สกัดสารออกฤทธิ์จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

Medicinal Substance Extraction from *Andrographis paniculata*

Using Supercritical Carbon Dioxide

ดร. ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสาตร์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มาริสา จินะดิษฐ์ สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสาตร์

สนับสนุนโดยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ ที่ได้สนับสนุนทุนวิจัย งบประมาณเงินแผ่นดิน ประจำปี 2549 ขอขอบคุณ คุณหรรษา ไชยวานิช ผู้อำนวยการกองกองเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่ได้ให้ความกรุณาให้ใช้เครื่องมือในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ขอขอบคุณ ดร.จุฑามาศ สัตยวิวัฒน์ ดร.นุชนาถ รังคดิลก คุณนันทนิจ ผลพนา และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเภสัชวิทยา สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยา และให้ข้อคิดเห็นต่างๆ ในการใช้เครื่อง HPLC

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ตัวแปรที่ศึกษา คือ ปริมาณใบฟ้าทะลายโจร ความดัน และอุณหภูมิในการสกัด โดยออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์ ตัวแปรที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ ใบฟ้าทะลายโจรบด 1, 1.5, 2.0 และ 2.5 g ความดัน 10, 15, 20 และ 25 MPa และอุณหภูมิ 40, 45, 50 และ 55°C วิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยา ได้แก่ สารแอนโดรกราโฟไลด์(AP_1) 14-ดีออกซี-11,12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์(AP_3) นีโอแอนโดรกราโฟไลด์(AP_4) และ14-ดีออกซีแอนโดรกราโฟไลด์(AP_6) ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าความดันมีผลต่อการสกัดได้สาร AP_3 และ AP_6 มีความเข้มข้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วน AP_1 และ AP_4 นั้นไม่สามารถสกัดได้ในช่วงอุณหภูมิ และความดันที่กำหนด

ABSTRACT

The objective of this research was to produce medicinal substance extraction from *Andrographis paniculata* using supercritical carbon dioxide. The variables were as follows: quantity of *Andrographis paniculata* leaves, extraction pressure and temperature using Latin Squares were used as the experimental design. The quantity of *Andrographis paniculata* leaves were 1, 1.5, 2.0 and 2.5 g, the extraction pressure were 10, 15, 20 and 25 MPa, the extraction temperature were 40, 45, 50 and 55°C. Andrographolide (AP_1), 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide (AP_3), neoandrographolide (AP_4) and 14-deoxyandrographolide (AP_6) were analysed using high performance liquid chromatography. The statistical analysis results showed that the extraction pressure was significantly influence on the amount of extracted medicinal substance(AP_3 and AP_6). However AP_1 and AP_4 could not be extracted at this temperature and pressure ranges.

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)

ABSTRACT

กิตติกรรมประกาศ ก

สารบัญ ข

รายการตาราง ง

รายการรูป ฉ

ประมวลศัพท์ และคำย่อ ซ

บทที่

1. บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการทำงานวิจัย 3

1.3 ขอบเขตของการทำงานวิจัย 3

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4

2. วารสารปริทัศน์ 5

2.1 ฟ้าทะลายโจร 5

2.2 ของไหลวิกฤตยิ่งยวด 12

2.3 การสกัดแบบต่อเนื่อง 18

2.4 การออกแบบแผนการทดลองแบบลาตินสแควร์ 19

2.5 งานวิจัยที่ผ่านมา 23

3. วิธีการทำงานวิจัย 26

3.1 วัสดุและอุปกรณ์ 26

3.2 วิธีการทดลอง 27

หน้า

4. ผลการทำงานวิจัย และอภิปรายผล 33
4.1 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของใบฟ้าทะลายโจรบด 33
4.2 การสกัดด้วยซอกเลตแบบลดความดัน 33
4.3 การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด 34
4.4 การศึกษาผลของความดันต่อการสกัดสารจำพวกแลคโตนด้วย คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด 36
5. สรุปผลการทำงานวิจัย และข้อเสนอแนะ 37
5.1 สรุปผลการทดลอง 37
5.2 ข้อเสนอแนะ 38

เอกสารอ้างอิง 39

ภาคผนวก 41
ภาคผนวก ก ข้อมูลผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นสารออกฤทธิ์ทางยา จากสารตัวอย่าง วัตถุดิบ และตัวอย่างโครมาโทแกรม 42
ภาคผนวก ข ความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ที่ภาวะการทดลองต่างๆ 53
ภาคผนวก ค วิธีการคำนวณทางสถิติ 54
ค.1 การออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์ 54
ค.2 การคำนวณค่าความแปรปรวนของความเข้มข้นของสารที่สกัดได้ และการเปรียบเทียบสำหรับตารางลาตินสแควร์ 56
ภาคผนวก ง การคำนวณร้อยละผลได้ของการสกัด 62
ภาคผนวก จ การตั้งค่าเครื่องสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด SFX 3560 64
ภาคผนวก ฉ ความน่าจะเป็นแบบเอฟ α=0.1 ($F_{0.1}$) 66

ประวัติผู้เขียน 67

รายการตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 สมบัติทางกายภาพของสาร AP_1, AP_3, AP_4 และ AP_6 12

2.2 ข้อมูลสมบัติวิกฤตของสารชนิดต่างๆ 14

2.3 สมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของของไหลวิกฤตยิ่งยวดเปรียบเทียบกับแก๊ส และของเหลว 15

3.1 ภาวะต่างๆ ของการสกัดสารจำพวกแลคโตนจากใบฟ้าทะลายโจรบดด้วย คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด โดยการออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์ 30

4.1 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาที่สกัดโดยซอกเลตแบบลดความดัน 33

4.2 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความเข้มข้น AP_3 และ AP_6 34

4.3 ผลการคำนวณความแปรปรวนของความเข้มข้นสาร AP_3 และ AP_6 ระหว่างความดันต่างๆ 35

ก.1 กำหนดตัวแปรภาวะของการทดลอง 42

ก.2 ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นสารออกฤทธิ์ทางยาจากฟ้าทะลายโจร 43

ก.3 ความเข้มข้นของสารAP_1 ที่สกัดได้จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด โดยการออกแบบการทดลองแบบลาตินแควร์ 44

ก.4 ความเข้มข้นของสารAP_3 ที่สกัดได้จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด โดยการออกแบบการทดลองแบบลาตินแควร์ 44

ก.5 ความเข้มข้นของสารAP_4 ที่สกัดได้จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดโดยการออกแบบการทดลองแบบลาตินแควร์ 45

ก.6 ความเข้มข้นของสารAP_6 ที่สกัดได้จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดโดยการออกแบบการทดลองแบบลาตินแควร์ 45

ก.7 ผลของความดันในการสกัดสาร AP_1, AP_3, AP_4 และ AP_6 จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด 46

ข.1 ความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด 53

ค.1 การออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์ 55

รายการตาราง (ต่อ)

ตาราง	หน้า
ค.2 ความเข้มข้นของสาร AP_3 ที่สกัดได้จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดที่การทดลองต่างๆ	55
ค.3 ผลรวมความเข้มข้นในแต่ละคอลัมน์ และแถว	56
ค.4 ผลรวม และค่าเฉลี่ยของค่าความเข้มข้นของสาร AP_3 ที่ได้จากปริมาณใบฟ้าทะลายโจรต่างๆ	56
ค.5 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความเข้มข้น	57
ค.6 การคำนวณเพื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นระหว่างความดัน	60
ค.7 ผลการคำนวณค่าความแปรปรวนเพื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นระหว่างความดัน	61
ง.1 ร้อยละผลได้ของการสกัดสาร AP_3	62
ง.2 ร้อยละผลได้ของการสกัดสาร AP_6	63
ง.3 ผลของความดันในการสกัดสาร AP_1, AP_3, AP_4 และ AP_6 จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด	63
ฉ.1 ความน่าจะเป็นแบบเอฟ	66

รายการรูป

รูป		หน้า
2.1	ลักษณะของใบฟ้าทะลายโจร	6
2.2	ลักษณะของต้นฟ้าทะลายโจร	6
2.3	ลักษณะของดอกฟ้าทะลายโจร	7
2.4	ลักษณะของผลฟ้าทะลายโจร	7
2.5	สูตรโครงสร้างสารองค์ประกอบทางเคมีของสารประเภทแลคโตนหลักในฟ้าทะลายโจร	11
2.6	เฟสไดอะแกรมของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เมื่อเพิ่มความดันและอุณหภูมิทำให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ อยู่ในสภาวะของไหลวิกฤตยิ่งยวด	13
2.7	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ ความหนาแน่น และความดัน ในรูปของตัวแปรลด	17
2.8	อุปกรณ์และไดอะแกรมของชุดสกัดแบบซอกเลต	19
2.9	ผังลาตินสแควร์มาตรฐานแบบ 2 × 2	20
2.10	ผังลาตินสแควร์มาตรฐานแบบ 3 × 3	20
2.11	ผังลาตินสแควร์มาตรฐานแบบ 4 × 4 แบบที่ 1	21
2.12	ผังลาตินสแควร์มาตรฐานแบบ 4 × 4 แบบที่ 2	21
2.13	ผังลาตินสแควร์มาตรฐานแบบ 4 × 4 แบบที่ 3	21
2.14	ผังลาตินสแควร์มาตรฐานแบบ 4 × 4 โดยการสุ่มตัวอย่าง	22
2.15	ผังลาตินสแควร์มาตรฐานแบบ 4 × 4 โดยการสุ่มแถวแนวนอน	22
2.16	ผังลาตินสแควร์มาตรฐานแบบ 4 × 4 โดยการสุ่มแถวแนวตั้ง	22
3.1	การทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากใบฟ้าทะลายโจรด้วยซอกเลตแบบลดความดัน	28
3.2	เครื่องสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด ของบริษัท ISCO รุ่น SFX 3560	29
3.3	แผนผังการสกัดสารด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด	30
3.4	เครื่องโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง ของบริษัท Hewllett Packard รุ่น HP1100	32

รายการรูป (ต่อ)

รูป		หน้า
4.1	ผลของความดันต่อการสกัดสารจำพวกแลคโตนจากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด	36
ก.1	โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน AP_1, AP_3, AP_4 และ AP_6 1000 ppm	47
ก.2	โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน AP_1, AP_3, AP_4 และ AP_6 250 ppm	48
ก.3	โครมาโทแกรมของสารประเภทแลคโตนหลักในฟ้าทะลายโจรสกัดด้วยซอกเลตแบบลดความดัน	49
ก.4	โครมาโทแกรมของสารสกัด จากการทดลอง A_5	50
ก.5	โครมาโทแกรมของสารสกัด จากการทดลอง A_{12}	51
ก.6	โครมาโทแกรมของสารสกัด จากการทดลอง A_{13}	52
ข.1	ความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นกับความดันของคาร์บอนไดออกไซด์	53

ประมวลศัพท์ และคำย่อ

$^{\circ}C$	=	degree celsius
C.T.	=	correction term
C	=	coefficient
cm^3	=	cubic centimeter
cm	=	centimeter
df	=	degree of freedom
g	=	gram
g/cm^3	=	gram per cubic centimeter
HPLC	=	high performance liquid chromatography
mL	=	milliliter
MPa	=	mega pascal
MS	=	mean square
P	=	pressure
P_c	=	critical pressure
SS	=	sum of square
r	=	row
SOV	=	sort of variance
T	=	temperature
T_c	=	critical temperature
V	=	volume
X_i	=	row total
X_j	=	column total
X_p	=	treatment total
μm	=	micro meter

บทที่ 1

บทนำ

บทนี้กล่าวนี้ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา วัตถุประสงค์ของการทำงานวิจัย ขอบเขตของการทำงานวิจัย และประโยชน์ที่จะได้รับจากการทำงานวิจัย

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในยุคปัจจุบันวิทยาศาสตร์ได้เจริญรุดหน้าไปอย่างรวดเร็ว แต่ความสนใจย้อนยุคกลับสู่ธรรมชาติมีสูงขึ้นตามลำดับ จะเห็นว่ามีผลิตภัณฑ์ย้อนยุคคืนสู่ธรรมชาติจำหน่ายอยู่ทั่วไปทั้งในรูปอาหาร เช่น ผักปลอดสารพิษ ยาจากพืชสมุนไพร และผลิตภัณฑ์อาหารเสริมจากธรรมชาติ แม้ว่าราคาสินค้าเหล่านี้สูงกว่าปกติแต่ยังได้รับความนิยมเพราะผู้บริโภคมั่นใจว่าปราศจากสิ่งเป็นพิษเจือปน สมุนไพรมีคุณประโยชน์ใช้เพื่อบำบัดรักษาโรคอย่างเป็นธรรมชาติ การใช้สมุนไพรเป็นยาบำบัดโรคนั้นอาจใช้ในรูปยาสมุนไพรเดี่ยวๆ หรือใช้ในรูปตำรับยาสมุนไพร สำหรับสมุนไพรที่นิยมใช้เดี่ยวๆ รักษาอาการแก้ไข้ที่พบบ่อยๆ คือ ฟ้าทะลายโจร และบอระเพ็ด

ฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata*) นับเป็นสมุนไพรที่ใช้กันมากในจีน อินเดีย และชวามานานแล้ว อีกทั้งได้มีการวิจัยสรรพคุณและความเป็นพิษ ทั้งในสัตว์ทดลองและในคนไข้แล้วพบว่าไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษหรือความผิดปกติใดๆ จึงนับว่าเป็นสมุนไพรที่มีความปลอดภัยสูง กระทรวงสาธารณสุขได้จัดให้ฟ้าทะลายโจรเป็นหนึ่งในสมุนไพรที่ใช้ในการสาธารณสุขมูลฐาน และประกาศให้เป็นยาจากสมุนไพรแผนโบราณ ในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ.2542 เนื่องจากมีสรรพคุณมากมาย เช่น ใช้เป็นยาแก้เจ็บคอ แก้ท้องเสีย แก้ไข้ รักษาโรคอุจจาระร่วงบิดไม่มีตัว แก้บิดชนิดติดเชื้อ แก้ทางเดินอาหารอักเสบ ไข้หวัดใหญ่ รักษาแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก เป็นยาขมเจริญอาหาร ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์กับผู้ติดเชื้อเอดส์เนื่องจากฟ้าทะลายโจรมีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันและบรรเทาอาการโรคติดเชื้อฉวยโอกาสบางชนิด ได้แก่ บรรเทาอาการท้องเสีย ลดไข้ และกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ฟ้าทะลายโจรมีสารขมที่มีฤทธิ์ทางยา เช่น แอนโดรกราโฟไลด์ (Andrographolide, AP_1), 14-ดีออกซี-11,12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ (14-Deoxy-11,12-didehydroandrographolide, AP_3), นีโอแอนโดรกราโฟไลด์ (Neoandrographolide, AP_4) และ14-ดีออกซีแอนโดรกราโฟไลด์ (14-Deoxyandrographolide, AP_6) และยังมีสารออกฤทธิ์ทางยาอื่นๆ อีกมากมาย ซึ่งออกฤทธิ์เหมือนกับยาปฏิชีวนะ เช่น ยาเพนนิซิลลินและเตตราซัยคลิน นอกจากนี้ยังใช้เป็นยาและอาหารเสริมใน

อุตสาหกรรมผลิตสัตว์ เช่น เป็นอาหารเสริมสำหรับหมู ป้องกันโรคระบาดในไก่ เนื่องจากกระแสของผู้บริโภคที่ได้ตระหนักถึงการบริโภคอาหารที่ปลอดภัยมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้อหมูและเนื้อไก่ที่มีวางขายในตลาดทั่วไป ได้มีการตรวจพบสารตกค้างที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ได้แก่ ยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ และเมื่อต่างประเทศได้ส่งคืนเนื้อจากประเทศไทยที่ตรวจพบยาปฏิชีวนะตกค้าง รัฐบาลได้เห็นความสำคัญของปัญหายาตกค้างในเนื้อ. จึงได้เริ่มมีการประกาศห้ามใช้ยาปฏิชีวนะบางชนิดในการเลี้ยง ด้วยเหตุนี้ "สมุนไพรฟ้าทะลายโจร" จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีศักยภาพในการวิจัยนำมาใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะ ฟาร์มเลี้ยงไก่บางแห่งได้ริเริ่มให้มีการนำสมุนไพรไทยมาใช้ผสมอาหารสัตว์ เพื่อใช้ในการป้องกันและรักษาโรค สมุนไพรที่นำมาใช้กันมากคือฟ้าทะลายโจร ซึ่งพบว่า 0.4% A. paniculata (7.3% ของ andrographolide) ที่ใช้ผสมในอาหารสัตว์ให้ไก่กิน ช่วยลดอัตราการตายและอาการของโรคจากการติดเชื้อบิด coccidiosis ในลำไส้

จากข้อมูลมูลค่าการซื้อยาจากต่างประเทศ ยาสั่งจากต่างประเทศหลายรายการ เช่น ปี 2547 มูลค่าซื้อยาลดไข้ แก้ปวดเป็นเงิน 610.001 ล้านบาท มูลค่าซื้อยาแก้ท้องเสียเป็นเงิน 68.442 ล้านบาท ซึ่งฟ้าทะลายโจรมีสรรพคุณลดไข้ แก้ปวด แก้ท้องเสีย จะเห็นว่าหากมีการสนับสนุนให้มีการศึกษาเกี่ยวกับฟ้าทะลายโจรจะสามารถเป็นส่วนหนึ่งในการทดแทนการนำเข้ายาจากต่างประเทศได้มาก อีกทั้งฟ้าทะลายโจรยังสามารถรักษาโรคได้ทั้งคน และสัตว์ปีก ปลูกง่าย ปลูกฟ้าทะลายโจรปลูกครั้งเดียวเก็บเกี่ยวได้ตลอดทำให้มีรายได้ดี

ตัวยาสมุนไพรมีปริมาณสารสำคัญที่ใช้ในการรักษาไม่คงที่แน่นอน เนื่องจากสาเหตุหลายประการ และนอกจากจะมีสารสำคัญที่ใช้ในการบำบัดรักษาแล้วยังมีสารอื่นๆ อีกหลายชนิด ทั้งที่เป็นสารสำคัญ และกากยา ดังนั้นการใช้ยาสมุนไพรจึงใช้โดยประมาณปริมาณเพื่อให้การให้ยาแต่ละครั้งมีปริมาณสารสำคัญหรือสรรพคุณยาเพียงพอที่จะบำบัดรักษาและไม่เกินความต้องการอันอาจก่อให้เกิดพิษภัยได้ การกำหนดขนาดของยาที่ใช้แต่ละครั้งจึงขึ้นอยู่กับดุลยพินิจของหมอโดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่ป่วยหนัก โรคร้ายแรงหรือยาที่มีฤทธิ์แรง จะต้องอาศัยความรู้ความชำนาญซึ่งเป็นทั้งศาสตร์และศิลปะของผู้เป็นแพทย์ ดังนั้นการสกัดสารเพื่อแยกสารสำคัญและการวิเคราะห์ยาสมุนไพรเพื่อหาปริมาณสารสำคัญนั้นทำให้สามารถกำหนดปริมาณสารสำคัญในการรับประทานได้ ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญที่จะบ่งบอกถึงคุณภาพและมาตราฐานสมุนไพร ซึ่งจะส่งผลต่อความสามารถในการรักษาและความปลอดภัยของการใช้ยาสมุนไพรในการรักษาโรค งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาตัวแปรที่มีผลต่อสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากใบฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด การสกัดสารด้วยเทคนิคนี้ยังไม่แพร่หลายในประเทศไทย ซึ่งเทคนิครวมข้อดีในด้านเป็นตัวทำละลายทั้งของก๊าซและของเหลวไว้ด้วยกัน กล่าวคือ ความหนาแน่นมีค่าใกล้เคียงของเหลว ทำให้ความสามารถในการสกัดมีมาก แต่มีความหนืดใกล้เคียงกับก๊าซ การแพร่กระจายดีกว่าของเหลว ทำให้ของไหลสามารถแทรก

ซึมเข้าไปในโครงสร้างต่าง ๆ ของวัตถุดิบเพื่อละลายสารที่ต้องการได้ดี ทำให้สกัดได้มากขึ้น และสามารถสกัดสารได้บริสุทธิ์มากกว่าการใช้ของเหลว นอกจากนี้เทคนิคนี้มีข้อดี คือ สามารถใช้สกัดสารที่สลายได้ง่ายด้วยความร้อน เนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์มีค่าอุณหภูมิวิกฤตต่ำ คือ เท่ากับ 31.1°C กล่าวคือ ถ้าสกัดสารด้วยของเหลวและใช้ความร้อนช่วยในการระเหยตัวทำละลายออกจะทำให้สารสำคัญบางตัวที่สลายได้ง่ายด้วยความร้อนมีปริมาณลดลง นับว่างานวิจัยนี้เป็นการเตรียมสารสกัดฟ้าทะลายโจรที่มีคุณภาพ มีปริมาณสารสำคัญที่แน่นอน สะดวกต่อการนำไปใช้ และต้องการพื้นที่ในการเก็บรักษาน้อยกว่าการเก็บสมุนไพรผง งานวิจัยนี้จึงใช้เทคนิคนี้สกัด แอนโดรกราโฟไลด์ นีโอแอนโดร-กราโฟไลด์ 14-ดีออกซี-11,12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ และ 14-ดีออกซีแอนโดรกราโฟไลด์ จากใบฟ้าทะลายโจร โดยศึกษาตัวแปรที่มีผลต่อการสกัดด้วยการออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์ ตัวแปรที่ศึกษา ได้แก่ ปริมาณใบฟ้าทะลายโจรบด อุณหภูมิ และความดัน

1.2 วัตถุประสงค์ของการทำงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากใบฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

1.2.2 ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการสกัด ได้แก่ อุณหภูมิ ความดัน และปริมาณของวัตถุดิบ

1.2.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการสกัด

1.2.4 ศึกษาวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางยาที่สกัดได้

1.3 ขอบเขตของการทำงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาการสกัดสารจำพวกแลคโตนจากใบฟ้าทะลายโจรโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด โดยออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์ ซึ่งตัวแปรที่จะศึกษามีค่าดังนี้

- อุณหภูมิ ได้แก่ 40, 45, 50, 55 °C
- ความดัน ได้แก่ 10, 15, 20, 25 MPa
- ปริมาณใบฟ้าทะลายโจร ได้แก่ 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 g

1.3.2 วิเคราะห์หาปริมาณสารจำพวกแลคโตนด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

1.3.3 นำผลการวิเคราะห์แต่ละภาวะมาคำนวณทางสถิติ เพื่อศึกษาผลของตัวแปรต่อการสกัด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

1.4.2 ทราบปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการสกัด ได้แก่ อุณหภูมิ ความดัน และปริมาณวัตถุดิบ

1.4.3 เป็นแนวทางในการใช้ยาสมุนไพรแทนยาแผนปัจจุบัน ลดการนำเข้ายาจากต่างประเทศ

1.4.4 เกิดความมั่นคงทางด้านสาธารณสุข

1.4.5 สร้างอาชีพทางเลือกให้เกษตรกรในการปลูกฟ้าทะลายโจร

1.4.6 เกิดกลุ่มทำงานระหว่างนักวิชาการ เกษตรกร และภาคอุตสาหกรรม

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

บทนี้จะอธิบายเกี่ยวกับเนื้อหาของวัตถุดิบ ทฤษฎีซึ่งเกี่ยวกับการสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด โดยออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์ และงานวิจัยที่ผ่านมา

