

จากค่า % Total PC ที่ได้จากการแทนค่าสมการตัวแทนทำนายค่าเท่ากับ 18.5% โดยมีร้อยละความแตกต่างกับผลการทดลองสภาวะที่ดีที่สุด (24.21%) เท่ากับ 23.59% และเมื่อพิจารณาจากค่า P-value ซึ่งใช้วิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่ โดยพิจารณาจากค่า P-value ของพจน์ของตัวแปร ความดัน อุณหภูมิ และระยะเวลาในการสกัด พบว่า P-value ของตัวแปรหลักมีค่ามากกว่า 0.025 แสดงว่าสมมติฐานหลักที่ตั้งไว้ถูกยอมรับและเมื่อเปรียบเทียบค่า P-value ของตัวแปรหลักดังกล่าว พบว่าทุกปัจจัยที่มีผลต่อค่า % Total PC ที่สกัดและวิเคราะห์ได้

จากภาพที่ 23 แสดงเปอร์เซ็นต์ yield ของสาร policosanol ทั้งหมดที่อยู่ในไข้อยู่ที่สกัดได้โดยเฉลี่ยจากการสกัดกากหม้อกรองแห้ง จะเห็นว่าการสกัดเพื่อให้ได้ปริมาณ สาร policosanol มากในกรณีที่ใช้สภาวะความดันที่สูง (>150 บาร์) และที่อุณหภูมิสูง (>70 องศาเซลเซียส) (การทดลองที่ 7-12)



ภาพที่ 23 เปอร์เซนต์ yield ของสาร policosanol ทั้งหมดที่อยู่ในไข้อยู่ที่สกัดได้โดยเฉลี่ยจากการสกัดกากหม้อกรองแห้ง



(24a)



(24b)

ภาพที่ 24 ลักษณะไขอ้อยที่ไหลออกมาจากเครื่อง (24a) และลักษณะไขอ้อยที่ค้างอยู่บนถังสกัดกรณีที่ใช้ co-solvent ไม่เพียงพอ (24b)

สารสกัดไขอ้อยที่ได้ทั้งหมดแบ่งออกเป็นสองส่วน คือ ส่วนแรกสำหรับนำไปใช้ในโครงการ “การพัฒนาผลิตภัณฑ์พอลิโคซานอลเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาด้วยเทคนิคการควบคุมการปลดปล่อยระดับนาโน” ปริมาณ 1.5 กิโลกรัม (ภาพที่ 25)

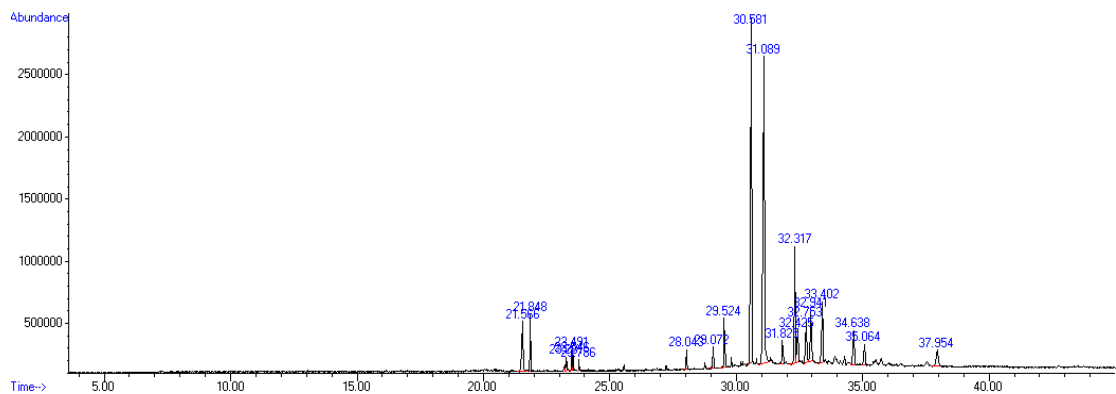


ภาพที่ 25 สารสกัดไขอ้อยสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์พอลิโคซานอล

สำหรับส่วนที่สอง สารสกัดไขอ้อยทุกสภาวะที่เหลือทั้งหมด นำมาหลอมละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเทลงในแม่พิมพ์ ทิ้งให้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง จะได้สารสกัดไขอ้อยลักษณะเป็นแท่งสี่เหลี่ยมตามลักษณะแม่พิมพ์ (ภาพที่ 26) นำสารสกัดไขอ้อยมาวิเคราะห์หองค์ประกอบสารด้วยเทคนิค GC-MS มีสารที่พบดังแสดงใน GC-MS โครมาโทแกรม ภาพที่ 27



ภาพที่ 26 สารสกัดไขอ้อยหลังจากที่หลอมรวมทั้งหมด



ภาพที่ 27 GC-MS โครมาโทแกรมของสารสกัดไซออยรวมที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂

ซึ่งในแต่ละพีคของสารสกัดไซออย เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย mass spectrometry แล้ว พบว่ามีลักษณะการแตกตัวบน MS (fragmentation pattern) ที่แสดง mass spectrum ของพีคที่ 21.566, 21.848, 23.281, 23.491, 23.546, 23.786, 28.043, 29.072, 29.524, 30.581, 31.089, 31.825, 32.317, 32.425, 32.753, 32.941, 33.402, 34.638, 35.064 และ 37.954 ตามลำดับ ดังแสดงในผนวก ก.11

จาก molecular mass และการแตกตัว (fragmentation pattern) ทำให้พอที่จะสามารถระบุชนิดของสารได้ดังนี้

ตารางที่ 11 ชนิดของสารที่พบในตัวอย่างไขอ้อยที่สกัดได้จาก sc-CO₂

พีคที่ (นาที)	Molecular mass	สูตรโมเลกุล	ชื่อเคมี
21.566	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Hexadecanoic acid
21.848	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Hexadecanoic ethyl ester
23.786	312	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	Octadecanoic ethyl ester
28.043	354	C ₂₄ H ₄₉ -OH	1-Tetracosanol
29.072	380	C ₂₆ H ₅₂ O	1-Hexacosanal
29.524	382	C ₂₆ H ₅₃ -OH	1-Hexacosanol
30.581	408	C ₂₈ H ₅₆ O	1-Octacosanal
31.089	410	C ₂₈ H ₅₇ -OH	1-Octacosanol
31.825	452	C ₃₀ H ₆₀ O ₂	Triacosanoic ethyl ester
32.317	438	C ₃₀ H ₆₁ -OH	Triacosanol
32.425	400	C ₂₈ H ₄₈ O	Campesterol
32.753	412	C ₂₉ H ₄₈ O	Stigmasterol
33.402	414	C ₂₉ H ₅₀ O	Beta-sitosterol

นำสารสกัดไขอ้อยมาวิเคราะห์หาความชื้นและปริมาณ policosanol พบว่าสารสกัดไขอ้อยมีความชื้นอยู่ที่ 14 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณ policosanol เท่ากับ 29.88 กรัม ต่อน้ำหนักตัวอย่างแห้ง 100 กรัม ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร policosanol ของสารสกัดไขอ้อยทั้งหมดจากกากหมักกรอง ที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂ ได้จากการทำการวิเคราะห์เทียบกับ calibration curve ใน GC-MS

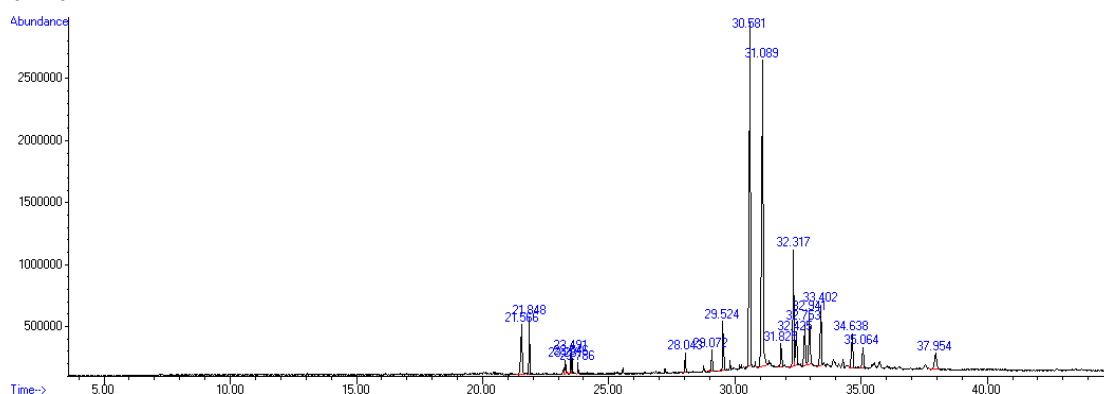
Sample	% Moisture	Total Policosanol (PC) (mg/g of dry weight)	% Total PC
สารสกัดไขอ้อย	14.22	298.82±13.88	29.88±1.39
สารสกัดไขอ้อยสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์พอลิโคซานอล	12.42	345.44±5.48	34.54±0.55

Total PC = ผลรวมปริมาณ policosanol ของ C₂₄, C₂₆, C₂₈ และ C₃₀

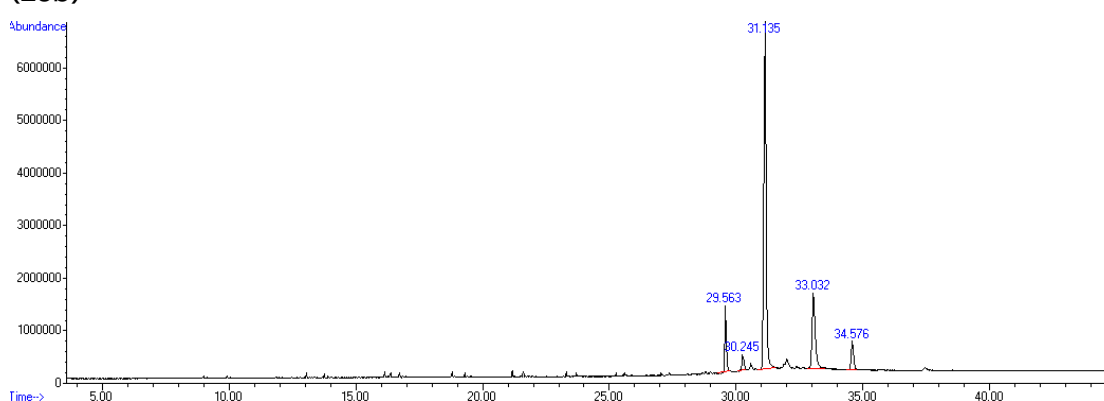
ข้อมูลที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร policosanol ทั้งหมดในสารสกัดไขอ้อย เมื่อเทียบกับสาร policosanol ในรูปแบบ commercial (COA ภาควิชา ก.) พบว่า มีองค์ประกอบของ policosanol ใกล้เคียงกัน โดยมีสัดส่วนของสาร octacosanol มากที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 28

(28a)



(28b)



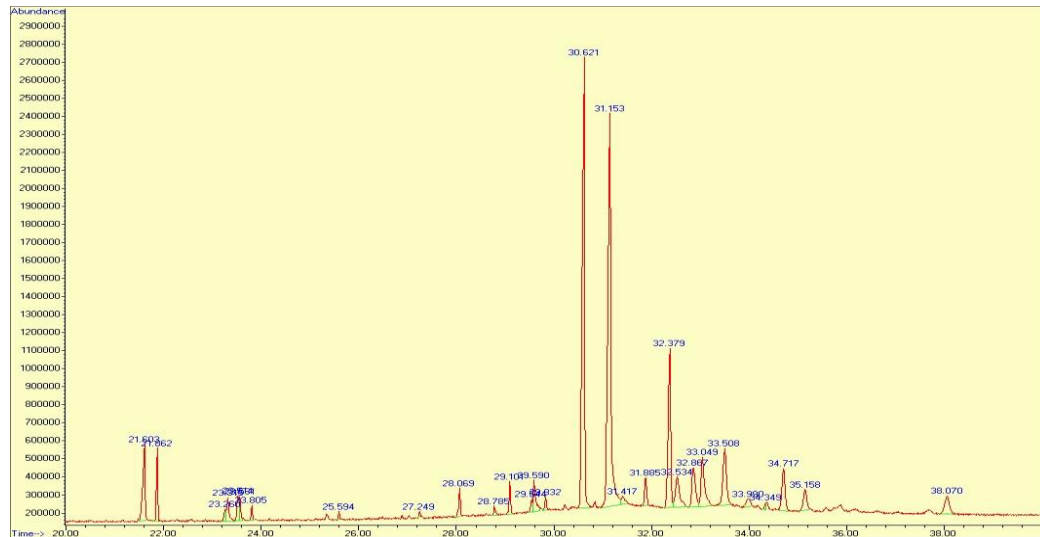
ภาพที่ 28 GC-MS โครมาโทแกรมของสารสกัดไขอ้อยที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂ (a) และสาร policosanol ที่เป็นแบบ commercial (b)

เมื่อนำไขอ้อยที่สกัดได้ด้วยเทคนิค sc-CO₂ มาวิเคราะห์ค่า acid value, saponification value, iodine value และค่าจุดหลอมเหลว (m.p.) (ตารางที่ 13) พบว่าค่า saponification value ของไขอ้อยที่ได้จากการสกัดด้วย sc-CO₂ มีค่าต่ำกว่าค่า saponification value ที่ได้จากไขอ้อยทางการค้า หมายความว่า ไขอ้อยที่ได้จากการสกัดด้วย sc-CO₂ มีแนวโน้มที่จะมีปริมาณ fatty acid หรือ wax ester สายโซ่ยาว (จำนวนคาร์บอน) มากกว่าไขอ้อยทางการค้า ในภาพที่ 28 เป็นผลการวิเคราะห์ GC-MS นิตที่ความเข้มข้นเท่ากันคือ 10mg/mL พบว่าเมื่อเปรียบเทียบจากผลโครมาโทแกรม GC-MS ไขอ้อยจากการสกัดด้วย sc-CO₂ มีแนวโน้มที่จะบริสุทธิ์และมีสัดส่วนปริมาณ policosanol มากกว่าหรือมีการปนเปื้อนน้อยกว่าเมื่อเทียบกับไขอ้อยจากทางการค้า (ภาพที่ 29)

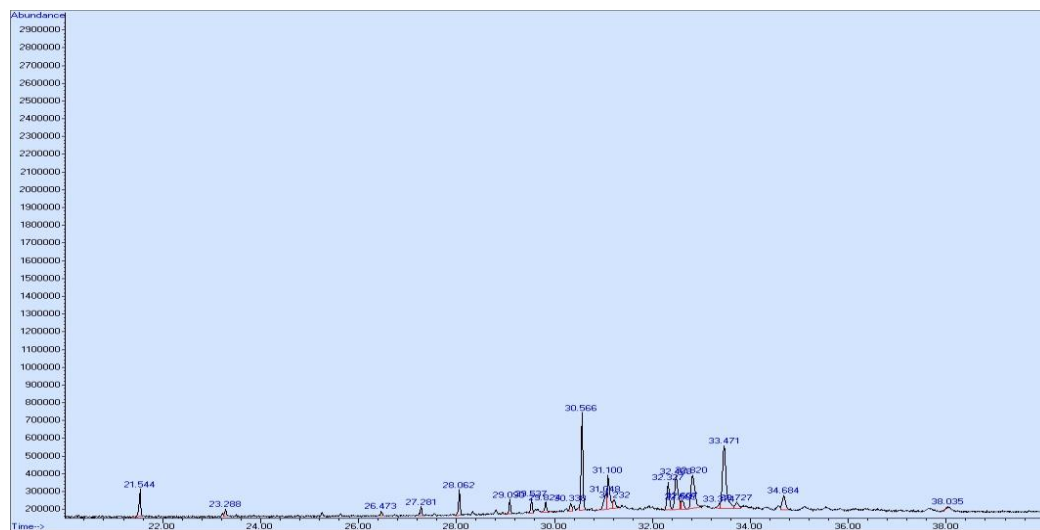
ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์ค่า acid value, saponification value, iodine value และค่าจุดหลอมเหลว (m.p.) ของไขอ้อยที่สกัดได้จากเทคนิคเทียบกับไขอ้อยที่ได้มาจากทางการค้า

ตัวอย่าง	การวิเคราะห์			
	Acid value (mg KOH/g sample)	Saponification value (mg KOH/g sample)	Iodine value (g I ₂ /100 g sample)	Melting point (°C)
ไขอ้อยจากการสกัด sc- CO ₂	31.10 ± 0.80	55.90 ± 7.86	30.02 ± 1.88	72.0 ± 1.0
ไขอ้อยจากทางการค้า	29.37 ± 0.05	91.59 ± 8.74	26.20 ± 1.75	69.0 ± 1.0

(29a)



(29b)



ภาพที่ 29 GC-MS โครมาโทแกรมของสารสกัดไซออยที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂ (29a) และไซออยทางการค้า (29b)

1.3 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ศึกษาการสกัดไข่อ้อยจากกากหม้อกรองด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดระดับน้ำร้อน และศึกษาปริมาณ policosanol จากไข่อ้อยที่สกัดได้ โดยได้รับความอนุเคราะห์ตัวอย่างกากหม้อกรองจากกลุ่มโรงงานน้ำตาลไทยรุ่งเรือง โรงงานอุตสาหกรรมน้ำตาลบ้านไร่ แหล่งที่มาจากจังหวัดอุทัยธานีและใช้เครื่องสกัดคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตขนาด 50 ลิตรจากศูนย์พัฒนากระบวนการผลิตเภสัชภัณฑ์และสมุนไพร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จังหวัดสระบุรี จากการวิเคราะห์ค่าความชื้นกากหม้อกรองหลังจากทำแห้งแล้วได้ค่าประมาณ 14-16% ทำการทดสอบวิเคราะห์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกากหม้อกรองทั้งก่อนและหลัง พบว่ากากหม้อกรองที่รับมามีค่าปริมาณธาตุอาหารโพแทชทั้งหมด (K_2O) ไม่ผ่านมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์คือมีน้อยกว่า 0.5 % และค่าการย่อยสลายที่สมบูรณ์มีค่าน้อยกว่า 80 % ซึ่งกากหม้อกรองจากโรงงานนั้นถ้าจะนำมาใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์จำเป็นต้องมีการหมักและเพิ่มเติมธาตุอาหารโพแทชให้พร้อมที่จะนำไปใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์ต่อไปได้ จากค่าการวิเคราะห์สามารถระบุว่าจะนำไปใช้เป็นวัสดุเพื่อปรับปรุงดินได้เท่านั้น และจากผลการทดลองหลังจากที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ไม่ได้ทำให้ค่าการวิเคราะห์แตกต่างจากกากหม้อกรองแห้งที่ได้จากโรงงานเบื้องต้น อย่างมีนัยยะสำคัญ เพียงแต่การสกัดไข่อ้อยจากกากหม้อกรองด้วยตัวทำละลายดังกล่าว มีส่วนช่วยให้กากหม้อกรองที่เหลือสามารถนำไปใช้เป็นปุ๋ยที่ย่อยสลายได้ดี/มากขึ้นเพราะเป็นการลดปริมาณไคก่อนที่จะใช้เป็นปุ๋ย ทำให้การย่อยสลายในธรรมชาติเกิดขึ้นได้ดีกว่า

สภาวะการสกัดไข่อ้อยด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดภายใต้ความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและภายในเวลาสกัด 60 นาที ได้น้ำหนักไข่อ้อยสกัดแห้งเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 137.43 กรัมไข่อ้อยต่อกากหม้อกรอง 10 กิโลกรัม สมการที่เสนอในโครงการใช้เพื่อพิจารณาความสำคัญของปัจจัยที่มีต่อค่า % yield ของสารสกัดไข่อ้อย ดังสมการข้างล่างนี้

$$\text{Avg. \% yield} = 6.46 - 0.0308 P - 0.0970 \text{ Temp} + 0.0053 \text{ Time} + 0.000495 P * \text{Temp} - 0.000137 P * \text{Time} - 0.00011 \text{ Temp} * \text{Time} + 0.000003 P * \text{Temp} * \text{Time}$$

ค่า % yield ของไข่อ้อยที่สกัดได้แปรผันตามค่าตัวแปรสภาวะในการสกัดไข่อ้อยจากกากหม้อกรองด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด พบว่าสามารถเรียงลำดับความสำคัญของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อค่า % yield จากมากไปหาน้อย ได้ดังนี้ ระยะเวลาการสกัด ความดัน และอุณหภูมิ ตามลำดับ

ในรายละเอียด คือ ระยะเวลาในการสกัด ที่ 30 และ 60 นาที เมื่อกำหนดปัจจัยเรื่องความดันและอุณหภูมิคงที่ จะเห็นว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดจาก 30 เป็น 60 นาทีจะได้ปริมาณ % yield ของไขอ้อยเพิ่มมากขึ้นในทุกกรณี ความดัน เมื่อทำการศึกษาผลของความดันในถังสกัดที่มีต่อค่า % yield ของไขอ้อย พบว่าไขอ้อยที่สกัดจากกากหม้อกรองด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวด ภายใต้ อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดเท่ากัน เมื่อเพิ่มความดันในระบบจะมีผลทำให้ % yield ของไขอ้อยที่สกัดได้จะเพิ่มขึ้นในกรณีที่ใช้อุณหภูมิสูงที่ 70 องศาเซลเซียสในการสกัดและเวลาในการสกัดเป็นไปไดทั้ง 30 และ 60 นาที อย่างไรก็ตามผลของ % yield ของการสกัดจะลดลงเมื่อเพิ่มความดันในระบบที่สกัดด้วยอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิ จะเห็นว่า % yield เฉลี่ยของผลผลิตไขอ้อยที่สกัดได้จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อทำการสกัดที่ความดันสูง (200 บาร์) และระยะเวลาในการสกัดที่ 60 นาที ซึ่งเมื่อพิจารณาจากแนวโน้มทำให้การทำนายปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองด้วยไขอ้อยที่สกัดจากกากหม้อกรองด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวด สอดคล้องกับสมการทำนายการสกัดข้างต้น

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ policosanols ในสารสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองที่สกัดด้วย supercritical fluid CO₂ โดยเทคนิค GC-MS โดยหาปริมาณเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานทั้ง 4 ประเภท คือ Tetracosanol-C₂₄, Hexacosanol-C₂₆, Octacosanol-C₂₈ และ Triacosanol-C₃₀ ที่พบในสารสกัดไขอ้อย จากการศึกษาพบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดไขอ้อยที่ส่งผลโดยตรงต่อปริมาณ yield ของสาร policosanols ทั้งหมดที่อยู่ในไขอ้อยที่สกัดได้โดยเฉลี่ยจากการสกัดกากหม้อกรอง จะเห็นว่า การสกัดเพื่อให้ได้ปริมาณ สาร policosanols มากจะเกิดในกรณีที่ใช้สภาวะความดันที่สูง (>150 บาร์) และที่อุณหภูมิสูง (>70 องศาเซลเซียส) เป็นสำคัญ

ปริมาณไขอ้อยที่สกัดได้จากโครงการวิจัยนี้ ได้รวม 5.148 กิโลกรัม โดยมีความชื้น 14.22% และมีปริมาณ policosanols ทั้งหมด 29.88% และเมื่อนำไขอ้อยที่สกัดได้ด้วยเทคนิค sc-CO₂ มาวิเคราะห์ค่า acid value, saponification value, iodine value และค่าจุดหลอมเหลว (m.p.) พบว่าค่า saponification value ของไขอ้อยที่ได้จากการสกัดด้วย sc-CO₂ มีค่าต่ำกว่าค่า saponification value ที่ได้จากไขอ้อยทางการค้า หมายความว่า ไขอ้อยที่ได้จากการสกัดด้วย sc-CO₂ มีแนวโน้มที่จะมีปริมาณ fatty acid หรือ wax ester สายโซ่ยาว (จำนวนคาร์บอน) มากกว่าไขอ้อยทางการค้า และจากผลการวิเคราะห์ GC-MS ที่วัดที่ความเข้มข้นเท่ากันคือ 10mg/mL พบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผลโครมาโตแกรม GC-MS ไขอ้อยจากการสกัดด้วย sc-CO₂ มีแนวโน้มที่จะบริสุทธิ์และมีสัดส่วนปริมาณ policosanols มากกว่าหรือมีการปนเปื้อนน้อยกว่าเมื่อเทียบกับไขอ้อยจากทางการค้า

1.4 ข้อเสนอแนะ

1. การสกัดให้ได้ปริมาณไขมันมากขึ้นขึ้นอยู่กับคุณภาพของกากหม้อกรองแห้ง และแหล่งที่ได้มาตัวอย่าง ควรทำการตรวจสอบ proximate total lipid ก่อนดำเนินการสกัดทุกครั้ง เพราะจะส่งผลถึงความคุ้มค่าในการสกัด
2. การสกัดกากหม้อกรองซ้ำ ณ สภาวะการสกัดเดิมอีกครั้งเป็นการเพิ่ม % yield ของการสกัดไขมันต่อกากหม้อกรอง
3. ควรออกแบบระบบท่อให้มีข้อต่อน้อยที่สุดและลดความยาวของท่อ
4. ควรทำการสกัดที่อุณหภูมิสูงกว่า 75 to 80 °C ซึ่งเป็นจุดหลอมเหลวของไข ซึ่งจะช่วยให้ได้ผลสกัดที่ดีขึ้น
5. ตัวเครื่องสกัดมีข้อด้อยในการทำอุณหภูมิให้ได้ตามที่ต้องการ ใช้เวลานานในการทำอุณหภูมิ และควบคุมคงที่ได้ยาก

1.5 เอกสารอ้างอิง

- [1] <http://www.fas.usda.gov/data/sugar-world-markets-and-trade>
- [2] สมบัติ ขอทวีวัฒนา และคณะ 2554. การเพิ่มมูลค่าของไข้อยู่ที่สกัดจากกากหม้อกรองโดยผลิตเป็นอนุภาคไขมันแข็งระดับนาโน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- [3] รศ.ดร.อุบลทิพย์ นิมมานนิตย์ และคณะ ในโครงการย่อยของ ดร.กิตติวุฒิ เกษมวงศ์ และคณะ 2557.การศึกษาความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ของการผลิตไข้อยู่เพื่อใช้เป็นวัสดุส่งสารสำคัญ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
- [4] Taylor, A.K. From raw sugar to raw materials. *Chem. Innovation*, **2000**, November 45–48.
- [5] Bhosale P. R., Chonde Sonal G. and Raut P. D. Studies on extraction of sugarcane wax from press mud of sugar factories from Kolhapur District, Maharashtra. *J. Environ. Res. Develop.* **2012**, 6 (3A), 715-720.
- [6] Nuissier G., Bourgeois P., Fahrasmane and Grignon-Dubois., Evaluation of vinasses from sugarcane wax, *Chem. Nat. compound*, **2008**, 44 (5), 552-555.
- [7] Laguna Granja, A., Magraner Hernandez, J., Carbajal Quintana, D., Arruzazabala Valmana, L., Mas Ferreiro, R., Garcia Mesa, M. A mixture of higher primary aliphatic alcohols, its obtention from sugar cane wax and its pharmaceutical uses. **1999**, US patent No. 5856316.
- [8] Mas, R., Rivas, P., Izquierdo, J.E., Hernandez, R., Fernandez, J., Orta, S.D., Illnait, J., Ricardo, Y., Pharmacoepidemiologic study of polycosanols. *Curr. Ther. Res.* **1999**, 60, 458–467.
- [9] Paturau, J.M., 1989. By-Products of the Cane Sugar Industry, 3rd ed. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- [10] Lamberton, J.A., Redcliffe, A.H., The chemistry of sugar-cane wax. I. The nature of sugarcane wax. *Aust. J. Chem.* **1960**, 13, 261–268.
- [11] Parfait, A., 1997. Rapport concernant les cires de boues de sucrerie de l'usine GARDEL. Programme Aliment **2000**.
- [12] Askew, S., Bowden, B., Ridd, M., Valix, M., Analysis of sugar cane using high temperature GC–MS. In: Proceedings of the 21st Conference of the Australian Society of Sugar Cane Technologists, **1999**, p. 389–393.

- [13] Nuissier, G., Bourgeois, P., Grignon-Dubois, M., Pardon, P. and Lescure, M. H. Composition of sugarcane waxes in rum factory wastes. *Phytochemistry* **2002**, 61, 721–726.
- [14] Partha, N., & Sivasubramanian, V. (2006). Recovery of Chemicals from Pressmud – A Sugar Industry Waste. *Indian Chemical Engr . Section A*(48), 160-163.
- [15] http://chemwiki.ucdavis.edu/Physical_Chemistry/Physical_Properties_of_Matter/Phases_of_Matter/Supercritical_Fluids/Case_Study%3A_Removing_caffeine_from_Coffee.
- [16] อุทัย โสธนะพันธุ์, **2536**, Supercritical fluids, วารสารศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เล่มที่ 3, หน้า 37-62.
- [17] Qingyong, L. and Chien, M.W., Supercritical Fluid Extraction in Herbal and Natural Product studies-A Practical Review, *Talanta*, **2001**, 53, 771-782.
- [18] Chester, T.L., Determination of Pressure–Temperature Coordinates of Liquid–Vapor Critical Loci by Supercritical Fluid Flow Injection Analysis, *Journal of Chromatography A*, **2004**, 1037, 393–403.
- [19] Lucas, A.; Garcia, A.; Alvarez, A. and Gracia, I, 2006. Supercritical extraction of long chain n-alcohols from sugar cane crude wax. *J. of Supercritical Fluids*, 41, 267-271.
- [20] Christoph, L., Juliane, H. and Wolfgang D, **1997**, “Extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons From Polluted Soils with Binary and Ternary Supercritical Phases”, *Journal of Chromatography A*, Vol. 776, pp. 233-243.
- [21] Deswarte, F.E.I., Clark, J. H., Hardy, J.J.E., and Rose, P.M. The fractionation of valuable wax products from wheat straw using CO₂. *Green Chem.*, **2006**, 8, 39-42.
- [22] ชวริณี นามพิชญ์, 2544, แบบจำลองของการสกัดของแข็งโดยใช้สารวิกฤตยิ่งยวด, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, หน้า 24.
- [23] <https://ingles-ciencias-uah-08.wikispaces.com/UNIT+6+Supercritical+fluid+extraction>
- [24] เสาวนีย์ เหลืองธนะผล, 2545, การศึกษาการสกัดสารแอนติออกซิแดนท์จากเปลือกเมล็ดมะขาม, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, หน้า 25-26.

- [25] Antonio de Lucas, Alberto Garcia, Amaury Alvarez, Ignacio Gracia. Supercritical extraction of long chain n-alcohols from sugar cane crude wax. *J. of Supercritical Fluids*. **2007**, 41: 267-271
- [26] Thomas M. Attard, C.Rob McElroy, Camila A. Rezende, Igor Polikarpov, James H. Clark, Andrew J. Hunt. Sugarcane waste as a valuable source of lipophilic molecules. *Industrial Crops and Products*. **2015**, 76: 95-10

บทที่ 2

การวิเคราะห์ต้นทุนของกระบวนการสกัดไขมันด้วยเทคนิคสกัดคาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวด ระดับนำร่อง

2.1 ที่มาและความสำคัญ

อุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลทรายจากอ้อยของประเทศไทยได้รับการพัฒนาจน กลายเป็น อุตสาหกรรมเกษตรขนาดใหญ่ โดยประเทศไทยเป็นผู้ผลิตอ้อยรายใหญ่อันดับสี่ของโลก รองจาก บราซิล อินเดีย และจีน และเป็นผู้ส่งออกน้ำตาลเป็นอันดับสองของโลก รองจากบราซิล ผลผลิตน้ำตาล ของไทยส่วนใหญ่ร้อยละ 75 จะถูกส่งออกไปยังตลาดต่างประเทศส่วนที่เหลือจะเป็นการผลิตเพื่อ บริโภคภายในประเทศ การนำเข้าน้ำตาลจากต่างประเทศจะมีปริมาณไม่มากนักเนื่องจากผลผลิต น้ำตาลภายในประเทศผลิตได้มากกว่าความต้องการใช้ในประเทศ ประกอบกับภาษีนำเข้าที่ค่อนข้าง สูง โดยรายได้และมูลค่ารวมของอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลในประเทศไทยทั้งระบบมีมูลค่าประมาณ 200,000 ล้านบาท จากข้อมูลสถิติการเกษตรของไทยในปี 2557/2558 ประเทศไทยมีเนื้อที่เพาะปลูก อ้อยภายในประเทศ ประมาณ 8.52 ล้านไร่ และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเนื่องจากเกษตรกรเปลี่ยนจากการ ปลูกข้าวเป็นหลักเป็นปลูกพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นแทน ทำให้ผลผลิตอ้อยป้อนเข้าโรงงานอยู่ที่ 103.1 ล้านตันโดยสามารถผลิตน้ำตาลได้ 10.37 ล้านตันและกากน้ำตาลประมาณ 4.55 ล้านตันตามลำดับ ส่งผลให้เกิดอุตสาหกรรมต่อเนื่องจากอ้อยและน้ำตาลเป็นจำนวนมาก เช่น การผลิตเอทานอล ไบโ อพลาสติก หรือ ไบโอแก๊ส และอุตสาหกรรมต่อเนื่องจากเศษซากของอ้อยเช่น ปุ๋ยอินทรีย์, กระดาษ อ้อย, ไม้ปาติเคิลและอื่นๆ เป็นต้น สามารถเพิ่มมูลค่าโดยตรงกับอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลใน ประเทศไทย อีกทั้งยังสามารถช่วยยกระดับราคาและสินค้าในภาคอุตสาหกรรมอื่นๆได้อีกด้วย (ที่มา: ข้อมูลอ้อยและน้ำตาลทรายเพื่อใช้ประกอบการเยี่ยมชมโรงงานน้ำตาลในกลุ่มราชบุรีและ โครงสร้างโรงงานน้ำตาลในจังหวัดกาญจนบุรี, สำนักงานพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ, วัน จันทร์ที่ 24 มีนาคม พ.ศ. 2557)

ในขั้นตอนการทำไฮดรอลิกของน้ำอ้อยของกระบวนการผลิตน้ำตาลจากอ้อยโรงงานต้องนำน้ำอ้อย ผ่านเครื่องกรอง จะได้น้ำอ้อยที่มีสิ่งเจือปนอยู่น้อย และผลพลอยได้คือกากหม้อกรอง ถึงแม้ว่ากาก หม้อกรองประกอบด้วยไขมันซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมเวชสำอาง เช่น แชมพู ครีมนวดผม โลชั่น อุตสาหกรรมเคลือบอุตสาหกรรมเคลือบสีรถยนต์ ถ้าเป็นไขมันที่มีกรดอาหาร สามารถนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอาหารเสริม จากผลการวิจัย^[1,2] ระบุว่าไขมันที่สกัดได้ จากกากหม้อกรองของกระบวนการผลิตในโรงงานน้ำตาล มีสารประกอบโพลีโคซานอล

(Policosanol) เป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย ซึ่งสารนี้มีคุณสมบัติลดความดันโลหิต ลดไขมันแอลดีแอล ไลโปโปรตีนไลโปโปรตีน ลดปริมาณคลอเรสเตอรอลในกระแสเลือดและช่วยป้องกันการเกิดโรคหัวใจได้^[3,4,5] ซึ่งเหมาะเป็นอย่างยิ่งที่จะมีการพัฒนาต่อยอดเพื่อผลิตเป็นอาหารเสริมหรือยา ซึ่งถ้าสามารถนำมาผลิตเป็นอาหารเสริมเพื่อใช้บริโภคภายในประเทศได้สำเร็จจะทำให้ต้นทุนการผลิตลดลงจะได้อาหารเสริมที่มีราคาสมเหตุสมผลและเป็นทางเลือกอีกตัวหนึ่งสำหรับผู้บริโภค

การสกัดไขมันจากส่วนประกอบของพืช เช่น รำข้าว หรืออ้อย และการนำไขมันไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมเภสัชภัณฑ์ นอกจากนี้ไขมันนี้มีส่วนประกอบที่สำคัญคือ โพลีโคซานอล (Policosanol) การผลิตสารโพลีโคซานอล (Policosanol) เพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมในเชิงพาณิชย์นั้นมีมานานและส่วนใหญ่พบในต่างประเทศเช่นใน อเมริกา ยุโรป หรือเอเชียได้ ซึ่งแตกต่างจากอุตสาหกรรมการผลิตโพลีโคซานอลจากส่วนประกอบของพืชในประเทศไทย งานวิจัยที่เกี่ยวข้องมีเพียงการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ แต่ยังไม่มีการศึกษาในระดับนาร่องเพื่อต่อยอดในระดับอุตสาหกรรม ในปัจจุบันความนิยมในการดูแลสุขภาพกันมากขึ้นทั้งคนในวัยทำงานและผู้สูงอายุ รวมทั้งกลุ่มนักท่องเที่ยวชาวต่างชาติ ทำให้ความต้องการผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและสมุนไพรไทย มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น ซึ่งส่งผลต่อการเติบโตอุตสาหกรรมอาหาร ในปัจจุบันสารโพลีโคซานอลสามารถสกัดจากข้าวรำข้าวหรืออ้อยยังมีราคาขายที่ค่อนข้างสูงและต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ปริมาณกากหม้อกรองที่เหลือทิ้งจากโรงงานน้ำตาลในประเทศไทยประมาณ 1.5-3 ตันต่อปี ^[6] ซึ่งโรงงานแจกจ่ายให้กับเกษตรกรเพื่อนำไปใช้เป็นปุ๋ย ดังนั้นการสกัดไขมันจากกากหม้อกรองที่เป็นของเหลือทิ้งจากโรงงานน้ำตาลจึงเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับกากหม้อกรองและลดการนำเข้าไขมันจากส่วนประกอบของพืชได้อีกด้วยในประเทศไทยยังไม่มีโรงงานต้นแบบสำหรับสกัดไขมัน งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนากระบวนการสกัดไขมันในระดับนาร่องเพื่อนำไปสู่การต่อยอดเป็นกระบวนการสกัดระดับอุตสาหกรรมต่อไป

2.1.1 กระบวนการผลิตน้ำตาลจากกากหม้อกรอง

ในขั้นตอนกระบวนการผลิตน้ำตาลในโรงงานน้ำตาลโดยทั่วไป (ภาพที่ 30) จะเริ่มจากการสกัดน้ำอ้อยโดยผ่านอ้อยเข้าไปในชุดลูกหีบ จากนั้นกากอ้อยที่ผ่านการสกัดน้ำอ้อยแล้วจะถูกนำไปเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงเผาไหม้ภายในเตาหม้อไอน้ำเพื่อผลิตไอน้ำมาใช้ในการผลิตต่างๆภายในโรงงานน้ำตาล จากนั้นกระบวนการต่อไปคือการทำใส่น้ำอ้อย (Juice Purification Process) น้ำอ้อยที่สกัดได้ทั้งหมดจะเข้าสู่กระบวนการทำใสเพราะในกระบวนการผลิตน้ำอ้อยนั้นจะมีสิ่งสกปรกต่างๆ จึงต้องแยกเอาส่วนที่ไม่ต้องการเหล่านี้ออกโดยผ่านวิธีทางกล เช่นการผ่านชุดเครื่องกรองต่างๆ และโดยวิธี

เคมี เช่นการตกตะกอนสิ่งปนเปื้อนด้วยปูนขาว เป็นต้น อย่างไรก็ตามในขั้นตอนการผลิตนี้จะได้ของเสียจากการผลิตส่วนหนึ่งเรียกว่ากากหม้อกรอง

กากหม้อกรอง (Filter Press Cake) คือกากตะกอนที่แยกจากน้ำอ้อยในขั้นตอนการทำน้ำอ้อยให้ใส (Clarification) โดยการกรองผ่านหม้อกรองสุญญากาศ (Vacuum rotary filter) ปริมาณที่ได้จะมีปริมาณแตกต่างกันขึ้นอยู่กับระบบการผลิต โรงงานน้ำตาลที่ใช้ระบบ Sulphitation จะมีกากหม้อกรองประมาณ 3-5% ของน้ำหนักอ้อย โรงงานน้ำตาลที่ใช้ระบบ carbonation จะมีกากหม้อกรองประมาณ 7-9% ของน้ำหนักอ้อย โดยปกติกากหม้อกรองเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตในโรงงานน้ำตาล และการใช้ประโยชน์จากกากหม้อกรองยังไม่พบมากนัก นอกเหนือจากเกษตรกรบางส่วนจะนำกากหม้อกรองไปใช้เป็นปุ๋ย ซึ่งเหมาะสำหรับดินที่ขาดธาตุฟอสฟอรัส (ดังตารางที่ 14) หรือมีการนำกากหม้อกรองไปใช้ในการผลิตก๊าซชีวภาพ การสะสมกากหม้อกรองที่แห้งมากอาจลุกเป็นไฟได้เองเนื่องจากความร้อนที่สะสม นอกจากนั้นในกากหม้อกรองนี้ยังเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในการสกัดไขอ้อยและสารโพลิโคซานอล (Policosanol) จากไขอ้อยได้อีกด้วย

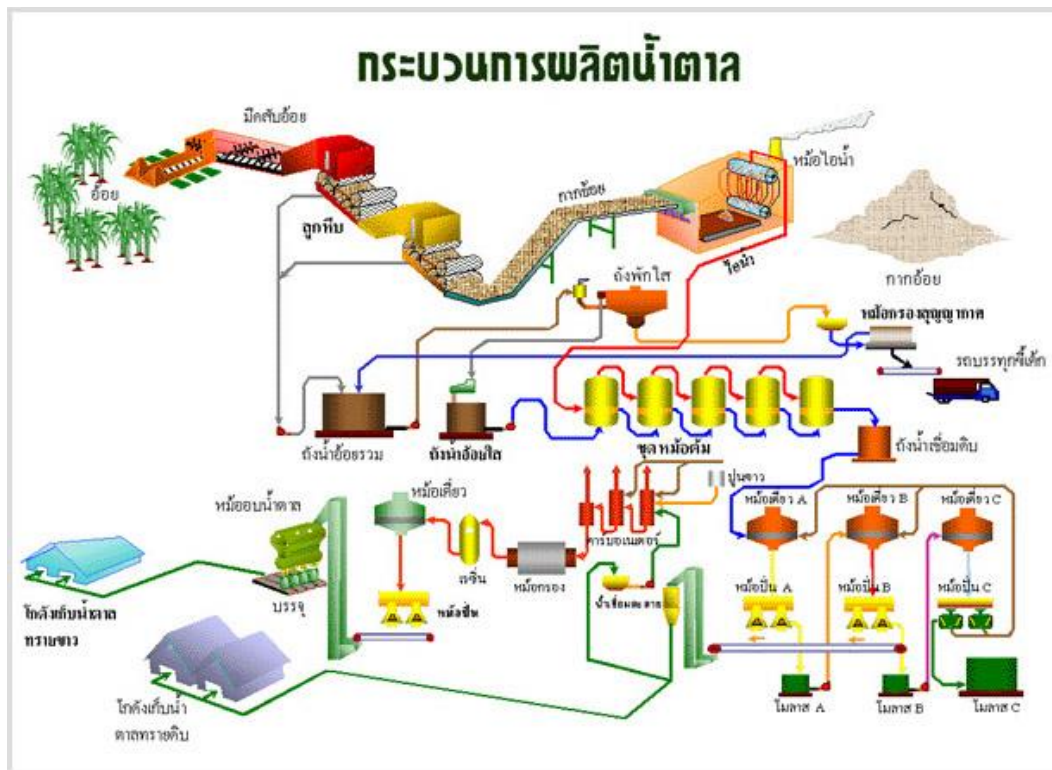
ตารางที่ 14 ข้อมูลธาตุอาหารต่างๆ ในกากหม้อกรองเก่าและใหม่

รายละเอียดธาตุอาหารต่าง ๆ	ตัวอย่างที่ 1 (พ.ศ.2518)	ตัวอย่างที่ 2 (พ.ศ. 2519)
เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนรวม (N)	2.53	2.63
เปอร์เซ็นต์ฟอสเฟตรวม (P_2O_5)	8.82	8.79
เปอร์เซ็นต์ฟอสเฟตที่เป็นประโยชน์ (P_2O_5)	8.64	8.53
เปอร์เซ็นต์โปแตสเซียมรวม (K_2O)	0.32	0.49
เปอร์เซ็นต์แมกนีเซียมรวม (MgO)	1.22	1.19
เปอร์เซ็นต์แคลเซียมรวม (CaO)	19.02	17.16
เปอร์เซ็นต์กำมะถันรวม (S)	0.00	0.00
เปอร์เซ็นต์ความชื้น	8.94	67.36
ความเป็น กรด - ด่าง (pH)	7.40	8.30

ที่มา: งานวิเคราะห์ปุ๋ยกองเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร ^[7]

ส่วนน้ำอ้อยที่ผ่านการทำใสแล้วจะถูกนำเข้าสู่ชุดหม้อต้ม (Multiple Evaporator) เพื่อระเหยเอาส่วนของน้ำออกโดยประมาณ 65-75% โดยน้ำอ้อยข้นที่ออกมาจากหม้อต้มลูกสุดท้ายจะถูกเรียกว่า น้ำเชื่อม (Syrup) หลังจากนั้นน้ำเชื่อมที่ได้จากการต้มจะถูกนำเข้าหม้อเคี้ยวระบบ

สุญญากาศ (Vacuum Pan) เพื่อเคี้ยวและระเหยน้ำออกจนน้ำเชื่อมถึงจุดอิ่มตัวและที่จุดนี้ ผลึกน้ำตาลจะเกิดขึ้นมา โดยที่ผลึกน้ำตาลและกากน้ำตาลที่ได้จากการเคี้ยวนี้รวมเรียกว่า แมสคิวท (Messecuite) แมสคิวทที่ได้จากการเคี้ยวจะถูกนำไปปั่นแยกผลึกน้ำตาลออกจากกากน้ำตาล โดยใช้ เครื่องปั่น (Centrifugal) และผลึกน้ำตาลที่ได้นี้จะเป็นผลผลิตที่ถูกเรียกว่าน้ำตาลดิบ



ภาพที่ 30 กระบวนการผลิตน้ำตาลในโรงงานน้ำตาล [8]

2.1.2 ไขอ้อยและสารโพลีโคซานอล

ส่วนประกอบของไขอ้อยประกอบด้วยส่วนผสมของแอลกอฮอล์แบบห่วงโซ่ยาวที่มีความยาว (C18-C32 คาร์บอน) ประมาณ 70% และส่วนประกอบของกรดไขมันประเภทอื่นๆและเรซิน ไขอ้อยก่อนทำให้บริสุทธิ์จะประกอบด้วยเรซินมากถึง 25 เปอร์เซ็นต์และส่วนของสารประกอบโพลีโคซานอลมากถึง 60 เปอร์เซ็นต์ ไขจากอ้อยจะไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์ ในกรณีของการบริโภคโดยไม่ได้ตั้งใจก็จะถูกขับถ่ายออกตามธรรมชาติ ลักษณะสีของไขอ้อยจะมีสีเหลืองอ่อน โดยมีจุดหลอมเหลวสูงประมาณ 75 ถึง 80 องศาเซลเซียส ทำให้มันยังคงรูปแม้ว่าสัมผัสกับแสงแดดโดยตรง

สารโพลิโคซานอลเป็นส่วนผสมของแอลิฟาติกแอลกอฮอล์พันธะยาว (C20-C36 คาร์บอน) ที่พบได้ทั่วไปในผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเช่น ไขรำข้าว ไขเปลือกอ้อย มันเทศ หรือไขผึ้งเป็นต้น ส่วนประกอบหลักของโพลิโคซานอลคือ ออกตะโคซานอล ($\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{27}-\text{OH}$) (C28) ประมาณ 66% แต่ยังมีส่วนประกอบอื่นๆรองลงมาเช่น ไตรอะโคซานอล (C30) 12% เฮกซะโคซานอล (C26) 7% เตตระโคซานอล (C24) และไขมันแอลกอฮอล์อื่นๆประมาณ 15%

จากการศึกษาในระดับคลินิกและปรีคลินิกซึ่งถูกตีพิมพ์ในวารสารทางการแพทย์ และทางวิทยาศาสตร์หลายฉบับ แสดงให้เห็นถึงประโยชน์และข้อดีของสารประกอบโพลิโคซานอลจากไขอ้อย ที่ช่วยในการเผาผลาญและลดปริมาณไขมันโคเลสเตอรอลชนิดเลว (LDL-Cholesterol) โดยเฉลี่ยได้มากถึงร้อยละ 33%^[9] จากการกระตุ้นให้ตับทำงานมีประสิทธิภาพทำลายหรือเผาผลาญไขมันโคเลสเตอรอลที่เกิดจากการสะสมในร่างกายได้ดียิ่งขึ้น และยังสามารถช่วยกระตุ้นการสร้างไขมันโคเลสเตอรอลชนิดดี (HDL-Cholesterol) ซึ่งจะทำหน้าที่นำพาไขมันที่สะสมและอุดตันตามผนังหลอดเลือดกลับไปที่ตับและลดการอุดตัน และการจับตัวกันของเกล็ดเลือดได้ช่วยป้องกันภาวะความหนาตัวของผนังหลอดเลือดและฟื้นฟูสมรรถภาพการทำงานของหัวใจและตับ^[9] จากการศึกษาอ้างอิงจากอาสาสมัครจำนวนหนึ่งที่ได้รับปริมาณโพลิโคซานอลในระดับที่มีการควบคุมไว้^[5] ซึ่งการรับประทานโพลิโคซานอลประมาณ 20 มิลลิกรัมต่อวันเป็นระยะเวลาต่อเนื่องนานมากกว่า 3 ปี จะมีความปลอดภัยสูงและไม่พบผลข้างเคียงจากการศึกษาในครั้งนี้อย่างไรก็ตาม สารโพลิโคซานอลนอกจากจะช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตันและโรคหัวใจโดยรวมแล้ว ผลดีอีกประการหนึ่งของสารโพลิโคซานอลคือช่วยในการควบคุมระดับไขมันในผิวหนังรวมถึงความมันบนผิวและหนังศีรษะ อีกทั้งยังสามารถช่วยการกระตุ้นการหมุนเวียนของเลือดที่บริเวณผิวหนัง สารโพลิโคซานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของสิวช่วยป้องกันการเกิดสิว^[10] ดังนั้นจึงมีการนำสารโพลิโคซานอลมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยอาศัยคุณสมบัติการควบคุมความมันยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และเพิ่มความชุ่มชื้นอ่อนโยนต่อผิวได้ดี โดยทั่วไปในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางปกติจะใช้โพลิโคซานอลเป็นส่วนผสมประมาณ 1% - 5% ของน้ำหนักรวม เช่นในครีมทาผิว โลชั่น ลิปสติก หรือเจลแต่งผม ทั้งนี้ยังสามารถใช้สารโพลิโคซานอลเป็นส่วนประกอบเพื่อทดแทนสารลาโนลินหรือไขมันจากสัตว์ประเภทอื่นๆได้และกระบวนการของสกัดด้วยตัวทำละลายอิสระที่ใช้กับสารโพลิโคซานอลยังมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในระดับที่ต่ำอีกด้วย

2.1.2.1 ประเภทของการสกัดในระดับอุตสาหกรรม

1. การกลั่นโดยไอน้ำ (Steam distillation) เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยอาศัยเทคนิคการกลั่นของเหลว 2 ชนิดซึ่งไม่สามารถผสมเป็นเนื้อเดียวกันได้ (Heterogeneous liquid) เช่นน้ำและน้ำมันหอมระเหย ข้อดีของการกลั่นด้วยไอน้ำมี คือ วิธีและอุปกรณ์ไม่ยุ่งยาก

ซับซ้อน สามารถใช้ได้กับพืชแทบทุกชนิดและใช้กับน้ำมันหอมระเหยได้มีคุณภาพดีมีความบริสุทธิ์สูง หรือแม้แต่สารสำคัญบางชนิดเช่นสาร Chamazulene จริง ๆ แล้วไม่ได้มีอยู่ตามธรรมชาติแต่จะเกิดขึ้นภายใต้กระบวนการกลั่นด้วยไอน้ำเท่านั้น ข้อเสียของการกลั่นด้วยไอน้ำ คือ กระบวนการจะต้องใช้ไอน้ำที่มีความร้อนจึงไม่เหมาะกับวัตถุดิบที่มีสารธรรมชาติสำคัญที่ถูกทำลายได้ง่ายเมื่อเจอกับความร้อน เช่น สารสำคัญบางชนิดในดอกมะลิจะสลายไปเมื่อเจอกับความร้อนจึงทำให้ไม่สามารถใช้กระบวนการกลั่นด้วยไอน้ำในการผลิตน้ำมันหอมระเหยจากดอกมะลิได้ แต่ปัญหานี้อาจถูกแก้ไขได้ด้วยการใช้ระบบการกลั่นภายใต้แรงดันสูงเพื่อลดอุณหภูมิของไอน้ำให้น้อยลงแต่ก็จะทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นด้วย ดังนั้นการสกัดกลิ่นหอมจากดอกมะลิหรือพืชชนิดอื่น ๆ ที่มีปัญหาข้างต้นจึงมีการนำกระบวนการสกัดด้วยวิธีการอื่นมาใช้แทน เช่น การสกัดด้วยตัวทำละลายหรือสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ ^[11]

2. การไขแรงบีบอัดในการสกัดน้ำมัน (Expression of oil) วิธีนี้นิยมใช้ในการสกัดน้ำมันจากผิวส้ม (Cold pressing oil) น้ำมันที่สกัดได้จะอยู่ในรูปสารละลายอิมัลชันซึ่งสามารถแยกสว่นที่เป็นน้ำออกจากน้ำมันที่สกัดได้โดยการไขเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ข้อดี คือ การแยกโดยวิธีนี้น้ำมันหอมระเหยที่ได้จะมีคุณภาพดีกว่าน้ำมันที่ได้จากการกลั่นเนื่องจากไม่มีความร้อนในขั้นตอนของการสกัดและมีต้นทุนการผลิตที่ต่ำ ข้อเสีย คือ สารสกัดที่ได้จากวิธีนี้จะมีอายุไม่นานประมาณ 6 เดือนถึง 1 ปีทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกระบวนการเก็บรักษา ^[11]

3. การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (Solvent extraction) ในการสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยใช้ตัวทำละลายในระดับอุตสาหกรรม ต้องนำวัตถุดิบมาผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่าง (Pretreatment) ก่อนนำไปสกัดด้วยตัวทำละลาย การเลือกวิธีการและชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดจะขึ้นอยู่กับธรรมชาติของวัตถุดิบและชนิดของสารสกัดที่ต้องการ คุณสมบัติของตัวทำละลายที่มีผลต่อการสกัดได้แก่ ความมีขั้ว (Polarity) คุณสมบัติด้านความมีขั้วของตัวทำละลายสามารถใช้เป็นต้นแบบ สำหรับรูปแบบขององค์ประกอบของสารสกัดที่ได้ ทำให้สามารถทราบได้ว่าองค์ประกอบใดจะถูกสกัดออกมาภายใต้สภาวะการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ จุดเดือด (Boiling point) ของตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศหรือระบบสุญญากาศที่ใช้จะมีอิทธิพลต่อโปรไฟล์ของสารสกัดที่ได้ ดังนั้นการเปลี่ยนตัวทำละลายจากเมทานอลเป็นเอทานอล หรือไอโซโพรพานอลที่ความดันบรรยากาศจะเปลี่ยนโปรไฟล์ของน้ำหนักโมเลกุลของสารสกัด ยิ่งใช้ตัวทำละลายที่มีจุดเดือดสูงจะสามารถสกัดองค์ประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงๆได้, ความหนืด (Viscosity) ของตัวทำละลายจะเป็นตัวกำหนดความสามารถของตัวทำละลายในการแทรกซึมเข้าไปในชั้นผิวของวัตถุดิบ ดังนั้นความหนืดของตัวทำละลายจึงเป็นตัวกำหนดประสิทธิภาพในการสกัดเนื่องจากจะลดระยะเวลาในการสัมผัสระหว่างตัวทำละลายและวัตถุดิบ ยิ่งตัวทำละลายมีความหนืดต่ำจะทำให้มีประสิทธิภาพในการสกัดสูง, ความร้อนแฝงของการระเหย (Latent heat of evaporation) การใช้ตัวทำละลายที่มีความ

ร้อนแฝงในการระเหยตัวมีข้อดีคือสามารถแยกตัวทำละลายออกจากสารสกัดโดยใช้พลังงานน้อยกว่าตัวทำละลายที่มีความร้อนแฝงของการระเหยสูง, อุณหภูมิและความดัน (Temperature/Pressure) อุณหภูมิในการ Reflux ตัวทำละลายจะขึ้นอยู่กับความดันโดยปกติอุณหภูมิจะลดลงประมาณ 15 องศาเซลเซียส เมื่อความดันภายในระบบลดลงครึ่งหนึ่ง ดังนั้นจึงทำให้สามารถทำการกลั่นเพื่อแยกตัวทำละลายออกจากสารสกัดที่อุณหภูมิห้องภายใต้สภาวะสุญญากาศ ข้อดีของกระบวนการสกัดนี้คือน้ำมันหอมที่ได้จะมีกลิ่นหอมที่ใกล้เคียงกับกลิ่นหอมจากวัตถุดิบจริง ๆ มากกว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำและมีกลิ่นหอมติดทนนานกว่า จึงได้รับความนิยมใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอมเป็นหลัก ส่วนข้อเสียของวิธีนี้คือ ความบริสุทธิ์ของน้ำมันหอมสกัดจะไม่ได้ดีเท่าการสกัดด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำและมีสารตกค้างจากตัวทำละลายเป็นต้น ^[11]

4. การสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลาย (Extraction with CO₂ as a Solvent) เทคนิคการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลายสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการสกัดสารให้กลิ่นรสในชิ้นส่วนของพืชที่แห้งซึ่งประกอบด้วยน้ำมันหรือไขมันเป็นต้น การสกัดโดยวิธีนี้มีข้อดีว่าการสกัดโดยวิธีอื่นเนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลายที่ไม่มีกลิ่นและรสปลอดภัยเมื่อใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารและเป็นสารที่ไม่ติดไฟ สามารถแทรกซึมเข้าไปในตัวอย่างได้ง่ายเนื่องจากมีความหนืดต่ำสามารถกำจัดออกจากสารสกัดได้ง่ายโดยไม่มีตัวทำละลายหลงเหลืออยู่เนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์มีความร้อนแฝงของการระเหยต่ำ สามารถเลือกสกัดเฉพาะองค์ประกอบที่ต้องการได้โดยการปรับเปลี่ยนอุณหภูมิและความดันในการสกัด แต่มีข้อจำกัดคือปริมาณของวัตถุดิบที่ใช้ในการกลั่นในแต่ละครั้งทำได้ในปริมาณน้อย และเทคโนโลยีรวมถึงวัสดุอุปกรณ์และสารที่จำเป็นในกระบวนการทำให้กระบวนการกลั่นด้วยวิธีนี้มีราคาค่อนข้างสูง จึงมีการนำมาใช้ในการสกัดกับวัตถุดิบบางชนิดที่จำเป็นเท่านั้นเช่น ดอกมะลิ จำปี เมลิชชา ที่มีราคาสูงเป็นต้น แต่ยังสามารถนำมาใช้กับวัตถุดิบชนิดอื่น ๆ ได้ ขึ้นอยู่กับราคาที่ตลาดยังพอรองรับได้หรือไม่ ^[11]

2.1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จิราภรณ์ พิงธรรม และคณะ^[12] ได้ศึกษาการสกัดสารโพลีโคซานอลจากไขรำข้าวของไทยโดยใช้หลักการสองขั้นตอนคือการสกัด (Extraction) สารโพลีโคซานอลออกจากพันธะเอสเทอร์ของไขซึ่งจะได้สารโพลีโคซานอลและกรดไขมัน และการแยก (Purification) สารโพลีโคซานอลออกจากกรดไขมันโดยใช้คุณสมบัติของไขรำข้าวที่มีจุดหลอมละลายที่ค่อนข้างสูง ช่วยเป็นตัวแยกสารออกจากตัวทำละลาย ประโยชน์ของไขรำข้าวสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภทเช่น การเคลือบกระดาษ สารเคลือบผิวผลไม้และผัก ยาระบบเลือด กาว หมากฝรั่งและเครื่องสำอางเป็นต้น วัตถุดิบที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้มาจากไขรำข้าวของบริษัทบริโภคไทยจำกัดเป็นต้นแบบในการวิจัย

สรุปผลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC (high Performance Liquid Chromatography) และ GC (Gas Chromatography) พบว่าองค์ประกอบไขมันข้าวของไทยนั้นจะประกอบด้วยน้ำมัน 55.91% แวกซ์เอสเทอร์ 40.67% ไขมันแอลกอฮอล์อิสระสายยาว 2.56% และส่วนประกอบอื่นๆ 1.86% โดยสารโพลีโคซานอลนั้นจะมีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายที่ต่างกัน จากผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีและโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง พบว่าสารโพลีโคซานอลนั้นมีปริมาณมากที่สุดในส่วนที่ละลายในโทลูอีน ไอโซออกเทนและส่วนตกตะกอนจากไอโซออกเทนเช่น C_{26} 21.4% C_{24} 29.5% และ C_{30} 33.1% เมื่อเทียบกับน้ำหนักไขมันข้าวเริ่มต้นนั้นสามารถสกัดสารโพลีโคซานอลได้ปริมาณสุทธิเฉลี่ย 26.56% และมีความบริสุทธิ์เกิน 94% อย่างไรก็ตามแม้ว่าไทยจะเป็นผู้ผลิตข้าวแหล่งใหญ่ของโลกแต่กลับไม่พบว่ามีสารสกัดสารโพลีโคซานอลจากรำข้าวไทยในเชิงพาณิชย์

Irmak และคณะ^[1] ได้ทำการศึกษาว่าสารโพลีโคซานอลเป็นส่วนผสมของสารประกอบแอลิแฟติกและแอลกอฮอล์โมเลกุลสูง ในปัจจุบันปริมาณผลิตภัณฑ์อาหารเสริมที่ใช้สารโพลีโคซานอลในเชิงพาณิชย์สามารถหาได้โดยทั่วไปในตลาดสหรัฐอเมริกาและยุโรป ซึ่งส่วนใหญ่ของผลิตภัณฑ์เหล่านี้จะสกัดจากไขมันหรือสกัดจากส่วนประกอบของอ้อย วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารโพลีโคซานอลจากแหล่งที่มาต่างๆกันคือจาก ไขมัน ไขมันและข้าวสาลี รวมถึงเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีจำหน่ายในท้องตลาดโดยแยกประเภทเป็นชนิด A (ทำจากอ้อย) B (ไม่มีข้อมูล) และ C (ทำจากไขมัน) โดยใช้วิธีการไฮโดรไลต์และรีฟลักซ์กับสารโซเดียมไฮดรอกไซด์และเมทานอลรวมถึงการใช้ตัวทำละลายอีเทอร์เป็นตัวช่วยในการทำสารประกอบให้บริสุทธิ์ โดยสรุปได้ว่าตะกอนที่เกิดขึ้นจากน้ำมันข้าวสาลีจะมีสารโพลีโคซานอลรวมสูงสุดที่ (628 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และจากฟางข้าวสาลี (164 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และจากเปลือกอ้อย (270 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ตามลำดับ ส่วนสารโพลีโคซานอลที่ได้จากการสกัดไขมันมีประมาณ 20 และ 45 เท่าสูงกว่าของน้ำมันข้าวสาลีและจากเปลือกอ้อยตามลำดับ สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารเสริมที่สุ่มเลือกมาจากท้องตลาดจะมีสารโพลีโคซานอลโดยรวมน้อยกว่าที่ถูกระบุอ้างบนฉลากผลิตภัณฑ์ ในการศึกษาวิเคราะห์ครั้งนี้องค์ประกอบของสารโพลีโคซานอลจากตัวอย่างส่วนต่างๆโดยสรุปมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับแหล่งที่มาที่ต่างกัน โดยข้าวสาลีสามารถเป็นแหล่งผลิตของสารโพลีโคซานอลที่สำคัญที่จะสามารถนำมาพัฒนาเพิ่มเติมต่อไปได้ในอนาคต

Dunford และคณะ^[2] ได้ทำการศึกษาว่าสารโพลีโคซานอลเป็นกลุ่มของแอลกอฮอล์แอลิแฟติกพหุวงที่มีคุณสมบัติในการลดคอเลสเตอรอล (LDL) โดยทำการศึกษาจากข้าวสาลีที่เป็นแหล่งของสารโพลีโคซานอลที่สำคัญในธรรมชาติ จากการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาผลกระทบของชนิดตัวทำละลายต่างๆและอุณหภูมิที่เหมาะสมที่มีผลต่อการสกัดสารโพลีโคซานอลจากส่วนต่างๆ ในข้าวสาลี เช่นจากจมูกข้าวสาลี ฟาง และส่วนของรำข้าว และทำการวิเคราะห์โดยการสกัดสารโพลีโคซานอล

ด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์, คลอโรฟอร์ม, n-เฮกเซน และเอทานอล ที่อุณหภูมิต่างๆตั้งแต่ 80-125 องศาเซลเซียส ผลจากการศึกษาสรุปได้ว่าส่วนของจมูกข้าวสาลี ให้อัตราสัมประสิทธิ์ในการสกัดสูงกว่าส่วนของฟางและรำข้าว ส่วนการสกัดโดยใช้เอทานอลนั้นจมูกข้าวสาลีให้อัตราสัมประสิทธิ์ในการสกัดที่สูงที่สุด ผลการสกัดโดยเอทานอลจากจมูกข้าวสาลีและฟางข้าวสูงเพิ่มขึ้นอย่างมากในอุณหภูมิที่เพิ่มมากขึ้น โดยฟางข้าวสาลีมีปริมาณของสารโพลีโคซานอลอยู่สูงที่สุดเมื่อเทียบกับส่วนอื่นๆของข้าวสาลีในการศึกษาครั้งนี้ ผลของการสกัดสารโพลีโคซานอลที่แตกต่างกันนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายและส่วนต่างๆของข้าวสาลีที่ใช้ การสกัดโดยเอทานอลและปิโตรเลียมอีเทอร์ในฟางข้าวสาลีจะมีส่วนประกอบของออกตะโคซานอล และเฮกซะโคซานอลมากที่สุดตามลำดับ การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าชนิดตัวทำละลายและอุณหภูมิมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อผลผลิตของการสกัดสารโพลีโคซานอลที่ได้จากส่วนต่างๆของข้าวสาลี พุทธชาติ แก้วแดง^[13] ได้ทำการศึกษาการทำไร่ข้าวให้บริสุทธิ์จากอุตสาหกรรมผลิตน้ำมันรำข้าว ทำการทดลองโดยใช้ตัวทำละลายเดี่ยวคือจากไอโซออกเทน และไอโซโพรพานอลที่อุณหภูมิต่ำในการแยกไอโซออกเทนจากน้ำมันรำข้าวและใช้ตัวทำละลายที่อุณหภูมิสูงแยกไอโซออกเทนจากสารช่วยกรองเช่นซีเถ้าแอลกอฮอล์เพื่อช่วยในการแยกไขมันออกจากตัวทำละลาย จากผลการศึกษาพบว่าไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกไขมันออกจากไขมันรำข้าวที่อุณหภูมิต่ำประมาณ 3 ถึง 4 องศาเซลเซียสและตัวทำละลายเดียวกันนี้ยังเหมาะสมในการแยกไอโซออกเทนจากส่วนช่วยกรองที่อุณหภูมิสูงที่ประมาณ 80 องศาเซลเซียสและได้ปริมาณการผลิตถึง 99.42% แม้ว่าจากการทดลองไอโซออกเทนจะสามารถแยกไขมันรำข้าวออกจากไขมันรำข้าวมากกว่าไอโซโพรพานอลและจากการพิจารณาค่าไอโอดีน การใช้ไอโซออกเทนเป็นตัวทำละลาย ไขมันรำข้าวที่ได้จะมีค่าไอโอดีนต่ำกว่าใช้ไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลาย เพราะที่อุณหภูมิ 3 ถึง 4 องศาเซลเซียสไอโซออกเทนทำละลายไขมันรำข้าวได้ดีกว่าไอโซโพรพานอล ดังนั้นผลพิจารณาจากการทดลองไอโซออกเทนสามารถทำละลายไขมันรำข้าวได้ดีกว่าไอโซโพรพานอล แต่ในทางปฏิบัติจะไม่เหมาะสมเนื่องจากยิ่งอุณหภูมิสูงขึ้นไขมันจะละลายได้ดีขึ้นทำให้มีบางส่วนเกิดความหนืดสูงและใช้เวลาในการแยกนานเพราะต้องใช้อัตราการไหลที่ต่ำและเกิดความดันเกินกว่าค่าที่กำหนด ส่วนการใช้ไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลายจะไม่มีปัญหานี้ อย่างไรก็ตามมีข้อสังเกตว่าสารไอโซโพรพานอลยังละลายในน้ำมันรำข้าวได้ไม่ดีเท่าที่ควร ควรมีการทดลองหาสารละลายตัวอื่นที่สามารถละลายไขมันรำข้าวได้ดีมาทดแทน และอีกทั้งเวลาที่ใช้ในการแยกสารโดยวิธีการใช้ตัวทำละลายเย็นที่แยกไขมันออกจากไขมันยังใช้เวลานานถึง 2 ชั่วโมงครึ่ง ซึ่งอาจมีผลต่อกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรม หากสามารถลดเวลาในการทำละลายน้อยลงจะส่งผลดียิ่งขึ้น

น้ำทองคำ^[14] ได้ทำการศึกษาไขมันรำข้าวบริสุทธิ์ที่สามารถนำมาใช้ทดแทนสารคาร์นูบาที่มีราคาสูงที่ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องสำอาง อาหารและยา ในงานวิจัยชิ้นนี้ได้ศึกษาการเตรียมไขมันรำข้าวให้บริสุทธิ์โดยการสกัดด้วยไอโซโพรพานอลที่มีความเข้มข้นระดับต่างๆกันเช่นที่ 100% 80%,

60%, 40% ตามลำดับ ในสัดส่วนของไขมันไม่อิ่มตัวต่อไขมันอิ่มตัว 1:3 และ 1:5 และทำในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันเป็นต้น จากผลการศึกษาการเตรียมไขมันไม่อิ่มตัวบริสุทธิ์นั้นโดยขจัดน้ำมันรำข้าวออกจากไขมันด้วยสารไขมันอิ่มตัวซึ่งจำเป็นต้องใช้ไขมันอิ่มตัวที่ความเข้มข้น 100% และสัดส่วนไขมันไม่อิ่มตัวต่อไขมันอิ่มตัวควรอยู่ที่ 1:5 โดยทำการล้าง 2 ครั้ง แล้ววิเคราะห์ไขมันไม่อิ่มตัวด้วย High Pressure Size Exclusion Chromatography ที่ความเข้มข้น 3000 ppm ผลสรุปพบว่าไม่มีสารอื่นเจือปนในไขมันไม่อิ่มตัวที่เตรียม ส่วนในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันใช้ NaOH 1.7% และ KOH 2.6 % เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันที่อุณหภูมิห้องโดยเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ภายใน 10 นาที หลังจากนั้นนำมากรองแยกไขมันออกจากกรดไขมันเอทิลเอสเทอร์แล้วล้างด้วยเอทานอล วิเคราะห์ไขมันไม่อิ่มตัวด้วย HPSEC ที่ความเข้มข้น 3000 ppm พบว่าไม่มีสารอื่นเจือปนในไขมันไม่อิ่มตัวที่เตรียมเช่นกัน จากการศึกษาพบว่าองค์ประกอบของไขมันไม่อิ่มตัวจะประกอบด้วย C_{40} - C_{60} อะตอมและกรดไขมันเอทิลเอสเทอร์จะประกอบไปด้วยกรดไขมันที่มีความยาวในช่วง C_{16} - C_{20} อะตอม ส่วนค่าความหนืดของกรดไขมันยังมีค่าสูงถึง 18.95 และ 19.79 cSt ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานมาก เนื่องจากการปนเปื้อนไขมันอิ่มตัวในกรดไขมันเอทิลเอสเทอร์ ดังนั้นสามารถปรับใช้ตัวทำละลายอื่นที่เหมาะสมเช่นเฮกเซนหรือไขมันอิ่มตัวทดแทนได้ ก่อนนำมาผลิตกรดไขมันเอทิลเอสเทอร์ การใช้ไขมันไม่อิ่มตัวในการสกัดน้ำมันออกจากไขมันไม่อิ่มตัวทำได้ง่ายและมีปฏิกิริยาไม่รุนแรงแต่การผสมไขมันไม่อิ่มตัวกับไขมันอิ่มตัวให้ปฏิกิริยาเป็นเนื้อเดียวกันนั้นทำได้ยากและใช้เวลานาน ส่วนปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันนั้นใช้เวลาสั้นแต่ใช้เวลาในการเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยานาน เนื่องจากความสามารถการละลายของ NaOH และ KOH ในเอทานอลต่ำ

Shiyi และคณะ^[15] ได้ทำการศึกษาการเตรียมไขมันไม่อิ่มตัวจากกากหมักในกระบวนการผลิตน้ำตาลและศึกษาเปรียบเทียบผลของการสกัดไขมันไม่อิ่มตัวจากไขมันไม่อิ่มตัว โดยมีปริมาณอัตราส่วนของไขมันไม่อิ่มตัวที่สกัดได้เฉลี่ย 6.85 กรัมต่อกากหมักที่เตรียมไว้ 100 กรัม จากนั้นยังได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของการสกัด Octacosanol จากไขมันไม่อิ่มตัวด้วยวิธี Supercritical CO_2 กับวิธี Hot Ethanol Reflux โดยจากการศึกษาสรุปได้ว่าทั้ง 2 วิธีจะได้ผลของการสกัด Octacosanol ที่ใกล้เคียงกัน แต่วิธีการสกัดด้วย Supercritical CO_2 จะได้ปริมาณ Octacosanol มากกว่าเล็กน้อยที่ 29.65 กรัมต่อไขมันไม่อิ่มตัว 100 กรัม ส่วนวิธี Hot Ethanol Reflux ได้ปริมาณ Octacosanol ที่ 22.52 กรัมต่อไขมันไม่อิ่มตัว 100 กรัม แต่อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อใช้วิธีการ Hot Ethanol Reflux ร่วมกับกระบวนการ Saponification กลับได้ผลผลิตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของ Octacosanol เป็น 47.8 กรัมต่อไขมันไม่อิ่มตัว 100 กรัม

2.2 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

บทนี้กล่าวถึงอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย หลักการทำงานของเครื่องมือสกัดสารด้วยวิธีของไหลในสภาวะวิกฤตยิ่งยวดและวิธีการทดลองรวมถึงตัวแปรที่ใช้ทำการศึกษาและขั้นตอนในการศึกษา

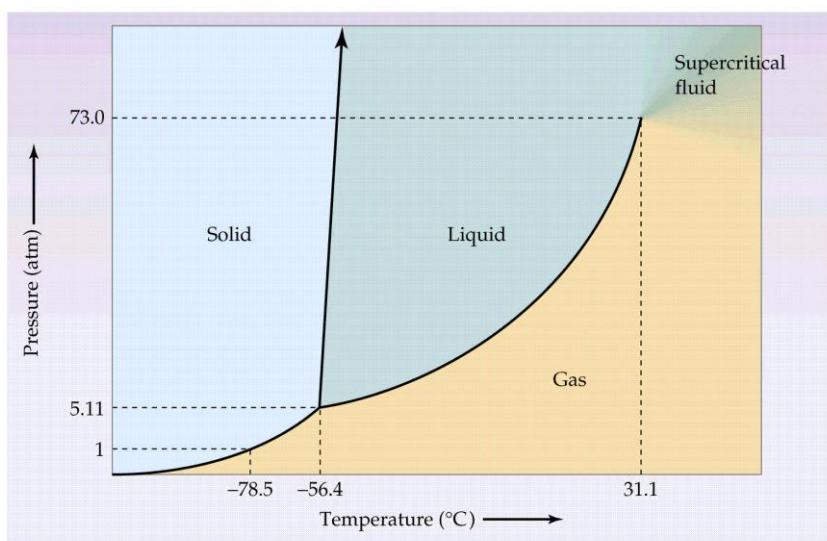
2.2.1 สถานที่

2.2.1.1 คณะวิศวกรรมศาสตร์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี

2.2.1.2 อาคารสกัดสมุนไพร พื้นที่วิจัยด้านเทคโนโลยี ศูนย์วิจัยจุฬาภรณ์
มหาวิทยาลัย อำเภอแก่งคอย จังหวัด สระบุรี

2.3 อุปกรณ์

การสกัดสารโดยใช้เครื่องสกัดสารด้วยวิธีของไหลในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด (ภาพที่ 31) เป็นเทคนิคการสกัดสารที่ตัวทำละลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ขณะอยู่ในสถานะเหนือจุดวิกฤต ซึ่งในสถานะนี้ CO_2 จะมีความหนาแน่นคล้ายของเหลว แต่ความหนืดและสัมประสิทธิ์การแพร่ (Diffusion Coefficient) อยู่ในสภาวะคล้ายก๊าซ ทำให้ CO_2 มีหน้าที่เป็นตัวทำละลาย เนื่องจาก CO_2 เป็นก๊าซไม่มีพิษ ไม่มีรส กลิ่น ไม่ติดไฟและราคาถูก และจุดวิกฤตถูกปรับแต่งได้โดยง่าย การปรับให้ CO_2 อยู่ในสภาวะเหนือจุดวิกฤตซึ่งจะสามารถทำได้โดยการปรับความดันและอุณหภูมิของ CO_2 ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 31.06 องศาเซลเซียสและที่ความดันประมาณ 7.382 MPa หรือ 73.82 บาร์ขึ้นไป



ภาพที่ 31 CO_2 Pressure-Temperature phase diagram (Modified from^[16])

อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดไขมัน เครื่อง Supercritical CO₂ Extraction รุ่น TH22-50x2 ผลิตโดยบริษัท Wenzhou Chengdong Medicine Machine Co., Ltd. ลักษณะที่สำคัญของระบบเครื่องสกัดแบบของเหลววิกฤตยิ่งยวดนี้ ความดันสูงสุดในแต่ละถังของถังสกัดถูกออกแบบไว้ที่ 35 MPa หรือ 350 บาร์ ขนาดถังในแต่ละถังของถังสกัดเท่ากับ 50 ลิตร จำนวน 2 ถัง อุณหภูมิของถังสกัดปรับได้ตั้งแต่อุณหภูมิห้องจนถึง 75 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของ CO₂ รองรับได้เท่ากับ 10 ถึง 630 ลิตรต่อชั่วโมง กำลังไฟฟ้า 130 กิโลวัตต์ 380 โวลต์ 50 เฮิร์ต



ภาพที่ 32 เครื่อง Supercritical CO₂ Extraction รุ่น TH22-50x2 ส่วนควบคุม



ภาพที่ 33 เครื่อง Supercritical CO₂ Extraction ส่วนอุปกรณ์แลกเปลี่ยนความร้อน

2.3.1 หลักการทำงานของเครื่อง Supercritical CO₂ Extraction รุ่น TH22-50x2

2.3.1.1 เมื่อเริ่มทำงานวาล์วทุกตัวของระบบแรงดันต้องถูกปิด

2.3.1.2 ใส่วัตถุดิบเข้าไปในถังสกัดทั้ง 2 ถังและปิดถังให้ถูกต้อง

2.3.1.3 เติม CO₂ จากภายนอกถังของสู่งเก็บ CO₂ ของเครื่อง

2.3.1.4 เปิดวาล์ว J01 J03 J05 ซึ่งต่อกับถัง CO₂ ภายนอก และเปิดวาล์ว J06 เพื่อไล่
อากาศออกจากถังเก็บ CO₂ เมื่อเห็นว่าอากาศถูกไล่ออกจนหมดแล้วจึงปิดวาล์ว

2.3.1.5 ถังเก็บ CO₂ จะรับ CO₂ จากภายนอกจนเมื่อความดันในถังเก็บ CO₂ เพิ่มขึ้น
ประมาณ 5 ถึง 8 MPa แล้วจึงปิดวาล์ว J01 จากนั้นเติม CO₂ ไล่อากาศออกจากระบบ

2.3.1.6 เปิดวาล์ว J7 J08 J09 J13 เพื่อให้ CO₂ ไหลเข้าสู่ถังสกัดที่ 1 เปิดวาล์ว J16 เพื่อไล่
อากาศจากถังสกัดที่ 1 จนอากาศถูกไล่ออกหมดจึงปิดวาล์ว J16

2.3.1.7 เปิดวาล์ว J17 J24 ให้ CO₂ เข้าถังแยกก๊าซตัวที่ 1

2.3.1.8 เปิดวาล์ว J26 เพื่อไล่อากาศจากถังแยกก๊าซตัวที่ 1 แล้วจึงทำการปิดวาล์ว

2.3.1.9 เปิดวาล์ว J27 ให้ CO₂ เข้าถังแยกก๊าซตัวที่ 2 แล้วจึงเปิดวาล์ว J30 เพื่อไล่อากาศ
ออกจากรถถังจึงปิดวาล์ว J30

2.3.1.10 เปิดวาล์ว J31 เพื่อให้ CO₂ เข้าถังปรับสภาพ (Buffer Tank)

2.3.1.11 เปิดวาล์ว J34 J02 อยู่ใต้ถังกรองเพื่อไล่อากาศออก จากนั้นปิดวาล์ว J02 ภายหลัง
จากการไล่อากาศเสร็จ

2.3.1.12 ปรับความดันในระบบที่ต้องการของถังทุกใบโดยระบบคอมพิวเตอร์ ความดันต้อง
ไม่สูงเกินกว่า 35 MPa.

2.3.1.13 การเพิ่มความดัน เมื่ออุณหภูมิของถังสกัดแยกก๊าซถังที่ 1 และ 2 และเครื่องทำความ
เย็นเป็นไปตามระดับที่ตั้งไว้ ให้เปิดเดินปั๊ม CO₂ เพิ่มความดันให้ถังสกัด หากความดันของถังเก็บ CO₂
มีค่าต่ำกว่า 4MPa ให้เปิดวาล์ว J01 ให้ CO₂ ถูกส่งมาเพิ่มความดันให้ถังเก็บ CO₂ ถึงระดับ 4MPa
จากนั้นจึงปิดวาล์ว J01 และ J34 เมื่อความดันในถังสกัดสูงขึ้นถึงระดับความดันที่ตั้งไว้ ระบบวาล์ว
อัตโนมัติจะเปิดให้ CO₂ ไหลเข้าสู่ถังแยกก๊าซที่ 1 และถังแยกก๊าซ ที่ 2, ถ้าความดันในถังก๊าซที่ 2 สูงขึ้น
ถึงระดับที่ตั้งไว้ระบบวาล์วอัตโนมัติจะเปิดให้ CO₂ ไหลเข้าสู่ถังควบคุม CO₂ (Buffer Tank) จากนั้น
จะไหลผ่านตะแกรงกรองและเข้าสู่ระบบกลั่นตัว กระบวนการสกัดด้วย CO₂ จึงเริ่มทำงาน ระบบวาล์ว
ควบคุมโดยไฟฟ้าจะปรับแรงดันของถังสกัด ถังแยกก๊าซที่ 1 และที่ 2 อย่างอัตโนมัติเพื่อควบคุมระบบ
ให้เป็นไปตามที่ตั้งค่าไว้ เมื่อระบบการทำงานหมุนเวียนเริ่มทำงานให้ปรับตั้งเวลาการทำงานของระบบ
ที่คอมพิวเตอร์และเมื่อถึงระยะเวลาที่กำหนดแล้ว คอมพิวเตอร์จะส่งสัญญาณเตือนการทำงานเป็น
การสิ้นสุดการทำงานของระบบ (ต้องระมัดระวังตลอดเวลาการทำงานว่า CO₂ ในถังเก็บ CO₂ ต้องมี

แรงดันไม่น้อยกว่า 4 MPa ตลอดเวลา) ให้เปิดวาล์ว J26 และ J30 ได้ถึงแยกก๊าซ ทุก 20 ถึง 30 นาที แล้วปิด เมื่อระบายสารถูกสกัดออกมา

2.3.1.14 การทำงานของถังสกัดที่ 2 (กรณีที่มีบรรจุวัตถุดิบลงในถังสกัดตัวที่ 2 ด้วย)

2.3.1.15 ปิดวาล์ว J13 J24 เปิด J20 เพื่อระบาย CO₂ จากถังสกัดที่ 1 เข้าไปยังถังสกัดที่ 2

2.3.1.16 เมื่อแรงดันสมดุลให้ปิดวาล์ว J17 เปิดวาล์ว J18 J35 ให้ CO₂ ในถังสกัดที่ 1 ไหลไปยังถังปรับลดแรงดัน

2.3.1.17 ปิดวาล์ว J35 เปิดวาล์ว J36 J15 เพื่อระบาย CO₂ ออกจากถังสกัดที่ 1 ให้หมดในขณะเดียวกันให้เปิดวาล์ว J14 และ J24 เปิดเครื่องปั๊ม CO₂ และทำการสกัดต่อไป ส่วนในถังสกัดที่ 1 เมื่อถูกความดันลดลงจนอยู่ในสภาพปกติ ให้เปิดฝาครอบด้านนอกออกด้วยระบบไฟฟ้าและการเปิดนั้นต้องให้ความดันในถังที่ 1 อยู่ในระดับความดันบรรยากาศแล้วเท่านั้น จากนั้นถ่ายวัตถุดิบออกจากถังสกัดที่ 1

2.3.2 ตัวแปรที่ทำการศึกษา

ทำการศึกษโดยปรับเปลี่ยนช่วงอุณหภูมิ ความดันเหนือจุดวิกฤตและเวลาที่เหมาะสม โดยออกแบบการทดลองอาศัย Two-level factorial (ตารางที่ 15) และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์สภาวะวิกฤตยิ่งยวดคือไซออยซึ่งเป็นผลผลิตจากกระบวนการสกัดดังกล่าว โดยการกำหนดตัวแปรและสภาวะในการทดลองดังนี้

อุณหภูมิ (Temperature, °C, Factor X) เป็น 50 °C (X₁) และ 70 °C (X₂)

ความดัน (Pressure, Bar, Factor Y) เป็น 100 (Y₁), 150 (Y₂) และ 200 (Y₃)

เวลา (Time, Minute, Factor Z) เป็น 30 (Z₁) และ 60 (Z₂)

ตัวทำละลาย (Solvent, Factor C) เป็น CO₂ (C₁) และ ตัวทำละลายร่วม เลือกใช้ Commercial Ethanol 95% (C₂)

ตารางที่ 15 ตัวอย่างการจัดการทดลองแบบ Two-level factorial ในแต่ละการทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง

การทดลองที่	ความดัน อุณหภูมิ เวลา
1	ความดัน 100 บาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที
2	ความดัน 100 บาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที
3	ความดัน 100 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที
4	ความดัน 100 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที
5	ความดัน 150 บาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที
6	ความดัน 150 บาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที
7	ความดัน 150 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที
8	ความดัน 150 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที
9	ความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที
10	ความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที
11	ความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที
12	ความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที

2.3.3 ขั้นตอนที่ทำการศึกษา

ทำการศึกษากระบวนการและขั้นตอนการสกัดไขมันจากกากหม้อกรองซึ่งเป็นของเสียจากกระบวนการการทำให้น้ำอ้อยในโรงงานน้ำตาลโดยใช้เทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด (Supercritical CO₂ Extraction) ร่วมกับตัวทำละลายเอทานอลซึ่งมีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมซึ่งหาได้ง่ายในท้องตลาดและมีราคาถูก

1. โดยเริ่มต้นจากการเตรียมกากหม้อกรองที่ได้จากโรงงานน้ำตาลของกลุ่มบริษัทไทยรุ่งเรือง ซึ่งจะประกอบด้วยปริมาณความชื้นประมาณเฉลี่ยร้อยละ 65 จากนั้นนำกากหม้อกรองที่มีความชื้นไปทำให้แห้งโดยเครื่องอบแห้งแบบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105°C หรือการใช้วิธีตากแห้ง เพื่อให้ได้กากหม้อกรองที่แห้งหรือมีความชื้นที่น้อยที่สุด

2. จากนั้นเริ่มต้นกระบวนการสกัดไขมันจากกากหม้อกรองแห้ง โดยจะใช้ปริมาณจากกากหม้อแห้งที่เตรียมมาปริมาณ 10 กิโลกรัมโดยการชั่งน้ำหนัก ใส่ลงในถังสกัดแล้วทำการสกัดร่วมกับตัวทำละลาย (Co-Solvent) เอทานอลปริมาณ 5 ลิตรที่ตวงไว้ ต่อหนึ่งการทดลอง ทำการตั้งค่าอุณหภูมิและความดันที่เครื่องสกัดสารกับจับเวลาที่จะทำการสกัดไขมัน โดยกำหนดตามสภาวะการทดลองที่ออกแบบไว้ (ตารางที่ 15)

3. ใช้ระบบ PLC (programmable logic controller) และคอมพิวเตอร์ในการสั่งการทำงานควบคุมเครื่องจักรในระหว่างดำเนินการทดลองการสกัดสาร เครื่องจะป้อน CO₂ ภายใต้สภาวะอุณหภูมิและความดันที่ถูกต้องไว้ เข้าไปในระบบเพื่อทำหน้าที่เป็นตัวทำละลาย ส่วนตัวทำละลายรวมจะมีส่วนช่วยในการนำไขมันออกจากถังสกัดได้ง่ายขึ้น

4. หลังจากการสกัดสิ้นสุดลงในแต่ละรอบ ทำการการเก็บตัวอย่างไขมันที่ได้จากการสกัดโดยการเปิดวาล์วที่ถังแยกทั้งสองถังและวาล์วใต้ถังสกัดเพื่อทำการเก็บตัวอย่างไขมันที่ได้จากการสกัดทั้งหมดและชั่งน้ำหนัก

5. นำไขมันที่สกัดได้ไปทำแห้ง โดยการระเหยเอทานอลและความชื้นออกเพื่อให้ได้ไขมันแห้งเพียงอย่างเดียวและทำการชั่งน้ำหนัก ศึกษาทำการเก็บต้นทุนจากกระบวนการผลิตไขมันและการใช้พลังงานที่ใช้ในแต่ละวัน

2.4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ผลการทดลองของการสกัดไขมันจากกากหม้อกรองโดยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด จำนวนสภาวะ 12 สภาวะ โดยปรับเปลี่ยนตัวแปร กับ อุณหภูมิ (50 และ 70°C) ความดัน (100, 150 และ 200 bar) และเวลาในการสกัด (30 และ 60 นาที) (ตารางที่ 16) ซึ่งแต่ละสภาวะจะทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ดังนั้นจำนวนการทดลองทั้งหมด 36 การทดลอง

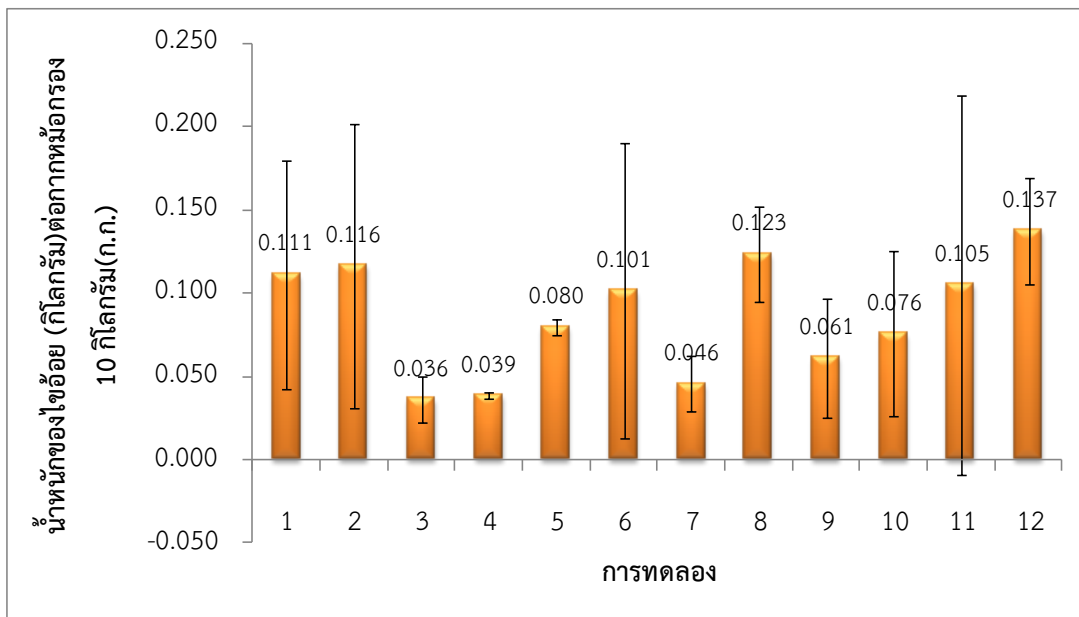
2.4.1 ผลการทดลอง

ตารางที่ 16 ผลการทดลองและปริมาณน้ำหนักรวมไขมันที่สกัดได้จากกากหม้อกรอง 10 กิโลกรัม

Test	ครั้งที่	ความดัน (bar)	อุณหภูมิ (°C)	เวลาการสกัด (min)	น้ำหนักรวมไขมันที่สกัด (ก.ก.)	น้ำหนักรวมไขมันที่สกัด (กรัม)	น้ำหนักรวมไขมันที่สกัด (ก.ก.)	น้ำหนักรวมไขมันที่สกัด (กรัม)	ค่า S.D.	น.น.เฉลี่ยไขมันที่สกัดต่อกากหม้อกรอง 100 ก.ก.
1	1	100	49.6	30	1.83	64.38	0.064	0.111	0.069	1.11
	2	100	49.6	30	1.78	79.75	0.080			
	3	100	51.2	30	5.77	190.17	0.190			
2	4	100	52	60	0.85	32.52	0.033	0.116	0.086	1.16
	5	100	50.4	60	2.54	112.01	0.112			
	6	100	47.2	60	4.32	204.14	0.204			
3	7	100	75.2	30	1.69	47.1	0.047	0.036	0.014	0.36
	8	100	71.2	30	2.62	40.65	0.041			
	9	100	73.6	30	1.19	20.77	0.021			

ตารางที่ 16 (ต่อ) ผลการทดลองและปริมาณน้ำหนักไขอ้อยที่สกัดได้ต่อกากหม้อกรอง 10 กิโลกรัม

Test	ครั้งที่	ความดัน (bar)	อุณหภูมิ (oC)	เวลาการสกัด (min)	น้ำหนักรวมไขอ้อยเปียก (ก.ก.)	น้ำหนักรวมไขอ้อยแห้ง (กรัม)	น้ำหนักรวมไขอ้อยแห้ง (ก.ก.)	น้ำหนักรวมไขอ้อยแห้ง (ก.ก.)	ค่า S.D.	น.น.เฉลี่ยไขอ้อยแห้งต่อกากหม้อกรอง 100 ก.ก.
4	10	100	72.8	60	1.02	36.83	0.037	0.039	0.002	0.39
	11	100	73	60	0.88	38.51	0.039			
	12	100	72.8	60	1.11	40.12	0.040			
5	13	150	51.2	30	1.83	83.71	0.084	0.080	0.005	0.80
	14	150	50.2	30	1.20	79.87	0.080			
	15	150	46.4	30	0.85	75.05	0.075			
6	16	150	51.4	60	2.11	203.09	0.203	0.101	0.089	1.01
	17	150	47.2	60	3.83	37.64	0.038			
	18	150	46.4	60	1.91	63.28	0.063			
7	19	150	73.6	30	1.05	38.74	0.039	0.046	0.017	0.46
	20	150	71.2	30	1.69	33.37	0.033			
	21	150	70.5	30	1.25	64.74	0.065			
8	22	150	67.2	60	2.45	108.16	0.108	0.123	0.028	1.23
	23	150	72	60	3.29	106.12	0.106			
	24	150	68	60	1.94	156.23	0.156			
9	25	200	50.4	30	2.40	101.85	0.102	0.061	0.036	0.61
	26	200	52	30	1.03	43.37	0.043			
	27	200	49.6	30	2.11	37.63	0.038			
10	28	200	48	60	1.59	18.69	0.019	0.076	0.049	0.76
	29	200	51.2	60	1.32	98.06	0.098			
	30	200	47.2	60	3.18	109.54	0.110			
11	31	200	75	30	1.47	41.97	0.042	0.105	0.114	1.05
	32	200	72.6	30	1.66	237.4	0.237			
	33	200	72.8	30	3.24	36.12	0.036			
12	34	200	65	60	0.00	115.07	0.115	0.137	0.032	1.37
	35	200	82	60	0.75	123.01	0.123			
	36	200	68	60	1.56	174.2	0.174			

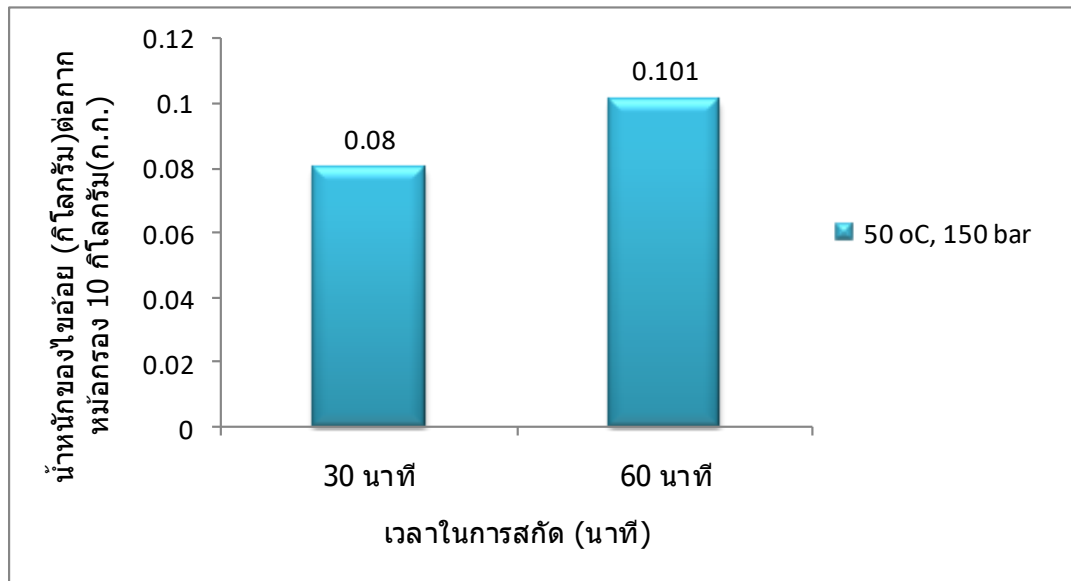


ภาพที่ 34 น้ำหนักเฉลี่ยของไอลอยแห้งของการทดลองที่ 1 ถึง 12

เมื่อพิจารณาน้ำหนักไอลอยแห้งเฉลี่ยรวมที่ได้จากการทำการทดลองในแต่ละสภาวะซ้ำ 3 ครั้ง โดยทำการศึกษาค่าผลของตัวแปรทดลองได้แก่ สภาวะความดัน อุณหภูมิและเวลาที่ออกแบบอาศัย Two level factorial (แสดงในตารางที่ 34) จะพบว่าเมื่อทำการสกัดกากหม้อกรองด้วย คาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวดที่ความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและสกัดภายในเวลา 60 นาที ได้ปริมาณน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดของไอลอยหลังจากการทำแห้งคือ 137.43 กรัมต่อกากหม้อกรอง 10 กิโลกรัม หรือคิดเป็นผลได้ของไอลอยเท่ากับ 1.374% ของกากหม้อกรอง 100 กิโลกรัม และเมื่อทำการสกัดกากหม้อกรองที่ความดัน 150 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและสกัดภายในเวลา 60 นาที สกัดได้น้ำหนักไอลอยเฉลี่ยรองลงมาคือ 123.50 กรัมต่อกากหม้อกรอง 10 กิโลกรัม จากการผลการทดลองพบว่าภายใต้สภาวะความดัน 200 บาร์ และอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและสกัดภายในเวลา 60 นาที จะได้ค่าผลได้ของไอลอยหลังจากทำแห้งสูงสุด

2.4.2 วิเคราะห์ผลการทดลอง

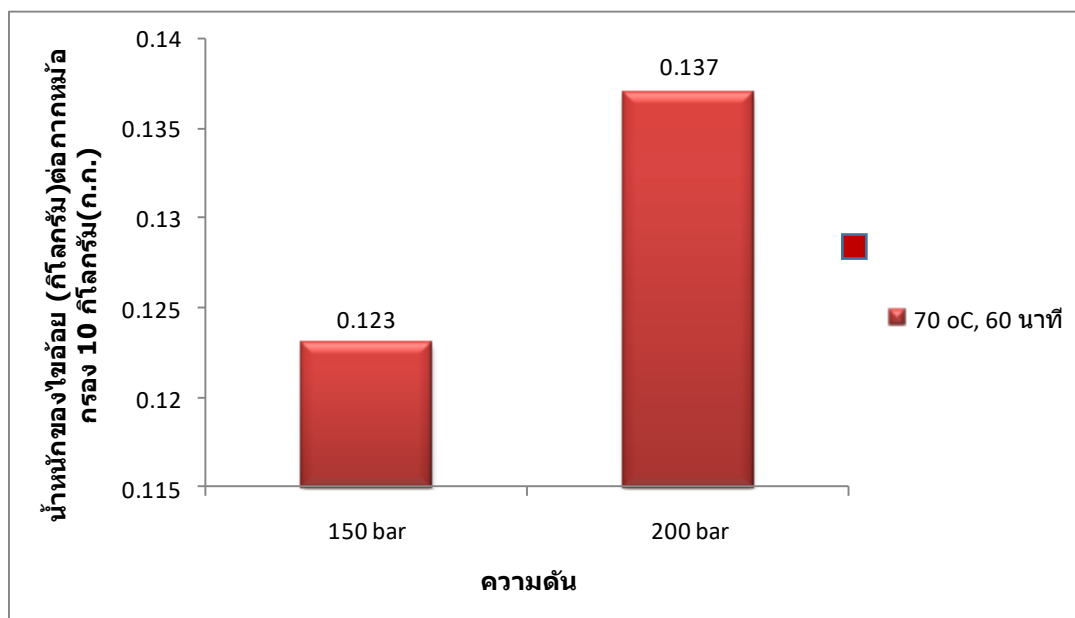
2.4.2.1 ผลของระยะเวลาการสกัดด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดที่มีต่อค่าผลได้ (yield) ของไซอ้อย



ภาพที่ 35 น้ำหนักไซอ้อยที่สกัดได้ต่อกากหม้อกรอง 100 กิโลกรัม ภายใต้ความดัน 150 บาร์ และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เมื่อเปรียบเทียบเวลาการสกัด 30 นาที และ 60 นาที

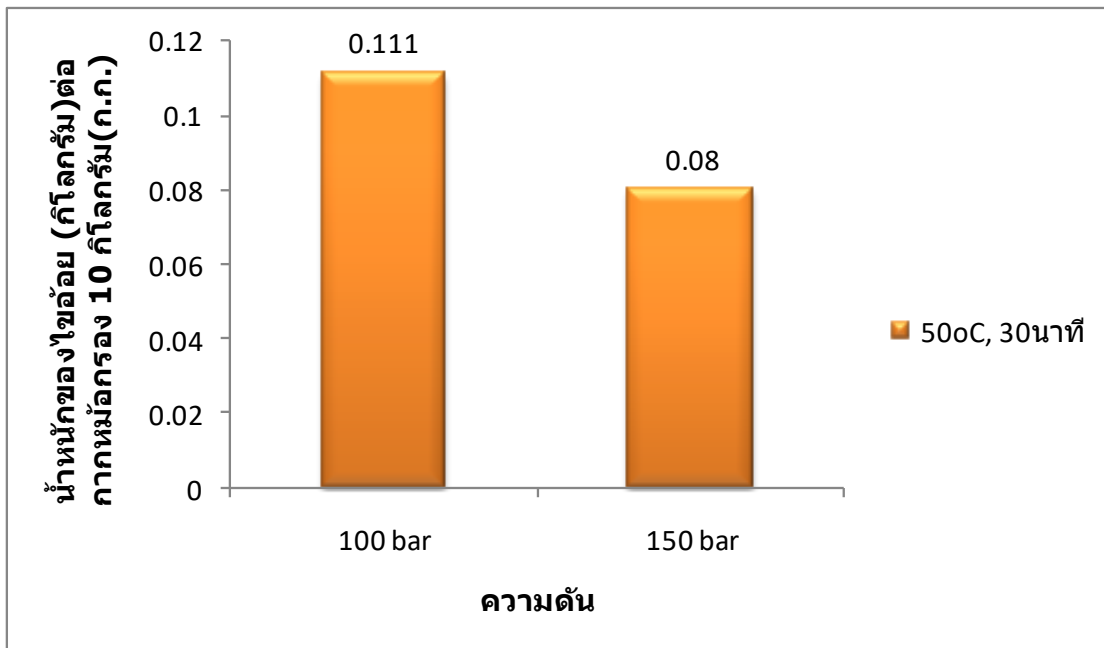
เมื่อทำการศึกษาผลของระยะเวลาสกัดที่มีค่าผลได้ของไซอ้อย พบว่าไซอ้อยที่สกัดจากกากหม้อกรองด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวด ภายใต้ความดันและอุณหภูมิเดียวกัน การเพิ่มเวลาสกัดจาก 30 นาทีเป็น 60 นาที ทำให้ได้สารสกัดไซอ้อยมากขึ้นในทุก ๆ กรณี ยกตัวอย่างเช่น ที่ความดัน 150 บาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ดังภาพที่ 35) การเพิ่มเวลาสกัดจาก 30 นาทีเป็น 1 ชั่วโมงจะได้ค่าผลได้ของไซอ้อยเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 26.25% เนื่องจากเพิ่มระยะเวลาในการสัมผัสระหว่างกากหม้อกรองและคาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวด ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวทำละลาย จึงได้มาของ yield ที่เพิ่มขึ้น

2.4.2.2 ผลของความดันในถังสกัดด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดที่มีต่อค่าผลได้ (yield) ของไซออย



ภาพที่ 36 น้ำหนักไซออยที่สกัดได้ต่อกากหม้อกรอง 100 กิโลกรัม ภายใต้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และเวลาการสกัด 60 นาที เมื่อเปรียบเทียบความดันในถังสกัด 150 บาร์ และ 200 บาร์

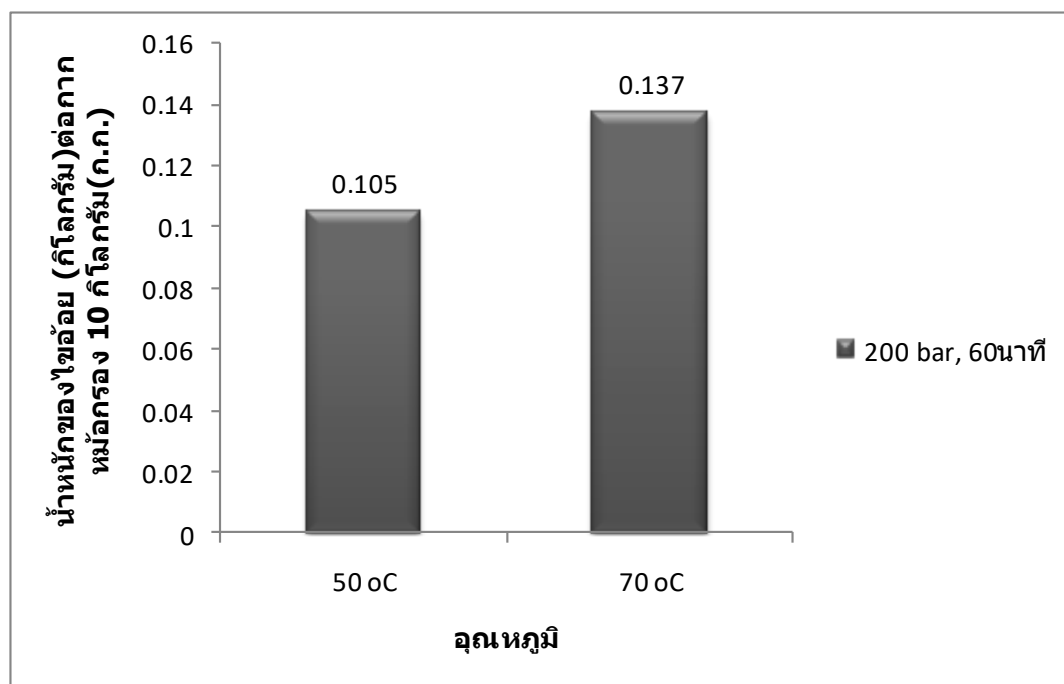
เมื่อทำการศึกษาผลของความดันในถังสกัดที่มีต่อค่าผลได้ของไซออย พบว่าไซออยที่สกัดจากกากหม้อกรองด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวด ภายใต้อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดเท่ากัน เมื่อเพิ่มความดันในระบบจะมีผลทำให้ % yield ของไซออยที่สกัดได้จะเพิ่มขึ้นเมื่อใช้อุณหภูมิสูงที่ 70 องศาเซลเซียสในการสกัดและเวลาในการสกัดเป็นไปได้ทั้ง 30 และ 60 นาที (การทดลองที่ 3,4 เทียบกับ 7,8 เทียบกับ 11,12) ตัวอย่างเช่น การเพิ่มความดันจาก 150 บาร์ เป็น 200 บาร์ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จะได้ค่าผลได้ไซออยเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 11.38 % (ดังภาพที่ 36)



ภาพที่ 37 น้ำหนักไขอ้อยที่สกัดได้จากกากหม้อกรอง 100 กิโลกรัม ภายใต้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเวลาการสกัด 30 นาที เมื่อเปรียบเทียบความดันในถังสกัด 100 บาร์ และ 150 บาร์

อย่างไรก็ตามเมื่อทำการศึกษาผลของความดันในถังสกัดที่มีต่อค่าผลได้ของไขอ้อยพบว่าไขอ้อยที่สกัดจากกากหม้อกรองด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวด ภายใต้อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดเท่ากัน ผลของ % yield ของการสกัดจะลดลงเมื่อเพิ่มความดันในระบบที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่ำกว่า 70 องศาเซลเซียส คือที่ 50 องศาเซลเซียส (การทดลองที่ 1,2 เทียบกับ 5,6 เทียบกับ 9,10) โดยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสและเวลาในการสกัด 30 นาที (ดังภาพที่ 37) การเพิ่มความดันจาก 100 บาร์ เป็น 150 บาร์ จะได้ค่าผลได้ของไขอ้อยเฉลี่ยลดลง 27.93%

2.4.2.3 ผลของอุณหภูมิในถังสกัดด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดที่มีต่อค่าผลได้ (yield) ของไซออย



ภาพที่ 38 น้ำหนักไซออยที่สกัดได้ต่อกากหมัก 100 กิโลกรัม ภายใต้ความดัน 200 บาร์ และเวลาการสกัด 60 นาที เมื่อเปรียบเทียบอุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส

เมื่อทำการศึกษาผลของความดันในถังสกัดที่มีต่อค่าผลได้ของไซออย พบว่าไซออยที่สกัดจากกากหมักด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวด ภายใต้ความดันและระยะเวลาในการสกัดเท่ากัน ที่ความดัน 200 บาร์และระยะเวลาในการสกัด 60 นาที (ดังภาพที่ 38) โดยเพิ่มอุณหภูมิจาก 50 เป็น 70 องศาเซลเซียส จะได้ค่าผลได้ของไซออยเพิ่มขึ้น 30.48%

จากการทดลองที่ออกแบบด้วย Two level factorial จำนวน 12 สภาวะ แต่ละสภาวะทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง พบว่าสภาวะในการสกัดไซออยจากกากหมักด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวด ภายใต้ความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและในเวลา 60 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดเพราะให้ค่าผลได้ของไซออยสูงที่สุด เท่ากับ 137.43 กรัม ของไซออยแห้งต่อกากหมัก 10 กิโลกรัม หรือ 1.374 กิโลกรัมของไซออยที่สกัดได้ต่อกากหมัก 100 กิโลกรัม

2.4.3 วิเคราะห์ผลทางเศรษฐศาสตร์

ในการผลิตสินค้าหรือการบริการนั้นมีค่าใช้จ่ายหรือต้นทุนของการผลิต การวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์นั้นจำเป็นต้องนำตัวเลขของต้นทุนและค่าใช้จ่ายต่างๆในการผลิตมาพิจารณาเพื่อเปรียบเทียบการลงทุนที่เหมาะสมที่สุด ตัวเลขที่เป็นต้นทุนในการผลิตนั้นส่วนใหญ่มาจากการประมาณค่าซึ่งได้มาจากแหล่งต่างๆจากโรงงานที่เคยผลิตหรือการทดลองจากโครงการนำร่องและตัวเลขที่เกิดจากค่าจริงของการผลิตจริง ในการศึกษาการสกัดไข้อยู่ด้วยเทคนิคคาร์บอนได้ออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดในระดับนำร่องได้อาศัยสมมติฐานทางเศรษฐศาสตร์และการวิเคราะห์ด้านการเงินจากสภาวะสกัดที่เหมาะสมที่สุดภายใต้ความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและในเวลา 60 นาที

ตารางที่ 17 สมมติฐานการวิเคราะห์ด้านการเงิน

	รายการ	จำนวน	มูลค่า	หน่วย
1	กำลังการผลิตสูงสุด		60	กิโลกรัม/วัน
	การลงทุนในทรัพย์สินประเภททุน			
2	เงินลงทุนค่าเครื่องจักรสกัดสาร SFE ^[17]		10,000,000	บาท
3	เงินลงทุนค่าก่อสร้าง		1,500,000	บาท
4	ที่ดิน (ใช้พื้นที่ในโรงงาน)		0	บาท
5	อายุเครื่องจักร ^[18]		15	ปี
6	เงินกู้ธนาคาร 80% ของเงินลงทุนทั้งหมด		9,200,000	บาท
7	ค่าเสื่อมราคา		15	ปี
8	อัตราดอกเบี้ย SME bank ^[19]		6.88%	ร้อยละต่อปี
	รวมการลงทุนในทรัพย์สินประเภททุน		11,500,000	บาท
	ต้นทุนการดำเนินงานและการบำรุงรักษา			
9	ค่าช่าง Technician (15,000บาท/คน)	1	15,000	บาท/เดือน
10	ค่าผู้ช่วยช่าง (8,000 บาท/คน)	2	16,000	บาท/เดือน
11	ธุรการบัญชี (9,000บาท/คน)	1	9,000	บาท/เดือน
12	สาธารณูปโภค เช่น ประปา		1,000	บาท/เดือน
13	ค่าไฟฟ้า**		79,536	บาท/เดือน

ตารางที่ 17 (ต่อ) สมมติฐานการวิเคราะห์ด้านการเงิน

	รายการ	จำนวน	มูลค่า	หน่วย
14	ค่าบำรุงรักษาอื่นๆ (ประกัน ,น้ำมันหล่อลื่น ,และอุปกรณ์อื่น)*		5,167	บาท/เดือน
	รวมต้นทุนการดำเนินงานและการ บำรุงรักษา		125,704	บาท/เดือน
	ต้นทุนค่าวัตถุดิบและสารเคมี			
15	ค่าวัตถุดิบ (Filter cake)*		170	บาท/ตัน
16	ค่าวัตถุดิบ (Filter cake)		265	บาท/เดือน
17	ค่า CO2 (Batch ละถึง 27 กก.)*		75,816	บาท/เดือน
18	ค่า เอทานอล (Batch ละ 5 ลิตร)*		39,000	บาท/เดือน
	รวมต้นทุนค่าวัตถุดิบและสารเคมี		115,081	บาท/เดือน
19	Yield ไขอ้อย / กากหม้อกรอง		1.374	ก.ก/100 ก.ก
20	ค่าเสื่อมราคา = 20% ของราคาอุปกรณ์ เริ่มต้น ^[20]		34,448	บาท/เดือน
21	อัตราเสื่อมสภาพของเครื่องจักร (สมการ 4.2)		6.67	ร้อยละต่อปี

(*) ข้อมูลที่ได้จากการทดลองโดยการคำนวณจากราคาจำหน่ายในท้องตลาดปัจจุบัน

(**) ข้อมูลการใช้ไฟฟ้าที่ได้จากการบันทึกค่าไฟฟ้าที่ใช้ในแต่ละวันของโรงงานโดยคำนวณจากอัตราค่าไฟฟ้าของการไฟฟ้าส่วนภูมิภาค ประเภทที่ 3 กิจการขนาดกลาง TOU Tariff

(***) จำนวนสัปดาห์ที่ทำงานต่อปี = 52 ต่อปี
 จำนวนวันที่ทำงานใน 1 อาทิตย์ = 6 วัน
 จำนวนวันที่ทำงานใน 1 ปี = 312 วัน
 จำนวนเดือนที่ทำงานใน 1 ปี = 12 เดือน
 จำนวนรอบการสกัดต่อวัน = 6 รอบ

โดยการหามูลค่าปัจจุบัน (Net Present Value, NPV) เพื่อหาผลต่างระหว่างมูลค่าในปัจจุบันของรายได้จากการขายไข่อ้อยที่รับสุทธิตลอดอายุของโครงการกับเงินลงทุนเริ่มแรก ณ อัตราผลตอบแทนที่ต้องการหรือต้นทุนของเงินลงทุนของโครงการ โดยสามารถคำนวณหา NPV ได้จากสมการที่ (1) ดังนี้

$$NPV = -C_0 + \sum_{i=1}^n \frac{C_i}{(1+r)^i} \quad (1)$$

เมื่อ

C_0 = เงินลงทุนเริ่มต้น (บาท)

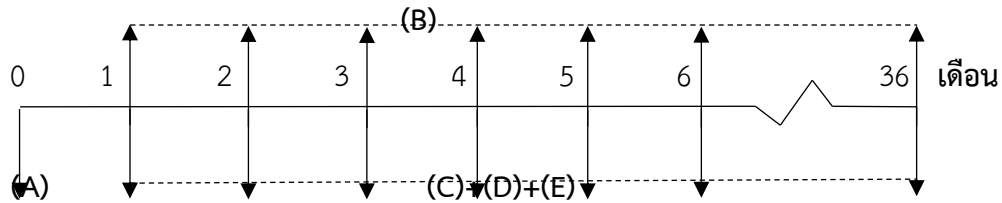
C = มูลค่าปัจจุบันของกระแสเงินสดปัจจุบันในเดือนที่ 1 ถึง (เดือนสุดท้าย) ของโครงการ (เดือนที่ n)

(บาท)

r = คืออัตราดอกเบี้ยต่อปี (โดยเฉลี่ยจากดอกเบี้ยเงินกู้ที่ 6.88% ต่อปี, SME Bank ^[19] หรือ 0.56% ต่อเดือน)

i = ระยะเวลา (เดือน)

2.4.3.1 แผนภูมิการไหลค่าใช้จ่ายต่างๆ ที่จุดคุ้มทุน 3 ปี



ภาพที่ 39 แผนภูมิการไหลค่าใช้จ่ายต่างๆ (Cash flow diagram) ที่จุดคุ้มทุน 3 ปี

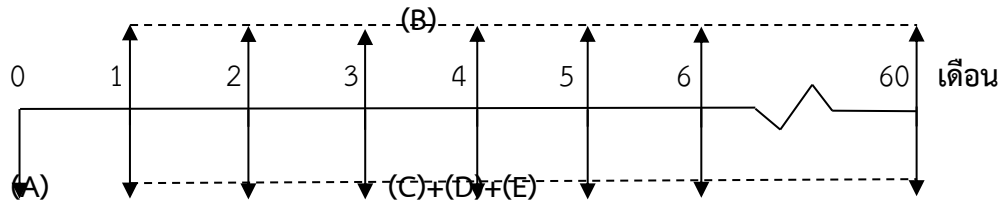
แกนนอนเป็นระยะเวลา (เดือน) ลูกศรชี้ขึ้นหมายถึงรายได้ (บาทต่อเดือน) ในขณะที่ลูกศรชี้ลงหมายถึง ต้นทุนหรือรายจ่าย (บาทต่อเดือน)

กำหนดให้

- (A) = ต้นทุนเครื่องจักรและค่าก่อสร้าง = 9,200,000 บาท
- (B) = รายได้จากการขายไข่อ้อย (บาทต่อเดือน)
= ราคาขาย (บาทต่อกิโลกรัม) $\times$ ปริมาณไข่อ้อยที่สกัดได้ (กิโลกรัมต่อเดือน)*
- (C) = ต้นทุนค่าดำเนินการและการบริหารจัดการ = 125,704 บาทต่อเดือน
- (D) = ต้นทุนวัตถุดิบและสารเคมี = 115,081 บาทต่อเดือน
- (E) = ค่าเสื่อมราคา = 34,448 บาทต่อเดือน

* ปริมาณไข่อ้อยที่สกัด ภายใต้สภาวะความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและในเวลา 60 นาที เท่ากับ 0.81 กิโลกรัมไข่อ้อยต่อวัน

2.4.3.2 แผนภูมิการไหลค่าใช้จ่ายต่างๆ ที่จุดคุ้มทุน 5 ปี



ภาพที่ 40 แผนภูมิการไหลค่าใช้จ่ายต่างๆ (Cash flow diagram) ที่จุดคุ้มทุน 5 ปี

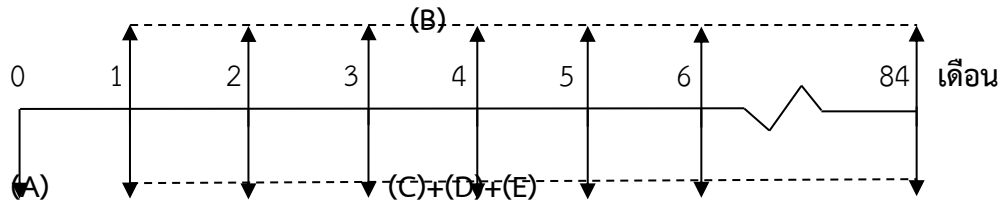
แกนนอนเป็นระยะเวลา (เดือน) ลูกศรชี้ขึ้นหมายถึงรายได้ (บาทต่อเดือน) ในขณะที่ลูกศรชี้ลงหมายถึง ต้นทุนหรือรายจ่าย (บาทต่อเดือน)

กำหนดให้

- (A) = ต้นทุนเครื่องจักรและค่าก่อสร้าง = 9,200,000 บาท
- (B) = รายได้จากการขายไข่อ้อย (บาทต่อเดือน)
= ราคาขาย (บาทต่อกิโลกรัม) $\times$ ปริมาณไข่อ้อยที่สกัดได้ (กิโลกรัมต่อเดือน)*
- (C) = ต้นทุนค่าดำเนินการและการบริหารจัดการ = 125,704 บาทต่อเดือน
- (D) = ต้นทุนวัตถุดิบและสารเคมี = 115,081 บาทต่อเดือน
- (E) = ค่าเสื่อมราคา = 34,448 บาทต่อเดือน

* ปริมาณไข่อ้อยที่สกัด ภายใต้สภาวะความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและในเวลา 60 นาที เท่ากับ 0.81 กิโลกรัมไข่อ้อยต่อวัน

2.4.3.3 แผนภูมิการไหลค่าใช้จ่ายต่างๆ ที่จุดคุ้มทุน 7 ปี



ภาพที่ 41 แผนภูมิการไหลค่าใช้จ่ายต่างๆ (Cash flow diagram) ที่จุดคุ้มทุน 7 ปี

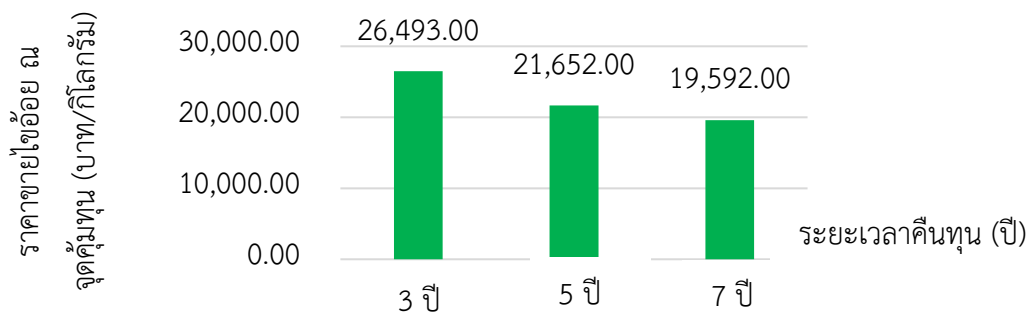
แกนนอนเป็นระยะเวลา (เดือน) ลูกศรชี้ขึ้นหมายถึงรายได้ (บาทต่อเดือน) ในขณะที่ลูกศรชี้ลงหมายถึง ต้นทุนหรือรายจ่าย (บาทต่อเดือน)

กำหนดให้

- (A) = ต้นทุนเครื่องจักรและค่าก่อสร้าง = 9,200,000 บาท
- (B) = รายได้จากการขายไข่อ้อย (บาทต่อเดือน)
= ราคาขาย (บาทต่อกิโลกรัม) $\times$ ปริมาณไข่อ้อยที่สกัดได้ (กิโลกรัมต่อเดือน)*
- (C) = ต้นทุนค่าดำเนินการและการบริหารจัดการ = 125,704 บาทต่อเดือน
- (D) = ต้นทุนวัตถุดิบและสารเคมี = 115,081 บาทต่อเดือน
- (E) = ค่าเสื่อมราคา = 34,448 บาทต่อเดือน

* ปริมาณไข่อ้อยที่สกัด ภายใต้สภาวะความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและในเวลา 60 นาที เท่ากับ 0.81 กิโลกรัมไข่อ้อยต่อวัน

เนื่องจากราคาขายไข่อ้อยมีช่วงราคาที่กว้างมากอยู่ในช่วง 35 ถึง 35,500 บาทต่อกิโลกรัม ^[21] ซึ่งราคาขายขึ้นอยู่กับต้นทุนการสกัดและความบริสุทธิ์ของไข่อ้อย งานวิจัยนี้จึงประเมินราคาไข่อ้อย ณ จุดคุ้มทุนโดยใช้ค่าผลได้ของไข่อ้อยสูงที่สุด ภายใต้สภาวะการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวดที่ความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที โดยกำหนดระยะเวลาคืนทุนที่ (Payback Period) 3 ปี 5 ปี และ 7 ปี แสดงค่าตัวแปรต่างๆเพื่อใช้หาราคาขาย ณ จุดคุ้มทุน ด้วยแผนภูมิกระแสเงินสด ภาพที่ 39-41 (ผลลัพธ์การคำนวณแสดงในภาคผนวก ก.)



