



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการสกัดสารต้านมะเร็งจากรากของต้นยอด้วยน้ำกึ่งวิกฤต
และแบบจำลองทางคณิตศาสตร์

โดย นางสาว อาทิวรรณ โชติพิฤกษ์ และคณะ

สิงหาคม 2551

สัญญาเลขที่ TRG498003

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการสกัดสารต้านมะเร็งจากรากของต้นยอด้วยน้ำกึ่งวิกฤต
และแบบจำลองทางคณิตศาสตร์

คณะผู้วิจัย

สังกัด

นางสาวอาทิวรรณ โชติพิทักษ์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
นายประเสริฐ ภาสันต์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ.และสกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ **TRG498003**

ชื่อโครงการ **การสกัดสารต้านมะเร็งจากรากของต้นยอด้วยน้ำกึ่งวิกฤตและ
แบบจำลองทางคณิตศาสตร์**

ชื่อนักวิจัย **ผศ.ดร.อาทิตย์วรรณ โชติพิฤกษ์**

อีเมล **artiwan.sh@chula.ac.th**

ระยะเวลาโครงการ **31 สิงหาคม 2549 ถึง 31 สิงหาคม 2551**

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการสกัดสารต้านมะเร็งแดมนาแคนธัลจากรากของต้นยอ โดยทำการทดลองสกัดด้วยน้ำที่สภาวะกึ่งวิกฤตที่สภาวะต่างๆ คือ ที่อุณหภูมิ 150, 170, 200, และ 220 องศาเซลเซียส และอัตราการไหล 2, 3, 4, และ 5 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้ความดันคงที่ที่ 4 เมกะปาสกาล ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความสามารถในการสกัดสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจนถึง 170 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิ 200 และ 220 องศาเซลเซียส ปริมาณสารแดมนาแคนธัลที่สกัดออกมาได้จะมีค่าลดลง เนื่องจากสารแดมนาแคนธัลถูกทำลายที่อุณหภูมิสูง นอกจากนี้ จากการศึกษาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่อัตราการไหลต่างๆ เพื่อใช้ทำนายการสกัดสารแดมนาแคนธัลจากรากของต้นยอโดยน้ำกึ่งวิกฤต พบว่ากลไกการสกัดมีอิทธิพลมาจากสมดุลการกระจายตัวของตัวถูกละลายและการถ่ายโอนมวลสารผ่านชั้นฟิล์มของของเหลว ส่วนที่ภาวะอัตราการไหลสูง แบบจำลองการคายของสารยังสามารถอธิบายการสกัดได้อย่างเหมาะสม

คำสำคัญ น้ำกึ่งวิกฤต การสกัด ต้นยอ แอนทราควิโนนส์ แดมนาแคนธัล การสร้างแบบจำลอง

Abstract

Project code TRG498003

Project title Subcritical water extraction of anticancer component from roots of *Morinda citrifolia* and mathematical modeling

Investigator Artiwan Shotipruk

Email address artiwan.sh@chula.ac.th

Project period 31 August 2006 to 31 August 2008

Roots of *Morinda citrifolia* (Noni or Yor in Thai) are the source of important compounds, anthraquinones, which have been proven to have anti-viral, anti-bacterial, anti-cancer activities. The most medicinally valuable anthraquinones in the roots of this plant is damnacanthal, which has been used for treatment of chronic diseases such as cancer and heart disease. In this study, subcritical water extraction was investigated as a benign alternative for solvent extraction of damnacanthal from the dried root of *Morinda citrifolia*. The experiments were conducted in a continuous flow system at a pressure of 4 MPa at different temperature between 150 and 220°C and water flow rates of 1.6, 2.4, 3.2, and 4 ml/min. The quantitative analysis of damnacanthal was performed using RP-HPLC with UV detection at 250 nm. The results of the study revealed that the highest amount of damnacanthal extracted with subcritical water was obtained at 170°C. In addition to the effect of temperature, extractions were conducted at various flow rates and the data were fitted with mathematic models to determine the extraction mechanism. The results suggested that the overall extraction mechanism was influenced by solute partitioning equilibrium with external mass transfer through liquid film. Nevertheless, the desorption model could describe the extraction behavior of *Morinda citrifolia* reasonably at high flow rates.

Keywords: Subcritical water; extraction; *Morinda citrifolia*; anthraquinones; damnacanthal; modeling

Executive Summary

ต้นยอ เป็นพืชยืนต้นที่นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายในประเทศเขตร้อนอย่าง ประเทศไทย โดยส่วนต่างๆของต้นยอ ได้แก่ ผล ใบ ลำต้น และราก สามารถนำมาใช้เป็นยา รักษาโรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย และไวรัส ทั้งนี้ สารที่ออกฤทธิ์ต่อต้านเชื้อโรค ดังกล่าวเป็นสารในกลุ่มแอนทราควิโนนส์ นอกจากนี้สารในกลุ่มนี้ยังมีประสิทธิภาพในการต่อต้านอนุมูลอิสระ โดยพบว่าคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมีระดับที่ใกล้เคียงกันกับวิตามินอี (Mohd และคณะ 2002)

การสกัดสารแอนทราควิโนนส์ แต่เดิมทำได้โดยการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอทานอล การสกัดด้วยวิธีนี้ จะใช้เวลานานเนื่องจากต้องผ่านขั้นตอนหลายขั้นตอนเพื่อระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ให้มีหลงเหลืออยู่ในสารสกัด อันจะก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ การใช้น้ำแทนการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดองค์ประกอบทางเภสัชกรรมจากพืชสมุนไพร เป็นทางเลือกหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจมาก เนื่องจากน้ำเป็นตัวทำละลายที่ปลอดภัย อย่างไรก็ตาม น้ำในสภาวะอุณหภูมิและความดันบรรยากาศไม่สามารถละลายสารอินทรีย์สำคัญๆหลายชนิดได้ ทั้งนี้เนื่องมาจากน้ำมีความมีขั้วสูงมาก (ค่าคงที่ dielectric มีค่าประมาณ 80 ที่ 25 องศาเซลเซียส) แต่เมื่อน้ำมีอุณหภูมิสูงขึ้น ค่าคงที่ dielectric จะลดลง ทำให้น้ำที่สภาวะนี้สามารถละลายสารอินทรีย์ได้

จากการทบทวนวรรณกรรมในอดีตพบว่า น้ำกึ่งวิกฤต (อุณหภูมิระหว่าง 100-375 องศาเซลเซียส) เริ่มถูกนำมาใช้ในการสกัดพืชสมุนไพร เช่น การสกัดสารจำพวกน้ำมันหอมระเหยจาก majoram (Jiménez-Carmona และคณะ 1999) savory และ peppermint (Kubátová และคณะ 2001) และ oregano (Ayala และ Castro 2001) การสกัดด้วยวิธีนี้มีประสิทธิภาพมากกว่าการสกัดด้วยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์แบบดั้งเดิม หรือการสกัดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ และนอกจากสารประเภทน้ำมันหอมระเหย น้ำที่สภาวะนี้ยังสามารถใช้ในการสกัดสารประกอบสำคัญอื่นๆจากพืช เช่น สาร hypericin และ pseudohypericin จาก St. John's wort (Mannila และคณะ 2002) สาร iridoid glycosides จาก *Veronica lonifolia* (Suomi และคณะ 2000) และสาร kava lactones จากรากของ kava (Kubatova และคณะ 2001) แม้ว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดด้วยวิธีนี้จะค่อนข้างสูง แต่ก็ยังสามารถใช้สกัดสารจำพวก antioxidant หลายชนิด เช่นสาร berberine จาก *coptidis rhizoma* สาร glycyrrhizin จาก *radix glycyrrhizae/liquorice* และสาร baicalein จาก *scutellariae radix* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Ong และ Len 2003) นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดจาก *Salvia officinalis* L ที่สกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดที่ได้จากวิธีดั้งเดิม (Ollanketo และคณะ 2002)