2.1 ฟ้าทะลายโจร [1, 2]

ฟ้าทะลายโจร มีชื่อพื้นเมืองหลายชื่อ เช่น น้ำลายพังพอน คีปังฮี ชวงชิมน้อย หรือเรียกตามท้องถิ่น เช่นในอำเภอพนัสนิคมเรียกฟ้าสาง อำเภอโพธารามเรียกเขยตายยายคลุม ในจังหวัดร้อยเอ็ดเรียกสามสิบดี จังหวัดพัทลุงเรียกฟ้าสะท้าน จังหวัดสงขลาเรียกหญ้ากันงู จังหวัดยะลาเรียกแมงทะลาย และในประเทศจีนเรียกโช่งเช่า ชื่อสามัญภาษาอังกฤษ เช่น The Creat, Creyat Root, Halviva, Kariyat, Kreat และมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Andrographis paniculata*(Burm) Wall.ex Ness วงศ์ Acanthaceae ฟ้าทะลายโจรเป็นไม้ล้มลุก ลำต้นตั้งตรง ส่วนปลายกิ่งเป็นสี่เหลี่ยม ใบเดี่ยวรูปหอกเรียวปลายแหม ผิวเป็นมันเรียบสีเขียว ดอกเล็กๆ สีขาวมีแต้มสีม่วง เป็นหลอดปลายแยก 5 กลีบ เป็นรูปปากบนและล่าง ผลรูปกระสวยกลมยาวเรียวสีเขียว เมื่อแก่จะแตกออกเป็นสองซีก ปลูกเป็นไม้ประดับและทำยา มีสารสำคัญจำพวกแลคโตน (lactone) ชื่อแอนโดรกราโฟไลด์ (andrographolide, AP_1) นีโอแอนโดรกราโฟไลด์ (neoandrographolide, AP_4) และดีออกซี-แอนโดรกราโฟไลด์ (deoxy-andrographolide, AP_6) เป็นต้น สรรพคุณ ทั้งต้น รสขม รับประทานแก้ไข้ แก้หวัด แก้ร้อนใน แก้ต่อมทอนซิลอักเสบ รักษาอาการเจ็บคอ แก้ปอดอักเสบ แก้บิด แก้ท้องเดิน ต้มกับเบญจมาศสวนดื่มแก้ไส้ติ่งอักเสบ ใช้เป็นยาภายนอกเป็นยาพอกฝี รักษาแผลที่เป็นหนอง ลดความดันเลือด ใช้แทนยาปฏิชีวนะได้ ไม่ควรใช้ติดต่อกันนานเกินไป เนื่องจากฟ้าทะลายโจรจะทำลายจุลชีพที่มีประโยชน์ในกระเพาะมากไป ผู้ที่มีความดันต่ำ เป็นโรคหัวใจ ไม่ควรใช้

2.1.1 ลักษณะทั่วไป

ฟ้าทะลายโจรเป็นพืชประเภทไม้ล้มลุก ลำต้นตั้งตรงสูง 30-60 cm ดังรูปที่ 2.1 เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น 1.9-3.6 mm กิ่ง ลำต้น มีลักษณะเป็นเหลี่ยม ทั้งต้นมีรสขม ใบเดี่ยวเรียงตรง

ข้ามกัน ใบรูปขอบขนาน เรียวไปที่ปลายใบ และโคนใบ ใบกว้าง 1.7-2.6 cm ยาว 3.0-9.8 cm หน้าใบและหลังใบไม่มีขน กิ่ง ใบ และลำต้นสีเขียวเข้ม ออกดอกที่ยอด และตาข้าง ดังรูปที่ 2.2 ช่อดอกยาว 8-12 cm กลีบเลี้ยงสีเขียวมี 5 กลีบ กลีบดอก 5 กลีบ สีขาวประม่วงแดง แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนบนมี 3 แฉกมีแถบสีม่วงแดงพาดตามยาว กลีบดอกส่วนล่างขนาดเล็กกว่าแยก 2 แฉก โคนติดกันเป็นหลอดสั้นๆ รูปปากเปิด อับเรณู สีม่วงแดง ก้านชูอับเรณูสีม่วงแดงปนขาว และมีปุยขนยาว 0.3-0.5 mm ปกคลุม เกสรเพศเมียสีม่วงแดงคล้ำ ดังรูปที่ 2.3 ผลเหมือนต้อยติ่งเป็นฝักรูปทรงกระบอก ยาวได้ถึง 2 cm เมื่อแก่จะแตกออกเป็น 2 ซีก ภายในมีเมล็ดแบน เมล็ดประมาณ 6 เมล็ดต่อช่อง รูปไข่ สีน้ำตาล ดังรูปที่ 2.4

รูปที่ 2.1 ลักษณะของใบฟ้าทะลายโจร

รูปที่ 2.2 ลักษณะของต้นฟ้าทะลายโจร

รูปที่ 2.3 ลักษณะของดอกฟ้าทะลายโจร

รูปที่ 2.4 ลักษณะของผลฟ้าทะลายโจร

แหล่งที่พบและเก็บรวบรวมพันธุ์ ตามสวนป่าสาธารณะที่เป็นป่าโปร่งมีร่มเงาปานกลาง เนินเขาดินร่วนดำ และดินปนหิน เช่น อำเภอแม่เมาะ จังหวัดลำปาง อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา อำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี ความสูงเหนือระดับน้ำทะเล 150-482 m

คุณค่าทางอาหารของต้นฟ้าทะลายโจร มีโปรตีน 10.60% เยื่อใบหยาบ 21% เถ้า 14.60% แคลเซียม 2.85% ฟอสฟอรัส 0.71%

การขยายพันธุ์ ในธรรมชาติฟ้าทะลายโจรจะขยายพันธุ์โดยเมล็ด การเตรียมดินต้องปรับดินให้ร่วนซุย กำจัดวัชพืชและอาจทำการไถพรวนเพียงครั้งเดียว แต่ถ้าพื้นที่เพาะปลูกมีวัชพืชมากและหน้าดินแข็ง ควรทำการไถพรวนประมาณ 2 ครั้ง คือ ไถดะแล้วตากดินไว้เป็นเวลา 1-2

สัปดาห์ แล้วจึงทำการไถแปรอีกครั้ง สำหรับพื้นที่ปลูกที่เป็นที่ลุ่มและปลูกในฤดูฝน ควรทำการขุดยกร่องแปลงเพื่อป้องกันน้ำท่วมขัง โดยทำการขุดยกแปลงให้สูงขึ้นเหนือระดับเดิม 15-20 cm การปลูกสามารถทำได้หลายวิธีคือ 1) การปลูกแบบหว่าน วิธีนี้จะมีปัญหาในการกำจัดวัชพืช เพราะจะไม่สามารถนำเครื่องมือหรือเครื่องทุ่นแรงเข้าไปใช้ได้ ต้องกำจัดโดยการใช้มือถอนเท่านั้น ทำให้ต้องใช้แรงมากและผลผลิตมีปริมาณน้อย 2) การปลูกแบบโรยเมล็ดเป็นแถว ควรมีการขุดร่องตื้นๆ เป็นแถวยาว แล้วทำการโรยเมล็ดพันธุ์และเกลี่ยดินกลบบางๆ วิธีนี้สามารถกำจัดวัชพืชได้ง่ายและสะดวกขึ้น 3) การปลูกแบบหยอดหลุมวิธีนี้ช่วยในการประหยัดเมล็ดพันธุ์ แต่มักเจอปัญหาเกี่ยวกับการกำจัดวัชพืชขณะที่ต้นยังเล็ก เพราะมีพื้นที่ว่างระหว่างระยะปลูก และตำแหน่งที่งอกของเมล็ดฟ้าทะลายโจรอยู่ห่างกัน วิธีนี้เหมาะสมกับการปลูกบนพื้นที่ปลูกที่ไม่มีปัญหาวัชพืชรบกวน และ 4) การปลูกโดยใช้กล้าวิธีนี้เหมาะกับแปลงปลูกที่มีปัญหาวัชพืชรุนแรง หรือกรณีที่เมล็ดพันธุ์มีราคาแพงหรือมีจำกัด แต่จะให้ผลผลิตต่อไร่ต่ำกว่าการปลูกโดย 3 วิธีแรก วิธีใส่ปุ๋ยมีหลายวิธีแล้วแต่ความสะดวก และวิธีการปลูกพืช ได้แก่ แบบหว่าน ต้องหว่านปุ๋ยให้กระจายทั่วและสม่ำเสมอ อย่าให้ปุ๋ยค้างอยู่ที่ใบเพราะจะทำให้ใบไหม้และต้นพืชตายได้ วิธีนี้เหมาะสำหรับลงเพาะกล้าและการปลูกแบบหว่าน แบบโรยหรือหว่านเป็นแถว ทำการขุดเป็นร่องตามแนวขนานระหว่างแถวจากแถวปลูกประมาณ 10-15 cm ใส่ปุ๋ยพรวนดินกลบหรือโรยปุ๋ยก่อนแล้ว พรวนดินกลบ วิธีนี้เหมาะสำหรับการปลูกแบบโรยเป็นแถวและแบบหยอดโคนควรใส่ปุ๋ย ห่างจากโคนต้นประมาณ 10 cm ซึ่งวิธีนี้เหมาะสำหรับการปลูกแบบมีระยะปลูก ส่วนการกำจัดวัชพืชในแปลงปลูกแบบหว่านและแปลงเพาะเมล็ด ควรกำจัดวัชพืชโดยการถอน ในขณะที่แปลงปลูกแบบโรยเป็นแถว แบบหยอดหลุมและแบบปลูกด้วยต้นกล้า ซึ่งมีระยะปลูกการกำจัดวัชพืชนั้นสามารถทำได้สะดวกขึ้น และการเก็บเกี่ยวควรเก็บเกี่ยวในช่วงที่พืชเจริญเติบโตเต็มที่ คือช่วงที่พืชออกดอกนับตั้งแต่เริ่มออกดอกจนถึงดอกบาน 50% ซึ่งพืชจะมีอายุประมาณ 110-150 วัน วิธีเก็บเกี่ยวควรใช้กรรไกรตัดหรือเคียวเกี่ยวทั้งต้นให้เหลือตอสูงประมาณ 5-10 cm เพื่อเลี้ยงต้นตอให้เจริญเติบโตให้ผลผลิตในรุ่นต่อไป โดยใช้เวลาประมาณ 2-3 เดือน จึงสามารถเก็บเกี่ยวได้อีกครั้ง

การเตรียมยาสมุนไพรฟ้าทะลายโจรอย่างง่ายและวิธีใช้มีรายละเอียดดังนี้

(1) ยาลูกกลอน มีวิธีทำโดยนำใบฟ้าทะลายโจรสดล้างให้สะอาด ผึ่งลมให้แห้ง ห้ามตากแดด บดเป็นผงให้ละเอียด ปั้นกับน้ำผึ้งเป็นยาลูกกลอน ผึ่งลมให้แห้ง เก็บไว้ในขวดแห้งและมิดชิด รับประทานครั้งละ 1 กรัม วันละ 4 ครั้งก่อนอาหารและก่อนนอน

(2) ยาดองเหล้า มีวิธีทำโดยนำใบฟ้าทะลายโจรแห้งขยำให้เป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ในขวดแก้วใช้เหล้าโรงแช่ให้น้ำท่วมยาเล็กน้อย ปิดฝาให้แน่น เขย่าขวด หรือคนยาวันละ 1 ครั้ง พอครบ 7 วัน

กรองเอาแต่น้ำเก็บไว้ในขวดที่มิดชิดและสะอาด รับประทานครั้งละ 1-2 ช้อนโต๊ะ วันละ 3-4 ครั้ง ก่อนอาหาร

(3) ยาต้ม มีวิธีทำโดยใช้ใบฟ้าทะลายสด 1-3 กำมือ ต้มกับน้ำ 10-15 นาที ดื่มก่อนอาหารวันละ 3 ครั้ง หรือเวลามีอาการ ถ้าต้องการแก้อาการเจ็บคอ ใช้เพียง 1 กำมือ

(4) รักษาฝีแผลพุพอง เตรียมโดยใช้ใบฟ้าทะลายโจรตำพอก หรือคั้นน้ำทาบริเวณฝีแผลพุพอง

2.1.2 <u>ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา</u>

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของฟ้าทะลายโจรมีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด ยับยั้งระดับน้ำตาลในเลือดสูง ต้านเชื้อแบคทีเรีย รักษาโรคหวัด แก้ท้องเสีย ท้องเดิน แก้ไข้ เจ็บคอ ลดการอักเสบ ลดความดันโลหิต คลายกล้ามเนื้อเรียบ รักษาแผลในกระเพาะอาหาร รักษาโรคอุจจาระร่วง ป้องกันการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ ทำให้เลือดเย็น ลดอาการบวม และโรคบิด

2.1.3 <u>การศึกษาทางเภสัชวิทยา</u>

(1) การศึกษาในสัตว์ทดลอง

(1.1) ฤทธิ์ลดการบีบหรือหดเกร็งตัวของทางเดินอาหาร สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์และสารสำคัญกลุ่มไดเทอร์ปีน แลคโตน (Diterpene lactone) ของสมุนไพรฟ้าทะลายโจรสามารถช่วยลดการบีบตัวของลำไส้เล็กและกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารของหนูทดลองได้

(1.2) ฤทธิ์ป้องกันการเกิดอาการท้องเสีย สารสกัดด้วยบิวทานอล แอนโดรกราโฟไลด์ และ นีโอแอนโดรกราโฟไลด์ สามารถต้านฤทธิ์ของ *E.coli enterotoxin* ซึ่งเป็นสาเหตุของอาการท้องเสียได้เนื่องจากช่วยทำให้การสูญเสียน้ำทางลำไส้ลดลง

(1.3) ฤทธิ์ลดไข้และต้านทานการอักเสบ ผงใบฟ้าทะลายโจร สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ และสารสกัดด้วยน้ำของฟ้าทะลายโจร เมื่อให้ทางปากในหนูขาวจะแสดงฤทธิ์ต้านอักเสบเมื่อศึกษาด้วยวิธี Carrageen an-induced hind paw edema และมีฤทธิ์ยับยั้งการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาว โดยการสกัดด้วยแอลกอฮอล์มีฤทธิ์ต้านการอักเสบไม่แตกต่างจากผงใบ ส่วนสารสกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์อ่อนที่สุด

(1.4) ฤทธิ์ป้องกันตับจากสารพิษ พบว่า แอนโดรกราโฟไลด์ และ นีโอแอนโดรกราโฟไลด์ มีฤทธิ์ในการป้องกันพิษของยาพาราเซตามอลส่งผลให้ปริมาณน้ำดีและสารในน้ำดีลดลง

(1.5) ฤทธิ์แอนติออกซิเดนท์ สารสกัดของฟ้าทะลายโจรแสดงฤทธิ์แอนติออกซิเดนท์ และสารนีโอแอนโดรกราโฟไลด์ แสดงฤทธิ์สามารถต้านอนุมูลอิสระ superoxide free radicals ได้

(2) การศึกษาในคน

การทดลองทางคลินิกของโรงพยาบาลบำราศนราดูร พบว่าสมุนไพรฟ้าทะลายโจรสามารถรักษาโรคบิด ท้องร่วงและโรคท้องเสีย ชนิดเฉียบพลัน ได้ดีเท่ากับเตตราซัยคลิน สำหรับความโดดเด่นของฟ้าทะลายโจรนั้น มีสารสำคัญในการรักษาโรค คือ สารแอนโดรแกรโฟไลด์ (Andrographpolide) ซึ่งทางวงการแพทย์ จีนกำหนดว่ามี 1.5% ก็ใช้เป็นยาได้แล้ว และเป็นที่น่ายินดีที่ใบฟ้าทะลายโจรในเมืองไทยมีสารสำคัญตัวนี้ถึง 1.7% ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับยาตัวใหม่ แล้ว ฟ้าทะลายโจรจัดอยู่ในจำพวกยาปฏิชีวนะ เช่น เพนนิซิลลินและเตตราซัยคลิน ซึ่งเป็น ยาแผนปัจจุบันครอบจักรวาลเลยทีเดียว แต่ปลอดภัยกว่า เพราะไม่มีพิษต่อตับ และไม่ตกค้างในร่างกาย ซ้ำยังมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคบางอย่างดีกว่ายาแผนปัจจุบันเสียอีก [3]

(2.1) การศึกษาประสิทธิผลในการรักษาโรคอุจจาระร่วงและบิดแบคทีเรีย มีรายงานการวิจัยฤทธิ์ของสมุนไพรฟ้าทะลายโจร ในการบรรเทาอาการท้องเดินในกระต่ายและหนูตะเภาจากการได้รับสารเอนเทอโรท็อกซินที่มาจากแบคทีเรียอีโคไล (*E.coli*) เปรียบเทียบกับยาโลเพอราไมด์ (Loperamide) ซึ่งเป็นตัวยาในยาอิโมเดียม (Imodium) ซึ่งเป็นยาแผนปัจจุบันในการรักษาอาการท้องเดินที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย พบว่าแอนโดรกราโฟไลด์ และ นีโอแอนโดรกราโฟไลด์ มีฤทธิ์พอๆ กับโลเพอราไมด์ ในการลดการสูญเสียน้ำในลำไส้จากอีโคไลเอนเทอโรท็อกซิน

(2.2) การศึกษาประสิทธิผลในการบรรเทาอาการหวัด การที่สมุนไพรฟ้าทะลายโจรทำให้อาการของโรคหวัด เช่น อาการเจ็บคอ อ่อนเพลีย ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ หรืออาการของไซนัสอักเสบลดลงและหายหวัดเร็วขึ้นได้ ไม่ว่าจะมาจากเชื้อแบคทีเรีย เพราะรายงานการศึกษาทางจุลชีววิทยาหลายรายงาน พบว่าฟ้าทะลายโจรหรือสารกลุ่มแลคโตนในฟ้าทะลายโจรไม่มีฤทธิ์หรือมีฤทธิ์อ่อนมากในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ทั้งชนิดที่ก่อโรคติดเชื้อของระบบทางเดินหายใจส่วนต้น ดังนั้นสรรพคุณของฟ้าทะลายโจรในการบรรเทาอาการของโรคหวัดน่าจะมาจากฟ้าทะลายโจร และสารสำคัญในสมุนไพรนี้มีฤทธิ์ลดไข้และต้านอักเสบ รวมทั้งฤทธิ์ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันมากกว่าฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

2.1.4 <u>เคมีของฟ้าทะลายโจร</u> [4, 5]

นักเคมีได้แยกสารออกจากส่วนต่างๆ ของฟ้าทะลายโจรได้แก่ ใบ ราก และลำต้น ได้สารองค์ประกอบเป็น 3 ประเภทคือ แลคโตน (Lactone) ฟลาโวน (Flavone) และอื่นๆ

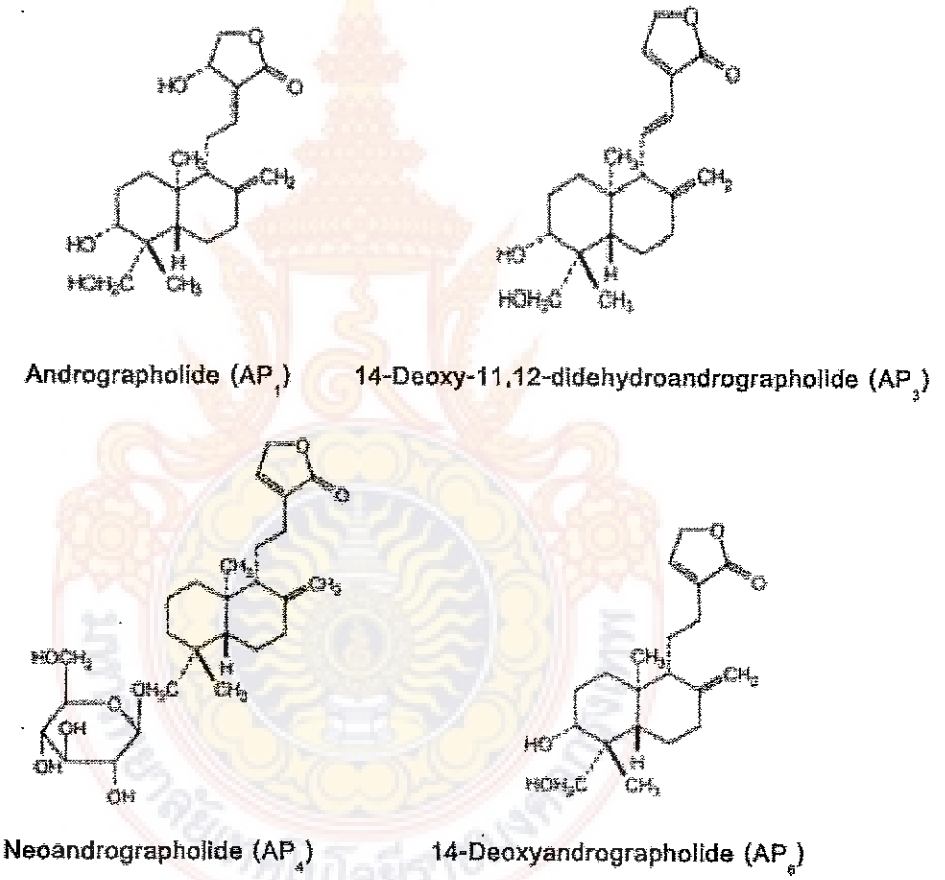
(1) สารแลคโตน ได้แก่ แอนโดรกราโฟไลด์ นีโอแอนโดรกราโฟไลด์ ดีออกซี-แอนโดรกราโฟไลด์ โฮโมแอนโดรกราโฟไลด์ (Homoandrographolide) แพนิโคไลด์ (Panicolide) 14-ดีออกซี-11-ออกโซแอนโดรกราโฟไลด์ (14-Deoxy-11-oxoandrographolide) 14-ดีออกซี-11, 12-

ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ 14-ดีออกซีแอนโดรกราโฟไลด์ และดีออกซีแอนโดรกราฟิไซด์ (Deoxyandrographiside) สูตรโครงสร้างสารแลคโตนหลักในฟ้าทะลายโจร แสดงในรูปที่ 2.5

(2) ฟลาโวน ได้แก่ แอนโดรกราฟิน (Andrographin) โอรอกซิลิน (Oroxylin) โวโกนิน (Wogonin) และแอนโดรกราฟิดิน เอ (Andrographindin A)

(3) อื่นๆ ได้แก่ แอนโดรกราแฟน (Andrographan) แอนโดรกราฟอน (Andrographon) และแอนโดรกราโฟนสเตอร์ริน (Andrographosterin)