ภาพที่ 42 ราคาขายไซ้ออย ญ จุดคุ้มทุน ซึ่งไซ้ออยนี้สกัดภายใต้ ที่ความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที

2.4.3.4 การคำนวณค่าเสื่อมราคา จาก Straight Line Method

$$Dn = \frac{C_0 - S}{N} \quad (2)$$

เมื่อ

D_n = อัตราเสื่อมสภาพเครื่องจักรในช่วงอายุการใช้งาน

C_0 = เงินลงทุนเครื่องจักรเริ่มต้น

S = ค่าซากเมื่อสิ้นอายุการใช้งาน

N = อายุการใช้งานของเครื่องจักร = 15 ปี

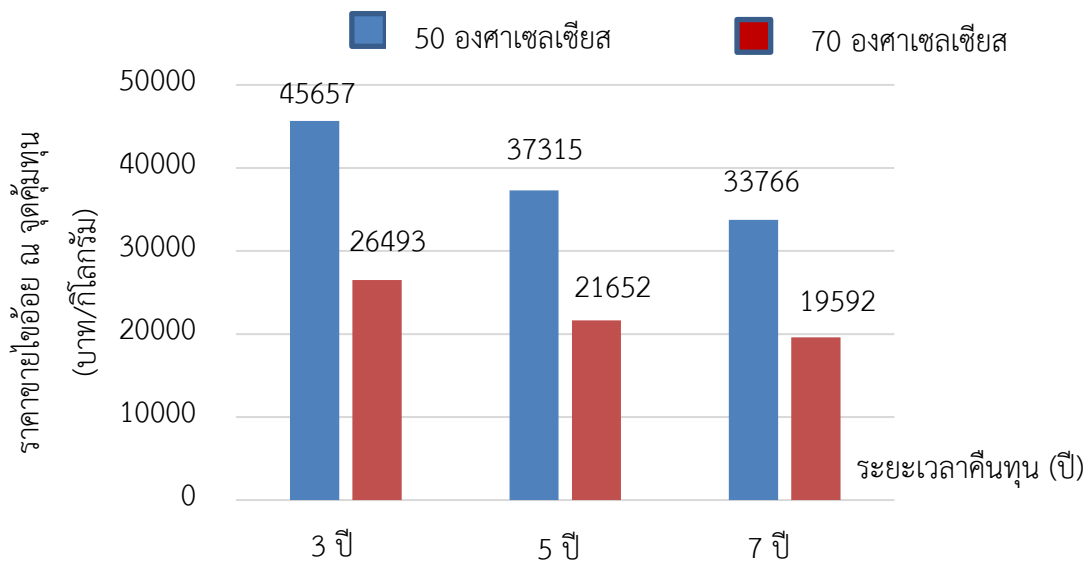
เมื่ออัตราเสื่อมสภาพเครื่องจักร = $\frac{1}{\text{Useful life}} = \frac{1}{15} = 6.67\%$ ปี

กำหนดค่าซาก เท่ากับ 20% ของค่าเครื่องจักรเริ่มต้น

เมื่อแทนค่าในสมการ (4.2) จะได้

ค่าซากของเครื่องจักร = $\frac{(8,000,000 - 8,000,000 \times 0.2)}{0.067}$
 = 426,666 บาท ต่อปี หรือเท่ากับ 34,448 บาทต่อเดือน

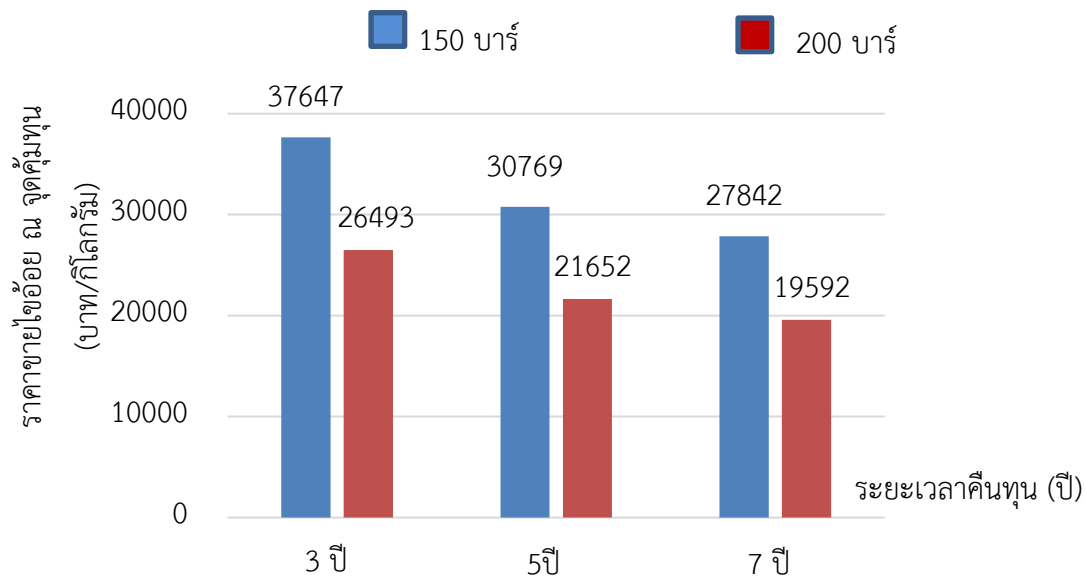
2.4.4 ผลของอุณหภูมิในถังสกัดด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดที่มีต่อราคาขาย ไซอ้อย ณ จุดคຸ້ມທຸນ



ภาพที่ 43 ความสัมพันธ์ระหว่างราคาขายไซอ้อย ณ จุดคຸ້ມທຸນ กับระยะเวลาคຸ້ມທຸນ ภายใต้ความดัน 200 บาร์ และเวลาการสกัด 60 นาที เมื่อเปรียบเทียบอุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส

เมื่อทำการศึกษาผลของอุณหภูมิในถังสกัดที่มีต่อราคาขายไซอ้อย ณ จุดคຸ້ມທຸນ พบว่า ไซอ้อยที่สกัดจากกากหม้อกรองด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ภายใต้ความดันและระยะเวลาในการสกัดเท่ากัน ที่ความดัน 200 บาร์และระยะเวลาในการสกัด 60 นาที (ดังภาพที่ 43) โดยเพิ่มอุณหภูมิ จาก 50 เป็น 70 องศาเซลเซียส จะได้ราคาของไซอ้อย ณ จุดคຸ້ມທຸນเพิ่มขึ้น 29.63%

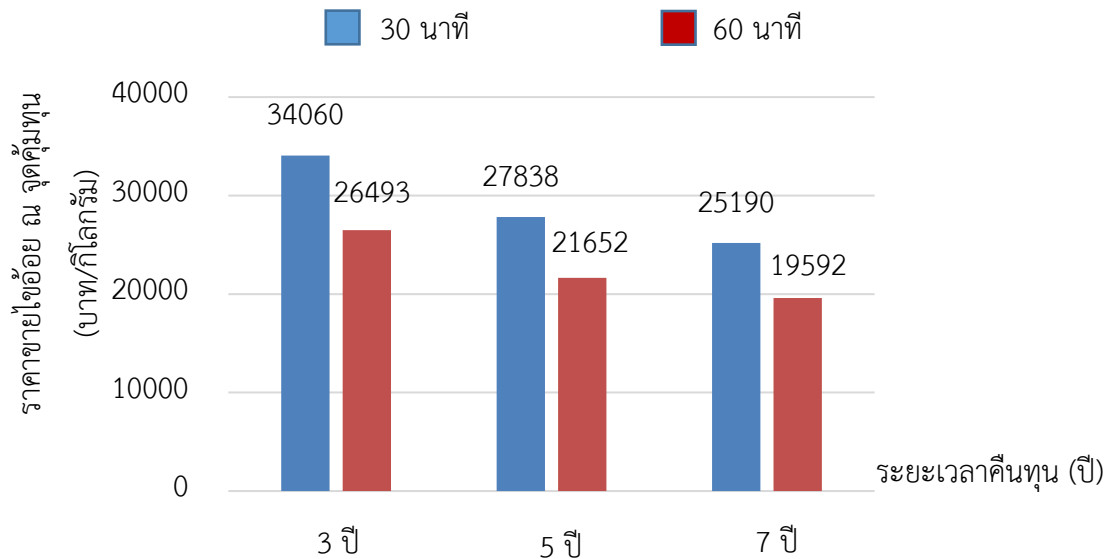
2.4.5 ผลของความดันในถังสกัดด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดที่มีต่อราคาขาย ไขอ้อย ณ จุดคຸ້ມทุน



ภาพที่ 44 ความสัมพันธ์ระหว่างราคาขายไขอ้อย ณ จุดคຸ້ມทุน กับระยะเวลาคຸ້ມทุน ภายใต้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและระยะเวลา 60 นาที เมื่อเปรียบเทียบความดัน 150 และ 200 บาร์

เมื่อทำการศึกษาผลของความดันในถังสกัดที่มีต่อราคาขายไขอ้อย ณ จุดคຸ້ມทุน พบว่า ไขอ้อยที่สกัดจากกากหม้อกรองด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ภายใต้อุณหภูมิและระยะเวลาในการ สกัดเท่ากัน ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและระยะเวลา 60 นาที (ดังภาพที่ 44) โดยเพิ่มความดัน จาก 150 บาร์เป็น 200 บาร์ จะได้ราคาของไขอ้อย ณ จุดคຸ້ມทุนลดลง 41.79%

2.4.6 ผลของระยะเวลาในการสกัดด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดที่มีต่อราคาขายไขอ้อย ณ จุดคຸ້ມທຸນ



ภาพที่ 45 ความสัมพันธ์ระหว่างราคาขายไขอ้อย ณ จุดคຸ້ມທຸນ กับระยะเวลาคຸ້ມທຸນ ภายใต้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและความดัน 200 บาร์เมื่อปรับเวลา 30 นาที

เมื่อทำการศึกษาลงของระยะเวลาสกัดที่มีต่อราคาขายไขอ้อย ณ จุดคຸ້ມທຸນ พบว่าไขอ้อยที่สกัดจากกากหม้อกรองด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ภายใต้ความดันและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ความดัน 150 บาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ดังภาพที่ 45) การเพิ่มเวลาสกัดจาก 30 นาทีเป็น 1 ชั่วโมงจะได้ราคาขายไขอ้อย ณ จุดคຸ້ມທຸນ ลดลง 41.79%

2.4.7 การประเมินความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์

ในการประเมินความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ของโครงการลงทุนสกัดไข่อ้อยจากกากหม้อกรองด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวด จะเปรียบเทียบระหว่างสองโครงการคือ (1) โครงการที่ลงทุนซื้อเครื่องสกัดเอง และ (2) โครงการเช่าเครื่องสกัด ดังนั้นจำเป็นต้องมีดัชนีทางเศรษฐศาสตร์ในการเปรียบเทียบความคุ้มค่าในการเลือกลงทุนในโครงการใดโครงการหนึ่ง

2.4.7.1 ผลตอบแทนจากการลงทุน (Return on investment, ROI)

จุดประสงค์การวิเคราะห์ต้นทุนของการลงทุนเพื่อที่จะเปรียบเทียบค่าของผลประโยชน์ที่ได้จากการลงทุนกับค่าใช้จ่ายในการพิจารณาว่าโครงการนั้นมีความคุ้มค่าแก่การลงทุนหรือไม่ จำเป็นต้องอาศัยเกณฑ์การตัดสินใจเพื่อการลงทุน โดยงานวิจัยนี้ได้ใช้เกณฑ์การวัดผลตอบแทนการลงทุนจากการสกัดไข่อ้อยเพื่อศึกษาเปรียบเทียบและประเมินรายรับและผลกำไรอย่างง่าย โดยจะวัดค่าของโครงการในรูปอัตราส่วนซึ่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของผลกำไรสุทธิจากการลงทุน ค่าตัวเลข %ROI นี้บอกให้ทราบว่า ผลกำไรสุทธิจากการลงทุนเทียบกับเงินลงทุนเริ่มต้น การใช้ ROI จะได้เป็นตัวประกอบในการตัดสินใจเนื่องจากง่ายและสะดวกในการคำนวณ สามารถบอกความเสี่ยงเบื้องต้นได้ โดยโครงการที่คืนทุนเร็วจะมีสภาพคล่อง (liquidity) สูงกว่าโครงการที่คืนทุนช้า ผลตอบแทนจากการลงทุน (Return on investment, ROI) สามารถคำนวณได้จาก สมการ (3)

$$\%ROI = \frac{(A-B)}{B} \times 100 \quad (3)$$

A = รายได้จากเงินลงทุน (Gain from investment) (บาท)

B = เงินลงทุนเริ่มต้น (Initial investment) (บาท)

ตารางที่ 18 ผลตอบแทนจากการลงทุนที่คำนวณได้จากค่าผลได้ของไข้อยู่ที่สกัดภายใต้ความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและในเวลา 60 นาทีสำหรับโครงการที่ลงทุนซื้อเครื่องสกัดเอง

ระยะเวลาคืนทุน	ROI (เปอร์เซ็นต์ต่อปี)
3 ปี	72.77
5 ปี	59.47
7 ปี	53.81

โดยจากการประเมินค่าผลตอบแทนการลงทุนที่สูงที่สุด จากระยะคืนทุนที่ 3 ปีเท่ากับ 72.77%

2.4.7.2 อัตราผลตอบแทนภายใน (Internal Rate of Return, IRR)

อย่างไรก็ตามการพิจารณาเกณฑ์จากการวัดผลตอบแทนจากการลงทุนเพียงอย่างเดียวยังมีข้อจำกัดในระยะเวลาของการได้มาซึ่งผลประโยชน์ ดังนั้นเกณฑ์ที่ปรับค่าของเวลาเป็นเกณฑ์ที่มีความสมเหตุสมผลมากกว่า เพราะได้พิจารณาหักลดค่าของเงินในแต่ละปีตลอดอายุโครงการมาไว้ ณ เวลาเดียวกันคือเวลาปัจจุบัน โดยพิจารณาจากอัตราผลตอบแทนต่ำสุดที่น่าสนใจในการลงทุน (Minimum Attractive Rate of Return, MARR) เท่ากับ 10% เป็นอัตราผลตอบแทนที่คาดว่าจะได้รับ เมื่อมีการลงทุนโครงการ โดยใช้ค่านี้มาช่วยในการตัดสินใจเลือกทางเลือกในการลงทุน โดยจะตัดสินใจลงทุนก็ต่อเมื่ออัตราผลตอบแทนภายใน (Internal Rate of Return, IRR) มาสูงกว่าหรือเท่ากับค่า MARR

อัตราผลตอบแทนภายใน (Internal Rate of Return, IRR) สามารถคำนวณด้วยสมการ (4)

$$NPV = 0 = -C_0 + \sum_{i=1}^n \frac{C_i}{(1+r^*)^i} \tag{4}$$

- เมื่อ
- C_0

=

เงินลงทุนเริ่มต้น (บาท)

C

=

มูลค่าปัจจุบันของกระแสเงินปัจจุบันในเดือนที่ 1 ถึง (เดือนสุดท้าย)

ของโครงการ (เดือนที่ n) (บาท)

r^*

=

อัตราผลตอบแทนภายใน (% per month)

i

=

ระยะเวลา (เดือน)

ตารางที่ 19 เปรียบเทียบราคาขายของไข่อ้อย ณ จุดคุ้มทุน เมื่อประเมินที่อัตราผลตอบแทนเท่ากับ อัตราดอกเบี้ยเงินกู้และอัตราผลตอบแทนการลงทุนขั้นต่ำ สำหรับโครงการที่ลงทุนซื้อเครื่องสกัดเอง

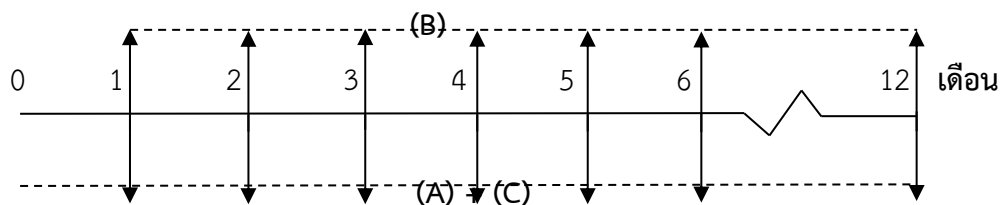
ราคาขาย ไข่อ้อย ณ จุดคุ้มทุน	IRR (6.88 %ต่อ ปี)		MARR (10% ต่อ ปี)		% เปลี่ยนแปลง*
	บาท/กิโลกรัม	บาท/กรัม	บาท/กิโลกรัม	บาท/กรัม	
ระยะเวลา คืนทุน 3 ปี	26,493	26.5	27,050	27.05	+3.63
ระยะเวลา คืนทุน 5 ปี	21,652	21.6	22,230	22.23	+2.83
ระยะเวลา คืนทุน 7 ปี	19,592	19.6	20,200	22.20	+11.7

*เมื่อคำนวณเปรียบเทียบราคาขายของไข่อ้อย ณ จุดคุ้มทุน เมื่อประเมินที่อัตราผลตอบแทนเท่ากับ อัตราดอกเบี้ยเงินกู้เทียบกับราคาขาย ณ จุดคุ้มทุน เมื่อประเมินที่อัตราผลตอบแทนการลงทุนขั้นต่ำ

เมื่อกำหนดราคาขายไข่อ้อยเท่ากับราคาในท้องตลาดคือ 6,000 บาท ต่อกิโลกรัม ^[21] ซึ่งไข่อ้อยที่ขายในราคาท้องตลาดนี้ไม่ระบุวิธีการสกัดหรือความบริสุทธิ์ สามารถคำนวณหาอัตราผลตอบแทนภายใน (r^*) โดยใช้สมการที่ (4.4) โดยกำหนดระยะเวลาคืนทุนต่างกัน 3 ปี 5 ปี และ 7 ปี ได้ผลลัพธ์ค่า r^* เท่ากับ 2.8% ต่อปี, 2.6% ต่อปี และ 0.5% ต่อปี ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าอัตราผลตอบแทนจากการลงทุนขั้นต่ำคือ 10% ดังนั้นไข่อ้อยที่สกัดด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวด จึงไม่สามารถตั้งราคาขายไข่อ้อยได้ที่ 6,000 บาท ต่อกิโลกรัมได้ แต่ขอได้เปรียบของไข่อ้อยที่สกัดด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวดมีความบริสุทธิ์สูง จัดเป็นเกรดอาหารและยาได้

จากผลการคำนวณราคาขายไข่อ้อย ณ จุดคุ้มทุน สำหรับโครงการที่ลงทุนซื้อเครื่องสกัดเอง ประกอบกับค่า ROI และ IRR จะเห็นได้ว่าไม่น่าลงทุน

งานวิจัยนี้จึงเสนออีกทางเลือกหนึ่งคือโครงการเช่าเครื่องสกัดไข่อ้อยด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ยิ่งยวด โดยจะพิจารณาราคาขายไข่อ้อย ณ จุดคุ้มทุน เมื่อกำหนดระยะเวลาคืนทุนเท่ากับ 12 เดือน (ดังแสดงกระแสเงินสดในภาพที่ 46 และผลการคำนวณแสดงในตารางที่ 20



ภาพที่ 46 แผนภูมิการไหลค่าใช้จ่ายต่างๆ จากการเช่าเครื่อง(Cash flow diagram) ณ จุดคุ้มทุน เมื่อกำหนดระยะเวลาคืนทุนเท่ากับ 12 เดือน

แกนนอนเป็นระยะเวลา (เดือน) ลูกศรชี้ขึ้นหมายถึงรายได้ (บาทต่อเดือน) ในขณะที่ลูกศรชี้ลงหมายถึง ต้นทุนหรือรายจ่าย (บาทต่อเดือน) กำหนดให้

- | | | |
|---|---|--|
| A | = | ค่าเช่าเครื่อง (บาทต่อเดือน) |
| B | = | รายได้จากการขายไข่อ้อย (บาทต่อเดือน) |
| C | = | ต้นทุนวัตถุดิบและสารเคมี [บาทต่อเดือน] |

ตารางที่ 20 กระแสเงินสดปัจจุบันจากการเช่าเครื่องที่จุดคຸ່ມทุนภายใน 12 เดือน

เดือนที่ (n)	ต้นทุนดำเนินงานรวม (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน, บาท)	รายได้จากขายไข่อ้อย (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน, บาท)	ค่าปัจจุบันของ เงินรวม (บาท)
1	-233,387	233,388	0.25
2	-220,288	220,288	0.48
3	-207,924	207,925	0.70
4	-196,255	196,255	0.90
5	-185,240	185,240	1.10
6	-174,843	174,843	1.28
7	-165,030	165,030	1.45
8	-155,767	155,767	1.62
9	-147,025	147,025	1.77
10	-138,773	138,773	1.92
11	-130,984	130,984	2.06
12	-123,633	123,633	2.19

ในกรณีไม่มีการลงทุนค่าเครื่องจักรแต่เป็นการเช่าเครื่องแทน เมื่อทำการคำนวณจะได้ราคาขายไข่อ้อย ณ จุดคຸ່ມทุน เท่ากับ 11.74 บาทต่อกรัม เมื่อกำหนดระยะเวลาคຸ່ມทุนเท่ากับ 12 เดือน เมื่อเปรียบเทียบกับราคาขายไข่อ้อยในท้องตลาดมีช่วงราคาที่กว้างมากอยู่ในช่วง 0.35 ถึง 35.5 บาทต่อกรัม^[21] ขึ้นอยู่กับความบริสุทธิ์ จึงเห็นได้ว่าโครงการเช่าเครื่องสกัดนำลงทุน เนื่องจากมีศักยภาพในการแข่งขัน เนื่องจากไข่อ้อยที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดจะมีความบริสุทธิ์สูงจัดเป็นเกรดอาหารและยาได้

2.5 สรุปผลการวิจัย

สรุปผลการวิเคราะห์ต้นทุนสำหรับการสกัดไขอ้อยด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดระดับนำร่อง มีดังต่อไปนี้

1. สภาวะการสกัดไขอ้อยด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดภายใต้ความดัน 200 บาร์ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและภายในเวลาสกัด 60 นาที ได้น้ำหนักไขอ้อยสูงที่สุดเท่ากับ 137.43 กรัมไขอ้อยต่อกากหม้อกรอง 10 กิโลกรัม

2. ค่าผลได้ของไขอ้อยแปรผันตามค่าตัวแปรสภาวะในการสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ได้แก่ อุณหภูมิ, ความดันและระยะเวลาในการสกัด และเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าผลได้ไขอ้อยมากที่สุด ในขณะที่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัด มีผลต่อเพิ่มขึ้นของค่าผลได้ไขอ้อยน้อยที่สุด

3. ผลการศึกษาวิเคราะห์ต้นทุนและความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ สำหรับโครงการลงทุนซื้อเครื่องจักรเองในการสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด เมื่อกำหนดระยะเวลาคืนทุน ที่ 3 ปี 5 ปี และ 7 ปี ผลการประเมินราคาขายไขอ้อย ณ จุดคุ้มทุน เท่ากับ 26.49, 21.65 และ 19.59 บาทต่อกรัมไขอ้อยตามลำดับ และได้ผลตอบแทนการลงทุนจากระยะเวลาคืนทุนที่ 3 ปี 5 ปี และ 7 ปี เท่ากับ 72.77%, 59.47% และ 53.81% ตามลำดับ และอัตราผลตอบแทนภายในจากระยะเวลาคืนทุน ที่ 3 ปี 5 ปี และ 7 ปีได้เท่ากับ 2.8% ต่อปี, 2.6% ต่อปี และ 0.5% ต่อปีตามลำดับ ซึ่งได้ต่ำกว่าอัตราผลตอบแทนจากการลงทุนขั้นต่ำคือ 10% จึงไม่น่าลงทุนในโครงการซื้อชุดเครื่องสกัดเอง

4. สำหรับโครงการลงทุนซื้อชุดสกัดเอง ราคาขาย ไขอ้อย ณ จุดคุ้มทุน แปรผันตามค่าตัวแปรสภาวะในการสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ได้แก่ อุณหภูมิ, ความดันและระยะเวลาในการสกัด และเมื่อเพิ่มความดันในการสกัดมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของราคาขาย ไขอ้อย ณ จุดคุ้มทุนมากที่สุด ในขณะที่การเพิ่มขึ้นอุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัด มีผลต่อเพิ่มขึ้นของราคาขาย ไขอ้อย ณ จุดคุ้มทุน ใกล้เคียงกัน

5. ผลการศึกษาวิเคราะห์ต้นทุนและความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ สำหรับโครงการเช่าเครื่องสกัดพบว่าราคาขายเท่ากับ 11.74 บาทต่อกรัม ซึ่งน่าลงทุนในโครงการเช่าเครื่องจักร เพราะสามารถตั้งราคาขายให้แข่งขันกับราคาตลาดได้

2.6 ข้อเสนอแนะ

1. ต้องสกัดกากหม่องกรองซ้ำ ณ สภาวะการสกัดเดิม อีกครั้งเพื่อเพิ่มผลได้ของไขอ้อยต่อกากหม่องกรอง
2. ควรออกแบบระบบท่อให้มีข้อต่อน้อยที่สุดและลดความยาวของท่อเพื่อลดแรงดันตกคร่อมในระบบ
3. ควรทำการสกัดที่อุณหภูมิสูงกว่า 75 to 80 °C ซึ่งเป็นจุดหลอมเหลวของไข ซึ่งจะช่วยให้ได้ผลสกัดที่ดีขึ้น

2.7 เอกสารอ้างอิง

- [1] Sibel Irmak, Nurhan Turgut Dunford and Jeff Milligan, *Policosanol contents of beeswax, sugar cane and wheat extracts*. Food Chemistry 95, 2006: 312–318.
- [2] Dunford Nurhan, Turgut Irmak Sibel and Jonnala Ramakanth, *Pressurised solvent extraction of policosanol from wheat straw, germ and bran*. Food chemistry v.119 no.3, 2010: 1246-1249.
- [3] Policosanol Monograph, *Alternative Medicine Review*, Volume 9, Number 3, 2004: 312-317.
- [4] Cesare da Sesto, Muhammed Majeed and Lakshimi Prakash, *A double-blind study to evaluate the safety and efficacy of policosanol vs. atorvastatin in the treatment of hyperlipidaemia*, Milano Italy, Nutraceuticals July/August 2007 :16-19.
- [5] Gouni I. Berthold and Berthold H. K., *Policosanol/clinical pharmacology and therapeutic significance of a new lipid-lowering agent*, American Heart Journal, 2002 :143, 356–365.
- [6] การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี ฟิสิกส์และจุลชีววิทยาของ Filter Press Cake จากโรงงานน้ำตาลในประเทศไทย ระยะที่ 1-2, <http://www.kmutt.ac.th/rippc/precake.htm>, [อินเทอร์เน็ต], สืบค้นเมื่อ 23 พฤษภาคม 2559.
- [7] ข้อมูลธาตุอาหารต่างๆในกากหมักกรองเก่าและใหม่, <http://writer.dek-d.com/ded/writer/viewlongc.php?id=443325&chapter=6>, [อินเทอร์เน็ต], สืบค้นเมื่อ 23 พฤษภาคม 2559.
- [8] กระบวนการผลิตน้ำตาลในโรงงานน้ำตาล, <http://processflowsheets.blogspot.com>, [อินเทอร์เน็ต], สืบค้นเมื่อ 8 เมษายน 2559.
- [9] Valdes S. Arruzazabala MI, Fernandez L. et al., *Effect of policosanol on platelet aggregation in Healthy volunteers*, Int J Clin Pharmacol Res, 1996 :16, 67-72.
- [10] Muhammed Majeed and Lakshmi Prakash. *Policosanol natural healthful from the inside and out*, Sabinsa Corporation, 2007.
- [11] การสกัดน้ำมันหอมระเหย, <http://www.aromahub.com/th/articles-thai/25-essential-oil-articles/91-2014-11-12-11-47-15>, [อินเทอร์เน็ต], สืบค้นเมื่อ 26 กรกฎาคม 2559.

- [12] จิราภรณ์ พิงธรรม, กรณ์กนก อายุสุข, คณิศา กิตติรัตน์ไพบุลย์, นฤมล จียโชค และ คณิต กฤษณังกูร, *การสกัดการทำให้บริสุทธิ์และการวิเคราะห์องค์ประกอบของโพลีโคซานอลจากไขรำข้าวของไทย*, วารสารวิจัยและพัฒนา มจร. ปีที่ 31 ฉบับที่ 2, 2551.
- [13] พุทธชาติ แก้วแดง, *การทำไขรำข้าวอุตสาหกรรมให้บริสุทธิ์*, วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี.
- [14] ปัทมา น้ำทองคำ, *การเตรียมไขรำข้าวบริสุทธิ์*, วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี.
- [15] Shiyi Ou, Jian Zhao, Yong Wang and Ye Tian and Jiong Wang, *Preparation of octacosanol from filter mud produced after sugarcane juice clarification*, Food Science and Technology Vol.45, 2012, :295-298.
- [16] CO₂ Pressure- Temperature phase diagram, http://hub.globalccsinstitute.com/publications/co2-liquid-logistics-shipping-concept-llsc-overall-supply-chain-optimization/53-co2#fig_024, [อินเทอร์เน็ต], สืบค้นเมื่อ 25 กรกฎาคม 2559.
- [17] บริษัท ไนโซ จำกัด แผนกเครื่องสกัดสาร, <http://www.nichomachine.com>, [อินเทอร์เน็ต], สืบค้นเมื่อ 20 มีนาคม 2559.
- [18] สำนักงานคณะกรรมการหลักทรัพย์และตลาดหลักทรัพย์, *ภาคผนวก 1 มาตรฐานและจรรยาบรรณวิชาชีพ, การประเมินมูลค่าโรงงานและเครื่องจักรอุปกรณ์*.
- [19] ธนาคารพัฒนาวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อมแห่งประเทศไทย, *อัตราดอกเบี้ยสินเชื่อ*, <http://www.smebank.co.th>, [อินเทอร์เน็ต], สืบค้นเมื่อ 25 เมษายน 2559.
- [20] Chan Park, *Contemporary Engineering Economics*, 2nd edition, Prentice Hall c2007, Addition Wesley Longman, 375-377.
- [21] ราคาขายไขอ้อยในปัจจุบัน, <https://www.alibaba.com/showroom/sugarcane-wax.html>, [อินเทอร์เน็ต], สืบค้นเมื่อ 23 กรกฎาคม 2559.

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยย่อยที่ 2

การพัฒนาผลิตภัณฑ์พอลิโคซานอลเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาด้วยเทคนิค
การควบคุมการปลดปล่อยระดับนาโน
Development of Policosanol Product for Food and
Pharmaceuticals Industry by Nano-Controlled Release Technology

คณะผู้วิจัย
ดร.อิสรา สระมาลา
ดร.กิตติวุฒิ เกษมวงศ์
ดร.นางสาวธีรารัตน์ อธิธิโสภณกุล
นางสาววิชชุดิ ปิ่นเกตุ

เมษายน 2560

โครงการวิจัยย่อยที่ 2

การพัฒนาผลิตภัณฑ์พอลิโคซานอลเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาด้วยเทคนิคการควบคุม การปลดปล่อยระดับนาโน

บทนำ

สารที่มีมูลค่าที่แยกได้จากไขอ้อยคือ fatty alcohol ในกลุ่ม policosanol (policosanol) ซึ่งเป็นชื่อสามัญที่อ้างอิงถึงสารผสมของ long chain aliphatic primary alcohols (จำนวนคาร์บอนอะตอมอยู่ระหว่าง 20-36 คาร์บอนอะตอม) โดยที่ส่วนประกอบหลักของสารผสมนี้จะประกอบด้วย docosanol (C₂₂) tetracosanol (C₂₄) hexacosanol (C₂₆) octacosanol (C₂₈) และ triacontanol (C₃₀) ปัจจุบันได้มีรายงานบทบาทของ policosanol ในการปกป้องและบำบัดโรคหัวใจ แสดงให้เห็นว่าสามารถลดการจับตัวเป็นก้อนตกตะกอน ลดการถูกทำลายของเยื่อและลดการเกิด foam cell และยังมีการศึกษาประสิทธิผลของ policosanol ในการเป็นสารลดไขมัน (lipid-lowering agent) ในกลุ่มตัวอย่างต่างๆ กันจากการทดลองในระดับ *in vivo* นอกจากนั้นผลการทดสอบทั้ง *in vivo* และ *in vitro* ยังแสดงให้เห็นว่า สาร policosanol ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ร่างกาย หรือเซลล์สืบพันธุ์ และในการศึกษาระดับ clinical ในระยะยาว ยืนยันว่า policosanol มีความปลอดภัยสูง ส่งผลให้ ณ ปัจจุบัน policosanol มีการจำหน่ายเชิงพาณิชย์กันอย่างแพร่หลายในประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งมักอยู่ในรูปผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ได้รับการอนุญาตโดย US-FDA

โครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาระบบวิธีในการแยกสาร policosanol จากไขอ้อยหรือ sugar cane waxes ที่แยกสกัดได้จากกากหม้อกรองซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานน้ำตาลให้ได้ทั้งปริมาณและความบริสุทธิ์ที่สูงอยู่ในมาตรฐานที่สามารถนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงได้ และสามารถขยายปริมาณการผลิตให้นำไปใช้ได้จริง ดังนั้นการศึกษาวิจัยในโครงการนี้จึงมุ่งเน้นที่จะทำการศึกษาการสกัด policosanol จากกากหม้อกรองและการทำให้มีความบริสุทธิ์สูงขึ้นเพื่อให้เหมาะกับการนำไปใช้ในรูปแบบผลิตภัณฑ์อาหารเสริม ตลอดจนการจัดทำข้อกำหนดเพื่อควบคุมคุณภาพ และทำการประเมินต้นทุนของการผลิต policosanol เพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริม นอกจากนั้นทีมผู้วิจัยยังมีความสนใจในการศึกษาถึงทางเลือกในการสร้างมูลค่าเพิ่มมากขึ้นของ policosanol ด้วยการประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีสำหรับควบคุมการปลดปล่อยของสาร

policosanol ซึ่งจะก่อให้เกิดการแปรรูปเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์นวัตกรรมที่สามารถผลิตได้ในเชิงพาณิชย์

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยที่ 2

1. เพื่อพัฒนากระบวนการสกัดสาร policosanol จากไขอ้อยซึ่งแยกได้จากกากหม้อ โดยศึกษาวิจัยการสกัดไขอ้อยโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือวิกฤต รวมทั้งทำการพัฒนากรรมวิธีการเพิ่มความบริสุทธิ์ของสาร policosanol ในไขอ้อยให้มีสัดส่วนและปริมาณสูงมากขึ้นด้วยกระบวนการทางเคมี
2. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบ policosanol ในรูปของผลิตภัณฑ์อาหารเสริม โดยทำการขึ้นรูป policosanol ในรูปของสูตรตำรับที่มีวัสดุตัวพาชนิดควบคุมการปลดปล่อย เพื่อให้มีการปลดปล่อยสาร policosanol ออกมาในระดับที่มีผลทางเภสัชวิทยา รวมไปถึงการทดสอบขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์ policosanol ชนิดเม็ดในระดับกึ่งอุตสาหกรรม

บทที่ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของเรื่อง

หนึ่งในสารที่มีมูลค่าที่แยกได้จากไขอ้อยคือ fatty alcohol ในกลุ่ม policosanol (policosanol) ซึ่งเป็นชื่อสามัญที่อ้างอิงถึงสารผสมของ long chain aliphatic primary alcohols (จำนวนคาร์บอนอะตอมอยู่ระหว่าง 20-36 คาร์บอนอะตอม) โดยที่ส่วนประกอบหลักของสารผสมนี้จะประกอบด้วย docasanol (C₂₂) tetracosanol (C₂₄) hexacosanol (C₂₆) octacosanol (C₂₈) และ triacontanol (C₃₀) ปัจจุบันได้มีรายงานบทบาทของ policosanol ในการปกป้องและบำบัดโรคหัวใจ แสดงให้เห็นว่าสามารถลดการจับตัวเป็นก้อนตกตะกอน ลดการถูกทำลายของเยื่อและลดการเกิด foam cell และยังมีการศึกษาประสิทธิผลของ policosanol ในการเป็นสารลดไขมัน (lipid-lowering agent) ในกลุ่มตัวอย่างต่างๆ กันจากการทดลองในระดับ *in vivo* นอกจากนั้นผลการทดสอบทั้ง *in vivo* และ *in vitro* ยังแสดงให้เห็นว่า สาร policosanol ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ร่างกายหรือเซลล์สืบพันธุ์ และในการศึกษาระดับ clinical ในระยะยาว ยืนยันว่า policosanol มีความปลอดภัยสูง ส่งผลให้ ณ ปัจจุบัน policosanol มีการจำหน่ายเชิงพาณิชย์กันอย่างแพร่หลายในประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งมักอยู่ในรูปผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ได้รับการอนุญาตโดย US-FDA

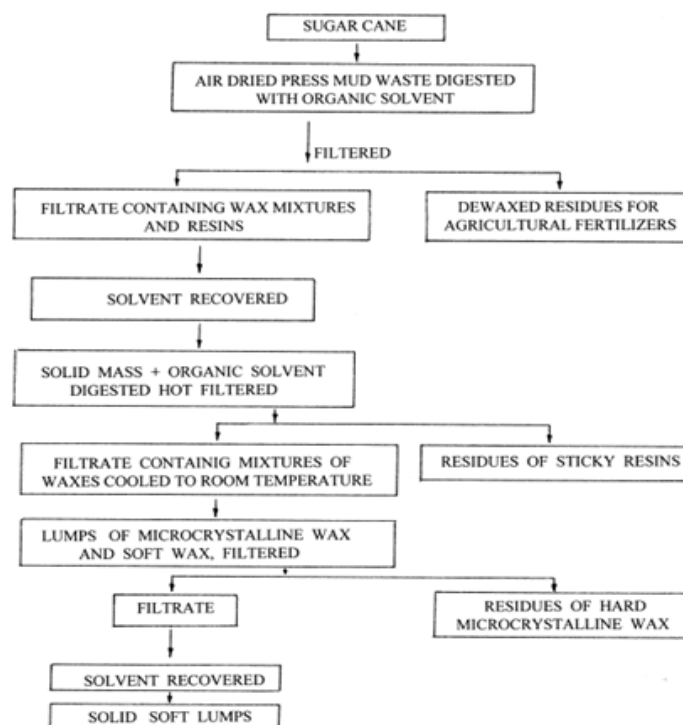
โครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการพัฒนากรรมวิธีในการแยกสาร policosanol จากไขอ้อยหรือ sugar cane waxes ที่แยกสกัดได้จากกากหม้อกรองซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานน้ำตาลให้ได้ทั้งปริมาณและความบริสุทธิ์ที่สูงอยู่ในมาตรฐานที่สามารถนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงได้ และสามารถขยายปริมาณการผลิตให้นำไปใช้ได้จริง ดังนั้นการศึกษาวิจัยในโครงการนี้จึงมุ่งเน้นที่จะทำการศึกษากการสกัด policosanol จากกากหม้อกรองและการทำให้มีความบริสุทธิ์สูงขึ้นเพื่อให้เหมาะกับการนำไปใช้ในรูปแบบผลิตภัณฑ์อาหารเสริม ตลอดจนการจัดทำข้อกำหนดเพื่อควบคุมคุณภาพ และทำการประเมินต้นทุนของการผลิต policosanol เพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริม นอกจากนั้นทีมผู้วิจัยยังมีความสนใจในการศึกษาถึงทางเลือกในการสร้างมูลค่าเพิ่มมากขึ้นของ policosanol ด้วยการประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีสำหรับควบคุมการปลดปล่อยของสาร policosanol ซึ่งจะก่อให้เกิดการแปรรูปเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์นวัตกรรมที่สามารถผลิตได้ในเชิงพาณิชย์

1.2 ทบทวนวรรณกรรม

โดยทั่วไปแล้ว ประโยชน์โดยตรงของอ้อยคือ การนำเอาไปผลิตเป็นน้ำตาลทราย ซึ่งน้ำตาลทรายที่ผลิตแบ่งเป็น น้ำตาลทรายดิบ (ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นน้ำตาลทรายขาว และขาวบริสุทธิ์) น้ำตาลทรายขาว และน้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์ นอกนั้นก็จะมีน้ำตาลทรายแดง น้ำตาลกรวด น้ำตาลบีบ (อาจผลิตจากมะพร้าว) จากกระบวนการผลิตน้ำตาลก็จะมีผลพลอยได้เกิดขึ้นมากมาย เช่น กากอ้อย (ใช้เป็นเชื้อเพลิงในการผลิตทำ particle board เพื่อนำไปทำเฟอร์นิเจอร์ เป็นเชื้อเพลิงในการผลิตกระแสไฟฟ้า) กากน้ำตาล (ใช้ผลิต สุรา เบียร์ ซีอิ๊ว แอลกอฮอล์) กากหม้อกรอง (filter cake) ใช้ผลิตปุ๋ยชีวภาพ และปัจจุบันยังมีการนำอ้อยมาผลิตเป็นเชื้อเพลิงเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทน (ethanol) นอกจากนี้ ยังสามารถนำผลพลอยได้ไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆอีกมาก ทั้งในด้านเครื่องสำอาง ยา

กระบวนการผลิตน้ำตาลทรายจากอ้อยของโรงงานต่างๆ ไป ประกอบด้วยขั้นตอน 5 ขั้นตอนหลัก คือ การเตรียมอ้อย การหีบสกัด การทำใส่น้ำอ้อย การต้มเคี่ยวน้ำตาลให้ตกผลึก การปั่นแยกน้ำตาลและทำให้แห้ง (แสดงในภาพที่ 1.1) โดยสามารถอธิบายพอสังเขปคือ กระบวนการผลิตน้ำตาลเริ่มจากการรับอ้อยเข้าโรงงาน มีการชั่งน้ำหนักอ้อยโดยขาเข้าจะชั่งน้ำหนักรวมทั้งรถบรรทุก เมื่อเทอ้อยออกแล้ว อ้อยจะถูกลำเลียงไปตามสายพานอ้อย นำไปผ่านชุดใบมีดฟันอ้อยซึ่งจะตัดอ้อยเป็นท่อนเล็กๆ แล้วผ่านไปยังค้อนทุบอ้อยหรือเครื่องย่อยอ้อย (shredder) ซึ่งจะย่อยอ้อยเป็นชิ้นเล็กๆ เพื่อให้เหมาะกับการหีบอ้อยที่จะทำให้สามารถสกัดน้ำอ้อยได้มากที่สุด จากนั้นนำไปเข้าสู่ชุดลูกหีบ ซึ่งอาจจะมีตั้งแต่ 4 ถึง 6 ชุด เพื่อให้สามารถสกัดน้ำอ้อยจากกากอ้อยได้มากที่สุดในระหว่างการหีบจึงมีการพรมน้ำร้อนลงไป ทั้งนี้ต้องควบคุมปริมาณน้ำที่ใช้พรมด้วย น้ำอ้อยที่ได้จากชุดลูกหีบเรียกว่า น้ำอ้อยรวม (mixed juice) ซึ่งจะมีความสกปรกสูงมีสีคล้ำขุ่น และมีค่า pH ประมาณ 5.5 จึงต้องนำไปผ่านกระบวนการทำใส (clarification) ซึ่งถ้าจะทำใสน้ำอ้อยรวมเพื่อผลิตน้ำตาลทรายดิบ ก็จะต้องผ่านสู่ขั้นตอนการตกตะกอนด้วยด่างที่เรียกว่า defecation process เมื่อนำไปตกตะกอนและกรองจะได้กากตะกอน (filter cake หรือ press mud) และน้ำอ้อยใส น้ำอ้อยใสที่ได้ต้องนำไปต้มภายในสถานะสุญญากาศ เพื่อไล่น้ำออกให้ได้น้ำเชื่อมที่มีความเข้มข้นประมาณ 60 Brix (ค่าความหวานเป็นร้อยละของของแข็งที่ละลายอยู่ในน้ำอ้อย) จากนั้นนำไปต้มเคี่ยวเพื่อให้ตกผลึกเป็นน้ำตาลทราย การตกผลึกน้ำตาลทรายนั้นต้องใช้ในการล่อผลึก (seeding) เมื่อเลี้ยงผลึกจนได้ขนาดเม็ดน้ำตาลตามข้อกำหนดแล้วนำไปปั่น (centrifugation) จะได้น้ำตาลทรายและกากน้ำตาลออกมา น้ำตาลทรายที่ได้ยังมีความชื้น จึงต้องนำไปอบแห้งต่อ จากนั้นนำไปบรรจุหรือเทกองรวมไว้ในโกดังน้ำตาลก่อนบรรจุขาย

ในขั้นตอนของกระบวนการปั่น (grinding process) ส่วนของ wax จะปนอยู่ในน้ำอ้อยซึ่งจะถูกแยกออกไปโดยการกรองในขั้นตอนการทำให้ใส Phukan และ Boruah (1999) ได้นำเสนอวิธีการสกัด wax จากกากหม้อกรองของอุตสาหกรรมน้ำตาลด้วยวิธีการแยกด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ และผลจากการศึกษาพบว่าสามารถแยกปริมาณ hard wax ได้ร้อยละ 3.5 - 4.1 นอกจากนั้นคณะผู้วิจัยนี้ยังได้เสนอแนะว่าวิธีการสกัด wax ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์มีข้อดี คือ สามารถลดการใช้กรดแก่ซึ่งก่อให้เกิดมลภาวะได้ ในขณะที่การศึกษาของ Martinez และคณะ (2002) นำเสนอวิธีการศึกษาองค์ประกอบของกากหม้อกรองด้วยวิธีการทางเคมีต่าง เช่น การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ การย่อยสลายด้วยด่าง (saponification) เป็นต้น



ภาพที่ 1.1 แผนผังการสกัด wax และการแยก microcrystalline wax จากกากหม้อกรองจากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาล

ที่มา: Phukan and Boruah (1999)

โดยปกติแล้วทางอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลในประเทศไทยจะนำกากหม้อกรองที่ได้ไปใช้ประโยชน์เป็นปุ๋ย จากการศึกษาเบื้องต้นโดยที่มีการศึกษาองค์ประกอบไขอ้อยจากกากตะกอนหม้อกรองพบว่า ไขอ้อยมีองค์ประกอบของ fatty alcohol ที่อยู่ในกลุ่มของ policosanol ประมาณร้อยละ 10 โดยน้ำหนักของไขที่แยกได้ เมื่อประเมินปริมาณของ policosanol ที่ไม่ได้นำมาใช้ประโยชน์

หรือไม่เกิดการสร้างมูลค่าเพิ่ม มีการสูญเสียปริมาณมากกว่า 10,000 ตันต่อปี ในปัจจุบัน (2557) ราคาของ policosanol ในตลาดโลกอยู่ที่ 2,000-4,000 บาทต่อกิโลกรัม และเมื่อขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์ถึงมือผู้บริโภคแล้วจะมีราคาประมาณ 3-10 บาทต่อหนึ่งหน่วยบริโภค 20 mg ของ policosanol หรือประมาณ 150,000-500,000 บาทต่อกิโลกรัมของ policosanol และเมื่อประเมินมูลค่าของการสูญเสียโดยคำนึงถึงศักยภาพของการนำไปใช้ประโยชน์ พบว่า ในแต่ละปีในอุตสาหกรรมน้ำตาลของประเทศมีพอลิโคซานอลที่ทิ้งไปโดยไม่ได้นำมาใช้ประโยชน์ถึง 10 ล้านกิโลกรัม คิดเป็นศักยภาพในการสร้างมูลค่าถึง 1.5-5 ล้านบาท

จากโครงการศึกษาความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ของไข่อ้อยที่เสร็จสิ้นไปก่อนหน้านี้ พบว่าไข่อ้อยจากกากตะกอนหม้อกรอง น่าจะเป็นแหล่งวัตถุดิบตั้งต้นสำหรับการสกัดแยกไข่อ้อยและสารที่เป็นองค์ประกอบชนิดต่างๆ เพื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้น เนื่องจากไข่อ้อย มีคุณสมบัติที่ใกล้เคียงกับไขของปาล์มคาร์นุบา (carnauba wax) ที่มีการนำไปใช้ประโยชน์หลากหลายในอุตสาหกรรมต่างๆ ในรูปแบบผลิตภัณฑ์เพื่อใช้ในการขัดเงา เคลือบผิววัตถุหรือวัสดุ กระดาษคาร์บอน สี เคลือบผิวกระป๋องบรรจุอาหาร เป็นต้น (Phukan and Boruah, 1999) องค์ประกอบที่พบในไข่อ้อยที่มีการนำไปผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีการจำหน่าย คือ fatty alcohol, fatty acids และ phytosterols โดยถูกนำไปใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร โดยมีสรรพคุณสามารถลดปริมาณของคอเลสเตอรอลในเลือดได้ และยังใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและยาอีกด้วย (Martínez et al., 2002) จากข้อมูลการวิจัยและองค์ความรู้ในแง่องค์ประกอบทางเคมีของไข่อ้อยที่ผ่านมา พบว่า ในไข่อ้อยจะมีส่วนของสารประกอบที่มีมูลค่าเชิงเศรษฐศาสตร์อยู่หลายชนิดด้วยกันซึ่งสารประกอบที่มีมูลค่าสูงและมีการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์แล้วคือ policosanol

เทคโนโลยีที่ใช้ในการสกัดไขในปัจจุบันนี้ ยังใช้ตัวทำละลายเป็นสารเคมีหลักในการสกัดอุตสาหกรรมสกัดไข่อ้อย ที่มีการดำเนินงานอยู่ขณะนี้ จะเป็นโรงงานที่นำเอากากหม้อกรอง (filter cake) ที่ได้หลังจากกระบวนการทำใส่น้ำอ้อยมาใช้เป็นวัตถุดิบ Phukan และ Boruah (1999) ได้ใช้ carbon tetrachloride (CCl₄) เป็นตัวทำละลายเพื่อใช้สกัดไข่อ้อยจากกากหม้อกรอง (ตารางที่ 1.1) ซึ่งพบว่าการใช้ carbon tetrachloride (suggested method) จะให้ประสิทธิภาพการสกัดดีกว่าการใช้ toluene (conventional method) การศึกษาของ Partha และ Sivasubramanian (2006) ได้ทดลองสกัดไข่อ้อยจากกากหม้อกรองด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ benzene toluene และ hexane และพบว่า hexane สามารถสกัดไข่อ้อยออกจากกากหม้อกรองได้มากกว่าการใช้ benzene และ toluene เป็นตัวทำละลาย

ตารางที่ 1.1 องค์ประกอบทางเคมีของไขอ้อยที่ได้จากกากหม้อกรอง

SI No.	Composition (%)	Conventional method	Suggested method
1	Wax esters	80-83	80-85
2	Ceryl mellissate (MP: 86-87°C)	27.00	25.00
3	Myricyl melissate	Trace	Trace
4	Phytosterol esters of dihydroxiplamitic acid (MP: 55°C)	2.00-4.00	1.50
5	Stigma sterol esters of plamitic acid	5.00-7.00	1.5
6	Glycerides	Trace	Trace
7	Free fatty acid and wax acids	10.00	3.00-6.00
8	Palmitic acid	12.00	1.00-3.00
9	Hypogacic acid (MP: 21°C)	Trace	Trace
10	Alcohol	2.00-3.00	1.00-1.50
11	Aliphatic (Free)	Trace	Trace
12	Cyclic and derivatives		
	(i) Bassiasterol	0.50	0.10
	(ii) Sacchrosterol	2.00	1.00
	(iii) b-saccharoserol	0.50-1.00	0.10-0.20
13	Hydrocarbons	2.00-3.00	1.00-1.50
14	Hetriacontane (MP: 68°C)	Trace	Trace
15	Pentatriacontane (MP: 75°C)	1.00-1.50	0.50-1.00
16	Mineral matters	0.20-0.50	0.10-0.25

ที่มา: Phukan และ Boruah, 1999

สมบัติ และคณะ (2555) ได้ทำการศึกษาและพัฒนากระบวนการสกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรอง โดยอาศัยเทคนิค accelerated solvent extraction (ASE) ด้วยเอทานอล เปรียบเทียบกับการสกัดโดยเทคนิค reflux extraction ด้วย hexane พบว่า การสกัดโดย ASE ให้ปริมาณไขอ้อยในปริมาณ 12.49% ในขณะที่การสกัดโดยกระบวนการ reflux ด้วย hexane ให้ปริมาณไขอ้อยเพียง

9.03% โดยที่คุณลักษณะขององค์ประกอบของไขอ้อยที่ได้จากเทคนิค ASE ด้วยเอทานอล มีส่วนประกอบของ wax ester และ fatty alcohol สูงกว่าไขอ้อยที่ได้จากการสกัดด้วยเทคนิค reflux

ถึงแม้ว่าเทคนิคการสกัดไขอ้อยด้วย ASE จะเป็นเทคนิคที่สามารถนำมาใช้สกัดไขอ้อยจากกากหม้อกรองได้ดี แต่ก็ยังเป็นวิธีที่ยังมีขีดจำกัดอยู่สำหรับการพัฒนาในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากเทคนิค ASE เป็นเทคโนโลยีที่พัฒนาขึ้นมาใช้สำหรับการวิเคราะห์ในระดับห้องปฏิบัติการ และสามารถทำงานได้เป็นแบบกะเท่านั้น หากต้องการพัฒนาในระดับอุตสาหกรรมจำเป็นต้องมีการพัฒนาเครื่องมือรองรับอีกมาก นอกจากนี้ยังพบว่าไขอ้อยที่สกัดได้ยังมีความบริสุทธิ์ของ wax ต่ำ (สมบัติและคณะ, 2555)

