บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในน้ำมันปาล์มดิบ โดยวิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตเมตรี

จากการวิเคราะห์หาค่าความยาวคลื่นที่สารละลายมาตรฐานบีตา-แคโรทีนในโทลูอีน สามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ พบว่า ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 462 นาโนเมตร (สเปกตรัมการดูดกลืนแสงแสดงในภาคผนวก ก) และผลการวิเคราะห์ พบว่า ความเข้มข้นของสารแคโรทีนอยด์ในน้ำมันปาล์มดิบเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานบีตา-แคโรทีน เท่ากับ 671 ppm อย่างไรก็ตาม ดังที่ได้กล่าวไว้ในบทที่ 2 แล้วว่า น้ำมันปาล์มดิบมีสารแคโรทีนอยด์เป็นองค์ประกอบหลายชนิด และสารแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดสามารถดูดกลืนแสงได้ในช่วงคลื่นที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้นปริมาณที่วิเคราะห์ได้นี้จึงอาจเป็นผลรวมของสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดที่มีอยู่ในน้ำมันปาล์มดิบ ซึ่งผลการทดลองที่ได้จึงสอดคล้องกับที่ Goh et al. (6) รายงานว่า น้ำมันปาล์มดิบมีสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเป็นประมาณ 500 - 700 ppm

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณบีตา-แคโรทีน ในน้ำมันปาล์มดิบ โดยวิธี HPLC

การวิเคราะห์ด้วย HPLC เป็นวิธีการที่สามารถวิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดได้อย่างแม่นยำ โดยส่วนใหญ่การวิเคราะห์สารแคโรทีนอยด์ทั้งคุณภาพวิเคราะห์ และปริมาณวิเคราะห์นิยมใช้ C18 - bonded chains (ODS : Octadecyl group) เนื่องจากคอลัมน์ชนิดนี้สามารถแยกแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดออกจากกันได้ดี และรวดเร็ว (51, 63, 64)

สำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบสารแคโรทีนอยด์ในน้ำมันปาล์มดิบซึ่งมีแอลฟา-แคโรทีนและบีตา-แคโรทีนเป็นองค์ประกอบหลัก ดวงใจ ตั้งวงศ์เจริญกิจ (11) ได้วิเคราะห์ปริมาณบีตา-แคโรทีนในน้ำมันปาล์มดิบโดยใช้คอลัมน์ Shim-pack CLC-ODS ขนาด 150 x 6.0 มิลลิเมตร และใช้สารละลายตัวพาคือ อะซิโตไนไตรล์ : เมทานอล : ไดคลอโรมีเทน ในอัตราส่วน 55 : 30 : 15

พบว่า สามารถแยกแอลฟา-แคโรทีน และบีตา-แคโรทีนออกจากกันได้ดี ดังนั้น การวิเคราะห์บีตา-แคโรทีนโดยวิธี HPLC ในการทดลองนี้จึงใช้ภาวะที่รายงานโดย ดวงใจ ตั้งวงศ์เจริญกิจ (11)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณบีตา-แคโรทีนในน้ำมันปาล์มดิบ ดังแสดงในตารางที่ 4.1 (ลักษณะโครมาโตแกรมของบีตา-แคโรทีนที่ได้แสดงในภาคผนวก จ) พบว่า มีบีตา-แคโรทีนเท่ากับ 383 ppm หรือคิดเป็น 57 % ของปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันปาล์มดิบ ซึ่งผลการทดลองที่ได้ใกล้เคียงกับที่ Maclellan (7) รายงานไว้ว่าในน้ำมันปาล์มดิบมีบีตา-แคโรทีนเป็นองค์ประกอบประมาณ 62 % ของปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมด

อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC แม้สามารถแยกสารแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดออกจากกันได้ดี และให้ค่าความแม่นยำสูง แต่การวิเคราะห์ใช้เวลาค่อนข้างนาน ทำให้ไม่สะดวกต่อการวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมาก ดังนั้น การติดตามปริมาณบีตา-แคโรทีนในการทดลองขั้นต่อไปในงานวิจัยนี้ จึงใช้วิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตเมตรี ในการวิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดที่มีอยู่ในน้ำมันปาล์มดิบ เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการคาดการณ์ปริมาณบีตา-แคโรทีน เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็วกว่า จากนั้นเมื่อได้ภาวะในการสกัดแยกบีตา-แคโรทีนที่เหมาะสมแล้ว จึงใช้วิธี HPLC ในการวิเคราะห์ปริมาณบีตา-แคโรทีนต่อไป

ตารางที่ 4.1 ความเข้มข้นสารแคโรทีนอยด์ และบีตา-แคโรทีนในน้ำมันปาล์มดิบ

ความเข้มข้นแคโรทีนอยด์ [a] (ppm)	ความเข้มข้นบีตา-แคโรทีน [b] (ppm)	% บีตา-แคโรทีนเมื่อเทียบกับแคโรทีนอยด์ทั้งหมด
671 ± 8	383 ± 1	57

หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, จำนวนซ้ำเท่ากับ 3 ซ้ำ

a. วิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตเมตรี

b. วิเคราะห์ปริมาณบีตา-แคโรทีนด้วยวิธี HPLC

4.3 การสกัดแยกบีตา-แคโรทีน จากน้ำมันปาล์มดิบโดยการดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์

เนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นการสกัดบีตา-แคโรทีนจากน้ำมันปาล์มดิบ โดยมุ่งพิจารณาวิธีการที่คาดว่าก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มในโรงงานอุตสาหกรรมน้อยที่สุด ดังนั้น การนำตัวดูดซับมาใช้แยกสารแคโรทีนอยด์ออกจากน้ำมันปาล์มดิบแล้วชะออกด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม จึงเป็นวิธีการที่คาดว่าก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกระบวนการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรมน้อยที่สุด

จากการศึกษาของ Ong and Boey (46) และ Nnadozie et al. (48) พบว่า ผงถ่านกัมมันต์ที่ผ่านการบำบัดด้วยสารป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นสามารถดูดซับสารแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบได้ดี เนื่องจากไม่ทำให้สารแคโรทีนอยด์ภายหลังการดูดซับเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง นอกจากนี้ จากการศึกษาของดวงใจ ตั้งวงศ์เจริญกิจ (11) พบว่า การใช้โทลูอีนที่มี 2 % tween 80 มีประสิทธิภาพในการชะสารแคโรทีนอยด์ออกจากผงถ่านกัมมันต์ได้ดีที่สุด แต่การทดลองดังกล่าวไม่สามารถกำจัดโทลูอีนตกค้างออกจากสารสกัดแคโรทีนอยด์ได้หมด โดยยังมีโทลูอีนตกค้างถึง 9.89×10^4 ppm

ดังนั้น การทดลองนี้จึงศึกษาการดูดซับบีตา-แคโรทีนจากน้ำมันปาล์มดิบ ตามภาวะที่รายงานไว้โดย ดวงใจ ตั้งวงศ์เจริญกิจ (11) จากนั้นจึงศึกษาวิธีที่เหมาะสมในการกำจัดโทลูอีนออกจากสารสกัดแคโรทีนอยด์ต่อไป

ผลการทดลองดูดซับสารแคโรทีนอยด์ในน้ำมันปาล์มดิบด้วยผงถ่านกัมมันต์ชนิดละเอียดที่ผ่านการบำบัดด้วย 0.5 % บิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีนในภาวะที่เป็นด่าง ในอัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ 2.5 กรัม ต่อน้ำมันปาล์มดิบ 10 กรัม ทำการดูดซับที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และใช้โทลูอีนที่มี 2 % tween 80 เป็นตัวชะ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยทำการชะ 2 ครั้ง แต่ละครั้งใช้โทลูอีน 50 มิลลิลิตร พบว่า สามารถชะสารแคโรทีนอยด์ออกจากผงถ่านกัมมันต์ได้รวมทั้งสิ้น 59 % ของปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ถูกดูดซับอยู่บนผงถ่านกัมมันต์ ดังตารางที่ 4.2 และมีปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่เหลือในน้ำมันปาล์มหลังการดูดซับ 2 % ของปริมาณสารแคโรทีนอยด์ตั้งต้นในน้ำมันปาล์มดิบ

ตารางที่ 4.2 เปอร์เซนต์การชะสารแคโรทีนอยด์ออกจากผงถ่านกัมมันต์ด้วยโทลูอีนที่มี 2 % tween 80 ครั้งละ 50 มิลลิลิตร 2 ครั้ง