สมบัติทางกายภาพของสาร AP_1, AP_3, AP_4 และ AP_6 มีรายละเอียดดังตารางที่ 2.1



รูปที่ 2.5 สูตรโครงสร้างสารองค์ประกอบทางเคมีของสารประเภทแลคโตนหลักในฟ้าทะลายโจร

ตารางที่ 2.1 สมบัติทางกายภาพของสาร AP_1, AP_3, AP_4 และ AP_6

สารประเภทแลคโตนหลักในฟ้าทะลายโจร	มวลโมเลกุล	จุดหลอมเหลว (°C)
สารแอนโดรกราโฟไลด์ (AP_1)	350.00	129
14-ดีออกซี-11,12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ (AP_3)	333.45	196 - 198
นีโอแอนโดรกราโฟไลด์ (AP_4)	480.60	166 - 167
14-ดีออกซีแอนโดรกราโฟไลด์ (AP_6)	334.45	175

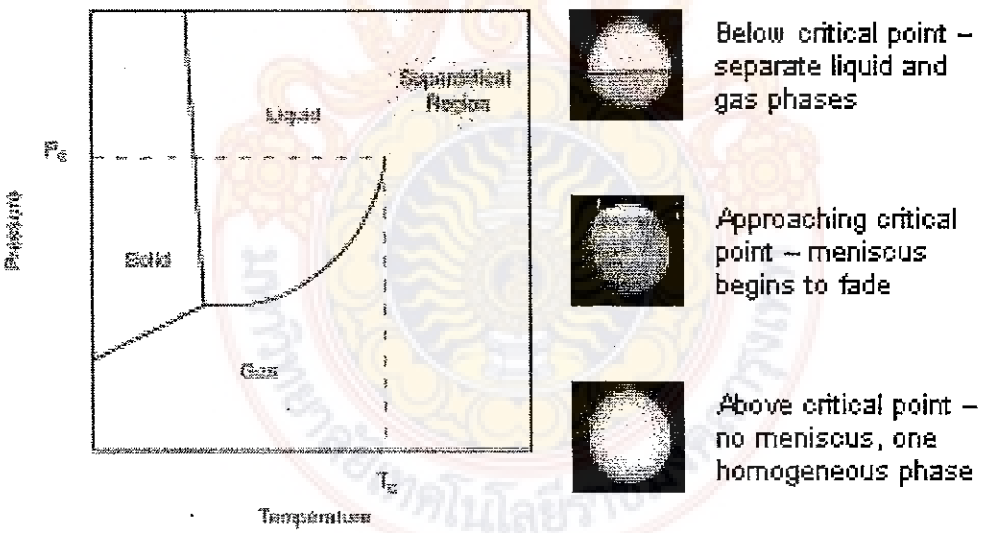
2.2 ของไหลวิกฤตยิ่งยวด [6, 7, 8]

ตามทรรศนะของวงการวิทยาศาสตร์สมัยใหม่เชื่อว่าในพืชสมุนไพรซึ่งเป็นยารักษาโรคมานานประกอบด้วยสารประกอบทางเคมีหลายชนิด แต่ละส่วนของพืชสมุนไพรมีสารประกอบที่แตกต่างกันออกไป สารเหล่านี้เป็นตัวกำหนดสรรพคุณของพืชสมุนไพร ชนิดและปริมาณของสารจะแปรตามชนิดของพันธุ์สมุนไพร สภาพแวดล้อมที่ปลูก และช่วงเวลาที่เก็บพืชสมุนไพร นักวิทยาศาสตร์ได้นำความรู้ และวิธีการทางเคมีมาค้นคว้าวิจัย สารเคมีที่มีฤทธิ์ในพืชสมุนไพร ทำให้ทราบรายละเอียดเกี่ยวกับโครงสร้างลักษณะวิธีการสกัด การจำแนกและการตรวจสอบสารเหล่านั้น นอกจากนี้ยังใช้กระบวนการวิทยาศาสตร์มาค้นคว้าสมุนไพรด้านเภสัชวิทยา พิษวิทยา การพัฒนารูปแบบยา การทดสอบทางเภสัชจลศาสตร์ และการวิจัยทางคลินิกอีกด้วย ทั้งนี้เพื่อให้ได้ยาที่มีประสิทธิภาพ และความปลอดภัยในการรักษาโรค และยังมีข้อสังเกตุอีกว่าสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางยาในพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งอาจมิใช่มีเพียงตัวเดียว อาจมีหลายตัวก็ได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีความเข้าใจที่ถ่องแท้จึงจะสามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางยามาใช้ได้ การสกัดที่ใช้กันมากเป็นการสกัดด้วยของเหลว อาจมีข้อเสีย คือ ต้องใช้ตัวทำละลายมาก ทำให้สารบางตัวที่ไม่ทนความร้อนสลายตัวในขั้นตอนการระเหยทำให้เข้มข้น มีสารอื่นที่ไม่ต้องการปนออกมาในสารที่สกัดได้ และมีตัวทำละลายตกค้างในสารสกัด

ของไหลวิกฤตยิ่งยวดมีสมบัติทางเคมีฟิสิกส์อยู่ระหว่างก๊าซกับของเหลว ความหนาแน่นมีค่าใกล้เคียงของเหลว แต่มีความหนืดใกล้เคียงกับก๊าซ การแพร่กระจายดีกว่าของเหลว ทำให้ของไหลสามารถแทรกซึมเข้าไปในโครงสร้างต่างๆ ของวัตถุดิบเพื่อละลายสารที่ต้องการได้ดี ทำให้สกัดได้มากขึ้น จากเหตุผลดังกล่าวจึงได้มีการนำของไหลวิกฤตยิ่งยวดมาใช้เป็นตัวทำละลายแทนการใช้ตัวทำละลายที่เป็นของเหลว เนื่องจากอัตราการถ่ายเทมวลเร็วกว่าและสามารถสกัดสารได้ปริมาณมากกว่าในเวลาที่เท่ากัน จากการศึกษาเปรียบเทียบการสกัดสารระหว่างการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในสถานะที่เป็นของเหลวและเป็นของไหลวิกฤตยิ่งยวด พบว่าอัตราการสกัดที่ได้จากการใช้

คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดมีอัตราการสกัดสูงกว่า 2-5 เท่า ความหนืด สัมประสิทธิ์การแพร่ ความสามารถในการละลาย และสมบัติในการเลือกสกัดของของไหลวิกฤตยิ่งยวดขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น อุณหภูมิ และความดัน จึงต้องมีการปรับสภาวะในการสกัดให้เหมาะสม เพื่อให้มีความหนาแน่นมากและความสามารถในการทำละลายที่เหมาะสมเฉพาะกับสารที่ต้องการสกัดได้มากที่สุด โดยมีสารที่ไม่ต้องการปนมาน้อยที่สุด นอกจากนั้นอัตราการถ่ายเทมวลยังขึ้นกับระยะทางในการแพร่ และสิ่งกีดขวางการแพร่ ถ้าขนาดของอนุภาคเล็ก หรือระยะทางในการแพร่ลดลงจะทำให้การสกัดมากขึ้น นอกจากนี้ยังไม่มีตัวทำละลายตกค้างในสารสกัด

ในภาวะอุณหภูมิและความดันค่าหนึ่ง สารบริสุทธิ์ใดๆ สามารถเป็นทั้งของเหลวอิ่มตัวและไออิ่มตัว โดยเรียกภาวะนี้ว่า จุดวิกฤต (Critical point) ซึ่งภาวะนี้สามารถแสดงเป็นจุดในกราฟระหว่างอุณหภูมิและความดัน ดังรูปที่ 2.6 ถ้าเพิ่มอุณหภูมิหรือความดันให้สูงกว่าจุดวิกฤตนี้ จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของของไหล และเรียกของไหลที่อยู่ในภาวะนี้ว่าของไหลวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical fluid) ของไหลวิกฤตยิ่งยวดมีองค์ประกอบที่ไม่ใช่ของเหลวหรือแก๊ส แต่เป็นของไหลกึ่งของเหลวและแก๊ส ทำให้ของไหลวิกฤตยิ่งยวดมีสมบัติต่างๆ คล้ายตัวทำละลายอินทรีย์ แต่สามารถแพร่ได้มากกว่า และมีความหนืดและแรงตึงผิวน้อยกว่า



รูปที่ 2.6 เฟสไดอะแกรมของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เมื่อเพิ่มความดันและอุณหภูมิทำให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ อยู่ในสภาวะของไหลวิกฤตยิ่งยวด

แก๊สสามารถเปลี่ยนสถานะเป็นของเหลวได้ 2 วิธี คือ โดยการเพิ่มความดัน หรือลดอุณหภูมิเพื่อลดพลังงานจลน์ (Kinetic energy) ทำให้ระยะทางระหว่างโมเลกุลลดลง เกิดแรงดึงดูดระหว่างกัน

จนกระทั่งควบแน่นเป็นของเหลว แต่ที่อุณหภูมิสูงกว่าจุดๆ หนึ่ง โมเลกุลของแก๊สจะมีพลังงานจลน์มาก แม้จะเพิ่มความดันเท่าใดก็ไม่สามารถทำให้แก๊สเกิดการควบแน่นเป็นของเหลวได้ อุณหภูมิสูงสุดที่แก๊สยังสามารถควบแน่นเป็นของเหลวได้ เรียกว่า อุณหภูมิวิกฤต (Critical temperature , T_c) และความดันที่จุดนี้เรียกว่า ความดันวิกฤต (Critical pressure, P_c) จะได้จุดวิกฤตดังนี้ คาร์บอนไดออกไซด์มีอุณหภูมิวิกฤตอยู่ที่ 31.1 °C และความดัน 73.3 bar ดังนั้นเมื่อให้อุณหภูมิและความดันของคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่าอุณหภูมิ และความดันวิกฤต จะทำให้มีสมบัติอยู่ระหว่างภาวะที่เป็นของเหลว และแก๊ส โดยค่า T_c และ P_c ของสารต่างๆ แสดงไว้ในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ข้อมูลสมบัติวิกฤตของสารชนิดต่างๆ

สาร	อุณหภูมิวิกฤต (°K)	ความดันวิกฤต (MPa)	ความหนาแน่นวิกฤต (g/cm^3)
Methane	190.6	4.60	0.162
Ehtylene	282.4	5.03	0.218
Chlorotrifluoromethane	302.0	3.92	0.579
Carbon dioxide	304.2	7.38	0.468
Ethane	305.4	4.88	0.203
Propylene	365.0	4.62	0.233
Propane	369.8	4.24	0.217
Ammonia	405.6	11.30	0.235
Diethyl ether	467.7	3.64	0.265
n-Pentane	469.6	3.37	0.237
Acetone	508.1	4.70	0.278
Methanol	512.6	8.09	0.272
Benzene	562.1	4.89	0.302
Toluene	591.7	4.11	0.292
Water	647.3	22.00	0.322

นอกจากนี้ ของไหลวิกฤตยิ่งยวดจะมีสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ (Physicochemical properties) อยู่ระหว่างแก๊สกับของเหลว ดังแสดงในตารางที่ 2.3 ความหนาแน่นของของไหลวิกฤตยิ่งยวด จะมีค่าใกล้เคียงกับของเหลว เมื่อนำมาใช้เป็นตัวทำละลายโมเลกุลของสารที่ต้องการจะถูกล้อมรอบด้วย

โมเลกุลของของไหลวิกฤตยิ่งยวดเกิดการทำปฏิกิริยากัน ลดพลังงานเอนทาลปี เกิดการละลายได้ดี และขณะเดียวกันของไหลวิกฤตยิ่งยวดก็มีความหนืด (Viscosity) และการแพร่กระจาย (Diffusivity) ใกล้เคียงแก๊ส ทำให้สามารถแทรกเข้าไปในโครงสร้างของวัสดุได้ดี ด้วยสมบัติเหล่านี้จึงเป็นที่นิยมนำเอาของไหลวิกฤตยิ่งยวดมาใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางยา เนื่องจากการสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวดมีข้อดีหลายประการ ได้แก่ เป็นตัวทำละลายที่สามารถควบคุมได้ โดยการปรับอุณหภูมิหรือความดัน สามารถนำของไหลวิกฤตยิ่งยวดกลับมาใช้ใหม่ เป็นตัวทำละลายที่ไม่เป็นอันตรายหรือมีสารตกค้างที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม สามารถสกัดสารสำคัญที่มีจุดเดือดสูงโดยใช้อุณหภูมิต่ำได้ ไม่จำเป็นต้องทำความสะอาดหรือปรับสภาพของสารสกัด เช่นเดียวกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม สามารถสกัดสารที่สลายตัวโดยอุณหภูมิสูงได้เพราะใช้อุณหภูมิต่ำในการสกัด แต่อย่างไรก็ตามการสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวดยังมีข้อเสีย ได้แก่ เครื่องมือมีราคาแพง เนื่องจากการสกัดต้องใช้ความดันสูง ดังนั้นอุปกรณ์ที่ใช้ต้องทนความดันสูงได้ และต้องมีอุปกรณ์ในการอัดเพื่อนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ และเพื่อลดค่าใช้จ่ายของตัวทำละลาย ชนิดของตัวทำละลายเป็นปัจจัยสำคัญต่อสารที่ต้องการสกัด ตัวทำละลายควรมีความสามารถในการสกัดสูง เป็นสารเฉื่อย ง่ายต่อการแยกจากสารสกัด และราคาถูก โดยทั่วไปนิยมใช้คาร์บอนไดออกไซด์มากที่สุด

ตารางที่ 2.3 สมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของของไหลวิกฤตยิ่งยวดเปรียบเทียบกับแก๊ส และของเหลว

สถานะของของไหล	ความหนาแน่น (Density) (g/cm^3)	การแพร่กระจาย (Diffusivity) (cm^2/sec)	ความหนืด (Viscosity) (g/cm x sec)
แก๊ส			
P = 1 atm, T = 15-30°C	$(0.6 - 2) \times 10^{-3}$	0.1 – 0.4	$(1 - 3) \times 10^{-4}$
ของไหลวิกฤตยิ่งยวด			
$P = P_c, T = T_c$	0.2 – 0.5	0.7×10^{-3}	$(1 - 3) \times 10^{-4}$
$P = 4P_c, T = T_c$	0.4 – 0.9	0.2×10^{-3}	$(3 - 9) \times 10^{-4}$
ของเหลว			
P = 1 atm, T = 15-30°C	0.6 – 1.6	$(0.2 - 2) \times 10^{-5}$	$(0.2 - 3) \times 10^{-2}$

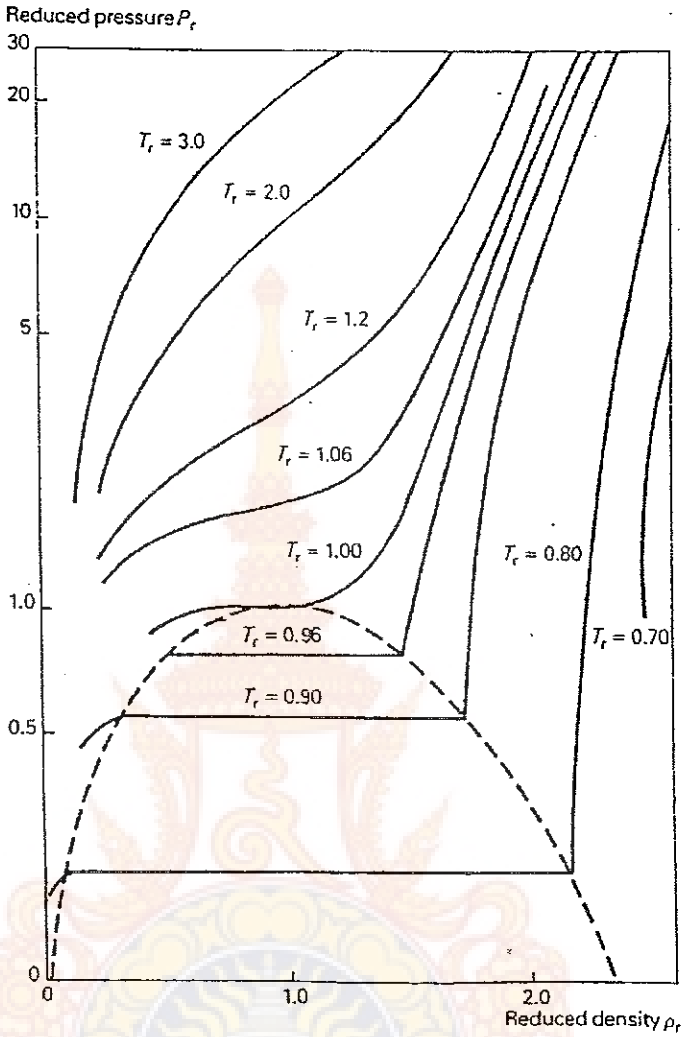
2.2.1 สมบัติของของไหลวิกฤตยิ่งยวด

(1) สมบัติการขนส่ง (Transportation property) จากการที่ของไหลวิกฤตยิ่งยวดมีความหนืดต่ำ และการแพร่กระจายสูง ทำให้สามารถกระจายตัวได้อย่างทั่วถึง สามารถแทรกซึม (Penetrate) เข้าโครงสร้างของวัสดุได้ดี และทำให้ตัวถูกละลายที่ละลายเข้าไปในของไหลวิกฤตยิ่งยวด กระจายออกจากโซนสกัดไปบริเวณอื่นได้ง่าย อัตราเร็วของสมบัติการขนส่งดี ส่งผลให้ของไหลวิกฤตยิ่งยวดเป็นตัวทำละลายที่ดี

(2) กำลังของตัวทำละลาย (Solvent power, Solvating power) เป็นสมบัติเด่นประการหนึ่งของของไหลวิกฤตยิ่งยวด ที่เหนือกว่าตัวทำละลายที่เป็นของเหลวทั่วไป เนื่องจากสามารถปรับให้มีค่ามากหรือน้อยได้ง่ายกว่า โดยการปรับภาวะหรือตัวแปรประการแรกคือ อุณหภูมิ โดยทั่วๆ ไป การเพิ่มอุณหภูมิให้กับตัวทำละลายที่เป็นของเหลว จะทำให้มีการละลายเพิ่มขึ้น แต่ในของไหลวิกฤตยิ่งยวดการเพิ่มอุณหภูมิจะก่อให้เกิดผล 2 ประการที่ขัดแย้งกัน คือ การเพิ่มการละลายของตัวถูกละลาย และการลดความหนาแน่นทำให้โมเลกุลของของไหลวิกฤตยิ่งยวดกับตัวถูกละลายอยู่ห่างกัน การละลายของตัวถูกละลายจึงลดลง

ผลรวมของผลที่ขัดแย้งกัน 2 ประการนี้คือ กำลังของตัวทำละลายของของไหลวิกฤตยิ่งยวดซึ่งขัดแย้งกัน สามารถแก้ไขได้โดยการใช้ความดันกับของไหลวิกฤตยิ่งยวด เพื่อคงสภาพความหนาแน่นให้ใกล้เคียงกับภาวะเดิมก่อนที่จะมีการเพิ่มอุณหภูมิ กล่าวโดยสรุปคือ ตัวแปรที่มีผลโดยตรงต่อกำลังของตัวทำละลาย คือ อุณหภูมิและความหนาแน่น

ในปี 1981 D. F. Williams ได้อธิบายสมบัติของคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด โดยใช้ความสัมพันธ์อุณหภูมิ ความดันและความหนาแน่น นำเสนอในรูปของตัวแปรลดดังรูปที่ 2.7 ในช่วงที่เป็นเส้นโค้งคือบริเวณที่ของเหลว และไอสมดุลกัน ของไหลวิกฤตยิ่งยวด คือ บริเวณ T_r และ P_r มีค่ามากกว่า 1 ส่วนช่วง T_r 0.95-1.0 เรียกว่า near – critical liquid (NCL) ที่บริเวณจุดวิกฤตนี้ ถ้าเปลี่ยนแปลงความดันเพียงเล็กน้อยจะทำให้มีความหนาแน่นเปลี่ยนแปลงไปมาก แต่ที่อุณหภูมิสูงๆ หรือ T_r มีค่ามาก กราฟจะมีลักษณะลาดชัน การเพิ่มความหนาแน่นจำเป็นต้องมีการเปลี่ยนแปลงความดันอย่างมาก และที่อุณหภูมิสูงๆ ความหนาแน่นจะมีค่าค่อนข้างต่ำจนสภาพไม่เหมาะสมจะใช้งาน ดังนั้นจึงนิยมใช้ของไหลวิกฤตยิ่งยวดในภาวะบริเวณเหนือจุดวิกฤตเล็กน้อย เนื่องจากสามารถเปลี่ยนกำลังของตัวทำละลาย โดยการปรับความดันเพียงเล็กน้อยเท่านั้น



รูปที่ 2.7 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ ความหนาแน่น และความดัน ในรูปของตัวแปรลด

(3) สมบัติการเลือก (Selectivity Property) เป็นสมบัติของของไหลวิกฤตยิ่งยวดที่สามารถปรับอุณหภูมิและความดัน เพื่อให้มีกำลังของตัวทำละลายที่เหมาะสมเฉพาะกับสารที่ต้องการสกัดสารให้ได้ปริมาณมากที่สุด โดยมีสารที่ไม่ต้องการปนมาน้อยที่สุด หากต้องการให้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด มีสมบัติคล้ายการกลั่น คือ ต้องการสกัดเฉพาะสารที่ระเหยง่ายก็ใช้กำลังของตัวทำละลายต่ำคือ ปรับให้ภาวะอยู่ในบริเวณจุดวิกฤต

2.2.2 ประโยชน์ของของไหลวิกฤตยิ่งยวด

ปัจจุบันมีการนำของไหลวิกฤตยิ่งยวดมาใช้ประโยชน์ในงานหลายแขนง ได้แก่

(1) ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ในงานวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของไหลวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical fluid chromatography)

(2) ใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical fluid extraction) ทั้งงานสกัดเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์จำนวนมากๆ และงานสกัดในปริมาณน้อยๆ จุดประสงค์เพื่อนำสารสกัดไปวิเคราะห์ต่อไป ซึ่งได้รับการพัฒนาค่อนข้างมาก

(3) เนื่องจากของไหลวิกฤตยิ่งยวดสามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ จึงมีการนำมาใช้ในการทำไร้เชื้อสารที่ไม่ทนความร้อน หรือใช้เป็นสารเริ่มแรกในการสกัดสารจากเชื้อจุลินทรีย์

(4) จากการศึกษาเกี่ยวกับสารบางชนิดที่ได้จากการสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวดซึ่งที่อยู่ในรูปไมโครไฟน์คริสตัล (Microfine crystals) ซึ่งมีขนาด 10-15 μm พบว่าเมื่อวิเคราะห์สารสกัดนี้ด้วยเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรคชัน (X-ray diffraction) จะเห็นว่าโครงสร้างผลึกของสารมีลักษณะเหมือนสารตั้งต้นจึงมีการประยุกต์ใช้วิธีนี้ในการบด (Milling) ลดขนาดผลิตภัณฑ์ เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดความร้อนในขณะบดด้วยวิธีธรรมดา