จากเหตุผลดังกล่าว คณะผู้วิจัยในโครงการวิจัยครั้งนี้ จึงมุ่งเน้นพัฒนาเทคโนโลยีการสกัดด้วย supercritical carbon dioxide fluid ให้มีความเหมาะสมกับการสกัดไขอ้อยเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัด policosanol โดยเฉพาะ supercritical carbon dioxide fluid เป็นสสารที่อยู่ในสถานะที่มีสมบัติร่วมกันระหว่างของเหลวและก๊าซ มีความหนาแน่นคล้ายของเหลว จึงมีความสามารถในการละลายสารต่างๆ ได้รวมทั้งมีความหนืดต่ำและมีสมบัติการไหลคล้ายก๊าซ จึงทำให้สามารถซึมผ่านสารต่างๆ ได้ดี supercritical fluid เกิดจากการให้ความร้อนแก่ก๊าซที่อุณหภูมิเหนือจุดวิกฤต (critical point) หรือเกิดจากการอัดของเหลวโดยใช้ความดันเหนือจุดวิกฤต อุณหภูมิ ณ จุดวิกฤต (critical temperature) ของสาร คือ อุณหภูมิที่สารในสถานะของเหลวไม่สามารถคงอยู่ได้และความดันไอของสารที่อุณหภูมิ ณ จุดวิกฤตนี้ เรียกว่า ความดัน ณ จุดวิกฤต (critical pressure)

สำหรับการนำเทคโนโลยีซูเปอร์คริติคอลลคาร์บอนไดออกไซด์มาประยุกต์ใช้กับการสกัดสาร เรียกว่า SFE (supercritical fluid extraction) คือ เทคนิคการสกัดสารโดยใช้ซูเปอร์คริติคอลลฟลูอิด มีข้อดี คือ เป็นวิธีการที่ใช้ความร้อนต่ำและมีประสิทธิภาพเช่นเดียวกับการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ส่วนใหญ่นิยมนำมาใช้สกัดสารประเภทไขมันและน้ำมันต่างๆ โดยเฉพาะการสกัดน้ำมันหอมระเหยจะได้กลิ่นใกล้เคียงกับวัตถุดิบต้นกำเนิด มีตัวอย่างงานวิจัยจำนวนมากที่นำเทคนิคนี้ มาสกัดน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร อย่างไรก็ตาม อุณหภูมิและความดันที่ใช้ในการสกัดจะแตกต่างกัน ขึ้นกับประเภทหรือชนิดของวัตถุดิบต้นกำเนิดและสารสำคัญที่ต้องการ

Attard et al. (2015) ศึกษาการสกัดไขจากวัสดุเหลือทิ้งในการแปรรูปอ้อย ได้แก่ ใบ เปลือก และขานอ้อย โดยใช้เทคนิค supercritical CO₂ พบว่า ไขที่สกัดจากเปลือกมีส่วนประกอบหลักเป็น n-policosanols และ long-chain fatty aldehydes (83%) ในขณะที่ไขที่สกัดจากใบประกอบด้วย

สาร triterpenoids (169 mg/g ของไข) กรดไขมันอิ่มตัว กรดไขมันไม่อิ่มตัว และ phytosterols ส่วนไขที่สกัดจากขायอ้อยนั้นมีสารประกอบจำพวก wax esters เป็นส่วนใหญ่

Lucas et al. (2006) ได้ทำการศึกษาถึงการปรับปรุงการสกัดเพื่อให้ไขอ้อยมีความบริสุทธิ์มากขึ้น โดยทำการศึกษาการสกัด policosanol จากไขอ้อยด้วยเทคนิค supercritical CO₂ ซึ่งผลการทดลองแสดงในตารางที่ 1.2 ไขอ้อยที่ได้จากวิธีการสกัดด้วย supercritical CO₂ extraction มีความบริสุทธิ์สูงกว่าไขที่สกัดด้วยตัวทำละลาย และสามารถเก็บเกี่ยว สารประกอบ alcohol ได้มากกว่าอีกด้วย

ตารางที่ 1.2 เปรียบเทียบไขอ้อยที่สกัดด้วยตัวทำละลายและ Supercritical CO₂ extraction

คุณสมบัติ	Organic solvent extraction	Supercritical CO ₂ extraction
Melting point (°C)	64-68	81-82
Color	Green	White
Extraction yield (% , w/w)	7.80	2.43
n-alcohol concentration in extraction (% , w/w)	22.00	78.32
n-alcohol recovered (g/100 g crude wax)	1.70	1.92

ที่มา: Lucas et al. (2006)

ถึงแม้ว่าไขจากพืชอย่างไขอ้อย และซีผึ้งจะเป็นวัตถุดิบที่น่าสนใจสำหรับใช้ผลิต policosanol โดยทั่วไปไขจากพืชประกอบด้วย aliphatic hydrocarbon และอนุพันธ์ของสารประกอบดังกล่าวจะมีความยาวของสายโซ่อยู่ระหว่าง 20-40 คาร์บอนอะตอม ในกรณีของ ester อาจจะมีมีความยาว 60 คาร์บอนอะตอม ส่วนประกอบหลักจะเป็น primary alcohol, secondary alcohol, ketone, fatty acid และ aldehydes (Koch and Ensikat, 2008) ทั้งนี้ไขจากพืชหลายชนิดจะมี policosanol เป็นองค์ประกอบดังแสดงไว้ในตารางที่ 1.3 ทั้งนี้จำนวนของ policosanol นั้นแปรผันตามชนิดของวัตถุดิบและวิธีการสกัด แต่เนื่องจากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า กากตะกอนหม้อกรองที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรจากอุตสาหกรรมน้ำตาลมีศักยภาพที่จะพัฒนาใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการสกัด policosanol ที่มีความคุ้มค่าเชิงเศรษฐศาสตร์ งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นไปที่การศึกษาระบวนการสกัดและใช้ประโยชน์ policosanol ที่ได้จากอ้อยเป็นหลัก

ตารางที่ 1.3 ปริมาณของ policosanols ในไขพืช

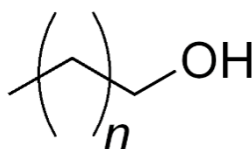
Compositions	Content (%)			
	Rice bran ^a	Sorghum ^b	Maize ^b	Purple rice ^b
Docosanols (C ₂₀)	1.2	1.1	10.4	6.8
Tetracosanol (C ₂₄)	14.6	2.7	Not detected	1.8
Hexacosanol (C ₂₆)	18.7	14.6	7.5	8.7
Octacosanol (C ₂₈)	17.0	45.6	12.4	10.6
Triacosanol (C ₃₀)	24.5	27.3	Not detected	27.1

ที่มา: Irmak et al. (2006); Irmak et al. (2008); Dunford et al. (2010)

policosanol เป็นชื่อสามัญที่อ้างอิงถึงสารผสมของ long chain aliphatic primary alcohols (จำนวนคาร์บอนอะตอมอยู่ระหว่าง 20-36 คาร์บอนอะตอม) จัดเป็นสารในกลุ่มของ fatty alcohol ส่วนประกอบหลักของสารผสมนี้จะประกอบด้วย docosanol (C₂₂) tetracosanol (C₂₄) hexacosanol (C₂₆) octacosanol (C₂₈) และ triacontanol (C₃₀) ปัจจุบันได้มีรายงานบทบาทของ Policosanol ในการปกป้องและบำบัดโรคหัวใจ และรายงานผลของ C₂₈ ที่เป็นผลดีต่อสุขภาพ (Taylor, Rapport, and Lockwood 2003) แสดงให้เห็นว่าสามารถลดการจับตัวเป็นก้อนตกตะกอน ลดการถูกทำลายของเยื่อและลดการเกิด foam cell และยังมีการศึกษาประสิทธิภาพของ policosanols เป็นสารลดไขมัน (lipid-lowering agent) ในกลุ่มตัวอย่างต่างๆกันอย่างกว้างขวาง (Castano et al., 1999; Castaño et al., 1998; Cubeddu et al., 2006; Lahl, 2005; Y. Wang et al., 2005; Canetti et al., 1997; Noa and Mas, 2005; Noa et al., 1998; Noa et al., 2001)

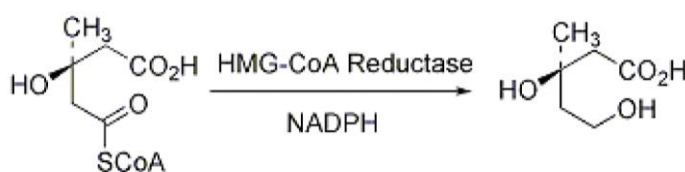
จากการศึกษาวิจัยได้ชี้ให้เห็นว่า policosanols สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ทางชีวภาพของ cholesterol และช่วยส่งเสริม LDL decatabolism ยับยั้ง lipid peroxidation และช่วยส่งเสริมการปกป้องของ lipoprotein ในการต้านการเกิด lipid peroxidation ทั้งในไขมันและโปรตีนถึงครึ่งหนึ่ง (Menéndez et al., 2000) ได้มีการทดสอบความเป็นพิษรุนแรงเฉียบพลัน สารก่อมะเร็ง และสารก่อการกลายพันธุ์ ของ policosanols ในหนูโดยมิให้หนูได้รับในปริมาณ 50-500 mg/kg-day เป็นเวลา 12 เดือน เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับสารดังกล่าว (Alemán et al., 1994) อนึ่งในการทดสอบทั้ง *in vivo* และ *in vitro* ได้แสดงให้เห็นว่าไม่เป็นพิษต่อ เซลล์ร่างกาย หรือ เซลล์สืบพันธุ์ นอกจากนี้ ในการศึกษาในระดับ Clinical ในระยะยาวของสาร policosanols รวมทั้งผลการวิจัยด้านความปลอดภัย หลังการวางตลาด ได้แสดงให้เห็นว่ามีความคงตัวและปลอดภัย (Castaño et al., 1998; Castano

et al., 1999; Canetti et al., 1997; Fernández et al., 1998; Castaño et al., 2001) ณ ปัจจุบัน policosanol มีการค้าเชิงพาณิชย์ ในประเทศสหรัฐอเมริกาที่ได้รับการอนุญาตโดย US-FDA ให้ใช้ใน รูปแบบผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ไม่จำเป็นต้องมีใบสั่งแพทย์ (non-prescription dietary supplement)



ภาพที่ 1.2 โครงสร้างทางเคมีโดยทั่วไปของ policosanol ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์โมเลกุลใหญ่ที่มีโครงสร้างเป็นเส้นตรง

เนื่องจากกระบวนการสร้างโคเลสเตอรอลในร่างกายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะเริ่มจากการสังเคราะห์ Acetyl-CoA ให้เกิดเป็นโครงสร้างที่ใหญ่ขึ้น และมีการเติมหมู่ฟังก์ชัน จนเป็นโครงสร้างของโคเลสเตอรอล หนึ่งในเอนไซม์สำคัญที่จำเป็นคือ 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase (HMGCR) ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยน HMG-CoA ให้เป็น Mevalonate ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์โคเลสเตอรอล และเกี่ยวข้องกับระดับของไขมันโปรตีนชนิดความหนาแน่นต่ำ (Low Density Lipoprotein, LDL) ในกระแสเลือด ซึ่งปริมาณ LDL และโคเลสเตอรอลในเลือดจะแปรผันตรงกับความเสี่ยงการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด (Wissler and Vesselinovitch, 1983; Frohlich and Al-Sarraf, 2013)

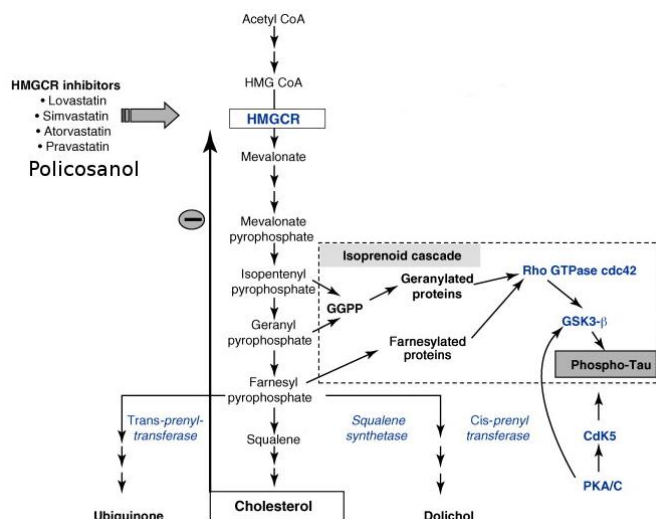


ภาพที่ 1.3 กลไกการทำงานของเอนไซม์ HMG CoA Reductase ในการเปลี่ยน HMG-CoA เป็น Mevalonate

ที่มา: Oliaro-Bosso et al. (2009)

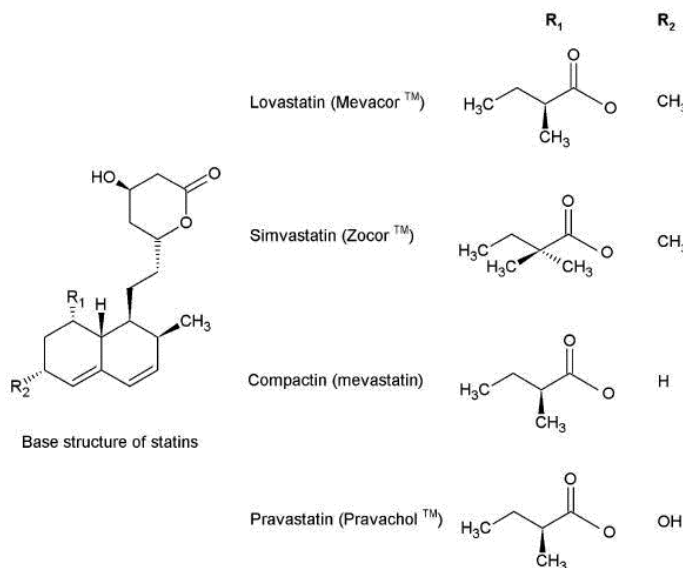
ในปัจจุบัน ยาสำหรับควบคุมระดับโคเลสเตอรอลและไขมันในเลือดที่ได้รับการอนุญาตให้ใช้จะจัดอยู่ในกลุ่มยา Statin ซึ่งรวมไปถึงยาที่ดัดแปลงโครงสร้างโดยใช้ Statin เป็นพื้นฐาน (Evans et al., 2004; Ridker, 2014) เนื่องจากมีฤทธิ์ในการลดโคเลสเตอรอลและควบคุม LDL ที่เห็นผลได้ชัดเจน

กลไกการทำงานของยาในกลุ่มนี้ คือจะเข้าไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA Reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

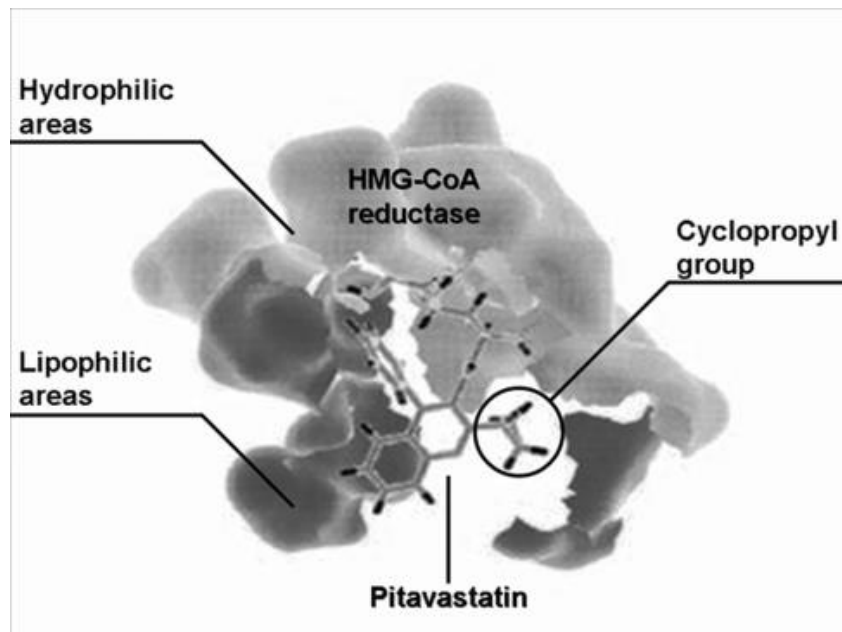


ภาพที่ 1.4 กลไกการทำงานของ policosanol ในการยับยั้งเอนไซม์ HMG CoA Reductase
ที่มา: Oliaro-Bosso et al. (2009)

แต่อย่างไรก็ดี ผลการศึกษาเกี่ยวกับผลข้างเคียงของยาในกลุ่ม Statin นี้พบว่า มีรายงานผลข้างเคียงชักนำให้เกิดโรคเบาหวานและอาการทางระบบประสาทในคนไข้ที่มีภาวะหลงลืม (Demantia) (Aiman et al., 2014; Raley and Hutchison, 2014; Raley and Hutchison, 2014)



ภาพที่ 1.5 โครงสร้างทางเคมีของยาในกลุ่ม Statin (“Statins and Their Types ~ Latest Info to SIP with Tea” 2014)



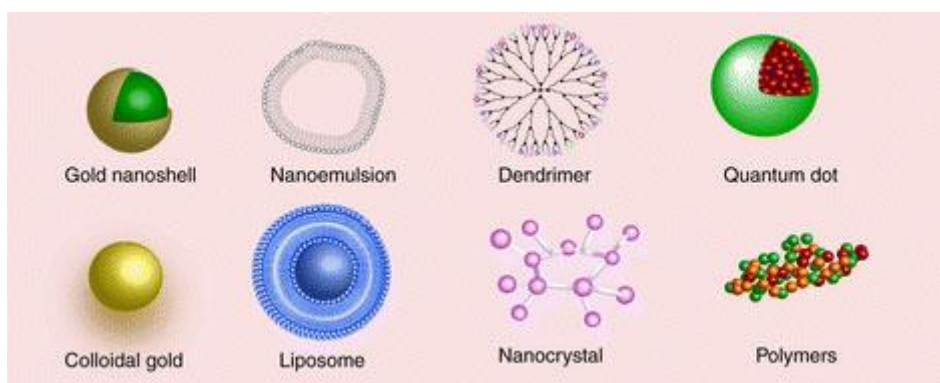
ภาพที่ 1.6 กลไกการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA Reductase โดย pitavastatin ด้วยการเข้าจับในบริเวณ active site ของเอนไซม์

ที่มา: Saito (2009)

ในปัจจุบันนี้พบว่ากลไกการออกฤทธิ์ของ policosanols ในการลดระดับโคเลสเตอรอล แตกต่างจากยาในกลุ่ม Statin คือ policosanols ไม่ได้เข้าไปแย่งจับบริเวณ active site ของ HMGCR และทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMGCR โดยตรง แต่ policosanols จะช่วยลดการทำงานของผ่านกลไกของเอนไซม์ AMP Kinase (Banerjee, Ghoshal, and Porter 2011; McCarty 2002; Singh, Li, and Porter 2006) ทำให้ช่วยลดการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลในร่างกายได้ โดยปราศจากผลข้างเคียง รายงานการศึกษากลกระทบบของการใช้ policosanols ติดต่อกันในระยะเวลานานแสดงให้เห็นว่า policosanols มีความปลอดภัยสูง (Fernández et al., 1998; Alemán et al., 1994) และมีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีฤทธิ์ในการควบคุมระดับไขมันในเลือดได้

เทคโนโลยีการห่อหุ้มระดับนาโน (nanoencapsulation) ได้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในหลายสาขา โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมเกษตร อาหาร และด้านการแพทย์และสาธารณสุข เนื่องจากเทคโนโลยีนี้มีศักยภาพในการยืดอายุสารสำคัญและควบคุมปริมาณการปลดปล่อย นอกจากนี้ยังใช้ในการผลิตแคปซูลบรรจุสารสำคัญที่ทำหน้าที่เป็นสารอาหารหรือเคมีเกษตร ซึ่งจะสามารถช่วยเพิ่มความคงตัว เพิ่มประสิทธิภาพการกระจายตัว และการดูดซึมของสารสำคัญในพืชและสัตว์ เทคนิคที่ใช้

ในการกักเก็บสารในแคปซูลในปัจจุบันมีหลายวิธีเช่น การทำอิมัลชัน (emulsion) (Souguir, 2013) การเกิดโคอะเซอเวชัน (coacervation) (Kruif, 2004) การประยุกต์ใช้งานนาโนเทคโนโลยีในระบบนำส่ง จะครอบคลุมเทคโนโลยีหลากหลายสาขา ทั้งการขึ้นรูปอนุภาคชนิดต่างๆ ด้วยความแม่นยำในระดับนาโน การควบคุมลักษณะรูปร่าง และพื้นผิวของอนุภาคที่ใช้นำส่ง เนื่องจากอนุภาคนาโนมีหลากหลายชนิด ทั้งชนิดที่เป็นวัสดุอินทรีย์ อนินทรีย์ และมีการจัดเรียงตัวเกิดเป็นโครงสร้างที่แตกต่างกันได้หลายแบบ ชนิดของอนุภาคที่เลือกใช้จะขึ้นกับการประยุกต์ใช้งานและคุณสมบัติที่ต้องการ ไม่ว่าจะเป็น การควบคุมการปลดปล่อย การยืดอายุของสารสำคัญ การยึดจับกับพื้นผิวเป้าหมายอย่างจำเพาะ หรือแม้แต่การยืดอายุของอนุภาคนำส่งเองในสภาวะใช้งานเช่นทนความร้อนและแสง



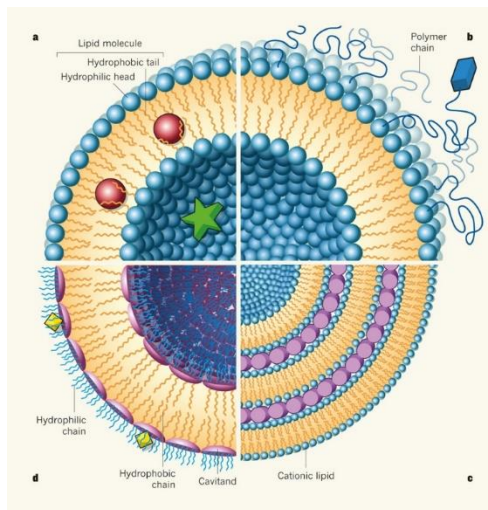
ภาพที่ 1.7 ตัวอย่างอนุภาคสำหรับนำส่งชนิดต่างๆ

ที่มา: <http://www.medscape.com/viewarticle/574912>

คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาแนวทางการเพิ่มประสิทธิภาพเชิงเภสัชวิทยาของ policosanol ด้วยการใช้เป็นวัสดุนำส่งสารสำคัญทางชีวภาพ ในรูปแบบของ อนุภาคนาโนสตรักเจอร์ลิปิด (Nanostructured Lipid Carriers; NLC) เพื่อใช้เป็นส่วนประกอบสำคัญสำหรับผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมอาหารและยา โดยเพิ่มความสามารถในการกระจายตัวและช่วยควบคุมการปลดปล่อยของสารสำคัญ policosanol

โดยทั่วไปแล้วการเพิ่มการกระจายตัวของสารสำคัญชนิดน้ำมันหรือไขในระดับอุตสาหกรรมจะนิยมใช้เทคนิคการทำอิมัลชัน (emulsion) ซึ่งมีความยุ่งยากน้อยและใช้เครื่องมือที่ไม่ซับซ้อนสามารถขยายปริมาณการผลิตได้ง่าย ข้อเสียของอนุภาคชนิดอิมัลชันคือมีมากความคงตัวต่ำ จึงต้องใช้ร่วมกับเทคโนโลยีการสร้างชั้นหรือพื้นผิวเพื่อเพิ่มความคงตัวเพื่อให้อนุภาคหรืออิมัลชันมีความคงตัวในสภาวะการใช้งาน

อนุภาคชนิดไลโปโซม เป็นอนุภาคที่มีองค์ประกอบหลักเป็นไขมันชนิด phospholipid เนื่องจากสมบัติความมีขั้วของไขมันชนิดนี้ทำให้สามารถจัดเรียงตัวเกิดเป็นเยื่อผนังไขมันสองชั้น (lipid bilayers) ห่อหุ้มสารสำคัญไว้ภายใน และเนื่องจากไขมันชนิด phospholipid เป็นองค์ประกอบหลักของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้วัสดุนำส่งมีลักษณะเป็นถุงไขมันขนาดเล็ก (liposome) จึงสามารถรวมตัวเข้ากันได้กับผนังเซลล์ได้ดี และสามารถนำส่งสารสำคัญเข้าสู่เซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ



ภาพที่ 1.8 ลักษณะโครงสร้างของไลโปโซมชนิดต่างๆที่ใช้ในระบบนำส่ง

ที่มา: Safinya and Ewert (2012)

Solid Lipid Nanoparticle หรือ SLN คืออนุภาคที่เหมาะสมสำหรับใช้นำส่งสารสำคัญที่ละลายแทรกอยู่ในไขหรือไขมันแข็ง และสามารถควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญให้ออกมาอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนี้ SLN ยังสามารถดัดแปลงให้พื้นผิวมีหมู่ฟังก์ชันที่ช่วยเพิ่มการละลายหรือการดูดซึมได้เช่นเดียวกับไลโปโซม

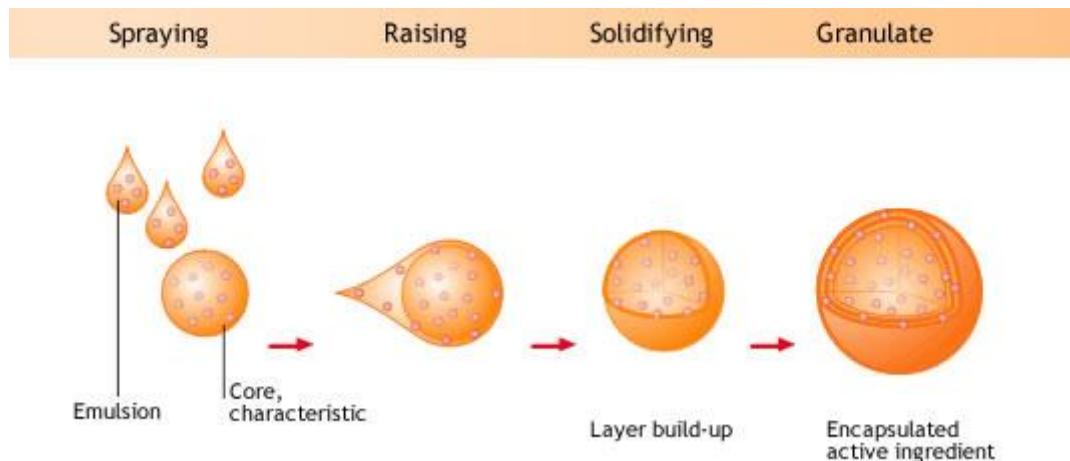
ในโครงการวิจัยนี้ มุ่งเน้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ประกอบไปด้วยระบบนำส่งสำหรับ policosanol ที่มีการปรับปรุงสมบัติในการละลายน้ำให้สูงขึ้น เพิ่มการเข้าสู่ระบบกระแสโลหิต และการควบคุมการปลดปล่อย จึงเลือกใช้ระบบนำส่งชนิด SLN โดยมีโครงสร้างส่วนแกนเป็นไขมันแข็ง ตบแต่งพื้นผิวด้วยไขมันชนิดฟอสโฟไลปิด ที่บรรจุสารสำคัญ policosanol ซึ่งปลดปล่อยอย่างช้าๆ และมีความเข้ากันได้กับร่างกายได้ดี และโครงสร้างของเปลือกอนุภาคนำส่งที่แข็งแรงของพอลิเมอร์ชีวภาพทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวสูง โดยมีเป้าหมายที่จะขึ้นรูปอนุภาคควบคุมการปลดปล่อยด้วยเทคนิคทำแห้งแบบพ่นฝอยซึ่งมีต้นทุนการผลิตต่ำและสามารถขยายกำลังการผลิตเป็นระดับ

อุตสาหกรรมได้ (Choi et al., 2010; Cristhiane Caroline Ferrari 2013; Liu et al. 2013; Beirão-da-Costa et al. 2013; Rassu et al. 2014; Nedovic et al. 2011)

วิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยถูกนำมาใช้กับงานด้าน food emulsion ตั้งแต่ปี 1950 เป็นต้นมา โดย feed solution จะถูกสเปรย์ผ่านหัว atomizer ให้เป็น droplet ในเครื่อง spray dryer เพื่อระเหยน้ำที่เป็นองค์ประกอบในอิมัลชัน ของเหลวจะเปลี่ยนเป็นของแข็งอย่างรวดเร็วขณะพ่นฝอยด้วยลมร้อน ได้อนุภาคผงแห้งที่มีขนาดเล็กและใช้ระยะเวลาในการทำแห้งน้อยกว่าวิธีอื่นๆ ผลิตภัณฑ์มีลักษณะทางกายภาพที่ดี และสามารถ load สารได้ในปริมาณมากในแต่ละครั้ง โดยสารสำคัญที่มีลักษณะเป็นไขมันหรือน้ำมันจะถูกห่อหุ้มด้วย wall material ที่ประกอบด้วยสาร แป้ง หรือโปรตีน ซึ่งช่วยป้องกันสารสำคัญไม่ให้เกิด oxidation จากสิ่งแวดล้อมโดยรอบ ซึ่งคุณสมบัติของผงแห้งที่ได้จากการทำให้แห้งด้วยวิธีนี้ขึ้นกับ atomizer อุณหภูมิ ทิศทางของกระแสอากาศ และการออกแบบ chamber เป็นต้น นอกจากนี้ สามารถเลือกใช้ wall material ในการเคลือบได้หลายชนิด โดยชนิดของ wall material และสถานะที่ใช้ในการทำแห้งแบบพ่นฝอยสำหรับการกักเก็บสารสำคัญชนิดต่างๆ แสดงในตารางที่ 1.4

ตารางที่ 1.4 ตัวอย่าง wall material และสถานะที่ใช้ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย สำหรับการกักเก็บสารสำคัญชนิดต่างๆ

สารที่ถูกกักเก็บ	Wall material	อุณหภูมิ ขาเข้า (°C)	อุณหภูมิ ขาออก (°C)	References
น้ำมันถั่วเหลือง	Sodium caseinate/carbohydrates	180	95	Hogan et al (2001a) Hogan et al. (2001b)
น้ำมันปลา	Starch derivatives /glucose syrup	170	70	Drusch et al. (2006)
Short chain fatty acid	Maltodextrin/gum arabic	180	90	Teixeira et al. (2004)
บิซิโน	Gum arabic/maltodextrin /sucrose	180	130	Barbosa et al. (2005)
d-Limonene	Gum arabic/maltodextrin /modified starch	200	100-120	Soottitantawat et al. (2005)



ภาพที่ 1.9 กลไกการห่อหุ้มสารสำคัญด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ที่มา: <http://www.ipc-dresden.de>

การศึกษาผลิตภัณฑ์และเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องพบว่า มีสิทธิบัตรที่เกี่ยวข้องกับการสกัด policosanol จากไขพืชด้วยวิธีต่างๆ (Empie et al., 2004; Runhua, 2007; Zhang et al., 2014; Wang et al., 2014) แต่ยังไม่มีการถือสิทธิในกระบวนการปรับปรุงคุณภาพทำให้มีความบริสุทธิ์สูงขึ้น ซึ่งมีความสำคัญเป็นอย่างมากในกระบวนการผลิตเชิงพาณิชย์ นอกจากนี้ยังมีสิทธิบัตรเกี่ยวกับการนำ policosanol มาใช้ในรูปผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร โดยผสมเป็นสูตรตำรับกับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารชนิดอื่น เช่น กรดไขมันจำเป็น วิตามิน หรือสารออกฤทธิ์อื่นที่สกัดจากธรรมชาติ (Villeponteau, 2007; Berlin, 2006; Aleardo and Ashraf, 2013; Seo et al., 2013; Forest et al., 2005; Patel, 2012; Javor, 2011; Lahl, 2005; Empie et al. 2004) นอกจากนี้ยังมีสิทธิบัตรของสูตรตำรับ policosanol ที่มีการใช้ระบบนำส่ง เพื่อให้ผลิตภัณฑ์ที่มีความสามารถในการละลายดี และมีความคงตัวสูง (Patel, 2012; Fang and Tongyi, 2005; Raghavan, 2013; Xu et al., 2008; Madhavi and Kagan, 2011; Kim et al., 2011) อย่างไรก็ตาม เนื่องจากข้อจำกัดของ policosanol ในเชิงเภสัชศาสตร์คือนอกจากจะมีค่าการละลายน้ำในระดับที่ต่ำแล้ว policosanol ยังมีความตัวในกระเลือดต่ำ เพราะมีการสลายตัวอย่างรวดเร็ว (Banerjee et al., 2011; Roberto Menéndez et al., 2005) ทำให้ไม่พบความแตกต่างระหว่างฤทธิ์ทางเภสัชศาสตร์ของ policosanol 20 mg กับ 40 mg (Castaño et al., 2001) ดังนั้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร policosanol ที่มีกระบวนการควบคุมการปลดปล่อย เพื่อให้มีปริมาณ policosanol ในร่างกายในระดับที่มีผลทางเภสัชศาสตร์จึงสามารถช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีความใหม่ เกิดเป็นผลิตภัณฑ์นวัตกรรมที่มีศักยภาพในเชิงพาณิชย์

จากรายงานการวิจัยที่มีมาก่อนสามารถสรุปได้ว่า policosanol ในไขอ้อยที่สกัดได้จากกากหม้อกรอง มีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเนื่องจากกากตะกอนหม้อกรองมีปริมาณ

policosanol ที่เพียงพอที่จะมีความคุ้มค่าในทางเศรษฐศาสตร์ ซึ่งล้วนแล้วแต่เป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับกากหม้อกรอง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงพยายามที่จะทำการศึกษาและปรับปรุงกระบวนการสกัดให้มีความเหมาะสมกับ policosanol มากขึ้น เพื่อนำไขอ้อยที่ได้จากกระบวนการสกัดและการนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสกัดสาร policosanol สำหรับใช้เป็นสารโภชนเภสัช (nutraceutical) ที่มีความบริสุทธิ์สูง และทำการศึกษาพัฒนากระบวนการสกัด policosanol จากกากหม้อกรองด้วยเทคนิค Supercritical CO₂ และทำให้บริสุทธิ์โดยกระบวนการ fractionation เพื่อนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีศักยภาพเชิงพาณิชย์ที่สร้างมูลค่าเพิ่มจากวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาล

งานวิจัยนี้มีความสอดคล้องหรือการตอบสนองยุทธศาสตร์การพัฒนาประเทศตามแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ว่าด้วยการเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เป็นการเพิ่มความเข้มแข็งให้กับอุตสาหกรรมการเกษตร โดยมุ่งเน้นการสร้างมูลค่าให้กับสารออกฤทธิ์สำคัญ policosanol โดยทำการพัฒนาครอบคลุมตั้งแต่กระบวนการสกัด การแยกและปรับปรุงคุณภาพให้บริสุทธิ์ การวางมาตรฐาน specification ให้กับผลิตภัณฑ์ขั้นกลาง และการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายโดยประยุกต์ใช้ระบบนำส่งชนิดควบคุมการปลดปล่อยเพื่อให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติทางเภสัชศาสตร์ที่ดีขึ้น และสามารถนำไปผลิตในเชิงพาณิชย์ได้จริง

บทที่ 2

ระเบียบวิธีการวิจัย

2.1 วัตถุดิบและสารเคมี

- ไซออยจากการสกัดกากหม้อกรองสกัดด้วยเครื่องสกัดคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤต
- สตาร์ชตัดแปรร HI-CAP® 100 จากบริษัท เนชั่นแนล สตาร์ช แอนด์ เคมิคัล (ไทยแลนด์) จำกัด ประเทศไทย
- มอลโทเดกซ์ทริน (maltodextrin) DE 10.7 จากบริษัท บ้านโป่ง โนวาเทค จำกัด ประเทศไทย
- ตัวทำละลาย (solvents) ได้แก่ อะซิโตน (acetone) ไอโซโพรพานอล (Isopropanol) โทลูอีน (toluene) คลอโรฟอร์ม (chloroform) เอทานอล (ethanol) เฮกเซน (hexane) และ เอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) จากบริษัท CARLO ERBA Reagents ประเทศฝรั่งเศส
- สารมาตรฐาน policosanols (Eicosanol-C₂₀, Heneicosanol-C₂₁, Docosanol-C₂₂, Tricosanol-C₂₃, Tetracosanol-C₂₄, Pentacosanol-C₂₅, Hexacosanol-C₂₆, Heptacosanol-C₂₇, Octacosanol-C₂₈, Triacosanol-C₃₀) จากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสิงคโปร์
- โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) จากบริษัท LobaChemie ประเทศอินเดีย
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) จากบริษัท CARLO ERBA Reagents ประเทศฝรั่งเศส
- น้ำปราศจากไอออน (deionized water) ผลิตจากเครื่อง TKA ประเทศเยอรมัน

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

- เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Gas chromatography-Mass spectrometer; GC-MS) รุ่น 7890A-5975C ของบริษัท Agilent Technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer) รุ่น GEA Niro ของบริษัท GEA Process Engineering ประเทศเดนมาร์ก
- เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze Dryer) รุ่น GAMMA 2-16 LSC ของบริษัท SciQuip ประเทศอังกฤษ
- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) รุ่น Hitachi S-3400N ของบริษัท Hitachi High-Technologies ประเทศญี่ปุ่น

- เครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (X-ray diffractometer; XRD) รุ่น D8 ADVANCE ของบริษัท Bruker Corporation ประเทศเยอรมัน
- เครื่องวัดขนาดอนุภาคและศักย์ซีต้า (Zetasizer) รุ่น Zetasizer Nano ZS ของบริษัท Malvern Instruments ประเทศอังกฤษ
- เครื่องวัดขนาดอนุภาค (Mastersizer) รุ่น LA950 ของบริษัท HORIBA Instruments ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องปั่นผสมสารด้วยความเร็วสูง (High-speed homogenizer) รุ่น T-25 ULTRA-TURRAX Digital ประเทศเยอรมัน
- เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วรอบสูง (High speed centrifuge) รุ่น 7780 ของบริษัท KUBOTA ประเทศญี่ปุ่น
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ BINDER ของบริษัท BINDER GmbH ประเทศเยอรมัน
- เครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer) รุ่น Vortex-Genie 2 ของบริษัท Scientific Industries ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องดูดจ่ายสารละลาย (Micropipette) ของบริษัท Gilson ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องชั่งดิจิตอล ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Electronic balance) รุ่น GR-200 ของบริษัท A&D ประเทศญี่ปุ่น
- เครื่องชั่งดิจิตอล ทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Electronic balance) รุ่น FX-3000i ของบริษัท A&D ประเทศญี่ปุ่น
- เครื่องกวนสารชนิดแม่เหล็กพร้อมแผ่นให้ความร้อน (Magnetic stirrer) รุ่น RCT BASIC Safety Control บริษัท IKA ประเทศเยอรมัน
- อ่างควบคุมอุณหภูมิที่มีระบบคลื่นความถี่สูง (Ultrasonic bath) รุ่น Elmasonic P บริษัท Elma Schmidbauer GmbH ประเทศเยอรมัน
- เครื่องกลั่นระเหยสารสุญญากาศ (Rotary evaporator) รุ่น RV 10 CONTROL V บริษัท IKA ประเทศเยอรมัน
- Nylon membrane ขนาด pore size 0.45 ไมครอน
- กระดาษกรอง Whatman No. 1
- กระบอกฉีดยา (Syringe) ขนาดความจุ 1 มิลลิลิตร ผลิตภัณฑ์ Nipro
- GC vial (Amber glass) ขนาดความจุ 2 มิลลิลิตร
- กระดาษกรอง Whatman® (Filter paper)
- หลอดเหวี่ยงทรีฟวีก์ (Centrifuge tube)
- ช้อนตักสาร (Spatula)

- เครื่องแก้ว (Glassware)

2.3 วิธีการทดลองวิจัย

2.3.1 การแยกสาร policosanol จากไขอ้อยและการทำให้บริสุทธิ์ (Purification)

- การทำให้บริสุทธิ์ไขอ้อยด้วยตัวทำละลาย

นำตัวอย่างไขอ้อยที่สกัดได้จากกากหม้อกรองโดยใช้เครื่องสกัดคาร์บอนไดออกไซด์เหนือวิกฤตมาละลายในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำ ไอโซโพรพานอล เอทานอล เอทิลอะซิเตท อะซิโตน โทลูอิน และเฮกเซน โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่าจุดหลอมเหลวของไขอ้อย พร้อมกับกวนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน กรองแยกสิ่งเจือปนออกจากสารละลายขณะร้อน จากนั้นนำมาทำให้เย็นลงในอ่างน้ำแข็งและปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วรอบสูงเพื่อแยกตัวทำละลายออก แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกอีกครั้งในตู้อบลมร้อน จดบันทึกน้ำหนัก yield ที่ได้ และนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณ policosanol ด้วยเทคนิค GC-MS จากนั้นทำการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อเลือกตัวทำละลายที่ดีที่สุด

- การทำสaponนิฟิเคชัน (saponification)

นำตัวอย่างไขอ้อยมาทำปฏิกิริยาสaponนิฟิเคชันด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% (w/v ในเมทานอล) กวนผสมที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมารองแยกส่วนแข็งออกจากสารละลาย ล้างส่วนแข็งที่ได้ด้วยน้ำที่ปราศจากไอออน จากนั้นนำตัวอย่างไปอบให้แห้งแล้วนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบด้วยเทคนิค GC-MS

- การสกัดแยกสาร policosanol

นำตัวอย่างไขอ้อยที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วยตัวทำละลายและการสaponification ปริมาณ 1 g มาสกัดด้วย chloroform 100 ml เป็นระยะเวลา 15 นาที ใน ultrasonic bath โดยใช้ความถี่ 37 kHz ควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นกรองแยกส่วนใสและส่วนตะกอนด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 นำสารสกัด policosanol ใน chloroform ที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารสุญญากาศ นำไปตกผลึกด้วย hexane (20 ml) ที่อุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส กรองแยกสาร policosanol ที่ได้แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกในตู้อบลมร้อน จดบันทึกน้ำหนัก yield ที่ได้ และนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณ policosanol ด้วยเทคนิค GC-MS

2.3.2 การศึกษาองค์ประกอบของสาร policosanol ที่สกัดได้ด้วยเทคนิค GC-MS

นำสารสกัดตัวอย่างไขอ้อยมาหาองค์ประกอบโดยใช้เทคนิค GC-MS ในสภาวะดังต่อไปนี้

GC-MS: 7890A-5975C, Agilent Technologies

คอลัมน์: J&W Scientific, DB-5MS column, ความยาว 30 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร

- แก๊สตัวพา (Carrier gas) : แก๊สฮีเลียม (99.9999%)

- อุณหภูมิ : อินเจคเตอร์ (Injector port) 300 องศาเซลเซียส

: เครื่องตรวจวัด (Detector) 300 องศาเซลเซียส

: เตาอบ (Oven) แบบสภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ (Temperature program) อุณหภูมิเริ่มต้น 50 องศาเซลเซียส เพิ่มขึ้น เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นอุณหภูมิเพิ่มขึ้น 10 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

- ปริมาณสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไป: 5 ไมโครลิตร split ratio 50:1

- Acquisition mode: scan

การเตรียมสารตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (Qualitative analysis) และเชิงปริมาณ (Quantitative analysis)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน policosanol ทั้ง 10 ชนิด ได้แก่ Eicosanol-C₂₀, Heneicosanol-C₂₁, Docosanol-C₂₂, Tricosanol-C₂₃, Tetracosanol-C₂₄, Pentacosanol-C₂₅, Hexacosanol-C₂₆, Heptacosanol-C₂₇, Octacosanol-C₂₈ และ Triacosanol-C₃₀ โดยการชั่งสาร Policosanol มาตรฐานประมาณ 1-10 mg และทำละลายด้วย chloroform 1 mL (stock

solution) จากนั้นทำการ dilute ที่ 1/2, 1/5, 1/10, 1/20, 1/50, 1/100, 1/200, 1/500, 1/1000 ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้จากการสกัดโดยวิธีต่าง ๆ มาชั่งน้ำหนักประมาณ 10-30 mg แล้วทำละลายด้วย chloroform 2 mL นำสารละลายที่ได้กรองผ่าน syringe filter nylon membrane ขนาด 0.45 ไมครอน จากนั้นนำไปฉีดบน GC-MS ครั้งละ 5 μ L

2.3.3 การเตรียมอนุภาคนำส่ง policosanol ชนิดควบคุมการปลดปล่อย

การเตรียมอนุภาคนำส่ง policosanol ชนิดควบคุมการปลดปล่อยทำได้โดยนำสาร policosanol ที่สกัดได้จากไขอ้อยมาให้ความร้อนจนเปลี่ยนสถานะจากของแข็งเป็นของเหลว จากนั้นค่อยๆ เทสารละลาย wall materials ที่ผ่านการให้ความร้อนและปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน (สารละลาย wall materials ประกอบด้วย HI-CAP® 100 (H) และ maltodextrin (M) ที่สัดส่วนต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.1) ปั่นผสมสารทั้งหมดด้วยเครื่อง high speed homogenizer ที่ความเร็ว 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อชักนำให้เกิดอิมัลชันที่มีปริมาณของแข็ง 10 % (w/w) จากนั้นนำอิมัลชันที่ได้ไปผ่านกระบวนการทำแห้ง 2 วิธี คือ การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งภายใต้ความดัน 0.1 mbar อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส และการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้อุณหภูมิของลมร้อนเข้าเท่ากับ 130 องศาเซลเซียส และอัตราการพ่นฝอยเท่ากับ 30 มิลลิลิตรต่อนาที

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบที่ใช้ในการเตรียมอิมัลชันของ policosanol

สูตร	policosanol (% w/w)	น้ำ (% w/w)	Wall materials (% w/w)	H/M weight ratio
1	1.67	90	8.33	100/0
2	1.67	90	8.33	75/25
3	1.67	90	8.33	50/50
4	1.67	90	8.33	25/75
5	1.67	90	8.33	0/100

2.3.4 การศึกษาสมบัติทางเคมีและสมบัติทางกายภาพของผงอนุภาคนำส่ง policosanol

- การวิเคราะห์ขนาดอนุภาค และประจุบนผิวอนุภาค (zeta potential) ของอิมัลชัน

ซึ่งตัวอย่างตัวอย่างผงอนุภาคนำส่ง policosanol 4 มิลลิกรัม ผสมกับน้ำที่ปราศจากไอออน ปริมาตร 20 มิลลิลิตร กวนผสมให้อิมัลชันกระจายตัวด้วยเครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer) เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปวัดขนาดอนุภาคของอิมัลชันที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง mastersizer และประจุบนผิวอนุภาค (zeta potential) ด้วยเครื่อง zeta-nanosizer โดยกำหนดให้ค่า refractive Index (RI) ของน้ำซึ่งเป็นตัวกลางเท่ากับ 1.33 ทำการวิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

- การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผงอนุภาคนำส่ง policosanol ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เตรียมตัวอย่างโดยการโรยผงแห้งลงบนเทปการคาร์บอนที่ติดอยู่บนแท่นยึด (stub) จากนั้นนำไปเคลือบผิวตัวอย่างด้วยทอง เพื่อให้เกิดการนำไฟฟ้า ควบคุมสภาวะการทดลองที่ค่าอัตราการเร่งของความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 20 กิโลโวลต์ (kV)

- การประเมินสมบัติการไหล (Pilcer et al., 2009)

ศึกษาสมบัติการไหลของผงอนุภาคนำส่ง policosanol โดยการวิเคราะห์หาค่า Carr's compressibility index และ Hausner ratio นำตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน (mass, m) มาบรรจุลงในกระบอกตวง (ขนาด 10 ml) โดยต้องต้องระวังการอัดแน่นของตัวอย่าง จากนั้นอ่านค่าปริมาตรของกระบอกตวง โดยปริมาตรของผงตัวอย่างที่อ่านได้ คือ bulk volume (V_o) นำค่าดังกล่าวไปคำนวณหาค่า bulk density (ρ_{bulk}) หรือ อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักต่อปริมาตรของผงยาที่ยังไม่ผ่านการเคาะหรือทำให้อัดแน่น

$$\rho_{bulk} = m / V_o$$

ทำการเคาะกระบอกตวง 1000 ครั้ง จากนั้นอ่านปริมาตรของตัวอย่างที่ได้ แล้วนำไปคำนวณหาค่า tapped density (ρ_{tapped}) หรืออัตราส่วนระหว่างน้ำหนักต่อปริมาตรของผงยาที่ผ่านการเคาะหรือทำให้อัดแน่นแล้ว ตามสูตรด้านล่าง

$$\rho_{bulk} = m / V_f$$

นำค่า ρ_{bulk} และ ρ_{tapped} มาคำนวณหาค่า Carr's compressibility index และ Hausner ratio จากสมการต่อไปนี้

$$\text{Carr's Compressibility Index} = 100 \times \frac{(\rho_{\text{tapped}} - \rho_{\text{bulk}})}{\rho_{\text{tapped}}}$$

$$\text{Hausner ratio} = \rho_{\text{tapped}} / \rho_{\text{bulk}}$$

ตารางที่ 2.2 สมบัติการไหลของผงยากับค่า Carr's compressibility index และ Hausner ratio

Carr's compressibility index	Flow character	Hausner ratio
≤10	Excellent	1.00-1.11
11-15	Good	1.12-1.18
16-20	Fair	1.19-1.25
21-25	Passable	1.26-1.34
26-31	Poor	1.35-1.45
32-37	Very poor	1.46-1.59
>38	Very, very poor	>1.60

- การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (moisture content) ดัดแปลงจาก AOAC (2007) และ Botrel et al. (2014)

ซึ่งตัวอย่างผงอนุภาคนำส่ง policosanol ใส่ลงในภาชนะอลูมิเนียมอลูมิเนียม (moisture can) ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน จดบันทึกน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบมาทำให้เย็นลงโดยเก็บไว้ในโถดูดความชื้น (desiccator) ที่อุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนักตัวอย่างหลังอบและจดบันทึกน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง ทำการอบซ้ำจนกระทั่งได้น้ำหนักที่คงที่ นำผลที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณความชื้นดังนี้

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100$$

- การวิเคราะห์ค่าการดูดความชื้น (hygroscopicity)

วิเคราะห์ค่าการดูดความชื้นตัวอย่างผงอนุภาคนำส่ง policosanol โดยดัดแปลงจากวิธีของ Busch et al. (2017) โดยนำตัวอย่างผงอนุภาคนำส่ง policosanol ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนมาใส่ใน petri dish แล้วนำไปเก็บไว้ในโถดูดความชื้น (desiccator) ที่ด้านล่างบรรจุสารละลายอิ่มตัวของ โซเดียมคลอไรด์ในน้ำ (75% RH) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ทำการจดบันทึกน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง ณ ช่วงเวลาต่างๆ แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การดูดความชื้น โดยคำนวณจากสมการของ Suliman และคณะ (2014) ดังนี้

$$\text{Hygroscopicity (g/100g)} = (W_f - W_i) \times 100 / (W_i \times (100 - \text{moisture} / 100))$$

โดย W_f คือ น้ำหนักตัวอย่างสุดท้าย และ W_i คือ น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น

- การตรวจสอบลักษณะโครงสร้างผลึก

ศึกษาลักษณะโครงสร้างผลึกโดยใช้เครื่อง X-Ray diffractometer ที่มีทองแดง ($\text{CuK}\alpha$) เป็นแหล่งกำเนิดรังสีเอกซ์ ความยาวคลื่นของรังสีเอกซ์ที่ใช้เท่ากับ 1.5406 อังสตรอม โดยทำการวัดมุม 2-theta ในช่วง 3 ถึง 30 องศา 2-Theta ด้วยอัตราเร็ว 1 องศา 2-Theta ต่อนาที ตามวิธีของ Kim et al. (2015)

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 การสกัดแยกสาร policosanol จากไขอ้อยและการทำให้บริสุทธิ์ (purification)

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการสกัดแยกสาร policosanol ออกจากไขอ้อยและการทำให้สาร policosanol ที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์สูง โดยในขั้นแรกทำการล้างไขอ้อยด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ พร้อมทั้งให้ความร้อนที่อุณหภูมิเหนือจุดหลอมเหลวของไขอ้อยเพื่อกำจัดสารเจือปนอื่นๆ จากการทดลองพบว่า ปริมาณไขอ้อยที่เหลือ (%yields) หลังจากผ่านการล้างด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ อยู่ในช่วง 0.72 - 79.31 %(w/w) ของน้ำหนักไขอ้อยเริ่มต้น (ตารางที่ 3.1) เมื่อนำไขอ้อยที่ผ่านการล้างด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ไปวิเคราะห์หาสารในกลุ่ม policosanol ด้วยเทคนิค GC-MS โดยนำมาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานทั้งหมด 10 ชนิด ได้แก่ Eicosanol (C_{20}), Heneicosanol (C_{21}), Docosanol (C_{22}), Tricosanol (C_{23}), Tetracosanol (C_{24}), Pentacosanol (C_{25}), Hexacosanol (C_{26}), Heptacosanol (C_{27}), Octacosanol (C_{28}) และ Triacosanol (C_{30}) พบว่า ตัวอย่างไขอ้อยก่อนและหลังการล้างด้วยตัวทำละลายมีองค์ประกอบของ policosanol ทั้งหมด 4 ชนิด คือ Tetracosanol (C_{24}), Hexacosanol (C_{26}), Octacosanol (C_{28}) และ Triacosanol (C_{30}) โดยมีสัดส่วนของสาร Octacosanol (C_{28}) มากที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.1 ปริมาณไขอ้อย (%yields) หลังผ่านการล้างด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

ตัวทำละลายที่ใช้	Yields (%w/w)
น้ำ	79.31
ไอโซโพรพานอล	46.74
เอทานอล	47.00
อะซิโตน	22.54
เอทิลอะซิเตท	21.88
โทลูอีน	0.72
เฮกเซน	28.63

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสาร policosanol ทั้งหมดที่มีในตัวอย่างพบว่า ไขอ้อยเริ่มต้นมีปริมาณ policosanol ทั้งหมดเท่ากับ 5.24 %(w/w) เมื่อนำไปผ่านการล้างด้วยทำละลายชนิดต่างๆ เพื่อสกัด แยกสาร policosanol และกำจัดสารเจือปนอื่นๆ พบว่า ตัวอย่างที่ผ่านการล้างด้วยเอทิลอะซิเตท อะซิโตน ไอโซโพรพานอลมี policosanol ทั้งหมดสูงขึ้นเป็น 23.61, 18.34 และ 12.38 %(w/w) ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.2 ส่วนตัวทำละลายที่เป็นน้ำ เอทานอล โทลูอิน และเฮกเซน พบว่า การล้างด้วยตัวทำละลายดังกล่าวไม่ช่วยให้สาร policosanol มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น (ไม่ได้แสดง ข้อมูลในตาราง) ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้ข้างต้น ผู้วิจัยจึงเลือกเอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการทำบริสุทธิ์ไขอ้อย เนื่องจากการล้างด้วยเอทิลอะซิเตททำให้ตัวอย่างที่ได้มีปริมาณ policosanol ทั้งหมดสูงที่สุดเมื่อเทียบกับตัวทำละลายชนิดอื่นๆ

ตารางที่ 3.2 ปริมาณ policosanol ที่วิเคราะห์ได้จากไขอ้อยที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

ตัวทำละลาย ที่ใช้	ปริมาณ policosanol (mg/g ของตัวอย่าง)				ปริมาณ policosanol ทั้งหมด (%w/w)
	Tetracosanol (C ₂₄)	Hexacosanol (C ₂₆)	Octacosanol (C ₂₈)	Triacosanol (C ₃₀)	
ไขอ้อยเริ่มต้น	1.58	0.69	40.24	9.94	5.24
เอทิลอะซิเตท	5.59	3.58	165.78	61.17	23.61
อะซิโตน	3.56	0.86	151.49	27.47	18.34
ไอโซโพรพานอล	4.50	1.66	108.51	9.12	12.38

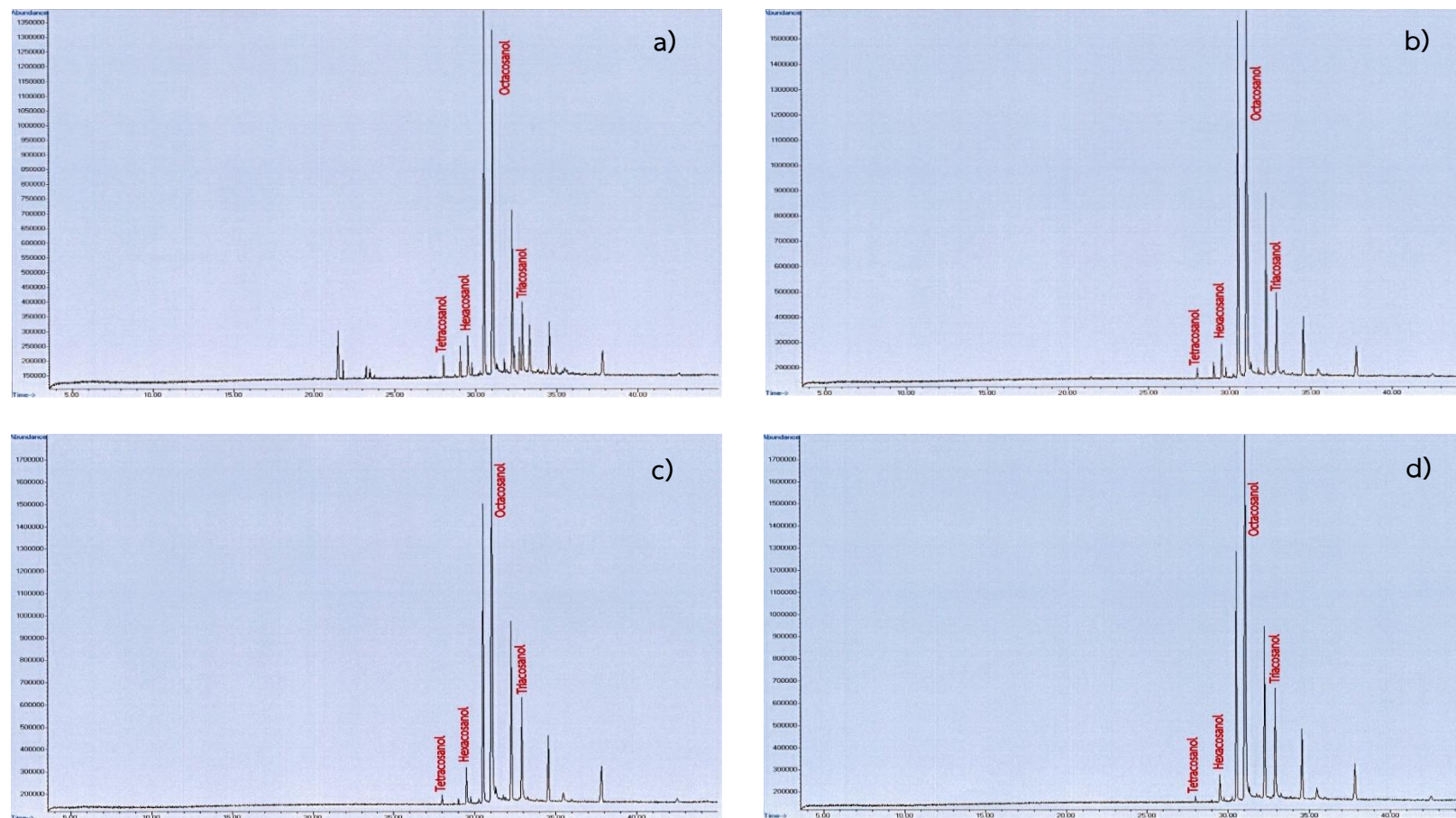
ตัวอย่างไขอ้อยเริ่มต้น (crude wax) ไขอ้อยที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ (refined wax) และตัวทำละลายที่ใช้ในการล้าง (เอทิลอะซิเตท) โดยทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC แสดงในภาพที่ 3.1 เปรียบเทียบของค์ประกอบของสารที่พบในไขอ้อย พบว่า การล้างด้วยเอทิลอะซิเตทสามารถกำจัดสาร phytosterol ออกจากไขอ้อยได้ โดยสังเกตได้จากการที่แถบของสาร phytosterol หายไปในตัวอย่างไขอ้อยที่ผ่านการล้างด้วยเอทิลอะซิเตท และมีแถบของสาร phytosterol ปรากฏอย่างชัดเจนในส่วนของตัวทำละลายที่ใช้ล้าง นอกจากนี้ยังพบ แถบของ fatty acid และ fatty aldehyde ปรากฏอยู่อีกด้วย