รอบที่ชะ	% สารแคโรทีนอยด์ที่ถูกชะออกมาจากผงถ่าน [a]
1	48
2	11
รวม	59

หมายเหตุ a. สารแคโรทีนอยด์ที่ถูกชะออกมาจากผงถ่านเปรียบเทียบกับปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่หายไปจากปริมาณตั้งต้นในน้ำมันปาล์มดิบ โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี ยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี, แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

เมื่อนำสารสกัดแคโรทีนอยด์ที่ได้ไประเหยโทลูอีนด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเร็วในการหมุน 100 รอบ/นาที แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์พบว่า มีสารแคโรทีนอยด์เข้มข้น 3,807 ppm ซึ่งคิดเป็นความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นจากน้ำมันปาล์มดิบตั้งต้นประมาณ 6 เท่า และมีบีตา-แคโรทีนเข้มข้น 1,671 ppm ซึ่งคิดเป็นปริมาณบีตา-แคโรทีนที่เข้มข้นเพิ่มขึ้นจากเดิมประมาณ 4 เท่า หรือคิดเป็น 44 % ของสารสกัดแคโรทีนอยด์ และมีปริมาณโทลูอีนตกค้างเท่ากับ 1.46×10^{5} ppm ดังตารางที่ 4.3 ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับดวงใจ ตั้งวงศ์เจริญกิจ (11) ที่ระบุไว้ว่า การระเหยโทลูอีนออกจากสารสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนไม่สามารถกำจัดโทลูอีนออกไปได้หมด เหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะโทลูอีนมีจุดเดือดสูงถึง 110 องศาเซลเซียส และจากลักษณะของสารสกัดแคโรทีนอยด์ที่ได้ยังคงมีน้ำมันปาล์มปนอยู่เล็กน้อย (ดังแสดงในรูปที่ 4.1) จึงอาจทำให้มีความหนืดยากต่อการระเหยโทลูอีนให้หมดได้

อย่างไรก็ตาม การใช้ประโยชน์บีตา-แคโรทีน ส่วนใหญ่นำไปใช้ในอุตสาหกรรมสีผสมอาหาร, วิตามินเสริม, ยาและเครื่องสำอาง (1) ดังนั้น การมีโทลูอีนตกค้างจึงทำให้ไม่สามารถนำสารสกัดแคโรทีนอยด์ดังกล่าวไปใช้ประโยชน์ได้ เนื่องจากโทลูอีนมีกลิ่นเหม็นคล้ายเบนซีน (16) และเป็นสารเคมีที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อตับและเลือดโดยตรง ลดความต้องการทางเพศ ลดการ

ตารางที่ 4.3 ความเข้มข้นสารแคโรทีนอยด์ บีตา-แคโรทีน และโทลูอีนตกค้างในน้ำมันปาล์มดิบ และในสารสกัดแคโรทีนอยด์

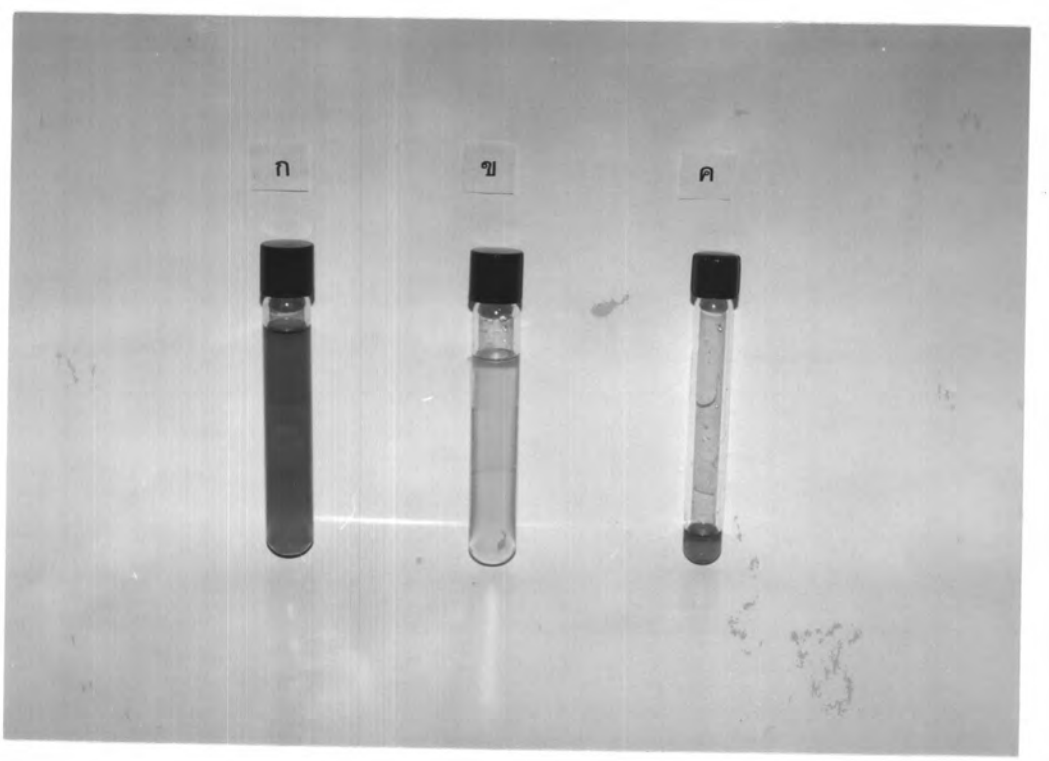
ชนิด	น้ำหนัก (กรัม)	สารแคโรทีนอยด์ [a] (ppm)	บีตา-แคโรทีน [b] (ppm)	โทลูอีนตกค้าง [c] x 10^5 (ppm)
น้ำมันปาล์มดิบ	5.01	671 ± 8	383 ± 1	-
สารสกัดแคโรทีนอยด์	0.5815	3,807 ± 352	1,671 ± 117	1.46 ± 0.09
% Recovery		35	23	-

หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, จำนวนซ้ำเท่ากับ 3 ซ้ำ

a. วิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี

b. วิเคราะห์ปริมาณสารบีตา-แคโรทีนด้วยวิธี HPLC

c. วิเคราะห์ปริมาณโทลูอีนตกค้างด้วยวิธี HPLC



รูปที่ 4.1 ภาพถ่ายลักษณะทางกายภาพของ ก. น้ำมันปาล์มดิบ
ข. น้ำมันปาล์มหลังการดูดซับ และ ค. สารสกัดแคโรทีนอยด์

เจริญเติบโตของทารกในครรภ์ เป็นต้น (65) ดังนั้น การทดลองในขั้นต่อไปจึงมุ่งหาวิธีที่เหมาะสมในการกำจัดโทลูอีนออกให้หมดเพื่อสามารถนำสารสกัดแคโรทีนอยด์ไปใช้ประโยชน์ได้ โดยทำการทดลองแบ่งเป็น 2 วิธีการใหญ่ ๆ คือ การสกัดสารแคโรทีนอยด์ออกจากผงถ่านกัมมันต์ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือจุดวิกฤติเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้โทลูอีน และการกำจัดโทลูอีนออกจากสารสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยวิธีการต่าง ๆ

4.4 การสกัดสารแคโรทีนอยด์ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือจุดวิกฤติ (Supercritical CO_2)

จากคุณสมบัติของของไหลเหนือจุดวิกฤติที่เคลื่อนที่ และแพร่กระจายได้ดี จึงสามารถเคลื่อนที่ผ่านเข้าไปในโครงสร้างที่มีรูพรุนได้ง่าย ซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด และภายหลังการสกัดเมื่อกลับเข้าสู่ภาวะปกติ ของไหลเหนือจุดวิกฤติจะคืนสู่สภาพก๊าซ จึงจะระเหยออกจากตัวถูกละลายได้ง่ายโดยไม่เหลือตกค้าง (52, 53)

ดังนั้น การทดลองนี้จึงทำการศึกษาการสกัดสารแคโรทีนอยด์ออกจากผงถ่านกัมมันต์ด้วยของไหลเหนือจุดวิกฤติ ทั้งนี้เพื่อเป็นการหลีกเลี่ยงขั้นตอนการชะด้วยโทลูอีน โดยของไหลเหนือจุดวิกฤติที่ใช้ คือ คาร์บอนไดออกไซด์ ได้ผลการทดลอง ดังนี้

4.4.1 ผลการแปรอุณหภูมิ และความดัน เป็นดังนี้

4.4.1.1 แปรอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดที่ 30, 60, 80 และ 140 องศาเซลเซียส ความดัน 4,000 psi พบว่า ไม่สามารถสกัดสารแคโรทีนอยด์ออกจากผงถ่านกัมมันต์ได้

4.4.1.2 แปรอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดที่ 30, 60, 80 และ 140 องศาเซลเซียส ความดัน 5,000 psi พบว่า ไม่สามารถสกัดสารแคโรทีนอยด์ออกจากผงถ่านกัมมันต์ได้