สำหรับสารแอนทราควิโนนส์จากรากของต้นยอ คณะผู้วิจัยพบว่าสามารถใช้น้ำกึ่งวิกฤตในการสกัดสารนี้ (Shotipruk และคณะ 2004) และพบว่าประสิทธิภาพการต่อต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไม่ลดลง แม้ว่าอุณหภูมิของการสกัดสูงถึง 200 °C (Pongnaravane

และคณะ, 2006) อย่างไรก็ดี ปัญหาหลักในการศึกษาการสกัดสารแอนทราควิโนนส์จากรากของต้นยอด้วยน้ำกึ่งวิกฤตคือ การวิเคราะห์หองค์ประกอบของสารสกัด เนื่องจากสารสกัดที่ได้มีความเข้มข้นค่อนข้างต่ำ ในการศึกษาที่ผ่านมาจึงใช้การวัดปริมาณของสารแอนทราควิโนนส์ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยใช้สาร Alizarin เป็นสารอ้างอิง ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็ว อย่างไรก็ตาม ปริมาณสารที่วัดได้ด้วยวิธีนี้ เป็นเพียงปริมาณรวมของสารแอนทราควิโนนส์ โดยไม่สามารถบอกถึงปริมาณสารแอนทราควิโนนส์แต่ละชนิดที่มีอยู่ในสารสกัดได้ ซึ่งสารในกลุ่มแอนทราควิโนนส์ในสารสกัดจากรากยอมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด Alizarin เป็นเพียงสารชนิดหนึ่งเท่านั้น และเมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติของสารนี้กับสารแอนทราควิโนนส์ชนิดอื่นในสารสกัดจากรากยอแล้ว Alizarin เป็นเพียงสารสีเหลือง ที่นิยมนำมาใช้ในงานย้อม สารแอนทราควิโนนส์อีกชนิดหนึ่งที่พบมากในรากของต้นยอ คือ สารแดมนาแคนธัล โดยมีรายงานว่า สารแดมนาแคนธัล มีฤทธิ์ต่อต้านมะเร็งในอวัยวะต่างๆ เช่น มะเร็งปอด ลำไส้ ตับอ่อน และเม็ดเลือดขาว (Hiramatsu 1993) ด้วยเหตุนี้ จึงทำให้สารแดมนาแคนธัลมีประโยชน์ทางการแพทย์ และมีมูลค่าสูงกว่า Alizarin หลายร้อยเท่า ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งเป้าไปที่การสกัดสารแดมนาแคนธัล จากรากของต้นยอด้วยน้ำกึ่งวิกฤต โดยผู้วิจัยเสนอการใช้วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารด้วย High performance liquid chromatography (HPLC) ซึ่งจะบอกปริมาณเฉพาะของสารแดมนาแคนธัล ที่สกัด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีที่เหมาะสมที่สุดในการเตรียมสารตัวอย่างจากสารสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต เพื่อการวิเคราะห์ปริมาณสารแดมนาแคนธัล ด้วย HPLC จากนั้นเมื่อทราบขั้นตอนการวิเคราะห์ที่เหมาะสมแล้ว จึงทำการทดสอบสภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่สุดต่อการสกัดสารแดมนาแคนธัล และเปรียบเทียบผลที่ได้กับการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์แบบเดิม นอกจากนี้ ผู้วิจัยยังเสนอที่จะพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่อธิบายการสกัดสารดังกล่าวด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่สภาวะต่างๆ ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าผลของการศึกษานี้ จะเป็นแนวทางในการพัฒนาการสกัดพืชสมุนไพรไทยด้วยน้ำกึ่งวิกฤตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

1. บทนำ

1.1 ความเป็นมา

Morinda citrifolia หรือ noni หรือชื่อที่เรียกในประเทศไทยคือต้นยอเป็นพืชสมุนไพรที่สำคัญของประเทศ ส่วนต่าง ๆ ของต้นยอสามารถนำมาบริโภคได้ และนิยมนำมาใช้ทางการแพทย์ โดยพบว่าสารอินทรีย์ที่พบมากในต้นยอ คือสารกลุ่มแอนทราควิโนนส์ ซึ่งจะมีประสิทธิภาพในการต่อสู้กับแบคทีเรียและไวรัส สามารถรักษาโรคความดันโลหิตสูง ต้อต่าน เซลล์มะเร็ง และมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ ส่วนอนุพันธ์ที่พบมากในสารกลุ่มนี้ คือ alizarin และ damnacanthal โดย alizarin นิยมนำมาใช้ในเป็นสีย้อมในโรงงานอุตสาหกรรม และ damnacanthal เป็นสารที่รู้จักกันดีในการรักษาโรคมะเร็ง และยังสามารถทำลายเชื้อมาลาเรียได้อีกด้วย ด้วยเหตุนี้ เราจึงสนใจการสกัดสาร damnacanthal จากรากยอ

เนื่องจากปัจจุบันมีความต้องการจะลดการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัด ในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาวิธีการสกัดโดยใช้น้ำกึ่งวิกฤต ซึ่งหมายถึงน้ำที่อุณหภูมิอยู่ระหว่างจุดเดือดและจุดวิกฤต และอยู่ภายใต้สภาวะความดันสูงพอที่จะรักษาสถานะของน้ำให้เป็นของเหลว อุณหภูมิที่สูงนี้ จะทำให้พันธะไฮโดรเจนที่ยึดโมเลกุลของน้ำสลายตัวลง ทำให้ค่าความมีขั้วของน้ำลดลง ส่งผลให้ค่าความสามารถในการละลายสารอินทรีย์ในน้ำเพิ่มมากขึ้น

จากงานวิจัยที่ผ่านมา ในปี 2004 โชติพิฤกษ์ และคณะ พบว่าสารกลุ่มแอนทราควิโนนส์สามารถสกัดจากรากของต้นยอได้โดยใช้น้ำกึ่งวิกฤต ต่อมาในปี 2006 พงษ์นราวรรณ และคณะ ได้ทดลองหาค่าความสามารถในการละลายของสารแอนทราควิโนนส์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดยในการศึกษาที่ผ่านมาจะวิเคราะห์สารที่สกัดได้โดยใช้เครื่อง spectrophotometer โดยใช้สาร alizarin เป็นสารมาตรฐาน ซึ่งวิธีนี้จะวัดปริมาณรวมของสารในกลุ่มแอนทราควิโนนส์เท่านั้น แต่ไม่ระบุปริมาณอย่างเฉพาะเจาะจงสำหรับบอริพันธ์ของสารที่สนใจแต่ละชนิด ดังนั้นสำหรับงานวิจัยนี้ มีเป้าหมายที่จะศึกษาการสกัดสารต้านมะเร็งแดมนาแคนธัลจากรากของต้นยอ ซึ่งสามารถวิเคราะห์ปริมาณได้โดยใช้ reverse phase HPLC สำหรับวัตถุประสงค์ของงานวิจัย ก็เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารแดมนาแคนธัล จากรากของต้นยอ ด้วยวิธีน้ำกึ่งวิกฤต นอกจากนี้ยังมีวัตถุประสงค์เพื่อเสนอแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่อธิบายการสกัดด้วยวิธีน้ำกึ่งวิกฤต ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการประเมินทางเศรษฐศาสตร์และการขยายขนาดในการสกัดต่อไป

2.1 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Literature review)

2.2.1 แอนทราควิโนนส์และการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

สารจำพวกแอนทราควิโนนส์เป็นสารสีเหลืองที่พบมากในลำต้นและรากของต้นยอ สารกลุ่มนี้มีคุณสมบัติทางชีวภาพที่สำคัญหลายประการ เช่น เป็นสารต่อต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อไวรัส มีรายงานว่าสารในกลุ่มนี้ สามารถนำไปใช้เป็นยารักษาโรคที่มีสาเหตุมาจากแบคทีเรีย เช่น ไข้หวัด หรืออาการติดเชื้อที่ผิวหนัง (Atkinson, 1956) และจากการทดสอบประสิทธิภาพ