ภาพที่ 3.1 Thin layer chromatography ของสารมาตรฐาน (fatty acid, policosanol และ phytosterol) ไขมันเริ่มต้น และไขมันที่ผ่านการสกัดทำให้บริสุทธิ์โดยการล้างด้วยเอทิลอะซิเตท

จากการตรวจสอบด้วยเทคนิค GC-MS พบว่า ตัวอย่างไขมันเริ่มต้นประกอบด้วยสารจำพวก fatty acid, fatty aldehyde, fatty alcohol หรือ policosanol และ phytosterol ส่วนตัวอย่างไขมันผ่านการล้างด้วยเอทิลอะซิเตทซ้ำหลายๆ ครั้ง พบว่า ยังคงมีฟีกของสารจำพวก aldehyde ปรากฏอยู่เช่นเดิม ในขณะที่ฟีกของสารจำพวก fatty acid หายไปบางส่วน (ภาพที่ 3.2) ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการผลวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Thin layer chromatography

เมื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณ policosanol โดยเทียบกับ calibration curve ของสารละลายมาตรฐาน policosanol แต่ละชนิดใน GC-MS พบว่า การล้างด้วยตัวเอทิลอะซิเตท 7 ครั้ง ช่วยให้ตัวอย่างที่ได้มีปริมาณ policosanol ทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 22.84 %(w/w) เป็น 41.29 %(w/w) โดยมีปริมาณ Octacosanol (C_{28}) สูงขึ้นจากเริ่มต้น 174.14 mg/g เป็น 325.12 mg/g และมีปริมาณ Triacosanol (C_{30}) สูงขึ้นจากเริ่มต้น 25.45 mg/g เป็น 63.83 mg/g ในขณะที่ Tetracosanol (C_{24}) มีปริมาณลดลงจาก 8.60 mg/g เป็น 3.98 mg/g ส่วนปริมาณของ Hexacosanol (C_{26}) นั้นไม่เปลี่ยนแปลง (ตารางที่ 3.3) ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการล้างด้วยเอทิลอะซิเตทสามารถกำจัดสารเจือปนอื่นๆ ที่มีในตัวอย่างไขมัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารจำพวก phytosterol จึงส่งผลให้มีปริมาณ policosanol สูงขึ้น



ภาพที่ 3.2 GC-MS โครมาโทแกรมของ (a) ไขอ้อยเริ่มต้น และไขอ้อยที่ผ่านการสกัดแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเอทิลอะซิเตท (b) 3 ครั้ง (c) 5 ครั้ง และ (d) 7 ครั้ง

หมายเหตุ : Tetracosanol (RT=27.989 นาที), Hexacosanol (RT=29.487 นาที), Octacosanol (RT=31.044 นาที), Triacosanol (RT=32.880 นาที)

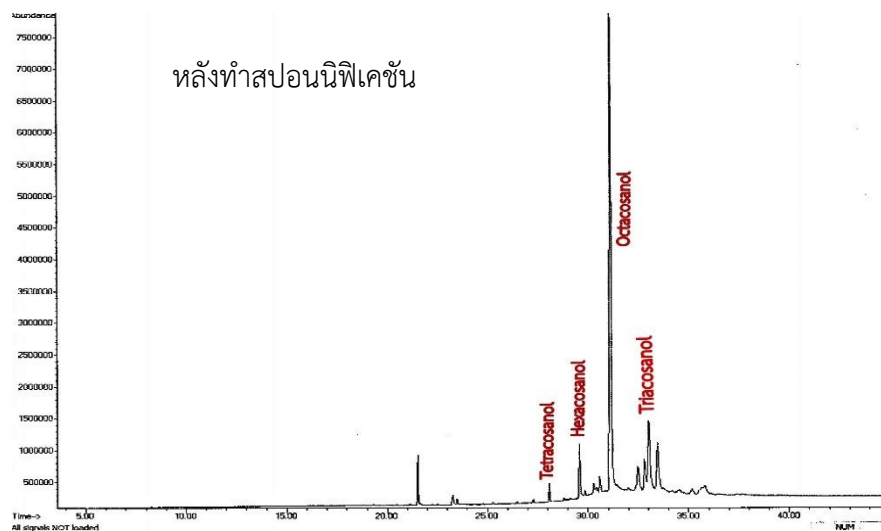
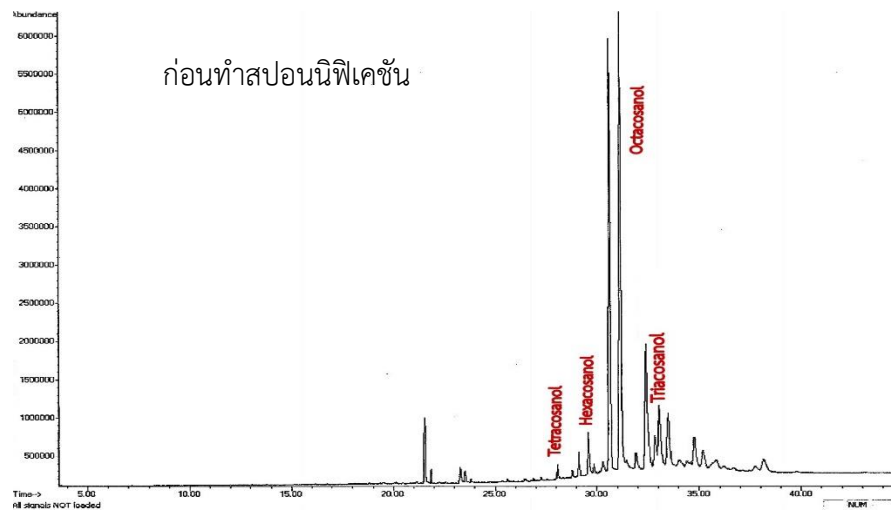
ตารางที่ 3.3 ปริมาณ policosanols ที่วิเคราะห์ได้จากไข่อ้อยที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วยเอทิลอะซิเตท

ตัวทำละลายที่ใช้	จำนวนครั้งของการล้าง	ปริมาณ policosanols (mg/g ของตัวอย่าง)				ปริมาณ policosanols ทั้งหมด (%w/w)
		Tetracosanol (C ₂₄)	Hexacosanol (C ₂₆)	Octacosanol (C ₂₈)	Triacosanol (C ₃₀)	
ไข่อ้อยเริ่มต้น	-	8.60±0.24	20.17±0.05	174.14±3.37	25.45±3.54	22.84±0.29
เอทิลอะซิเตท	3	6.65±0.07	21.80±0.57	244.85±6.23	40.13±3.54	31.34±0.98
	5	6.29±0.27	24.39±1.20	317.40±14.87	61.25±1.09	40.93±1.50
	7	3.98±0.00	20.00±0.97	325.12±18.02	63.83±3.85	41.29±2.28

ข้อมูลในตารางคือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

หมายเหตุ : ตัวอย่างไข่อ้อยที่ใช้ในการทดลองเป็นตัวอย่างจากโครงการย่อยที่ 1

จากการทดลองนำตัวอย่างไขอ้อยมาเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) หรือสaponification เพื่อสลายพันธะเอสเทอร์ด้วยด่างให้ได้เป็น fatty alcohol (policosanol) กับเกลือของ fatty acid จากนั้นนำมากรองแยกส่วนแข็งออกจากสารละลายและล้างด้วยน้ำที่ปราศจากไอออน นำตัวอย่างแห้งที่ได้ไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS พบว่าไม่ปรากฏพีคของสารจำพวก long-chain fatty aldehyde ใน GC-MS โครมาโทแกรมของตัวอย่างไขอ้อยหลังผ่านการทำสaponification แต่ยังคงพบพีคของสาร fatty acid และ phytosterols ปรากฏอยู่ นอกจากนี้ยังสังเกตได้ว่า องค์ประกอบของสาร policosanol ไม่มีการเปลี่ยนแปลง โดยตรวจพบ Tetracosanol (C_{24}), Hexacosanol (C_{26}), Octacosanol (C_{28}) และ Triacosanol (C_{30}) ดังแสดงในภาพที่ 3.3



ภาพที่ 3.3 GC-MS โครมาโทแกรมของไขอ้อยก่อน (ด้านบน) และหลังผ่าน (ด้านล่าง) การทำสaponification (saponification)

หมายเหตุ : Tetracosanol (RT=28.074 นาที), Hexacosanol (RT=29.576 นาที), Octacosanol (RT=31.136 นาที), Triacosanol (RT=33.045 นาที); Phytosterol (RT=33.449 นาที)

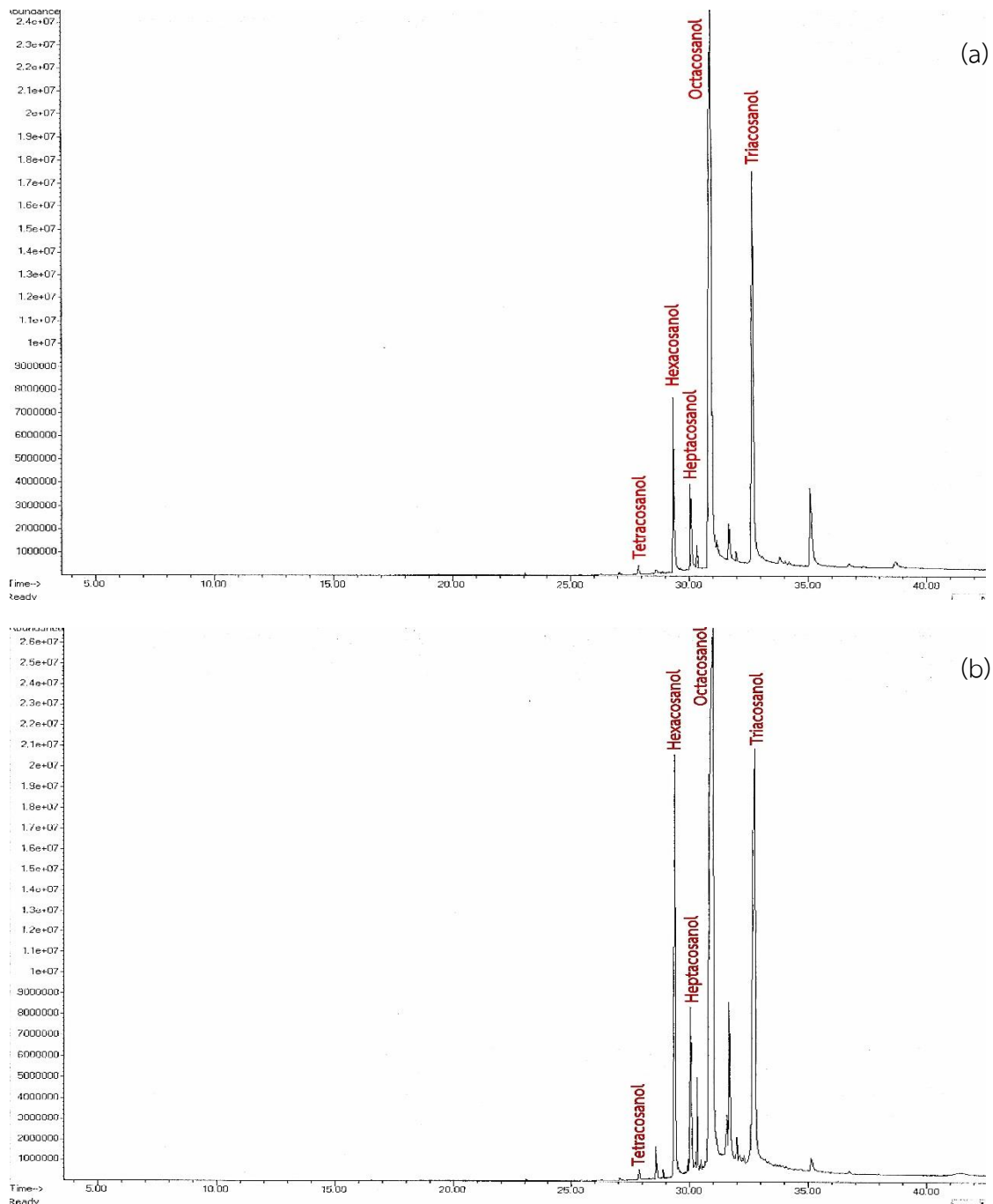
เมื่อให้ความร้อนแกไข้อยู่ในสารละลายที่เป็นเบสภายใต้สภาวะของการทำสaponนิฟิเคชัน สารประกอบ aldehyde 2 โมเลกุล สามารถเกิดปฏิกิริยาควบแน่นกัน ซึ่งเรียกว่า ปฏิกิริยาการควบแน่นแบบแอลดอล (Aldol condensation) ได้ผลิตภัณฑ์เป็น unsaturated aldehyde (Lamberton, 1965) หรืออาจเกิดการสลายตัวเนื่องมาจากการให้ความร้อนเป็นเวลานาน จึงทำให้ไม่พบพีคของ long-chain fatty aldehyde ใน GC-MS โครมาโทแกรม

จากผลการทดลองที่ได้ข้างต้น ผู้วิจัยจึงทำการล้างไข้อยู่ด้วยเอทิลอะซิเตทร้อนเพื่อกำจัดสารจำพวก phytosterol ออกก่อน แล้วจึงนำตัวอย่างที่ได้มาทำปฏิกิริยาสaponนิฟิเคชันเพื่อกำจัด long-chain fatty aldehyde อีกทั้งยังทำให้ไข้อยู่ถูกสกัดออกมาอยู่ในรูปของ fatty alcohol และเกลือของกรดไขมัน จากนั้นจึงทำการสกัดแยกสาร policosanol ออกจากไข้อยู่ ซึ่งพบว่า สารสกัด policosanol ที่ได้มีปริมาณผลได้ของสารสกัด (yield) เท่ากับ 20.18% (w/w) และมีความบริสุทธิ์ 78.29%(w/w) โดยปริมาณและองค์ประกอบของสาร policosanol ที่สกัดได้แสดงดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 ปริมาณและองค์ประกอบของสาร policosanol ที่สกัดได้

องค์ประกอบ	เปอร์เซ็นต์ (%w/w)
ปริมาณผลได้ของสารสกัด (yield)	20.18±0.36
ปริมาณสาร policosanol ทั้งหมด	78.29 ±4.08
Tetracosanol (C ₂₄)	0.18±0.04
Hexacosanol (C ₂₆)	3.11±0.22
Heptacosanol (C ₂₇)	1.78±0.03
Octacosanol (C ₂₈)	61.28±2.80
Triacosanol (C ₃₀)	11.94±1.07

ภาพที่ 3.4 แสดง GC-MS โครมาโทแกรมของสาร policosanol ที่สกัดได้จากไข้อยู่ในการวิจัยครั้งนี้ โดยเปรียบเทียบกับ commercial policosanol ซึ่งพบว่า มีองค์ประกอบของสาร policosanol ไม่แตกต่างกัน โดยตรวจพบ Tetracosanol (C₂₄), Hexacosanol (C₂₆), Heptacosanol (C₂₇), Octacosanol (C₂₈) และ Triacosanol (C₃₀) ซึ่งในกรณีของ Heptacosanol (C₂₇) นั้นสังเกตได้ว่า ไม่ปรากฏพีคของสารดังกล่าวในตัวอย่างไข้อยู่ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์และปฏิกิริยาสaponนิฟิเคชัน ทั้งนี้เนื่องจากสารดังกล่าวมีสัดส่วนค่อนข้างน้อยและพิกอยู่ในตำแหน่งที่ใกล้เคียงกับ long-chain fatty aldehyde (Octacosanol; C₂₈) จึงทำให้ไม่สามารถตรวจพบ



ภาพที่ 3.4 GC-MS โครมาโทแกรมของ (a) สารสกัด policosanol จากไขอ้อย และ (b) commercial policosanol

หมายเหตุ : Tetracosanol (RT=27.86 นาที), Hexacosanol (RT=29.39 นาที), Heptacosanol (RT=30.08 นาที), Octacosanol (RT=30.84 นาที), Triacosanol (RT=32.65 นาที)



ภาพที่ 3.5 สาร policosanol ที่สกัดได้จากไขอ้อย

ภาพที่ 3.5 แสดงลักษณะปรากฏของสาร policosanol ที่สกัดแยกได้จากไขอ้อย โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นผงสีขาวละเอียด ไม่มีกลิ่น ซึ่งตัวอย่างดังกล่าวจะถูกนำมาใช้ในการศึกษากระบวนการเตรียมสาร policosanol ในรูปแบบของสูตรตำรับที่มีวัตถุประสงค์ควบคุมการปลดปล่อยต่อไป

3.2 การศึกษาสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของอนุภาคนำส่งสาร policosanol

จากการศึกษากระบวนการเตรียมสาร policosanol ให้อยู่ในระบบของอิมัลชัน เพื่อใช้สำหรับการขึ้นรูป policosanol ในรูปแบบของสูตรตำรับที่มีวัตถุประสงค์ควบคุมการปลดปล่อย โดยใช้ HI-CAP® 100 หรือ octenyl succinic anhydride starch (OSA-starch) ร่วมกับมอลโทเดกซ์ทรินที่อัตราส่วนต่างๆ พบว่า สารละลายอิมัลชันที่เตรียมได้มีลักษณะสีขาวขุ่น ดังแสดงในภาพที่ 3.6 โดยเมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน เพื่อประเมินความคงตัวทางกายภาพของอิมัลชัน พบว่า สูตรอิมัลชันที่ใช้ HI-CAP® 100 ร่วมกับมอลโทเดกซ์ทรินที่อัตราส่วน H25/M75 และ H0/M100 เกิดการแยกชั้น ทั้งนี้เนื่องจากมอลโทเดกซ์ทรินนั้นไม่มีคุณสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (Carneiro et al., 2013) ดังนั้นเมื่อใช้ในปริมาณที่มากขึ้นจึงทำให้อิมัลชันที่ได้มีความคงตัวต่ำ ซึ่งในทางตรงกันข้ามการเพิ่มปริมาณ HI-CAP® 100 ในสูตรนั้นช่วยให้เตรียมเป็นสารละลายอิมัลชันได้ง่ายขึ้น เพราะ HI-CAP® 100 เป็นสตาร์ชดัดแปร (modified starch) ที่เตรียมได้จากปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน (esterification) ระหว่างสตาร์ชกับ anhydrous octenyl succinic acid ภายใต้สภาวะความเป็นด่าง (alkaline condition) ซึ่งเป็นการเพิ่ม hydrophobic side chain ให้แก่โมเลกุลของสตาร์ช จึงทำให้ภายในโครงสร้างโมเลกุลมีทั้งส่วนที่เป็น hydrophilic และ lipophilic ดังนั้น HI-CAP® 100 จึงมีคุณสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอิมัลชันชนิด

น้ำมันในน้ำ (oil in water emulsion) เนื่องจากโมเลกุลสามารถ adsorb ได้ที่ interface ของน้ำ และน้ำมัน (Dokić et al., 2008; Xie et al., 2010b)



ภาพที่ 3.6 ลักษณะปรากฏของสารละลายอิมัลชันของ policosanol จากไขอ้อย

ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Przybysz et al. (2016) ที่ศึกษาผลของการใช้ carrier materials 3 ชนิด ได้แก่ มอลโทเดกซ์ทริน กัมอารบิก และสตาร์ชดัดแปรชนิด OSA ที่อัตราส่วนต่างๆ ในการเอนแคปซูเลชันเบต้าแคโรทีนด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งพบว่า สูตรที่ใช้สตาร์ชดัดแปรชนิด OSA ในสัดส่วนที่สูงให้สารละลายอิมัลชันที่มีความคงตัวมากที่สุด โดยในระบบอิมัลชันนั้นสตาร์ชดัดแปรชนิด OSA จะเกิดเป็น thick adsorptive layer บน surface ของ oil droplet และเกิดการเชื่อมขวาง (cross-linking) ขึ้นในเฟสของน้ำ จึงช่วยป้องกันการรวมตัวของ oil droplet นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้มอลโทเดกซ์ทรินในสัดส่วนที่สูงให้อิมัลชันที่มีความคงตัวต่ำ เนื่องจากขาดคุณสมบัติอิมัลซิไฟเออร์จึงส่งผลให้การกระจายตัวของ lipid components เป็นไปได้อย่างยาก

นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Noello et al. (2016) ที่ศึกษาการเตรียมอิมัลชันของ chia oil สำหรับการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้เทคนิค electrostatic layer-by-layer deposition ซึ่งเป็นการเติมสารพอลิแซ็กคาไรด์ลงในอิมัลชันที่ได้จากน้ำมันและโปรตีน เพื่อให้อิมัลชันมีความคงตัวมากขึ้น จากการวิจัยดังกล่าวพบว่า อิมัลชันที่เตรียมโดยใช้ whey protein concentrate (WPC) ร่วมกับมอลโทเดกซ์ทริน (DE 10) เกิดการแยกชั้นเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง ภายหลังกระบวนการ homogenization ทั้งนี้เนื่องจากมอลโทเดกซ์ทรินไม่สามารถจับกับ WPC layer ได้ เพราะไม่เกิด interaction ระหว่างประจุ ในขณะที่การใช้ WPC ร่วมกับ HI-CAP® 100 ให้ อิมัลชันที่มีความคงตัวสูง ซึ่งเป็นผลมาจากคุณสมบัติในการเป็นสารลดแรงตึงผิวของ HI-CAP® 100

ส่วนที่เป็น lipophilic groups จึงสามารถเข้าไปจับอนุภาค oil droplets ได้ในระหว่างกระบวนการ homogenization ทำให้สามารถช่วยรักษาเสถียรภาพอิมัลชัน

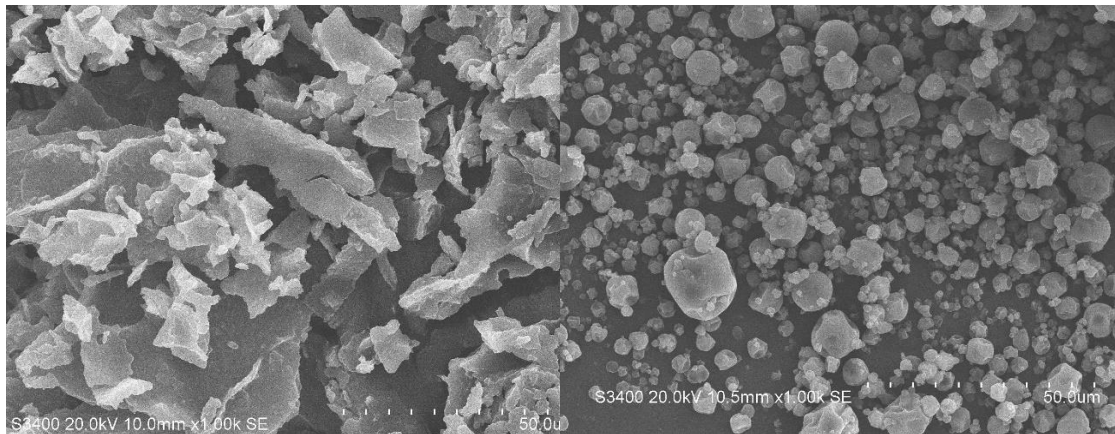


ภาพที่ 3.7 ลักษณะปรากฏของผงอนุภาคนำส่ง policosanol ที่เตรียมโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (ซ้าย) และการทำแห้งแบบพ่นฝอย (ขวา)

เมื่อนำสารละลายอิมัลชันของ policosanol จากไขอ้อยแต่ละสูตรไปผ่านกระบวนการทำแห้งพบว่า อนุภาคนำส่ง policosanol ที่เตรียมได้จากกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มสีขาว ในขณะที่วิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยให้อนุภาคนำส่ง policosanol ที่มีลักษณะเป็นผงสีขาว (ภาพที่ 3.7) ซึ่งลักษณะที่แตกต่างกันเกิดขึ้นเนื่องจากการทำแห้งทั้งสองวิธีมีกลไกในการระเหยนํ้าออกจากสารละลายที่ไม่เหมือนกัน โดยการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะเป็นการนำสารละลายอิมัลชันไปสเปรย์ผ่านหัว atomizer ให้เป็น droplet ขนาดเล็ก เมื่อกระทบกับลมร้อนภายใน chamber น้ำที่เป็นองค์ประกอบในอิมัลชันก็จะเกิดการระเหยออกไป ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นผงที่ละเอียดมาก โดยทั่วไปมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาคอยู่ในช่วง 10-100 ไมครอน (Madene et al., 2006) ส่วนเทคนิคการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งนั้น เป็นกระบวนการทำแห้งภายใต้สภาวะอุณหภูมิต่ำและความดันต่ำ (Morais et al., 2016) โดยในขั้นแรกจะทำการลดอุณหภูมิลงจนถึงจุดเยือกแข็งหรือต่ำกว่าจุดเยือกแข็งเพื่อนํ้าในสารละลายเปลี่ยนสถานะเป็นผลึกน้ำแข็งก่อน จากนั้นจึงลดความดันลงเพื่อให้ผลึกน้ำแข็งเกิดการระเหิดเปลี่ยนสถานะเป็นไอออกไปจากผิวหน้าของตัวอย่าง เกิดเป็นช่องว่างหรือรูพรุนขึ้นภายในโดยมี solid network ช่วยพยุงโครงสร้างไว้ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะอยู่ในรูป amorphous solid (ปณณธร, 2547; Madene et al., 2006; Farias et al., 2007)

- การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

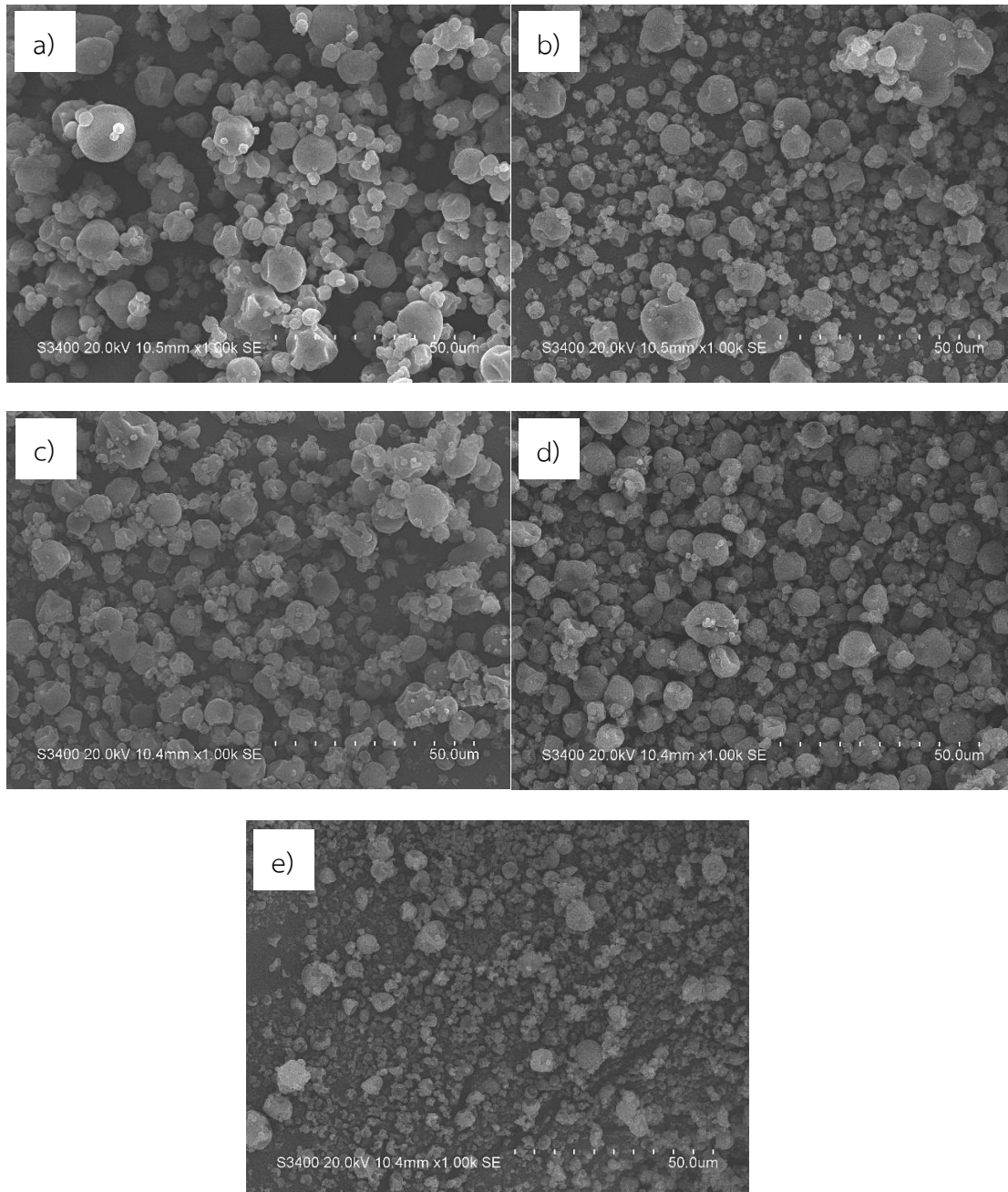
ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM) แสดงให้เห็นถึงลักษณะโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันของผงอนุภาคนำส่ง policosanol ที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและการทำแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งจากภาพที่ 3.8 สังเกตได้ว่า อนุภาคที่ได้จากการทำแห้งแบบพ่นฝอยให้อนุภาคที่มีลักษณะกลม พื้นผิวด้านนอกค่อนข้างเรียบ ในขณะที่การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีลักษณะเป็นแผ่น (sheet) หรือคล้ายกับเศษแก้วแตก รูปร่างไม่แน่นอน ซึ่งเป็นผลมาจากการบด (grinding) ภายหลังการทำแห้ง เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Chen et al. (2013) และ Samakradhamrongthai et al. (2015)



ภาพที่ 3.8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนำส่ง policosanol ที่เตรียมโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (ซ้าย) และการทำแห้งแบบพ่นฝอย (ขวา)

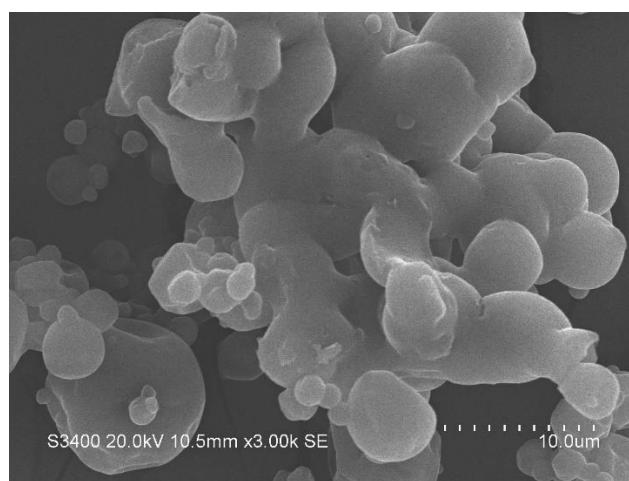
ภาพที่ 3.9 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนำส่ง policosanol ที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยซึ่งเตรียมโดยใช้ HI-CAP® 100 ร่วมกับมอลโทเดกซ์ทรินที่อัตราส่วนต่างๆ จากภาพสังเกตได้ว่า บริเวณพื้นผิวด้านนอกของอนุภาคที่ได้ไม่มีโพรงช่องว่างหรือรอยแตกหัก ซึ่งลักษณะดังกล่าวบ่งชี้ให้เห็นถึงการเตรียมสารละลายอิมัลชันที่มีความคงตัวก่อนการทำแห้งแบบพ่นฝอยและการมีประสิทธิภาพในกระบวนการกักเก็บที่สูง (Xie et al., 2010a; Santana et al., 2014) ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Xie et al. (2010b) ที่ศึกษาผลของการเอนแคปซูเลชัน (encapsulation) วิตามินเอ ด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้ HI-CAP® 100 เป็น wall material ซึ่งพบว่า ไมโครแคปซูล (microcapsules) ที่ได้มีลักษณะเป็นทรงกลมที่มีรอยยุบตัวบริเวณพื้นผิว ซึ่งเกิดขึ้นจากการหดตัวของ liquid droplets หรือ wall material ในระหว่างขั้นตอนการทำ

แห้ง (drying) และการระบายความร้อน (cooling) ที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว อีกทั้งยังเกี่ยวข้องกับการใช้ wall material ที่มีสัดส่วนของคาร์โบไฮเดรตในปริมาณที่สูงอีกด้วย



ภาพที่ 3.9 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนำส่ง policosanol ที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยซึ่งเตรียมโดยใช้ HI-CAP® 100 ร่วมกับมอลโทเดกซ์ทรินที่อัตราส่วนต่างๆ a) H100/M0 b) H75/M25 c) H50/M50 d) H25/M75 และ e) H100/M0

นอกจากนี้ Carneiro et al. (2013) รายงานว่า การใช้มอลโทเดกซ์ทรินร่วมกับ HI-CAP® 100 เป็น wall material ในการเอนแคปซูเลชันน้ำมันเมล็ดแฟลกซ์ (flaxseed oil) ช่วยทำให้อนุภาคผงแห้งที่ได้มีพื้นผิวที่เรียบ และเกิดการยุบตัวน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้มอลโทเดกซ์ทรินร่วมกับ gum Arabic, whey protein concentrate และสตาร์ชดัดแปร Capsul TA® นอกจากนี้ยังมีค่า encapsulation efficiency สูงที่สุด ซึ่งแสดงให้เห็นว่า wall material ดังกล่าว มีประสิทธิภาพที่ดีในการห่อหุ้มและกักเก็บ active material ไว้ภายใน matrix



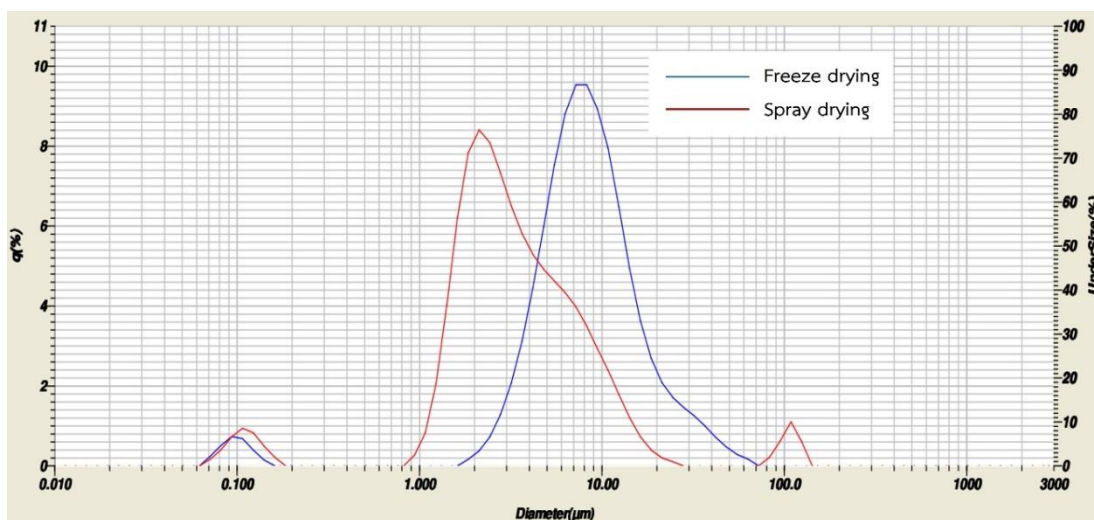
ภาพที่ 3.10 ภาพถ่ายจากกล้อง SEM ที่กำลังขยาย 3000 เท่า ของอนุภาคนำส่ง policosanol ที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยซึ่งเตรียมโดยใช้ HI-CAP® 100 เป็น wall material

จากผลการศึกษาลักษณะโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนำส่ง policosanol ยังสังเกตได้อีกว่า การใช้สัดส่วนของ HI-CAP® 100 ในปริมาณที่สูง ส่งผลให้โครงสร้างภายนอกของอนุภาคผงแห้งที่ได้บางส่วนเกิดการรวมตัวและเชื่อมติดกัน (fusion) ดังแสดงในภาพที่ 3.10 ทั้งนี้เนื่องจาก HI-CAP® 100 ดูดความชื้นจากบรรยากาศได้ดี ทำให้อนุภาคจับกันเป็นก้อนและสูญเสียรูปทรงได้ง่าย Liang et al. (2013) ศึกษาการเตรียมผงอนุภาคเบต้าแคโรทีนนาโนอิมัลชัน (beta-carotene nanoemulsions) ด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยพบว่า อนุภาคผงแห้งที่เตรียมได้จากการใช้ OSA-modified starches ชนิด HI-CAP เป็น wall materials มีลักษณะเป็นทรงกลม พื้นผิวโค้งมน และมีการยุบตัวเล็กน้อย เมื่อเก็บรักษาไว้ในสภาวะที่มีค่าความชื้นสัมพัทธ์แตกต่างกัน และนำไปตรวจสอบลักษณะพื้นผิวภายนอกของผงอนุภาคด้วยกล้อง SEM พบว่า ผงอนุภาคเบต้าแคโรทีนนาโนอิมัลชันเกิดการ rehydration และเกาะติดกันหลังจากเก็บรักษาไว้ที่ 52%RH เป็นเวลา 10 วัน และรูปร่างเสียสภาพหลังจากเก็บรักษาไว้ที่ 75%RH เป็นเวลา 10 วัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า

ความชื้นสัมพัทธ์ที่สูงทำให้โครงสร้าง matrix เกิดการ collapse และมีลักษณะค่อนข้างเหนียว เนื่องจากตัวอย่างดูดซับความชื้นจากบรรยากาศได้มากขึ้น

- การวิเคราะห์ขนาดและประจุบนผิวอนุภาคของอิมัลชัน

เมื่อนำผงอนุภาคนำส่ง policosanol ที่เตรียมโดยใช้วิธีการทำแห้งทั้งสองวิธีมากระจายตัวในน้ำอีกครั้งแล้วนำไปศึกษาขนาดและการกระจายขนาดของอิมัลชันที่เกิดขึ้นด้วยเทคนิค Laser diffraction พบว่า มีขนาดอนุภาคของอิมัลชัน (median size; Dv50) อยู่ในช่วง 2.44 - 17.09 ไมครอน และมีค่าความกว้างในการกระจายตัวของอนุภาค (Span) อยู่ในช่วง 1.97 - 2.66 โดยผงอนุภาคนำส่ง policosanol ที่เตรียมได้จากวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยให้อิมัลชันที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งดังแสดงในตารางที่ 3.5 และภาพที่ 3.11 ดังนั้น การทำแห้งแบบพ่นฝอยจึงเป็นวิธีที่เหมาะสมในการเตรียมอนุภาคนำส่ง policosanol มากกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง



ภาพที่ 3.11 การกระจายขนาด (particle size distribution) ของอิมัลชันที่ได้จากอนุภาคนำส่ง policosanol

นอกจากยังพบว่า การเพิ่มปริมาณ HI-CAP® 100 ในสูตรสารละลายอิมัลชันมีแนวโน้มทำให้ผงอนุภาคนำส่ง policosanol ภายหลังจากการทำแห้งที่ได้มีขนาดอนุภาคเล็กลง ซึ่งโดยทั่วไปขนาดอนุภาคของผงแห้งที่ได้จากกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยนั้นขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ขนาดและตำแหน่งของ spray nozzle อัตราเร็วในการป้อนสารละลาย ความเข้มข้นของสารละลาย และความดันที่ใช้ในการพ่นฝอย ซึ่งในการทดลองนี้ผู้วิจัยได้เตรียมสารละลายอิมัลชันภายใต้สภาวะเดียวกัน

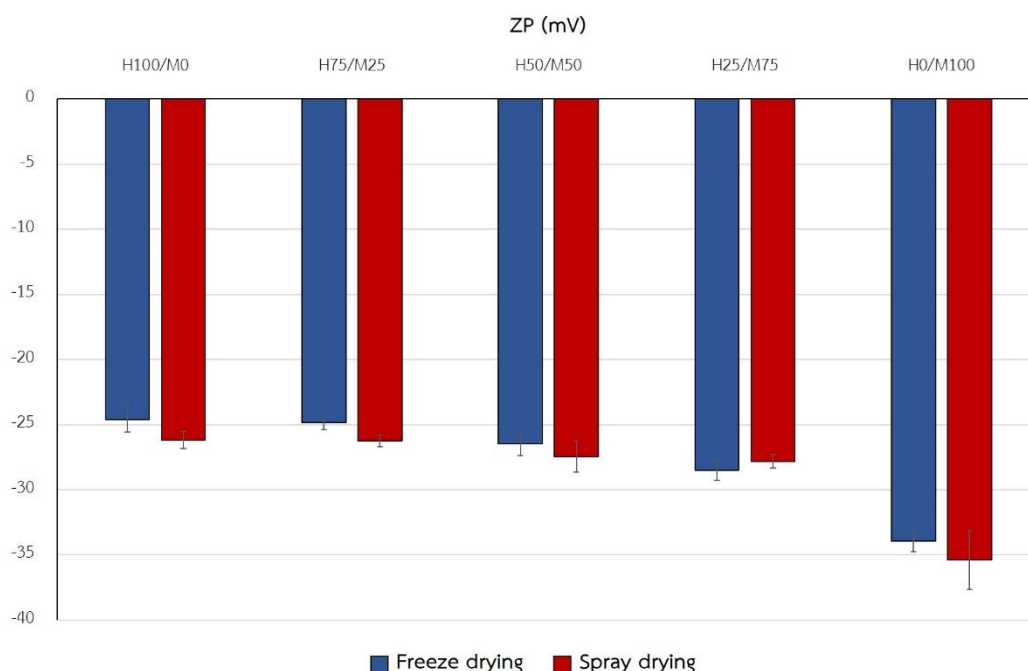
ดังนั้นขนาดอนุภาคที่แตกต่างกันในแต่ละสูตรนั้นเกิดขึ้นเนื่องจากคุณสมบัติและอัตราส่วนของสาร wall material ที่ใช้ โดยมอลโทเดกซ์ทรินมีคุณสมบัติเป็น film forming agent สามารถทำให้เกิดเมทริกซ์ซึ่งมีส่วนสำคัญในการทำให้เกิดการเคลือบผิว ละลายน้ำได้ดีและมีความหนืดต่ำ แต่อย่างไรก็ตาม มอลโทเดกซ์ทรินนั้นไม่มีคุณสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์และกักเก็บสารประเภทที่เป็น volatile compounds ได้น้อย (Madene et al., 2006) จึงนิยมใช้ร่วมกับ wall material ชนิดอื่นที่สามารถทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในระบบ ดังนั้นเมื่อปริมาณ HI-CAP® 100 ซึ่งเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ลดลง จึงส่งผลให้อนุภาคอิมัลชันที่ได้มีขนาดใหญ่ขึ้น เนื่องจาก policosanol ที่เป็นสารแกนกลาง (core material) มีคุณสมบัติไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) ซึ่งไม่ละลายในน้ำ

ตารางที่ 3.5 ขนาด และการกระจายขนาดอนุภาค (Span) ของอิมัลชันที่ได้จากอนุภาคนำส่ง policosanol

อัตราส่วน H/M	วิธีการทำแห้ง	Dv10 (µm)	Dv50 (µm) Median diameter	Dv90 (µm)	Mean diameter (µm)	Span
H100/M0	Spray drying	1.37±0.01	2.44±0.03	7.61±0.93	4.40±1.34	2.55±0.35
	Freeze drying	2.04±0.15	4.56±0.66	11.04±0.83	6.93±1.42	1.99±0.14
H75/M25	Spray drying	1.60±0.01	3.01±0.11	8.44±0.83	6.83±2.93	2.27±0.19
	Freeze drying	1.36±0.01	2.62±0.02	8.32±0.60	5.83±1.59	2.66±0.21
H50/M50	Spray drying	1.47±0.03	3.10±0.08	8.32±1.53	6.20±2.17	2.21±0.56
	Freeze drying	3.17±0.11	9.68±0.53	26.68±5.24	12.88±1.68	2.41±0.42
H25/M75	Spray drying	1.53±0.03	2.80±0.21	7.23±0.68	4.65±0.50	2.03±0.13
	Freeze drying	2.16±0.13	7.46±0.70	21.48±1.40	11.58±1.69	2.60±0.08
H0/M100	Spray drying	2.13±0.05	6.96±0.19	15.85±0.24	10.30±2.57	1.97±0.09
	Freeze drying	4.46±0.78	17.09±1.45	45.95±4.77	22.57±2.71	2.43±0.04

ข้อมูลในตารางคือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

จากการวิเคราะห์ประจุบนผิวอนุภาค โดยการวัดค่า zeta potential (ZP) ซึ่งเป็นค่าความต่างศักย์ระหว่างศักย์ไฟฟ้าบริเวณพื้นผิวอนุภาคกับศักย์ไฟฟ้าในชั้นสารละลาย เพื่อศึกษาความคงตัวทางกายภาพของอิมัลชันที่เกิดขึ้นภายหลังการนำผงอนุภาคนำส่ง policosanol ที่ผ่านการทำแห้งมากระจายตัวในน้ำอีกครั้ง โดยถ้ามีค่า ZP เป็นบวกหรือลบน้อยๆ หรือเท่ากับศูนย์ แสดงว่าอิมัลชันมีแรงผลักระหว่างอนุภาคน้อยส่งผลให้มีแนวโน้มที่เกิดการเกาะกลุ่มกันได้ง่าย มีเสถียรภาพการกระจายตัวที่ต่ำ ซึ่งโดยทั่วไปหากระบบอิมัลชันมีค่า ZP อยู่ในช่วงที่มากกว่า +30 mV หรือน้อยกว่า -30 mV แสดงว่าระบบดังกล่าวมีเสถียรภาพ ซึ่งจากการทดลองพบว่า เมื่อนำผงอนุภาคนำส่ง policosanol แต่ละสูตรไปกระจายตัวในน้ำ ระบบอิมัลชันที่เกิดขึ้นมีค่า ZP เป็นลบ อยู่ในช่วงระหว่าง -35.39 ถึง -24.60 (ภาพที่ 3.12) โดยการเพิ่มปริมาณมอลโทเดกซ์ทรินในสูตรมีแนวโน้มให้ค่า ZP ที่เป็นลบมากขึ้น



ภาพที่ 3.12 ประจุบนผิวอนุภาค (zeta potential) ของอิมัลชันที่ได้จากอนุภาคนำส่ง policosanol

เมื่อพิจารณาถึงผลของเทคนิคการทำแห้งที่มีต่อลักษณะกายภาพ ขนาดและประจุบนผิวอนุภาคอิมัลชันของอนุภาคนำส่ง policosanol ที่ได้ พบว่า วิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยให้ผลิตภัณฑ์ผงแห้งที่มีคุณสมบัติดีกว่าวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยมีลักษณะเป็นผงละเอียดและให้อนุภาคของอิมัลชันที่มีขนาดเล็กกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับในสูตรเดียวกัน นอกจากนี้ยังมีค่าประจุบนผิวอนุภาค

เป็นลบมากๆ ซึ่งบ่งชี้ให้เห็นว่ามีเสถียรภาพในการกระจายตัวภายหลังการ rehydration ดังนั้นผู้วิจัยจึงนำอนุภาคนำส่ง policosanol จากการทำแห้งแบบพ่นฝอยในแต่ละสูตรที่มีการใช้ HI-CAP® 100 ร่วมกับมอลโทเดกซ์ทรินในอัตราส่วนที่แตกต่างกันไปทำการวิเคราะห์ค่าการดูดความชื้น (hygroscopicity) และสมบัติการไหล (flowability) เพื่อคัดเลือกสูตรตำรับที่เหมาะสมในการตอกขึ้นรูปเป็นเม็ดต่อไป

- การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (moisture content) และค่าการดูดความชื้น (hygroscopicity)

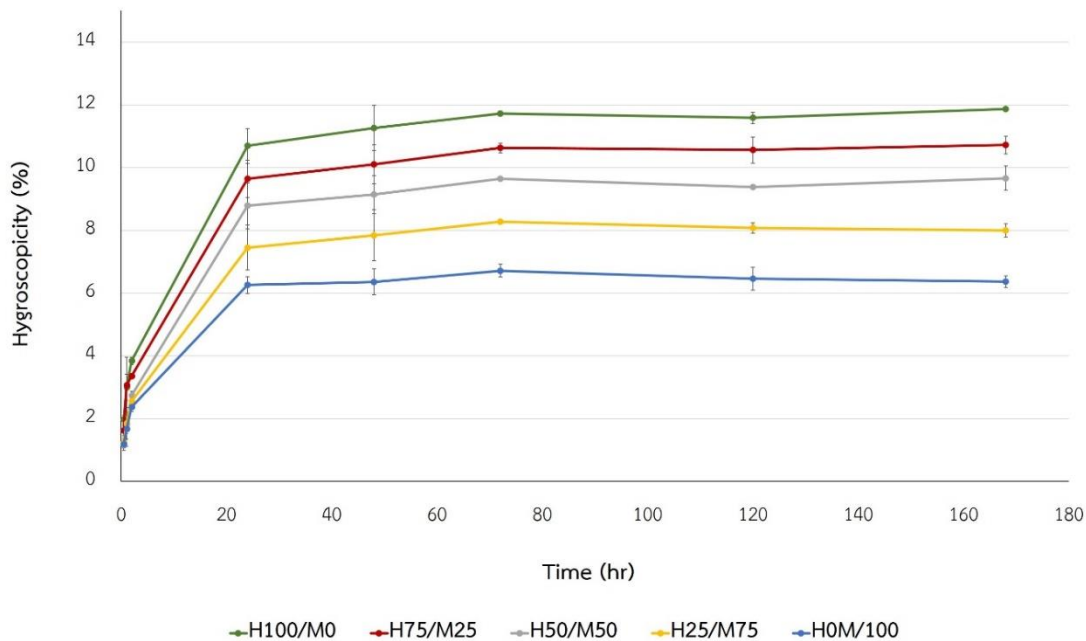
จากการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นของผงอนุภาคนำส่ง policosanol แต่ละสูตรพบว่า มีปริมาณความชื้นอยู่ในช่วง 5.35 - 6.52 % (ตารางที่ 3.6) ซึ่งในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยนั้น อุณหภูมิลมร้อนขาเข้า (inlet air temperature) และอัตราการไหลของตัวอย่างขาเข้า (feed flow rate) เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ผงแห้งที่ได้ โดยการเพิ่มอุณหภูมิลมร้อนขาเข้าจะทำให้เกิดการถ่ายเทความร้อนตามระดับการเปลี่ยนอุณหภูมิ (temperature gradient) ระหว่างละอองตัวอย่างกับอากาศร้อนที่เคลื่อนที่อยู่ด้านในเครื่องมากขึ้น ส่งผลให้การระเหยนํ้าดีขึ้น และได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่มีความชื้นต่ำ ส่วนในกรณีของอัตราการไหลของตัวอย่างขาเข้านั้น พบว่าอัตราการไหลที่สูงขึ้นทำให้ระยะเวลาในการสัมผัสกันระหว่างอากาศร้อนและตัวอย่างน้อยลง จึงส่งผลให้การถ่ายเทความร้อนและการระเหยนํ้ามีประสิทธิภาพลดลง (Tonon et al., 2008) ซึ่งในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ทำแห้งสารละลายอิมัลชันแต่ละสูตรภายใต้สภาวะเดียวกัน จึงทำให้ผงอนุภาคนำส่ง policosanol ที่ได้มีปริมาณความชื้นใกล้เคียงกัน

ความชื้นนั้นถือว่าเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ผง (powdered products) เนื่องจากเป็นตัวบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการทำแห้ง รวมทั้งอุณหภูมิที่มีผลกระทบต่ออายุการเก็บรักษา (shelf life) และการเกาะติดกัน (adhesiveness) ของผลิตภัณฑ์ผง เนื่องจากน้ำสามารถทำหน้าที่เป็น plasticizing agent หากผลิตภัณฑ์มีความชื้นสูงจะทำให้มีอุณหภูมิในการเกิดกลาสทรานซิชัน (glass transition temperature; T_g) ต่ำลง ซึ่งโดยทั่วไปผลิตภัณฑ์อาหารแห้งควรมีปริมาณความชื้นอยู่ในช่วง 3-10% (Santana et al., 2014) Tonon et al. (2008) รายงานว่า อนุภาคผงแห้งที่มีปริมาณความชื้นต่ำจะมีค่าการดูดความชื้นสูง เนื่องจากความแตกต่างของปริมาณความชื้นระหว่างผลิตภัณฑ์กับอากาศรอบๆ มากขึ้น ทำให้สามารถดูดซับความชื้นได้ดีขึ้น

ตารางที่ 3.6 ปริมาณความชื้นของผงอนุภาคนำส่ง policosanol สูตรต่างๆ

H/M weight ratio	ปริมาณความชื้น (%)
100/0	5.87±0.06
75/25	5.56±0.10
50/50	5.35±0.13
25/75	5.62±0.20
0/100	6.52±0.46

เมื่อนำผงอนุภาคนำส่ง policosanol ที่เตรียมได้จากวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยไปทำการวิเคราะห์ค่าการดูดความชื้น (hygroscopicity) ดังแสดงในภาพที่ 3.13 พบว่า การเพิ่มปริมาณมอลโทเดกซ์ทรีนในสูตรอิมัลชันที่เป็น feed solutions สำหรับการทำแห้งแบบพ่นฝอย มีแนวโน้มช่วยลดค่าการดูดความชื้นของผลิตภัณฑ์ผงแห้งที่ได้ ทั้งนี้เนื่องจากคุณสมบัติของมอลโทเดกซ์ทรีนที่มีค่าการดูดความชื้นต่ำ (Tonon et al., 2008) อีกทั้งยังสามารถช่วยป้องกันการเกาะเป็นก้อน (anticaking agent) อีกด้วย เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Soottitantawat et al. (2004) ซึ่งพบว่า การใช้ Hicap® 100 ร่วมกับมอลโทเดกซ์ทรีนเป็น wall materials ในการห่อหุ้ม D-Limonene โดยใช้เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย สามารถช่วยลดการดูดความชื้นของอนุภาคผงแห้งที่ได้เมื่อเทียบกับการใช้เฉพาะ Hicap® 100 เพียงอย่างเดียว



ภาพที่ 3.13 ค่าการดูดความชื้น (hygroscopicity) ของผงอนุภาคนำส่ง policosanol สูตรต่างๆ

นอกจากนี้ยังมีการวิจัยพบว่า เมื่อใช้มอลโทเดกซ์ทรีนที่มีค่า DE ต่างกัน (10-25 DE) เป็น carrier agents จะส่งผลให้คุณสมบัติในการดูดความชื้นของผลิตภัณฑ์ผงแห้งที่ได้จากกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยแตกต่างกัน โดยค่าการดูดความชื้นของผงแห้งจะเพิ่มขึ้นเมื่อน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) ของมอลโทเดกซ์ทรีนลดลง เนื่องจากมอลโทเดกซ์ทรีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำนั้นประกอบด้วยโมเลกุลสายสั้นๆ และมีส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic group) มากกว่า จึงดูดซับความชื้นจากบรรยากาศได้ง่าย (Cai and Corke, 2000; Phisut, 2012)

- การศึกษาสมบัติการไหล

สมบัติการไหล (flowability) ของผงอนุภาคถือว่ามีความสำคัญอย่างมากต่อกระบวนการผลิตยาเตรียมในรูปแบบของแข็ง (solid dosage form) เนื่องจากเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อความสม่ำเสมอของตัวยาหรือสารสำคัญในการเตรียมแต่ละหน่วย จากการประเมินสมบัติการไหลของผงอนุภาคนำส่ง policosanol โดยวิเคราะห์ค่า Carr's compressibility index และ Hausner ratio ซึ่งเป็นค่าที่สามารถบอกได้ถึงความหนาแน่นขนาดและรูปร่าง พื้นที่ผิว ความชื้น และการยึดเกาะกันของผงอนุภาคในทางอ้อม (เขาวลิตและคณะ, 2557) จากตารางที่ 3.7 พบว่า ผงอนุภาคนำส่ง policosanol แต่ละสูตรมีค่า Carr's compressibility index และ Hausner ratio อยู่ในช่วง 15.63 - 25.40 % และ 1.19 - 1.34 ตามลำดับ ซึ่งมีสมบัติการไหลแบบ Fair และ Passable โดยสูตรตำรับ

ที่มีการใช้ Hicap® 100 ร่วมกับมอลโทเดกซ์ทรินในอัตราส่วน H50/M50 ให้ค่า Carr's compressibility index (15.63%) และ Hausner ratio (1.19) น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับสูตรตำรับอื่นๆ ทั้งนี้เมื่อพิจารณาร่วมกับปริมาณความชื้นของผงอนุภาคพบว่า สูตร H50/M50 มีปริมาณความชื้นน้อยที่สุดเช่นกัน (ตารางที่ 3.6) เนื่องจากความชื้นทั้งในผงอนุภาคและสภาวะแวดล้อมมีผลต่อการไหล

ตารางที่ 3.7 ค่า Carr's compressibility index และ Hausner ratio ของผงอนุภาคนำส่ง policosanol ที่เตรียมโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย

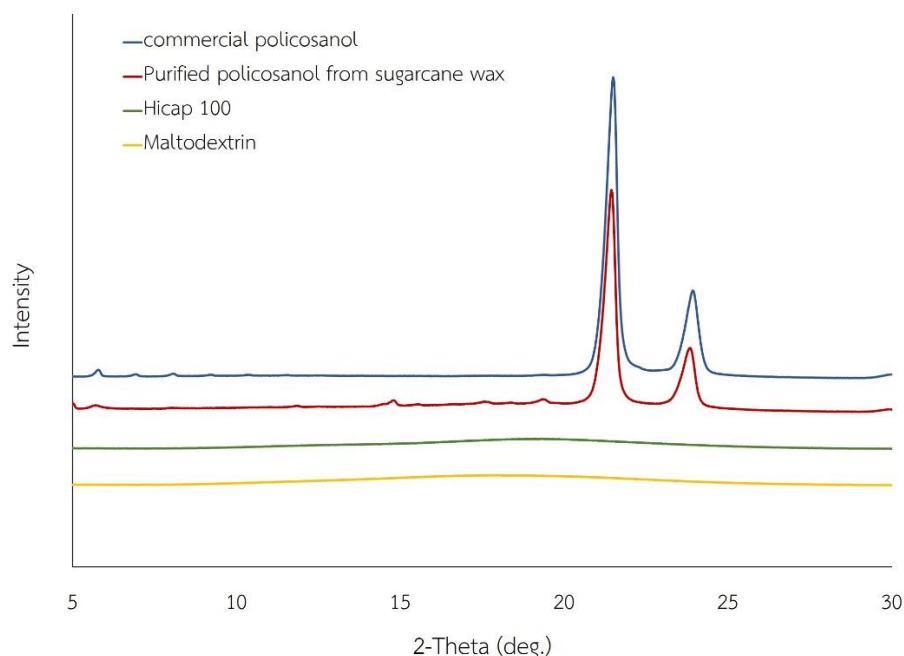
อัตราส่วน H/M	Carr's compressibility index (%)	Flow character	Hausner ratio
H100/M0	25.32±0.45	Passable	1.34±0.01
H75/M25	23.61±1.96	Passable	1.31±0.03
H50/M50	15.63±0.00	Fair	1.19±0.00
H25/M75	17.86±0.00	Fair	1.22±0.00
H0/M100	25.40±0.57	Passable	1.34±0.01