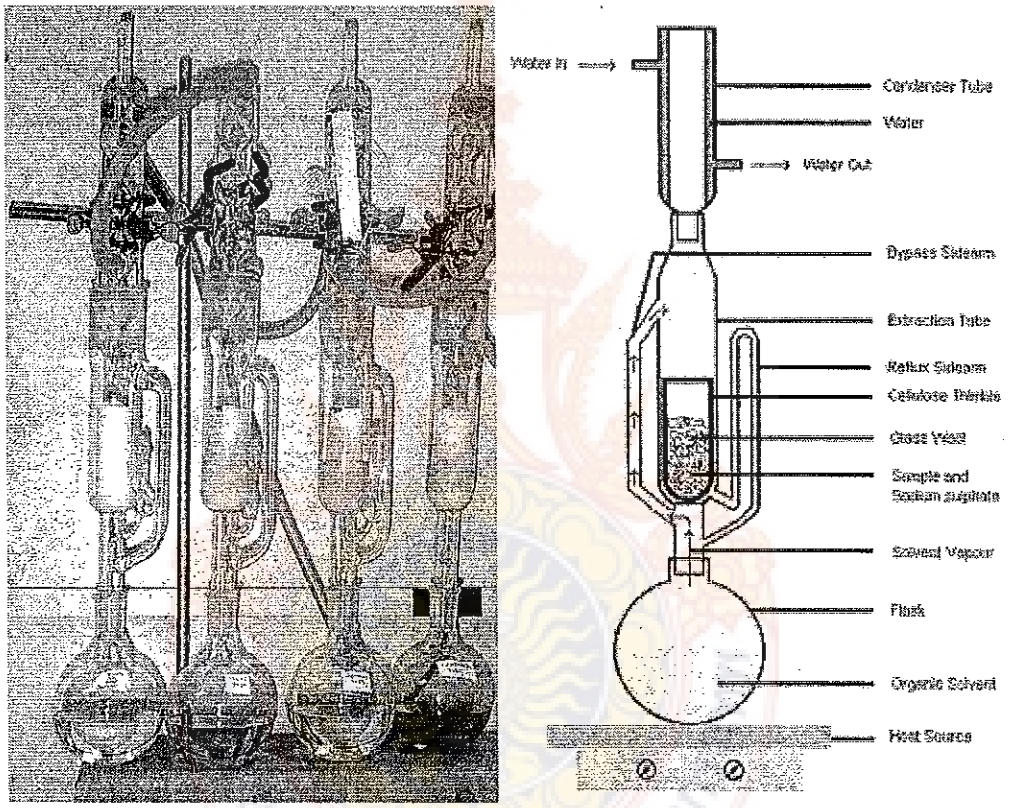
(5) ในการศึกษาของไหลวิกฤตยิ่งยวดสามารถทราบว่าความหนาแน่นจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ และความดันที่ให้แก่สาร กล่าวคือเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นความหนาแน่นจะน้อยลง และเมื่อความดันเพิ่มขึ้นความหนาแน่นจะเพิ่มขึ้น ดังนั้นถ้าอุณหภูมิในการทดลองมีอุณหภูมิต่ำ และความดันสูงจะได้ของไหลวิกฤตยิ่งยวดที่มีความหนาแน่นสูง ซึ่งสามารถเพิ่มความสามารถในการจับสารที่อยู่ภายในอนุภาคได้มากขึ้น

(6) สมบัติในการเลือกจับ กล่าวคือความสามารถในการเลือกจับสารตัวใดตัวหนึ่งโดยเฉพาะซึ่งค่านี้จะมีผลต่อการละลายของสารที่ต้องการสกัดออกมา

2.3 การสกัดแบบต่อเนื่อง [8, 9]

มีบ่อยครั้งที่สารอินทรีย์ที่เกิดในธรรมชาติเป็นจำนวนน้อย และจำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายสำหรับการสกัดเป็นจำนวนมาก หรือสารอินทรีย์นั้นละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ได้น้อย เป็นต้น ซึ่งการใช้เครื่องมือสกัดแบบธรรมดานั้นแยกไม่ได้ผลดี ดังนั้นจึงต้องอาศัยเครื่องมือที่สามารถสกัดได้ติดต่อกันไป คือ การสกัดแบบต่อเนื่อง (Continuous extraction) โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า เครื่องสกัดแบบซอกเลต (Soxhlet extraction) ซึ่งเป็นท่อแก้วสำหรับของแข็งที่ต้องการสกัด ข้างหนึ่งมีแขนเพื่อให้ไอของตัวทำละลายจากขวดที่อยู่ด้านล่างระเหยขึ้นสู่ด้านบน ส่วนด้านบนจะต่อกับเครื่องควบแน่นด้านข้างอีกด้านหนึ่งเป็นท่อแก้วที่ขดเป็นสองชั้น เมื่อไอของตัวทำละลายควบแน่นลงมาจะ

ค้างอยู่ในเครื่องซอกเลตทำให้แช่สารเอาไว้ เมื่อสารละลายมีระดับสูงพอจะเกิดความดันที่ทำให้สารละลายนั้นไหลกลับสู่ขวดต้มด้านล่าง ดังรูปที่ 2.8 เนื่องจากตัวทำละลายบางชนิดมีจุดเดือดที่สูงหรือสารสกัดที่สลายตัวง่ายด้วยความร้อน จึงจำเป็นต้องลดอุณหภูมิในการสกัดโดยการต่อปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump) เข้ากับชุดสกัดแบบซอกเลต เพื่อลดความดันในการสกัด โดยการต่อเข้าทางด้านบนของส่วนควบแน่น โดยปริมาณสารที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีซอกเลตแบบลดความดัน จะขึ้นอยู่กับสภาพขั้วของตัวทำละลาย จำพวกของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดรวมทั้งอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด



รูปที่ 2.8 อุปกรณ์และไดอะแกรมของชุดสกัดแบบซอกเลต

2.4 การออกแบบแผนการทดลองแบบลาตินสแควร์ [10, 11]

การออกแบบแผนการทดลองแบบลาตินสแควร์ (Latin Square Design, LSD) เป็นการออกแบบการทดลองโดย การกำหนดตัวแปรที่ต้องทำการศึกษาอย่างน้อย 3 ตัวแปร ซึ่งในการออกแบบการทดลองนี้จะช่วยให้สามารถลดจำนวนของชุดการทดลองได้ แต่การที่จะนำไปวิเคราะห์ผลนั้นจำเป็นต้องใช้การคำนวณทางสถิติเข้ามาช่วย

2.4.1 เงื่อนไขการใช้

แผนการทดลองแบบนี้ ใช้ในกรณีที่พบว่ามีสาเหตุที่ทำให้เกิดการผันแปรในหน่วยทดลองสองสาเหตุก่อนให้ทรีตเมนต์ หน่วยทดลองจะถูกจัดกลุ่มในสองทิศทาง (Two directional grouping) ตามสาเหตุของความผันแปร ซึ่งเรียกว่า ความผันแปรในแถวแนวนอน (Rows) และความผันแปรในแถวแนวตั้ง (Columns)

เนื่องจากในแต่ละแถวแนวนอนและแถวแนวตั้งจะต้องใส่ได้ครบทุกทรีตเมนต์ ดังนั้น ขนาดของแถวแนวนอน ขนาดแนวแถวตั้งและจำนวนทรีตเมนต์จะต้องเท่ากันหรือกำหนดว่าจำนวนแถวแนวนอนเท่ากับจำนวนแนวตั้งเท่ากับจำนวนทรีตเมนต์

2.4.2 วิธีการสุ่ม

การสุ่มทรีตเมนต์ให้กับหน่วยทดลองจะกระทำโดยมีเงื่อนไขว่า โดยที่ในแต่ละแถวแนวนอนและในแต่ละแถวแนวตั้งจะต้องมีครบ วิธีการสุ่มอาจทำได้ 2 วิธี

(1) สุ่มผังลาตินสแควร์ผังใดผังหนึ่งมาใช้ จากผังลาตินสแควร์ที่สร้างที่เป็นไปได้ทั้งหมดในแต่ขนาดของลาตินสแควร์ดังนี้

กำหนดให้ A, B, C, D เป็นทรีตเมนต์ ผังลาตินสแควร์ที่สร้างขึ้นโดยทำให้แถวแนวนอนที่หนึ่งและแถวแนวตั้งที่หนึ่งมีการจัดทรีตเมนต์เรียงตามลำดับตัวอักษร (Alphabetical order) จะถูกเรียกว่า ผังลาตินสแควร์มาตรฐาน (Standard latin square) ตัวอย่างเช่น

A	B
B	A

รูปที่ 2.9 ผังลาตินสแควร์มาตรฐานแบบ 2 × 2

A	B	C
B	C	A
C	A	B

รูปที่ 2.10 ผังลาตินสแควร์มาตรฐานแบบ 3 × 3

A	B	C	D
B	C	D	A
C	D	A	B
D	A	B	C

รูปที่ 2.11 ผังลาตินสแควร์มาตรฐานแบบ 4 × 4 แบบที่ 1

A	B	C	D
B	D	A	C
C	A	D	B
D	C	B	A

รูปที่ 2.12 ผังลาตินสแควร์มาตรฐานแบบ 4 × 4 แบบที่ 2

A	B	C	D
B	A	D	C
C	D	A	B
D	C	B	A

รูปที่ 2.13 ผังลาตินสแควร์มาตรฐานแบบ 4 × 4 แบบที่ 3

ถ้า r × r เป็นลาตินสแควร์ที่มีจำนวนแถวนอนเท่ากับจำนวนแถวตั้งเท่ากับ r (เท่ากับจำนวนทรีตเมนต์) จำนวนผังลาตินสแควร์ที่เป็นไปได้ทั้งหมดต่อผังลาตินสแควร์มาตรฐานหนึ่งผังจะเท่ากับ (r! (r – 1))!

(2) ใช้การสุ่มจากผังลาตินสแควร์มาตรฐานตามขนาดที่ต้องการมาหนึ่งผัง จากนั้นจะจัดลำดับของแถวแนวนอนและแถวแนวตั้งใหม่ โดยอาศัยการสุ่มตัวอย่าง เช่น ใช้การทดลองแบบลาตินสแควร์ขนาด 4 × 4 สมมติผังลาตินสแควร์มาตรฐานตามรูปที่ 2.14

		แถวแนวตั้ง			
		1	2	3	4
แถวแนวนอน	1	A	B	C	D
	2	B	C	D	A
	3	C	D	A	B
	4	D	A	B	C

รูปที่ 2.14 ผังลาตินสแควร์มาตรฐานแบบ 4 × 4 โดยการสุ่มตัวอย่าง

จัดลำดับแถวแนวนอน โดยสุ่มสมมติได้ลำดับแถวแนวนอนใหม่เป็น 3, 1, 2, 4 จะได้แผนผังตามรูปที่ 2.15

		แถวแนวตั้ง			
		1	2	3	4
แถวแนวนอน	3	C	D	A	B
	1	A	B	C	D
	2	B	C	D	A
	4	D	A	B	C

รูปที่ 2.15 ผังลาตินสแควร์มาตรฐานแบบ 4 × 4 โดยการสุ่มแถวแนวนอน

จัดลำดับแถวแนวตั้ง โดยสุ่มสมมติได้ลำดับแถวแนวตั้งใหม่เป็น 4, 3, 1, 2 จะได้แผนผังตามรูปที่ 2.16

		แถวแนวตั้ง			
		4	3	1	2
แถวแนวนอน	1	B	A	C	D
	2	D	C	A	B
	3	A	D	B	C
	4	C	B	D	A

รูปที่ 2.16 ผังลาตินสแควร์มาตรฐานแบบ 4 × 4 โดยการสุ่มแถวแนวตั้ง

2.5 งานวิจัยที่ผ่านมา

นครินทร์ มัททวีวงศ์ และ จริยาภรณ์ กองละมุด [7] ศึกษาการสกัดนิมบินจากเมล็ดสะเดา โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดและตัวทำละลายร่วม โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกเป็นการศึกษาสมบัติของเนื้อในเมล็ดสะเดาบดได้แก่ ปริมาณความชื้นและขนาดอนุภาค พบว่าเนื้อในเมล็ดสะเดาบดมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 962 μm และมีความชื้นเฉลี่ยร้อยละ 2.39 โดยน้ำหนัก ส่วนที่สองศึกษาตัวแปรที่มีผลต่อปริมาณการสกัดนิมบิน ตัวแปรที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ เมทานอล เอทานอล ไดคลอโรมีเทน และเอทิลอะซิเตต อุณหภูมิที่ 30, 35, 40 และ 45°C และความดันเกจที่ 10, 15, 20 และ 25 MPa โดยออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์ และใช้ปริมาณตัวทำละลายร่วม 10% โดยปริมาตร จากการทดลอง พบว่าปริมาณนิมบินที่สกัดได้มากที่สุดที่ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายร่วมต่อกรัมของเมล็ดสะเดา คือ 0.0990 mg/g neem seed โดยภาวะในการสกัด คืออุณหภูมิ 45°C และความดันเกจ 25 MPa

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง [9] ทำการทดลองศึกษาการสกัดสารนิมบินจากเมล็ดสะเดา โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด โดยใช้อุณหภูมิคงที่ 50°C และแปรค่าความดัน ระหว่าง 100-300 bar พบว่าเมื่อใช้ความดัน 200 bar สามารถสกัดสารนิมบินได้มากที่สุดคือ 0.0379 mg/g neem seed ส่วนสารนิมบินที่สกัดได้จะมีปริมาณมากขึ้นเมื่อความดันเพิ่มขึ้น และเมื่อใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายร่วมสกัดร่วมกับคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด จึงพบว่าสามารถสกัดสารนิมบินได้มากขึ้น แต่เนื่องจากการทดลองเป็นเพียงการทดลองเบื้องต้น จึงจำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติม เพื่อหาชนิดและภาวะที่เหมาะสมในการใช้ตัวทำละลายร่วมเพื่อทำให้สกัดนิมบินได้ปริมาณมากที่สุด

ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม และคณะ [10] ทำการทดลองศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัด เวลาที่เหมาะสมในการสกัดสาระสำคัญหลักที่พบในฟ้าทะลายโจรโดยการรีฟลักซ์ (Reflux) ที่ 30, 60, 90 และ 120 นาที การวิเคราะห์ปริมาณแลคโตนรวมด้วยการไตเตรทพบว่าที่เวลา 60 นาที เป็นเวลาที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งมีประมาณแลคโตนรวมเฉลี่ย 13.09% และทดสอบความแม่นยำในการวิเคราะห์โดยทดสอบตัวอย่างเดียวกันซ้ำๆ กัน ต่างวัน และต่างเวลา จำนวน 16 ครั้ง นำผลที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์การกระจาย พบว่าปริมาณแลคโตนรวมอยู่ในช่วง $X \pm 2SD$ คือ 13.16 ± 0.66 ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายเท่ากับ 2.52%

นันทนิจ ผลพนา และคณะ [13] ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารออกฤทธิ์ในฟ้าทะลายโจร ศึกษาสารออกฤทธิ์ 3 ตัว ได้แก่ สารแอนโดรกราโฟไลด์ (AP_1) 14-ดีออกซี-11,12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ (AP_3) และนีโอแอนโดรกราโฟไลด์ (AP_4) โดยสกัดด้วยเมทานอลจากใบแห้ง กิ่ง และผลิตภัณฑ์สด และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้เมทานอล และน้ำเป็นตัวพา ที่ความยาวคลื่น 220 nm พบว่าปริมาณสารประกอบหลัก จะพบแตกต่างกันในจากผู้ส่งที่ต่างกัน การเพิ่ม และความ

เสถียรของสารทั้งสาม จะได้ผลคือ สมุนไพรแห้งสามารถเก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง และสารแอนโดร-กราโฟไลด์จะพบมากที่สุด 14-ดีออกซี-11,12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์จะเพิ่มขึ้น และนีโอ-แอนโดรกราโฟไลด์ แปรผันตามเวลาที่ใช้ในการเก็บรักษา ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทั้งสามขึ้นอยู่กับแหล่งวัตถุดิบ และเปลี่ยนไปตามเวลาที่ใช้ในการเก็บ

รศ.ดร.ยุทธนา ศิริวัธนนุกูล และคณะ [14] ได้ทำการวิจัยเรื่อง "การใช้ประโยชน์พืชสมุนไพรในการลดต้นทุนการผลิต และเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเนื้อสุกรที่มีคุณภาพสูง และปลอดยาปฏิชีวนะตกค้าง" โดยมีการศึกษาการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในสมุนไพร 5 ชนิด ที่ใช้วิจัยคือ ฟ้าทะลายโจร ใบฝรั่ง ขมิ้นชัน ไพล และเปลือกผลมังคุด การทดสอบฤทธิ์ของสมุนไพรในการรักษาหมูที่ป่วยเป็นโรคท้องร่วงและโรคระบบทางเดินหายใจเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ การศึกษาการใช้สมุนไพรทดแทนยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงหมู การศึกษาคุณภาพซากหมูที่เลี้ยงด้วยสมุนไพร และการศึกษารสชาติของเนื้อหมูและไขมันในเลือดหมูที่เลี้ยงด้วยสมุนไพร ซึ่งการวิจัยดังกล่าวใช้เวลาตั้งแต่ พ.ศ. 2543 ถึง พ.ศ. 2547 โดยใช้หมูในการศึกษามากกว่า 500 ตัว พบว่า จากการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ตัวอย่างสมุนไพรแห้ง 5 ชนิด พบว่า ฟ้าทะลายโจรมีสาร lactone 9.72% ใบฝรั่งมีสาร tannin 13.33% เปลือกผลมังคุดมีสาร tannin 4.25% ขมิ้นชันมีสาร curcuminoids 10.44% และ volatile oil 7.0% ส่วนไพลมีสาร volatile oil 2.5% การทดสอบฤทธิ์สมุนไพรในการรักษาโรคท้องร่วงและโรคระบบทางเดินหายใจในหมูเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ จากการทดลองรักษาลูกหมูที่ท้องร่วงจำนวน 136 ตัว ด้วยสมุนไพร 5 ชนิด เปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะโดยสมุนไพรที่ทำให้ลูกหมูหายท้องร่วงได้ดีเรียงตามลำดับคือ ฟ้าทะลายโจร ใบฝรั่ง เปลือกผลมังคุด ไพล และขมิ้นชัน สำหรับการรักษาหมูที่เป็นโรคระบบทางเดินหายใจ 153 ตัว ด้วยสมุนไพร 5 ชนิด เปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ พบว่า สมุนไพร 4 ชนิด ที่มีผลการรักษาใกล้เคียงยาปฏิชีวนะ เรียงลำดับคือ ไพล ฟ้าทะลายโจร ใบฝรั่งและเปลือกผลมังคุด โดยที่ขมิ้นชันให้ผลในการรักษาน้อยมาก การทดลองใช้สมุนไพรทดแทนยาปฏิชีวนะในอาหารหมูขุน จากการทดลองสูตรสมุนไพรฟ้าทะลายโจรร่วมกับใบฝรั่ง 4 สูตรในอาหารหมูขุนน้ำหนัก 25-90 กิโลกรัม จำนวน 40 ตัว พบว่าให้ผลด้านการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารใกล้เคียงกับการใช้ยาปฏิชีวนะและพบว่าสูตรสมุนไพร 2 สูตร มีต้นทุนถูกกว่าการใช้ยาปฏิชีวนะ 2 บาทต่อน้ำหนักหมูเพิ่มขึ้น 1 กิโลกรัม นอกจากนี้ยังได้ทดลองใช้ตำรับสมุนไพรที่มีชื่อว่าพูฟฝ์ 1 ซึ่งเป็นส่วนผสมระหว่างไพล ฟ้าทะลายโจร และใบฝรั่ง เปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะในอาหารหมูขุนน้ำหนัก 30-90 กิโลกรัม จำนวน 88 ตัว พบว่า พูฟฝ์ 1 ให้ผลดีใกล้เคียงกับยาปฏิชีวนะ และมีต้นทุนถูกกว่า 1.50 บาทต่อน้ำหนักสุกรเพิ่มขึ้น 1 กิโลกรัม สำหรับสมุนไพรตำรับอื่นที่ใช้สมุนไพร 4 ชนิด ขณะนี้การทดลองใกล้จะแล้วเสร็จเรียบร้อย และมีแนวโน้มให้ผลดีเช่นกัน การศึกษาคุณภาพซากหมู รสชาติเนื้อหมู และไขมันในเลือดหมู จากการศึกษาซากหมูพบว่าหมูที่เลี้ยงด้วยสมุนไพรมี

ไขมันสันหลังบางกว่าสุกรที่เลี้ยงด้วยยาปฏิชีวนะ และจากการทดสอบชิมเนื้อหมูพบว่า ผู้ทดสอบ 73% ชอบเนื้อหมูสมุนไพรมากกว่าเนื้อหมูจากตลาด และ 55% ชอบเนื้อหมูที่เลี้ยงด้วยพูฟฝ์ 1 มากกว่าที่เลี้ยงด้วยยาปฏิชีวนะ โดยให้เหตุผลเรื่องรสชาติอร่อย นุ่ม และไม่มีกลิ่นคาวเหมือนเนื้อหมูทั่วไป และจากการตรวจวิเคราะห์ไขมันในเลือดหมูที่เลี้ยงด้วยสมุนไพรพบว่ามีค่า คอเลสเตอรอล (Cholesterol) และไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ต่ำกว่าหมูที่เลี้ยงด้วยยาปฏิชีวนะ 20% และ 30% ตามลำดับ จากการวิจัยที่ผ่านมาประมาณ 3 ปีกว่า แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้สมุนไพรที่ศึกษาทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงหมูขุนได้ 100% ได้เนื้อหมูที่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคและมีต้นทุนต่ำด้วยเช่นกัน

บทที่ 3

วิธีการทำงานวิจัย

บทนี้กล่าวถึงวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากใบฟ้าทะลายโจร แบ่งออกเป็น 4 ส่วน คือ ส่วนแรกการศึกษาสมบัติทางกายภาพของฟ้าทะลายโจร ได้แก่ ขนาดอนุภาค และปริมาณความชื้น ส่วนที่สองศึกษาการสกัดด้วยวิธีซอกเลตแบบลดความดัน ส่วนที่สามศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดโดยออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์ ส่วนที่สี่ศึกษาผลของความดันต่อการสกัดสารด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 <u>วัตถุดิบ</u>

ใบฟ้าทะลายโจรของร้านขายยาเจ้ากรมเป๋อ

3.1.2 <u>เครื่องมือ</u>

- ตู้อบสาร
- ตะแกรงร่อนเบอร์ 40, 80, 140 และ 400
- เครื่องสกัดสารด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวดยี่ห้อ ISCO รุ่น SFX 3560 ของบริษัทฟอร์จูน ไซแอนทิฟิค จำกัด
- เครื่องตัด (Cutting machine)
- โถดูดความชื้น
- ชุดเครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ขนาด 10, 50, 250 และ 500 mL ปิเปตขนาด 1 mL
- เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- ชุดเครื่องมือการสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาด้วยซอกเลตแบบลดความดันประกอบด้วยชุดซอกเลต ขวดก้นกลมขนาด 500 mL ที่ดักไอสาร อ่างควบคุมอุณหภูมิ ปั๊มสุญญากาศ เทอร์โมมิเตอร์ และสายยาง

3.1.3 <u>สารเคมี</u>

- เมทานอล 99.8% HPLC Grade
- แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) 99.0%
- ใยแก้ว