ของการต่อต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากรากยอด้วยเอทานอล พบว่าสารสกัดนี้มีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดีพอๆกับวิตามินอี (Mohd และ Abdul-Hamid, 2002) นอกจากนี้สารในกลุ่มแอนทราควิโนนส์ที่สกัดจากรากยอ ยังสามารถระงับเชื้อไวรัสโรคเอดส์ (เอช ไอ วี) (Umezawa, 1992) แก้วปวด และกล่อมประสาท (Wang, 2002) สำหรับงานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์มุ่งเน้นการสกัดสารแอนทราควิโนนส์ ที่เรียกว่า *Damnacanthal* ซึ่งมีฤทธิ์ต่อต้านมะเร็งในอวัยวะต่างๆ เช่น มะเร็งในปอด ลำไส้ ตับอ่อน และเม็ดเลือดขาว (Atkinson, 1956 และ Hiramatsu และคณะ, 1993)

แต่เดิม การสกัดสารจำพวกแอนทราควิโนนส์ทำได้โดยการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอทานอล โดยการนำรากมาแช่ในตัวทำละลายอินทรีย์เป็นเวลาประมาณ 48-72 ชั่วโมง จากนั้นจะทำการแยกส่วนของรากออกและนำสารสกัดที่ได้ไประเหย เพื่อแยกสารละลายอินทรีย์ออก การสกัดด้วยวิธีนี้ใช้เวลานาน คณะผู้วิจัยจึงได้ปรับปรุงการสกัดให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น (Hemwimol และคณะ, 2006) พบว่าการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยในการสกัด สามารถลดระยะเวลาการสกัดลงได้ ทั้งนี้เนื่องมาจากการปรากฏการณ์ คาวิเทชัน ซึ่งเกิดขึ้นเมื่อฟองแก๊สที่อยู่ภายในตัวกลางของเหลว มีการขยายตัวและอัดตัวในช่วงของคลื่นเสียงที่มีความดันต่ำ (Rarefaction) และที่มีความดันสูง (compression) ตามลำดับ ในช่วงความดันต่ำของคลื่น ฟองแก๊สเกิดการขยายตัว และอาจแตกตัวลง ซึ่งหากการแตกตัวของฟองแก๊สเกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวของส่วนของพืชที่ต้องการสกัด จะส่งผลให้ของเหลวรอบๆ ฟองพุ่งเข้าสู่พื้นผิวนั้นด้วยความเร็วสูงมาก หรือเกิด microjet ซึ่งทำให้เนื้อเยื่อของพืชเกิดการฉีกขาด เป็นการเพิ่มอัตราการถ่ายโอนมวลสาร นอกเหนือจากการใช้คลื่นเหนือเสียง คณะผู้วิจัยยังพบว่าคลื่นไมโครเวฟก็สามารถช่วยลดระยะเวลาในการสกัดได้เช่นเดียวกัน (Hemwimol และคณะ, 2007) อีกทั้งยังได้สารสกัดที่มีคุณสมบัติการต่อต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดโดยใช้อัลตราซาวด์

2.1.2 การสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

แม้ว่าการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์และไมโครเวฟจะลดเวลาการสกัด การสกัดด้วยวิธีข้างต้นนี้ ยังมีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งหากมีหลงเหลืออยู่ในสารสกัด จะก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องมีการพัฒนาวิธีการสกัดที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยมากขึ้น การใช้ตัวทำละลายใหม่ที่ปลอดภัย เพื่อทดแทนตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้แต่เดิมเป็นทางเลือกหนึ่งในการแก้ไขปัญหาดังกล่าว ตัวทำละลายที่ได้รับความสนใจเป็นพิเศษในช่วงเวลาประมาณสิบปีที่ผ่านมาคือ คาร์บอนไดออกไซด์ที่ภาวะวิกฤตยวดยิ่ง เนื่องจาก คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะนี้มีคุณสมบัติพิเศษหลายประการ เช่น มีสัมประสิทธิ์ของการแพร่สูง และความหนืดต่ำเมื่อเทียบกับตัวทำละลายของเหลว จึงสามารถแพร่เข้าสู่รูพรุนภายในของส่วนของพืชสมุนไพรที่ต้องการสกัดได้ดี ทำให้การสกัดมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ตัวทำละลายของเหลวแบบดั้งเดิม นอกจากนี้ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ที่ภาวะวิกฤตยวดยิ่งค่อนข้างต่ำ (ประมาณ 40-60 องศาเซลเซียส) จึงไม่ทำให้สารสกัดสลายตัว

อย่างไรก็ตาม เนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์เป็นโมเลกุลไม่มีขั้ว ฉะนั้นจึงใช้ได้กับสารที่ไม่มีขั้ว จำพวกน้ำมัน หรือสารที่มีขั้วน้อยๆ เช่น น้ำมันหอมระเหย (King และ Bott, 1993) ในกรณีของ สารที่มีขั้ว จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายร่วมเช่น เอทานอล เพื่อช่วยเพิ่มความมีขั้วให้ คาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ร่วม จำเป็นต้องแยกตัวทำละลายออกใน ภายหลัง มิฉะนั้นอาจมีปัญหาตัวทำละลายอินทรีย์ตกค้างขึ้นอีก ด้วยเหตุนี้ จึงได้มีการ พัฒนาการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต ซึ่งเป็นวิธีที่มีศักยภาพในการสกัดสารอินทรีย์ที่มีขั้วจากพืช สมุนไพรหลายชนิด

แม้ว่าน้ำในสภาวะอุณหภูมิและความดันบรรยากาศ ไม่สามารถสกัดสาร แอนทราควิโนนส์ออกมาได้ เนื่องจากค่าคงที่ไดอิเล็กตริก (dielectric constant) ซึ่งแสดงถึง ความมีขั้วของน้ำ มีค่าสูงมาก (ประมาณ 80 ที่ 25 องศาเซลเซียส) แต่เมื่ออุณหภูมิของน้ำสูงขึ้น ถึงประมาณ 205 องศาเซลเซียส ค่าคงที่ dielectric จะลดลงอยู่ที่ประมาณ 33 ซึ่งใกล้เคียงกับ ค่าคงที่ไดอิเล็กตริกของเมทานอล ทำให้น้ำที่สภาวะนี้สามารถสกัดสารแอนทราควิโนนส์ได้ดี (Shotipurk และคณะ, 2004) ผู้วิจัยยังได้ทดสอบความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระของ สารที่สกัดโดยน้ำกึ่งวิกฤต พบว่ามีคุณสมบัติใกล้เคียงกับสารสกัดด้วยเอทานอลโดยใช้คลื่น ไมโครเวฟ และ soxhlet โดยมีคุณสมบัติการต่อต้านอนุมูลอิสระ ที่สูงกว่าสารที่สกัดได้โดยใช้อัลตราซาวด์ (Pongnaravane และคณะ, 2006)

3. วัตถุประสงค์ของโครงการ

- 3.1 ทดสอบวิธีการเตรียมสารตัวอย่างจากสารสกัดเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณสารแตม นา-แคนธัล โดยใช้ HPLC
- 3.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการสกัดสารแตมนาแคนธัลจากรากของต้นยอ โดย ใช้น้ำกึ่งวิกฤต กับการสกัดแบบดั้งเดิมด้วยเอทานอลโดยดูจากอัตราการสกัด และปริมาณของสารที่สกัดได้ต่อหน่วยน้ำหนักของรากยอ
- 3.3 ทดสอบอิทธิพลของสภาวะของการสกัด ได้แก่อุณหภูมิและอัตราการไหลของน้ำ ต่อการสกัดสารแตมนาแคนธัลจากรากของต้นยอด้วยน้ำกึ่งวิกฤต
- 3.4 เสนอแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่อธิบายถึงการถ่ายโอนมวลสารของการสกัด สารแตมนาแคนธัลในน้ำกึ่งวิกฤต