4.4.1.3 แปรอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดที่ 30, 60, 80 และ 140 องศาเซลเซียส ความดัน 6,000 psi พบว่า ไม่สามารถสกัดสารแคโรทีนอยด์ออกจากผงถ่านกัมมันต์ได้

4.4.2 ผลการแปรสารละลาย เป็นดังนี้

4.4.2.1 เมทานอล ในอัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ที่ดูดซับสารแคโรทีนอยด์ 2.5 กรัมต่อปริมาตรเมทานอล 2.5 มิลลิลิตร ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความดัน 6,000 psi และอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 6,000 psi พบว่า ทั้งสองภาวะไม่สามารถสกัดสารแคโรทีนอยด์ออกจากผงถ่านกัมมันต์ได้

4.4.2.2 เอทานอล ในอัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ที่ดูดซับสารแคโรทีนอยด์ 2.5 กรัมต่อปริมาตรเอทานอล 2.5 มิลลิลิตร ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความดัน 6,000

psi และอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 6,000 psi พบว่า ทั้งสองภาวะไม่สามารถสกัดสารแคโรทีนอยด์ออกจากผงถ่านกัมมันต์ได้

4.4.2.3 ไดคลอโรมีเทน ในอัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ที่ดูดซับสารแคโรทีนอยด์ 2.5 กรัม ต่อปริมาตรไดคลอโรมีเทน 2.5 มิลลิลิตร ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความดัน 6,000 psi และอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 6,000 psi พบว่า ทั้งสองภาวะไม่สามารถสกัดสารแคโรทีนอยด์ออกจากผงถ่านกัมมันต์ได้

4.4.3 ผลการแปรตัวทำละลายที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และ 4.5 พบว่า การใช้สารละลายที่มีการเติม 2 % tween 80 ในอัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ที่ดูดซับสารแคโรทีนอยด์ 2.5 กรัม ต่อปริมาตรตัวทำละลายที่มีการเติม 2 % tween 80 0.5 มิลลิลิตร สามารถสกัดสารแคโรทีนอยด์ออกจากผงถ่านกัมมันต์ได้เพียง 0.8 – 1.7 % โดยการสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 6,000 psi มีแนวโน้มสกัดได้ดีกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความดัน 6,000 psi (ตารางที่ 4.4) ดังนั้น การทดลองต่อไปจึงเพิ่มปริมาตรตัวทำละลายที่มีการเติม 2 % tween 80 ให้มากขึ้น แล้วทำการสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดัน 6,000 psi พบว่า ไดคลอโรมีเทนที่มีการเติม 2 % tween 80 ในอัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ที่ดูดซับสารแคโรทีนอยด์ 2.5 กรัม ต่อไดคลอโรมีเทน 2.5 กรัม สามารถสกัดสารแคโรทีนอยด์ออกจากผงถ่านกัมมันต์ได้สูงสุด 3.6 % (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.4 เปอร์เซนต์สารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการสกัดออกจากผงถ่านกัมมันต์ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือจุดวิกฤติ ที่อุณหภูมิ 60 และ 80 °C ความดัน 6,000 psi

ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด [a] ร่วมกับ CO_2	% สารแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากผงถ่านกัมมันต์ [b]	
	อุณหภูมิ 60 °C ความดัน 6,000 psi	อุณหภูมิ 80 °C ความดัน 6,000 psi
1. เอทานอลที่มีการเติม 2% tween 80	1.7	1.2
2. ไดคลอโรมีเทนที่มีการเติม 2% tween 80	0.8	1.7
3. เอทานอลและไดคลอโรมีเทนในอัตราส่วน 1: 1 โดยปริมาตร แล้วมีการเติม 2% tween 80	1.4	1.7

หมายเหตุ : a. ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดร่วมกับ CO_2 ใช้ในอัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ที่ดูดซับสารแคโรทีนอยด์ 2.5 กรัม ต่อตัวทำละลาย 0.5 มิลลิลิตร

b. % สารแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้เปรียบเทียบกับปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ถูกดูดซับบนผงถ่านกัมมันต์ โดยวิเคราะห์ด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี, แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางที่ 4.5 เปอร์เซนต์สารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการสกัดออกจากผงถ่านกัมมันต์ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือจุดวิกฤติ ที่อุณหภูมิ 80 °C ความดัน 6,000 psi

ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด [a] ร่วมกับ CO_2	% แคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากผงถ่านกัมมันต์ [b] ที่อุณหภูมิ 80 °C ความดัน 6,000 psi
1. เอทานอลที่มีการเติม 2 % tween 80	1.2
2. ไดคลอโรมีเทนที่มีการเติม 2 % tween 80	3.6
3. เอทานอลและไดคลอโรมีเทนในอัตราส่วน 1 : 1 โดยปริมาตร แล้วมีการเติม 2 % tween 80	3.4

หมายเหตุ : a. ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดร่วมกับ CO_2 ใช้ในอัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ที่ดูดซับสารแคโรทีนอยด์ 2.5 กรัม ต่อตัวทำละลาย 2.5 กรัม

b. % สารแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้เปรียบเทียบกับปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ถูกดูดซับบนผงถ่านกัมมันต์ โดยวิเคราะห์ด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี, แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ

ดังที่กล่าวไว้แล้วในบทที่ 2 แล้วว่า โดยทั่วไปการสกัดสารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหนือจุดวิกฤติที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความดัน 300 บาร์ หรือประมาณ 4,353 psi สามารถสกัดองค์ประกอบเกือบทั้งหมดรวมถึงรงควัตถุบางส่วนที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ธรรมชาติออกมาได้ และการใช้สารละลายในการสกัดร่วมกับคาร์บอนไดออกไซด์เหนือจุดวิกฤติจะช่วยให้การสกัดได้ดีขึ้น แต่จากผลการทดลองเห็นได้ว่า การใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือจุดวิกฤติร่วมกับไดคลอโรมีเทนในการสกัดสารแคโรทีนอยด์ออกจากผงถ่านกัมมันต์ ที่ความดัน 6,000 psi ซึ่งเป็นค่าความดันสูงสุดของเครื่อง Supercritical fluid extraction ที่ใช้ในการทดลองนี้ สามารถสกัดสารแคโรทีนอยด์ออกมาได้สูงสุด 3.6 % ของปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ถูกดูดซับบนผงถ่านกัมมันต์ ซึ่งเป็นปริมาณเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะกลไกการดูดซับสารแคโรทีนอยด์บนผงถ่านกัมมันต์เป็นการดูดซับที่สารแคโรทีนอยด์ไปเกาะติดบนผิวหน้าของผงถ่านกัมมันต์โดยอาศัยแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลเป็นแรงแวนเดอร์วาลส์ จึงอาจส่งผลให้ต้องใช้ความดันในการสกัดสูงกว่าที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้

4.5. การทำจัดน้ำมันในสารสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยปฏิกิริยาซาพอนนิฟิเคชั่น (Saponification)

ปฏิกิริยาซาพอนนิฟิเคชั่น หรือปฏิกิริยาทำให้เกิดสบู่ เป็นปฏิกิริยาของไขมันกับด่าง ทำให้เกิดเป็นสบู่ หรือเกลือของกรดไขมัน และกลีเซอรอล สำหรับสารแคโรทีนอยด์เป็นสารกลุ่มที่ไม่เกิดปฏิกิริยาซาพอนนิฟิเคชั่น (unsaponifiable matter) จึงสามารถแยกออกมาได้โดยการสกัดด้วยตัวทำละลาย นอกจากสารแคโรทีนอยด์แล้ว ในน้ำมันยังมีสารอื่นอีกหลายชนิดที่ไม่เกิดปฏิกิริยาซาพอนนิฟิเคชั่น เช่น สเตอรอล ไฮโดรคาร์บอน อะลิฟาติกแอลกอฮอล์โมเลกุลใหญ่ รวมถึงรงควัตถุอื่น ๆ ประมาณ 1 % (61, 66)

ในสภาพธรรมชาติของน้ำมันปาล์ม สารแคโรทีนอยด์ที่เกิดขึ้นจะอยู่รวมกับน้ำมัน การแยกสารแคโรทีนอยด์ออกจากน้ำมันจึงทำได้ยาก แม้กระทั่งการดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์ดังผลการทดลองที่ 4.3 สารสกัดแคโรทีนอยด์ที่ได้ก็ยังคงมีน้ำมันปาล์มตกค้าง ดังนั้น การทำปฏิกิริยาซาพอนนิฟิเคชั่นจึงเป็นการกำจัดน้ำมันปาล์มที่ตกค้างในสารสกัดแคโรทีนอยด์ เพื่อทำให้ได้สารแคโรทีนอยด์ที่ปราศจากน้ำมันปาล์มตกค้าง และมีความเข้มข้นมากขึ้น ซึ่งคาดว่าการนำไปกำจัดโทลูอีนออกในขั้นต่อไปจะกระทำได้ง่ายขึ้น

