บทที่ 6

ผลการทดลอง เรื่องการสกัดสตีรีโอไซด์จากหญ้าหวาน โดยใช้ไดอีอกเซนเป็นตัวทำละลาย

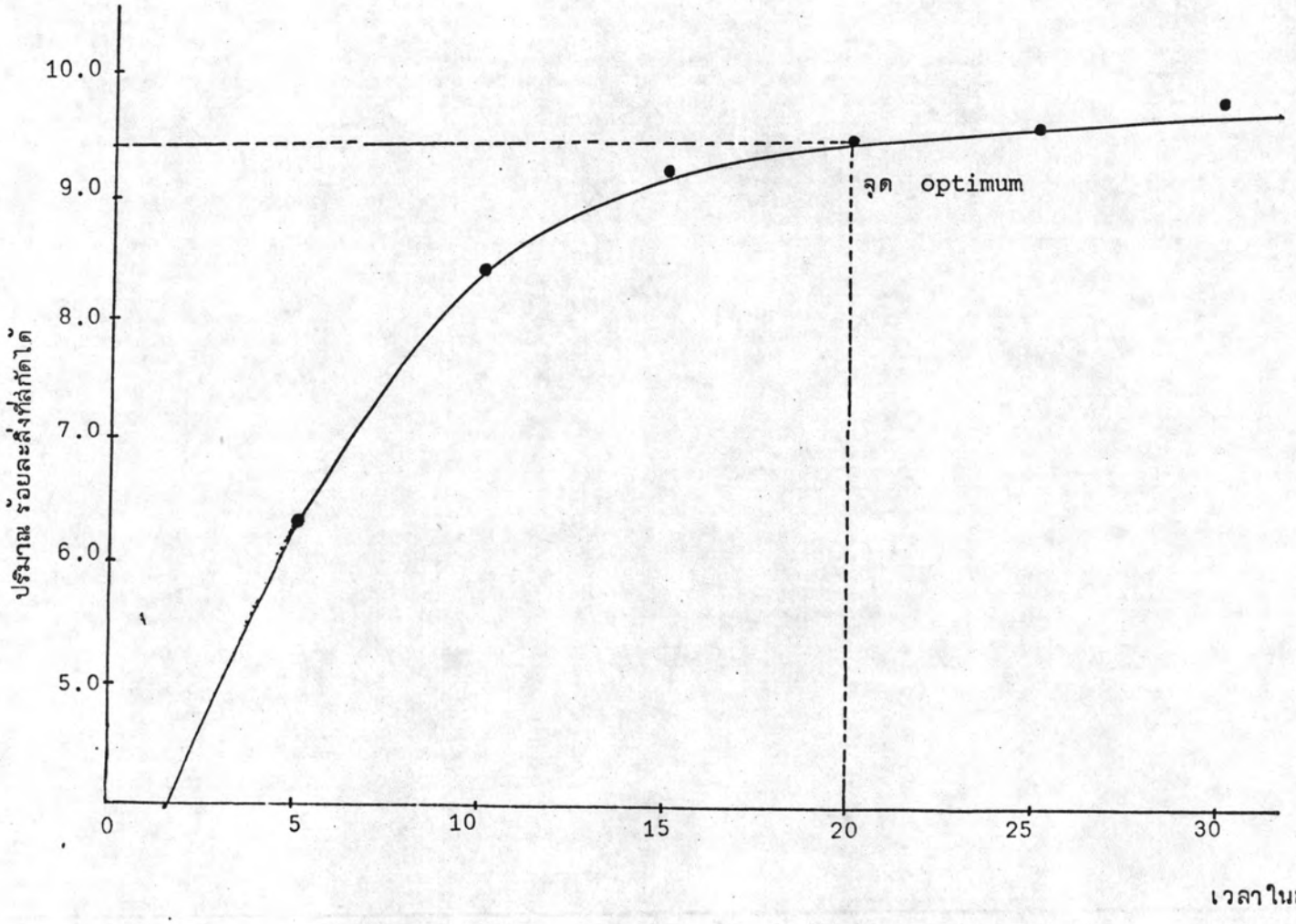
6.1 การสกัดไขมันจากหญ้าหวาน ด้วยวิธี Soxhlet โดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย

6.1.1 ผลของเวลาที่เหมาะสมในการสกัดไขมันจากหญ้าหวาน โดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย

การสกัดไขมันจากหญ้าหวาน โดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย คลอโรฟอร์มนอกจากจะสกัดไขมันแล้วยังสกัดสิ่งเจือปนอื่น ๆที่เป็น Non-Polarและสารที่ทำให้เกิดสี เช่น คลอโรฟิลล์ ในการสกัดใช้เครื่อง Soxhlet Extractor ขนาดเล็กมีอัตราการไซฟอน 3 ครั้ง/ชั่วโมง ทำการสกัดหาเวลาที่เหมาะสมจะได้ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 6.1 และรูปที่ 6.1