ข้อมูลในตารางคือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

ผงอนุภาคที่มีค่า Carr's compressibility index และ Hausner ratio ต่ำกว่าจะบ่งบอกถึงการมีคุณสมบัติการไหลที่ดีกว่า โดยถ้าผงอนุภาคถูกอัดแน่นได้ง่ายด้วยการเคาะ แสดงว่าต้องการ flow energy เพิ่มมากขึ้น (Shah et al., 2008) ผงอนุภาคที่มีสมบัติการไหลที่ดีควรมีค่า Carr's compressibility index ต่ำกว่า 20-25% และมีค่า Hausner ratio ต่ำกว่า 1.25 (Crouter and Briens, 2014) จากผลการศึกษาสมบัติการไหลและค่าการดูดความชื้นของผงอนุภาคนำส่ง policosanol เพื่อคัดเลือกสูตรตำรับเหมาะสมในการนำไปตอกเม็ดพบว่า ผงอนุภาคนำส่ง policosanol ที่เตรียมได้จากการใช้ Hicap® 100 ร่วมกับมอลโทเดกซ์ทรินในอัตราส่วน H50/M50 เป็นสูตรตำรับที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีคุณสมบัติการไหลดีที่สุดและมีค่าการดูดความชื้นที่ต่ำ

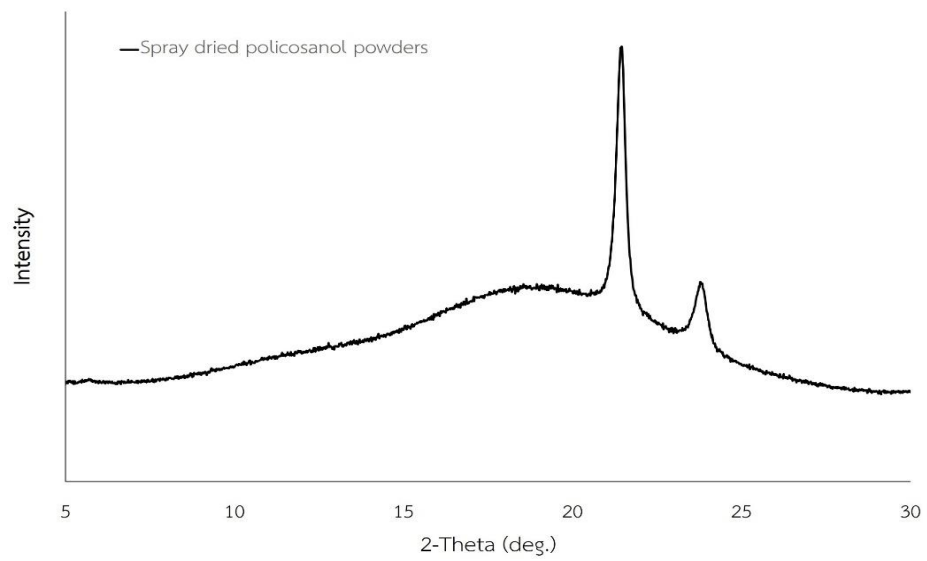
- การวิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างผลึก

จากการศึกษาลักษณะโครงสร้างผลึกด้วยเทคนิค X-ray diffractometry (XRD) ดังแสดงในภาพที่ 3.14 พบว่า X-ray diffraction pattern ของ wall materials (HI-CAP® 100 และมอลโทเดกซ์ทรีน) มีลักษณะเป็น broad peak แสดงให้เห็นถึงโครงสร้างที่เป็นอสัณฐาน (amorphous) ในขณะที่ policosanol จากไขอ้อยแสดงลักษณะที่เป็น sharp peak ซึ่งบ่งบอกถึงการมีลักษณะโครงสร้างผลึก (crystalline) และเมื่อเปรียบเทียบกับ policosanol แบบ commercial พบว่า X-ray diffraction pattern ที่ได้ไม่แตกต่างกัน โดยผลการวิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างผลึกของ policosanol ที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kim et al. (2015)



ภาพที่ 3.14 X-ray diffraction pattern ของสาร policosanol และ wall materials

ภาพที่ 3.15 แสดง X-ray diffraction pattern ของผงอนุภาคนำส่ง policosanol ที่เตรียมได้จากการใช้ Hicap® 100 ร่วมกับมอลโทเดกซ์ทรีนในอัตราส่วน H50/M50 โดยผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งสังเกตได้ว่า มี sharp diffraction peak ที่แสดงถึงลักษณะโครงสร้างผลึกของ policosanol และ broad peaks ที่แสดงถึงโครงสร้างอสัณฐานของ wall materials



ภาพที่ 3.15 X-ray diffraction pattern ของผงอนุภาคน้ำผึ้ง policosanols

บทที่ 4

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

4.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษากระบวนการสกัดแยกสาร policosanol ออกจากไขอ้อยและการทำให้มีความบริสุทธิ์สูงขึ้นด้วยกระบวนการทางเคมี โดยพบว่า การล้างไขอ้อยด้วยตัวทำละลายร้อนสามารถกำจัดสารเจือปนอื่นๆ ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารจำพวก phytosterols เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณของสาร policosanol ด้วยเทคนิค GC-MS พบว่า เอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการทำบริสุทธิ์ไขอ้อย เนื่องจากให้ตัวอย่าง (refined wax) ที่มีปริมาณสาร policosanol สูงที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า การทำปฏิกิริยาสaponนิฟิเคชันสามารถกำจัดสารจำพวก fatty aldehyde โดยไม่ปรากฏพีคของสารดังกล่าวในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS

เมื่อทำการสกัดแยกสาร policosanol ออกจากตัวอย่างไขอ้อยที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์และกระบวนการสaponนิฟิเคชันพบว่า สารสกัด policosanol ที่ได้มีปริมาณผลได้ของสารสกัด (yield) เท่ากับ 20.18% (w/w) และมีความบริสุทธิ์ เท่ากับ 78.29%(w/w) โดยมีองค์ประกอบของสาร policosanol 5 ชนิด ได้แก่ Tetracosanol (C_{24}) , Hexacosanol (C_{26}), Heptacosanol (C_{27}), Octacosanol (C_{28}) และ Triacosanol (C_{30}) โดยสารสกัดที่ได้มีส่วนของ Octacosanol (C_{28}) สูงถึง 61.28 % (w/w)

จากการพัฒนาสูตรตำรับอนุภาคนำส่งสาร policosanol ที่มีวัสดุตัวพาชนิดควบคุมการปลดปล่อยพบว่า สูตรตำรับที่เหมาะสมคือ การใช้แบ่งดัดแปร HI-CAP® 100 ร่วมกับมอลโทเดกซ์ทรินที่อัตราส่วน 50/50 โดยสารละลายอิมัลชันที่ได้มีความคงตัวทางกายภาพที่อุณหภูมิห้อง เมื่อนำไปผ่านกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยพบว่า อนุภาคผงแห้งที่ได้มีปริมาณความชื้น 5.35% และมีคุณสมบัติการไหลที่ดีโดยมีค่า Carr's compressibility index และ Hausner ratio เท่ากับ 15.63 และ 1.19 ตามลำดับ เมื่อนำมาละลายน้ำเพื่อทำให้เกิดอิมัลชันอีกครั้งพบว่า มีขนาดอนุภาคของอิมัลชัน (median size; Dv_{50}) เท่ากับ 3.10 ไมครอน และมีค่าประจุที่ผิวอนุภาค (zeta potential) เท่ากับ -27.47 mV

4.2 ข้อเสนอแนะ

ในการเตรียมสูตรตำรับอนุภาคนำส่งสาร policosanol ที่มีวัสดุตัวพาชนิดควบคุมการปลดปล่อย อาจมีการเติมสาร anticaking agent อื่นๆ เพิ่มลงไป เช่น แคลเซียมคาร์บอเนต แมกนีเซียมคาร์บอเนต และแมนนิทอล เป็นต้น เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผงอนุภาคนำส่งที่ได้

เอกสารอ้างอิง

- เชาวลิต มณฑล, กฤษณา ไกรสินธุ์, จิระพรชัย สุขเสรี และลักขณา เจริญใจ. (2557). การศึกษาสมบัติการไหลของพวงยาสมุนไพรเพื่อการเตรียมยาในรูปแบบของแข็ง. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 22(5), 743-754.
- ปณณธร ภัทรสถาพรกุล. (2547). เทคโนโลยีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (ตอนที่ 1). *วารสารสมาคมเครื่องทำความเย็นไทย*, 11, 20-22.
- Aiman, U., Najmi, A., & Khan, R.A. (2014). Statin induced diabetes and its clinical implications. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 5, 181-185.
- Aleardo, K., & Ashraf, V. (2012). *Composition useful for the treatment of lipid metabolism disorders*. USA: Sigma Tau Industrie Farmaceutiche Riunite S.P.A., Aleardo, K., Ashraf, V.
- Alemán, C.L., Ferreiro, M.R., Puig, M.N., Guerra, D.R., Ortega, C.H., & Capote, A. (2006). Carcinogenicity of policosanol in sprague dawley rats: A 24 month study. *Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis*, 14(5), 239-249.
- Aleman, C.L., Mas, R., & Hernandez, C. (1994). A 12 months study of policosanol oral toxicity in Sprague-Dawley rats. *Toxicology Letters*, 70, 77-87.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (2007). Official methods of analysis (17th ed.). Maryland: AOAC
- Attard, T.M., McElroy, C.R., Rezende, C.A., Polikarpov, I., Clark, J.H., & Hunt A.J. (2015). Sugarcane waste as a valuable source of lipophilic molecules. *Industrial Crops and Products*, 76, 95-103.
- Banerjee, S., Ghoshal, S., & Porter T.D. (2011). Activation of AMP-kinase by policosanol requires peroxisomal metabolism. *Lipids*, 46(4), 311-321.

- Barbosa, M.I.M.J., Borsarelli, C.D., & Mercadante, A.Z. (2005). Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Research International*, 38(8), 989-994.
- Beirão-da-Costa, S., Duarte, C., Bourbon, A.I., Pinheiro, A.C, Januario, M.I.N., Vicente, A.A., Beirão-da-Costa, M.L. & Delgadillo, I. (2013). Inulin potential for encapsulation and controlled delivery of Oregano essential oil. *Food Hydrocolloids*, 33, 199-206.
- Berlin, R. (2006). *Compositions containing policosanol and chromium and/or chromium salts and their pharmaceutical uses*. USA: Berlin, R.
- Botrel, D.A., de Barros Fernandes, R.V., Borges, S.V., & Yoshida M.I. (2014). Influence of wall matrix systems on the properties of spray-dried microparticles containing fish oil. *Food Research International*, 62, 344-352.
- Cai, Y.Z., & Corke, H. 2000. Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanin pigments. *Journal of Food Science*, 65, 1248-1252.
- Canetti, M., Morera, M., & Mas, R. (1997). Effects of policosanol on primary hypercholesterolemia: A 3-year open follow-up. *Current Therapeutic Research*, 58, 868-875.
- Canetti, M.M., Moreira, M., Mas, R., Illnait, J., Fernandez, L., & Fernandez, J.C. (1997). Effects of policosanol on primary hypercholesterolemia: a 3-year open-extension follow-up. *Current Therapeutic Research*, 58, 868-875.
- Carneiro, H.C.F., Tonon, R.V., Grosso, C.R.F., & Hubinger, M.D. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, 115, 443-451.
- Castaño, G., Más, R., & Fernández, L. (1998). A double-blind placebo-controlled study of the effects of policosanol in patients with intermittent claudication. *Angiology*, 50, 123-130.

- Castano, G., Mas, R., Fernandez, L., Illnait, J., Gamez, R., & Fernandez, J.C. (2001). Comparison of two regimens of policosanol administered at 20 mg/d in patients with type II hypercholesterolemia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Current Therapeutic Research*, 62, 194-208.
- Castano, G., Mas, R., Roca, J., Fernández, L., Illnait, J., Fernández, J.C., & Selmán, E. (1999). A double-blind, placebo-controlled study of the effects of policosanol in patients with intermittent claudication. *Angiology*, 50, 123-130.
- Chen, F., Cai, T., Zhao, G., Liao, X., Guo, L., & Hu, X. (2005). Optimizing conditions for the purification of crude octacosanol extract from rice bran wax by molecular distillation analyzed using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 70, 47-53.
- Chen, Q., Zhong, F., Wen, J., McGillivray, D., & Quek, S.Y. (2013). Properties and stability of spray-dried and freeze-dried microcapsules co-encapsulated with fish oil, phytosterol esters, and limonene. *Drying Technology*, 31, 707-716.
- Choi, W.J., Hwang, S.J., Song, J.G., Leem, J.G., Kang, Y.U., Park, P.H., & Shin, J.W. (2011). Radiofrequency treatment relieves chronic knee osteoarthritis pain: a double-blind randomized controlled trial. *Pain*, 152(3), 481-487.
- Crouter A., & Briens, L. (2014). The effect of moisture on the flowability of pharmaceutical excipients. *AAPS PharmSciTech*, 15(1), 65-74.
- Cubeddu, L.X., Cubeddu, R.J., Heimowitz, T., Restrepo, B., Lamas, G.A., & Weinberg, G.B. (2006). Comparative lipid-lowering effects of policosanol and atorvastatin: a randomized, parallel, double-blind, placebo-controlled trial. *American Heart Journal*, 152(5), 982.e1–982.e5.
- De Lucas, A., Garcia, A., Alvarez, A. & Gracia, I. (2007). Super extraction of long n-alcohol from sugarcane wax. *Journal of Supercritical Fluids*, 41, 267-271.

- Dokić, P., Dokić, L., Dapčević, T., & Krstonošić, V. (2008). Colloid characteristics and emulsifying properties of OSA starches. *Progress in Colloid and Polymer Science*, 135, 48-56.
- Drusch, S., Serfert, Y., Scampicchio, M., Schmidt-Hansberg, B., & Schwarz, K. (2006). Impact of physicochemical characteristics on the oxidative stability of fish oil microencapsulated by spray-drying. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(26), 11044-11051.
- Dunford, N.T., Irmak, S., & Jonnala, R. (2010). Pressurised solvent extraction of policosanol from wheat straw, germ and bran. *Food Chemistry*, 119, 1246-1249.
- Empie, M., Hilaly, A., Lane, D., & Sanborn, A. (2004). Policosanol compositions, extraction from novel sources, and uses thereof. USA: Archer-Daniels-Midland Company.
- Evan, M. (2004). Statin safety in perspective-maximizing the risk: benefit. *British Journal of Cardiology*, 11, 449-454.
- Fariasa, M.C., Moura, M.L., & Andrade, L. (2007). Encapsulation of the alpha-tocopherol in a glassy food model matrix. *Materials Research*, 10(1), 57-62.
- Fernandez, L., Mas, R., Illnait, J., & Fernandez, J.C. (1998). Policosanol: results of a postmarketing surveillance study of 27,879 patients. *Current Therapeutic Research*, 59, 717-722.
- Ferrari, C.C., Germer, S.P.M., Alvim, I.D., & Aguirre, J.M. (2013). Storage stability of spray-dried blackberry powder produced with maltodextrin or gum arabic. *Drying Technology*, 31(4), 470-478.
- Forest, C.A., Mccleary, C., & Mccleary, E.L. (2005). *Composition, delivery system and method for promoting healthy sexual function*. USA: Forest, C.A., Mccleary, C., Mccleary, E.L.

- Han, Y.L., Liu, M.X., & Li, Y. (2013). Safety and efficacy of policosanol to improve high on clopidogrel platelet reactivity after percutaneous coronary stent implantation. *European Heart Journal*, 34(suppl 1), 899.
- Hogan, S.A., McNamee, B.F., O’Riordan, E.D., & O’Sullivan, M. (2001a). Microencapsulation properties of sodium caseinate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1934-1938.
- Hogan, S.A., McNamee, B.F., O’Riordan, E.D., & O’Sullivan, M. (2001b). Emulsification and microencapsulation properties of sodiumcaseinate/carbohydrate blends. *International Dairy Journal*, 11, 137-144.
- Irmak, S., Dunford, N.T., & Milligan, J. (2006). Policosanol contents of beeswax, sugar cane and wheat extracts. *Food Chemistry*, 95, 312-318.
- Irmak, S., Jonnala, R.S., & MacRitchie, F. (2008). Effect of genetic variation on phenolic acid and policosanol contents of Pegaso wheat lines. *Journal of Cereal Science*, 48, 329-332.
- Javor, S., & Rebek, J. (2011). Activation of a water-soluble resorcinarene cavitand at the water-phosphocholine micelle interface. *Journal of the American Chemical Society*, 133(43), 17473-17478.
- Kim J.-Y., Lee, J.H., Jeong, D.-Y. Jang, D.-K., Seo, T.-R., & Lim, S.-T. (2015). Preparation and characterization of aqueous dispersions of dextrin and policosanol composites. *Carbohydrate Polymers*, 121, 140-146.
- Kim, J.K., Park, S.Y., Jung, J.Y., Ha, S.H., Lim, S.H., Lee, S.M., Woo, H.J., Park, S.U., & Suh, S.C. (2012). Policosanol content and composition of Korean rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Cereal Chemistry Journal*, 89, 151-154.
- Kruif C.G., Weinbreak, R., & Vries, R. (2004). Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current Opinior in Colloid & Interface Science*, 9, 340-349.

- Lahl, W.J. (2005). *Policosanol composition and its use in treatment of hypercholesterolemia*. USA: Marcor Development Corporation, Shanghai Freeman International Trading Co., Ltd.
- Liang, R., Huang, Q., Ma, J., Shoemaker, C.F., & Zhong, F. (2013). Effect of relative humidity on the store stability of spray-dried betacarotene nanoemulsions. *Food Hydrocolloids*, 33, 225-233.
- Lamberton, J.A. (1965). The long-chain aldehydes of sugar-cane wax. *Australian Journal of Chemistry*, 18, 911-913.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release - a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 1-21.
- Martínez, R., Castro, I., & Oliveros, M. (2002). Characterization of products from sugar cane mud. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 46, 64-66.
- McCarty, M.F. (2002). Policosanol safely down-regulates HMG-CoA reductase - potential as a component of the Esselstyn regimen. *Medical Hypotheses*, 59(3), 268-279.
- McCleary, E.L., Forest, C.A., & McCleary, C. (2005). *Foods, beverages, condiments, spices and salad dressings with specialized supplements*. USA: Larry, M.E., Forest, C.A., McCleary C.
- Menéndez, R., Más, R., & Amor, A.M. (2000). Effects of policosanol treatment on the susceptibility of low-density lipoprotein (LDL) isolated from healthy volunteers to oxidative modification *in vitro*. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 50, 255-262.
- Morais, A.R.V., Alencar, É.N., Júnior, F.H.X., Oliveirab, C.M., Marcelino, H.R., Barrattc, G., Fessid, H., Egito, E.S.T., Elaissari, A. (2016). Freeze-drying of emulsified systems: A review. *International Journal of Pharmaceutics*, 503, 102-114.

- Nedovic, V., Kalušević, A., Verica, M., & Branko, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, 1806-1815.
- Noa, M., & Mas, R. (2005). Protective effect of policosanol on atherosclerotic plaque on aort monkeys. *Archives of Medical Research*, 36(5), 441-447.
- Noa, M., Mas, R., & Mesa, R. (1998). Effect of policosanol on intimal thickening in rabbit cuffed carotid artery. *International Journal of Cardiology*, 67(2), 125-132,
- Noa, M., Mas, R., & Mesa, R. (2001). A comparative study of policosanol vs lovastatin on intimal thickening in rabbit cuffed carotid artery. *Pharmacology Research*, 43(1), 31-37.
- Noello, C., Carvalho, A.G.S., Silva, V.M., & Hubinger, M.D. (2016). Spray dried microparticles of chia oil using emulsion stabilized by whey protein concentrate and pectin by electrostatic deposition. *Food Research International*, 89, 549-557.
- Oliaro-Bosso, S., Calcio Gaudino, E., Mantegna, S., Giraudo, E., Meda, C., Viola, f. & Cravotto, G. (2009). Regulation of HMGCoA reductase activity by policosanol and octacosdienol, a new synthetic analogue of octacosanol. *Lipids*, 44, 907-916.
- Partha, N., & Sivasubramanian, V. (2006) Recovery of chemicals from pressmud-a sugar industry waste. *Indian Chemical Engineering Section A*, 48(3), 160-163.
- Patel, R.C. (2012). Food Sovereignty: Power, Gender, and the Right to Food. *PLoS Medicine*, 9(6), e1001223.
- Phisut, N. (2012). Spray drying technique of fruit juice powder: some factors influencing the properties of product. *International Food Research Journal*, 19(4), 1297-1306.

- Phukan, A.C., & Borah, P.K. (1999). Extraction and evaluation of microcrystalline wax from press mud waste of the sugar industry. *Separation and Purification Technology*, 17(3), 189-194.
- Pilcer, G., Vanderbist, F., & Amighi, K. (2009). Preparation and characterization of spray-dried tobramycin powders containing nanoparticles for pulmonary delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 365, 162-169.
- Przybysz, M.A., Onacik-Gür, S., Majtczak, K., & Dłużewska, E. (2016). The stability of spray-dried microencapsulated β -carotene in the mixture of gum Arabic, OSA type modified starch and maltodextrin. *Italian Journal of Food Science*, 28, 716-732.
- Raghavan, P.R. (2013). *Policosanols nanoparticles*. USA: NanoRx, Inc.
- Raley, K.A., & Hutchison, A.M. (2014). Statin use and cognitive changes in elderly patients with dementia. *The Consultant pharmacist*, 29(7), 487-489.
- Rassu, G., Nieddu, M., Bosi, P., Trevisi, P., Colombo, M., Priori, D., Manconi, P., Giunchedi, P., Gavini, E., & Boatto, G. (2014). Encapsulation and modified-release of thymol from oral microparticles as adjuvant or substitute to current medications. *Phytomedicine*, 21(12), 1627-1632.
- Ribker, P.M. (2014). LDL cholesterol: controversies and future therapeutic directions. *The Lancet*, 384, 607-617.
- Safinya, C.R., & Ewert, K.K. (2012). Materials chemistry: Liposomes derived from molecular vases. *Nature*, 489(7416), 372-374.
- Saito, Y. (2009). Critical appraisal of the role of pitavastatin in treating dyslipidemias and achieving lipid goals. *Vascular Health and Risk Management*, 5, 921-936.
- Samakradhamrongthai, R., Thakeow, P., Kopermsub, P., & Utama-ang, N. (2013). Encapsulation of *Michelia alba* D.C. extract using spray drying and freeze drying and application on Thai dessert from rice flour. *Drying Technology*, 31, 707-716.

- Santana, A.A. de Oliveira, R.A., Kurozawa, L.E., & Park, K.J. (2014). Microencapsulation of pequi pulp by spray drying: use of modified starches as encapsulating agent. *Engenharia Agrícola*, 34(5), 980-991.
- Seo, W.D., Yuk, H.J., Curtis-Long, M.J., Jang, K.C., Lee, J.H., Han, S.I., Kang, H.W., Nam, M.H., Lee, S.J., Lee, J.H. & Park, K.H. (2013). Effect of the growth stage and cultivar on policosanol profiles of barley sprouts and their adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase activation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(5), 1117-1123.
- Shah, R.B., Tawakkul, M.A., & Khan, M.A. (2008). Comparative evaluation of flow for pharmaceutical powders and granules. *AAPS PharmSciTech*, 9(1), 250-258.
- Singh, D.K., Li, L., & Porter, T.D. (2006). Policosanol inhibits cholesterol synthesis in hepatoma cells by activation of AMP-kinase. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 318(3), 1020-1026.
- Soottitantawat, A., Bigeard, F., Yoshii, H., Furuta, T., Ohkawara, M., & Linko, P. (2005). Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated D-limonene by spray drying. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(1), 107-114.
- Soottitantawat, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohgawara, M., Forssell, P., Partanen, R., Poutanen, K., & Linko, P. (2004). Effect of water activity on the release characteristics and oxidative stability of D-Limonene encapsulated by spray drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1269-1276.
- Souguir, H., Salaün, F., Douillet, P., Vroman, I., & Chatterjee, S. (2013). Nanoencapsulation of curcumin in polyurethane and polyurea shells by an emulsion diffusion method. *Chemical Engineering Journal*, 133-145.
- Teixeira, M.I., Andrade, L.R., Farina, M., & Rocha-Leão, M.H.M. (2004). Characterization of short chain fatty acid microcapsules produced by spray drying. *Materials Science and Engineering: C*, 24(5), 653-658.

- Tonon, R.V., Brabet, C., & Hubinger, M.D. (2008). Influence of process conditions on the physicochemical properties of acai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 88, 411-418.
- Villeponteau, B.R. (2007). *Compositions and Methods for Reducing Cholesterol and Inflammation*. USA: Bryant Richard Villeponteau.
- Wang, W., & Zhou, W. (2012). Characterization of spray-dried soy sauce powders using maltodextrins as carrier. *Journal of Food Engineering*, 109, 399-405.
- Wang, Y., Ebine, N., Jia, X., Jones, P.J., Fairrow, C., & Jaeger, R. (2005). Very long chain fatty acids (policosanols) and phytosterols affect plasma lipid levels and cholesterol biosynthesis in hamsters. *Metabolism*, 54(4), 508-514.
- Wang, Z., Lim H.H., & Hwang S.S. (2014). Chemoenzymatically synthesized policosanoyl phenolates as autoxidation inhibitors. *Euro Journal of Lipid Science and Technology*, 117(3), 1438-9312.
- Wissler, R.W., & Vesselinovitch, D. (1983). Quantitation of certain qualitative difference in the atherosclerotic process. *Atherosclerosis VI*, 174-179.
- Xie, Y., Wang, A., Lu, Q., & Hui, M. (2010). The effects of rheological properties of wall materials on morphology and particle size distribution of microcapsule. *Czech Journal of Food Sciences*, 28(5), 433-439.
- Xie, Y.-l., Zhou, H.-M., Liang, X.-H, HE, B.-S., & HAN, X.-X. (2010b). Study on the morphology, particle size and thermal properties of vitamin A microencapsulated by starch octenylsuccinate. *Agricultural Sciences in China*, 9(7), 1058-1064.
- Xu, C., & Bagchi, D. (2007). *Nutraceutical treatments for diabetic and non-diabetic wound healing*. USA: Interhealth Nutraceuticals, Inc.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

ตารางวิเคราะห์ ผลการวิเคราะห์ COA และคู่มือการทำงานของเครื่อง supercritical fluid
extraction จากโครงการย่อยที่ 1

ตารางผนวก ก-1 ต้นแบบมาตรฐานไซจากอ้อยของ Department of Health Therapeutic goods Administration ประเทศออสเตรเลีย ซึ่งได้กำหนด Compositional guideline: Sugar cane wax alcohols (SCWA)

Test	Method reference	Acceptance criteria
Description		
Appearance	Visual	Off-white
Odour	Organoleptic	Odourless
Characteristics		
Residue on ignition	United States Pharmacopoeia (USP)	< 0.85%
Loss on drying	British Pharmacopoeia (BP)	< 1.0%
Melting Point		78.0 - 82.0°C
Identification		
GC profile	Gas chromatography (GC)	GC chromatogram shows peaks for the individual higher aliphatic primary alcohols specified in the assay
Assay		
Total content of higher aliphatic primary	GC	≥ 85.0%, but < 90.0% by weight
Test		
1-tetracosanol (C ₂₄ H ₄₉ OH)	GC	0.0 - 0.3%
1-hexacosanol (C ₂₆ H ₅₃ OH)	GC	3.0 - 8.0%
1-heptacosanol (C ₂₇ H ₅₅ OH)	GC	0.1 - 3.0%
1-octacosanol (C ₂₈ H ₅₇ OH)	GC	60.0 - 70.0%
1-nonacosanol (C ₂₉ H ₅₉ OH)	GC	0.1 - 2.0%
1-triacontanol (C ₃₀ H ₆₁ OH)	GC	10.0 - 15.0%
1-dotriacontanol (C ₃₂ H ₆₅ OH)	GC	5.0 - 10.0%
1-tetratriacontanol (C ₃₄ H ₆₉ OH)	GC	0.1 - 5.0%

Ingredient specific requirements

ที่มา: <https://www.tga.gov.au/compositional-guideline-sugar-cane-wax-alcohols-scwa>

ตารางผนวก ก-2 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างไขมันในกากหมักกรองหลังจากการสกัดด้วย supercritical CO₂ ที่สภาวะต่าง ๆ



ฝ่ายปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ (Animal Nutrition Laboratory)
ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
(Department of Animal Science, Kasetsart University)
Tel. 660-5791120, 662-9428357 Fax. 662-5791120, 662-9428357

รายงานผลการตรวจ วิเคราะห์ ทดสอบ

ชื่อผู้ส่ง คุณสุวิชัย จรัสโสภณ

วันที่ส่งตัวอย่าง 3 พฤษภาคม 2559

ที่อยู่ ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ, สวทช. โทร.080-9109768

รหัส	ชื่อตัวอย่าง	Fat	-	-	Method
646	19/3/59-P100-T49.6-30 min	1.17			AOAC.20120. AOAC Official Method 2003.05
647	25/3/59-P100-T51.2-30 min	2.19			
648	11/3/59-P100-T52-60 min	2.16			
649	19/3/59-P100-T50.4-60 min	1.95			
650	18/3/59-P100-T75.2-30 min	1.47			
651	1/4/59-P100-T71.2-30 min	1.34			
652	1/4/59-P100-T73.6-30 min	2.29			
653	10/3/59-P100-T72.8-60 min	0.83			
654	25/3/59-P100-T73-60 min	0.00			
655	31/3/59-P100-T72.8-60 min	1.44			
656	31/3/59-P150-T50.2-30 min	1.73			
657	31/3/59-P150-T46.4-30 min	0.67			
658	11/3/59-P150-T48-15 min	0.50			
659	24/3/59-P150-T47.2-60 min	0.00			
660	1/4/59-P150-T46.4-60 min	2.27			
661	1/4/59-P150-T73.6-30 min	2.30			
662	1/3/59-P150-T71.2-30 min	1.21			
663	20/3/59-P150-T70.5-30 min	0.00			
664	18/3/59-P150-T67.2-60 min	2.28			
665	20/3/59-P150-T72-60 min	2.19			
666	25/3/59-P150-T68-60 min	2.85			
667	25/3/59-P150-T68-60 min	1.42			
668	24/3/59-P200-T52-30 min	1.39			

หมายเหตุ รายงานในสภาพที่นำมา

นิภารัตน์ โคตะนันท

(นางสาวนิภารัตน์ โคตะนันท)

ผู้ตรวจ วิเคราะห์ ทดสอบ

23 / 5 / 2559

นางสาวกมลทิพย์ ประสมเพชร

(นางสาวกมลทิพย์ ประสมเพชร)

หัวหน้าฝ่ายวิจัย ผู้ควบคุม

23 / 5 / 2559

รายงานนี้รับรองเฉพาะวัตถุตัวอย่างที่ภาควิชาสัตวบาล ตรวจ วิเคราะห์ ทดสอบเท่านั้น

Tel. 660-5791120, 662-9428357 Fax. 662-5791120, 662-9428357

[illegible]

ตารางผนวก ก-3 รายงานผลการวิเคราะห์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของตัวอย่างกากหม้อกรองก่อนการสกัดด้วยตัวทำละลาย



บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co., Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyothin Rd., Laddao, Jitujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4387-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 216 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centralabthai.com

Central Lab
Organic & Fertilizer Services

วันที่ออก : 18 มีนาคม 2559

เลขที่รายงาน : TRBK59/09744

หน้า : 1 / 1

ใบรายงานผลการทดสอบ

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า	สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ 111 อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120
รายละเอียดตัวอย่าง	กากหม้อกรอง-Crude
รหัสตัวอย่าง	BK59/05183-004
ลักษณะและสภาพตัวอย่าง	ประเภทตัวอย่าง : กากหม้อกรอง ภาชนะบรรจุ : ขวดพลาสติก ผ่าพลาสติก, จำนวน : 1 ขวด, น้ำหนัก/ปริมาตร : 50 กรัม. อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ
วันที่รับตัวอย่าง	09 มีนาคม 2559
วันที่ทดสอบ	09 มีนาคม 2559 - 18 มีนาคม 2559

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
C/N	18.36:1	-	-	Calculate
Electrical Conductivity	0.89	dS/m	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Germination index	54.24	%	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Organic Matter	44.3	%	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
pH	8.5	-	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Total Nitrogen (Total N)	1.4	%	-	In-house method TE-CH-211 based on AOAC (2012) 993.13
Total Organic Carbon (TOC)	25.7	%	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Total Phosphorus (TP ₂ O ₅)	2.6	%	-	In-house method TE-CH-183 based on AOAC (2012) 958.01
Potassium (Total K ₂ O)	0.40	%	-	In-house method TE-CH-191 based on Official Method of Analysis of Fertilizers. JAPAN (1987)

อนันต์ผล โส
(นายสมชาติ สิริเรือง)
ลงนามแทนผู้อำนวยการห้องปฏิบัติการ
สาขา กรุงเทพฯ

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น

รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ
FM-QP-24-01-001-R02(21/08/51)P1/1

ตารางผนวก ก-4 รายงานผลการวิเคราะห์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของตัวอย่างกากหม้อกรองหลังการ
สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน



บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co., Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyothin Rd., Laddao, Jitujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4387-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 216 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centralabthai.com

Central Lab
One Stop Lab Service

วันที่ออก : 18 มีนาคม 2559
เลขที่รายงาน : TRBK59/09741
หน้า : 1 / 1

ใบรายงานผลการทดสอบ

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า	สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ 111 อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120
รายละเอียดตัวอย่าง	กากหม้อกรอง-Hexane
รหัสตัวอย่าง	BK59/05183-001
ลักษณะและสภาพตัวอย่าง	ประเภทตัวอย่าง : กากหม้อกรอง ภาชนะบรรจุ : ขวดพลาสติก ผ่าพลาสติก, จำนวน : 1 ขวด, น้ำหนัก/ปริมาตร : 50 กรัม. อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ
วันที่รับตัวอย่าง	09 มีนาคม 2559
วันที่ทดสอบ	09 มีนาคม 2559 - 18 มีนาคม 2559

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
C/N	17.62:1	-	-	Calculate
Electrical Conductivity	1.40	dS/m	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Germination index	56.36	%	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Organic Matter	48.6	%	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
pH	8.0	-	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Total Nitrogen (Total N)	1.6	%	-	In-house method TE-CH-211 based on AOAC (2012) 993.13
Total Organic Carbon (TOC)	28.2	%	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Total Phosphorus (TP ₂ O ₅)	3.1	%	-	In-house method TE-CH-183 based on AOAC (2012) 958.01
Potassium (Total K ₂ O)	0.43	%	-	In-house method TE-CH-191 based on Official Method of Analysis of Fertilizers, JAPAN (1997)



อนุมัติผลโดย
(นายสมชาติ ศรีเรือง)
ลงนามแทนผู้อำนวยการห้องปฏิบัติการ
สาขา กรุงเทพฯ

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น

รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำซ้ำภายใต้เงื่อนไขบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ

FM-QP-24-01-001-R02(21/08/51)P1/1

ตารางผนวก ก-5 รายงานผลการวิเคราะห์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของตัวอย่างกากหม้อกรองหลังการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล



บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co., Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyothin Rd., Ladysao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4387-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 218 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centrallabthai.com

Central Lab
One Stop & Fast Services

วันที่ออก : 18 มีนาคม 2559

เลขที่รายงาน : TRBK59/09743

หน้า : 1 / 1

ใบรายงานผลการทดสอบ

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า	สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ 111 อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120
รายละเอียดตัวอย่าง	กากหม้อกรอง-Ethanol
รหัสตัวอย่าง	BK59/05183-003
ลักษณะและสภาพตัวอย่าง	ประเภทตัวอย่าง : กากหม้อกรอง ภาชนะบรรจุ : ขวดพลาสติก ฝาพลาสติก, จำนวน : 1 ขวด, น้ำหนัก/ปริมาตร : 50 กรัม. อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ
วันที่รับตัวอย่าง	09 มีนาคม 2559
วันที่ทดสอบ	09 มีนาคม 2559 - 18 มีนาคม 2559

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
C/N	18.5:1	-	-	Calculate
Electrical Conductivity	0.56	dS/m	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Germination index	51.82	%	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Organic Matter	51.0	%	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
pH	8.3	-	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Total Nitrogen (Total N)	1.6	%	-	In-house method TE-CH-211 based on AOAC (2012) 993.13
Total Organic Carbon (TOC)	29.6	%	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Total Phosphorus (TP ₂ O ₅)	3.1	%	-	In-house method TE-CH-183 based on AOAC (2012) 958.01
Potassium (Total K ₂ O)	0.39	%	-	In-house method TE-CH-191 based on Official Method of Analysis of Fertilizers, JAPAN (1987)

อนุมัติผล โดย
(นายสมชาติ ศรีเรือง)
ลงนามแทนผู้อำนวยการห้องปฏิบัติการ
สาขากรุงเทพฯ

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น

รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ
FM-QP-24-01-001-R02(21/08/51)P1/1

ตารางผนวก ก-6 รายงานผลการวิเคราะห์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของตัวอย่างกากหม้อกรองหลังการสกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอล



บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co., Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyothin Rd., Laddymao, Jathuk, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4387-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 218 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centralabthai.com

Central Lab
One Stop & Fast Services

วันที่ออก : 18 มีนาคม 2559

เลขที่รายงาน : TRBK59/09742

หน้า : 1 / 1

ใบรายงานผลการทดสอบ

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า	สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ 111 อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120
รายละเอียดตัวอย่าง	กากหม้อกรอง-Isopropanol
รหัสตัวอย่าง	BK59/05183-002
ลักษณะและสภาพตัวอย่าง	ประเภทตัวอย่าง : กากหม้อกรอง ภาชนะบรรจุ : ขวดพลาสติก ฝาพลาสติก, จำนวน : 1 ขวด, น้ำหนักปริมาตร : 50 กรัม. อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ
วันที่รับตัวอย่าง	09 มีนาคม 2559
วันที่ทดสอบ	09 มีนาคม 2559 - 18 มีนาคม 2559

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
C/N	20.13:1	-	-	Calculate
Electrical Conductivity	129	dS/m	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Germination index	53.33	%	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Organic Matter	52.0	%	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
pH	8.3	-	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Total Nitrogen (Total N)	1.5	%	-	In-house method TE-CH-211 based on AOAC (2012) 993.13
Total Organic Carbon (TOC)	30.2	%	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Total Phosphorus (TP ₂ O ₅)	3.0	%	-	In-house method TE-CH-183 based on AOAC (2012) 958.01
Potassium (Total K ₂ O)	0.39	%	-	In-house method TE-CH-191 based on Official Method of Analysis of Fertilizers. JAPAN (1987)

อนุมัติผลโดย
(นายสมชาติ หวังเรือง)
ลงนามแทนผู้อำนวยการห้องปฏิบัติการ
สาขากรุงเทพฯ

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น

รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ
FM-QP-24-01-001-R02(21/08/51)P1/1

ตารางผนวก ก-7 รายงานผลการวิเคราะห์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของตัวอย่างกากหมักกรองหลังการสกัดด้วย supercritical carbondioxide



บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co., Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyothin Rd., Laddymao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4387-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 218 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centralabthai.com

Central Lab
One Stop Soil Services

วันที่ออก : 18 มีนาคม 2559

เลขที่รายงาน : TRBK59/09745

หน้า : 1 / 1

ใบรายงานผลการทดสอบ

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า	สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ 111 อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120
รายละเอียดตัวอย่าง	กากหมักกรอง-CO ₂ Extraction
รหัสตัวอย่าง	BK59/05183-005
ลักษณะและสภาพตัวอย่าง	ประเภทตัวอย่าง : กากหมักกรอง ภาชนะบรรจุ : ขวดพลาสติก ฝาพลาสติก, จำนวน : 1 ขวด, น้ำหนัก/ปริมาตร : 60 กรัม. อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ
วันที่รับตัวอย่าง	09 มีนาคม 2559
วันที่ทดสอบ	09 มีนาคม 2559 - 18 มีนาคม 2559

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
C/N	20.42:1	-	-	Calculate
Electrical Conductivity	0.67	dS/m	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Germination index	54.54	%	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Organic Matter	42.2	%	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
pH	8.1	-	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Total Nitrogen (Total N)	1.2	%	-	In-house method TE-CH-211 based on AOAC (2012) 993.13
Total Organic Carbon (TOC)	24.5	%	-	Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551
Total Phosphorus (TP ₂ O ₅)	2.3	%	-	In-house method TE-CH-183 based on AOAC (2012) 958.01
Potassium (Total K ₂ O)	0.40	%	-	In-house method TE-CH-191 based on Official Method of Analysis of Fertilizers. JAPAN (1987)

อนุมัติโดย
(นายสมชาย ศรีเรือง)
ลงนามแทนผู้อำนวยการห้องปฏิบัติการ
สาขากรุงเทพฯ

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น

รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำซ้ำเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ
FM-QP-24-01-001-R02(21/08/51)P1/1

ตารางผนวก ก-8 Certificate of Analysis (COA) ของสาร policosanol ที่เป็นแบบ commercial ในการทดลอง



Certificate of Analysis

Product Name: **Policosanol 98%, Octacosanol 60%**
 CAS#: **557-61-9**
 Starting Material: **Sugar Cane Wax**
 Country of Origin: **China**
 Batch Number: **20130822**
 Manufacture Date: **Aug. 22, 2013**
 Test Date: **Oct. 07, 2013**
 Retest Date: **Oct. 06, 2015**

Test Results Obtained by PureBulk

ITEMS	SPECIFICATIONS	RESULTS
Policosanol (GC)	Report Only	98.64%
Octacosanol (HPLC)	Report Only	67.06%
Identification (ATR FT-IR)	Positive	Confirmed
Aerobic Plate Count	≤1000 cfu/g	Conforms
Yeast	≤100 cfu/g	Not Detected
Mold	≤100 cfu/g	10 cfu/g
Coliforms	Report Only	Not Detected
<i>E. Coli</i>	Negative	Absent
<i>Salmonella</i>	Negative	Absent
<i>Staph aureus</i>	Negative	Absent
<i>Pseudo. Aeruginosa</i>	Negative	Absent

The following information is an indirect translation of information provided from the Manufacturer's Certificate of Analysis, and should not be used solely as an instrument for strict quality control.

ITEMS	SPECIFICATIONS	RESULTS
Appearance	White to off white powder	Conforms
1-Docosanol (C-22)	GC	0.02%
1-Dotriacontanol (C-32)	GC	1.41%
1-Hentriacontanol (C-31)	GC	0.51%
1-Heptacosanol (C-27)	GC	1.61%
1-Hexacosanol (C-26)	GC	11.50%
1-Nonacosanol (C-29)	GC	3.48%
1-Octacosanol (C-28)	GC	62.40%
1-Tetracosanol (C-24)	GC	0.19%
1-Tetratriacontanol (C-34)	GC	0.15%
1-Triacontanol (C-30)	GC	18.23%
Total Alcohols	GC ≥99%	99.5%
Fatty Acid (mg KOH/g)	<1.5	0.19
Loss on Drying	≤0.5%	0.37%
Melting Point	80-83°C	82.1°C
Particle Size	100% through 80 mesh	Conforms
Residue on Ignition	≤0.1%	0.07%
Heavy Metals	≤10 ppm	Conforms
Arsenic (As)	≤1.5 ppm	Conforms
Cadmium (Cd)	≤1 ppm	Conforms
Lead (Pb)	≤0.5 ppm	Conforms
Mercury (Hg)	≤1 ppm	Conforms
Conclusion:	This products conforms to enterprise standards	
GMO Statement	Non-GMO	

Storage Conditions:

**Keep in sealed container under 25°C.
 Keep away from strong light, heat and moisture.**

Purebulk, Inc. verifies that the information contained herein is true and correct to the best of our knowledge.

Verified By: Candace Gibson /Brenda Bristow

(This document was produced electronically and is valid without signature.)

Purebulk Inc., store@purebulk.com

Ph: 1-541-679-1590 •

Toll Free: 1-888-280-0050

ตารางผนวก ก-9 ผลการวิเคราะห์ค่า iodine value ค่า saponification value ค่า acid value และ จุดหลอมเหลว (m.p.) ของตัวอย่างไขอ้อยที่สกัดได้ด้วยเทคนิค sc-CO₂ เทียบกับไขอ้อยทางการค้า



ศูนย์ความเป็นเลิศทางวิชาการด้านปาล์มน้ำมัน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
Center of Excellence-Oil Palm Kasetsart University
50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900
โทรศัพท์ 0-2942-7615, 0-2562-5555 ต่อ 2120 โทรสาร 0-2562-5555 ต่อ 2120

หน้า 1/1

เลขที่ COE59/V041

ใบรายงานผลการวิเคราะห์ตัวอย่างแวกซ์

ตัวอย่างจาก : สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

ตัวอย่าง : ตัวอย่างแวกซ์ จำนวน 2 ตัวอย่าง

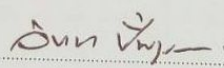
- Sugar cane wax
- สกาวไขอ้อย x R x 52G

วิธีวิเคราะห์ : วิเคราะห์หาค่า Acid value ตามวิธีมาตรฐานของ AOCS Official Method Cd 3d-63.
วิเคราะห์หาค่า Saponification value ตามวิธีมาตรฐานของ AOCS Official Method Cd 3-25.
วิเคราะห์หาค่า Iodine value ตามวิธีมาตรฐานของ AOCS Official Method Cd 1-25.
วิเคราะห์หาค่า Melting point

ผลการทดลอง

การวิเคราะห์	หน่วย	ตัวอย่าง	
		Sugar cane wax	สกาวไขอ้อย x R x 52G
Acid value	mg KOH/g sample	31.10 ± 0.80	29.37 ± 0.05
Saponification value	mg KOH/g sample	55.90 ± 7.86	91.59 ± 8.74
Iodine value	g I ₂ /100 g sample	30.02 ± 1.88	26.20 ± 1.75
Melting point	°C	72.0 ± 1.0	69.0 ± 1.0

ผู้รับรอง



(รศ.ดร. วิทยา ปันสุรณ)

ผู้อำนวยการศูนย์ความเป็นเลิศทางวิชาการด้านปาล์มน้ำมัน
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลการทดสอบ/วิเคราะห์นี้ รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการทดสอบ/วิเคราะห์เท่านั้น และรายงานผลต้องไม่ถูกสำเนาเฉพาะ
บางส่วนยกเว้นทั้งฉบับ โดยไม่ได้รับการยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ

ตารางผนวก ก-10 Certificate of Analysis (COA) ของไขอ้อย ที่เป็นแบบ commercial ในการทดลอง



DEUREX® X 52

TECHNICAL INFORMATION

Chemical description:	Sugar cane wax		
INCI-Name:	Saccharum officinarum cera		
Benefits:	- Natural wax with a very attractive price performance ratio - No seasonal fluctuations in availability - AIR CLASSIFICATION PROCESS with particle size < 150 µm (DEUREX X 52 A)		
Properties:	It is a wax with high hardness which is easy to emulsify and grindable, it offers good retention and it is physiologically harmless.		
Application:	<u>Sustainable formulations</u> - Bio based plastics - Bio based paints and coatings - Bio care products <u>Coatings and powder coatings</u> - Matting agent - Grip - Increased scratch resistance <u>Plastics, PVC and Masterbatches</u> - Internal and external lubricant <u>Printing inks</u> - Improved scratch resistance - Higher colour output - Processing aid		
Technical Data:	Colour: Delivery forms:	Light yellow DEUREX X 52 DEUREX X 52 G DEUREX X 52 A	= Slabs, < 15 cm = Granules, 1 - 5 mm = Finest powder, < 150 µm
		Minimum	Maximum
Drop point*:	78 °C	82 °C	LV 12 (DGF M-III 3)
Acid value:	20 mg/KOH/g	30 mg/KOH/g	DIN EN ISO 2114
Viscosity (140 °C):		40 mPas	LV 2 (DIN EN ISO 3104)
Penetration:	1.0 mm*10 ⁻¹	3.0 mm*10 ⁻¹	LV 4 (DIN 51579)
Density (23 °C):		0.90 g/cm ³	LV 3 (DIN EN ISO 1183)
* Part of certificate of analysis Sugar cane waxes are natural products. Physical properties are subject to slight variations.			
Approvals:	FDA Status/Regulation: GRAS - Generally recognized as safe (USA). INCI name (International Nomenclature Cosmetic Ingredients): Saccharum officinarum cera. USA: FDA 21 CFR §§ 174.5, 175.105, 175.300, 175.320, 176.170, 177.1200, 177.1550 (Approvals with regard to limitations and migration values in the final application)		
Safety:	The product is no dangerous preparation according to Directive 1999/45/EC. It is not subject to labeling according to EC Directive 67/548/EWG and Regulation (EC) 1272/2008.		

This data sheet is based on our current knowledge and experience. In view of the individual factors that may affect processing and application, this data does not relieve users from the responsibility of carrying out their own tests and experiments, neither do they imply any legally binding assurance of certain properties. Existing industrial/commercial protective laws have to be considered by the recipient. Updated versions of the data sheet replace all formerly existing versions.
 ® - registered trademark by DEUREX

DEUREX AG
Dr.-Bergius-Straße 8-12
D-06729 Esterhau

T: +49 (0) 03441/8 29 29 29
F: +49 (0) 03441/8 29 29 28
info@deurex.com / www.deurex.com

Revision: Page 1 of 1
January 2016
EN

คู่มือการทำงาน

ชุดเครื่องสกัดสารจากสมุนไพรหรือผลิตภัณฑ์ธรรมชาติด้วยของเหลวในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

Super Critical Extraction Model TH 22 50Lx2

ของบริษัท Wenzhou Chengdong Medicine Machine Co., Ltd. ประเทศจีน



การสกัดสารโดยใช้เครื่องสกัดสารจากสมุนไพรหรือผลิตภัณฑ์ธรรมชาติด้วยของเหลวในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด เป็นเทคนิคการสกัดสารที่ตัวทำละลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ขณะอยู่ในสถานะเหนือจุดวิกฤต ในสถานะนี้ CO_2 มีความหนาแน่นคล้ายของเหลว แต่ความหนืดและ Diffusion Coefficient อยู่ในสภาวะคล้ายก๊าซ ทำให้ CO_2 ทำหน้าที่เป็นตัวทำละลาย

เนื่องจาก CO_2 เป็นก๊าซที่ไม่เป็นพิษ ไม่มีรส กลิ่น ไม่ติดไฟ ราคาถูก และจุดวิกฤตถูกปรับตั้งได้ง่าย ทำให้ CO_2 ถูกเลือกใช้วิธีวิธีการนี้ การปรับให้ CO_2 อยู่ในสถานะเหนือจุดวิกฤตทำได้โดยการปรับความดันและอุณหภูมิของ CO_2 จุดวิกฤตของ CO_2 อยู่ที่อุณหภูมิ ประมาณ 31.06°C ที่ความดัน ประมาณ 7.382 MPa

ลักษณะสำคัญของระบบ

- 1) ความดันสูงสุด ในแต่ละถังของสารสกัดถูกออกแบบไว้ที่ 35 MPa ความดันสูงสุดที่ใช้งานได้ 32 MPa และปั๊ม CO_2 สร้างความดันที่ 40 MPa
- 2) ขนาดแต่ละถังของถังสกัด 50 ลิตร (2 ถัง)
- 3) อุณหภูมิของถังสกัด ปรับได้ระหว่างอุณหภูมิห้องจนถึง 85°C
- 4) อุณหภูมิของถังแยก ปรับได้ระหว่างอุณหภูมิห้องจนถึง 85°C

- 5) อัตราการไหลของ CO₂ 10-630 ลิตร/ชั่วโมง
- 6) กำลังไฟฟ้า 130 กิโลวัตต์ 380 โวลต์ 50 เฮิรส์

ส่วนประกอบของเครื่อง

ประกอบด้วยส่วนที่เป็นระบบควบคุมอัตโนมัติโดยคอมพิวเตอร์ และส่วนที่เป็นการควบคุมด้วยการปรับตั้งด้วยมือ ดังนี้

ระบบควบคุมโดยคอมพิวเตอร์

- ตรวจจับด้วยระบบไฟฟ้า
- ระบบควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ
- ระบบควบคุมการทำงานของปั๊ม

ระบบควบคุมการปรับตั้งด้วยมือ

- ฟิลเตอร์
- ระบบอุ่นให้ความร้อน
- ถังน้ำร้อน
- ถัง CO₂
- ถังสกัด
- ถังแยกก๊าซ
- ปั๊มแรงดันสูงของ CO₂ ปั๊มส่งสารเคมี
- มิเตอร์วัดอัตราการไหล CO₂
- ถังสารเคมี
- ระบบทำความเย็น
- วาล์วแรงดันสูง
- วาล์วควบคุมและปรับแรงดัน
- วาล์วเปิด-ปิด โดยระบบลม
- ท่อแรงดันสูง
- เกจปล่อยแรงดัน

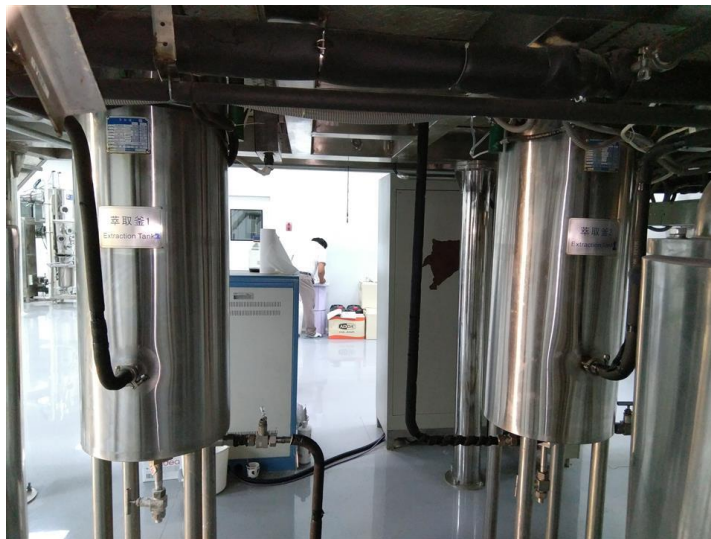
ระบบควบคุมอุณหภูมิ เป็นระบบควบคุมและปรับตั้งโดยคอมพิวเตอร์ ผู้ทำงานต้องกำหนดระดับอุณหภูมิที่ต้องการก่อน เมื่ออุณหภูมิถูกปรับถึงระดับที่ต้องการ วาล์วควบคุมอัตโนมัติจะปิดท่อลมเพื่อปิดการส่งน้ำร้อนเข้าระบบ แต่หากอุณหภูมียังไม่ถึงระดับที่ต้องการ วาล์วควบคุมจะเปิดส่งน้ำร้อนเข้าจนกว่าจะถึงอุณหภูมิที่ต้องการ ในระบบนี้อุณหภูมิถูกควบคุมตลอดเวลา ให้อยู่ในระดับความร้อน

ที่ต้องการ การให้ความร้อนของน้ำร้อนทำได้โดยเครื่องทำความร้อนไฟฟ้าหรือไอร้อนจาก Boiler สามารถเลือกใช้แหล่งให้ความร้อนอย่างใดอย่างหนึ่ง

ระบบควบคุมความดัน ความดันที่ใช้ในการสร้างสภาวะเหนือจุดวิกฤตของ CO₂ ในถังสกัด ถังแยก ก๊าซ ถูกควบคุมโดยวาล์วไฟฟ้าอัตโนมัติ

ส่วนประกอบสำคัญของระบบ

1) ถังสกัด 2 ถัง



วัสดุ	: OCr ₁₈ Ni ₉
ขนาด	: 50 ลิตร (ต่อถัง)
ความดันสูงสุด	: 35 MPa
อุณหภูมิ	: อุณหภูมิห้องถึง 85 °C

2) ถังแยกใบที่ 1 และใบที่ 2



วัสดุ : OCr₁₈Ni₉
ขนาด : 18 ลิตร (ต่อถัง)
ความดัน : 20 MPa
อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้องถึง 85 °C

3) ถังเก็บก๊าซ CO₂



วัสดุ : OCr₁₈Ni₉
ขนาด : 130 ลิตร
ความดัน : 9 MPa
อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้องถึง 85 °C

4) ไส้กรอง



วัสดุ : OCr₁₈Ni₉

ขนาด : 5 ลิตร

ความดัน : 9 MPa

5) ถังเก็บสารตัวทำละลาย



วัสดุ : OCr₁₈Ni₉

ขนาด : 10 ลิตร

ความดัน : 9 MPa

6) เครื่องทำความเย็น



Model	: PC-20 WC
ความเย็น	: 64.8 กิโลวัตต์ (J5718 Kcal/h)
คอมเพรสเซอร์	: 17.64 กิโลวัตต์
ไฟฟ้า	: 380 โวลท์
ขนาด	: 510 ลิตร
ปั๊ม	: 1.5 กิโลวัตต์
อัตราการไหลของน้ำเย็น	: 11.16 ลบ.ม./ชม.

7) ถังน้ำร้อน



วัสดุ	: OCr ₁₈ Ni ₉
ขนาด	: 1 ลบ.ม.
กำลังไฟฟ้า	: 90 กิโลวัตต์ ควบคุมแยกสามส่วน
แหล่งความร้อน	: ขดลวดไฟฟ้าหรือ Boiler

8) การอุ่นให้ความร้อน การอุ่นถึงสกัด ถึงแยกก๊าซ ท่อ CO₂ และถึงน้ำร้อน



วัสดุ : OCr₁₈Ni₉
คอยล์ความร้อน : เส้นผ่าศูนย์กลาง 23 มม. 4 ท่อสำหรับท่อ CO₂
และท่อน้ำร้อน ส่วนถึงน้ำร้อนเส้นผ่าศูนย์กลาง 500 มม. ยาว 1000 มม. อยู่ส่วนถึงน้ำร้อนถอด
เปลี่ยนได้

9) ป้อนแรงดันสูง CO₂



Model : SHP65/22-0.63/40
กำลัง : 11 กิโลวัตต์
ไฟฟ้า : 380 โวลต์
อัตราไหล : 630 ลิตร/ชม.

10) ป้อนสารตัวทำละลาย



กำลัง	: 11 กิโลวัตต์
ไฟฟ้า	: 380 โวลต์
แรงดัน	: 40 MPa
อัตราไหล	: 630 ลิตร/ชม.