3.2 วิธีการทดลอง

งานวิจัยนี้ทำการทดลองศึกษาตัวแปรที่มีผลต่อการสกัดสารจำพวกแลคโตนจากใบฟ้าทะลายโจรโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดโดยมีขั้นตอนในการทดลองดังนี้

- เตรียมใบฟ้าทะลายโจรบด โดยนำใบฟ้าทะลายโจรมาผึ่งลมให้แห้ง แล้วบดด้วยเครื่องบดให้ละเอียด
- หาสมบัติทางกายภาพของใบฟ้าทะลายโจรบด ได้แก่ความชื้น และขนาดอนุภาค
- สกัดสารจำพวกแลคโตนจากใบฟ้าทะลายโจรบดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ตัวแปรที่ทำการศึกษา ได้แก่ อุณหภูมิ ความดัน และปริมาณของใบฟ้าทะลายโจรบดที่ใช้ในการสกัด โดยออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์ วิเคราะห์ปริมาณสารจำพวกแลคโตนที่สกัดได้ด้วยเครื่อง HPLC และนำผลการวิเคราะห์แต่ละสภาวะมาคำนวณทางสถิติ เพื่อศึกษาผลของตัวแปรต่างๆ ต่อการสกัด
- ศึกษาผลของความดันต่อการสกัดสารจำพวกแลคโตนด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

3.2.1 <u>การเตรียมฟ้าทะลายโจร</u> คัดแยกใบฟ้าทะลายโจรออกจากกิ่ง และลำต้น แล้วนำมาลดขนาดอนุภาคด้วยเครื่องตัด หลังจากนั้นนำใบฟ้าทะลายโจรที่ผ่านการลดขนาดมาคัดแยกขนาดของใบฟ้าทะลายโจรโดยใช้ตะแกรงเบอร์ 40, 80, 140 และ 400 เลือกใบฟ้าทะลายโจรที่อยู่บนชั้นที่มีขนาดอนุภาคอยู่ระหว่าง 0.2-0.5 mm โดยเลือกชั้นระหว่างตะแกรงเบอร์ 80 และ 140 มาทำการทดลอง

(1) หาความชื้นของฟ้าทะลายโจรบด

ชั่งน้ำหนักของใบฟ้าทะลายโจร 5 g นำฟ้าทะลายโจรที่ใส่ในภาชนะ อบที่อุณหภูมิ 103-105 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น นำฟ้าทะลายโจรไปชั่งน้ำหนัก และนำไปอบจนทราบน้ำหนักคงที่ เพื่อคำนวณหาค่าร้อยละความชื้นในฟ้าทะลายโจร จากสมการที่ 1

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \frac{A-B}{A} \times 100 \qquad 1)$$

โดยที่ A คือ น้ำหนักใบฟ้าทะลายโจรก่อนอบ

B คือ น้ำหนักใบฟ้าทะลายโจรหลังอบ

(2) หาขนาดอนุภาคเฉลี่ยของฟ้าทะลายโจรบด

นำใบฟ้าทะลายโจรที่ผ่านการลดขนาดอนุภาค บันทึกเบอร์เมส (mesh) ของตะแกรงชั้นที่ฟ้าทะลายโจรอยู่ และชั้นที่ฟ้าทะลายโจรลอดผ่าน คำนวณหาขนาดอนุภาคของฟ้าทะลายโจรจากสมการที่ 2

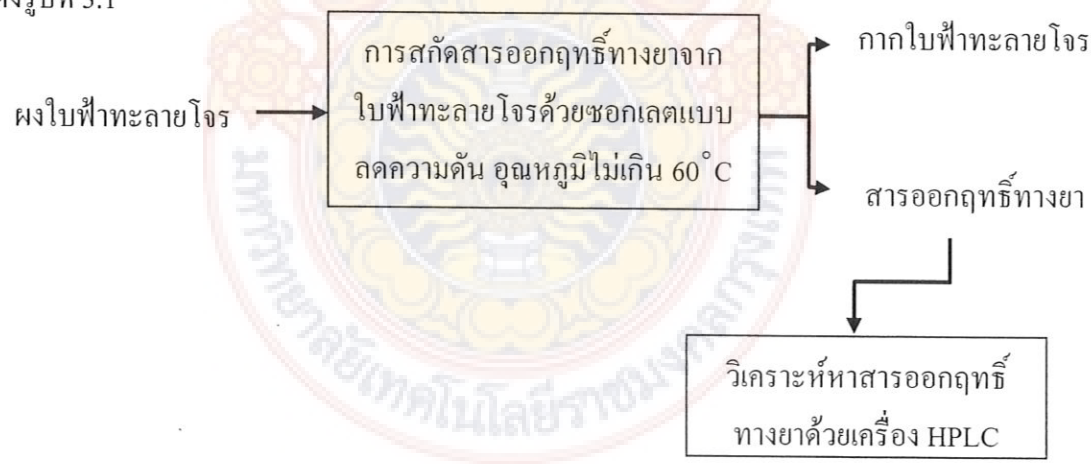
$$\text{ขนาดอนุภาคเฉลี่ย} = \frac{D_1 + D_2}{2} \qquad 2)$$

โดยที่ D_1 คือขนาดช่องรูเปิดชั้นที่ใบฟ้าทะลายโจรลอดผ่าน

D_2 คือขนาดช่องรูเปิดชั้นที่ใบฟ้าทะลายโจรค้างอยู่

3.2.2 <u>การสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากใบฟ้าทะลายโจรด้วยซอกเลตแบบลดความดัน</u>

ชั่งใบฟ้าทะลายโจร 10 g ใส่ในกรวยกระดาษ (Thimble) เติมตัวทำละลายเมทานอล 300 mL ลงในขวดก้นกลมขนาด 500 mL ปรับอุณหภูมิไม่เกิน 60 °C ใช้ปั๊มสุญญากาศลดความดันของการสกัด เป็นการลดจุดเดือดของสารให้ต่ำลง และใช้ที่ดักไอสารเพื่อดักไอของตัวทำละลายไม่ให้เข้าไปในปั๊ม โดยต่อเข้ากับปั๊มสุญญากาศ อีกด้านของที่ดักไอสารต่อกับด้านบนของท่อแก้ว เมทานอลจะระเหยกลายเป็นไอ และควบแน่นเป็นของเหลวเมื่อได้ระดับหนึ่งกาลักน้ำจะไหลย้อนกลับมาที่ก้นขวด เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ หาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาด้วยเครื่อง HPLC มีขั้นตอนการทดลองดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 การทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากใบฟ้าทะลายโจรด้วยซอกเลตแบบลดความดัน

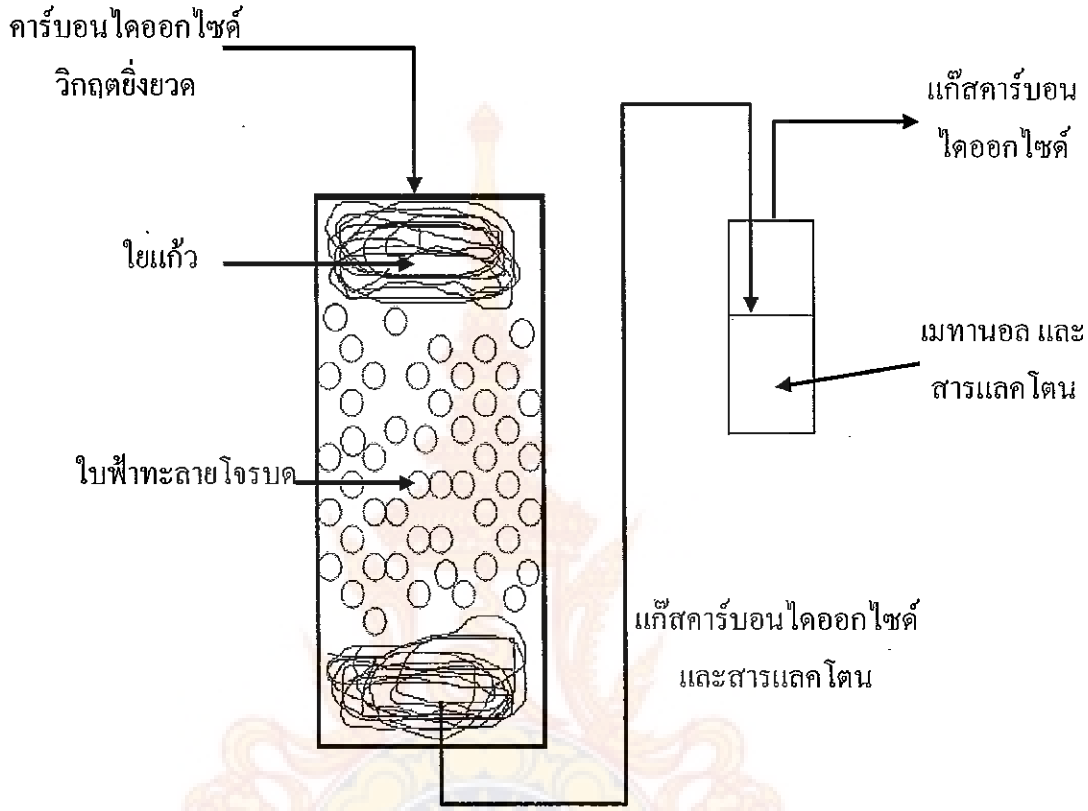
3.2.3 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากใบฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

เตรียมวัตถุดิบในการสกัดโดยชั่งใบฟ้าทะลายโจร 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 g ใส่ในคาเทรด (Cartridge) แล้วนำมาใส่บนจานหมุนของเครื่องสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด ดังรูปที่ 3.2 เติมเมทานอล เกรดสำหรับ HPLC ใส่ในหลอดเก็บสาร 10 mL นำคาเทรด และหลอดเก็บสาร ใส่ในเครื่องสกัดแบบของไหลวิกฤต เปิดเครื่องสกัดแบบของไหลวิกฤต และปั๊ม ตั้งค่าต่างๆ ตามตารางลาตินสแควร์ สกัดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง สารออกฤทธิ์ทางยาจะออกมาพร้อมกับคาร์บอนไดออกไซด์ โดยสารออกฤทธิ์ทางยาจะถูกเก็บในตัวทำละลายเมทานอลปริมาตร 10 mL หลังจากนั้นนำสารละลายที่สกัดได้มาวิเคราะห์สารจำพวกแลคโตนด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง ส่วนคาร์บอนไดออกไซด์จะระเหยออกสู่บรรยากาศ ดังแสดงในรูปที่ 3.3 จากนั้นทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนค่าตัวแปรตามตารางลาตินสแควร์ ดังตารางที่ 3.1

รูปที่ 3.2 เครื่องสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด ของบริษัท ISCO รุ่น SFX 3560

งานวิจัยส่วนนี้จะทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยนำข้อมูลที่ได้จากวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์ 14-ดีออกซี-11,12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ นีโอแอนโดรกราโฟไลด์ และ 14-ดีออกซีแอนโดรกราโฟไลด์ ที่สกัดได้ด้วยเครื่อง HPLC มาคำนวณทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ค่าแวเรนซ์ (variance) เพื่อหาค่าความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติของผลของตัวแปรค่าต่างๆ โดย

เปรียบเทียบระหว่าง F ที่ได้จากการคำนวณและ $F_{0.10}$ จากตาราง และการเปรียบเทียบออโธโกนอล เพื่อหาค่าที่เหมาะสมที่สุดของตัวแปรแต่ละตัว



รูปที่ 3.3 แผนผังการสกัดสารด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

ตารางที่ 3.1 ภาวะต่างๆ ของการสกัดสารจำพวกแลคโตนจากใบฟ้าทะลายโจรบดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด โดยการออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์

อุณหภูมิ (°C)	ปริมาณใบฟ้าทะลายโจร (g) ความดัน (MPa)			
	10	15	20	25
40	1.0	2.5	2.0	1.5
45	1.5	1.0	2.5	2.0
50	2.0	1.5	1.0	2.5
55	2.5	2.0	1.5	1.0

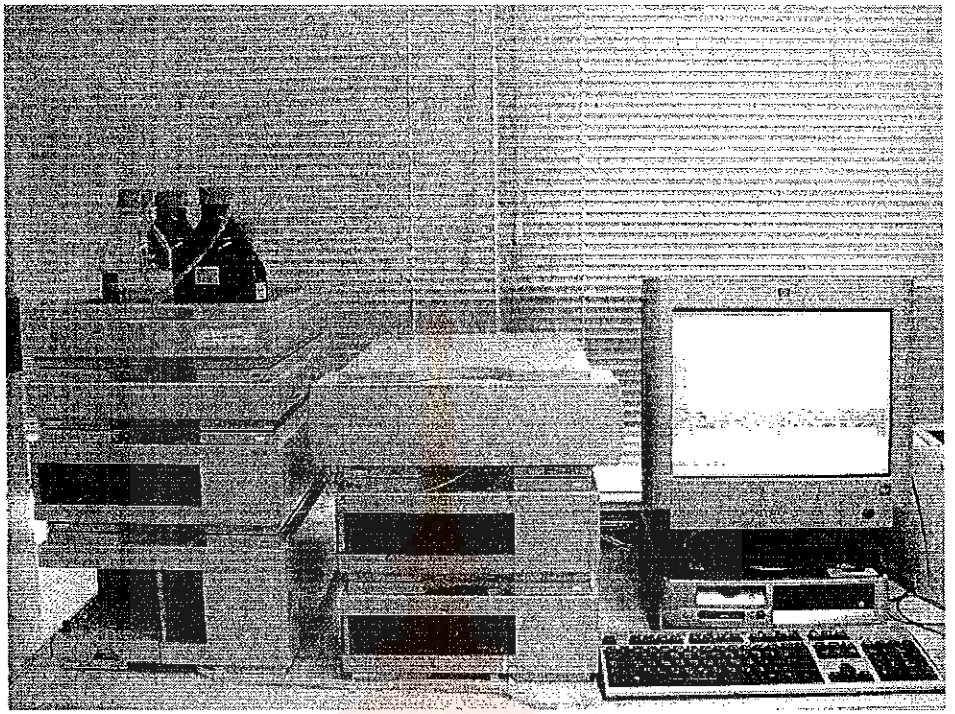
3.2.4 การศึกษาผลของความดันต่อการสกัดสารจำพวกแลคโตนด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

ทำการทดลองศึกษาผลของความดันต่อการสกัดสารจำพวกแลคโตนด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดโดยชั่งใบฟ้าทะลายโจร 1.0 g ใส่ในคาแทรด (Cartridge) แล้วนำมาใส่บนจานหมุนของเครื่องสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด เติมเมทานอล เกรดสำหรับ HPLC ใส่ในหลอดเก็บสาร 10 mL นำคาแทรด และหลอดเก็บสาร ใส่ในเครื่องสกัดแบบของไหลวิกฤต เปิดเครื่องสกัดแบบของไหลวิกฤต และปั๊ม ตั้งค่าอุณหภูมิ 55 °C และความดัน 25, 27, 29, 31, 33, 40 และ 42 MPa สกัดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง สารออกฤทธิ์ทางยาจะออกมาพร้อมกับคาร์บอนไดออกไซด์ โดยสารออกฤทธิ์ทางยาจะถูกเก็บในตัวทำละลายเมทานอลปริมาตร 10 mL ส่วนคาร์บอนไดออกไซด์จะระเหยออกสู่บรรยากาศ หลังจากนั้นนำสารละลายที่สกัดได้มาวิเคราะห์สารจำพวกแลคโตนด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง

3.2.5 การวิเคราะห์หาปริมาณสารที่สกัดได้ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

นำสารที่สกัดได้จากการสกัดด้วยซอกเลตแบบลดความดัน และการสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวดไปวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยา ได้แก่ แอนโดรกราโฟไลด์ นีโอแอนโดรกราโฟไลด์ 14-ดีออกซี-11,12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ และ14-ดีออกซีแอนโดรกราโฟไลด์ โดยใช้เครื่อง HPLC ดังรูปที่ 3.4 ซึ่งมีภาวะ มีดังนี้

คอลัมน์	: RP_{18} guard column (124 x 4 mm ID)
สารละลายตัวพา	: 50.5% methanol in water
อัตราการไหล	: 1.2 mL/min
ปริมาณที่ฉีด	: 1 μL
อุณหภูมิของคอลัมน์	: 25 °C
เครื่องตรวจวัด	: Photodiode array detector ที่ความยาวคลื่น 220 nm



รูปที่ 3.4 เครื่องโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง ของบริษัท Hewllett Packard รุ่น HP1100

บทที่ 4

ผลการทำงานวิจัย และการอภิปรายผล

ผลการทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดที่ภาวะต่างๆ โดยบทนี้จะกล่าวถึงตัวแปรอุณหภูมิ ความดัน และปริมาณใบฟ้าทะลายโจรที่มีผลต่อการสกัดสารออกฤทธิ์ทางยา โดยการกำหนดเงื่อนไขของการทดลองแบบลาตินสแควร์ และผลการคำนวณทางสถิติ

4.1 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของใบฟ้าทะลายโจรบด

นำใบฟ้าทะลายโจรที่ผ่านการลดขนาดอนุภาคด้วยเครื่องตัด มาคัดขนาดอนุภาคโดยใช้ตะแกรงแยกขนาดตั้งแต่เบอร์ 40 ถึง 400 และคำนวณหาขนาดอนุภาค จากการทดลองได้ใบฟ้าทะลายโจรมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 0.302 mm และทราบปริมาณความชื้นเฉลี่ยร้อยละ 13.12 โดยน้ำหนักของใบฟ้าทะลายโจร

4.2 การสกัดด้วยซอกเลตแบบลดความดัน

การทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากฟ้าทะลายโจรด้วยซอกเลตแบบลดความดัน โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอล โดยทำการสกัดเป็นเวลา 9 ชั่วโมง ใช้ใบฟ้าทะลายโจรบด 3 g สามารถหาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาในใบฟ้าทะลายโจรได้ ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาที่สกัดโดยซอกเลตแบบลดความดัน

สาร	ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยา(mg/g dry weight)
AP_1	33.67
AP_3	15.06
AP_4	7.92
AP_6	6.07

4.3 การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดโดยการออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์

การทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ในการทดลองนี้จะศึกษาตัวแปรที่มีผลต่อการสกัดสารออกฤทธิ์ทางยา เช่น อุณหภูมิที่ 40, 45, 50 และ 55 °C ความดันที่ 10, 15, 20 และ 25 MPa และปริมาณใบฟ้าทะลายโจร 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 g โดยออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์ ดังตารางที่ 3.1 อนุภาคของใบฟ้าทะลายโจร 0.302 mm ทำการสกัดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาจากฟ้าทะลายโจรด้วยเครื่อง HPLC ได้ผลการทดลองดังตารางที่ ก.2 – ก.5 ในภาคผนวก ก

จากการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางยาด้วยเครื่อง HPLC จะเห็นได้ว่า พบสาร AP_1 ได้บางการทดลอง และไม่พบสาร AP_4 ในการทดลองนี้ จากตารางที่ ก.4 และ ก.6 พบว่าการสกัดที่ใช้อุณหภูมิ 55 °C ความดัน 25 MPa และปริมาณใบฟ้าทะลายโจร 2.5 g จะให้ปริมาณสาร AP_3 และAP_6 เท่ากับ 136.00 และ 57.87 ppm ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่มากสุดเมื่อเทียบกับปริมาณใบฟ้าทะลายโจร 1 g เมื่อเปรียบเทียบอุณหภูมิ และความดันต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง พบว่าเมื่ออุณหภูมิลดลง และความดันเพิ่มขึ้น ค่าความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์จะเพิ่มขึ้น ทำให้ความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทางยาจากฟ้าทะลายโจรมากขึ้น ดังนั้นจึงต้องมีการปรับภาวะในการสกัดเพื่อให้มีความหนาแน่นมากขึ้น จึงนำค่าความเข้มข้นของสาร AP_3 และ AP_6 มาใช้ในการคำนวณทางสถิติ

เมื่อนำสารสกัดที่สกัดได้จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เพื่อหาความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทางยา และนำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทางยามาวิเคราะห์ทางสถิติ และเปรียบหาภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากฟ้าทะลายโจร ค่าจากการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4.2 และตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.2 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความเข้มข้น AP_3 และ AP_6

Sort of variance (SOV)	F		$F_{0.1}$
	AP_3	AP_6	
Row (อุณหภูมิ)	0.48	0.49	3.29
Column (ความดัน)	23.39*	25.34*	3.29
ปริมาณใบฟ้าทะลายโจร	0.84	0.80	3.29

หมายเหตุ * เป็นค่าที่มากกว่าค่า $F_{0.1}$

ตารางที่ 4.2 เมื่อเปรียบเทียบค่า F ซึ่งได้จากการคำนวณ กับค่า $F_{0.1}$ ที่ได้จากการเปิดตารางค่า F ที่ความเชื่อมั่น 90% โดยมี degree of freedom ของตัวแปร = 3 (υ_1 = 3) และ degree of freedom

ของ Error = 6 (υ_2 = 6) พบว่าค่า F ของความดันมีค่ามากกว่าค่า $F_{0.1}$ แสดงว่าความดันมีผลต่อความเข้มข้นของสาร AP_3 และ AP_6 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนอุณหภูมิ และปริมาณใบฟ้าทะลายโจร จะไม่มีผลต่อสกัดสารAP_3 และ AP_6 ดังนั้นจะนำความดันไปวิเคราะห์เปรียบเทียบแบบ orthogonal comparison (รายละเอียดการคำนวณดูในภาคผนวก ค

ตารางที่ 4.3 ผลการคำนวณความแปรปรวนของความเข้มข้นสาร AP_3 และ AP_6 ระหว่างความดันต่างๆ

Sort of variance (SOV)	F		$F_{0.1}$
	AP_3	AP_6	
ความดัน			
10 VS 15	6.58*	7.29*	3.18
10 VS 20	41.49*	45.55*	3.18
10 VS 25	69.37*	75.64*	3.18
15 VS 20	15.02*	16.39*	3.18
15 VS 25	33.22*	35.96*	3.18
20 VS 25	3.56*	3.79*	3.18

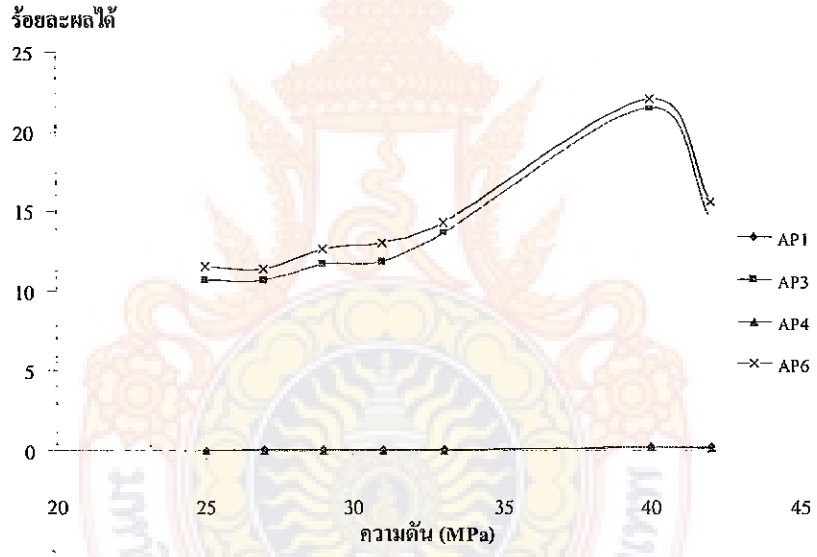
หมายเหตุ * เป็นค่าที่มากกว่าค่า $F_{0.1}$