ตารางที่ 6.1 แสดงน้ำหนักสิ่งที่สกัดได้และปริมาณร้อยละของสิ่งที่สกัดได้ โดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลายที่เวลาต่าง ๆ กัน โดยทำการสกัดด้วยเครื่อง Soxhlet Extractor

เวลาในการสกัด (ชม.)	หญ้าหวานที่ใช้ (กรัม)	น้ำหนักที่สกัดได้ด้วยคลอโรฟอร์ม (กรัม)	ปริมาณร้อยละของสิ่งที่สกัดได้ด้วยคลอโรฟอร์ม
5	20	1.27	6.4
10	20	1.69	8.5
15	20	1.85	9.3
20	20	1.90	9.5
25	20	1.92	9.6
30	20	1.96	9.8



รูปที่ 6.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณร้อยละสิ่งที่ล้างได้กับเวลาในการล้างไขมันด้วยคลอโรฟอร์ม

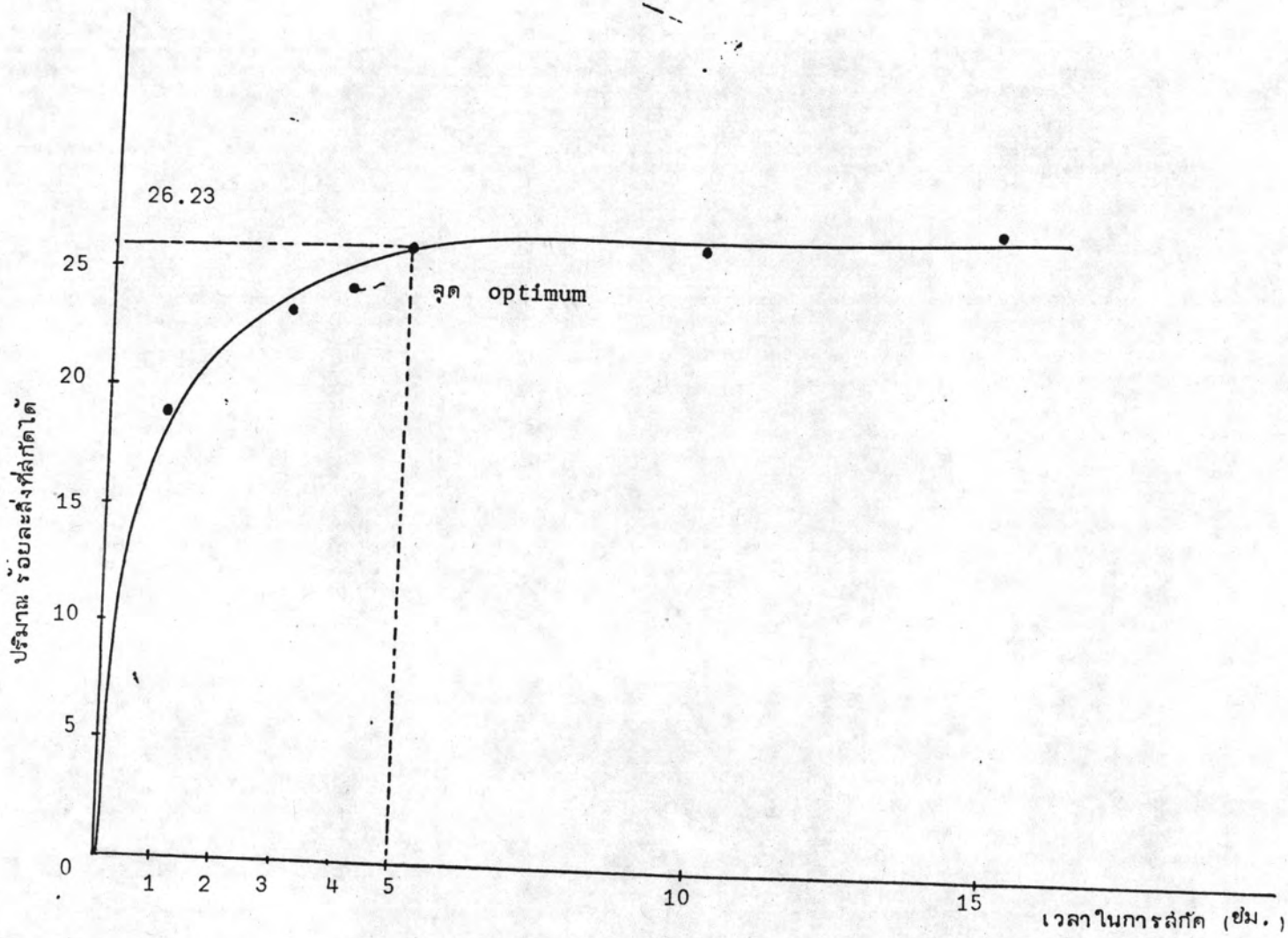
6.2 การสกัดสตีรีโอไซด์จากหญ้าหวาน ด้วยวิธี Soxhlet โดยใช้ไดอ๊อกเซนเป็นตัวทำละลาย