4. ข้อมูลพื้นฐานและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

4.1 กลไกการสกัด

การสกัดสารประกอบออกมาจากตัวอย่างพืชสมุนไพรโดยทั่วไปประกอบด้วยลำดับขั้น การสกัดดังนี้ 1. การถ่ายโอนของสารประกอบผ่านรูพรุนของพืชตัวอย่าง ซึ่งเราเรียกว่าการแพร่ ภายในตัวอย่างพืช (intraparticle diffusion) 2. การแพร่ผ่านชั้นฟิล์มของเหลวโดยรอบตัวอย่าง พืชที่สกัด (external diffusion) และ 3. การคายขับของสารประกอบออกจากพืชตัวอย่างหรือ

การกระจายตัวของตัวถูกละลายระหว่างเมตริกซ์ของพืชและของเหลว ซึ่งในการจะบอกว่าการสกัดใด ๆ นั้น ถูกกำหนดด้วยลำดับขั้นตอนใด เราสามารถทำได้โดยการสร้างกราฟระหว่างปริมาณสารที่สกัดได้ต่ออัตราการไหลของตัวทำละลายและต่อปริมาตรตัวทำละลาย กล่าวคือถ้าการสกัดกำหนดด้วยจลศาสตร์การคายซับ (kinetic desorption) การเพิ่มอัตราการไหลของตัวทำละลายจะส่งผลเพียงเล็กน้อยต่ออัตราการสกัด แต่ถ้าการสกัดกำหนดด้วยการแพร่มวลสารภายนอก (external film transfer diffusion) อัตราการสกัดจะเพิ่มตามการเพิ่มของอัตราการไหลของตัวทำละลาย และในกรณีที่การสกัดกำหนดด้วยสมดุลการกระจายตัวของตัวถูกละลายระหว่างเมตริกซ์และของเหลว การเพิ่มอัตราการไหลเป็น 2 เท่าจะทำให้อัตราการสกัดเพิ่มเป็น 2 เท่าด้วย ในขณะที่เส้นกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสกัดกับปริมาตรของตัวทำละลายที่ทุกๆ อัตราการไหลของตัวทำละลาย จะซ้อนทับเป็นเส้นเดียวกัน

4.2 แบบจำลองทางคณิตศาสตร์

ในการศึกษาแบบจำลองที่พิจารณาและใช้เปรียบเทียบกับผลการทดลองประกอบด้วย 1. แบบจำลองสมดุลการกระจายตัวของตัวถูกละลายระหว่างเมตริกซ์และของเหลว 2. แบบจำลองจลศาสตร์การคายตัว one-site และ 3. two-site และ 4. แบบจำลองความต้านทานการถ่ายเทมวลสารภายนอก (external mass transfer resistance model)

4.2.1 แบบจำลองสมดุลการกระจายตัวของตัวถูกละลายระหว่างเมตริกซ์และของเหลว

(แบบจำลอง K_D)

หมายถึง การสกัดที่การแพร่ของตัวถูกละลายภายในอนุภาคเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว และการสกัดถูกควบคุมโดยสมดุล

ในที่นี้จะใช้กับกรณีที่ปริมาณตัวถูกละลายในพืชมีน้อย นั่นคือการสกัดไม่ได้ถูกจำกัดโดยความสามารถในการละลาย แต่เป็นสมดุลการกระจายตัวของตัวทำละลายระหว่างของเหลวและมวลชีวภาพ (K_D) โดยที่

$$K_D = \frac{\text{ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในเมตริกซ์ของพืช}}{\text{ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในของไหลที่ใช้สกัด}}$$

โดยสมมติให้ขนาดของตัวอย่างมีขนาดเท่ากันและเมื่อตัวทำละลายผ่านตัวอย่าง จะเกิดสมดุลทันที

ในที่นี้ สามารถคำนวณหาปริมาณของตัวถูกละลายสะสม S_b ที่สกัดได้เมื่อ ปริมาตร V_b ของตัวทำละลายไหลผ่าน จาก

$$S_b = S_a + (S_0 - S_a)_f$$

นั่นคือ S_b มีค่าเท่ากับผลรวมของ S_a หรือปริมาณตัวถูกละลายสะสมที่สกัดได้เมื่อปริมาตร V_a (mg/g) (ซึ่งน้อยกว่า V_b (mg/g)) กับส่วนของปริมาณสารที่เหลือ (คือ $S_0 - S_a$) ที่กระจายอยู่ในตัวทำละลายที่ไหลผ่าน โดยมีความสัมพันธ์สมดุลการกระจายตัว K_D

และเมื่อแก้สมการจะได้

$$\frac{S_b}{S_0} = \frac{\left(1 - \frac{S_a}{S_0}\right)}{\left(\frac{K_D m}{(V_b - V_a)\rho} + 1\right)} + \frac{S_a}{S_0}$$

โดยที่ ρ คือความหนาแน่นของของไหลที่ใช้สกัด (mg/ml) และ m คือมวลของตัวอย่างพืชที่ถูกสกัด (mg) และถ้าการสกัดถูกกำหนดด้วยแบบจำลองนี้ การเพิ่มอัตราการไหลเป็น 2 เท่าจะทำให้อัตราการสกัดเพิ่มเป็น 2 เท่าด้วยโดยสังเกตได้จากกราฟระหว่างอัตราการสกัดต่อเวลาในขณะที่แนวโน้มของเส้นกราฟระหว่างอัตราการสกัดกับปริมาตรของตัวทำละลายของทุกอัตราการไหลของตัวทำละลายจะซ้อนทับเป็นเส้นเดียวกัน

4.2.2 แบบจำลองจลศาสตร์การคายตัวแบบ one-site

หมายถึงการสกัดที่ถูกควบคุมโดยการถ่ายโอนมวลสารภายในอนุภาค โดยเรากำหนดให้ค่าความเข้มข้นของตัวถูกละลายมีค่าสม่ำเสมอทั่วทั้งอนุภาคของแข็ง และให้ความเข้มข้นของตัวถูกละลายที่ผิวของเมตริกซ์ มีค่าเป็นศูนย์

เราสามารถอธิบายโปรไฟล์ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในอนุภาคที่เปลี่ยนแปลงตามเวลาได้ดังสมการต่อไปนี้

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial C}{\partial r} \right)$$

โดยมีสภาวะเริ่มต้นและขอบเขตดังนี้

$$\begin{array}{lll} IC: & C = C_1 & 0 < r < a \quad t = 0 \\ BC: & C = \text{finite} & r = 0 \quad t > 0 \\ & C = 0 & r = a \quad t > 0 \end{array}$$

ซึ่งจะได้อธิบายการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของตัวถูกละลายในอนุภาค มีค่าเท่ากับการแพร่ของตัวทำละลายตามแนวรัศมีของอนุภาค โดยเราสามารถแก้สมการหาปริมาณตัวถูกละลายที่ยังคงเหลือในเมตริกซ์ต่อปริมาณสารทั้งหมด ได้ดังนี้

$$\frac{S_r}{S_0} = \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp(-Dn^2\pi^2t/a^2)$$

โดยค่า S_r คือค่า ความเข้มข้นของตัวถูกละลายที่เหลืออยู่ในมวลชีวภาพ ต่อค่า S_0 คือค่าความเข้มข้นของตัวถูกละลายทั้งหมด D_e คือสัมประสิทธิ์การแพร่ของตัวถูกละลายในส่วนผสมของเมตริกซ์ทรงกลม (m^2/s) ซึ่งอาจเขียนในรูปแบบของสมการต่อไปนี้

$$\ln(S_r / S_0) = -0.4977 - t/t_c$$

โดยค่า t_c (min) จะนิยามโดย $t_c = r^2 / \pi^2 D_e$

และเมื่อนำสมการข้างต้นมาเขียนในรูปปริมาณตัวถูกละลายสะสมที่สกัดได้ S_t ต่อ S_0 หรือ ปริมาณสารที่มีอยู่ในพีช จะได้อยู่ใน exponential

$$\frac{S_t}{S_0} = 1 - e^{-kt}$$

สมการนี้เรียกว่า แบบจำลองแบบ one-site kinetic desorption โดยค่า k คือ ค่าสัมประสิทธิ์อันดับหนึ่งซึ่งอธิบายถึงการสกัด ซึ่งพบว่าในแบบจำลองนี้ไม่ได้รวมแพคเตอร์ของอัตราการไหล ดังนั้นการเพิ่มอัตราการไหลจะไม่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดเมื่อเปรียบเทียบในหน่วยเวลา เพราะฉะนั้นค่า k จะต้องมามีค่าเท่ากันสำหรับทุกอัตราการไหล