ผลการทำปฏิกิริยาซาพอนนิฟิเคชั่นตามวิธีในการทดลองที่ 3.2.5 ดังแสดงในตารางที่ 4.6 พบว่า มีสารแคโรทีนอยด์เท่ากับ 95,307 ppm หรือคิดเป็นความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น 22 เท่าเมื่อเทียบกับสารสกัดแคโรทีนอยด์ตั้งต้น มีบีตา-แคโรทีนเท่ากับ 53,615 ppm ซึ่งคิดเป็น 56 % ของสารสกัดแคโรทีนอยด์ทั้งหมดที่ได้จากปฏิกิริยาซาพอนนิฟิเคชั่น และเนื่องจากสารแคโรทีนอยด์ที่ได้ภายหลังทำปฏิกิริยาซาพอนนิฟิเคชั่นเหลือน้อยมาก อีกทั้งตัวอย่างที่ได้มีลักษณะสีแดง แห้งติดเป็นคราบก้นหลอดทดลอง (ดังภาพที่ 4.2) ดังนั้น การกำจัดโทลูอีนออกในขั้นต่อไปจึงนำตัวอย่างไปอบในตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณโทลูอีนตกค้าง ซึ่งผลการวิเคราะห์ดังกล่าว พบว่า ยังคงมีโทลูอีตกค้างเท่ากับ 3.67×10^4 ppm หรือคิดเป็น 15 % ของปริมาณโทลูอีนในสารสกัดแคโรทีนอยด์ตั้งต้น

ผลจากการทำปฏิกิริยาซาพอนนิฟิเคชั่นดังกล่าว พบว่า ได้สารแคโรทีนอยด์ที่มีความเข้มข้นสูงมาก อย่างไรก็ตาม มีเปอร์เซนต์ผลผลิตกลับคืนของสารแคโรทีนอยด์เพียง 20 % ของสารสกัดแคโรทีนอยด์ตั้งต้นเท่านั้น ทั้งนี้จากการสังเกตลักษณะสีของชั้นเฮกเซน และชั้นน้ำที่ได้จากการสกัดภายหลังผ่านปฏิกิริยา พบว่า ชั้นเฮกเซนมีลักษณะสีเหลืองใส ส่วนชั้นน้ำมีลักษณะขุ่นเล็กน้อยและมีสีเหลืองเข้มกว่าชั้นเฮกเซนมาก สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการทำปฏิกิริยาซาพอนนิฟิเคชั่นจะทำให้เกิดสบู่ ซึ่งจากลักษณะของสบู่มีทั้งส่วนที่ละลายได้ในน้ำ และส่วนที่ละลายได้ในไขมันอยู่ภายในโมเลกุลเดียวกัน ดังนั้นสบู่ที่เกิดขึ้นจึงอาจจับสารแคโรทีนอยด์เข้าไปละลายอยู่ในชั้นน้ำ จึงทำให้ไม่สามารถสกัดสารแคโรทีนอยด์ออกมาได้หมด นอกจากนี้ จากลักษณะสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารแคโรทีนอยด์ภายหลังผ่านปฏิกิริยาซาพอนนิฟิเคชั่น (ดังที่แสดงไว้ในภาคผนวก ก) พบว่า มีพีคใหม่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร ซึ่งแสดงว่าอาจมีสารแคโรทีนอยด์บางส่วนสลายตัว หรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไป

ตารางที่ 4.6 ความเข้มข้นสารแคโรทีนอยด์ บีตา-แคโรทีน และโทลูอีนตกค้างในสารสกัดแคโรทีนอยด์ก่อนและหลังทำปฏิกิริยาซาพอนนิฟิเคชั่น

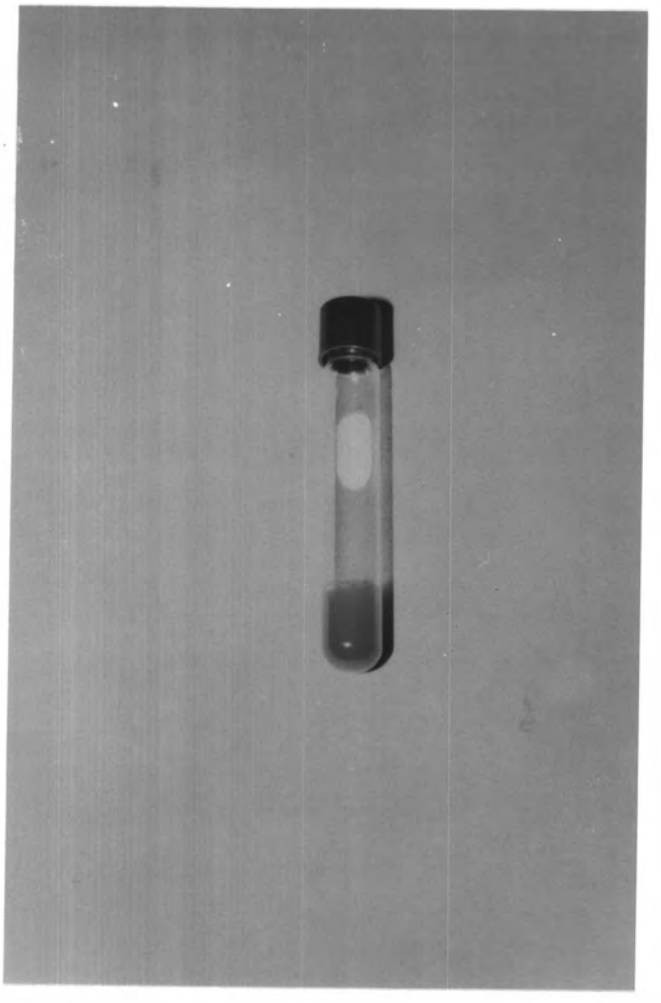
ชนิด	น้ำหนัก (กรัม)	สารแคโรทีนอยด์ [a] (ppm)	บีตา-แคโรทีน [b] (ppm)	โทลูอีนตกค้าง [c] $\times 10^5$ (ppm)
สารสกัดแคโรทีนอยด์ตั้งต้น	5.00	4,246 ± 189	2,115 ± 26	2.42 ± 0.08
สารสกัดแคโรทีนอยด์หลังทำปฏิกิริยาซาพอนนิฟิเคชั่น	0.0451	95,307 ± 1,166	53,615 ± 6,380	0.37 ± 0.08
% Recovery		20	23	-

หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, จำนวนซ้ำเท่ากับ 3 ซ้ำ

a. วิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี

b. วิเคราะห์ปริมาณสารบีตา-แคโรทีนด้วยวิธี HPLC

c. วิเคราะห์ปริมาณโทลูอีนตกค้างด้วยวิธี HPLC



รูปที่ 4.2 ภาพถ่ายลักษณะทางกายภาพของสารสกัดแคโรทีนอยด์
ภายหลังผ่านปฏิกิริยาซาพอนนิฟิเคชั่น

4.6 การกำจัดโทลูอีนในสารสกัดแคโรทีนอยด์โดยการกลั่นด้วยน้ำ (Hydrodistillation)

การกลั่นด้วยน้ำ (Hydrodistillation) เป็นวิธีที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการสกัดน้ำมันหอมระเหย การกลั่นด้วยน้ำแบ่งเป็น 3 วิธีใหญ่ คือ (67)

1. Direct steam distillation หรือ Steam distillation โดยผ่านไอน้ำที่ผลิตจากภายนอกเข้าไปในสารตัวอย่างโดยตรง
2. Water distillation โดยการให้สารตัวอย่างสัมผัสกับน้ำเดือดโดยตรง
3. Water and steam distillation เป็นเทคนิคที่ผสมผสานระหว่างวิธีที่ 1 และ 2 โดยการเติมน้ำลงไปที่ก้นถังกลั่น เพื่อให้น้ำเดือดและเกิดเป็นไอน้ำภายในถังกลั่น

โดยในระหว่างกระบวนการกลั่น น้ำและโทลูอีนจะฟอร์มตัวเป็นอะซีโอโทรบแล้วระเหยออกไปจากสารตัวอย่าง จึงคาดว่าวิธีการกลั่นด้วยน้ำดังกล่าวนี้ จะกำจัดโทลูอีนตกค้างออกจากสารสกัดแคโรทีนอยด์ได้ (อะซีโอโทรบ (azeotrope) คือ สารละลายผสมตั้งแต่ 2 ชนิด ที่มีสมบัติเหมือนสารบริสุทธิ์ มีจุดเดือด และสัดส่วนคงที่ (68))