6.2.1 ผลของเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสตีรีโอไซด์จากหญ้าหวาน โดยใช้ไดอ๊อกเซนเป็นตัวทำละลาย

การสกัดสตีรีโอไซด์จากหญ้าหวาน โดยใช้ไดอ๊อกเซนเป็นตัวทำละลาย ไดอ๊อกเซนจะทำหน้าที่สกัดสตีรีโอไซด์ ในการสกัดใช้เครื่อง Soxhlet Extractor ขนาดเล็ก มีอัตราการไซฟอน 3 ครั้ง / ชั่วโมง ทำการสกัดหาเวลาที่เหมาะสมจะได้ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 6.2 และรูปที่ 6.2

ตารางที่ 6.2 แสดงน้ำหนักสิ่งที่สกัดได้และปริมาณร้อยละของสิ่งที่สกัดได้ โดยใช้ไดอ๊อกเซนเป็นตัวทำละลายที่เวลาต่าง ๆ กัน โดยทำการสกัดด้วยเครื่อง Soxhlet Extractor

เวลาในการสกัด (ชม.)	หญ้าหวานที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มแล้ว (กรัม)	น้ำหนักที่สกัดได้ด้วยไดอ๊อกเซน (กรัม)	ปริมาณร้อยละของสิ่งที่สกัดได้ด้วยไดอ๊อกเซน
1	20	3.77	18.9
2	20	4.38	21.9
3	20	4.67	23.4
4	20	4.83	24.2
5	20	5.25	26.2
10	20	5.25	26.3
15	20	5.48	27.4



รูปที่ 6.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ ร้อยละของสิ่งที่สกัดได้ กับเวลาในการสกัดสตีวิโอไซด์ด้วยไดอ๊อกเซน

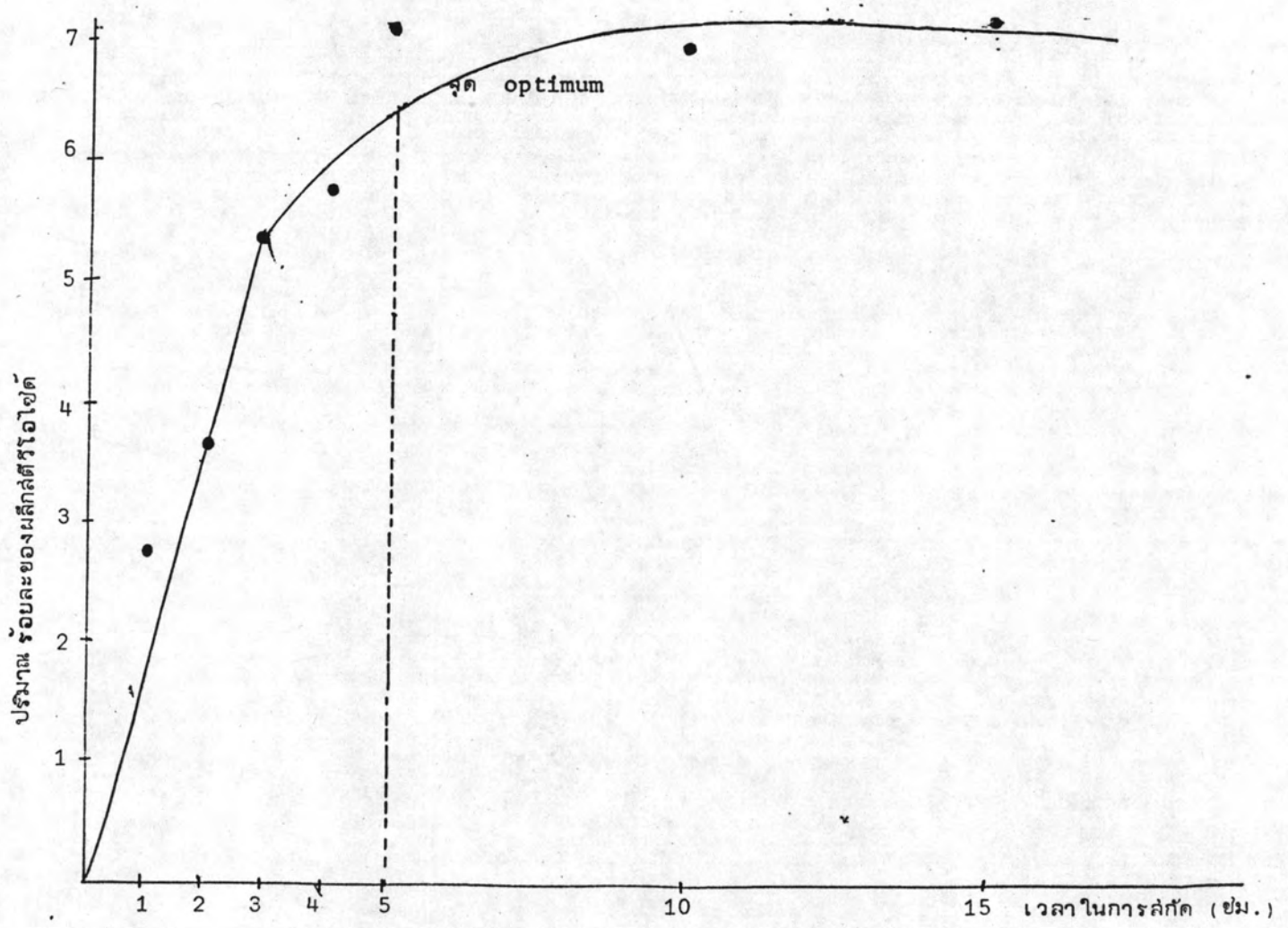
6.3 ผลการทดลองการตกผลึกสีตีวีโอไซด์ในเมธานอล