จากตารางที่ 4.3 เมื่อเปรียบเทียบค่า F ซึ่งได้จากการคำนวณ กับค่า $F_{0.1}$ ซึ่งได้จากการเปิดตารางค่า F ณ ความเชื่อมั่น 90% โดยมีค่า degree of freedom ของความดันที่เปรียบเทียบกันเท่ากับ 1 และ degree of freedom ของ Error เท่ากับ 12 พบว่าค่า F ของทุกคู่มีค่ามากกว่า ค่า F ณ ความเชื่อมั่น 90% degree of freedom ของตัวแปร = 1 (υ_1 = 1) และ degree of freedom ของ Error = 12 (υ_2 = 12) พบว่าค่า F ของทุกคู่มีค่ามากกว่า ค่า F ณ ความเชื่อมั่น 90% ซึ่งทำให้ทราบค่าความแตกต่างของความดันแต่ละคู่ และความดันในคู่ที่ทำให้ความเข้มข้นของสาร AP_3 และ AP_6 ได้ดีกว่า สามารถดูได้จากค่าความเข้มข้นของเฉลี่ยของ AP_3และ AP_6 ซึ่งดูได้จากตารางที่ ค.3

จากการเปรียบเทียบแบบ orthogonal comparison จะได้ว่าที่ความดัน 25 MPa ให้ความเข้มข้นเฉลี่ยของ AP_3 และ AP_6 มากกว่าความดันที่ 10, 15 และ 20 MPa เนื่องจากความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์จะขึ้นอยู่กับความดันเป็นส่วนใหญ่ คือถ้าความดันเพิ่ม ความหนาแน่นจะเพิ่มตามไปด้วย ทำให้สามารถสกัดสาร AP_3 และ AP_6 ได้มาก

4.4 การศึกษาผลของความดันต่อการสกัดสารจำพวกแลคโตนด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

ทดลองศึกษาผลของความดันต่อการสกัดสารจำพวกแลคโตนด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดโดยใช้ใบฟ้าทะลายโจร 1.0 g อุณหภูมิ 55 °C และความดัน 25, 27, 29, 31, 33, 40 และ 42 MPa สกัดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาจากฟ้าทะลายโจรด้วยเครื่อง HPLC ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.1 มีรายละเอียดดังตารางที่ ก.7 ภาคผนวก ก



รูปที่ 4.1 ผลของความดันต่อการสกัดสารจำพวกแลคโตนจากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

จากรูปที่ 4.1 พบว่าเมื่อความดันในการสกัดมากขึ้น AP_3 และ AP_6 ถูกสกัดออกมาได้มากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อความดันมากขึ้นทำให้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดมีความหนาแน่นมากขึ้น การเพิ่มความหนาแน่นทำให้โมเลกุลของคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดกับตัวถูกละลายอยู่ใกล้กัน การละลายของตัวถูกละลายจึงเพิ่มขึ้น ทำให้สกัดได้มากขึ้น ส่วนที่ความดัน 42 MPa สกัดได้น้อยลงอาจเป็นผลเนื่องมาจากที่ความดันสูงทำให้ใบฟ้าทะลายโจรถูกอัดแน่นทำให้โมเลกุลของคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดแพร่กระจายเข้าไปในรูพรุนของผงใบฟ้าทะลายโจรได้น้อยลงทำให้สกัดสารได้น้อยลง

บทที่ 5

สรุปผลการทำงานวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาตัวแปรที่มีผลต่อค่าความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทางยาจากฟ้าทะลายโจร ที่สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ ความดัน และปริมาณใบฟ้าทะลายโจร โดยการออกแบบการทดลองแบบตารางลาตินสแควร์

5.1 สรุปผลการทดลอง

การทดลองนี้ทำการทดลองโดยศึกษาตัวแปร 3 ตัว คือ อุณหภูมิ ความดัน และปริมาณใบฟ้าทะลายโจร ซึ่งมีตัวแปรละ 4 ค่า โดยมีรายละเอียดดังนี้ คือ อุณหภูมิ เป็น 40, 45, 50 และ 55 °C ความดันที่ใช้ คือ 10, 15, 20 และ 25 MPa ปริมาณใบฟ้าทะลายโจรที่ใช้ คือ 1, 1.5, 2.0 และ 2.5 g สกัดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยใช้เครื่องสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด โดยกำหนดเงื่อนไขการทดลองเป็นแบบตารางลาตินสแควร์

จากการวิเคราะห์ทางสถิติสามารถคำนวณค่าความแปรปรวนความเข้มข้นของสารที่สกัดได้ จะได้ค่า F ของความดันมีค่ามากกว่า $F_{0.1}$ แต่ F ของอุณหภูมิ และปริมาณใบฟ้าทะลายโจรมีค่าน้อยกว่า $F_{0.1}$ เพราะฉะนั้นจึงสรุปได้ว่าความดันในการสกัดทำให้สกัดสารออกฤทธิ์ทางยาได้ มีค่าความเข้มข้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิตินำมาเปรียบเทียบแบบ Orthogonal comparison ระหว่างค่าความดันต่างๆ

เมื่อนำค่า F ของความดันในการสกัดมาเปรียบเทียบกันพบว่าที่ความดัน 25 MPa ให้ค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของสารที่สกัดได้มากกว่าความดัน 20, 15 และ10 MPa ตามลำดับ นั่นหมายความว่าที่ความดัน 25 MPa เป็นค่าที่ทำให้สามารถสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาออกมาได้มาก เมื่อเปลี่ยนความดันเป็นค่าอื่นจะทำให้ความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทางยามีค่าแตกต่างกันมาก

เมื่อดูจากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาที่สกัดได้ จะพบว่าในภาวะการทดลองที่ออกแบบที่อุณหภูมิ 55 °C ความดัน 25 MPa และปริมาณใบฟ้าทะลายโจร 1 g ให้ค่าผลได้มากที่สุด เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยซอกเลตแบบลดความดัน โดยร้อยละผลได้ของสาร AP_3 และ AP_6 เท่ากับ 9.03 และ 9.53 ตามลำดับ สารที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์สูงมีสารอื่นเจือปนน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยตัวทำละลายของเหลวเมทานอล ส่วน AP_1 ได้ 0.04% และไม่พบ AP_4

จะเห็นว่าร้อยละผลได้ของสาร AP_3 และ AP_6 ที่สกัดได้มีค่าน้อย จึงได้ศึกษาผลของความดันต่อการสกัดสารจำพวกแลคโตนด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด จากการทดลองพบว่าความดันในการสกัดมากขึ้น AP_3 และ AP_6 ถูกสกัดออกมาได้มากขึ้น และเมื่อความดันสูงมากเกินไปทำให้สกัดได้น้อยลงอาจเป็นผลเนื่องมาจากที่ความดันสูงทำให้ใบฟ้าทะลายโจรถูกอัดแน่น งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาภาวะสำหรับการสกัดสารจากฟ้าทะลายโจรเบื้องต้น เพื่อนำไปศึกษาวิจัยเพิ่มเติมต่อไป

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรศึกษาระยะเวลาในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

5.2.2 ควรศึกษาการใช้ตัวทำละลายร่วมเข้ามาใช้ในการสกัด เพื่อศึกษาการสกัดสาร AP_1 และ AP_4

เอกสารอ้างอิง

1. จุไรรัตน์ เกิดดอนแฝก. 2544. **สมุนไพร บำบัดเบาหวาน.** กรุงเทพฯ: เซเว่น พริ้นติ้ง กรุ๊ป.
2. สภาอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทย. 2547. **นวัตกรรมสมุนไพรไทย ก้าวไกลสู่ อุตสาหกรรม.** กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทย และการแพทย์ทางเลือก. 1-15.
3. สำนักบริการคอมพิวเตอร์. 2545. "ฟ้าทะลายโจร" **นิตยสารสวนเกษตร.** [online] Available: http://www.ku.ac.th/e-magazine/february45/agri/far.html. (วันที่สืบค้น 18 กันยายน 2550)
4. สมพร ภูติยานนท์. 2542. **ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการแพทย์แผนไทย.** ครั้งที่ 2. ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
5. วีณา จิรัจฉริยากูล. 2534. **ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ.** ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
6. นิตยา แซ่ลี้. 2548. **เทคนิคการสกัดสารจากพืชสมุนไพรโดยอาศัยของไหลเหนือวิกฤต.** สาขาวิชาเภสัชเคมีและเภสัชเวช คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
7. อุทัย โสธนะพันธุ์ และรพีพล ภโววาร. 2536. **"Supercritical fluid"** วารสารศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 3, 37 – 63.
8. นครินทร์ มัททวีวงศ์ และ จริยาภรณ์ กองละมุด. 2548. **การสกัดนิมบินจากเมล็ดสะเดาโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยวดยิ่งและตัวทำละลายร่วม.** สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม คณะเทคโนโลยีเคมี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ.
9. ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง. 2545. **การศึกษาความเป็นไปได้ในการสกัดสารที่มีประโยชน์ทางการแพทย์จากเมล็ดสะเดาโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด.** มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
10. สุรวิทย์ กองสาสนะ. 2523. **ความน่าจะเป็นและสถิติ.** กรุงเทพ. 386-389.
11. อนันต์ชัย เขื่อนธรรม. 2539. **หลักการวางแผนการทดลอง.** 327.
12. ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม, นันทนา ชื่นอิ่ม, พัชราภรณ์ ภู่ไพบูลย์ และ พินิจ ไพรสนธิ์. 2550. "เวลาที่เหมาะสมในการสกัดแลคโตนรวมในฟ้าทะลายโจร" **การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 45** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์. 30 มกราคม – 2 กุมภาพันธ์. 308 – 313.
13. Nanthanit Pholphana, Nuchanart Rangkadilok, Sanit Thongnest, Somsak Ruchirawat, Mathuros Ruchirawat and Jutamaad Satayavivad. 2004. "Determination and Variation of

Three Active Diterpenoids in Andrographis paniculata (Burm.f.) Nees" **Phytochemical Analysis**. 15, 365-371.

14. ยุทธนา ศิริวัธนนุกูลและคณะ. 2549. "การวิจัยการใช้สมุนไพรทดแทนยาปฏิชีวนะในการผลิตเนื้อหมูที่ปลอดภัย" **ประชาคมวิจัย.** [online] Available:http://rescom2006.trf.or.th /display/show_colum_print.php?id_colum=450 (วันที่สืบค้น 18 กันยายน 2550)

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ข้อมูลผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นสารออกฤทธิ์ทางยาจากสารตัวอย่าง และวัตถุดิบ และตัวอย่างโครมาโทแกรม

ตารางที่ ก.1 กำหนดตัวแปรภาวะของการทดลอง

อุณหภูมิ (°C)	ปริมาณใบฟ้าทะลายโจร (g)			
	ความดัน (MPa)			
	10	15	20	25
40	A1	A2	A3	A4
45	A5	A6	A7	A8
50	A9	A10	A11	A12
55	A13	A14	A15	A16

ตารางที่ ก.2 ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นสารออกฤทธิ์ทางยาจากฟ้าทะลายโจร

การทดลองที่	ความเข้มข้นของสารแลคโตนหลัก (ppm)			
	AP_1	AP_3	AP_4	AP_6
A1	N.D.	22.84±0.05	N.D.	11.51±0.01
A2	N.D.	66.24±0.07	N.D.	29.66±0.01
A3	N.D.	134.14±0.13	N.D.	59.01±0.01
A4	N.D.	128.23±0.13	N.D.	57.11±0.06
A5	N.D.	14.25±0.03	N.D.	6.29±0.05
A6	N.D.	65.39±0.10	N.D.	28.30±0.08
A7	N.D.	139.01±0.04	N.D.	59.77±0.03
A8	1.06±0.00	163.22±0.10	N.D.	71.06±0.12
A9	N.D.	5.80±0.07	N.D.	2.55±0.01
A10	N.D.	58.44±0.20	N.D.	25.59±0.07
A11	N.D.	115.29±0.10	N.D.	49.95±0.13
A12	1.33±0.07	237.51±0.41	N.D.	100.12±0.17
A13	N.D.	4.60±0.08	N.D.	1.84±0.05
A14	N.D.	47.60±0.14	N.D.	20.60±0.06
A15	N.D.	136.58±0.12	N.D.	58.31±0.14
A16	1.19±0.03	136.46±0.35	N.D.	57.87±0.20
วัตถุดิบ	33.67±0.33	15.06±0.16	7.92±0.10	6.07±0.06

N.D. : Not detected

AP_1 : Andrographolide

AP_3 : 14-Deoxy-11,12-didehydroandrographolide

AP_4 : Neoandrographolide

AP_6 : 14-Deoxyandrographolide

ตารางที่ ก.3 ความเข้มข้นของสาร AP_1 ที่สกัดได้จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด โดยการออกแบบการทดลองแบบลาตินแควร์

อุณหภูมิ (°C)	ความเข้มข้น AP_1 (ppm)			
	ความดัน (MPa)			
	10	15	20	25
40	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
45	N.D.	N.D.	N.D.	1.06
50	N.D.	N.D.	N.D.	1.33
55	N.D.	N.D.	N.D.	1.19

ตารางที่ ก.4 ความเข้มข้นของสาร AP_3 ที่สกัดได้จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด โดยการออกแบบการทดลองแบบลาตินแควร์

อุณหภูมิ (°C)	ความเข้มข้น AP_3 (ppm)			
	ความดัน (MPa)			
	10	15	20	25
40	22.84	66.24	134.14	128.23
45	14.25	65.39	139.01	163.22
50	5.80	58.44	115.29	237.51
55	4.60	47.60	136.58	136.00

ตารางที่ ก.5 ความเข้มข้นของสาร AP_4 ที่สกัดได้จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดโดยการออกแบบการทดลองแบบลาตินแควร์

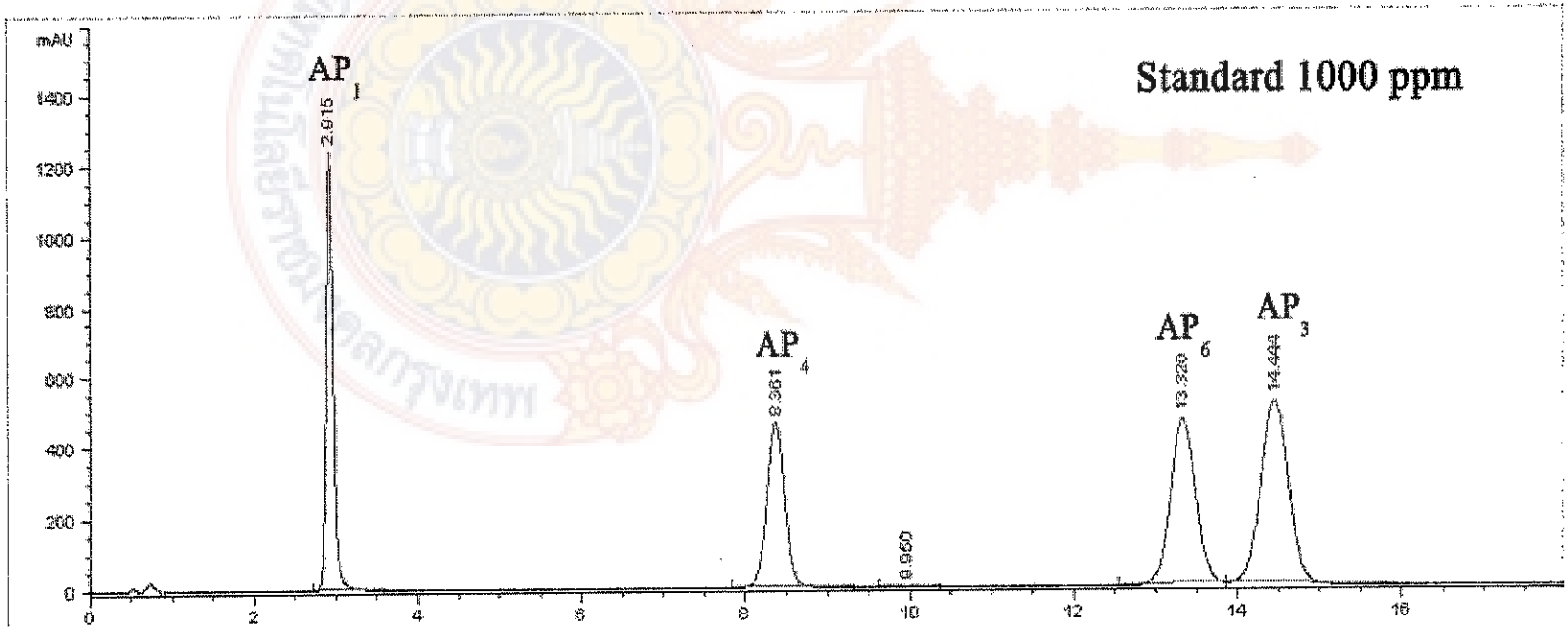
อุณหภูมิ (°C)	ความเข้มข้น AP_4 (ppm)			
	ความดัน (MPa)			
	10	15	20	25
40	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
45	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
50	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
55	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

ตารางที่ ก.6 ความเข้มข้นของสาร AP_6 ที่สกัดได้จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดโดยการออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์

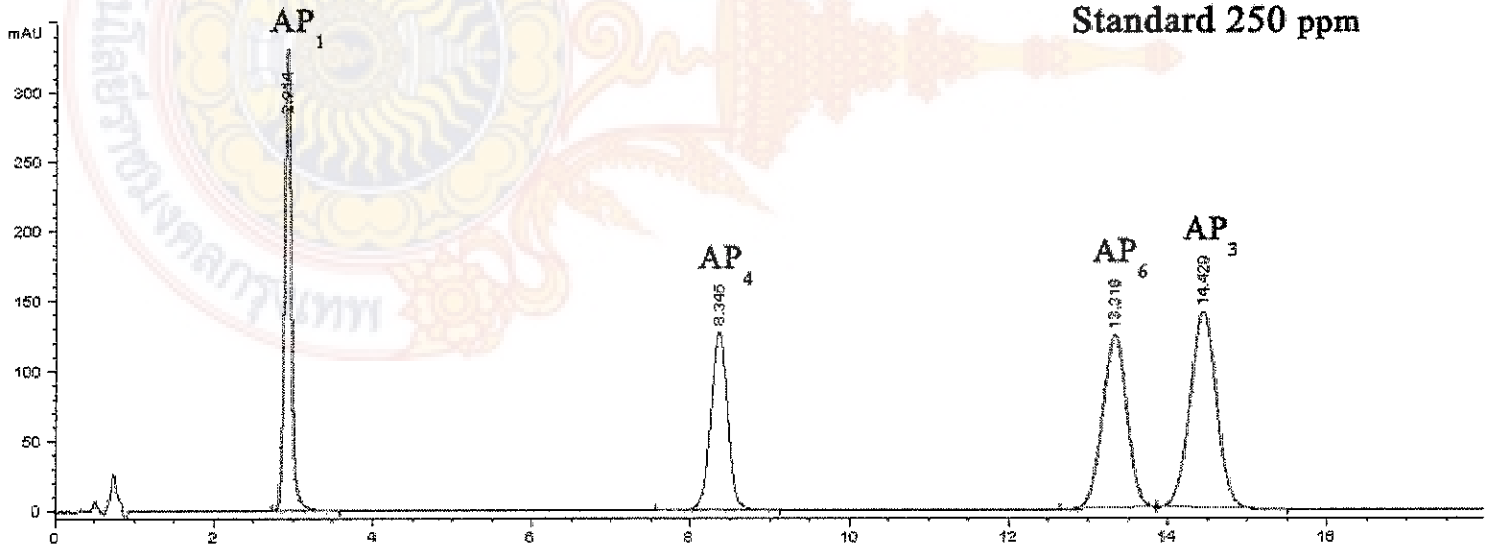
อุณหภูมิ (°C)	ความเข้มข้นAP_6 (ppm)			
	ความดัน (MPa)			
	10	15	20	25
40	11.51	29.66	59.01	57.11
45	6.29	28.30	59.77	71.06
50	2.55	25.59	49.95	100.12
55	1.84	20.60	58.31	57.87

ตารางที่ ก.7 ผลของความดันในการสกัดสาร AP_1, AP_3, AP_4 และ AP_6 จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

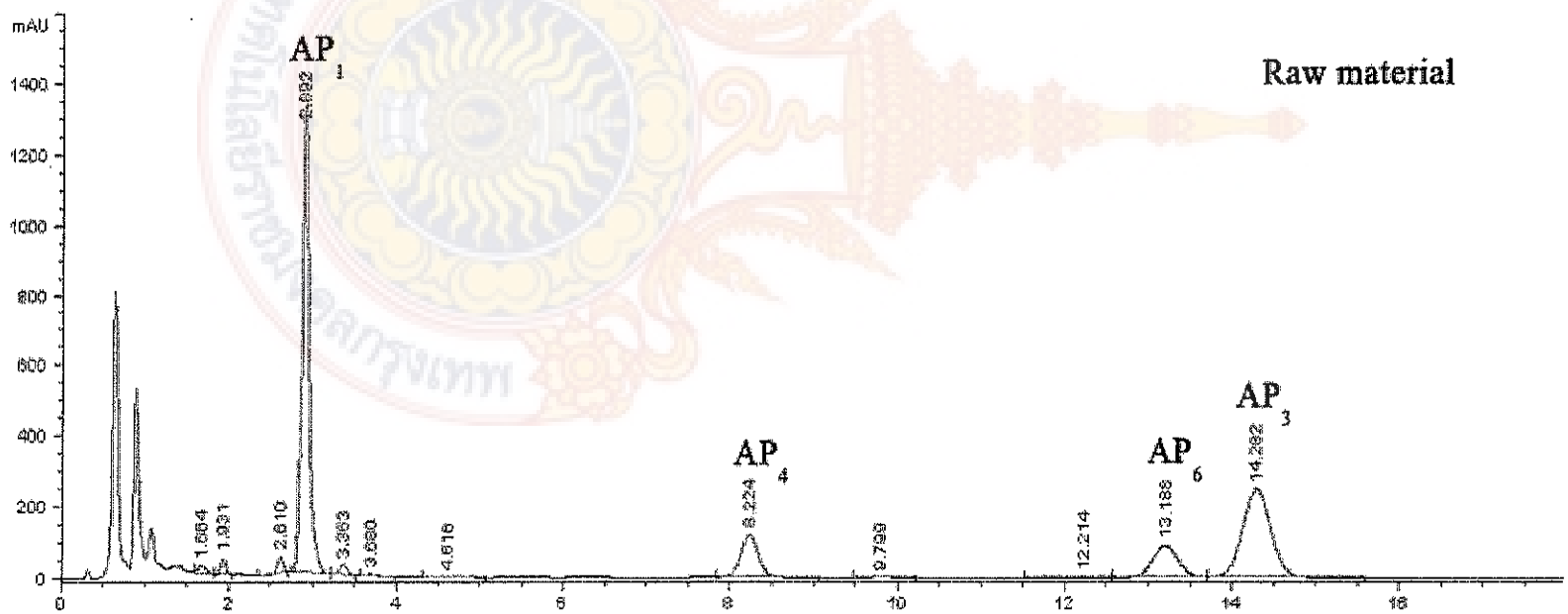
ความดัน (MPa)	ความเข้มข้น (ppm)			
	AP_1	AP_3	AP_4	AP_6
25	0.01	1.61	0	0.7
27	0.02	1.61	0	0.69
29	0.03	1.77	0	0.77
31	0.03	1.79	0	0.79
33	0.03	2.06	0	0.87
40	0.08	3.24	0.02	1.34
42	0.09	2.18	0.01	0.95



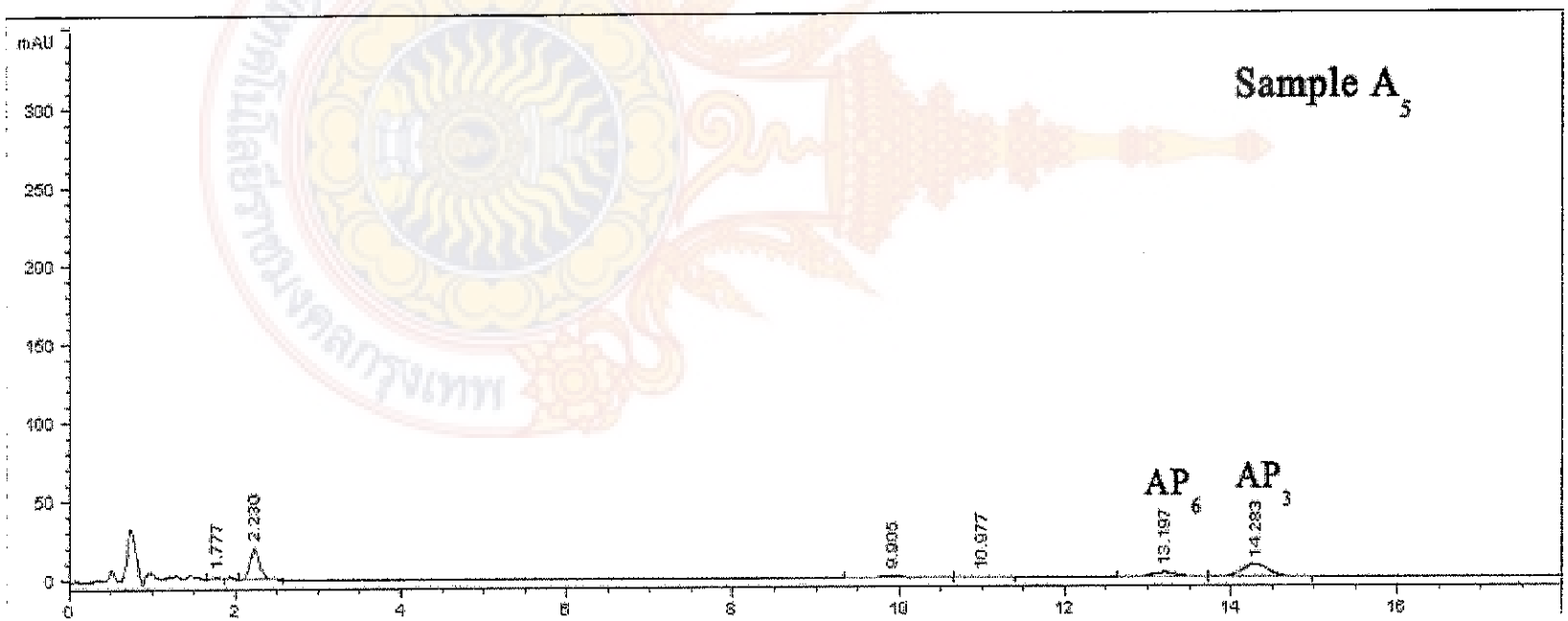
รูปที่ ก.1 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน AP_1, AP_3, AP_4 และAP_6 1000 ppm



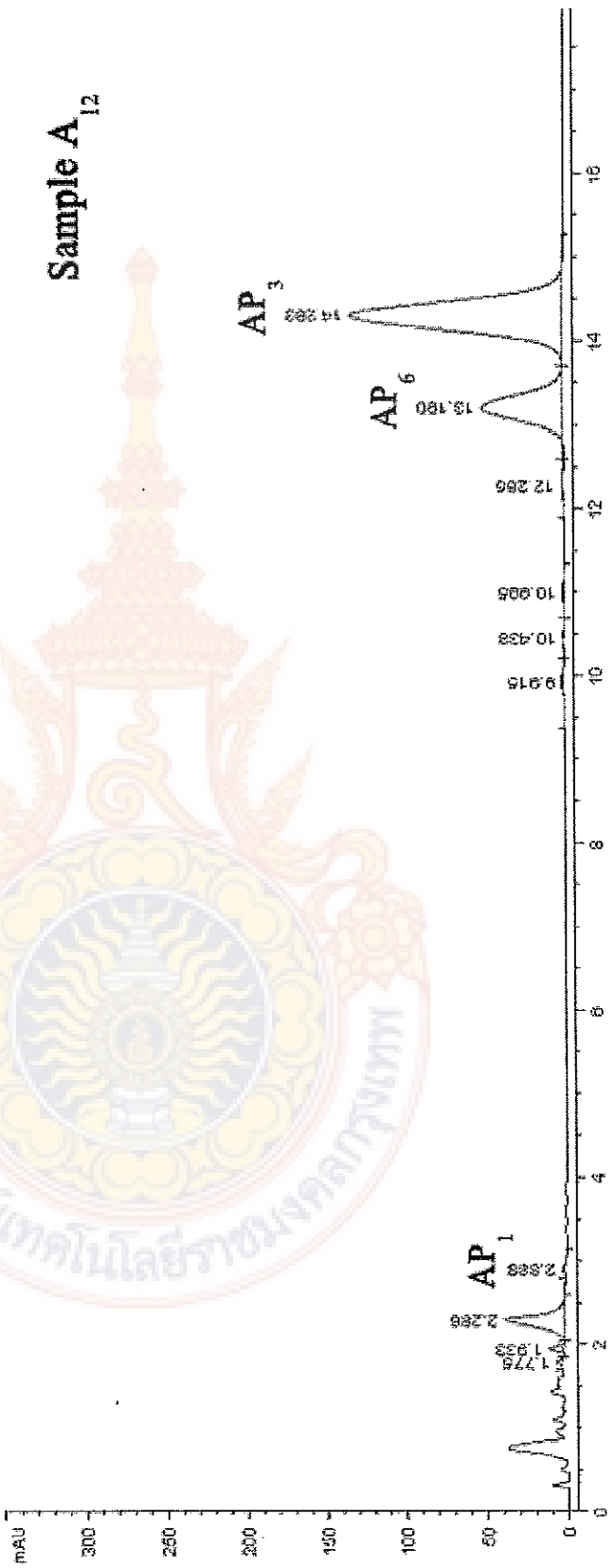
รูปที่ ก.2 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน AP_1, AP_3, AP_4 และAP_6 250 µg/mL



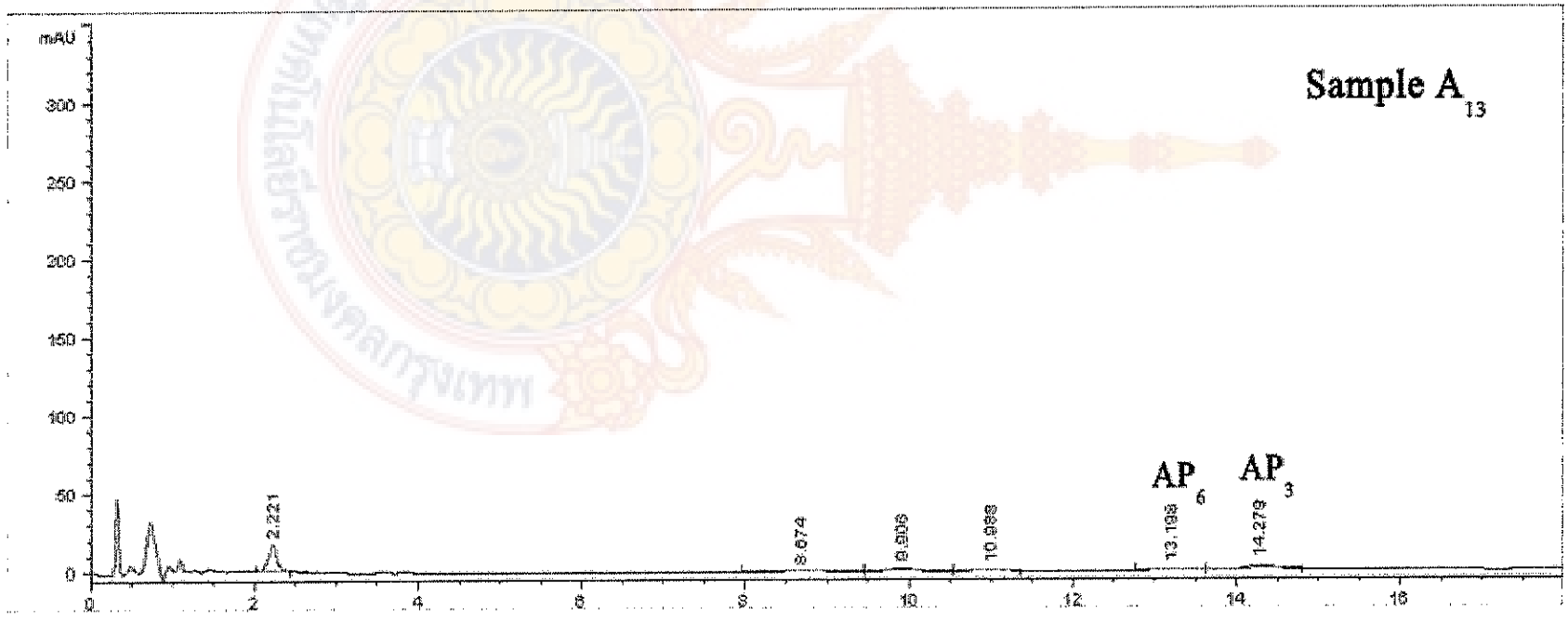
รูปที่ ก.3 โครมาโทแกรมของสารประเภทแลคโตนหลักในฟ้าทะลายโจรสกัดด้วยซอกเลตแบบลดความดัน



รูปที่ ก.4 โครมาโทแกรมของสารสกัด จากการทดลอง A_5



รูปที่ ก.5 โครมาโทแกรมของสารสกัด จากการทดลอง A_{12}



รูปที่ ก.6 โครมาโทแกรมของสารสกัด จากการทดลอง A_{13}

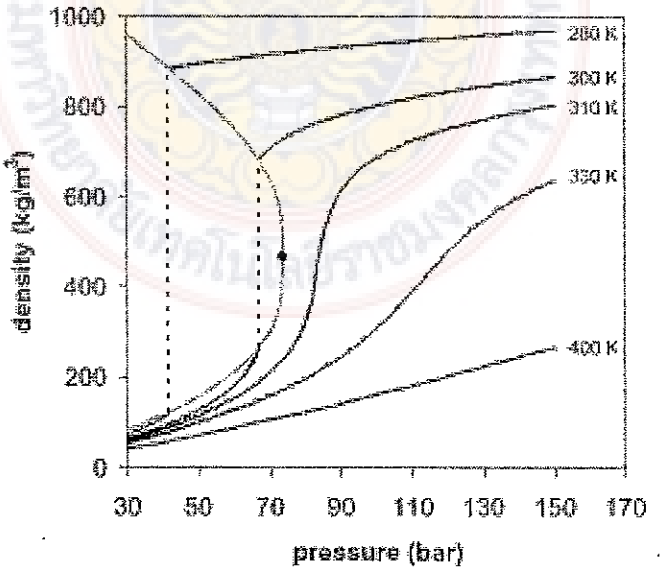
ภาคผนวก ข

ความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดที่ภาวะการทดลองต่างๆ

บทนี้จะกล่าวถึงความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด โดยใช้โปรแกรม SF Solver ซึ่งสามารถหาค่าความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด และยังสามารถหาความสัมพันธ์ระหว่าง ความดัน และความหนาแน่นได้

ตาราง ข.1 ความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

อุณหภูมิ (°C)	ความหนาแน่น (g/cm^3) ความดัน (MPa)			
	10	15	20	25
40	0.6070	0.7900	0.8480	0.8860
45	0.4790	0.7500	0.8220	0.8660
50	0.3850	0.7080	0.7910	0.8400
55	0.3300	0.6600	0.7590	0.8150



รูปที่ ข.1 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นกับความดันของคาร์บอนไดออกไซด์

ภาคผนวก ค

วิธีการคำนวณทางสถิติ

บทนี้กล่าวถึงการคำนวณทางสถิติ เพื่อหาค่าความแปรปรวนของความเข้มข้นสารออกฤทธิ์ทางยาจากฟ้าทะลายโจรที่สกัดได้ตามตารางการทดลองแบบลาตินสแควร์

ค.1 การออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์

ในการทดลองนี้จะมีตัวแปร 3 ตัวที่มีผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาจากฟ้าทะลายโจรที่สกัดได้ ได้แก่ ความดัน อุณหภูมิ และปริมาณใบฟ้าทะลายโจร โดยแต่ละตัวแปรมี 4 ค่า ดังนั้นจะต้องทำการทดลองถึง 64 ครั้ง ซึ่งแต่ละการทดลองต้องใช้เวลา และทุนในการทดลองมาก จึงได้เลือกใช้วิธีการออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์ มาช่วยลดจำนวนครั้งในการทดลองให้เหลือการทดลองเพียง 16 ครั้ง และเนื่องด้วยมี 3 ตัวแปร ซึ่งสามารถจัดแผนการทดลองเข้ากับการทดลองดังกล่าวได้ โดยแต่ละแถวแนวนอน หรือแถวแนวตั้งเป็นตารางที่สมบูรณ์ คือ มีปริมาณใบฟ้าทะลายโจรทั้ง 4 ค่า และที่ปริมาณใบฟ้าทะลายโจรหนึ่งๆ จะปรากฏการทดลองเพียงครั้งเดียว แสดงดังตารางที่ ค.1 โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้สามารถดึงความแตกต่างเนื่องจากแถวแนวนอน หรือแถวแนวตั้งออกจากความคลาดเคลื่อนได้

ตารางที่ ค.1 การออกแบบการทดลองแบบลาตินสแควร์

อุณหภูมิ (°C)	ปริมาณใบฟ้าทะลายโจร ความดัน (MPa)			
	10	15	20	25
30	1.0	2.5	2.0	1.5
35	1.5	1.0	2.5	2.0
40	2.0	1.5	1.0	2.5
45	2.5	2.0	1.5	1.0

ตารางที่ ค.2 ความเข้มข้นของสาร AP_3 ที่สกัดได้จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดที่การทดลองต่างๆ

อุณหภูมิ (°C)	ความเข้มข้น AP_3 (ppm) ความดัน (MPa)			
	10	15	20	25
40	22.84	66.24	134.14	128.23
45	14.25	65.39	139.01	163.22
50	5.80	58.44	115.29	237.51
55	4.60	47.60	136.58	136.00

ค.2 การคำนวณค่าความแปรปรวนของความเข้มข้นของสารที่สกัดได้และการเปรียบเทียบสำหรับตารางลาตินสแควร์

นำข้อมูลจากตารางที่ ค.2 มาคำนวณค่าต่างๆ ดังแสดงผลที่ได้จากการคำนวณในตารางที่ ค.3

ตารางที่ ค.3 ผลรวมความเข้มข้นในแต่ละคอลัมน์ และแถว

(Row_i) อุณหภูมิ (°C)	($Column_j$) ความเข้มข้นของ AP_3 (ppm) ความดัน (MPa)				Row Total
	10	15	20	25	
40	22.84	66.24	134.14	128.23	351.45
45	14.25	65.39	139.01	163.22	381.87
50	5.80	58.44	115.29	237.51	417.04
55	4.60	47.60	136.58	136.00	324.78
X_j Column Total	47.49	237.67	525.02	664.96	1475.14

ตารางที่ ค.4 ผลรวม และค่าเฉลี่ยของค่าความเข้มข้นของสาร AP_3 ที่ได้จากปริมาณใบฟ้าทะลายโจรต่างๆ

	ปริมาณใบฟ้าทะลายโจร			
	1.00	1.50	2.00	2.50
ผลรวม = X_p	339.52	447.36	350.76	337.50
ผลรวมเฉลี่ย = $\overline{X_p}$	84.88	111.84	87.69	84.38

ตัวอย่างการคำนวณ

ผลรวมตามแถวที่ 1 = 22.84+66.24+134.14+128.23 = 351.45

ผลรวมตามคอลัมน์ที่ 1 = 22.84+14.25+5.80+4.60 = 47.49

ผลรวมความเข้มข้นของสาร AP_3จากการปริมาณใบฟ้าทะลายโจร 1 g

= 22.84+65.39+115.29+136.00 = 339.52

ผลรวมเฉลี่ยความเข้มข้นของสาร AP_3 ที่ปริมาณใบฟ้าทะลายโจร 1g = 339.52/4 = 84.88

ตารางที่ ค.5 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความเข้มข้น

Sort Of Variance (SOV)	Degree of freedom (df)	Sum of sqpare (SS)	Mean Square (MS)	F	$F_{0.1}$
Row (อุณหภูมิ)	3	1,184	395	0.48	3.29
Colume (ความดัน)	3	58,138	19,379	23.40*	3.29
ปริมาณใบฟ้าทะลายโจร	3	2,084	695	0.84	3.29
Error	6	4,970	828		
รวม	15	66,376			

หมายเหตุ *เป็นค่าที่มากกว่าค่า $F_{0.1}$

จากการวิเคราะห์ทางสถิติหาค่าความแปรปรวนของค่าความเข้มข้นจะได้ค่า F ของความดันเท่ากับ 23.40 มีค่ามากกว่า $F_{0.1}$ ซึ่งเท่ากับ 3.29 โดยค่า $F_{0.1}$ เป็นค่าที่ได้จากการเปิดตาราง F ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 90 เปอร์เซ็นต์ โดยมี df = 3 (υ_1 = 3) และ df = 6 (υ_2 = 6) แต่ค่า F ของอุณหภูมิ และปริมาณใบฟ้าทะลายโจรมีค่าน้อยกว่า $F_{0.1}$ ฉะนั้นจึงสรุปได้ว่าความดันมีผลให้สกัดสารออกฤทธิ์ทางยามีความเข้มข้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงนำค่าของความดันมาทำการเปรียบเทียบแบบ Orthogonal

หมายเหตุ

df ของอุณหภูมิ = จำนวนอุณหภูมิ – 1 = 4-1 = 3

df ของความดัน = จำนวนความดัน – 1 = 4-1 = 3

df ของปริมาณใบฟ้าทะลายโจร = จำนวนตัวแปรปริมาณ = 4-1 = 3

df ของรวม = (จำนวน Row x จำนวน Column) – 1

= 16 – 1

= 15

df ของ Error = df ของรวม – ผลรวมของ df ของอุณหภูมิ ความดัน และปริมาณใบฟ้าทะลายโจร

= 15-(3+3+3)

= 6

ตัวอย่างการคำนวณ

1. Correction term (C.T) = $X^2..../r^2$

   = $1475.14^2/4^2$

   = 136,002

2. Total SS = $\sum_{ij} X^2_{ij} - C.T.$

   = $(22.84^2+66.24^2+134.14^2+...+136.00^2) - 136002.38$

   = 202,378– 136,002

   = 66,376

3. อุณหภูมิ SS = $\sum_i (X^2_i/r) - C.T.$

   = 137,186– 136,002

   = 1,184

4. ความดัน SS = $\sum_j (X^2_j/r) - C.T.$

   = 194,140– 136,002

   = 58,138

5. ปริมาณ SS = $\sum_p (X^2_p/r) - C.T.$

   = 138,086– 136,002

   = 2,084

6. Error SS = Total SS - อุณหภูมิ SS - ความดัน SS - ปริมาณ SS

   = 66,376– 1,184– 58,138– 2,084

   = 4,970

7. อุณหภูมิ MS = อุณหภูมิ SS / df

   = 1184/ 3

   = 395

8. ความดัน MS = ความดัน SS / df

   = 58,138 / 3

   = 19,379

9. ปริมาณ MS = ปริมาณ SS / 3

   = 2,084 / 3

   = 695

10. Error MS = Error SS / df
= 4,970 / 6
= 828

11. อุณหภูมิ F = อุณหภูมิ MS / Error MS
= 395 / 828
= 0.48

12. ความดัน F = ความดัน MS / Error MS
= 19,379 / 828
= 23.40

13. ปริมาณ F = ปริมาณ MS / Error MS
= 695 / 828
= 0.84

ตารางที่ ค.6 การคำนวณเพื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นระหว่างความดัน

เปรียบเทียบ ระหว่างความดัน ในการสกัด	ผลรวมความเข้มข้นของ AP_3 ที่ความดันต่างๆ				$\sum C_{ij}^2$	L_i	SS
	10	15	20	25			
	47.49	237.67	525.02	664.96			
10 VS 15	-1	1	0	0	2	190.18	4,521
10 VS 20	-1	0	1	0	2	477.53	28,504
10 VS 25	-1	0	0	1	2	617.45	47,656
15 VS 20	0	-1	1	0	2	287.35	10,321
15 VS 25	0	-1	0	1	2	427.27	22,820
20 VS 25	0	0	-1	1	2	139.92	2,447

จากตารางที่ ค.6 เห็นได้ว่าในการเปรียบเทียบความดันของการสกัดนั้นจะมีข้อสงสัยอยู่ 6 ข้อ คือ

1. ความดัน 10 MPa ให้ผลการทดลองมีความเข้มข้นของสาร AP_3 ได้มากกว่า ความดัน 15 MPa หรือไม่
2. ความดัน 10 MPa ให้ผลการทดลองมีความเข้มข้นของสาร AP_3 ได้มากกว่า ความดัน 20 MPa หรือไม่
3. ความดัน 10 MPa ให้ผลการทดลองมีความเข้มข้นของสาร AP_3 ได้มากกว่า ความดัน 25 MPa หรือไม่
4. ความดัน 15 MPa ให้ผลการทดลองมีความเข้มข้นของสาร AP_3 ได้มากกว่า ความดัน 20 MPa หรือไม่
5. ความดัน 15 MPa ให้ผลการทดลองมีความเข้มข้นของสาร AP_3 ได้มากกว่า ความดัน 25 MPa หรือไม่
6. ความดัน 20 MPa ให้ผลการทดลองมีความเข้มข้นของสาร AP_3 ได้มากกว่า ความดัน 25 MPa หรือไม่

ตัวอย่างการคำนวณการเปรียบเทียบความเข้มข้น ระหว่าง ความดัน 10 MPa กับ 15 MPa

1. คำนวณผลรวมของกำลังสองของ C

$\sum_i C^2_{ij} = (-1^2) + (1^2) = 2$

2. คำนวณผลลัพธ์จากการเปรียบเทียบ (L_i)

$L_i = (1)X_1 + (-1)X_i = (1)(237.67) + (-1)(47.49) = 190.18$

3. การคำนวณ SS

$SS = L^2_i / n \sum_i C^2_{ij} = (190.18)^2 / 4(2) = 4,521$

ตารางที่ ค.7 ผลการคำนวณค่าความแปรปรวนเพื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นระหว่างความดัน

Sort of variance (SOV)	Degree of freedom df	Sum of square SS	Mean square MS	F	$F_{0.1}$
ความดัน	3	58,138			
10 VS 15	1	4,521	4,521	6.58*	3.18
10 VS 20	1	28,504	28,504	41.49*	3.18
10 VS 25	1	47,656	47,656	69.37*	3.18
15 VS 20	1	10,321	10,321	15.02*	3.18
15 VS 25	1	22,820	22,820	33.22*	3.18
20 VS 25	1	2,447	2,447	3.56*	3.18
error	12	8,238	687		

หมายเหตุ * เป็นค่าที่มากกว่า $F_{0.1}$

จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าค่าความเข้มข้นของสาร AP_3 ระหว่างความดันทุกคู่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเนื่องจากมีค่า F มากกว่าค่า $F_{0.1}$ ซึ่งเป็นค่าที่ได้จากการเปิดตาราง F ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 90 เปอร์เซ็นต์ โดยมี df = 1 (υ = 1) และ df = 12 (υ = 12) เมื่อทราบว่ามีความแตกต่างระหว่างความดัน สามารถทราบได้ว่าความดันค่าใดให้ค่าความเข้มข้นของสาร AP_3 ได้มากกว่ากัน

ภาคผนวก ง

การคำนวณร้อยละผลได้ของการสกัด

บทนี้จะกล่าวถึงการคำนวณผลได้ของการสกัด เมื่อเทียบกับปริมาณสารที่สกัดได้ด้วยซอกเลตแบบลดความดัน คิดจากปริมาณใบฟ้าทะลายโจร 1 g และปริมาตรของสารที่สกัดได้ 10 mL โดยใช้สมการดังต่อไปนี้

$$\text{ร้อยละผลได้} = \frac{A\ \mu g/mL \mid 100 \mid 10\ mL \mid 1\ mg}{B\ g \mid C\ mg/g\ dry\ weight \mid 1 \mid 1000\ \mu g}$$

โดยที่

A = ความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทางยาที่สกัดได้ (μg/mL หรือ ppm)

B = ปริมาณใบฟ้าทะลายโจรที่ใช้ในการสกัด (g)

C = ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาที่สกัดด้วยซอกเลตแบบลดความดัน (mg/g dry weight)

ผลได้ของการสกัดสาร AP_3 และ AP_6 ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด เทียบกับการสกัดด้วยซอกเลตแบบลดความดัน ได้ดังตาราง ง.1 และ ง.2

ตารางที่ ง.1 ร้อยละผลได้ของการสกัดสาร AP_3

อุณหภูมิ (°C)	ร้อยละผลได้ของการสกัดสาร AP_3 ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด เทียบกับการสกัดด้วยซอกเลตแบบลดความดัน			
	ความดัน (MPa)			
	10	15	20	25
40	1.52	1.76	4.45	5.68
45	0.63	4.34	3.69	5.42
50	0.19	2.59	7.66	6.31
55	0.12	1.58	6.05	9.03

ตารางที่ ง.2 ร้อยละผลได้ของการสกัดสาร AP_6

อุณหภูมิ (°C)	ร้อยละผลได้ของการสกัดสาร AP_6 ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด เทียบกับการสกัดด้วยซอกเลตแบบลดความดัน			
	ความดัน (MPa)			
	10	15	20	25
40	1.90	1.95	4.86	6.27
45	0.69	4.66	3.94	5.85
50	0.21	2.81	8.23	6.60
55	0.12	1.70	6.40	9.53

ตารางที่ ง.3 ผลของความดันในการสกัดสาร AP_1, AP_3, AP_4 และ AP_6 จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

ความดัน (MPa)	ร้อยละผลได้			
	AP_1	AP_3	AP_4	AP_6
25	0.03	10.69	0.00	11.53
27	0.06	10.69	0.00	11.37
29	0.09	11.75	0.00	12.69
31	0.09	11.89	0.00	13.01
33	0.09	13.68	0.00	14.33
40	0.24	21.51	0.25	22.08
42	0.27	14.48	0.13	15.65

ตัวอย่างการคำนวณร้อยละผลได้

ร้อยละผลได้ของสาร AP_3 ที่อุณหภูมิ 55°C ความดัน 25 MPa ปริมาณใบฟ้าทะลายโจร 1 g

$$\text{ร้อยละผลได้} = \frac{128.23\ \mu g/mL \mid 100 \mid 10\ mL \mid 1\ mg}{1\ g \mid 15.06\ mg/g\ dry\ weight \mid 1 \mid 1000\ \mu g}$$

$$= 9.03$$

ภาคผนวก จ

การตั้งค่าเครื่องสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด SFX 3560

บทนี้จะกล่าวถึงวิธีการตั้งค่าการใช้งานเครื่องสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด โดยใช้ระบบอัตโนมัติในการทำงาน ชุดสกัดประกอบด้วย เครื่องสกัด SFX 3560 ปั๊ม 2 ตัว ระบบควบคุมปั๊ม ถังแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 2 ถัง และแผ่นโปรแกรมหลัก ซึ่งจะทำการเปิดเครื่องดังนี้

1. เปิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ทั้ง 2 ถัง

2. ใส่แผ่นโปรแกรมในเครื่องสกัด SFX 3560 เปิดสวิตซ์ปั๊มทั้ง 2 ตัว และเครื่องสกัด SFX 3650 รอให้เครื่องเดินจนเสร็จ

3. เช็คค่า Restrictor TCR ให้เป็น 5.430 หลังจากเปิดเครื่อง โดยกดที่ปุ่ม Option

4. เช็คการทำงานของปั๊มให้เป็นแบบ Independence ในกรณีที่ไม่ใช้ตัวทำละลายร่วม และตั้งค่าหน่วยของเครื่อง

5. กด Method file เลือกไฟล์ที่ต้องการตั้งค่าการทำงาน และตั้งค่าดังต่อไปนี้

- Pressure เพื่อกำหนดความดันในการสกัด
- Temperature เพื่อกำหนดอุณหภูมิในการสกัด
- Restrictor temperature อุณหภูมิของ Restrictor
- Collection temperature อุณหภูมิของหลอดเก็บตัวอย่าง
- Static time เวลาที่อยู่ภายในท่อ
- Flow rate อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์
- Dynamic time เวลาที่ใช้ในการสกัด
- Cont next step ตั้งค่าเป็น Refill
- End step

หลังจากนั้นกด Save file

6. กด Run option เพื่อตั้งค่าการล้างท่อ

- Chamber wash ตั้งเวลาในการล้างสายท่อ
- Vial wash ตั้งค่าได้ตั้งแต่ 0, 1, 2 และ 3 เพื่อระบุตำแหน่งการล้างหัว restrictor
- กด Save file แล้วกลับไปยังหน้า Menu

7. กด Sample file เพื่อตั้งค่าชุดการสกัด

- กด F6 เพื่อเลือกไฟล์ที่จะทำการสกัดในแต่ละช่อง
- กด F1 เพื่อทำการ Save file
- กด F8 เพื่อกลับสู่เมนูหลัก

8. กด Start เพื่อเริ่มการสกัด คอยสักครู่จะขึ้น use sample file กด F1 (yes) เพื่อเริ่มการสกัด
9. รอเครื่องจนทำงานเสร็จสิ้น แล้วจึงเปลี่ยนตัวอย่างในการสกัด

ภาคผนวก ฉ

ความน่าจะเป็นแบบเอฟ α=0.1 ($F_{0.1}$)

ตารางที่ ฉ.1 ความน่าจะเป็นแบบเอฟ

υ_2 \ υ_1	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	39.86	49.50	53.59	55.83	57.24	58.2	58.91	59.44	59.86
2	8.53	9.00	9.16	9.24	9.29	9.33	9.35	9.37	9.38
3	5.54	5.46	5.39	5.34	5.31	5.28	5.27	5.25	5.24
4	4.54	4.32	4.19	4.11	4.05	4.01	3.98	3.95	3.94
5	4.06	3.78	3.62	3.52	3.45	3.40	3.37	3.34	3.32
6	3.78	3.46	3.29	3.18	3.11	3.05	3.01	2.98	2.96
7	3.59	3.26	3.07	2.96	2.88	2.83	2.78	2.75	2.72
8	3.46	3.11	2.92	2.81	2.73	2.67	2.62	2.59	2.56
9	3.36	3.01	2.81	2.69	2.61	2.55	2.51	2.47	2.44
10	3.29	2.92	2.73	2.61	2.52	2.46	2.41	2.38	2.35
11	3.23	2.86	2.66	2.54	2.45	2.39	2.34	2.30	2.27
12	3.18	2.81	2.61	2.48	2.39	2.23	2.28	2.24	2.21

ประวัติผู้เขียน

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. **ชื่อ** นางสาวปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง

   Miss Pathumthip Tonthubthimthong

2. **หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน** 3659900625675

3. **ตำแหน่งปัจจุบัน** อาจารย์ ระดับ 7

4. **หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail**

   สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

   โทรศัพท์ 0 2286 3991 – 5 ต่อ 1195, 1210, 1201 โทรสาร 0 2286 3991 – 5 ต่อ 1195

   e-mail : pathumthip@rit.ac.th, tpathumthip@hotmail.com, tpathumthip@yahoo.com

5. **ประวัติการศึกษา**

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2545	เอก	วศ.ด. วิศวกรรมศาสตรดุษฎีบัณฑิต	วิศวกรรมเคมี	วิศวกรรมเคมี	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี	ไทย
2538	โท	วท.ม. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	เคมีเทคนิค	เคมีเทคนิค	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2531	ตรี	วท.บ. วิทยาศาสตรบัณฑิต	เคมี	เคมี	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	ไทย

6. **สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ**

   การดูดซับ การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

7. **ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย**

   7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย

   -

7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

1. การพัฒนากระถางต้นไม้จากใยมะพร้าว
2. การสกัดสารนิมบินจากเมล็ดสะเดา
3. กระถางต้นไม้ชำร่วยจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร
4. การผลิตกระถางเพาะชำจากธรรมชาติ
5. กระถางต้นไม้จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร
6. สกัดสารออกฤทธิ์จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด
7. การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากไม้กฤษณา

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, มาริสา จินะดิษฐ์, สุรัตน์ บุญพึ่งและจิรพล กลิ่นบุญ. "การพัฒนากระถางต้นไม้จากใยมะพร้าว" (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเครือข่ายภูมิภาคกลางตอนล่าง ประจำปีงบประมาณ 2547.

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง. "การสกัดสารนิมบินจากเมล็ดสะเดา" (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณผลประโยชน์ ปี 2548.

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, สุรัตน์ บุญพึ่ง, มาริสา จินะดิษฐ์ และ วราภรณ์ ธนะกุลรังสรรค์. "การผลิตกระถางเพาะชำจากธรรมชาติ" (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณผลประโยชน์ ปี 2548.

สุรัตน์ บุญพึ่ง และปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง. "การสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากทองพันชั่ง" (ผู้ร่วมวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณผลประโยชน์ ปี 2548.

พรประสิทธิ์ คงบุญ, ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, มณฑล ชูโชนาค และสมจิตร์ สุขสวัสดิ์. "การกลั่นเอทานอลโดยใช้พลังงานแสงอาทิตย์" (ผู้ร่วมวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณผลประโยชน์ ปี 2548.

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, สุรัตน์ บุญพึ่ง, มาริสา จินะดิษฐ์, วราภรณ์ ธนะกุลรังสรรค์, ไชยยันต์ ไชยยะ และฉันทมณี วังสะจันทานนท์. "กระถางต้นไม้จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร" (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ปี 2548.

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, โสริยา ชิโนดม, สุรัตน์ บุญพึ่ง, มาริสา จินะดิษฐ์, ไชยยันต์ ไชยยะ และฉันทมณี วังสะจันทานนท์. "กระถางต้นไม้ชำร่วยจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร" (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณผลประโยชน์ ปี 2548.

มาริสา จินะดิษฐ์ และปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง. "การผลิตกระถางต้นไม้จากเศษใบไม้" (ผู้ร่วมวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณผลประโยชน์ ปี 2549.

International Journal

Tonthubthimthong, P., Chuaprasert, S., Douglas, P. and Luewisuttichat, W., Wittaya Teppaitoon and La-eid Pengsopa. 2004. "Nimbin Extraction from Neem Seeds using Supercritical CO_2 and a Supercritical CO_2 -Methanol Mixture" **Journal of Supercritical fluids.** 30: 287-301. (ผู้วิจัย)

Tonthubthimthong, P., Chuaprasert, S., Douglas, P. and Luewisuttichat, W. 2001. "Supercritical CO_2 Extraction of Nimbin from Neem Seeds-an Experimental Study" **Journal of Food Engineering.** 47: 289-293. (ผู้วิจัย)

International & Regional Conference

Tonthubthimthong, P., Ajchariyapagorn, A., Douglas, S., Douglas, P. L. and Pongamphai, S. 2005. "Simulation of Nimbin Extraction by Using Aspen Plus" **the 88th Canadian Chemistry Conference and Exhibition.** May 28-June 1. Saskatoon Centennial Convention Centre Saskatoon Saskatchewan Canada. (ผู้ร่วมวิจัย)

Tonthubthimthong, P., Chinadit, M., Boonpung, S., Supanya, C., Tanuwong, S. and Tanakulrungsank, W. 2005. "Cultivate Flowerpot Production from Agricultural Waste Materials", **The 3rd EMSES International Symposium Eco-Energy and Material Science and Engineering Symposium.** April 6-9. Lotus Hotel Pang Suan Kaew Chiangmai Thailand. (ผู้วิจัย)

Tonthubthimthong, P., Chuaprasert, S., Douglas, P., Luewisuttichat, W., Teppaitoon, W. and Pengsopa, L. 2002. "Nimbin Extraction from Neem Seed using Supercritical CO_2 and a Supercritical CO_2 – Methanol Mixture" **International Conference on Innovations in Food Processing Technology and Engineering.** December 11 – 13. AIT Thailand. (ผู้วิจัย)

Tonthubthimthong, P., Chuaprasert, S., Douglas, P., Luewisuttichat, W., Teppaitoon W. and Pengsopa, L. 2001. "Effect of Particle Size, Methanol:CO_2 Ratio and Temperature on Nimbin Extraction from Neem Seeds using Supercritical CO_2" **Canadian Society for Chemical Engineering 2001 Conference.** October 17. Halifax Nova Scotia Canada. (ผู้วิจัย)

Tonthubthimthong, P., Chuaprasert, S. and Luewisuttichat, W. 1999. "Extraction of Medicinal Substances from Neem Seeds using Supercritical Fluid Extraction-A Preliminary Study"

Ragional Symposium on Chemical Engineering 1999. November 22-24. B.P. Smilar Beach Hotel Songkla Thailand. (ผู้วิจัย)

Local Conference

เจษฎา มณีพงษ์สวัสดิ์, สุชาวดี วาสิกบุตร, ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง และมาริสา จินะดิษฐ์. 2550. "การสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยวดยิ่ง" **การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 45 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**. 30 มกราคม - 2 กุมภาพันธ์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน. (ผู้วิจัย)

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, มาริสา จินะดิษฐ์, สุรัตน์ บุญพึ่ง, วราภรณ์ ธนะกุลรังสรรค์, ธิดารัตน์ มานิตย์ และอุษาวดี ไม้คง. 2548. "การผลิตกระถางต้นไม้จากวัสดุเหลือใช้ทางเกษตร" **การประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 21**. 28–30 มีนาคม. โรงแรมเชียงใหม่ภูคำ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่. (ผู้วิจัย)

ชัชวาลย์ สุขมั่น, ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, กฤษณ์ หวังเจริญกุลชัย และ คมเดช งามสมจิตร. 2548. "การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไวน์สะระแหน่" **การประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 21**. 28–30 มีนาคม. โรงแรมเชียงใหม่ภูคำ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่. (ผู้ร่วมวิจัย)

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, จุฑาลักษณ์ จีระรัตนกุล และ ประทุมรัตน์ แสนพล. 2547. "การปรับปรุงคุณภาพของแป้งมันสำปะหลังโดยการดัดแปรแป้งด้วยสารโซเดียมไตโพลีฟอสเฟต" **การประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 20**. 11–13 กุมภาพันธ์. โรงแรมอมรินทร์ ลากูน อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก. (ผู้วิจัย)

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, สุภาภรณ์ เชื้อประเสริฐ, วิไล ลือวิสุทธิชาติ, วิทยา เทพไพฑูรย์ และละเอียด เพ็งโสภา. 2546. "การสกัดนิมบินจากเมล็ดสะเดาโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดและคาร์บอนไดออกไซด์-เมทานอลวิกฤตยิ่งยวด" **การประชุมวิชาการและงานแสดงผลิตภัณฑ์วิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 29**. 20–22 ตุลาคม. ศูนย์ประชุมเอนกประสงค์กาญจนาภิเษก มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น. (ผู้วิจัย)

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, สุภาภรณ์ เชื้อประเสริฐ, วิไล ลือวิสุทธิชาติ, วิทยา เทพไพฑูรย์ และ ละเอียด เพ็งโสภา. 2545. "การสกัดนิมบินจากเมล็ดสะเดาโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด : ผลของขนาดอนุภาค, อัตราส่วนระหว่างเมทานอลต่อคาร์บอนไดออกไซด์ และอุณหภูมิ" **การประชุมวิชาการวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 12**. 8–9 พฤศจิกายน. โรงแรมโซล ทวิน ทาวเวอร์ กรุงเทพฯ. (ผู้วิจัย)

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, สุภาภรณ์ เชื้อประเสริฐ และ วิไล ลือวิสุทธิชาติ. 2543. "การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารนิมบินจากเมล็ดสะเดาโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด" **การประชุมวิชาการวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 10**. 26–28 ตุลาคม. ไบเทค บางนา กรุงเทพฯ. (ผู้วิจัย)

7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ : ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละเท่าใด

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, มาริสา จินะดิษฐ์, ไชยยันต์ ไชยยะ และชัชวาลย์ สุขมั่น. "การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากไม้กฤษณา" (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ปี 2550 ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณ 50 %

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง และมาริสา จินะดิษฐ์. "สกัดสารออกฤทธิ์จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด" (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ปี 2549 ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณ 90 %

ประวัติผู้ร่วมงานวิจัย

1. **ชื่อ** นางมาริสา นามสกุล จินะดิษฐ์
   Mrs.Marisa CHINADIT
2. **เลขหมายประจำตัวประชาชน** 3 1012 01626 97 1
3. **ตำแหน่งปัจจุบัน**
   3.1 ด้านวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8
   3.2 ด้านบริหาร ผู้ช่วยผู้อำนวยการฝ่ายวิจัยและฝึกอบรม สถาบันเทคโนโลยีราชมงคลวิทยาเขตเทคนิคกรุงเทพฯ
4. **สถานที่ติดต่อ** ฝ่ายวิจัยและฝึกอบรม สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตเทคนิคกรุงเทพฯ เลขที่ 2 ถนนนางลิ้นจี่ แขวงทุ่งมหาเมฆ เขตสาทรกทม. 10120
   โทรศัพท์ (02)2873211–25 ต่อ 244 โทรสาร (02)2873211–25 ต่อ 125
   e-mail : marisach@rit.ac.th, marisachinadit@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา

วุฒิ	สาขา	สถาบัน	ปีการศึกษาที่จบ
ประกาศนียบัตร	เคมีปฏิบัติ	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2515
วิทยาศาสตรบัณฑิต	เคมี	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2517
Docteur de Troisième Cycle	Sciences et Techniques des Procédés Chimiques	Université Paul Sabatier, Toulouse, France	2525

6. สาขาวิชาที่มีความชำนาญพิเศษ เคมีวิเคราะห์

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย ----

7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย

7.2.1 การผลิตกระถางต้นไม้จากเศษใบไม้

7.2.2 การพัฒนาน้ำมันเชื้อเพลิงผสมที่เหมาะสมสำหรับใช้ในเครื่องยนต์ดีเซลชนิด 4 ล้อ

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อเรื่อง ปีที่พิมพ์ และสถานภาพในการทำวิจัย

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, มาริสา จินะดิษฐ์, และสุรัตน์ บุญพึ่ง. "การพัฒนากระถางต้นไม้จากใยมะพร้าว" (ผู้ร่วมวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเครือข่ายภูมิภาคกลางตอนล่าง ปีงบประมาณ 2547.

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, มาริสา จินะดิษฐ์ และสุรัตน์ บุญพึ่ง. "การผลิตกระถางต้นไม้จากวัสดุเหลือใช้ทางเกษตร" (ผู้ร่วมวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณปี 2548.

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, มาริสา จินะดิษฐ์, สุรัตน์ บุญพึ่ง และโสริยา ชิโนดม. "กระถางต้นไม้ชำร่วยจากวัสดุเหลือใช้ทางเกษตร" (ผู้ร่วมวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณเงินผลประโยชน์ปี 2548.

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, มาริสา จินะดิษฐ์, สุรัตน์ บุญพึ่ง และวราภรณ์ ธนะกุลรังสรรค์. "การผลิตกระถางเพาะชำจากธรรมชาติ" (ผู้ร่วมวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณเงินผลประโยชน์ปี 2548.

มาริสา จินะดิษฐ์ และปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง. "การผลิตกระถางต้นไม้จากเศษใบไม้" (หัวหน้าโครงการวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณเงินผลประโยชน์ปี 2549.

7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ : ชื่อเรื่อง ปีที่พิมพ์ และสถานภาพในการทำวิจัย

ไชยยันต์ ไชยยะ, มาริสา จินะดิษฐ์ และปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง. "การแยกโลหะหนักออกจากสารละลายด้วยถ่านกัมมันต์จากกะลามะพร้าว โดยใช้หอดูดซับแบบชั้นตรึง" (ผู้ร่วมวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณปี 2549. ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณ 70 %

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง และมาริสา จินะดิษฐ์. "สกัดสารออกฤทธิ์จากฟ้าทะลายโจรด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด" (ผู้ร่วมวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ปี 2549. ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณ 90 %

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, มาริสา จินะดิษฐ์, ไชยยันต์ ไชยยะ และชัชวาลย์ สุขมั่น. "การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากไม้กฤษณา (ผู้ร่วมวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณปี 2550. ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณ 50 %

มาริสา จินะดิษฐ์. "การพัฒนาน้ำมันเชื้อเพลิงผสมที่เหมาะสมสำหรับใช้ในเครื่องยนต์ดีเซลชนิด 4 ล้อ" (หัวหน้าโครงการวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณเงินผลประโยชน์ปี 2550. ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณ 40 %