4.2.3 แบบจำลองจลศาสตร์การคายตัว two-site

ใช้เมื่อสารละลายผ่านมวลชีวภาพจะพบว่าตัวถูกละลายที่สกัดออกม้างายโดยจะขึ้นอยู่กับ k_1 และเป็น fraction ของค่า F ส่วนที่สกัดออกมาช้าซึ่งจะขึ้นอยู่กับค่า k_2 โดยสมการจะเหมือนกับแบบจำลองแบบ One site kinetic desorption แต่จะเพิ่มพจน์ในส่วนที่สกัดช้าเข้าไป

$$\frac{S_t}{S_0} = 1 - [F e^{-k_1 t}] - [(1 - F) e^{-k_2 t}]$$

4.2.4 แบบจำลองความต้านทานการถ่ายเทมวลสารภายนอก

เป็นแบบจำลองที่การสกัดควบคุมด้วยการถ่ายเทมวลสารภายนอกอนุภาค แสดงดังสมการ

$$\frac{\partial c_s}{\partial t} = -k_e a_p [(c_s / K_D) - c]$$

ซึ่งจากสมการนี้ ถ้าสมมุติให้ความเข้มข้นของสารสกัดในของไหลมีค่าน้อยและความเข้มข้นของสารสกัดที่พื้นผิวของของเหลวสามารถอธิบายด้วยสมดุลการกระจายตัว K_D จะมาสมการแก้สมการได้เป็น

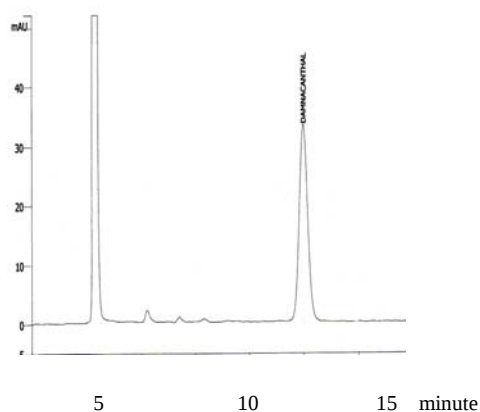
$$c_s = c_0 \exp(-k_e a_p t / K_D)$$

จากสมการนี้สามารถเขียนใหม่ในรูปของอัตราส่วนของปริมาณสารที่สกัดได้ต่อปริมาณสารเริ่มต้นที่มีในตัวอย่างพีช คือ

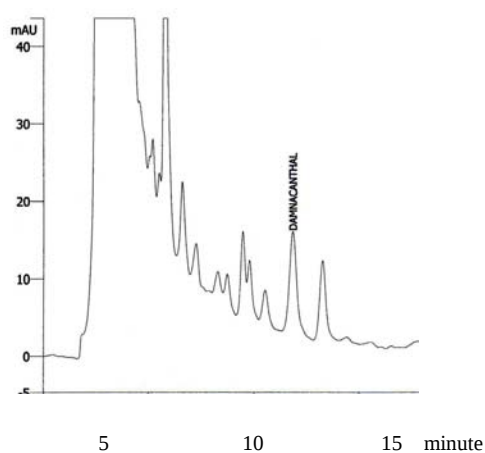
$$S_t = 1 - S_0 \exp(-k_e a_p t / K_D)$$

5. ผลการทดลอง

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารแดมนาแคนธัลด้วยเครื่อง RP-HPLC จะทำได้โดยนำสารสกัดไปทำการระเหยเอาน้ำออกและแบ่งสารสกัดออกเป็น 2 ส่วนคือ ส่วนที่ละลายในน้ำและอีกส่วนหนึ่งคือส่วนของตะกอนที่ละลายใน DMSO โดยเมื่อนำทั้งสองส่วนนี้มาวิเคราะห์ด้วย HPLC จะเกิดพีคขึ้นที่เวลา 12 นาที โดยปริมาณสารที่สกัดได้ทั้งหมดก็คือผลรวมของปริมาณสารที่อยู่ในน้ำ และ DMSO



ก)



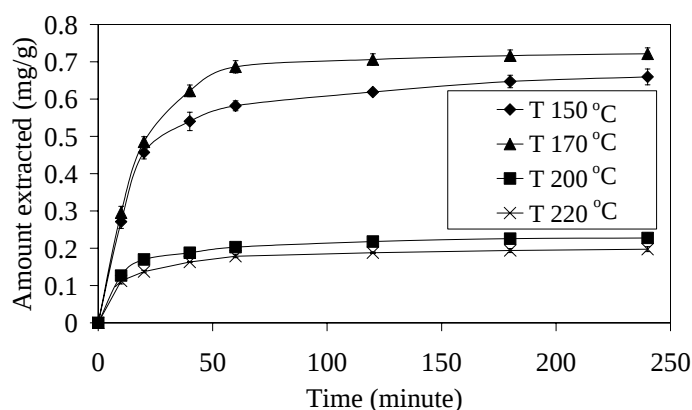
ข)

รูปที่ 1 โครมาโตแกรมของสารสกัดจากรากยอ

5.1 ผลกระทบของอุณหภูมิต่อการสกัด

ในการศึกษาจะทำการสกัดที่สภาวะอัตราการไหลที่ 4 ml/min ที่ความดัน 4 MPa และอุณหภูมิต่าง ๆ ดังนี้ 150, 170, 200, และ 220 °C ได้ผลลัพธ์คือ อุณหภูมิที่สกัดสารแดมนาแคนธัลได้มากที่สุดคือ 170 °C และพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิ จากอุณหภูมิ 150 °C ไปเป็น 170 °C พบว่าสารสกัดเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิ เนื่องมาจากการเพิ่มอุณหภูมิทำให้ค่าความมีขั้วของน้ำลดลงทำให้ สารแดมนาแคนธัลสามารถละลายได้ในน้ำที่สภาวะกึ่งวิกฤต แต่เมื่อทำการเพิ่ม

อุณหภูมิไปถึง 200 และ 220 °C พบว่า สารสกัดมีปริมาณลดลง แสดงว่าเกิดจากสลายตัวของสารแดมนาแคนธัลที่อุณหภูมิสูง ในการศึกษาที่ผ่านมาหากใช้วิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงและหาปริมาณแอนทราควิโนนส์รวม เราจะไม่เห็นการสลายตัวของสารที่อุณหภูมิสูง ดังนั้นจากการศึกษานี้พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสกัดคือ 170 องศาเซลเซียส ดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 2 ปริมาณสารแดมนาแคนธัลที่สกัดได้ที่สภาวะอุณหภูมิและเวลาต่างๆ

5.2 ผลกระทบของอัตราการไหลต่อการสกัด

เมื่อพิจารณาผลการสกัดที่สภาวะอุณหภูมิ 170 °C และที่ความดัน 4 Mpa ที่อัตราการไหลต่างๆ ดังนี้ คือ 1.6, 2.4, 3.2 และ 4 ml/min จะได้ผลลัพธ์ดังนี้