สิ่งที่สกัดได้ด้วยไดอีอกเซน นำมาตกผลึกในเมธานอล โดยเติมเมธานอลครั้งละ 5 มิลลิลิตร ต้มในอ่างน้ำร้อน เติมจนกระทั่งสิ่งที่สกัดได้ละลายได้หมดในขณะร้อน ซึ่งเป็นวิธีทางเคมีทั่ว ๆ ไปในการตกผลึก เมธานอลที่ใช้ในการตกผลึกประมาณ 25 มิลลิลิตร เสร็จแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 28° เซลเซียสก็จะได้ผลึกสีตีวีโอไซด์เกิดขึ้น ลักษณะผลึกจะเป็นผงละเอียดสีน้ำตาลอมเหลือง เมื่อล้างผลึกด้วยเมธานอลเย็น ผลึกจะสะอาดขึ้นมีสีเหลืองอมเขียวอ่อน ๆ นำผลึกที่ได้ไปอบแห้งจนน้ำหนักคงที่จะได้ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 6.3 และรูปที่ 6.3

ตารางที่ 6.3 แสดงน้ำหนักผลึกสีตีวีโอไซด์และปริมาณร้อยละของผลึกสีตีวีโอไซด์ โดยตกผลึกด้วยเมธานอล จากสิ่งที่สกัดได้ด้วยไดอีอกเซนที่เวลาต่าง ๆ กัน

เวลาในการสกัดด้วยไดอีอกเซน (ชม.)	น้ำหนักสิ่งที่สกัดได้ด้วยไดอีอกเซน (กรัม)	น้ำหนักผลึกสีตีวีโอไซด์ (กรัม)	ปริมาณร้อยละของผลึกสีตีวีโอไซด์ *
1	3.77	0.55	2.8
2	4.38	0.73	3.7
3	4.67	1.08	5.4
4	4.83	1.15	5.8
5	5.25	1.44	7.2
10	5.25	1.38	6.9
15	5.48	1.43	7.1

* ปริมาณร้อยละของผลึกสีตีวีโอไซด์ เทียบจากหญ้าหวานที่สกัดไขมันด้วยคลอโรฟอร์มแล้ว 20 กรัม



รูปที่ 6.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ ร้อยละของผลึกสตีรีโอไซด์ กับเวลาในการสกัดสตีรีโอไซด์ด้วยไดอ๊อกเซน

6.4 ผลการทดลองกระบวนการสกัดสตีวีโอไซด์จากหญ้าหวาน โดยใช้ไดอ๊อกเซนเป็นตัวทำละลาย

จากรูปที่ 4.1 แผนภาพแสดงกระบวนการสกัดสตีวีโอไซด์จากหญ้าหวาน โดยใช้ไดอ๊อกเซนเป็นตัวทำละลายจะแบ่งกระบวนการแยก ได้หลายกระบวนการ และได้ ผลการทดลองดังนี้

6.4.1 หน่วยบด หญ้าหวานที่ได้บดด้วยเครื่อง Cutter Mill ให้เป็นผงละเอียด ปริมาณการใช้ในแต่ละครั้ง 1 กิโลกรัม

6.4.2 หน่วยสกัดไขมันด้วยคลอโรฟอร์ม (Chloroform Extraction)

หญ้าหวานที่ใช้	1 กิโลกรัม
สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม	10 ลิตร
เวลาในการสกัด	30 ชั่วโมง
อัตราการไซฟอนใน Soxhlet ขนาดใหญ่	2 ครั้ง/ชั่วโมง
จำนวนครั้งในการไซฟอนใน Soxhlet ขนาดใหญ่	60 ครั้ง

ซึ่งจากผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสม ในการสกัดด้วยคลอโรฟอร์มใน Soxhlet ขนาดเล็ก จากข้อ 6.4.1 เวลาที่เหมาะสมใน Soxhlet ขนาดเล็ก 20 ชั่วโมง มีอัตราการไซฟอน จำนวนครั้งในการไซฟอน 60 ครั้ง ทำการทดลอง 2 ครั้ง ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 6.4