11) ท่อทั้งหมด ทั้งที่เป็นท่อควบคุมโดยอัตโนมัติหรือปรับด้วยมือ (DN10, DN15, DN20)



วัสดุ : OCr₁₈Ni₉
รับแรงดัน : 40 MPa
ความบริสุทธิ์ของ CO₂ >99.99%

วิธีการปรับเครื่อง

1) การปรับเครื่องทำความเย็น

- เปิดสวิตช์ไฟฟ้าหลัก
- เปิดวาล์วท่อน้ำเย็นจากถังน้ำเย็น โดยต้องมีย้ำน้ำเต็มถัง
- เปิดปั๊มน้ำหมุนเวียน
- ตั้งอุณหภูมิของน้ำเย็น

2) ตั้งอุณหภูมิของถังสกัดและถังแยกก๊าซ

- เปิดระบบเครื่องทำความร้อน โดยใช้ไอน้ำร้อนจาก Boiler หรือเครื่องทำความร้อนไฟฟ้าอย่างใดอย่างหนึ่ง

- ตั้งอุณหภูมิของน้ำร้อน ให้การควบคุมอุณหภูมิโดยคอมพิวเตอร์ทำงาน



- หากใช้ความร้อนจาก Boiler เมื่ออุณหภูมิเป็นไปตามที่ตั้งไว้ คอมพิวเตอร์จะสั่งการให้ปิด วาล์วน้ำร้อนเข้าโดยอัตโนมัติ
- หากใช้ความร้อนจากไฟฟ้า ต้องปิดวาล์วน้ำร้อนจาก Boiler ตั้งระดับความร้อนที่ต้องการ
- คอมพิวเตอร์จะสั่งการทำงานของขดลวด ความร้อนมี 3 ชุด ใช้กำลังไฟฟ้ารวม 90 กิโลวัตต์ เมื่อความร้อนถึงระดับที่กำหนด คอมพิวเตอร์จะสั่งการให้หยุดการให้ความร้อน
- การเปิดการทำงานของขดลวดไฟฟ้า อาจจะสั่งให้ทำงานเพียง 1 ชุด หรือ 2 ชุดก็ได้ เมื่อ อุณหภูมิของถังสกัดและถังแยกก๊าซถึงระดับที่กำหนดจึงทำงานในขั้นต่อไป

3) การทำงานของระบบแรงดัน เมื่อเริ่มงานวาล์วทุกตัวของระบบแรงดันต้องถูกปิด

3.1 ใส่วัตถุดิบ เติมวัตถุดิบเข้าไปในถังสกัดทั้งสอง (ต้องใช้รอกไฟฟ้าในการยกถังสกัด) และ ปิดถังให้ถูกต้อง



3.2 เติม CO₂ จากถังภายนอกเข้าสู่ถังเก็บ CO₂ ของเครื่อง



- เปิดวาล์ว J01, J03, J05 ซึ่งต่อกับถัง CO₂ จากภายนอก
- เปิดวาล์ว J06 เพื่อไล่อากาศออกจากถังเก็บ CO₂ เมื่อเห็นว่าอากาศถูกไล่ออกจนหมดแล้วจึงปิดวาล์ว J06
- ถังเก็บ CO₂ จะรับ CO₂ จากถัง CO₂ จากภายนอก จนเมื่อความดันในถังเก็บ CO₂ เพิ่มขึ้นเป็น 5-8 MPa แล้วปิดวาล์ว J01

3.3 เติม CO₂ และไล่อากาศออกจากระบบ

- เปิดวาล์ว J07, J08, J09, J13 เพื่อให้ CO₂ ไหลเข้าสู่ถังสกัดที่ 1 เปิดวาล์ว J16 เพื่อไล่อากาศออกจากถังสกัดตัวที่ 1 จนอากาศถูกไล่ออกหมดจึงปิดวาล์ว J16
- เปิดวาล์ว J17, J24 ให้ CO₂ เข้าถังแยกก๊าซตัวที่ 1
- เปิดวาล์ว J26 เพื่อไล่อากาศออกจากถังแยกก๊าซ ตัวที่ 1 แล้วจึงปิดวาล์ว J26
- เปิดวาล์ว J27 ให้ CO₂ เข้าถังแยกก๊าซตัวที่ 2 แล้วเปิดวาล์ว J30 เพื่อไล่อากาศออก จากนั้นจึงปิดวาล์ว J30
- เปิดวาล์ว J31 เพื่อให้ CO₂ เข้าถังปรับสภาพก๊าซ (Buffer tank)
- เปิดวาล์ว J34, J02 ซึ่งอยู่ใต้ถังกรองเพื่อไล่อากาศออก จากนั้นจึงปิดวาล์ว J02 ภายหลังการไล่อากาศเสร็จแล้ว
- ปรับตั้งความดันที่ต้องการในระบบโดยระบบคอมพิวเตอร์

3.4 การตั้งความดันที่ระบบคอมพิวเตอร์

- ปรับตั้งระดับความดันที่มิเตอร์ทางออกของปั๊ม โดยความดันที่ตั้งต้องไม่สูงกว่า 35 MPa ปรับความถี่ของกระแสไฟฟ้าในความเร็วระหว่าง 15-25 เฮิรตซ์

- ปรับตั้งการเปิดฝาลังสกัดโดยระบบไฟฟ้า การเปิดฝาลังสกัดกระทำได้เมื่อความดันในลังสกัดเป็นความดันบรรยากาศเท่านั้น หากความดันในลังสกัดยังสูงห้ามเปิดฝาลังโดยระบบไฟฟ้า



3.5 การเพิ่มความดัน

- เมื่ออุณหภูมิของลังสกัดถึงแยกก๊าซถึงที่ 1 และ 2 และเครื่องทำความเย็น เป็นไปตามระดับที่ตั้งไว้ (ระหว่างนี้ปั๊มน้ำเย็นต้องทำงานอยู่และหล่อเย็นปั๊ม CO₂ ให้เย็นเพียงพอ) ให้เปิดเดินปั๊ม CO₂ เพิ่มความดันให้ลังสกัด

- หากความดันของถังเก็บ CO₂ มีค่าต่ำกว่า 4 MPa ให้ปิดวาล์ว J34 เปิดวาล์ว J01 ให้ CO₂ ถูกส่งมาเพิ่มความดันให้กับถังเก็บ CO₂ ถึงระดับ 4 MPa จากนั้นจึงปิดวาล์ว J01 และปิดวาล์ว J34

- เมื่อความดันในลังสกัดสูงขึ้นถึงระดับความดันที่ตั้งไว้ ระบบวาล์วลมอัดโนมิติจจะเปิดให้ CO₂ ไหลเข้าสู่ถังแยกก๊าซที่ 1 เมื่อความดันในถังก๊าซสูงขึ้นถึงระดับที่ตั้งไว้ ระบบวาล์วลมอัดโนมิติจจะเปิดให้ CO₂ ไหลเข้าสู่ถังแยกก๊าซที่ 2 เมื่อความดันในถังแยกก๊าซที่ 2 สูงขึ้นถึงระดับที่ตั้งไว้ วาล์วลมอัดโนมิติจจะเปิดให้ CO₂ ไหลเข้าสู่ถังคุม CO₂ (Buffer CO₂ tank) จากนั้นจะไหลผ่านตะแกรงกรองและเข้าระบบกลั่นตัว กระบวนการสกัดด้วยการหมุนเวียน CO₂ จึงเริ่มการทำงาน

- ระบบวาล์วควบคุมโดยไฟฟ้าจะปรับแรงดันของลังสกัด ถังแยกก๊าซที่ 1 และที่ 2 อย่างอัตโนมัติเพื่อควบคุมระบบให้เป็นไปตามที่ตั้งไว้

- เมื่อระบบการทำงานหมุนเวียนเริ่มทำงานให้ปรับตั้งเวลาการทำงานของระบบสกัดที่คอมพิวเตอร์เมื่อถึงระยะเวลาที่กำหนดแล้ว คอมพิวเตอร์จะส่งเสียงสัญญาณเตือนการทำงานแล้วเสร็จ เป็นการสิ้นสุดการทำงานของระบบ

- ต้องระมัดระวังตลอดการทำงานว่า CO₂ ต้องมีแรงดันไม่น้อยกว่า 4 MPa ตลอดเวลา

3.6 เมื่อการทำงานแล้วเสร็จ

ให้ปิดวาล์ว J26 และ J30 ได้ถึงแยกก๊าซทุก ๆ 20-30 นาที (แล้วปิดเมื่อระบายสารถูกสกัดออกมา) เมื่อปริมาณสารถูกสกัดได้ถูกระบายออกจนหมดสิ้น ให้ปิดปั๊ม CO₂ แต่หากได้ใส่วัตถุดิบเข้าถังสกัดที่ 2 ไว้ด้วยให้ทำงานต่อไป

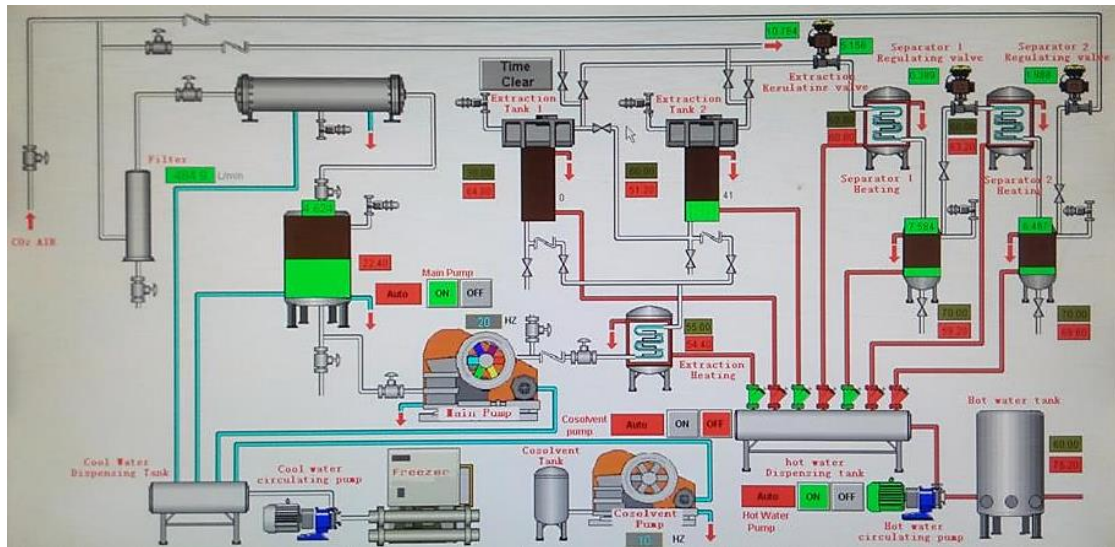
- ปิดวาล์ว J13, J24 เปิดวาล์ว J20 เพื่อระบาย CO₂ จากถังสกัดที่ 1 ไปยังถังสกัดที่ 2

- เมื่อแรงดันของถังสกัดที่ 1 และที่ 2 สมดุลกัน ให้ปิดวาล์ว J17 เปิดวาล์ว J18, J35 เพื่อให้ CO₂ ในถังสกัดที่ 1 ไหลไปยังถังปรับลดแรงดัน (Middle & Forage tank)

- จากนั้นปิดวาล์ว J35 เปิดวาล์ว J36, J15 เพื่อระบาย CO₂ ออกจากถังสกัดที่ 1 ให้หมด ในขณะเดียวกันให้เปิดวาล์ว J14 และ J24 เปิดเครื่องปั๊ม CO₂ และทำการสกัดต่อไป

- ส่วนในถังสกัดที่ 1 เมื่อความดันถูกลดลงจนอยู่ในสภาพความดันปกติ ให้เปิดฝาครอบด้านบนออกด้วยระบบไฟฟ้า การเปิดนี้จะต้องแน่ใจว่าความดันในถังสกัดที่ 1 อยู่ในระดับความดันบรรยากาศแล้วเท่านั้นแล้วถ่ายวัตถุดิบที่ถูกสกัดแล้วออกจากถังสกัดที่ 1 โดยระบบรอกยกขึ้น

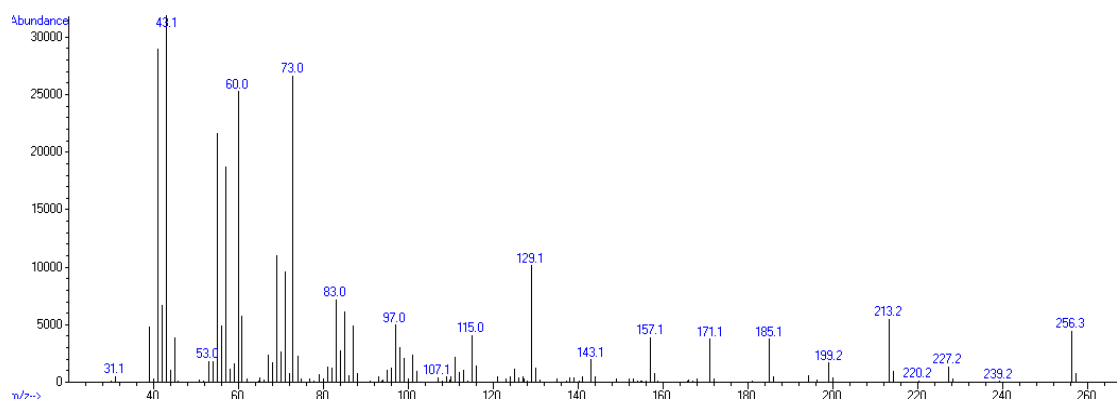
ที่มา: คู่มือการใช้งานชุดเครื่องสกัดสารจากสมุนไพรหรือผลิตภัณฑ์ธรรมชาติด้วยของเหลวในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด, ศูนย์พัฒนากระบวนการผลิตเภสัชภัณฑ์และสมุนไพร โครงการพัฒนาที่ดินจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี



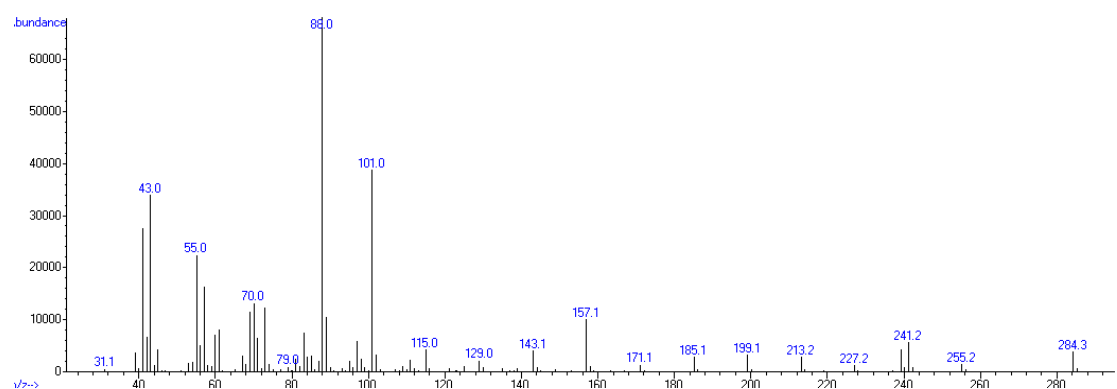
แผนผังการทำงานของเครื่องสกัดสารจากสมุนไพรหรือผลิตภัณฑ์ธรรมชาติด้วยของเหลวในสภาวะวิกฤตยิ่งยวด

ผนวก ก. 11 แสดง mass spectrum ของสารสกัดไข้อยู่ที่สกัดด้วย supercritical fluid (CO₂) : (26a)(21.566 นาที), (26b)(21.848 นาที), (26c)(23.281 นาที), (26d)(23.491 นาที), (26e)(23.546 นาที), (26f)(23.786 นาที), (26g)(28.043 นาที), (26h)(29.072 นาที), (26i)(29.524 นาที), (26j)(30.581 นาที), (26k)(31.089 นาที), (26l)(31.825 นาที), (26m)(32.317 นาที), (26n)(32.425 นาที), (26o)(32.753 นาที), (26p)(32.941 นาที), (26q)(33.402 นาที), (26r)(34.638 นาที), (26s)(35.064 นาที) และ (26t)(37.954 นาที)

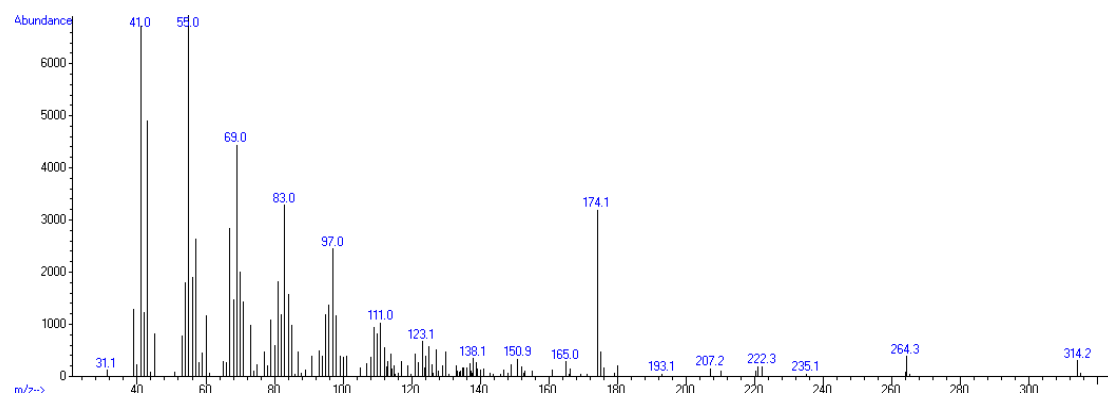
(26a)(21.566 นาที)



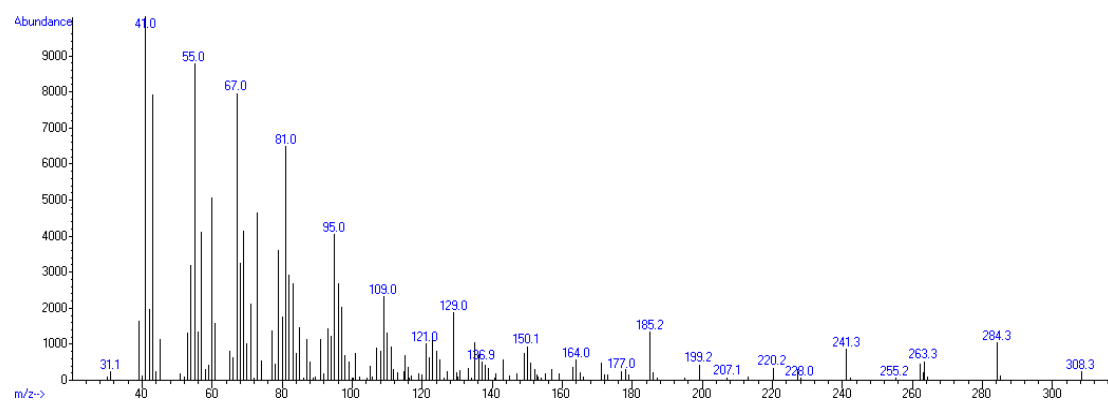
(26b)(21.848 นาที)



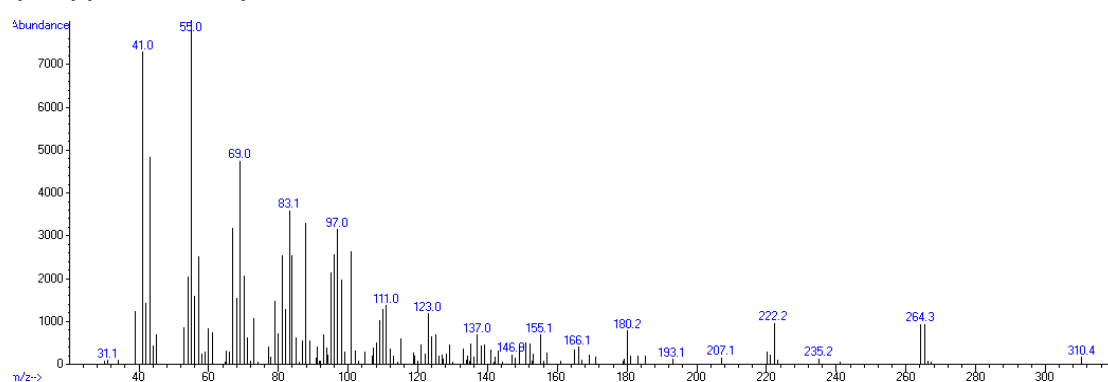
(26c)(23.281 นาที)



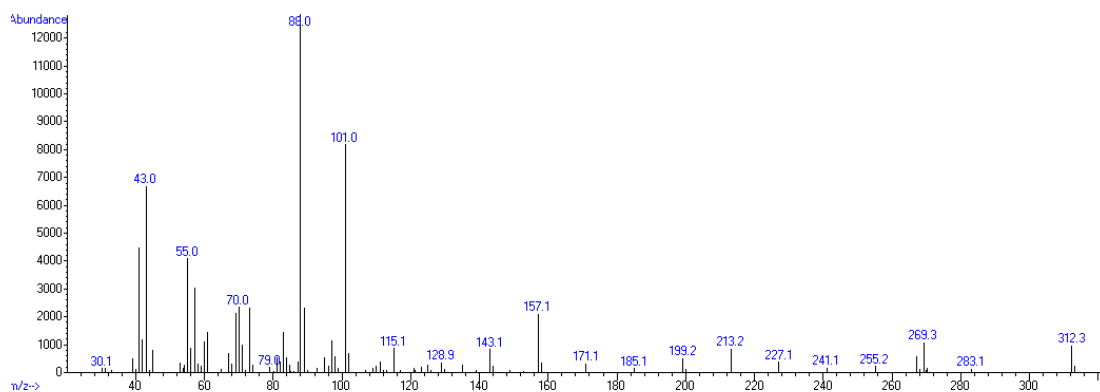
(26d)(23.491 นาที)



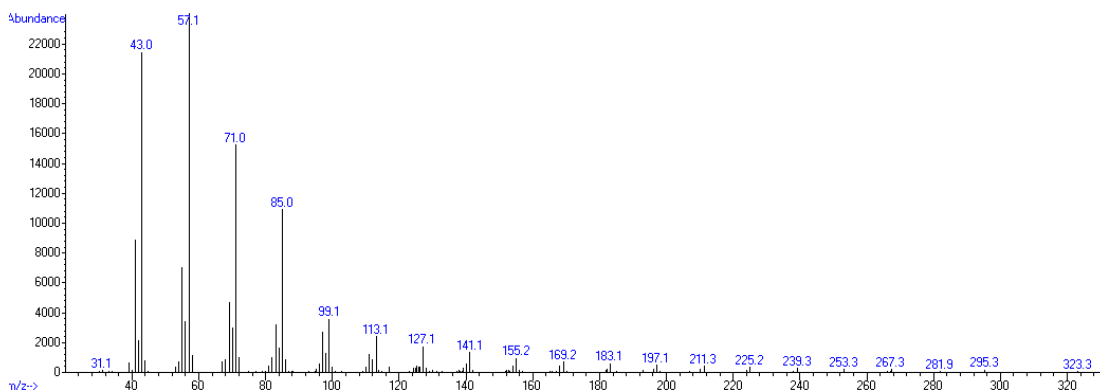
(26e)(23.546 นาที)



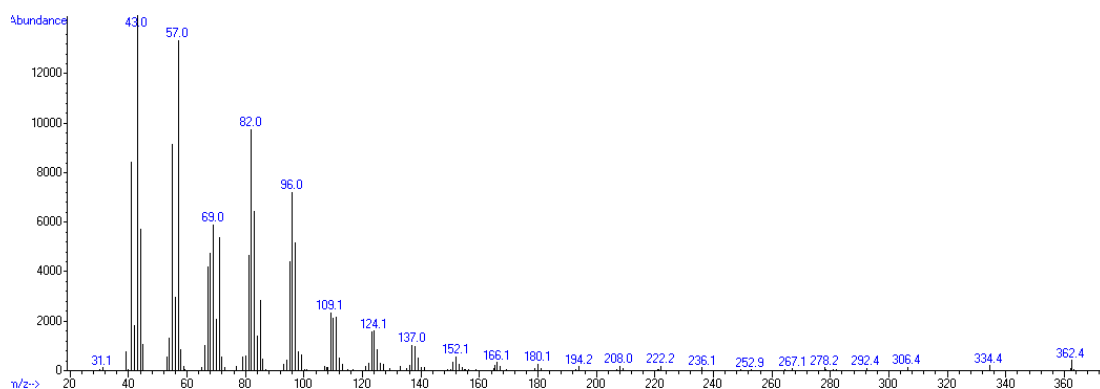
(26f)(23.786 นาที)



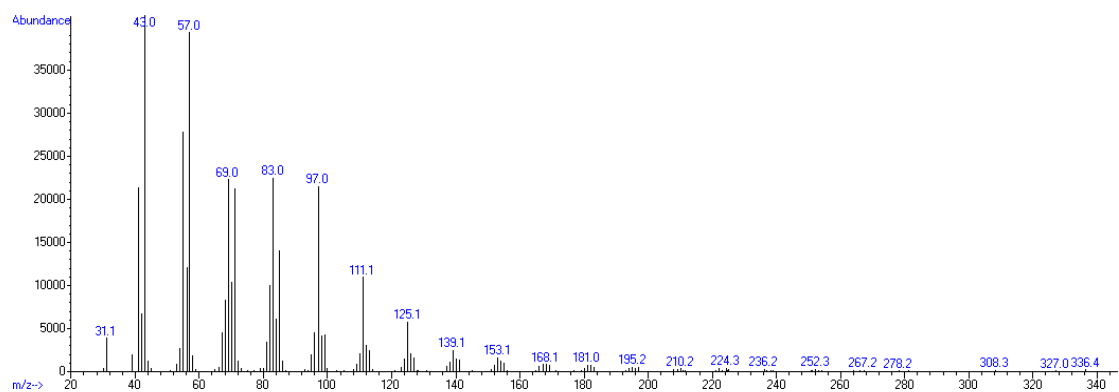
(26g)(28.043 นาที)



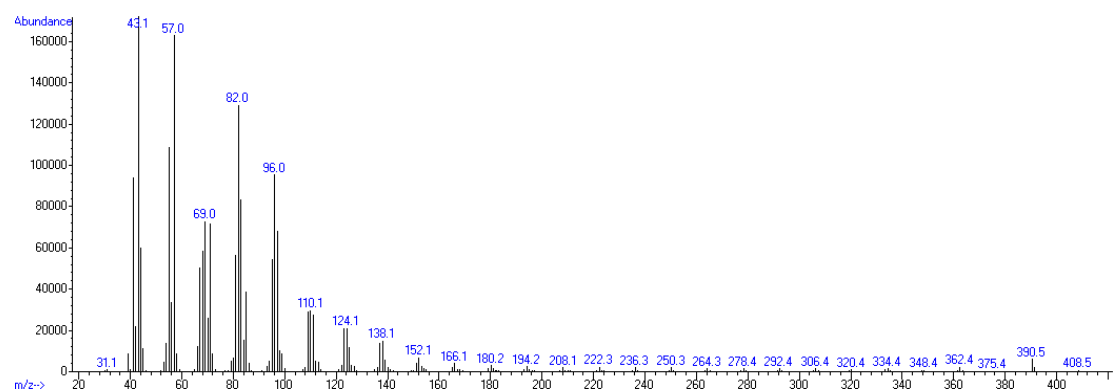
(26h)(29.072 นาที)



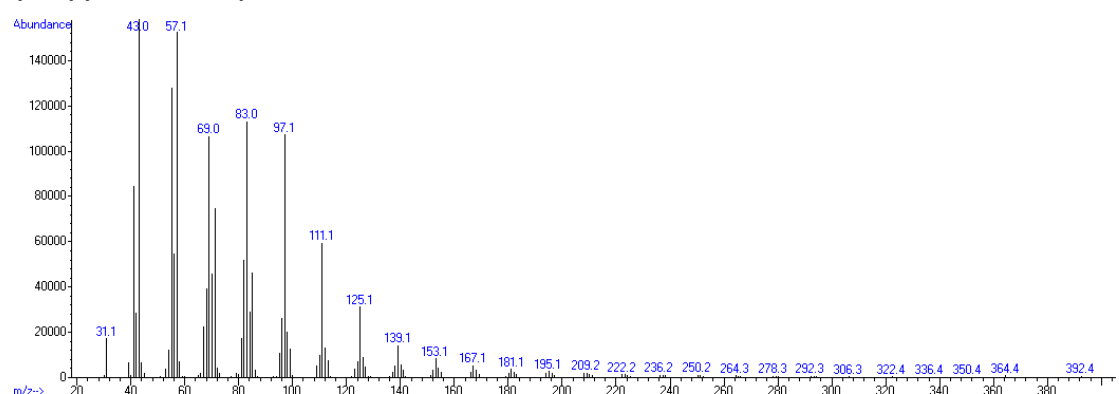
(26i)(29.524 นาที)



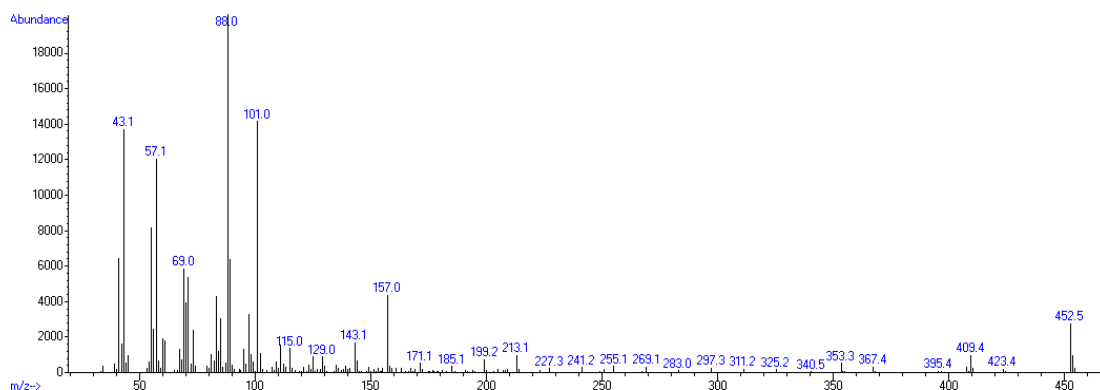
(26j)(30.581 นาที)



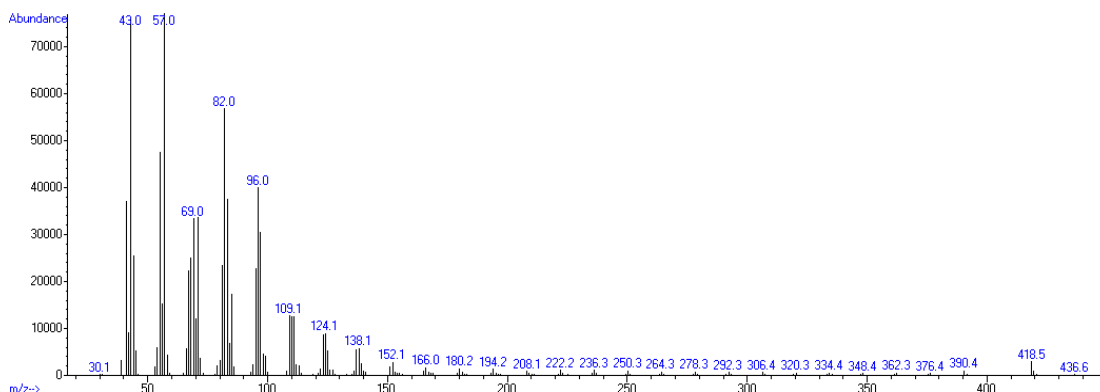
(26k)(31.089 นาที)



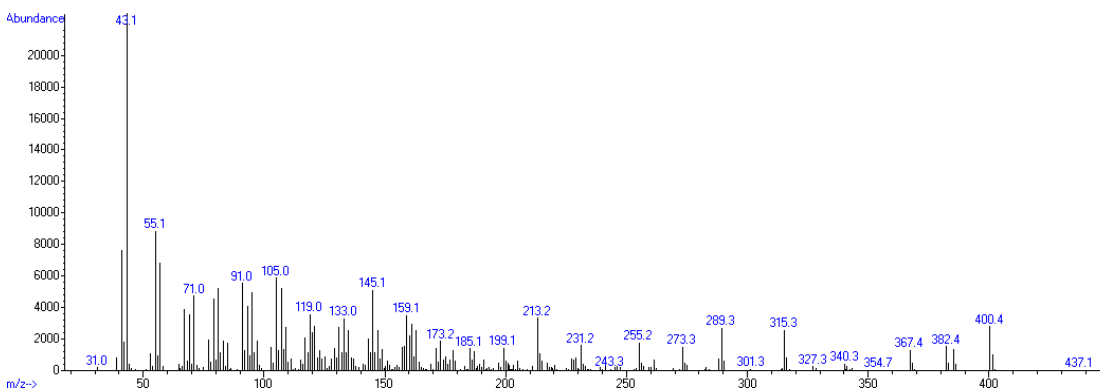
(26l)(31.825 นาที)



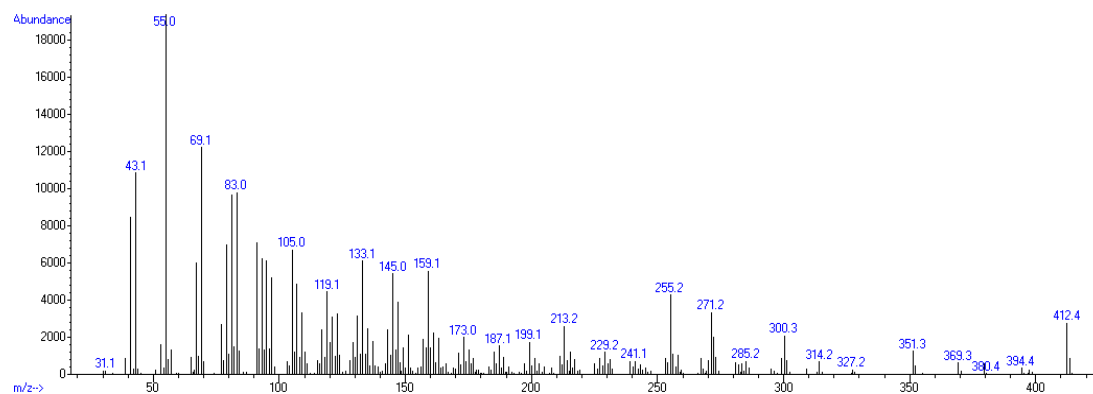
(26m)(32.317 นาที)



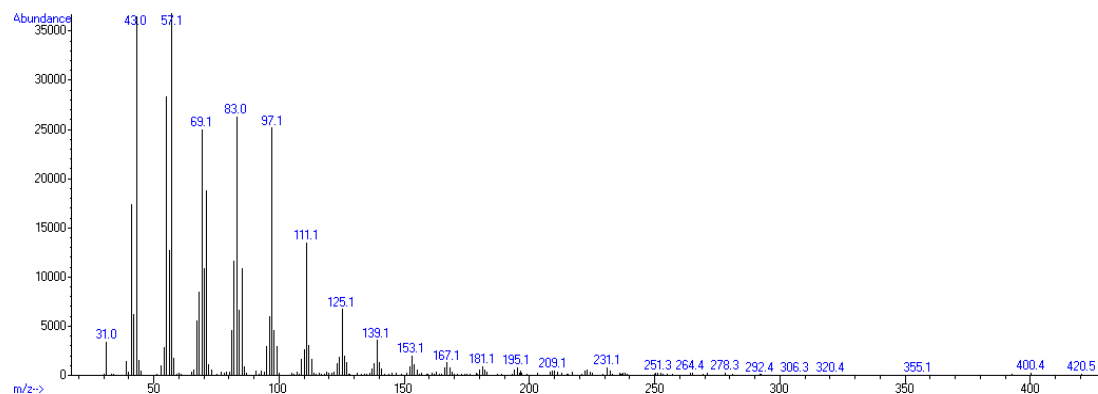
(26n)(32.425 นาที)



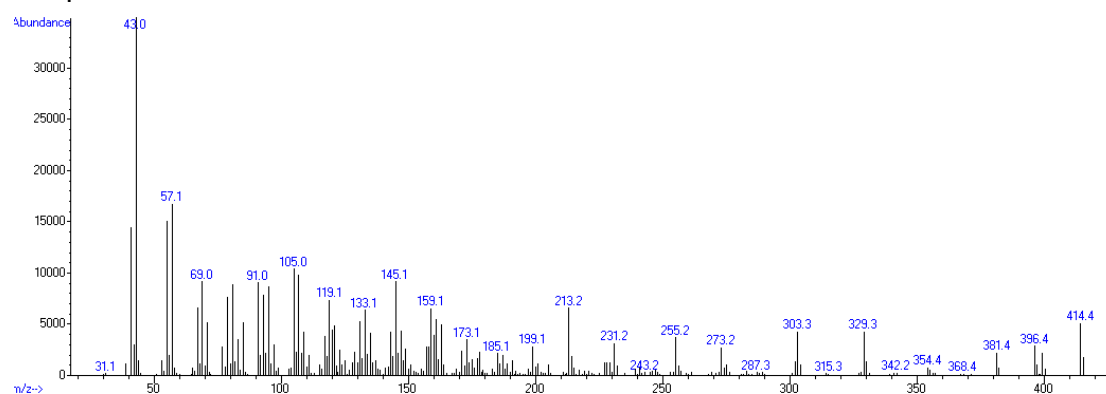
(26o)(32.753 นาที)



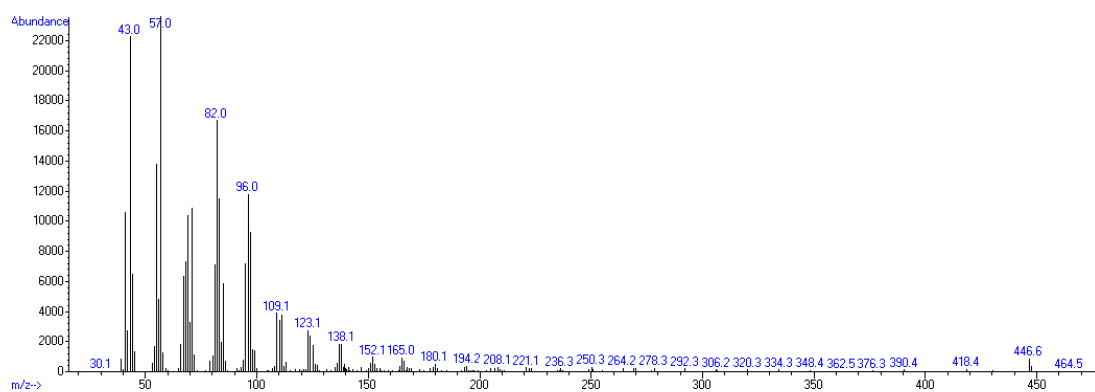
(26p)(32.941 นาที)



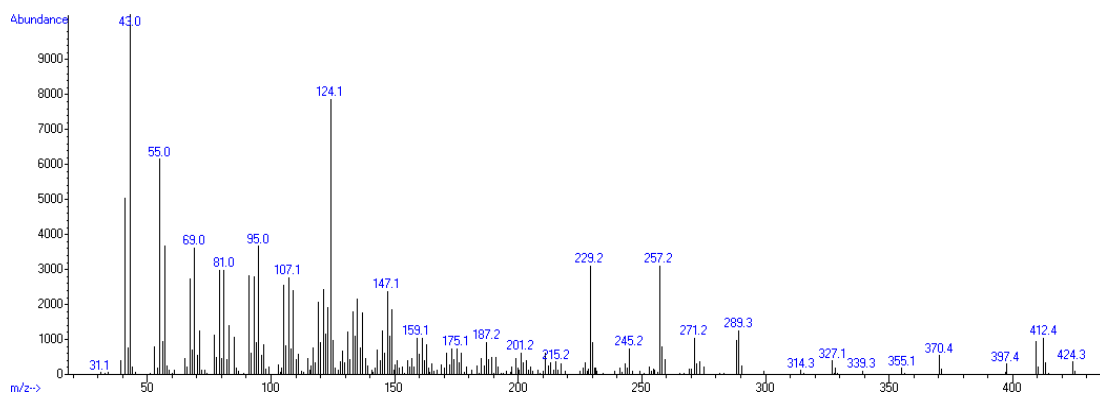
(26q)(33.402 นาที)



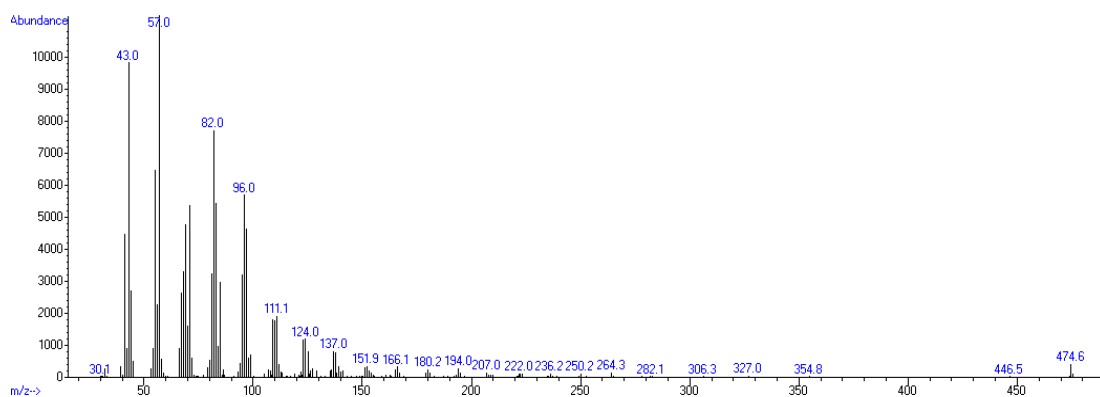
(26r)(34.638 นาที)



(26s)(35.064 นาที)



(26t)(37.954 นาที)



ภาคผนวก ข.

ตารางแสดงกระแสเงินสดปัจจุบันที่จุดคืนทุนเวลาต่าง ๆ และรายการคำนวณค่าไฟฟ้า
ของโครงการย่อยที่ 1

ภาคผนวก ข
ตารางกระแสเงินปัจจุบันที่จุดคืนทุนที่ 3 ปี 5 ปี และ 7 ปี

ตารางแสดงกระแสเงินปัจจุบันที่ระยะเวลาคืนทุน 3 ปี			
เดือนที่ (n)	ต้นทุนดำเนินงานรวม (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน,บาท)	รายได้จากไข่อ้อย (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน,บาท)	ค่าปัจจุบันของเงินรวม (บาท)
1	-273,711	554,858	-8,918,854
2	-272,198	551,790	-8,639,262
3	-270,693	548,738	-8,361,216
4	-269,196	545,704	-8,084,708
5	-267,707	542,687	-7,809,728
6	-266,227	539,686	-7,536,269
7	-264,755	536,702	-7,264,322
8	-263,291	533,734	-6,993,879
9	-261,835	530,783	-6,724,931
10	-260,388	527,848	-6,457,470
11	-258,948	524,930	-6,191,488
12	-257,516	522,027	-5,926,977
13	-256,092	519,141	-5,663,929
14	-254,676	516,270	-5,402,335
15	-253,268	513,415	-5,142,187
16	-251,867	510,577	-4,883,478
17	-250,475	507,753	-4,626,199
18	-249,090	504,946	-4,370,343
19	-247,712	502,154	-4,115,901
20	-246,343	499,377	-3,862,867
21	-244,981	496,616	-3,611,232

ตารางแสดงกระแสเงินสดปัจจุบันที่ระยะเวลาคืนทุน 3 ปี			
เดือนที่ (n)	ต้นทุนดำเนินงานรวม (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน,บาท)	รายได้จากไข่อ้อย (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน,บาท)	ค่าปัจจุบันของเงินรวม (บาท)
22	-243,626	493,870	-3,360,988
23	-242,279	491,139	-3,112,127
24	-240,939	488,424	-2,864,643
25	-239,607	485,723	-2,618,527
26	-238,282	483,037	-2,373,772
27	-236,965	480,366	-2,130,371
28	-235,654	477,710	-1,888,315
29	-234,351	475,069	-1,647,598
30	-233,056	472,442	-1,408,211
31	-231,767	469,830	-1,170,148
32	-230,485	467,232	-933,402
33	-229,211	464,648	-697,965
34	-227,944	462,079	-463,829
35	-226,683	459,524	-230,989
36	-225,430	456,983	565

ตารางแสดงกระแสเงินสดปัจจุบันที่ระยะเวลาคืนทุน 5 ปี			
เดือนที่ (n)	ต้นทุนดำเนินงานรวม (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน, บาท)	รายได้จากไข่อ้อย (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน, บาท)	ค่าปัจจุบันของเงินรวม (บาท)
1	-273,711	453,470	-9,020,241
2	-272,198	450,962	-8,841,477
3	-270,693	448,469	-8,663,701
4	-269,196	445,989	-8,486,907
5	-267,707	443,523	-8,311,092
6	-266,227	441,071	-8,136,248
7	-264,755	438,632	-7,962,371
8	-263,291	436,206	-7,789,456
9	-261,835	433,795	-7,617,497
10	-260,388	431,396	-7,446,489
11	-258,948	429,011	-7,276,426
12	-257,516	426,638	-7,107,303
13	-256,092	424,279	-6,939,116
14	-254,676	421,933	-6,771,859
15	-253,268	419,600	-6,605,526
16	-251,867	417,280	-6,440,113
17	-250,475	414,973	-6,275,615
18	-249,090	412,678	-6,112,027
19	-247,712	410,397	-5,949,342
20	-246,343	408,127	-5,787,558
21	-244,981	405,871	-5,626,668
22	-243,626	403,626	-5,466,668
23	-242,279	401,395	-5,307,552
24	-240,939	399,175	-5,149,316

ตารางแสดงกระแสเงินสดปัจจุบันที่ระยะเวลาคืนทุน 5 ปี			
เดือนที่ (n)	ต้นทุนดำเนินงานรวม (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน, บาท)	รายได้จากไข่อ้อย (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน, บาท)	ค่าปัจจุบันของเงินรวม (บาท)
25	-239,607	396,968	-4,991,955
26	-238,282	394,773	-4,835,464
27	-236,965	392,590	-4,679,839
28	-235,654	390,419	-4,525,074
29	-234,351	388,261	-4,371,165
30	-233,056	386,114	-4,218,107
31	-231,767	383,979	-4,065,895
32	-230,485	381,856	-3,914,524
33	-229,211	379,744	-3,763,991
34	-227,944	377,644	-3,614,290
35	-226,683	375,556	-3,465,417
36	-225,430	373,480	-3,317,367
37	-224,183	371,415	-3,170,136
38	-222,944	369,361	-3,023,718
39	-221,711	367,319	-2,878,111
40	-220,485	365,288	-2,733,308
41	-219,266	363,268	-2,589,306
42	-218,053	361,259	-2,446,101
43	-216,848	359,262	-2,303,687
44	-215,649	357,275	-2,162,060
45	-214,456	355,300	-2,021,217
46	-213,271	353,335	-1,881,153
47	-212,091	351,381	-1,741,863
48	-210,919	349,438	-1,603,343

ตารางแสดงกระแสเงินสดปัจจุบันที่ระยะเวลาคืนทุน 5 ปี			
เดือนที่ (n)	ต้นทุนดำเนินงานรวม (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน, บาท)	รายได้จากไข่อ้อย (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน, บาท)	ค่าปัจจุบันของเงินรวม (บาท)
49	-209,752	347,506	-1,465,589
50	-208,593	345,585	-1,328,597
51	-207,439	343,674	-1,192,362
52	-206,292	341,774	-1,056,881
53	-205,151	339,884	-922,148
54	-204,017	338,004	-788,161
55	-202,889	336,135	-654,914
56	-201,767	334,277	-522,405
57	-200,652	332,429	-390,628
58	-199,542	330,590	-259,579
59	-198,439	328,762	-129,256
60	-197,341	326,945	347

ตารางแสดงกระแสเงินสดปัจจุบันที่ระยะเวลาคืนทุน 7 ปี			
เดือนที่ (n)	ต้นทุนดำเนินงานรวม (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน, บาท)	รายได้จากไข่อ้อย (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน, บาท)	ค่าปัจจุบันของเงินรวม (บาท)
1	-273,711	410,326	-9,063,385
2	-272,198	408,057	-8,927,526
3	-270,693	405,801	-8,792,417
4	-269,196	403,557	-8,658,056
5	-267,707	401,326	-8,524,438
6	-266,227	399,107	-8,391,558
7	-264,755	396,900	-8,259,414
8	-263,291	394,705	-8,128,000
9	-261,835	392,523	-7,997,312
10	-260,388	390,352	-7,867,347
11	-258,948	388,194	-7,738,101
12	-257,516	386,047	-7,609,570
13	-256,092	383,913	-7,481,749
14	-254,676	381,790	-7,354,635
15	-253,268	379,679	-7,228,224
16	-251,867	377,580	-7,102,511
17	-250,475	375,492	-6,977,494
18	-249,090	373,416	-6,853,169
19	-247,712	371,351	-6,729,530
20	-246,343	369,298	-6,606,575
21	-244,981	367,256	-6,484,300
22	-243,626	365,225	-6,362,702
23	-242,279	363,205	-6,241,775
24	-240,939	361,197	-6,121,517

ตารางแสดงกระแสเงินสดปัจจุบันที่ระยะเวลาคืนทุน 7 ปี			
เดือนที่ (n)	ต้นทุนดำเนินงานรวม (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน, บาท)	รายได้จากไข่อ้อย (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน, บาท)	ค่าปัจจุบันของเงินรวม (บาท)
25	-239,607	359,200	-6,001,925
26	-238,282	357,214	-5,882,993
27	-236,965	355,239	-5,764,719
28	-235,654	353,274	-5,647,099
29	-234,351	351,321	-5,530,130
30	-233,056	349,378	-5,413,807
31	-231,767	347,447	-5,298,127
32	-230,485	345,525	-5,183,087
33	-229,211	343,615	-5,068,683
34	-227,944	341,715	-4,954,912
35	-226,683	339,825	-4,841,770
36	-225,430	337,946	-4,729,253
37	-224,183	336,078	-4,617,358
38	-222,944	334,219	-4,506,083
39	-221,711	332,371	-4,395,422
40	-220,485	330,534	-4,285,374
41	-219,266	328,706	-4,175,933
42	-218,053	326,888	-4,067,098
43	-216,848	325,081	-3,958,865
44	-215,649	323,283	-3,851,231
45	-214,456	321,496	-3,744,191
46	-213,271	319,718	-3,637,743
47	-212,091	317,950	-3,531,884
48	-210,919	316,192	-3,426,610

ตารางแสดงกระแสเงินสดปัจจุบันที่ระยะเวลาคืนทุน 7 ปี			
เดือนที่ (n)	ต้นทุนดำเนินงานรวม (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน, บาท)	รายได้จากไข่อ้อย (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน, บาท)	ค่าปัจจุบันของเงินรวม (บาท)
49	-209,752	314,444	-3,321,919
50	-208,593	312,705	-3,217,806
51	-207,439	310,976	-3,114,269
52	-206,292	309,257	-3,011,304
53	-205,151	307,547	-2,908,909
54	-204,017	305,846	-2,807,080
55	-202,889	304,155	-2,705,813
56	-201,767	302,473	-2,605,107
57	-200,652	300,801	-2,504,958
58	-199,542	299,138	-2,405,362
59	-198,439	297,484	-2,306,318
60	-197,341	295,839	-2,207,820
61	-196,250	294,203	-2,109,868
62	-195,165	292,576	-2,012,457
63	-194,086	290,958	-1,915,585
64	-193,013	289,350	-1,819,248
65	-191,946	287,750	-1,723,444
66	-190,884	286,159	-1,628,170
67	-189,829	284,576	-1,533,422
68	-188,779	283,003	-1,439,199
69	-187,735	281,438	-1,345,496
70	-186,697	279,882	-1,252,312
71	-185,665	278,334	-1,159,642
72	-184,638	276,795	-1,067,486

ตารางแสดงกระแสเงินสดปัจจุบันที่ระยะเวลาคืนทุน 7 ปี			
เดือนที่ (n)	ต้นทุนดำเนินงานรวม (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน, บาท)	รายได้จากไข่อ้อย (แปลงเป็นค่าเงินปัจจุบัน, บาท)	ค่าปัจจุบันของเงินรวม (บาท)
73	-183,617	275,265	-975,838
74	-182,602	273,743	-884,698
75	-181,592	272,229	-794,061
76	-180,588	270,724	-703,926
77	-179,590	269,227	-614,289
78	-178,597	267,738	-525,148
79	-177,609	266,258	-436,499
80	-176,627	264,785	-348,341
81	-175,651	263,321	-260,670
82	-174,679	261,865	-173,484
83	-173,713	260,417	-86,780
84	-172,753	258,977	-555

รายการคำนวณค่าไฟฟ้า

(1) การคำนวณค่าไฟฟ้าของการไฟฟ้าส่วนภูมิภาค อำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี

ค่าไฟฟ้าจากมิเตอร์ชนิด MITSUBISHI/MX1-3R1TL และ EDM/GENIUS ต่อวัน จากการทดลองที่ 12

ประเภทที่ 3.1 (กิจการขนาดกลาง) อัตราตามช่วงเวลาของการใช้ (Time of Use Tariff : TOU Tariff) สำหรับการใช้ไฟฟ้าเพื่อประกอบธุรกิจ อุตสาหกรรม ส่วนราชการ สำนักงาน หรือหน่วยงานอื่นใดของรัฐ องค์การปกครองส่วนท้องถิ่น รัฐวิสาหกิจ สถานทูต สถานที่ทำการของหน่วยงานราชการต่างประเทศ สถานที่ทำการขององค์การระหว่างประเทศ หรืออื่น ๆ ตลอดจนบริเวณที่เกี่ยวข้อง ซึ่งมีความต้องการพลังไฟฟ้าเฉลี่ยใน 15 นาทีสูงสุดในช่วงเวลาใดเวลาหนึ่ง ตั้งแต่ 30 กิโลวัตต์ แต่ไม่ถึง 1,000 กิโลวัตต์ และมีปริมาณการใช้พลังงานไฟฟ้าเฉลี่ย 3 เดือนก่อนหน้าไม่เกิน 250,000 หน่วยต่อเดือน โดยต่อผ่านเครื่องวัดไฟฟ้าเครื่องเดียว

แรงดันไฟฟ้า 2 (แรงดัน 22 - 33 kV)

ความต้องการพลังไฟฟ้าช่วง On Peak	0.07	กิโลวัตต์
ความต้องการพลังไฟฟ้าช่วง Off Peak	0	กิโลวัตต์
ความต้องการพลังไฟฟ้าช่วง Holiday	0	กิโลวัตต์
พลังงานไฟฟ้าช่วง On Peak (P)	519	หน่วย
พลังงานไฟฟ้าช่วง Off Peak (OP)	0	หน่วย
พลังงานไฟฟ้าช่วง Holiday (H)	0	หน่วย
ความต้องการพลังไฟฟ้ารีแอกทีฟ (KVAR)	2.17	กิโลวาร์
ค่า F_t	46.38	สตางค์/หน่วย

ส่วนที่ 1 ค่าไฟฟ้าฐาน

1.1 ค่าความต้องการพลังไฟฟ้า On Peak

แรงดันตั้งแต่ 69 kV ขึ้นไป	74.14	(บาท/กิโลวัตต์)
แรงดัน 22-33 kV	132.93	(บาท/กิโลวัตต์)
แรงดันต่ำกว่า 22 kV	210.00	(บาท/กิโลวัตต์)
$= 0.07 \times 132.93 = 9.04$ บาท		

1.2 ค่าพลังงานไฟฟ้า On Peak

แรงดันตั้งแต่ 69 kV ขึ้นไป	4.1283	(บาท/หน่วย)
แรงดัน 22-33 kV	4.2097	(บาท/หน่วย)
แรงดันต่ำกว่า 22 kV	4.3555	(บาท/หน่วย)
$= 519 \times 4.2097 = 2,184.83$ บาท		

1.3 ค่าเพาเวอร์แฟคเตอร์

จำนวนกิโลวาร์ที่คิดเงิน	2.00	กิโลวาร์
อัตราค่าตัวประกอบกำลังไฟฟ้า (Power Factor Charge) อัตราค่าตัวประกอบกำลังไฟฟ้า 56.07 บาท/กิโลวาร์ต่อเดือน สำหรับกิโลวาร์ส่วนเกินเมื่อค่าตัวประกอบ กำลังไฟฟ้ต่ำกว่า 0.875 (Lagging)		
$= 2 \times 56.07 = 112.14$ บาท		

1.4 ค่าบริการ = 312.24 บาท

รวมค่าไฟฟ้าฐาน = $9.04 + 2,184.83 + 112.14 + 312.24 = 2,618.25$ บาท

ส่วนที่ 2 ค่าไฟฟ้าผันแปร (Ft)

จำนวนพลังงานไฟฟ้า $\times$ ค่า Ft = $519 \times 46.38 = 240.71$ บาท

ส่วนที่ 3 ค่าภาษีมูลค่าเพิ่ม 7%

(ค่าไฟฟ้าฐาน + ค่า Ft) $\times 7/100 = 200.13$ บาท

รวมเงินค่าไฟฟ้า = $2,618.25 + 240.71 + 200.13 = 3,059.09$ บาท

ภาคผนวก ค

เอกสารข้อมูล มาตรฐานควบคุมคุณภาพ และกฎระเบียบที่เกี่ยวข้องกับสาร policosanol

แนวทางข้อมูลเกี่ยวกับองค์ประกอบของสารประกอบแอลกอฮอล์จากไขอ้อย

ชื่อสาร

แอลกอฮอล์จากไขอ้อย) sugar cane wax alcohols, SCWA)

คำจำกัดความของสาร

สารประกอบแอลกอฮอล์จากไขอ้อยมีลักษณะเป็นผงผลึกที่สกัดจากไขอ้อย)*Saccharum officinarum* L. ซึ่งได้จากกากหมักกรองของกระบวนการผลิตน้ำตาลจากอ้อย โดย (ผ่านกระบวนการสปอนนิฟิเคชันและการสกัด สารที่สกัดได้ประกอบด้วยแอลกอฮอล์ที่มีโครงสร้างเป็นโซ่ตรง มีขนาดโมเลกุลใหญ่ และกรดอะลิฟาติก ข้อกำหนดเฉพาะของสาร แสดงดังตารางที่ 1

ตารางผนวก ค-1 ข้อกำหนดเฉพาะของสาร

การทดสอบ	วิธีที่ใช้ในการทดสอบ	เกณฑ์ที่ยอมรับ
คุณลักษณะ		
ลักษณะปรากฏ	โดยการสังเกต	สีขาวนวล (off-white)
กลิ่น	การทดสอบดม	ไม่มีกลิ่น
ข้อกำหนดเฉพาะ		
กากหลังเผา	USP	< 0.85%
การเสียน้ำหนักเมื่อแห้ง	BP	< 1.0%
จุดหลอมเหลว		78.0-82.0 °C
การตรวจสอบเอกลักษณ์		
GC profile	GC-MS	โครมาโตแกรมแสดงพีคแต่ละชนิดของ aliphatic primary alcohols ที่ระบุในวิธีการวิเคราะห์
การวิเคราะห์		
Total content of higher aliphatic primary alcohols	GC	≥ 85% โดยน้ำหนัก
1-tetracosanol	GC	0.0-0.3%
1-hexacosanol	GC	3.0-8.0%
1-heptacosanol	GC	0.1-4.0%
1-octacosanol	GC	60.0-70.0%
1-nonacosanol	GC	0.1-2.0%
1-triacontanol	GC	10.0-15.0%
1-dotriacontanol	GC	4.0-10.0%
1-tetatriacontanol	GC	0.1-5.0%
ข้อจำกัดของสารแปลกปน		
ตัวทำละลายตกค้าง	ICH topic Q3C*	เป็นไปตามข้อกำหนด
โลหะหนัก	USP 23	< 10 ppm
โซเดียม	AAS	< 0.01% (100 ppm)
โพแทสเซียม	AAS	< 0.45% (4500 ppm)
วัตถุอันตรายทางการเกษตร	BP (Vol IV, Appendix XI L., Pesticide residues; Ph Eur method 2.8.13)	เป็นไปตามข้อกำหนด

Compositional guideline: Sugar cane wax alcohols โดยหน่วยงาน Therapeutic Goods Administration)TGA(สังกัดกระทรวงสาธารณสุข ประเทศออสเตรเลีย



Compositional Guideline for Sugar cane wax alcohols

Name of the ingredient

Sugar cane wax alcohols (SCWA) (AAN)

Definition of the ingredient

SCWA is the powdered crystalline extract obtained from the wax of the stem and leaves of the sugar cane plant (*Saccharum officinarum* L.) by a saponification/extraction process. The material consists primarily of high molecular weight straight-chain alcohols and aliphatic acids.

Table 1. Ingredient specific requirements

Test	Method reference	Acceptance criteria
Description		
Appearance	Visual	Off-white
Odour	Organoleptic	Odourless
Characteristics		
Residue on ignition	USP	< 0.85%
Loss on drying	BP	< 1.0%
Melting Point		78.0 – 82.0°C
Identification		
GC profile	GC	GC chromatogram shows peaks for the individual higher aliphatic primary alcohols specified in the assay

Test	Method reference	Acceptance criteria
Assay		
Total content of higher aliphatic primary alcohols	GC	≥ 85.0%, but < 90.0% by weight
1-tetracosanol (C ₂₄ H ₄₉ OH)	GC	0.0 - 0.3%
1-hexacosanol (C ₂₆ H ₅₃ OH)	GC	3.0 - 8.0%
1-heptacosanol (C ₂₇ H ₅₅ OH)	GC	0.1 - 3.0%
1-octacosanol (C ₂₈ H ₅₇ OH)	GC	60.0 - 70.0%
1-nonacosanol (C ₂₉ H ₅₉ OH)	GC	0.1 - 2.0%
1-triacontanol (C ₃₀ H ₆₁ OH)	GC	10.0 - 15.0%
1-dotriacontanol (C ₃₂ H ₆₅ OH)	GC	5.0 - 10.0%
1-tetratriacontanol (C ₃₄ H ₆₉ OH)	GC	0.1 - 5.0%

Table 2. Incidental constituents

Test	Method reference	Acceptance criteria
Solvent residues	ICH topic Q3C*	Complies
Incidental metals and non-metals		
Total heavy metals	USP 23	< 10 ppm
Sodium content	AAS or flame photometry	< 0.01% (100 ppm)
Potassium content	AAS or flame photometry	< 0.45% (4500 ppm)
Pesticide residues and environmental contaminants: (including agricultural and veterinary substances)	BP (Vol IV, Appendix XI L, Pesticide residues; Ph Eur method 2.8.13)	Complies
Microbiology	While substance manufacturers are encouraged to include limits for objectionable microorganisms, it is the product into which the substance is formulated that is subject to a legally binding set of criteria. The <i>Therapeutic Goods Order No. 77 'Microbiological Standards for Medicines'</i> mandates that any finished product which contains the ingredient, alone or in combination, must comply with the microbial acceptance criteria set by Clause 9 of the Order.	
Notes * International Conference on Harmonisation Topic Q3C- Impurities: Guidelines for residual solvents (1997)		

Key to abbreviations: -

AAS = Atomic absorption spectrometry

BP = British Pharmacopoeia

GC = Gas chromatography

Ph Eur = European Pharmacopoeia
USP = United States Pharmacopoeia

ความคิดเห็นเกี่ยวกับ sugar cane wax alcohols ของ Complementary Medicines Evaluation Committee (CMEC) ในรายงานการประชุม CMEC ครั้งที่ 26 ประเทศออสเตรเลีย



CMEC 25

Complementary Medicines Evaluation Committee

Extracted Ratified Minutes Twenty Fifth Meeting 2 February 2001

(ratified at the 26th meeting of CMEC, 23 March 2001)

Abbreviations:

ADEC	Australian Drug Evaluation Committee
ADRAC	Adverse Drug Reactions Advisory Committee
ADRU	Adverse Drug Reactions Unit (of TGA)
ANZFA	Australia New Zealand Food Authority
ARTG	Australian Register of Therapeutic Goods
ASMI	Australian Self Medication Industry
CHC	Complementary Healthcare Council of Australia
CMEC	Complementary Medicines Evaluation Committee
DSEB	Drug Safety and Evaluation Branch
ELF	Electronic Lodgement Facility
JHTF	Joint Herbal Task Force
MEC	Medicines Evaluation Committee
NDPSC	National Drugs and Poisons Schedule Committee
OCM	Office of Complementary Medicines
PBS	Pharmaceutical Benefits Scheme
SUSDP	Standard for the Uniform Scheduling of Drugs and Poisons
TGA	Therapeutic Goods Administration

6.2 Sugar cane wax alcohols

A TGA officer introduced this item and explained that sugar cane wax alcohols (SCWA) are produced following saponification of a waxy extract of *Saccharum officinarum*, L. The substance does not fit the definition of a herbal substance under the Therapeutic Goods Regulations.

Present discussion:

Discussion focussed on the similarity of SCWA to the related, more highly purified, substance policosanol. Impurities present in SCWA are likely to also be present in policosanol, albeit at a slightly lower level. Because of this compositional similarity, members judged that the considerable body of published data available to support the safety of policosanol is applicable to an assessment of the safety of SCWA.

In support of the suitability for use of SCWA in listable therapeutic goods, CMEC noted the following:

- Clinical trials and continuing post-market vigilance of SCWA support its low risk nature, even among older adults with pre-existing illness or disease risk factors who are taking other medications. However clinical trials have been restricted to a daily

dose of up to 12 mg SCWA. Safety of higher doses in humans has not been established.

- The safety of the closely related substance policosanol has been demonstrated for up to 3 – 5 years of usage.
- Animal studies have not identified any issues likely to be of concern for human use of SCWA, other than the potential for placental transfer of components of SCWA.
- There is a documented history of use of SCWA as a food supplement in Cuba, and of policosanol as a medicine in a range of South American and Eastern European countries.
- There is some dietary consumption of long chain aliphatic alcohols although it is not possible to quantify intake.

Members considered that SCWA is suitable for use as an active ingredient in listable therapeutic goods, but considered that it would be prudent to place two restrictions on its use:

- a daily dose limit of 12 mg, in line with doses used in clinical trials. This would also have the effect of limiting exposure to any impurities; and
- a label advisory statement that the substance is not suitable for use during pregnancy and lactation, as there may be some placental transfer of the substance. However members noted that a rat peri- and post-natal toxicity study of policosanol did not identify any adverse outcomes for the offspring of mothers fed policosanol.

Members made the following recommendation to the TGA:

Recommendation 25.6

CMEC recommends to the TGA that ‘sugar cane wax alcohols’ is suitable for use as an active ingredient in listable therapeutic goods, provided that the recommended daily dose of the substance does not exceed 12 mg, and that goods containing the substance carry the following label advisory statement:

“Not recommended for use by pregnant and lactating women” (or words to that effect)

ข้อมูลเกี่ยวกับการอนุญาตให้ใช้สาร policosanol ได้ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมตามบัญชีรายชื่อ
ของส่วนผสมชนิดใหม่ที่ได้รับการรับรองจากกระทรวงสาธารณสุขของประเทศอิสราเอลใน
กฎระเบียบการนำเข้าสินค้า



THIS REPORT CONTAINS ASSESSMENTS OF COMMODITY AND TRADE ISSUES MADE BY
USDA STAFF AND NOT NECESSARILY STATEMENTS OF OFFICIAL U.S. GOVERNMENT
POLICY

Required Report - public distribution

Date: 12/29/2014

Food and Agricultural Import Regulations and Standards - Narrative

FAIRS Country Report

Approved By:

Ron Verdonk (Minister-Counselor)

Prepared By:

Orestes Vasquez and Gilad Shachar

Report Highlights:

In the current report the following updates are reflected in the sections included:

- Section I. General Food Laws - The Government of Israel (GOI) approved measures to allow the opening up of the food import market to parallel imports. The reform will enter into force on January, 2015 and includes dry goods such as pasta, breakfast cereals, cookies, crackers, snacks, rice, and beans.
- Section V. Pesticides and Other Contaminants - Levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in foods, which will enter into force on 1/1/2015.
- Section VII. Other Specific Standards - In October, 2013 new draft regulations announced by Israel's Ministry of Health concerns biotech foods "Public Health Regulations (Food) (Novel foods) 5773 - 2013" (G/TBT/N/ISR/710) were notified to the WTO for comments by other members.
- Section IX. Import Procedure - New regulations limiting the advertising and marketing of alcoholic drinks.
- Section IX. Import Procedure - Revision of the Mandatory Standard SI 284 dealing with Cow's milk.
- Section IX. Import Procedure - Required documents for the shipment of milling wheat
- Section IX. Import Procedure - Revision of the Mandatory Standard SI 1208 to be replaced with SI 7301, Rice. This draft standard revision adopts the International Standard ISO 7301 - Third edition and therefore is significantly different from the old version
- Section IX. Import Procedure - In January, 2014 the Israeli Ministry of Health announced a law restricting the advertisement and marketing of tobacco products.
- Section IX. Import Procedure - In September, 2014, Israel published new phytosanitary import requirements for U.S. apples and pears.

Ingredient name	CAS number	Status of request
Agmatine sulphate	2842-0-0	Denied
Alpha lipoic acid 600 mg/day	1200-22-2	Approved
Arabinogalactan 4500 mg/day	9036-66-2	Approved
Artemisia herba alba		Still in discussion
Astaxanthin 5 mg/day	472-61-7	Approved
Baccharis genistelloides Carqueja		Still in discussion
Betaine 1000 mg/day	107-43-7	Approved
Boron Boric Acid 2 mg/day	7440-42-8; 10043-35-3	Approved
Bupleurum chinensis root		Approved
Calcium phytate	3615-82-5	Still in discussion
Charcoal activated	7440-44-0	Approved
Chlorophyll and chlorophyllin copper complex 100 mg/day	11006-34-1	Approved
Crataegus oxycantha		Still in discussion
Cuscuta chinensis seeds		Approved
EGCG Epigallocatechin gallate 60 mg/day	989-51-5	Approved
Genisteine Pure added to dietary supplements	446-72-0	Denied
Glucan beta 1/3,1/6 - d - glucan 1200	912-72-0	Approved
GUAR GUM GLUCOMANNAN NATURAL FIBER		Needs to add a remark: must drink a lot of water when consuming the product
Gynostemma pentaphyllum		Denied
Hesperidin 50mg/day	520-26-3	Approved
Hoodia gordonii P57		Still in discussion
Hydroxycitric acid 2800 mg/day	6205-14-7	Approved
Ilex pubescens radix		Still in discussion
Indole-3-carbinol	700-06-1	Denied
Inulin	9005-80-5	Approved
Lactofemin	151186-19-5	Approved
L-alpha-Glycerolphosphorylcholine hydrate (GPC) 600 mg/day	28319-77-9	Approved
Leonurus heterophyllum above ground parts		Approved
Loranthus chinensis		Approved
Lutein / Zeaxanthin 20 mg/day	127-40-2; 144-68-3	Approved
Morinda cintrifolia Noni juice		No more than 50 ml per day
MSM - Methyl sulfonyl methane	67-71-0	Approved
Myrica rubra fruit juice		Approved
Piperine 5mg/day	94-62-2	Approved
Policosanol 40 mg/day	557-61-9	Approved
Polygala sibirica radix		Still in discussion
Quercetin 250 mg/day	117-39-5	Approved
Resveratrol 10 mg/day	501-36-0	Approved
Rutin 10 mg/day	153-18-4	Approved
Silicone dioxide 1500 mg/day	7631-86-9	Approved
Soy isoflavones 50 mg/day		Approved
Stannum Tin		Denied
Succinic acid 400 mg/day	110-15-6	Approved
Teucrium chamaedrys		Denied
Vanadium	7440-62-2	Denied

หมายเหตุ ระบุไว้ใน Section V. Pesticides and Other Contaminants - Levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in foods

ข้อมูลการวิจัยเชิงทดลองทางคลินิก (clinical trial) จาก (American Botanical Council)



P.O. Box 144345 Austin, TX 78714-4345 • 512.926.4900 • Fax: 512.926.2345 • www.herbalgram.org

HerbClip™

Mariann Garner-Wizard
Jennifer Minigh, PhD
Densie Webb, PhD

Shari Henson
Heather S Oliff, PhD

Brenda Milot, ELS
Marissa Oppel, MS

Executive Editor – Mark Blumenthal

Managing Editor – Lori Glenn

Consulting Editors – Dennis Awang, PhD, Steven Foster, Roberta Lee, MD

Funding/Administration – Wayne Silverman, PhD

Production – George Solis

FILE: ▪ Policosanol
▪ Plant Sterols and Stanols
▪ Coronary Heart Disease
▪ Cholesterol

HC 040661-316

Date: November 15, 2006

RE: Plant Sterols and Stanols and Policosanol: Safety and Efficacy in Treatment of Coronary Heart Disease

Chen JT, Wesley R, Shamburek RD, Pucino F, Csako G. Meta-analysis of natural therapies for hyperlipidemia: plant sterols and stanols versus policosanol. *Pharmacother.* Feb 2005; 25(2):171-183.

Often called phytosterols, plant sterols and stanols are derivatives of cholesterol found in vegetable oils and other natural sources. Policosanol is a mixture of aliphatic compounds from sugarcane wax (*Saccharum officinarum*). Plant sterols, plant stanols, and policosanol are used to reduce low density lipoprotein LDL ("bad") cholesterol and to improve cardiovascular health. The United States National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP ATP III) recommends a diet that includes 2 g/day of plant sterols and stanols in order to reduce the risk of developing coronary heart disease (CHD).¹ This systematic review and meta-analysis was designed to determine the efficacy and safety of policosanol and plant sterols and stanols in reducing LDL cholesterol. A total of 52 clinical trials and 4,596 patients were included in the analysis. Randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trials on plant stanols and sterols and policosanol published between January 1967 and June 2003 were pulled from the following databases: MEDLINE, EMBASE, Web of Science, and the Cochrane Library. The trials were included in the review if they reported LDL levels, had duration of 4 weeks or more, and included plant stanol/sterol doses of at least 2 g/day or policosanol doses of at least 5 mg/day. A total of 23 plant stanol and stanol trials and 29 policosanol trials met the inclusion criteria.

For the plant stanol and sterol trials, the average daily dose was 3.4 g (range: 2-9 g/day), and the average treatment duration was 8.6 weeks (range: 4-52 weeks). Preparations used in these studies include regular margarine, rapeseed-oil margarine, salad dressing, chocolate, butter, sausage, cold cut meats, ground beef, low-fat yogurt, reduced fat spreads, jam, and beverages. The weighted percent LDL reduction was greater for the plant stanol and sterol preparations (-11 %) than for the study placebos (-2-3 %) (Cumulative P<0.0001). Plant

sterols and stanols increased high density lipoprotein (HDL) "good" cholesterol levels, but not significantly, and had no effect on triglyceride levels. In addition, plant sterols and stanols were better than placebo at reducing total cholesterol levels ($P<0.0001$) and LDL: HDL ratios ($P<0.0025$). For the policosanols clinical trials, the average daily dose was 12 mg/day (range: 5-40 mg/day) and the average treatment duration was 29.6 weeks (range: 4-104 weeks). All the policosanols trials involved tablet formulations. The weighted percent LDL reductions were greater for the policosanols formulations (-23.7%), when compared with placebos (-0.1%) (Cumulative $P<0.0001$). Policosanol was also better than placebo at reducing total cholesterol levels ($P<0.0001$), reducing LDL: HDL ratios ($P<0.0001$), and increasing HDL levels ($P<0.0001$). Policosanol caused a slight, non-significant effect on triglycerides. By subtracting the change in lipid parameters for the placebo from the change for the treatment groups, the net reduction was obtained. The net reduction in LDL levels, total cholesterol levels, LDL: HDL ratio, and triglyceride levels was significantly higher for the policosanols group, when compared with the plant stanols/sterol group ($P\leq 0.0006$). The net increase in HDL levels was greater for the policosanols group than for the plant sterols/stanol group. However, the policosanols clinical trials generally included subjects with higher lipid parameters at baseline.

Plant sterols and stanols and policosanols were well tolerated. For subjects in the plant sterols and stanols trials, the dropout rate for subjects receiving plant sterols and stanols was 0% and it was 0.15% for subjects receiving placebo. The combined relative risk of withdrawing due to adverse effects was 0.84 (95% CI: 0.36-1.95, $P=0.69$). No statistically significant effects on body weight, body mass index (BMI), blood pressure, aspartate aminotransferase (associated with liver damage), or other laboratory parameters were observed in the plant sterols and stanols group. However, a significant increase in average thyroid stimulating hormone levels was reported in one study. Adverse effects associated with plant sterols and stanols were generally mild and included gastrointestinal complaints: dyspepsia, diarrhea, and constipation. Other adverse effects that may have been related to the dose of plant sterols and stanols used are flatulence, acid reflux, appetite change, leg cramps, leucopenia, and skin changes. Policosanol was well-tolerated with a drop out rate of 0.86% vs. 4.81% for the placebo. The relative risk for withdrawing from policosanols treatment due to adverse effects was 0.31 (95% CI: 0.20-0.48, $P<0.0001$). No adverse effects on body weight, aspartate aminotransferase, BMI, blood pressure, or pulse were associated with policosanols treatment. Mild and transient adverse effects that were associated with policosanols include excessive sleepiness, nervousness, dizziness, insomnia, excessive thirst, overeating, diarrhea, nausea, itchiness, joint pain, and high blood pressure. In addition, policosanols had a negative effect on transaminase levels in patients with hepatic dysfunction.

This meta-analysis reveals that policosanols is more effective than plant sterols and stanols in reducing LDL cholesterol levels ($P<0.0001$), and policosanols is more effective in reducing LDL: HDL ratios, reducing triglyceride levels, and increasing HDL levels. Antilipidemic therapy was effective in 97-100% of the policosanols studies and in 22-61% of the plant stanols/sterols studies, resulting in a reduction in LDL levels of at least 10-15%. Policosanol reduces LDL levels and increases HDL levels as much as most antilipidemic drug therapies, and is mildly more effective than fibric acid derivatives and some low-dose statins. The 24% net cholesterol reduction achieved with policosanols is enough to reduce coronary heart

disease risk. The literature reports additional benefits of policosanol therapy, including antiplatelet effects, cytoprotective effects, reducing LDL oxidation susceptibility, and improving left ventricular ejection fraction and maximum oxygen uptake in patients with coronary heart disease. Plant sterols and stanols are also effective in treating mild to moderate benign prostatic hyperplasia (BPH). Limitations of this meta-analysis include lack of independence of authorship (the majority of the papers were written by a group from Cuba, where policosanol originated), the use of plant stanol and sterol preparations that may have lowered cholesterol on their own (like rapeseed oil margarine), and small sample sizes in many of the studies.

The meta-analysis reveals that plant sterols, plant stanols, and policosanol are safe, with only a few mild and transient adverse effects and low-drop-out rates in the clinical trials. However, use of plant sterols/stanols and policosanol is not recommended for pregnant and lactating women, due to lack of evidence regarding safety. Caution is recommended when taking policosanol tablets along with antiplatelet and anticoagulant drugs, due to policosanol's antiplatelet effect. Currently, two margarines containing phytosterols are approved by the United States Food and Drug Administration to reduce cholesterol: Benecol (McNeill Nutritionals, Fort Washington, Pennsylvania) and Take Control (Unilever/Lipton, Englewood, New Jersey). The NCEP ATP III recommends including 2 g/day of plant sterol and stanols to the diet, equivalent to about 2 tablespoons/day of these margarines. The authors write that the efficacy of plant sterol and stanol dietary supplements is not proven and eating a diet containing 2 g/day of plant sterols and stanols may be difficult for some patients to follow over a long-term period. The authors write, "policosanol...may be an attractive alternative to conventional cholesterol-lowering drugs." However, large, randomized, placebo-controlled, long-term clinical trials are needed to confirm these results. In addition, the mechanism of action for the antilipidemic activities of policosanol, plant sterols, and plant stanols is yet to be determined.

The red yeast rice component of the cholesterol-lowering supplement Cholestin® (Pharmanex, Inc.) was replaced with policosanol following a legal dispute with the manufacturers of the drug lovastatin, a constituent of red yeast rice.

—Marissa Oppel, MS

Reference

1. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. Dec 17, 2002; 106(25):3143-3421.

Enclosure: Referenced article reprinted with permission from *Pharmacotherapy*.

The American Botanical Council provides this review as an educational service. By providing this service, ABC does not warrant that the data is accurate and correct, nor does distribution of the article constitute any endorsement of the information contained or of the views of the authors.

ABC does not authorize the copying or use of the original articles. Reproduction of the reviews is allowed on a limited basis for students, colleagues, employees and/or members. Other uses and distribution require prior approval from ABC.

ความคิดเห็นเกี่ยวกับการกล่าวอ้างทางสุขภาพ (health claim) ของสาร policosanols โดย
European Food Safety Authority (EFSA)



EFSA Journal 2011;9(6):2255

SCIENTIFIC OPINION

Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to policosanols from sugar cane wax and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1747, 1748, 1864, 1951, 1954, 4693) and maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations (ID 1747, 1748, 1864, 1951, 1954, 4693) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006¹

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA)^{2, 3}

European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

SUMMARY

Following a request from the European Commission, the Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies was asked to provide a scientific opinion on a list of health claims pursuant to Article 13 of Regulation (EC) No 1924/2006. This opinion addresses the scientific substantiation of health claims in relation to policosanols from sugar cane wax and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations and maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations. The scientific substantiation is based on the information provided by the Member States in the consolidated list of Article 13 health claims and references that EFSA has received from Member States or directly from stakeholders.

The food constituent that is the subject of the health claims is policosanols from sugar cane wax. The Panel considers that policosanols from sugar cane wax are sufficiently characterised.

Maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations

The claimed effects are “cholesterol”, “support for healthy blood lipid levels”, and “cardiovascular system”. The target population is assumed to be the general population. In the context of the proposed wordings, the Panel assumes that the claimed effects refer to the maintenance of normal blood

¹ On request from the European Commission, Question No EFSA-Q-2008-2480, EFSA-Q-2008-2481, EFSA-Q-2008-2597, EFSA-Q-2008-2684, EFSA-Q-2008-2687, EFSA-Q-2010-00646, adopted on 08 April 2011.

² Panel members: Carlo Agostoni, Jean-Louis Bresson, Susan Fairweather-Tait, Albert Flynn, Ines Golly, Hannu Korhonen, Pagona Lagiou, Martinus Løvik, Rosangela Marchelli, Ambroise Martin, Bevan Moseley, Monika Neuhäuser-Berthold, Hildegard Przyrembel, Seppo Salminen, Yolanda Sanz, Sean (J.J.) Strain, Stephan Strobel, Inge Tetens, Daniel Tomé, Hendrik van Loveren and Hans Verhagen. Correspondence: nda@efsa.europa.eu

³ Acknowledgement: The Panel wishes to thank for the preparatory work on this scientific opinion: The members of the Working Group on Claims: Carlo Agostoni, Jean-Louis Bresson, Susan Fairweather-Tait, Albert Flynn, Ines Golly, Marina Heinonen, Hannu Korhonen, Martinus Løvik, Ambroise Martin, Hildegard Przyrembel, Seppo Salminen, Yolanda Sanz, Sean (J.J.) Strain, Inge Tetens, Hendrik van Loveren and Hans Verhagen. The members of the Claims Sub-Working Group on Cardiovascular Health/Oxidative Stress: Antti Aro, Marianne Geleijnse, Marina Heinonen, Ambroise Martin, Wilhelm Stahl and Henk van den Berg.

Suggested citation: EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA); Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to policosanols from sugar cane wax and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1747, 1748, 1864, 1951, 1954, 4693) and maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations (ID 1747, 1748, 1864, 1951, 1954, 4693) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA Journal 2011;9(6):2255. [19 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2011.2255. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal

LDL-cholesterol concentrations. The Panel considers that maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations is a beneficial physiological effect.

In weighing the evidence, the Panel took into account that the results from human intervention studies which assessed the effects of policosanols from sugar cane wax on total and LDL-cholesterol concentrations were inconsistent, and that no evidence for a mechanism by which policosanols from sugar cane wax could exert the claimed effect has been provided.

On the basis of the data presented, the Panel concludes that a cause and effect relationship has not been established between the consumption of policosanols from sugar cane wax and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations.

Maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations

The claimed effects are “cholesterol”, “support for healthy blood lipid levels”, and “cardiovascular system”. The target population is assumed to be the general population. In the context of the proposed wordings, the Panel assumes that the claimed effects refer to the maintenance of normal HDL-cholesterol concentrations. The Panel considers that maintenance of normal HDL-cholesterol concentrations (without increasing LDL-cholesterol concentrations) is a beneficial physiological effect.

In weighing the evidence, the Panel took into account that the results from human intervention studies which assessed the effects of policosanols from sugar cane wax on HDL-cholesterol concentrations were inconsistent, and that no evidence for a mechanism by which policosanols from sugar cane wax could exert the claimed effect has been provided.

On the basis of the data presented, the Panel concludes that a cause and effect relationship has not been established between the consumption of policosanols from sugar cane wax and maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations.

KEY WORDS

Policosanols, sugar cane wax, LDL, HDL, cholesterol, health claims.

TABLE OF CONTENTS

Summary	1
Table of contents	3
Background as provided by the European Commission	4
Terms of reference as provided by the European Commission	4
EFSA Disclaimer.....	4
Information as provided in the consolidated list.....	5
Assessment.....	5
1. Characterisation of the food/constituent	5
2. Relevance of the claimed effect to human health.....	5
2.1. Maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1747, 1748, 1864, 1951, 1954, 4693)	5
2.2. Maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations (ID 1747, 1748, 1864, 1951, 1954, 4693)	6
3. Scientific substantiation of the claimed effect	6
3.1. Maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1747, 1748, 1864, 1951, 1954, 4693)	6
3.2. Maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations (ID 1747, 1748, 1864, 1951, 1954, 4693)	9
Conclusions	9
Documentation provided to EFSA	10
References	10
Appendices.....	12
Glossary and Abbreviations	19

BACKGROUND AS PROVIDED BY THE EUROPEAN COMMISSION

See Appendix A

TERMS OF REFERENCE AS PROVIDED BY THE EUROPEAN COMMISSION

See Appendix A

EFSA DISCLAIMER

See Appendix B

INFORMATION AS PROVIDED IN THE CONSOLIDATED LIST

The consolidated list of health claims pursuant to Article 13 of Regulation (EC) No 1924/2006⁴ submitted by Member States contains main entry claims with corresponding conditions of use and literature for similar health claims. EFSA has screened all health claims contained in the original consolidated list of Article 13 health claims which was received by EFSA in 2008 using six criteria established by the NDA Panel to identify claims for which EFSA considered sufficient information had been provided for evaluation and those for which more information or clarification was needed before evaluation could be carried out⁵. The clarifications which were received by EFSA through the screening process have been included in the consolidated list. This additional information will serve as clarification to the originally provided information. The information provided in the consolidated list for the health claims which are the subject of this opinion is tabulated in Appendix C.

ASSESSMENT

1. Characterisation of the food/constituent

The food constituents that are the subject of the health claims are “policosanols”, “sugar cane extract” and “policosanols/blend of aliphatic alcohols - consisting primarily of 1-Octacosanol, 1-Triacontanol, 1-Tetracosanol and 1-Hexacosanol - from sugar cane (*Saccharum officinarum*)”.

Commercial policosanols preparations are a mixture of long-chain primary alcohols derived from sugar cane wax (*Saccharum officinarum* L.) with chain lengths varying from 24 to 34 carbon atoms. Policosanols can also be derived from a variety of other plant sources, including wheat germ oil, and their composition depends on the source.

From the references provided, the Panel assumes that the food constituent which is the subject of the health claims is policosanols from sugar cane wax.

Sugar cane-derived policosanols contain 66-67 % octacosanol (28-C), 12-14 % triacosanol (30-C), 7-8 % hexacosanol (26-C) and 11-15 % of other carbon alcohols, including tetracosanol (24-C), heptacosanol (27-C), nonacosanol (29-C), dotriacontanol (32-C) and tetratriacontanol (34-C) (Natural Medicines Comprehensive Database, 2006).

The Panel considers that the food constituent, policosanols from sugar cane wax, which is the subject of the health claims, is sufficiently characterised.

2. Relevance of the claimed effect to human health

2.1. Maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1747, 1748, 1864, 1951, 1954, 4693)

The claimed effects are “cholesterol”, “support for healthy blood lipid levels”, and “cardiovascular system”. The Panel assumes that the target population is the general population.

In the context of the proposed wordings, the Panel assumes that the claimed effects refer to the maintenance of normal LDL-cholesterol concentrations.

⁴ Regulation (EC) No 1924/2006 of the European Parliament and of the Council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods. OJ L 404, 30.12.2006, p. 9–25.

⁵ EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2011. General guidance for stakeholders on the evaluation of Article 13.1, 13.5 and 14 health claims. EFSA Journal, 9(4):2135, 24 pp.

Low-density lipoproteins (LDL) carry cholesterol from the liver to peripheral tissues, including the arteries. Elevated LDL-cholesterol, by convention >160 mg/dL (>4.1 mmol/L), may compromise the normal structure and function of the arteries.

The Panel considers that maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations is a beneficial physiological effect.

2.2. Maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations (ID 1747, 1748, 1864, 1951, 1954, 4693)

The claimed effects are “cholesterol”, “support for healthy blood lipid levels”, and “cardiovascular system”. The Panel assumes that the target population is the general population.

In the context of the proposed wordings, the Panel assumes that the claimed effects refer to the maintenance of normal HDL-cholesterol concentrations.

High-density lipoproteins (HDL) act as cholesterol scavengers, and are involved in the reverse transport of cholesterol in the body (from peripheral tissues back to the liver). Conversely, low-density lipoproteins (LDL) carry cholesterol from the liver to peripheral tissues, including the arteries.

The Panel considers that maintenance of normal HDL-cholesterol concentrations (without increasing LDL-cholesterol concentrations) is a beneficial physiological effect.

3. Scientific substantiation of the claimed effect

3.1. Maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1747, 1748, 1864, 1951, 1954, 4693)

Some of the references provided for the scientific substantiation of the claim reported on health outcomes (e.g. platelet aggregation, intermittent claudication, *in vitro* LDL oxidation) other than changes in the blood lipid profile. Also, narrative reviews on the effects of policosanols on blood lipids were provided. The Panel considers that no conclusions can be drawn from these references for the scientific substantiation of the claim.

Fourteen references reported on 13 human intervention studies which investigated the effects of policosanols on blood lipids. Two references reported on the same study (Kassis and Jones, 2006, 2008).

All of these studies except four (Berthold et al., 2006; Francini-Pesenti et al., 2008a; 2008b; Kassis and Jones, 2006, 2008) were conducted in Cuba in Cuban subjects by a single research team using policosanols from Cuban sugar cane wax produced by a single company. In these placebo-controlled, double-blind, randomised controlled trials, the efficacy of policosanols on blood lipids was studied in groups of hypercholesterolaemic subjects (non-insulin dependent diabetics, post-menopausal women, elderly, subjects at high risk of coronary heart disease) (Batista et al., 1996; Canetti et al., 1997; Castaño et al., 1995; Castaño et al., 1999; 2001; 2005; Crespo et al., 1999; Pons et al., 1994), and in one group of healthy subjects (Hernández et al., 1992). Sample sizes varied between 22 and 244 subjects, doses between 5 and 20 mg policosanols per day, and treatment periods between four weeks and 24 months. In one study using 10 mg/day policosanols, subjects ($n=85$) were followed up for five years (open three-year follow up after participation in a two-year controlled intervention trial). Efficacy was found to be maintained during this long-term follow up (Canetti et al., 1997). In these studies the (statistically significant) reductions reported for total and LDL-cholesterol concentrations

varied between 17-21 % and 21-29 %, respectively. Similar results were reported in a meta-analysis of randomised controlled trials in which these studies were included (Chen et al., 2005).

A multicentre (lipid outpatient clinics and general practitioners in Germany), randomised, double-blind, placebo-controlled, parallel group intervention trial was designed to corroborate the reported lipid-lowering effects of policosanols from Cuban sugar cane wax. The policosanols used in this study were provided by the same company as in the studies described above (Berthold et al., 2006). A total of 143 subjects with hypercholesterolaemia or combined hyperlipidaemia (LDL-cholesterol concentrations >3.88 mmol/L) and either no or one risk factor for cardiovascular disease (CVD) other than known coronary heart disease (CHD), or baseline LDL-cholesterol concentrations between 3.88 and 4.89 mmol/L and two or more risk factors for CVD, were randomised to one of the five following groups after an open-label six-week placebo and diet run-in phase: 10 mg/day ($n=28$), 20 mg/day ($n=27$), 40 mg/day ($n=27$), or 80 mg/day ($n=32$) of policosanols, or placebo ($n=29$). The intervention phase lasted 12 weeks. Sample size was calculated based on the percentage change of LDL-cholesterol concentrations from baseline, a level of significance of $p<0.025$ (1-sided), and a power of 80 %. It was expected that the active treatment would result in an LDL-cholesterol decrease of at least 10 % (with an SD of 11 %) compared with placebo. To achieve the calculated power, 20 patients per intervention group were needed. Results were analysed on an intention-to-treat basis. A total of 129 subjects completed the trial. In none of the five treatment groups did LDL-cholesterol concentrations decrease more than 10 % from baseline. No statistically significant differences between any of the policosanols groups and placebo were observed. There was no significant dose-response relationship between policosanols intake and changes in LDL-cholesterol concentrations. No statistically significant differences between any of the policosanols groups and placebo were observed for any of the secondary outcome measures, i.e. total cholesterol, HDL-cholesterol, VLDL-(very low density lipoprotein) cholesterol, triglycerides, lipoprotein(a), and ratio of total or LDL- to HDL-cholesterol. The Panel notes that this study does not show an effect of policosanols at doses from 10 to 80 mg/day on LDL-cholesterol concentrations.

In a double-blind, randomised, placebo-controlled study, 68 subjects with LDL-cholesterol concentrations between 160 and 250 mg/dL followed a normocaloric diet according to the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III for three months, and thereafter were randomised to consume either two tablets of policosanols (each tablet containing 10 mg policosanols from Cuban sugar cane wax) or placebo (calcium phosphate, calcium carbonate and magnesium stearate) after dinner for eight weeks, while following their usual lifestyle and a normocaloric diet (Francini-Pesenti et al., 2008a). It was estimated that to achieve 80 % power to detect a reduction in serum LDL-cholesterol concentrations of 20 % at a 2-sided significance level of 5 %, 30 subjects per group would be required. Thirty-one subjects (16 males, mean age 52 ± 6 years) in the policosanols group and 32 subjects (14 males, mean age 54 ± 7 years) in the placebo group completed the study. Reasons for withdrawal were reported and analyses were provided on completers only. No statistically significant changes in total or LDL-cholesterol concentrations (-2.8 mg/dL vs. -2.0 mg/dL, $p=0.34$; -0.9 mg/dL vs. -0.3 mg/dL, $p=0.89$, respectively) nor in HDL-cholesterol concentrations ($+1.9$ mg/dL vs. $+2.9$ mg/dL, $p=0.66$) were observed between the policosanols and the placebo groups. The Panel notes that this study does not show an effect of policosanols consumption at doses of 20 mg/day on blood LDL-cholesterol concentrations.

The same group conducted another double-blind, randomised, placebo-controlled study in which 70 subjects with LDL-cholesterol concentrations between 4.0 and 5.2 mmol/L who had reduced their LDL-cholesterol concentrations more than 0.3 mmol/L by following a normocaloric diet according to the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III were randomised to consume one tablet daily containing either 10 mg of policosanols from Cuban sugar cane wax or placebo (calcium phosphate, calcium carbonate and magnesium stearate) after dinner for eight weeks, while following their usual lifestyle and a normocaloric diet (Francini-Pesenti et al., 2008b). Power calculations were performed as described in the study by Francini-Pesenti et al. (2008a). Thirty-three

subjects (11 males, mean age 48 ± 5 years) in the policosanol group and 31 subjects (14 males, mean age 53 ± 6 years) in the placebo group completed the study. Reasons for withdrawal were reported and analyses were provided on completers only. No statistically significant changes in total or LDL-cholesterol concentrations (-0.01 mmol/L vs. -0.05 mmol/L, $p=0.69$; -0.01 mmol/L vs. $+0.11$ mmol/L, $p=0.94$ respectively), nor in HDL-cholesterol concentrations ($+0.07$ mmol/L vs. $+0.03$ mmol/L, $p=0.66$) were observed between the policosanol and the placebo groups. The Panel notes that this study does not show an effect of policosanol consumption at doses of 10 mg/day on blood cholesterol concentrations.

In a double-blind, placebo-controlled, cross-over study by Kassis and Jones (2006, 2008) 22 subjects with LDL-cholesterol concentrations between 3.0 and 5.0 mmol/L were recruited to receive either 10 g margarine containing 10 mg policosanols derived from sugar cane wax or a placebo margarine for 28 days each, with a 28-day wash-out period in between. A sample size of 21 was calculated to provide an 80 % probability of detecting a difference of 20 % between groups in the parameters measured, using a coefficient of variation of 15-20 %. Statistical significance was set at $p < 0.05$. Twenty-one subjects (12 males, mean age 57.8 ± 2.1 years) completed the study. On day 25 of each study period, subjects were administered 10 g of margarine providing 75 mg of stable isotope-labelled cholesterol in order to assess cholesterol absorption. On day 28 of each study period, a dose of deuterium oxide was given to subjects in order to determine the amounts of cholesterol biosynthesis by measuring deuterium incorporation into red blood cell membrane free cholesterol over 24 hours. No statistically significant changes were observed in total or LDL-cholesterol concentrations ($+1.8 \pm 3.0$ % vs. -4.0 ± 3.0 %, $p=0.18$; $+4.5 \pm 4.0$ % vs. -1.6 ± 4.0 %, $p=0.28$, respectively), nor in HDL-cholesterol concentrations (-2.7 ± 3.0 % vs. -7.4 ± 3.0 %, $p=0.19$) between the intervention and placebo periods. No statistically significant differences in the area under the curve (AUC) for cholesterol absorption or in the fractional rate of cholesterol synthesis were found between the intervention and the control periods. The Panel notes that this study does not show an effect of policosanol consumption at doses of 10 mg/day on blood cholesterol concentrations, on cholesterol absorption, or on the rate of endogenous cholesterol synthesis.

The Panel notes that although the majority of the studies conducted in Cuban subjects reported significant reductions in total and LDL-cholesterol concentrations between 17-21 % and 21-29 % respectively following consumption of policosanols from sugar cane wax at doses between 5 and 20 mg/day, no effect on total or LDL-cholesterol concentrations was found in human intervention studies conducted in other parts of the world at doses ranging from 10 to 80 mg/day.

The Panel also notes that no effect of policosanols from sugar cane wax on cholesterol absorption or on the rate of endogenous cholesterol synthesis has been observed *in vivo* in humans (Kassis and Jones, 2006, 2008), and that no evidence for a mechanism by which policosanols could exert the claimed effect has been provided.

In weighing the evidence, the Panel took into account that the results from human intervention studies which assessed the effects of policosanols from sugar cane wax on total and LDL-cholesterol concentrations are inconsistent, and that no evidence for a mechanism by which policosanols from sugar cane wax could exert the claimed effect has been provided.

The Panel concludes that a cause and effect relationship has not been established between the consumption of policosanols from sugar cane wax and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations.

3.2. Maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations (ID 1747, 1748, 1864, 1951, 1954, 4693)

The same human intervention studies described in section 3.1 also reported on the effects of consumption of policosanols from sugar cane wax on HDL-cholesterol concentrations. Whereas the nine human intervention studies conducted in Cuban subjects generally reported a statistically significant increase in HDL-cholesterol concentrations which varied between 8 and 15 % (Batista et al., 1996; Canetti et al., 1997; Castaño et al., 1995; Castaño et al., 1999; 2001; 2005; Crespo et al., 1999; Hernández et al., 1992; Pons et al., 1994), no significant effect was observed in the four studies conducted in other parts of the world (Berthold et al., 2006; Francini-Pesenti et al., 2008a; 2008b; Kassis and Jones, 2006, 2008), and no evidence for a mechanism by which policosanols from sugar cane wax could exert the claimed effect has been provided.

In weighing the evidence, the Panel took into account that the results from human intervention studies which assessed the effects of policosanols from sugar cane wax on HDL-cholesterol concentrations are inconsistent, and that no evidence for a mechanism by which policosanols from sugar cane wax could exert the claimed effect has been provided.

The Panel concludes that a cause and effect relationship has not been established between the consumption of policosanols from sugar cane wax and maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations.

CONCLUSIONS

On the basis of the data presented, the Panel concludes that:

- The food constituent, policosanols from sugar cane wax, which is the subject of the health claims, is sufficiently characterised.

Maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1747, 1748, 1864, 1951, 1954, 4693)

- The claimed effects are “cholesterol”, “support for healthy blood lipid levels”, and “cardiovascular system”. The target population is assumed to be the general population. In the context of the proposed wordings, it is assumed that the claimed effects refer to the maintenance of normal LDL-cholesterol concentrations. Maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations is a beneficial physiological effect.
- A cause and effect relationship has not been established between the consumption of policosanols from sugar cane wax and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations.

Maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations (ID 1747, 1748, 1864, 1951, 1954, 4693)

- The claimed effects are “cholesterol”, “support for healthy blood lipid levels”, and “cardiovascular system”. The Panel assumes that the target population is the general population. In the context of the proposed wordings, it is assumed that the claimed effects refer to the maintenance of normal HDL-cholesterol concentrations. Maintenance of normal HDL-cholesterol concentrations (without increasing LDL-cholesterol concentrations) is a beneficial physiological effect.

- A cause and effect relationship has not been established between the consumption of policosanols from sugar cane wax and maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations.

DOCUMENTATION PROVIDED TO EFSA

Health claims pursuant to Article 13 of Regulation (EC) No 1924/2006 (No: EFSA-Q-2008-2480, EFSA-Q-2008-2481, EFSA-Q-2008-2597, EFSA-Q-2008-2684, EFSA-Q-2008-2687, EFSA-Q-2010-00646). The scientific substantiation is based on the information provided by the Member States in the consolidated list of Article 13 health claims and references that EFSA has received from Member States or directly from stakeholders.

The full list of supporting references as provided to EFSA is available on: <http://www.efsa.europa.eu/panels/nda/claims/article13.htm>.

REFERENCES

- Batista J, Stusser R, Saez F and Perez B, 1996. Effect of policosanol on hyperlipidemia and coronary heart disease in middle-aged patients. A 14-month pilot study. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 34, 134-137.
- Berthold HK, Unverdorben S, Degenhardt R, Bulitta M and Gouni-Berthold I, 2006. Effect of policosanol on lipid levels among patients with hypercholesterolemia or combined hyperlipidemia: a randomized controlled trial. *JAMA*, 295, 2262-2269.
- Canetti MM, Moreira M, Más R, Illnait J, Fernández L and Fernández JC, 1997. Effects of policosanol on primary hypercholesterolemia: a 3-year open-extension follow-up. *Current Therapeutic Research*, 58, 868-875.
- Castaño G, Canetti M, Moreira M, Tula L, Más R, Illnait J, Fernández L, Fernández JC and Díaz E, 1995. Efficacy and tolerability of policosanol in elderly patients with type II hypercholesterolemia: a 12-month study. *Current Therapeutic Research*, 56, 819-828.
- Castaño G, Mas R, Arruzazabala ML, Noa M, Illnait J, Fernandez JC, Molina V and Menendez A, 1999. Effects of policosanol and pravastatin on lipid profile, platelet aggregation and endothelium in older hypercholesterolemic patients. *International Journal of Clinical Pharmacology Research*, 19, 105-116.
- Castaño G, Mas R, Fernandez JC, Illnait J, Fernandez L and Alvarez E, 2001. Effects of policosanol in older patients with type II hypercholesterolemia and high coronary risk. *Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 56, M186-192.
- Castaño G, Mas R, Fernandez L, Illnait J, Mendoza S, Gamez R, Fernandez J and Mesa M, 2005. A comparison of the effects of D-003 and policosanol (5 and 10 mg/day) in patients with type II hypercholesterolemia: a randomized, double-blinded study. *Drugs Under Experimental and Clinical Research*, 31 Suppl, 31-44.
- Chen JT, Wesley R, Shamburek RD, Pucino F and Csako G, 2005. Meta-analysis of natural therapies for hyperlipidemia: plant sterols and stanols versus policosanol. *Pharmacotherapy*, 25, 171-183.
- Crespo N, Illnait J, Mas R, Fernandez L, Fernandez J and Castaño G, 1999. Comparative study of the efficacy and tolerability of policosanol and lovastatin in patients with hypercholesterolemia and noninsulin dependent diabetes mellitus. *International Journal of Clinical Pharmacology Research*, 19, 117-127.
- Francini-Pesenti F, Beltramolli D, Dall'acqua S and Brocadello F, 2008a. Effect of sugar cane policosanol on lipid profile in primary hypercholesterolemia. *Phytotherapy Research*, 22, 318-322.

- Francini-Pesenti F, Brocadello F, Beltramolli D, Nardi M and Caregaro L, 2008b. Sugar cane policosanol failed to lower plasma cholesterol in primitive, diet-resistant hypercholesterolaemia: a double blind, controlled study. *Complementary Therapies in Medicine*, 16, 61-65.
- Hernández F, Illnait J, Más R, Castaño G, Fernández L, González M, Cordovi N and Fernández JC, 1992. Effect of policosanol on serum lipids and lipoproteins in healthy volunteers. *Current Therapeutic Research*, 51, 568-575.
- Kassis AN and Jones PJ, 2006. Lack of cholesterol-lowering efficacy of Cuban sugar cane policosanols in hypercholesterolemic persons. *American Journal of Clinical Nutrition*, 84, 1003-1008.
- Kassis AN and Jones PJ, 2008. Changes in cholesterol kinetics following sugar cane policosanol supplementation: a randomized control trial. *Lipids in Health and Disease*, 7, 17.
- Natural Medicines Comprehensive Database, 2006. Policosanol. Available from: www.naturaldatabase.com
- Pons P, Rodriguez M, Robaina C, Illnait J, Mas R, Fernandez L and Fernandez JC, 1994. Effects of successive dose increases of policosanol on the lipid profile of patients with type II hypercholesterolaemia and tolerability to treatment. *International Journal of Clinical Pharmacology Research*, 14, 27-33.

APPENDICES

APPENDIX A

BACKGROUND AND TERMS OF REFERENCE AS PROVIDED BY THE EUROPEAN COMMISSION

The Regulation 1924/2006 on nutrition and health claims made on foods⁶ (hereinafter "the Regulation") entered into force on 19th January 2007.

Article 13 of the Regulation foresees that the Commission shall adopt a Community list of permitted health claims other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health. This Community list shall be adopted through the Regulatory Committee procedure and following consultation of the European Food Safety Authority (EFSA).

Health claims are defined as "any claim that states, suggests or implies that a relationship exists between a food category, a food or one of its constituents and health".

In accordance with Article 13 (1) health claims other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health are health claims describing or referring to:

- a) the role of a nutrient or other substance in growth, development and the functions of the body; or
- b) psychological and behavioural functions; or
- c) without prejudice to Directive 96/8/EC, slimming or weight-control or a reduction in the sense of hunger or an increase in the sense of satiety or to the reduction of the available energy from the diet.

To be included in the Community list of permitted health claims, the claims shall be:

- (i) based on generally accepted scientific evidence; and
- (ii) well understood by the average consumer.

Member States provided the Commission with lists of claims as referred to in Article 13 (1) by 31 January 2008 accompanied by the conditions applying to them and by references to the relevant scientific justification. These lists have been consolidated into the list which forms the basis for the EFSA consultation in accordance with Article 13 (3).

ISSUES THAT NEED TO BE CONSIDERED

IMPORTANCE AND PERTINENCE OF THE FOOD⁷

Foods are commonly involved in many different functions⁸ of the body, and for one single food many health claims may therefore be scientifically true. Therefore, the relative importance of food e.g. nutrients in relation to other nutrients for the expressed beneficial effect should be considered: for functions affected by a large number of dietary factors it should be considered whether a reference to a single food is scientifically pertinent.

⁶ OJ L12, 18/01/2007

⁷ The term 'food' when used in this Terms of Reference refers to a food constituent, the food or the food category.

⁸ The term 'function' when used in this Terms of Reference refers to health claims in Article 13(1)(a), (b) and (c).

It should also be considered if the information on the characteristics of the food contains aspects pertinent to the beneficial effect.

SUBSTANTIATION OF CLAIMS BY GENERALLY ACCEPTABLE SCIENTIFIC EVIDENCE

Scientific substantiation is the main aspect to be taken into account to authorise health claims. Claims should be scientifically substantiated by taking into account the totality of the available scientific data, and by weighing the evidence, and shall demonstrate the extent to which:

- (a) the claimed effect of the food is beneficial for human health,
- (b) a cause and effect relationship is established between consumption of the food and the claimed effect in humans (such as: the strength, consistency, specificity, dose-response, and biological plausibility of the relationship),
- (c) the quantity of the food and pattern of consumption required to obtain the claimed effect could reasonably be achieved as part of a balanced diet,
- (d) the specific study group(s) in which the evidence was obtained is representative of the target population for which the claim is intended.

EFSA has mentioned in its scientific and technical guidance for the preparation and presentation of the application for authorisation of health claims consistent criteria for the potential sources of scientific data. Such sources may not be available for all health claims. Nevertheless it will be relevant and important that EFSA comments on the availability and quality of such data in order to allow the regulator to judge and make a risk management decision about the acceptability of health claims included in the submitted list.

The scientific evidence about the role of a food on a nutritional or physiological function is not enough to justify the claim. The beneficial effect of the dietary intake has also to be demonstrated. Moreover, the beneficial effect should be significant i.e. satisfactorily demonstrate to beneficially affect identified functions in the body in a way which is relevant to health. Although an appreciation of the beneficial effect in relation to the nutritional status of the European population may be of interest, the presence or absence of the actual need for a nutrient or other substance with nutritional or physiological effect for that population should not, however, condition such considerations.

Different types of effects can be claimed. Claims referring to the maintenance of a function may be distinct from claims referring to the improvement of a function. EFSA may wish to comment whether such different claims comply with the criteria laid down in the Regulation.

WORDING OF HEALTH CLAIMS

Scientific substantiation of health claims is the main aspect on which EFSA's opinion is requested. However, the wording of health claims should also be commented by EFSA in its opinion.

There is potentially a plethora of expressions that may be used to convey the relationship between the food and the function. This may be due to commercial practices, consumer perception and linguistic or cultural differences across the EU. Nevertheless, the wording used to make health claims should be truthful, clear, reliable and useful to the consumer in choosing a healthy diet.

In addition to fulfilling the general principles and conditions of the Regulation laid down in Article 3 and 5, Article 13(1)(a) stipulates that health claims shall describe or refer to "the role of a nutrient or other substance in growth, development and the functions of the body". Therefore, the requirement to

describe or refer to the 'role' of a nutrient or substance in growth, development and the functions of the body should be carefully considered.

The specificity of the wording is very important. Health claims such as "Substance X supports the function of the joints" may not sufficiently do so, whereas a claim such as "Substance X helps maintain the flexibility of the joints" would. In the first example of a claim it is unclear which of the various functions of the joints is described or referred to contrary to the latter example which specifies this by using the word "flexibility".

The clarity of the wording is very important. The guiding principle should be that the description or reference to the role of the nutrient or other substance shall be clear and unambiguous and therefore be specified to the extent possible i.e. descriptive words/ terms which can have multiple meanings should be avoided. To this end, wordings like "strengthens your natural defences" or "contain antioxidants" should be considered as well as "may" or "might" as opposed to words like "contributes", "aids" or "helps".

In addition, for functions affected by a large number of dietary factors it should be considered whether wordings such as "indispensable", "necessary", "essential" and "important" reflects the strength of the scientific evidence.

Similar alternative wordings as mentioned above are used for claims relating to different relationships between the various foods and health. It is not the intention of the regulator to adopt a detailed and rigid list of claims where all possible wordings for the different claims are approved. Therefore, it is not required that EFSA comments on each individual wording for each claim unless the wording is strictly pertinent to a specific claim. It would be appreciated though that EFSA may consider and comment generally on such elements relating to wording to ensure the compliance with the criteria laid down in the Regulation.

In doing so the explanation provided for in recital 16 of the Regulation on the notion of the average consumer should be recalled. In addition, such assessment should take into account the particular perspective and/or knowledge in the target group of the claim, if such is indicated or implied.

TERMS OF REFERENCE

HEALTH CLAIMS OTHER THAN THOSE REFERRING TO THE REDUCTION OF DISEASE RISK AND TO CHILDREN'S DEVELOPMENT AND HEALTH

EFSA should in particular consider, and provide advice on the following aspects:

- Whether adequate information is provided on the characteristics of the food pertinent to the beneficial effect.
- Whether the beneficial effect of the food on the function is substantiated by generally accepted scientific evidence by taking into account the totality of the available scientific data, and by weighing the evidence. In this context EFSA is invited to comment on the nature and quality of the totality of the evidence provided according to consistent criteria.
- The specific importance of the food for the claimed effect. For functions affected by a large number of dietary factors whether a reference to a single food is scientifically pertinent.

In addition, EFSA should consider the claimed effect on the function, and provide advice on the extent to which:

- the claimed effect of the food in the identified function is beneficial.
- a cause and effect relationship has been established between consumption of the food and the claimed effect in humans and whether the magnitude of the effect is related to the quantity

- consumed.
- where appropriate, the effect on the function is significant in relation to the quantity of the food proposed to be consumed and if this quantity could reasonably be consumed as part of a balanced diet.
 - the specific study group(s) in which the evidence was obtained is representative of the target population for which the claim is intended.
 - the wordings used to express the claimed effect reflect the scientific evidence and complies with the criteria laid down in the Regulation.

When considering these elements EFSA should also provide advice, when appropriate:

- on the appropriate application of Article 10 (2) (c) and (d) in the Regulation, which provides for additional labelling requirements addressed to persons who should avoid using the food; and/or warnings for products that are likely to present a health risk if consumed to excess.

APPENDIX B**EFSA DISCLAIMER**

The present opinion does not constitute, and cannot be construed as, an authorisation to the marketing of the food/food constituent, a positive assessment of its safety, nor a decision on whether the food/food constituent is, or is not, classified as foodstuffs. It should be noted that such an assessment is not foreseen in the framework of Regulation (EC) No 1924/2006.

It should also be highlighted that the scope, the proposed wordings of the claims and the conditions of use as proposed in the Consolidated List may be subject to changes, pending the outcome of the authorisation procedure foreseen in Article 13(3) of Regulation (EC) No 1924/2006.

APPENDIX C

Table 1. Main entry health claims related to policosanols, including conditions of use from similar claims, as proposed in the Consolidated List.

ID	Food or Food constituent	Health Relationship	Proposed wording
1747	Policosanol / Blend of aliphatic alcohols - consisting primarily of 1-Octacosanol, 1-Triacontanol, 1-Tetracosanol and 1-Hexacosanol - from sugar cane (Saccharum officinarum).	Cholesterol	Policosanol helps to maintain healthy cholesterol levels / contributes to good LDL cholesterol level / contributes to good HDL cholesterol level
			Conditions of use - 5-40 mg/day
ID	Food or Food constituent	Health Relationship	Proposed wording
1748	Policosanol [from sugarcane wax (Saccharum officinarum)]	Support for Healthy Blood Lipid Levels	Support for Healthy Blood Lipid Levels/ Natural Blood Lipid Support/ Policosanol supports healthy lipid metabolism/ Policosanol may promote LDL binding, uptake, and degradation/ Policosanol may help maintain healthy blood pressure levels already within normal range
			Conditions of use - The recommended daily dosage: 5 to 20 mg/day
ID	Food or Food constituent	Health Relationship	Proposed wording
1864	Sugar cane extract	Cardiovascular system	Increases beneficial HDL cholesterol./ Beneficial for the heart and blood vessels.
			Conditions of use - Food supplement containing 10-20 mg of sugar cane extract with policosanol in the daily dose.
			No clarification provided by Member States
ID	Food or Food constituent	Health Relationship	Proposed wording
1951	Policosanols	Cholesterol	Helps to decrease cholesterol biosynthesis, which is higher during the night./ Helps to decrease hepatic production of cholesterol, more elevated at night./ Helps to control blood levels of cholesterol./ Helps to improve cholesterol profile.
			Conditions of use - At least 5 mg per day

ID	Food or Food constituent	Health Relationship	Proposed wording
1954	Policosanols	Cholesterol	Helps to decrease cholesterol biosynthesis, which is higher during the night./ Helps to decrease hepatic production of cholesterol, more elevated at night. Helps to control blood levels of cholesterol./ Helps to improve cholesterol profile.
	Conditions of use - At least 5 mg per day		
ID	Food or Food constituent	Health Relationship	Proposed wording
4693	POLICOSANOL	Cardiovascular system benefit	Reducing cholesterol levels
	Conditions of use - Oral administration, capsules or tablets		

GLOSSARY AND ABBREVIATIONS

AUC	Area under the curve
CVD	Cardiovascular disease
CHD	Coronary heart disease
HDL	High-density lipoproteins
LDL	Low-density lipoproteins
VLDL	Very low-density lipoproteins

ตัวอย่าง product fact sheet ของผลิตภัณฑ์อาหารเสริม policosanol



ANABOLIC LABORATORIES

PRODUCT FACT SHEET

POLICOSANOL MICROTABS

POLICOSANOL ITEM #: 6711-0060-01

Mixture of aliphatic alcohols derived from sugar cane wax shown to help promote healthy cholesterol levels without side effects. Also functions as an antioxidant.

KEY FEATURES

- Contains over 50% Octacosanol, a derivative of a wax found in the sugar cane plant, found to manage lipid accumulation in fatty tissue and oxidation in the blood stream
- Naturally contains eight other higher primary aliphatic acids that assist in lowering cholesterol
- Helps increase levels of beneficial HDL cholesterol
- Sourced from the clinically-researched and documented Sugar Cane material (not from Beeswax)
- Few known side effects or prescription-drug interactions
- New micro-tab technology provides complete dose in a highly compact, easy to take Micro-tab
- Twice as potent as most available products – a full 23 mg of Policosanol per Micro-tab

INDICATIONS

Policosanol is indicated for use to assist in the following:

- Promote healthy levels of Cholesterol
- Promote raising levels of High-Density Lipoprotein Cholesterol
- Inhibiting lipid oxidation

DESCRIPTION
Mixture of aliphatic alcohols derived from sugar cane wax shown to help promote healthy cholesterol levels without side effects. Also functions as an antioxidant.

HOW SUPPLIED
60 Micro-tabs per bottle.

DIRECTIONS
1or 2 Micro-tabs daily, with or without meals

Supplement Facts

Serving Size 1 Microtab	Servings Per Container 60
Amount Per Serving	% Daily Value
Policosanol (from sugar cane)	23 mg *
Typical Analysis:	
Octacosanol	50%
Triacosanol	15-20%
Hexacosanol	10-20%

* Daily Value not established.

Other ingredients: Microcrystalline cellulose, stearic acid (vegetable source), magnesium stearate (vegetable source), silicon dioxide.



ANABOLIC LABORATORIES

Pharmaceutical Made Nutritional Products Since 1924





PRODUCT

POLICOSANOL MICROTABS

ITEM #: 6711-0060-01

BACKGROUND

Accumulation of Low-Density Lipoprotein (LDL) cholesterol in the arteries can decrease blood flow to crucial areas of the body. This can lead to a variety of negative health issues. One key aide in preventing LDL buildup is High Density Lipoprotein Cholesterol (HDL-C) or "good" cholesterol. HDL-C not only curbs LDL buildup, but also removes excess cholesterol from the bloodstream. Inhibiting cholesterol oxidation in the blood stream is also important in maintaining good cardiovascular health. Not allowing cholesterol to harden in the arteries allows for greater blood flow and more oxygen delivered to vital organs and muscle tissue. Policosanol, a mixture of various aliphatic alcohols, has been found to promote healthy cholesterol levels and slow down cholesterol oxidation.²

Octacosanol, the main ingredient in Policosanol, works as a powerful antioxidant to help maintain healthy arteries. This in turn helps to support healthy cholesterol levels in the bloodstream.

New Micro-Tab manufacturing technology allows for a much smaller tablet than usual, even with full 23 mg potency. These miniature tablets can improve patient compliance.

WARNINGS:

Octacosanol may cause dizziness and increase nervous tension in patients suffering from Parkinson's disease, especially those taking Levodopa. (4) Also use caution if taking in conjunction with anticoagulant or anti-platelet medication.^{3,4}

REFERENCES

1. Mas, Rosa et al. A Randomized, double-blind, placebo-controlled study of efficacy and tolerability of policosanol in adolescents with type II hypercholesterolemia. *Current Therapeutic Research*, Vol. 63 No. 4, April, 2002. 286-303.
2. Gouni-Berthold, I; Berthold H.K. Policosanol: clinical, pharmacology and therapeutic significance of a new lipid-lowering agent. *Am Heart J* Vol. 143, February, 2002. 356-65.
3. Mas R et al: Effects of policosanol on the susceptibility of low-density lipoprotein isolated from hypercholesterolemic patients at high coronary risk to in vitro copper-mediated lipid peroxidation: A random, double blind pilot study. *Current Therapeutic Research* Vol. 61, No. 9, September 2000. 609-620.
4. Octacosanol. *The Review of Natural Products. Facts and Comparisons*. St. Louis. June, 1997.
5. Valdes S, Arruzazabala ML, Fernandez L et al: Effect of policosanol on platelet aggregation in healthy volunteers. *Int J. Clin Pharmacol Res* 1996; 16(2-3):67-72.
6. Arruzazabala ML, Carbajal D: Effects of policosanol on platelet aggregation in rats. *Thrombosis Res*. 1993; 69(3):321-327

THE ANABOLIC DIFFERENCE

Anabolic Laboratories' nutritional products are made in a registered, licensed and inspected pharmaceutical facility. Our in-house laboratories and manufacturing facilities are routinely inspected by the United States Food and Drug Administration (FDA) and Drug Enforcement Administration (DEA). We also maintain a Good Manufacturing Practice (GMP) certification from the Natural Products Association.

As a pharmaceutical manufacturer, the standards used for raw materials, production and finished product testing exceed FDA requirements for the nutritional products industry. Our pharmaceutical requirements for manufacturing are the foundation for the guaranteed quality of our nutritional products. Anabolic Laboratories sets the nutritional supplement industry standard for label accuracy, potency and purity as dictated by the FDA for pharmaceutical and nutritional products.



AnabolicLabs.com

©2010 Anabolic Laboratories, LLC. All Rights Reserved.

These statements have not been evaluated by the Food and Drug Administration. These products are not intended to diagnose, treat, cure or prevent any disease.