สำหรับการทดลองนี้ ได้ทำการกลั่นสารสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยน้ำ 2 วิธี คือ Steam distillation และ Water distillation ผลการทดลองที่ได้เป็นดังนี้

4.6.1 การกลั่นไอน้ำ (Steam distillation)

จากการทดลองกลั่นโทลูอีนออกจากสารสกัดแคโรทีนอยด์ 5.0 กรัม ด้วยไอน้ำ โดยจัดชุดอุปกรณ์การกลั่นอย่างง่ายดังรูปที่ 3.1

ผลการทดลองที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 4.7 พบว่า การกลั่นด้วยไอน้ำเป็นเวลา 30 นาที มีปริมาณน้ำที่ถูกควบแน่นออกมาประมาณ 125 มิลลิลิตร มีสารแคโรทีนอยด์เหลืออยู่ 3,263 ppm ซึ่งไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมมากนัก แต่ยังคงมีโทลูอีนตกค้าง 1.16×10^5 ppm หรือคิดเป็น 40 % ของปริมาณโทลูอีนตั้งต้น

จากผลการทดลองเห็นได้ว่า การกลั่นไอน้ำไม่สามารถกำจัดโทลูอีนออกจากสารสกัดแคโรทีนอยด์ได้หมด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะระยะเวลาในการสัมผัสระหว่างไอน้ำ และโทลูอีนที่อยู่ในสารสกัดแคโรทีนอยด์น้อยเกินไป

ตารางที่ 4.7 ความเข้มข้นสารแคโรทีนอยด์ บีตา-แคโรทีน และโทลูอีนตกค้าง ภายหลังการกลั่นสารสกัดแคโรทีนอยด์ 5.0 กรัม ด้วยไอน้ำเป็นเวลา 30 นาที

ชนิด	น้ำหนัก (กรัม)	สารแคโรทีนอยด์ [a] (ppm)	โทลูอีนตกค้าง [b] x 10^5 (ppm)
สารสกัดแคโรทีนอยด์ตั้งต้น	5.02	3,243 ± 100	2.90 ± 0.61
สารสกัดแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการกลั่น	5.03	3,263 ± 45	1.16 ± 0.29
% Recovery		99	-

หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตฐาน, จำนวนซ้ำเท่ากับ 3 ซ้ำ

a. วิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตเมตรี

b. วิเคราะห์ปริมาณโทลูอีนตกค้างด้วยวิธี HPLC

4.6.2 การกลั่นด้วยน้ำโดยตรง (Water distillation)

จากการกลั่นโทลูอีนออกจากสารสกัดแคโรทีนอยด์ 5.0 กรัม ในอ่างน้ำมันร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 125 องศาเซลเซียส ทำการกลั่นในภาวะเปิดที่ความดันบรรยากาศ โดยมีการเติมน้ำลงไปในตัวอย่างสารสกัดโดยตรง ทำการแปรปริมาตรน้ำเป็น 2, 5, 10 และ 20 มิลลิลิตร ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.8, 4.9 รูปที่ 4.3 และ 4.4 พบว่า ปริมาตรน้ำที่ใช้ในการกลั่นที่เพิ่มมากขึ้นจะทำให้การสูญเสียสารแคโรทีนอยด์ที่คาดว่าเกิดจากความร้อนลดน้อยลง และทำให้กำจัดโทลูอีนออกจากสารตัวอย่างได้ดีขึ้น โดยการเติมน้ำปริมาตร 20 มิลลิลิตร หรือในอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อน้ำเท่ากับ 1 : 4 (w/v) สามารถกำจัดโทลูอีนออกจากสารสกัดแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุด โดยตรวจไม่พบสารโทลูอีนตกค้างที่ระยะเวลาการกลั่น 30 นาที

จากผลการทดลองเห็นได้ว่า การกลั่นโดยวิธีการเติมน้ำลงไปในสารตัวอย่างโดยตรงสามารถกำจัดโทลูอีนออกจากสารสกัดแคโรทีนอยด์ได้หมด ทั้งนี้เนื่องจากโทลูอีนสามารถเกิดอะซีโอโทรบกับน้ำได้ โดยมีอัตราส่วนเชิงโมลการเกิดอะซีโอโทรบของน้ำต่อโทลูอีนเท่ากับ 55.6 % (ดังภาคผนวก ช) ซึ่งคิดเป็นอัตราส่วนของน้ำ 1,001 มิลลิลิตร ต่อโทลูอีน 4,702 มิลลิลิตร หรือในอัตราส่วนประมาณ 1 ต่อ 5 แต่จากผลการทดลอง พบว่า ต้องใช้น้ำในการกลั่นปริมาณมากเกินพอจึงจะกำจัดโทลูอีนออกได้หมด สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะลักษณะสารสกัดแคโรทีนอยด์เมื่อผสมน้ำจะเกิดเป็น emulsion จึงอาจทำให้การสัมผัสระหว่างน้ำและโทลูอีนที่ละลายอยู่ในชั้นสารสกัดแคโรทีนอยด์เกิดขึ้นไม่ทั่วถึง ดังนั้น ในระหว่างที่อะซีโอโทรบของน้ำและโทลูอีนกลั่นตัวออกไปอาจมีน้ำบางส่วนถูกกลั่นตัวออกไปด้วย

อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองที่ได้เมื่อประเมินปริมาตรน้ำที่เหมาะสม พบว่า การเติมน้ำ 20 มิลลิลิตร หรือในอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อน้ำ เท่ากับ 1 : 4 (w/v) เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุด กล่าวคือ ใช้ระยะเวลาในการกลั่นน้อยที่สุด และมีปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่เหลือคิดเป็น 97 % ของปริมาณสารแคโรทีนอยด์ตั้งต้น ซึ่งเป็นปริมาณที่ไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมมากนัก ดังนั้น จึงนำภาวะดังกล่าวไปทำการทดลองระดับขยายส่วนต่อไป

จากการทดลองในระดับขยายส่วน โดยทำการทดลองกลั่นสารสกัดแคโรทีนอยด์ 100.0 กรัม ที่มีการเติมน้ำลงไปในตัวอย่าง 400 มิลลิลิตร ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.5 พบว่า ตรวจไม่พบโทลูอีนตกค้างที่ระยะเวลาในการกลั่นนาน 7 ชั่วโมง โดยยังคงมีสารแคโรทีนอยด์เหลืออยู่เท่ากับ 3,758 ppm คิดเป็น 89 % ของปริมาณสารแคโรทีนอยด์เข้มข้นตั้งต้น และมีบีตา-แคโรทีน เหลืออยู่เท่ากับ 1,484 ppm คิดเป็น 46 % ของปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดที่เหลืออยู่

ตารางที่ 4.8 ความเข้มข้นสารแคโรทีนอยด์ที่เหลือจากการกลั่นสารสกัดแคโรทีนอยด์ 5.0 กรัม โดยการเติมน้ำปริมาตรต่าง ๆ กลั่นในอ่างน้ำมันร้อนที่อุณหภูมิ 125 °C และวิเคราะห์โดยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตเมตรี

ปริมาตรน้ำ (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นแคโรทีนอยด์ภายหลังการกลั่นที่เวลาต่าง ๆ (ppm)						
	5 นาที	15 นาที	30 นาที	45 นาที	60 นาที	90 นาที	120 นาที
2	nd	2,175 ± 89	1,486 ± 91	1,286 ± 96	nd	nd	nd
5	2,591 ± 159	2,227 ± 114	2,000 ± 85	1,664 ± 125	1,200 ± 68	509 ± 25	161 ± 25
10	3,203 ± 79	3,151 ± 45	2,843 ± 46	1,745 ± 72	1,291 ± 49	721 ± 26	420 ± 44
20	3,225 ± 132	3,133 ± 79	3,061 ± 97	3,065 ± 126	3,038 ± 45	2,611 ± 80	2,002 ± 17

หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, จำนวนซ้ำเท่ากับ 3 ซ้ำ

nd หมายถึง not detected

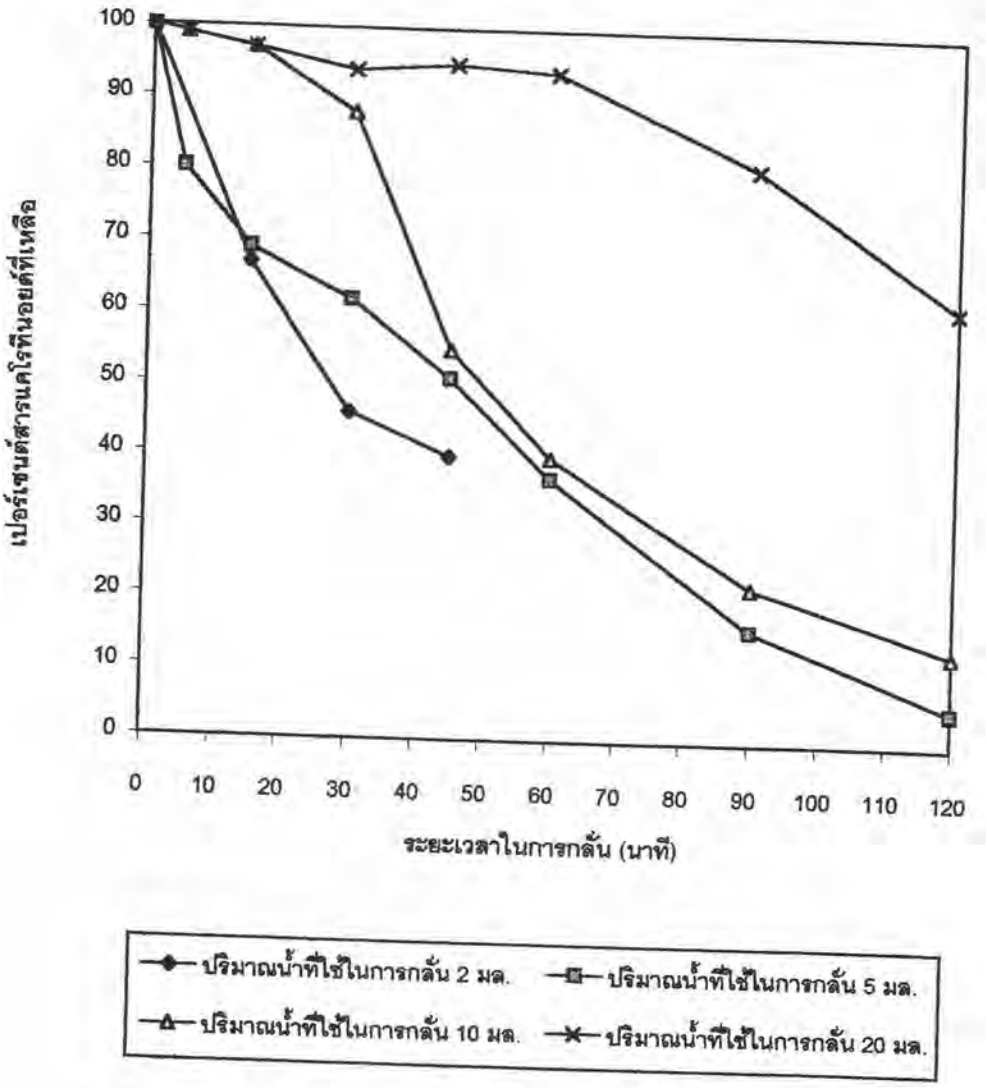
ตารางที่ 4.9 ความเข้มข้นโทลูอีนที่เหลือจากการกลั่นสารสกัดแคโรทีนอยด์ 5.0 กรัม โดยการเติมน้ำปริมาตรต่าง ๆ กลั่นในอ่างน้ำมันร้อนที่อุณหภูมิ 125 °C และวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC

ปริมาตรน้ำ (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นโทลูอีนภายหลังการกลั่นที่เวลาต่าง ๆ x 10^{4} (ppm)						
	5 นาที	15 นาที	30 นาที	45 นาที	60 นาที	90 นาที	120 นาที
2	nd	15.74 ± 0.07	14.38 ± 0.18	14.28 ± 0.03	nd	nd	nd
5	22.22 ± 0.27	16.78 ± 0.18	9.43 ± 0.40	7.37 ± 0.34	4.77 ± 1.43	3.17 ± 0.21	0
10	15.22 ± 0.32	9.30 ± 4.18	7.46 ± 0.53	5.72 ± 1.00	0	0	0
20	8.43 ± 1.87	4.38 ± 1.36	0	0	0	0	0

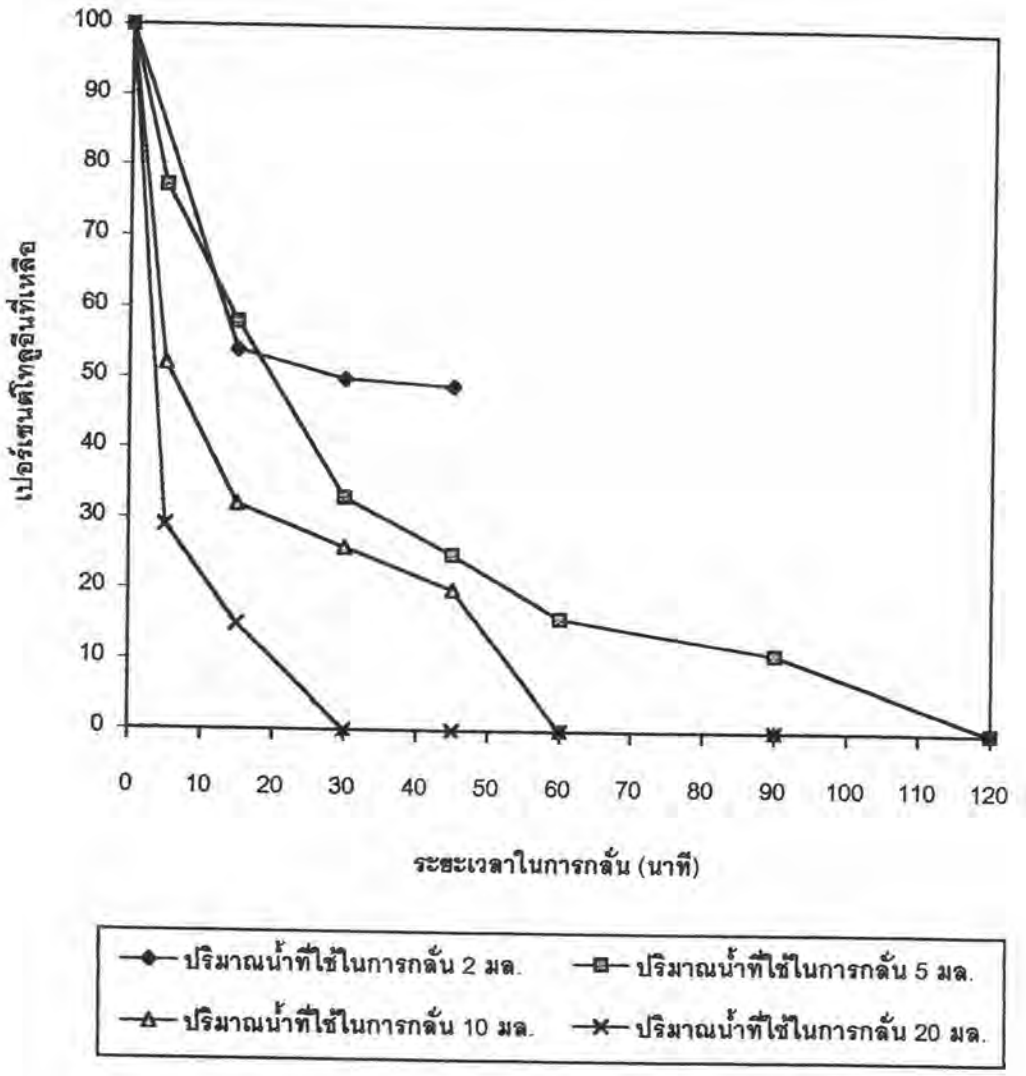
หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, จำนวนซ้ำเท่ากับ 3 ซ้ำ

nd หมายถึง not detected

รูปที่ 4.3 เปอร์เซนต์สารแคโรทีนอยด์ที่เหลือจากการกลั่นสารสกัดแคโรทีนอยด์ 5.0 กรัม โดยการเติมน้ำปริมาตรต่าง ๆ กลั่นในอ่างน้ำมันร้อนที่อุณหภูมิ 125 °C



รูปที่ 4.4 เปอร์เซนต์โทลูอีนที่เหลือจากการกลั่นสารสกัดแคโรทีนอยด์ 5.0 กรัม โดยเติมน้ำปริมาตรต่าง ๆ กลั่นในอ่างน้ำมันร้อนที่อุณหภูมิ 125 °C



ตารางที่ 4.10 ความเข้มข้นของสารแคโรทีนอยด์ และโทลูอีนที่เหลือจากการกลั่นสารสกัดแคโรทีนอยด์ 100.0 กรัม โดยการเติมน้ำ 400 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 125 °C