ตารางที่ 6.4 น้ำหนักของสิ่งที่สกัดได้ และ ปริมาณร้อยละของสิ่งที่สกัดได้ด้วยคลอโรฟอร์ม

ครั้งที่ของการทดลอง	น้ำหนักของสิ่งที่สกัดได้ด้วยคลอโรฟอร์ม (กรัม)	ปริมาณร้อยละของสิ่งที่สกัดได้ด้วยคลอโรฟอร์ม
1	90	9.0
2	85	8.5
เฉลี่ย	87.5	8.75

6.4.3 หน่วยทำหญ้าหวานให้แห้ง

หญ้าหวานหลังจากสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และไดอ๊อกเซน นำไปตากแดดให้แห้ง หลัง จากนั้น นำไปอบที่อุณหภูมิ 40^0 เซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ จะได้น้ำหนักหญ้าหวานตามผลการทดลอง แสดงในตารางที่ 6.5

ตารางที่ 6.5 แสดงน้ำหนักของหญ้าหวานที่เหลือในแต่ละกระบวนการ

ครั้งที่ของการทดลอง	หญ้าหวานก่อนสกัดด้วย คลอโรฟอร์ม (กรัม)	หญ้าหวานหลังสกัดด้วย คลอโรฟอร์ม (กรัม)	หญ้าหวานหลังสกัดด้วย ไดอ๊อกเซน (กรัม)
1	1000	910	661.6
2	1000	915	655
เฉลี่ย	1000	912.5	658.3

6.4.4 หน่วยสกัดสตีวีโอไซด์ด้วยไดอ๊อกเซน (Dioxane Extraction)

หญ้าหวานที่ใช้หลังจากผ่านการสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม ในการทดลองครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2

สกัดด้วยไดอ๊อกเซน 10 ลิตร

เวลาในการสกัด 15 ชั่วโมง

อัตราในการไซฟอน ใน Soxhlet ขนาดใหญ่ 1 ครั้ง /45 นาที

จำนวนครั้งในการไซฟอน ใน Soxhlet ขนาดใหญ่ 20 ครั้ง

ซึ่งจากผลการทดลองหา เวลาที่เหมาะสมในการสกัดสตีวีโอไซด์ด้วยไดอ๊อกเซนใน Soxhlet ขนาดเล็ก จากข้อ 6.2.1 เวลาที่เหมาะสมใน Soxhlet ขนาดเล็ก 5 ชั่วโมงมีอัตราการไซฟอน 3 ครั้ง/ชั่วโมง จำนวนครั้งในการไซฟอน เท่ากับ 15 ครั้ง ในการทดลองใช้จำนวนครั้งทดลองแสดงในตารางที่ 6.6

ตารางที่ 6.6 น้ำหนักของสิ่งที่สกัดได้และปริมาณ ร้อยละของสิ่งที่สกัดได้ด้วยไดอีอกเซน

ครั้งที่ของการทดลอง	น้ำหนักสิ่งที่สกัดได้ด้วยไดอีอกเซน (กรัม)	*ปริมาณ ร้อยละของสิ่งที่สกัดได้ด้วยไดอีอกเซน
1	248.4	27.3
2	260.0	28.4
เฉลี่ย	254.2	28.0

* เทียบจากน้ำหนักหญ้าหวานหลังสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม

6.4.5 หน่วยทำให้เข้มข้น (Concentration Unit)

ในกระบวนการนี้แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ

- ส่วนของสารละลายคลอโรฟอร์ม
- ส่วนของสารละลายไดอีอกเซน

นำทั้ง 2 ส่วนไประเหยด้วยเครื่อง Vacuum Rotary Evaporator ที่อุณหภูมิประมาณ 50^0 เซลเซียส เพื่อนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ จะได้ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 6.7

ตารางที่ 6.7 ปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด และส่วนที่ได้จากการระเหยกลับมาใช้ใหม่ สำหรับน้ำหนักสิ่งที่สกัดได้ด้วยคลอโรฟอร์ม และไดอีอกเซน ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 6.4, 6.6

ครั้งที่ของการทดลอง	ส่วนของสารละลายคลอโรฟอร์ม		ส่วนของสารละลายไดอีอกเซน	
	คลอโรฟอร์มที่ใช้ (ลิตร)	คลอโรฟอร์มที่เหลือ (ลิตร)	ไดอีอกเซนที่ใช้ (ลิตร)	ไดอีอกเซนที่เหลือ (ลิตร)
1	10	8	10	7.5
2	10	7.8	10	7.5
เฉลี่ย	10	7.9	10	7.5

6.4.6 หน่วยการตกผลึก (Crystallization Unit)

ในกระบวนการนี้แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ

6.4.6.1 การตกผลึกครั้งที่ 1 (First Crystallization)