- 1 เมื่อพิจารณาจากกราฟที่ plot ระหว่าง% สารที่สกัดได้ และ เวลาที่ใช้ในการสกัด พบว่า เมื่อทำการเพิ่มอัตราการไหลโดยเฉพาะจาก 1.6 ไป 2.4 ml/min
- 2 เมื่อทำการ plot ระหว่าง % สารที่สกัดได้และเวลาที่ปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการสกัด พบว่าเส้นกราฟจะไม่ต่างกันมากนัก ซึ่งลักษณะดังกล่าวคล้ายกับกราฟสร้างจากแบบจำลองที่ควบคุมโดยการกระจายตัว
- 3 แต่เมื่อพิจารณาที่อัตราการไหลจาก 2.4 ไป 3.2 และ 3.2 ไป 4 ml/min ซึ่งเป็นไปได้ว่า ณ อัตราการไหลสูงลักษณะการสกัดอาจถูกควบคุมด้วยการแพร่ภายในอนุภาค (หรือ kinetic desorption)

จากผลลัพธ์นี้แสดงให้เห็นว่าการสกัดสามารถกำหนดได้ด้วยทั้งแบบจำลองที่ควบคุมโดยการกระจายตัวหรือการแพร่ภายในอนุภาค ทั้งนี้ขึ้นกับสภาวะของอัตราการไหลของตัวทำละลาย

5.3 พฤติกรรมการสกัดของแบบจำลองต่าง ๆ

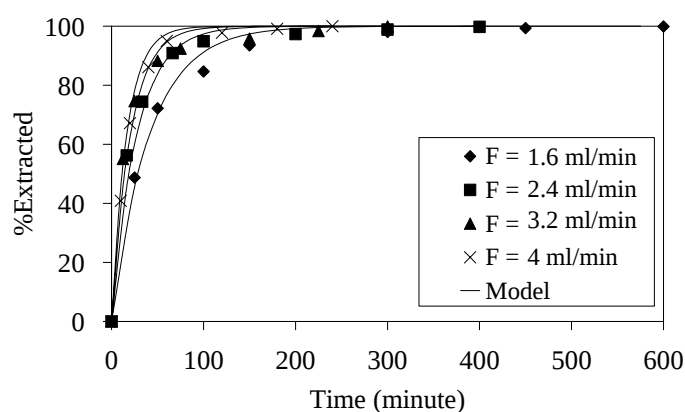
5.3.1 แบบจำลองสมดุลการกระจายตัวของตัวถูกละลายระหว่างเมตริกซ์และของเหลว

เมื่อนำแบบจำลอง K_D นี้มาอธิบายผลการทดลอง จะสามารถคำนวณหาค่าพารามิเตอร์ K_D โดยใช้โปรแกรม EXCEL SOLVER ซึ่งทำให้หาค่า K_D ในแต่ละอัตราการไหลได้ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยมีค่า K_D เฉลี่ยประมาณ 52

ตารางที่ 1 ค่า K_D สำหรับที่อัตราการไหลต่างๆ

Parameter	Volumetric flow rate (ml/min)			
	1.6	2.4	3.2	4
K_D	55.60	43.27	45.68	66.46

จากกราฟที่แสดงเราจะเลือกใช้ค่า K_D ที่อัตราการไหล 1.6 ml/min มีค่าเท่ากับ 55.60 และค่า K_D และเมื่อนำค่า K_D ที่อัตราการไหล 1.6 ml/min มา predict การสกัดที่อัตราการไหลต่างๆ สามารถอธิบายการสกัดได้อย่างเหมาะสม ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 แบบจำลอง K_D เทียบกับผลการทดลอง

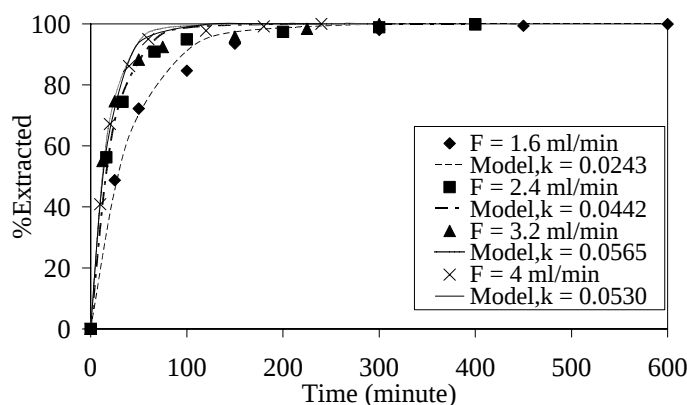
ซึ่งถ้าการสกัดถูกกำหนดด้วยสมดุลการกระจายตัว ค่า K_D ในแต่ละอัตราการไหลของน้ำจะมีค่าเท่ากันหมด

5.3.2 แบบจำลองจลศาสตร์การคายตัวแบบ one-site

ในการหา k จากสมการที่อัตราการไหลต่างๆ จากผลการทดลอง ทำได้โดยใช้ โปรแกรม EXCEL SOLVER โดยผลสรุปอยู่ในตารางที่ 2 และเมื่อนำแบบจำลองนี้มาทำนายเปอร์เซ็นต์การสกัด ที่อัตราการไหลต่างๆ ดังแสดงในกราฟรูปที่ 4

ตารางที่ 2 ค่า k สำหรับแบบจำลองจลศาสตร์การคายตัวแบบ one-site ที่อัตราการไหลต่างๆ

Parameter	Volumetric flow rate (ml/min)			
	1.6	2.4	3.2	4
k (min^{-1})	0.0243	0.0442	0.0565	0.0530



รูปที่ 4 แบบจำลองจลศาสตร์การคายตัว one-site เทียบกับผลการทดลอง

ถ้าการสกัดถูกกำหนดด้วยแบบจำลองนี้ ค่า k ในแต่ละอัตราการไหลของน้ำจะมีค่าเท่ากันหมด และเมื่อเราทำการเปรียบเทียบค่า k พบว่า ค่า k เพิ่มขึ้นตามอัตราการไหล แต่ที่อัตราการไหลที่ 3.2 และ 4 ml/min จะมีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นแบบจำลองนี้จึงเหมาะกับที่อัตราการไหลสูง ๆ

5.3.3 แบบจำลองจลศาสตร์การคายตัว two-site

ในแบบจำลองนี้ จะมีค่าพารามิเตอร์ 3 ตัวที่ต้องทำการหาค่าโดยจะใช้โปรแกรม EXCEL SOLVER โดยเริ่มต้นจะทำการหาค่าทั้งค่า F , k_1 และ k_2 จากผลการทดลอง จากนั้นจะนำค่า F ในแต่ละอัตราการไหลมาหาค่าเฉลี่ยซึ่งจะได้ค่า $F = 0.76$ จากนั้นจึงนำค่า F มาคำนวณหาค่า k_1 และ k_2 เช่นเดียวกันกับแบบจำลองแบบ one site เนื่องจากแบบจำลองนี้จะไม่มีการพิจารณาของอัตราการไหลเข้ามาเกี่ยวข้องกับ k_1 และ k_2 ควรมีค่าใกล้เคียงกันที่อัตราการไหลต่างๆ แต่ดังแสดงในตารางนี้ ซึ่งพบว่าค่า k ที่หาได้จากการเทียบข้อมูลในแต่ละอัตราการไหลมีค่าไม่เท่ากัน แบบจำลองนี้จึงไม่อธิบายการสกัดของตัวอย่างนี้ได้

ตารางที่ 3 ค่า k_1 และ k_2 สำหรับแบบจำลองจลศาสตร์การคายตัวแบบ two-site ที่อัตราการไหลต่างๆ ($F = 0.76$).

Parameter	Volumetric flow rate (ml/min)			
	1.6	2.4	3.2	4
k_1 (min ⁻¹)	0.0357	0.065	0.090	0.064
k_2 (min ⁻¹)	0.0078	0.0144	0.0143	0.029

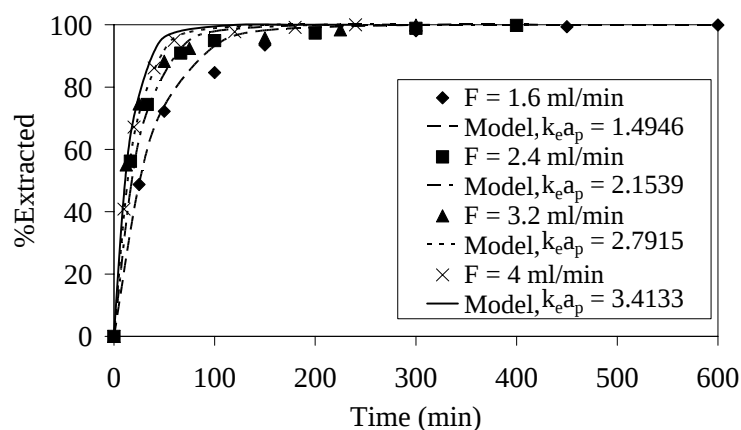
5.3.4 แบบจำลองความต้านทานการถ่ายโอนมวลสารภายนอก

ค่าตัวแปร K_D และ $k_e a_p$ ในสมการแบบจำลองนี้สามารถหาได้โดยใช้โปรแกรม EXCEL SOLVER จากข้อมูลการทดลองที่อุณหภูมิ 170°C แสดงดังตาราง

ตารางที่ 4 พารามิเตอร์ K_D และ $k_e a_p$ สำหรับแบบจำลองการถ่ายโอนมวลสารภายนอก

Volumetric flow rate	Mass flow rate	Parameter	
(ml/min)	(mg/min)	K_D	$k_e a_p$ (min ⁻¹)
1.6	1485.04	55.70	1.35
2.4	2227.56	55.83	2.47
3.6	2970.08	55.61	3.14
4	3712.60	55.65	2.95

ซึ่งเมื่อดูจากกราฟจะเห็นว่าแบบจำลองเข้ากันได้ดีกับผลการทดลอง



รูปที่ 5 แบบจำลองความต้านทานการถ่ายโอนมวลสารภายนอกเทียบกับผลการทดลอง

5.4 การเปรียบเทียบแบบจำลองการสกัด

ในการเปรียบเทียบแบบจำลองต่างๆ ซึ่งปริมาณ ทำได้โดยเปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดของแบบจำลองแต่ละแบบจำลองที่ใช้ในการอธิบายผลการทดลองซึ่งสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 5 โดยที่แบบจำลองแบบการกระจายตัวสมดุล K_D ที่ได้จากการเข้ากันกับข้อมูลอัตราการไหลต่ำสุดเท่ากับ 2 ml/min ส่วนแบบจำลองแบบ one และ two site kinetic desorption จะทำการเปรียบเทียบผลการทดลองการสกัดกับแบบจำลองที่ k เลือกจากการฟิตข้อมูลอัตราการไหลสูงสุดเท่ากับ 5 ml/min

ตารางที่ 5 เปอร์เซนต์ความผิดพลาดเฉลี่ยของแบบจำลองต่างๆ เทียบกับผลการทดลอง

Model	Parameter model	%Mean absolute errors at difference flow rate (ml/min)			
		1.6	2.4	3.2	4
Partitioning coefficient	K_D	2.27	2.69	3.44	2.26
One site kinetic desorption	k	8.66	3.11	3.07	0.95
Two site kinetic desorption	k_1, k_2	8.57	3.12	2.49	0.83
External mass transfer	$K_D, k_e a_p$	2.27	2.35	2.97	0.95

พบว่าเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดของแบบจำลองแบบการกระจายตัวสมดุลการกระจายของสาร จะมีเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดใกล้เคียงกันในแต่ละอัตราการไหล ดังนั้นแบบจำลองนี้จึงเหมาะในการสกัดสารแดมนาแคนธัลจากรากของต้นยอโดยวิธีน้ำกึ่งวิกฤต และแบบจำลองแบบ one และ two site kinetic desorption พบว่าเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดน้อยที่อัตราการไหลสูง จึงสามารถอธิบายการสกัดของ damnacanthol ได้ในอัตราการไหลสูงๆ

6. บทสรุปและข้อเสนอแนะ

จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าสามารถสกัดสารแดมนาแคนธัลจากรากของต้นยอ โดยวิธีน้ำกึ่งวิกฤตได้ โดยพบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือที่ อุณหภูมิ 170 °C และที่อัตราการไหลตั้งแต่ 3-5 ml/min ซึ่งจากการศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิพบว่าที่ อุณหภูมิ 170 °C สามารถสกัดสารแดมนาแคนธัล ได้สูงสุด และที่อุณหภูมิ 200 และ 220 °C พบว่าสารแดมนาแคนธัลลดลงเนื่องจากเกิดการสลายตัวของสารแดมนาแคนธัลที่อุณหภูมิสูง และจากการศึกษาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์พบว่า แบบจำลองแบบการกระจายตัวสมดุลการกระจายของสารเหมาะสำหรับอธิบายการสกัดสารแดมนาแคนธัลจากรากของต้นยอโดยวิธีน้ำกึ่งวิกฤต ส่วนแบบจำลองแบบ kinetic desorption สามารถอธิบายผลการทดลองได้ดีในช่วงอัตราการไหลสูง

7. การใช้เทคโนโลยีการสกัดด้วยของไหลใกล้วิกฤตกับพืชและชีวมวลอื่น ๆ

นอกจากนี้แล้วเทคโนโลยีของไหลวิกฤตยวดยิ่งและของไหลกึ่งวิกฤต ยังได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้กับกระบวนการสกัดพืชสมุนไพรชนิดอื่นๆ และใช้ในการทำปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนชีวมวลจากการเกษตรให้เป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่ม เนื่องจากประเทศไทยมีทรัพยากรทางการเกษตรที่หลากหลาย

คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยวดยิ่งมีความปลอดภัย แยกออกจากสารสกัดได้ง่าย และอุณหภูมิที่ใช้ค่อนข้างต่ำจึงไม่ทำให้สารสลายตัว จึงถูกนำมาใช้ในการสกัดสารแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายเซลล์เดียว สำหรับการสกัดโดยใช้ของไหลกึ่งวิกฤต ผู้วิจัยยังได้นำมาใช้สกัดสาร “ซาแรนติน” ซึ่งเป็นสารลดระดับน้ำตาลในเลือดจากผลมะระขี้นก ซึ่งพบว่าให้ผลดี นอกจากนี้ น้ำกึ่งวิกฤตยังแตกตัวได้ไฮโดรเจนและไฮดรอกไซด์ไอออนจำนวนมาก เป็นสาเหตุให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส จึงได้อาศัยไฮโดรไลซิสในน้ำกึ่งวิกฤตนี้เองในการสกัดสารจำพวกโปรตีนจากแหล่งโปรตีนธรรมชาติต่างๆ เช่น โปรตีนจากรำข้าวที่เหลือจากโรงสกัดน้ำมัน และโปรตีนจากเศษปุยไหมที่เหลือทิ้ง พบว่า โปรตีนที่ได้นี้ร่างกายจะสามารถดูดซึมและนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่าย ซึ่งวิธีนี้ทำให้ได้โปรตีนในปริมาณที่สูงขึ้นเมื่อเทียบกับวิธีการสกัดโปรตีนแบบเดิมที่ใช้กรดหรือด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และยังเป็นวิธีที่เป็นมิตรต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อมอีกด้วย โดยผลงานจากโครงการนี้ได้สรุปอยู่ในส่วนท้ายของรายงานนี้

8. เอกสารอ้างอิง

- N. Atkinson. Antibacterial substances from flowering plants. 3. Antibacterial activity of dried Australian plants by a rapid direct plate test. *Australian J Exper Biol.* 34 (1956) 17-26.
- R. G. Ayala, M.D. L. Castro Continuous subcritical water extraction as a useful tool for isolation of edible essential oils, *Food Chem.* 75 (2001) 109-113.
- K.S. Babu, P.V. Srinivas, B. Praveen, K.H. Kishore, U.S. Murty, J.M. Rao, Antimicrobial constituents from the rhizomes of *Rheum emodi*, *Phytochemistry* 62 (2003) 203-207.
- H.S. Carslaw, J.C. Jaeger, Conduction of heat in solids, Clarendon, Oxford 1959.
- Y. Chan-Blanco, F. Vaillant, A. M. Perez, M. Reynes, JM Brillouet, P. Brat, Critical Review The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. *Journal of Food Composition and Analysis*, in press.
- J. Crank, The mathematics of diffusion, Clarendon, Oxford 1975
- M. Dabiri, S. Salimi, A. Ghassempour, A. Rassouli, A. Talebi, Optimization of microwave-assisted extraction for alizarin and purpurin in Rubiaceae plants and its

- comparison with conventional extraction methods. *Journal of Separation Science* 28 (2005) 387-396.
- S. Hemwimol, P. Pavasant, J. Pitiphanpong, A. Shotipruk. Microwave-Assisted Extraction of Antioxidative Anthraquinones from Roots of *Morinda citrifolia*, *Separation and Purification Technology* 57 (2006) 44-50.
- S. Hemwimol, P. Pavasant, J. Pitiphanpong, A. Shotipruk. Ultrasound-Assisted Extraction of Anthraquinones from Roots of *Morinda citrifolia*, *Ultrasonics sonochemistry* (2006) 2006, 13, 543-548.
- T. Hiramatsu, M. Imoto, T. Koyano, K. Umezawa, Induction of normal phenotypes in ras-transformed cells by damnacanthol from *Morinda citrifolia*. *Cancer Letters* 73 (1993) 161-166.
- M.M Jiménez-Carmona, J. L. Ubea, L. D. Castro,. Comparison of continuous subcritical water extraction and hydrodistillation of moringa essential oil. *J. Chromatograph. A*. 855 (1999), 625-632
- M. B. King and T. R. Bott In: Extraction of natural products using near-critical solvents. Blackie Academic & Professional, eds King and Bott, 1993.
- J. Koyama, I. Morita, K. Tagahara , M. Ogata, T. Mukainakab, H. Tokuda, H. Nishino, Inhibitory effects of anthraquinones and bianthraquinones, Epstein-Barr virus activation, *Cancer Letters* 170 (2001) 15-18.
- A. Kubátová, B. Jansen, J.F. Vaudoisot, S.B. Hawthorne, Thermodynamic and kinetic models for the extraction of essential oil from savory and polycyclic aromatic hydrocarbons from soil with hot (subcritical) water and supercritical CO₂. *Journal of Chromatography A* 975 (2002) 175-188.
- G. Loy, F. Cottiglia, D. Garau, D. Deidda, R. Pompei, L. Bonsignore, Chemical composition and cytotoxic and antimicrobial activity of *Calycotome villosa* (Poiret) Link leaves, *Il Farmaco* 56 (2001) 433-436.
- M. H. Mannila, H. Kim, C. M. Wai. Supercritical carbon dioxide and high-pressure water extraction of bioactive compounds in St. John's wort. In: Proceedings of Supergreen 2002, Kyung Hee University, Korea.
- A. Mohd Zin, A. Abdul-Hamid, A. Osman. Antioxidative activity of extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, fruit, and leaf. *Food Chem.* 78 (2002) 227-231.
- E. S. Ong, J. S. Han Cheong, D. Goh, Review Pressurized hot water extraction of bioactive or marker compounds in botanicals and medicinal plant materials. *Journal of Chromatography A*, 1112 (2006) 92-102

- Ollanketo M., Peltoketo A., Hartonen K., Hiltunen R., Riekkola M. L. Extraction of sage (*Salvia officinalis* L.) by pressurized hot water and conventional methods: antioxidant activity of the extracts. *Eur. Food. Res. Technol.* 215 (2002) 158-163.
- B. Pongnaravane, M. Goto, M. Sasaki, T. Anekpankul, P. Pavasant, A. Shotipruk, Extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia* by pressurized hot water: Antioxidant activity of extracts. *The Journal of Supercritical Fluids* 37 (2006) 390–396
- H. Sadeghi-Aliabadi, M. Tabarzadi, A. Zarghi, Synthesis and cytotoxic evaluation of two novel anthraquinone derivatives, *Il Farmaco* 59 (2004) 645-649.
- A. Shotipruk, J. Kiatsongserm, P. Pavasant, M. Goto, M. Sasaki, Subcritical Water Extraction of anthraquinones from the Roots of *Morinda citrifolia*, *Biotechnology Progress* 20 (2004) 1872-1876.
- J. Suomi, H. Sirén, K. Hartonen, M. L. Riekkola. Extraction of iridoid glycosides and their determination by micellar electrokinetic capillary chromatography, *Journal of Chromatography A*. 868 (2000) 73-83.
- J.R. Taloua, M.C. Verbernea, R.A. Budi Muljonoa, L.J.P. van Tegelenc, B.G. Bernala, H.J.M. Linthorstb, G.J. Wullemsc, J.F. Bolb, R. Verpoortea, Isochorismate synthase transgenic expression in *Catharanthus roseus* cell suspensions, *Plant Physiology Biochemistry* 39 (2001) 595-602.
- M.Y Wang, B.J. West, C. J. Jensen, D. Nowicki, C. SU, A.K. Palu, G. Anderson, *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in Noni research. *Acta Pharmacologica Sinica* 12 (2002) 1127-1141.
- S.A. Westwood, *Supercritical fluid extraction and its use in chromatographic sample preparation*, Blackie Academic & Professional, London, 1993.
- K. Umezawa Isolation of 1-methoxy-2-formyl-3-hydroxy-anthraquinone from *M. citrifolia* and neoplasm inhibitors containing the same. Japan Kokai Tokyo Koho JP 06 87, 736 (94-87, 736) Appl 1992; 92/264, 311 07.
- M.H. Zenk, H. El-Shagi, U. Schulte, Anthraquinone production by cell suspension cultures of *Morinda citrifolia*, *Planta Medicine Supplies* (1975) 79-101.

Output ที่ได้จากโครงการ

Anekpankul T., Goto M., Sasaki M., Pavasant P., **Shotipruk A.** “Extraction of Anti-Cancer Damnacathal from Roots of *Morinda citrifolia* by Subcritical Water”, Separation and Purification Technology 55(3), 2007, pp. 343-349. (IF 2007=2.142)

Pitipanapong J., Chitprasert S., Goto M., Jiratchariyakul W., Sasaki M., **Shotipruk A.** “New Approach for Extraction of Charantin from *Momordica charantia* with Pressurized Liquid Extraction”, Separation and Purification Technology 52 (3), 2007, pp. 416-422. **Science Direct Top 25 Hottest Articles, rank 11th** (IF 2007=2.142)

Watchararuj K., Goto M., Sasaki M., **Shotipruk A.** “Value-Added Subcritical Water Hydrolysate from Rice Bran and Soybean Meal”, Bioresource Technology 99 (14), 2008, 6207-6213. (IF 2007=3.103)

Sereewatthanawut, I., Prapintip S., Watchiraruj K., Goto M., Sasaki M., **Shotipruk A.** “Extraction of Protein and Amino Acids from Deoiled Rice Bran by Subcritical Water Hydrolysis”, Bioresource Technology, 2007, pp. 555-561. (IF 2007=3.103)

Lamoolphak W., De-Eknamkul., **Shotipruk A.** “Hydrothermal Production and Characterization of Protein and Amino Acids from Silk Waste”, Bioresource Technology 99 (16), 2008, 7678-7685. (IF 2007=3.103)

Prommuak C., De-Eknamkul W., **Shotipruk A.** “Extraction of Flavonoids and Carotenoids from Thai Silk Waste and Antioxidant Activity of Extracts”, Separation and Purification Technology, 62 (2), 2008, 445-448. (IF 2007=2.142)

Krichnavaruk S., **Shotipruk A.**, Goto M., Pavasant, P “Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* with Vegetable Oil as Co-solvent”, Bioresource Technology, 99(13), 2008, 5556-5560. (IF 2007=3.103)