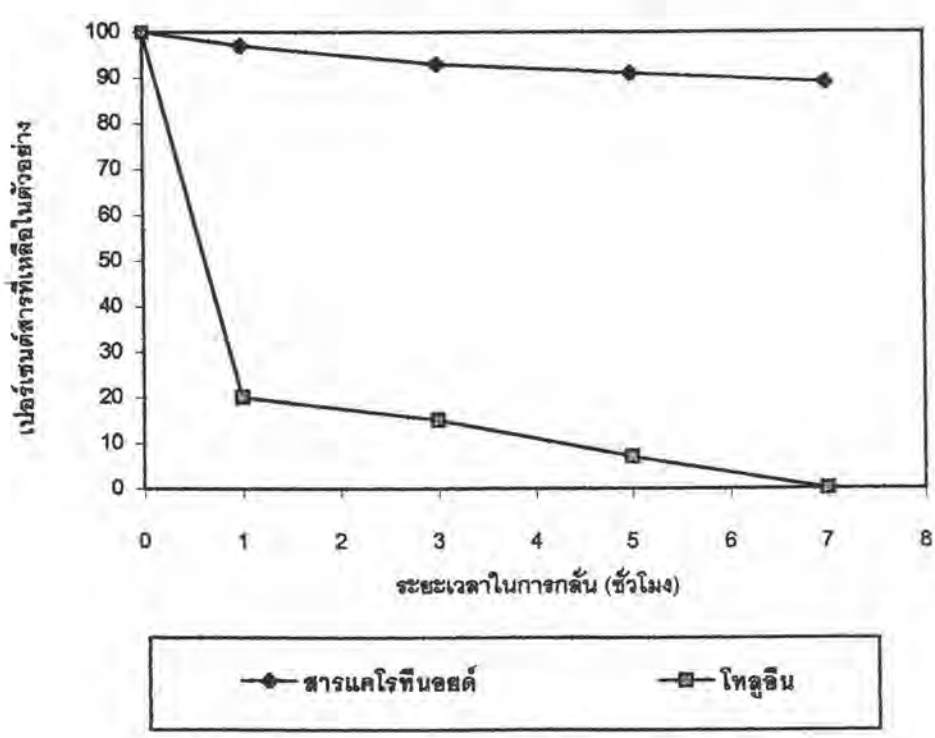
เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นแคโรทีนอยด์ [a] (ppm)	ความเข้มข้นโทลูอีน [b] x 10^4 (ppm)
0	4,246 ± 189	24.27 ± 0.08
1	4,119 ± 61	4.88 ± 0.51
3	3,935 ± 61	3.63 ± 0.49
5	3,865 ± 60	1.68 ± 0.13
7	3,758 ± 102	0

หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, จำนวนซ้ำเท่ากับ 3 ซ้ำ

a. วิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ด้วยวิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตเมตรี

b. วิเคราะห์ปริมาณโทลูอีนด้วยวิธี HPLC

รูปที่ 4.5 เปอร์เซนต์สารแคโรทีนอยด์ และโทลูอีนที่เหลือในตัวอย่างที่ได้จากการกลั่นสารสกัดแคโรทีนอยด์ 100.0 กรัม โดยการเติมน้ำ 400 มิลลิลิตร กลั่นที่อุณหภูมิ 125 °C



จากผลการทดลองเห็นได้ว่า การกลั่นสารสกัดแคโรทีนอยด์ปริมาณมากขึ้น จะต้องใช้ระยะเวลาในการกลั่นนานมากยิ่งขึ้น สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะการกลั่นสารตัวอย่างปริมาณมาก จะต้องใช้อุปกรณ์การกลั่นขนาดใหญ่ขึ้น จึงอาจทำให้อุปกรณ์การกลั่นสัมผัสความร้อนได้ไม่ทั่วถึง ซึ่งจะส่งผลทำให้การกระจายความร้อนสู่สารตัวอย่างเกิดขึ้นได้ไม่ดีเพียงพอ (ดังรูปที่ 4.6ก) อีกทั้งทำให้พื้นที่ผิวสัมผัสการระเหยลดลง (ดังรูปที่ 4.6ข) อย่างไรก็ตาม แนวทางแก้ไขปัญหาดังกล่าวอาจทำได้โดยการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสการระเหย หรือการลดความดัน เป็นต้น

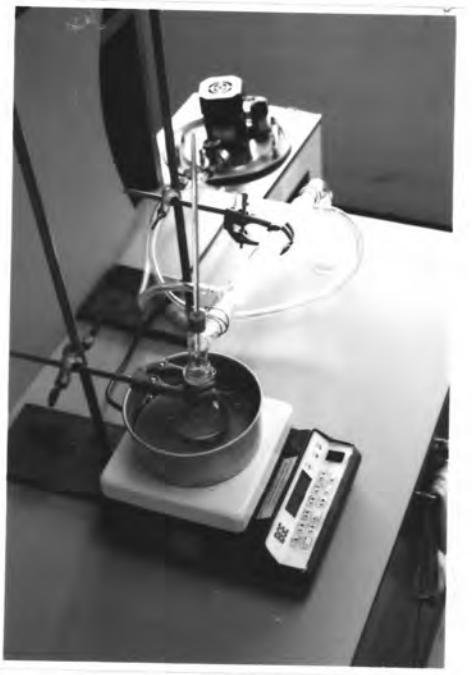
4.6.3 การระเหยสารอะซีโอโทรบของน้ำและโทลูอีนด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน

นอกเหนือจากวิธีกลั่นด้วยน้ำโดยตรงในระบบเปิดที่ความดันบรรยากาศ ดังผลการทดลองที่ 4.6.2 แล้ว ได้ทดลองนำตัวอย่างสารสกัดแคโรทีนอยด์ 5.0 กรัม ที่เติมน้ำ 20 มิลลิลิตร ไประเหยโดยใช้ระบบเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเร็วในการหมุน 100 รอบ/นาที ทั้งนี้เพื่อลดระยะเวลาในการกลั่น ผลการทดลองที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.7 พบว่า สามารถระเหยน้ำออกได้หมดที่เวลา 15 นาที มีความเข้มข้นของสารแคโรทีนอยด์ที่เหลืออยู่เท่ากับ 4,084 ppm ซึ่งคิดเป็น 96 % ของสารสกัดแคโรทีนอยด์ และตรวจไม่พบโทลูอีนตกค้าง

และเมื่อนำภาวะดังกล่าวไปทำการขยายส่วน โดยใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์ 100.0 กรัม ที่เติมน้ำ 400 มิลลิลิตร นำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน ผลการทดลองดังตารางที่ 4.12 และรูปที่ 4.8 พบว่า ปริมาณน้ำถูกระเหยออกไปหมดที่ระยะเวลาในการระเหย 1 ชั่วโมง โดยมีสารแคโรทีนอยด์เหลืออยู่ 4,094 ppm ซึ่งคิดเป็น 96 % ของสารสกัดแคโรทีนอยด์ตั้งต้น แต่ไม่สามารถกำจัดโทลูอีนออกจากสารสกัดแคโรทีนอยด์ได้หมด โดยยังคงมีโทลูอีนตกค้าง 1.51×10^4 ppm หรือคิดเป็น 6 % ของโทลูอีนเริ่มต้น อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการเติมน้ำเพิ่ม 400 มิลลิลิตร แล้วนำไประเหยซ้ำอีกเป็นเวลา 60 นาที ผลการทดลองพบว่า ตรวจไม่พบโทลูอีนตกค้าง และยังมีสารแคโรทีนอยด์เหลืออยู่ 4,003 ppm หรือคิดเป็น 94 % ของสารสกัดแคโรทีนอยด์ตั้งต้น และมีบีตา-แคโรทีนเหลืออยู่ 2,147 ppm คิดเป็น 54 % ของสารสกัดแคโรทีนอยด์หลังการกลั่น

ผลจากการทดลองพบว่า การระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน เป็นการระเหยภายใต้ภาวะความดันต่ำ จึงช่วยลดระยะเวลาในการกลั่น และลดเปอร์เซนต์การสูญเสียสารแคโรทีนอยด์ได้ นอกจากนี้ เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนยังมีการหมุนของขวดบรรจุสารตัวอย่างซึ่งเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสการระเหยได้โดยทางอ้อม อย่างไรก็ตาม พื้นที่ผิวสัมผัสการระเหยที่เพิ่มขึ้นนี้อาจยังไม่มากเพียงพอในการกำจัดโทลูอีนออกจากสารสกัดแคโรทีนอยด์ปริมาณ