นำส่วนที่สกัดได้ด้วยไดอีอกเซนต้มกับไดอีอกเซน ปริมาณ 150 มิลลิลิตร ในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50^0-60^0 เซลเซียส จนกระทั่งสิ่งที่สกัดได้ด้วยไดอีอกเซนละลายหมด เติมเมธานอลปริมาณเท่าตัวประมาณ 150 มิลลิลิตร กวนจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 28^0 เซลเซียส จะเกิดผลึกสตีวีโอไซด์เกิดขึ้น ซึ่งใช้สารละลายในการตกผลึก ไดอีอกเซน : เมธานอล ในอัตราส่วน 1:1 ปริมาณ 300 มิลลิลิตร จะได้ผลึกสตีวีโอไซด์สีเหลืองอมเขียว ดังผลการทดลองแสดงในตารางที่ 6.8

ตารางที่ 6.8 ปริมาณร้อยละของผลึกสตีวีโอไซด์ และน้ำหนักส่วนที่เหลือจากการตกผลึก (Mothor Liquor)

ครั้งที่ของการทดลอง	น้ำหนักสิ่งที่สกัดได้ด้วยไดอีอกเซน (กรัม)	น้ำหนักส่วนที่เหลือจากการตกผลึก (กรัม)	น้ำหนักผลึกสตีวีโอไซด์ที่ได้ (กรัม)	* ปริมาณร้อยละของผลึกสตีวีโอไซด์
1	248.4	179.2	69.2	6.92
2	260.0	185.5	74.5	7.45
เฉลี่ย	254.2	182.3	71.9	7.19

* เทียบจากหญ้าหวานเริ่มต้น 1 กิโลกรัม

6.4.6.2 การตกผลึกครั้งที่ 2 (Second Crystallization)

นำผลึกที่ได้จากการตกผลึกครั้งที่ 1 ต้มกับไดอีอกเซนในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 50^0-60^0 เซลเซียส ในการตกผลึกครั้งที่ 2 นี้ ผลึกสตีวีโอไซด์ที่ได้ค่อนข้างละลายได้ยากในไดอีอกเซน จะต้องค่อย ๆ เติมไดอีอกเซนทีละน้อย ๆ จนกระทั่งผลึกละลายได้หมด เติมเมธานอลในอัตราส่วน (1:1) ตั้งทิ้งไว้ค้างคืนที่อุณหภูมิห้องประมาณ 28^0 เซลเซียส จะเกิดผลึกสตีวีโอไซด์สีขาวนวล ดังผลการทดลองแสดงในตารางที่ 6.9

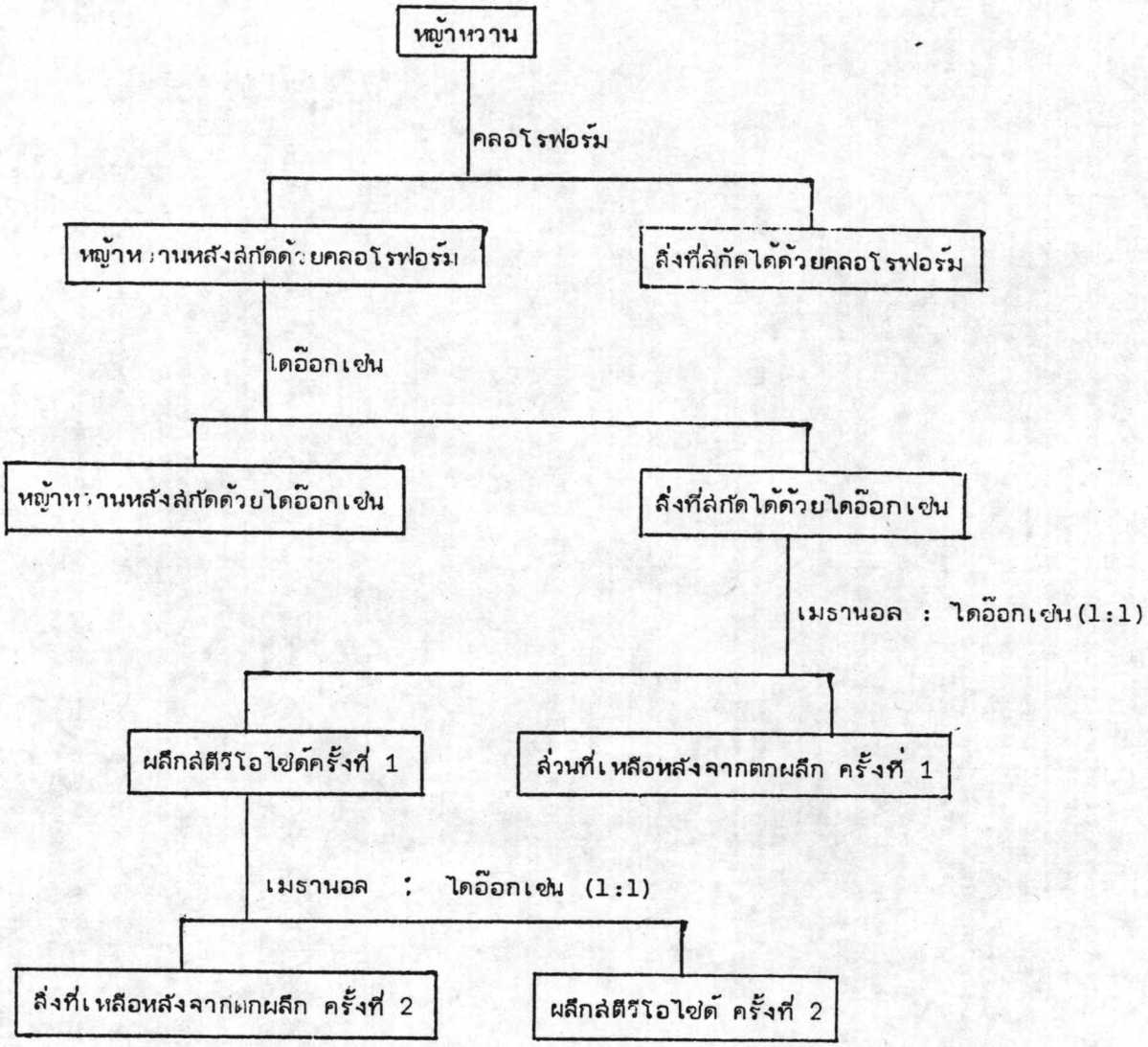
ตารางที่ 6.9 น้ำหนักของผลึกสตีรีโอไซด์ที่ได้ครั้งที่ 2 และ ปริมาณ ร้อยละของผลึกที่หายไป

ครั้งที่ของการทดลอง	น้ำหนักของผลึกสตีรีโอไซด์ครั้งที่ 1 (กรัม)	น้ำหนักของผลึกสตีรีโอไซด์ครั้งที่ 2 (กรัม)	น้ำหนักส่วนที่เหลือจากการตกผลึกครั้งที่ 2 (กรัม)	*ปริมาณร้อยละของผลึกที่หายไป
1	69.2.	64.9	4.3	5.98
2	74.5.	70.8	3.71	5.16
เฉลี่ย	71.9	67.9	4.00	5.56

* เทียบจากน้ำหนักผลึกสตีรีโอไซด์ ครั้งที่ 1

6.5 ผลการทดลอง การหาปริมาณความยืนและสารระเหย

ในการสกัดสตีรีโอไซด์ออกจากหญ้าหวาน โดยใช้ไดอีอกเซนเป็นตัวทำละลาย จากรูปที่ 6.4 แสดงแผนผังขั้นตอนต่าง ๆ ในกระบวนการ ซึ่งการหาปริมาณความยืนได้อบที่อุณหภูมิ 105^0 เซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จะได้ผลการทดลอง แสดงในตารางที่ 6.10



รูปที่ 6.4 แผนผังแสดงขั้นตอนการสกัดสตีวีโอไซด์จากหญ้าหวาน โดยใช้ไดอ๊อกเซน เป็นตัวทำละลาย

ตารางที่ 6.10 แสดงผลการทดลองการหาปริมาณความชื้นและสารระเหยในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการการสกัดสตีวีโอไซด์จากหญ้าหวาน โดยใช้ไดอีอกเซนเป็นตัวทำละลาย

หญ้าหวานมีความชื้นปริมาณร้อยละ 9.89

ตัวอย่าง	น้ำหนักก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนักหลังอบ (กรัม)	ร้อยละปริมาณความชื้นและสารระเหยได้
หญ้าหวานหลังสกัดด้วยคลอโรฟอรัม	2.4330	2.1848	10.20
หญ้าหวานหลังสกัดด้วยไดอีอกเซน	2.0453	1.8269	10.68
ผลึกสตีวีโอไซด์ ครั้งที่ 1	2.0882	1.8934	9.33
ผลึกสตีวีโอไซด์ ครั้งที่ 2	2.0062	1.8168	9.44

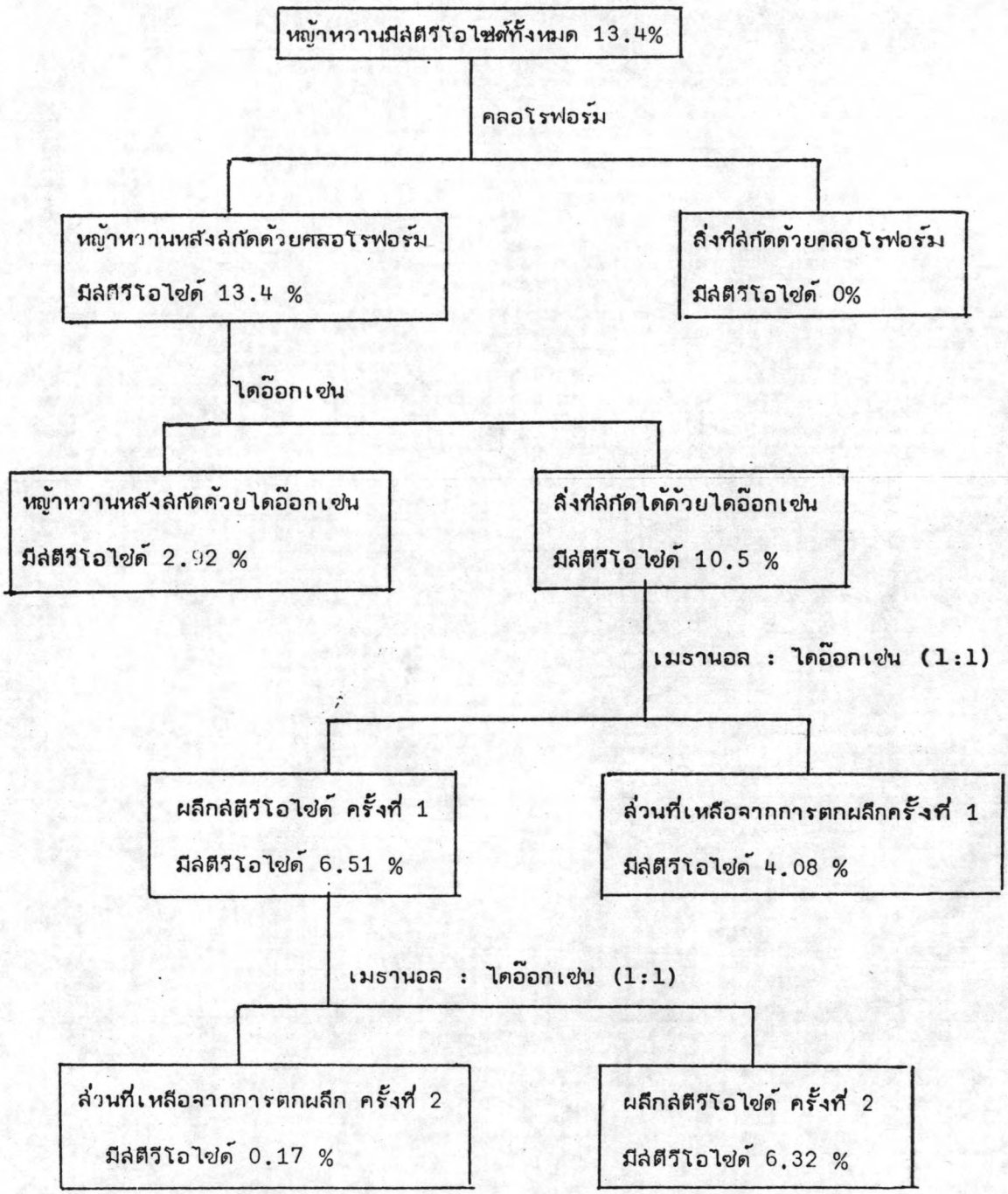
6.6 ผลการทดลองการวิเคราะห์หาปริมาณสตีรีโอไซด์ในแต่ละขั้นตอน

การวิเคราะห์หาปริมาณสตีรีโอไซด์ในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการสกัดสตีรีโอไซด์จากหญ้าหวาน โดยใช้ไดอีอกเซนเป็นตัวทำละลาย โดยวิเคราะห์ตัวอย่างตามขั้นตอนในรูปที่ 6.4 จะได้ผลการทดลอง แสดงในตารางที่ 6.11 และรูปที่ 6.5

ตารางที่ 6.11 แสดงปริมาณสตีรีโอไซด์ที่มีอยู่ในตัวอย่าง และปริมาณร้อยละสตีรีโอไซด์

ตัวอย่าง	อัตราส่วนพื้นที่ Peak (R)	ปริมาณสตีรีโอไซด์ที่มีอยู่ (กรัม)	*ปริมาณร้อยละสตีรีโอไซด์
หญ้าหวาน	0.114	134	13.4
หญ้าหวานหลังสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม	0.124	134	13.4
หญ้าหวานหลังสกัดด้วยไดอีอกเซน	0.025	29.27	2.92
สิ่งที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม	-	-	-
สิ่งที่สกัดด้วยไดอีอกเซน	0.035	104.73	10.5
ผลึกสตีรีโอไซด์ ครั้งที่ 1	0.077	65.11	6.51
ผลึกสตีรีโอไซด์ ครั้งที่ 2	0.081	63.20	6.32
ส่วนที่เหลือจากการตกผลึกครั้งที่ 1	0.619	40.84	4.08
ส่วนที่เหลือจากการตกผลึกครั้งที่ 2	0.026	1.70	0.17

*เทียบจากหญ้าหวาน 1 กิโลกรัม



รูปที่ 6.5 แผนผังแสดงขั้นตอนสารสกัดสตีวีโอไซด์จากหญ้าหวาน โดยใช้ไดอีอกเซนเป็นตัวทำละลาย และ ปริมาณ ร้อยละปริมาณสตีวีโอไซด์ในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการ (เทียบจากหญ้าหวาน 1 กิโลกรัม)