1. อุปกรณ์การกลั่นตัวอย่าง 100 กรัม



2. อุปกรณ์การกลั่นตัวอย่าง 5 กรัม

ก. เปรียบเทียบชุดอุปกรณ์การกลั่น

ข. เปรียบเทียบพื้นที่ผิวสัมผัสการระเหย

รูปที่ 4.6 ภาพถ่ายเปรียบเทียบการกลั่นสารสกัดแคโรทีนอยด์ 100.0 กรัม และ 5.0 กรัม

ตารางที่ 4.11 ความเข้มข้นสารแคโรทีนอยด์ และโทลูอีนที่เหลือจากการระเหยสารสกัดแคโรทีนอยด์ 5.0 กรัม ที่เติมน้ำ 20 มิลลิลิตรด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 60 °C ความเร็วในการหมุน 100 รอบ/นาที

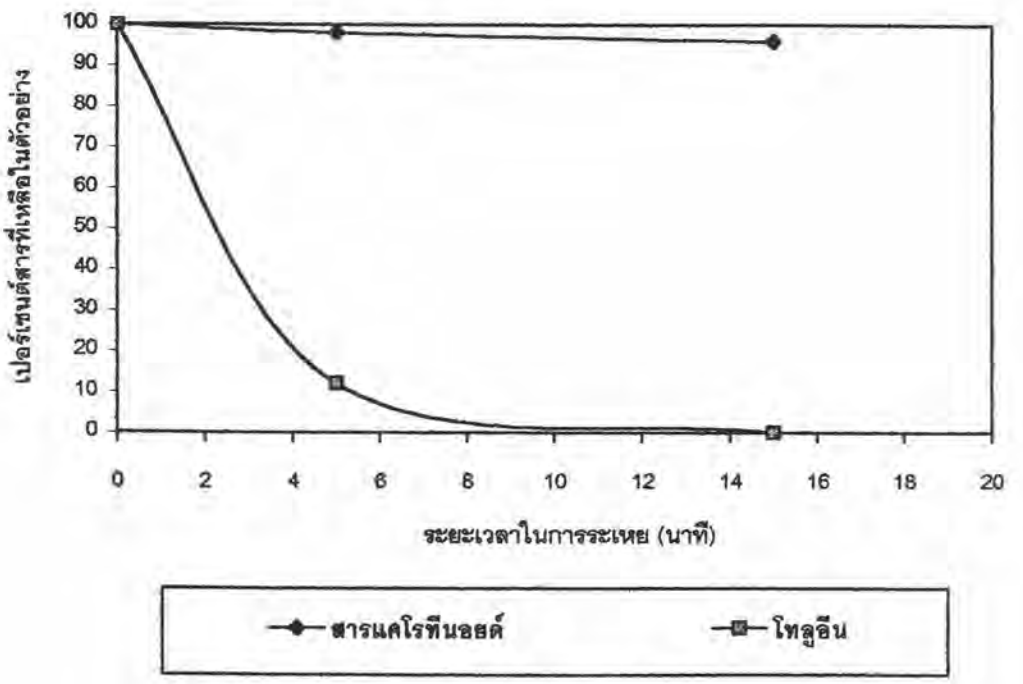
เวลา (นาที)	ความเข้มข้นแคโรทีนอยด์ [a] (ppm)	ความเข้มข้นโทลูอีน [b] x 10^{4} (ppm)
0	4,246 $\pm$ 189	24.27 $\pm$ 0.08
5	4,157 $\pm$ 92	2.88 $\pm$ 0.43
15	4,084 $\pm$ 57	0

หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, จำนวนซ้ำเท่ากับ 3 ซ้ำ

a. ปริมาณแคโรทีนอยด์วิเคราะห์ด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี

b. ปริมาณโทลูอีนวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC

รูปที่ 4.7 เปอร์เซนต์สารแคโรทีนอยด์ และโทลูอีนที่เหลือจากการระเหยสารสกัดแคโรทีนอยด์ 5.0 กรัม ที่เติมน้ำ 20 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน อุณหภูมิ 60 °C ความเร็วในการหมุน 100 รอบ/นาที



ตารางที่ 4.12 ความเข้มข้นสารแคโรทีนอยด์ และโทลูอีนที่เหลือจากการระเหยสารสกัดแคโรทีนอยด์ 100.0 กรัม ที่เติมน้ำ 400 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 60 °C ความเร็วในการหมุน 100 รอบ/นาที

เวลา (นาที)	ความเข้มข้นสารแคโรทีนอยด์ [a] (ppm)	ความเข้มข้นโทลูอีน [b] x 10^4 (ppm)
0	4,246 ± 189	24.27 ± 0.08
15	4,209 ± 135	6.39 ± 0.02
30	4,192 ± 14	2.79 ± 0.66
60	4,094 ± 556	1.51 ± 0.05
60 [c]	4,003 ± 72	0

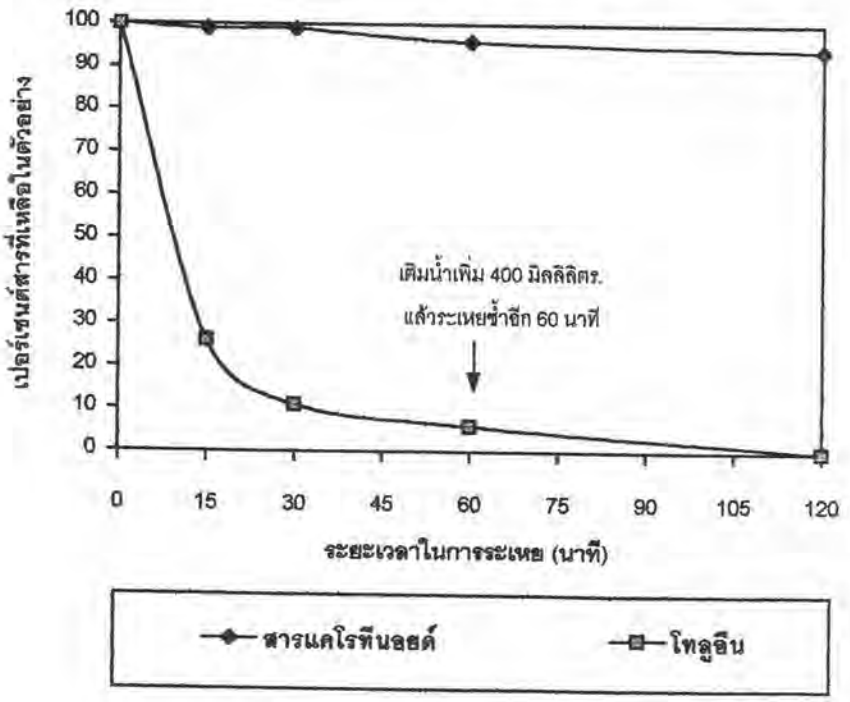
หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, จำนวนซ้ำเท่ากับ 3 ซ้ำ

a. ปริมาณแคโรทีนอยด์วิเคราะห์โดยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี

b. ปริมาณโทลูอีนวิเคราะห์โดยวิธี HPLC

c. เติมน้ำเพิ่ม 400 มิลลิลิตร แล้วระเหยซ้ำ 60 นาที

รูปที่ 4.8 เปอร์เซนต์สารแคโรทีนอยด์ และโทลูอีนที่เหลือจากการระเหยสารสกัดแคโรทีนอยด์ 100.0 กรัม ที่เติมน้ำ 400 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน อุณหภูมิ 60 °C ความเร็วในการหมุน 100 รอบ/นาที



100 กรัม ได้หมดในการระเหยเพียงครั้งเดียว ทำให้ต้องมีการเติมน้ำเพิ่มอีก 400 มิลลิลิตร แล้วทำการระเหยซ้ำ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า การระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนมีความเหมาะสมในการกำจัดโทลูอีนตกค้างออกจากตัวอย่างสารสกัดแคโรทีนอยด์ปริมาณน้อย ๆ แต่ไม่มีความเหมาะสมในการกำจัดโทลูอีนตกค้างออกจากตัวอย่างสารสกัดแคโรทีนอยด์ปริมาณมาก ๆ ทั้งนี้เนื่องจากพื้นที่ผิวสัมผัสการระเหยยังไม่มากเพียงพอนั่นเอง (พื้นที่ผิวสัมผัสการระเหยของเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนแสดงดังรูปที่ 4.9) อย่างไรก็ตาม แนวทางแก้ปัญหาในการกำจัดโทลูอีนตกค้างออกจากสารสกัดแคโรทีนอยด์ปริมาณมาก ๆ อาจทำได้โดยการใช้เครื่องมือที่มีการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสการระเหยได้มาก เช่น Thin film evaporator เป็นต้น

ก. สารสกัดแคโรทีนอยด์ 5.0 กรัม

ข. สารสกัดแคโรทีนอยด์ 100.0 กรัม

รูปที่ 4.9 ภาพถ่ายเปรียบเทียบพื้นที่ผิวสัมผัสการระเหยของ
การระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน