

การสกัดฟริไบโอติกส์จากเมล็ดขนุน

สุพจน์ นวลละออง¹⁾ ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์²⁾ กุลชนารู ประเสริฐสิทธิ์³⁾ และ ราม แยมแสงสังข์⁴⁾

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการสกัดฟริไบโอติกส์จากเมล็ดขนุน โดยในเบื้องต้นเมล็ดขนุนถูกนำมาสกัดด้วยชุดทดลองแบบแบทช์ขนาดเล็กเพื่อศึกษาผลของชนิดตัวทำละลาย (น้ำกลั่น, เอทานอล 50% และ เอทานอล 95%) ขนาดอนุภาคของเมล็ดขนุน (1.0-2.0, 2.0-2.8 และ 2.8-5.6 มม.) และอัตราส่วนระหว่างน้ำกับอนุภาคเมล็ดขนุนต่อปริมาตรตัวทำละลาย (1:2, 1:4, 1:6 และ 1:8) โดยทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง (30^oซ) ด้วยเวลา 60 นาที พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือการใช้ตัวทำละลายเอทานอล 50% ขนาดอนุภาคเมล็ดขนุน 1.0-2.0 มม. และอัตราส่วนระหว่างอนุภาคเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย 1:8 ซึ่งให้ผลได้สารสกัดประมาณ 6% สภาวะดังกล่าวถูกนำไปใช้เป็นสภาวะตั้งต้นในการสกัดเมล็ดขนุนกับเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง โดยศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของอุณหภูมิการสกัด (อุณหภูมิห้อง และ 60^oซ) และเวลาการสกัด (0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 360 และ 480 นาที) พบว่าอัตราการสกัดเริ่มเข้าสู่สมตลยเมื่อเวลาผ่านไป 90 นาที โดยการสกัดที่อุณหภูมิ 60^oซ ได้ปริมาณสารสกัดสูงกว่าการสกัดที่อุณหภูมิห้องเพียงเล็กน้อย การสกัดที่อุณหภูมิห้องจึงมีความเหมาะสมมากกว่าในเชิงเศรษฐศาสตร์

คำสำคัญ: การสกัด, ฟริไบโอติกส์, เมล็ดขนุน

¹⁾ นักศึกษาปริญญาโท, ภาควิชาวิศวกรรมเคมี, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, จังหวัดสงขลา 90112,
อีเมล: s_nuallaong@hotmail.com

²⁾ ผู้ช่วยศาสตราจารย์, ภาควิชาวิศวกรรมเคมี, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, จังหวัดสงขลา 90112,
Corresponding Author, อีเมล: pakamas.p@psu.ac.th

³⁾ ผู้ช่วยศาสตราจารย์, ภาควิชาวิศวกรรมเคมี, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, จังหวัดสงขลา 90112,
อีเมล: kulchanat.k@psu.ac.th

⁴⁾ ผู้ช่วยศาสตราจารย์, ภาควิชาวิศวกรรมเคมี, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, จังหวัดสงขลา 90112,
อีเมล: ram.y@psu.ac.th

Extraction of Prebiotics from Jackfruit Seeds

Supotch Nualla-ong¹⁾ Pakamas Chetpattananondh²⁾ Kulchanat Prasertsit³⁾ and Ram Yamsaengsung⁴⁾

Abstract

This research is to study extraction of prebiotics from jackfruit seeds. Jackfruit seeds were preliminary extracted using a lab-scale batch extractor to investigate effects of different solvents (distilled water, 50% ethanol and 95% ethanol), particle sizes of ground jackfruit seeds (1.0-2.0, 2.0-2.8 and 2.8-5.6 mm), and solid to solvent ratios (1:2, 1:4, 1:6 and 1:8 w/v) by carried on the experiments at room temperature (30°C) for 60 minutes. The optimal conditions from the preliminary studies were using of 50% ethanol as a solvent, a jackfruit seed at the particle size of 1.0-2.0 mm, and a solid-to-solvent ratio of 1:8, which gave about 6% yield. These conditions were applied to pilot-scale batch extractor in addition to further study of extraction temperatures (30 and 60°C) and extraction times (0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 360 and 480 minutes). After the extraction time of 90 minutes, extraction equilibrium was reached. The extracted yield at temperature of 60°C was only slightly higher than that extracted at room temperature. Therefore, the extraction at room temperature was more economically suitable.

Keywords: extraction, prebiotics, jackfruit seeds

¹⁾ Post graduated Students, Department of Chemical Engineering, Prince of Songkla University, Songkhla 90112, E-mail: s_nuallaong@hotmail.com

²⁾ Assistant Professor, Department of Chemical Engineering, Prince of Songkla University, Songkhla 90112, Corresponding Author, Email: pakamas.p@psu.ac.th

³⁾ Assistant Professor, Department of Chemical Engineering, Prince of Songkla University, Songkhla 90112, E-mail: kulchanat.k@psu.ac.th

⁴⁾ Assistant Professor, Department of Chemical Engineering, Prince of Songkla University, Songkhla 90112, Email: ram.y@psu.ac.th

1. บทนำ

พรีไบโอติกส์ (Prebiotics) เป็นแหล่งอาหารสำหรับจุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติกส์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น *Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacterium* ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ซึ่งมีประโยชน์ในการช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยป้องกันและลดอาการท้องเสียที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ป้องกันโรคลำไส้อักเสบ ป้องกันการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร ช่วยในการย่อยและการดูดซึมสารอาหารเข้าสู่ร่างกาย ช่วยให้ระบบเมตาบอลิซึมของไขมันดีขึ้นมีผลช่วยลดคอเลสเตอรอลชนิด low density lipoprotein (Tuohy et al., 2003) พรีไบโอติกส์เป็นสารอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ (non-digestible food ingredients) โดยคาร์โบไฮเดรตที่มีกลุ่มโมโนแซคคาไรด์ตั้งแต่ 3 หน่วยขึ้นไป ได้แก่ โอลิโกแซคคาไรด์และโพลีแซคคาไรด์ เช่น ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และอินนูลิน จัดเป็นพรีไบโอติกส์ชนิดหนึ่ง (Wang, 2009) สารที่เป็นพรีไบโอติกส์ต้องไม่ถูกย่อยด้วยกรดในกระเพาะอาหารและเอนไซม์ในลำไส้เล็ก สามารถเคลื่อนที่ไปถึงลำไส้ใหญ่ในสภาพที่สมบูรณ์เพื่อเป็นอาหารให้กับ จุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ได้ (Ellegard et al., 1997) การผลิตพรีไบโอติกส์สามารถทำได้สามวิธีด้วยกันคือ การสกัดโดยตรงจากพืช การสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์หรือจุลินทรีย์ และการไฮโดรไลซิสของโพลีแซคคาไรด์ (Crittenden et al., 1996), (Gulewicz et al., 2003)) อย่างไรก็ตามนักวิจัยได้หันมาให้ความสนใจในการสกัดสารพรีไบโอติกส์จากพืชธรรมชาติมากขึ้น โดยในต่างประเทศ พรีไบโอติกส์ทางการค้ามักได้จากชิโคลี่ (chicory) และเยรูซาเลม อาร์ติโชค (Jerusalem artichoke) (Huebner et al., 2008) และมีงานวิจัยที่ศึกษาการสกัดโอลิโกแซคคาไรด์จากถั่วเหลือง (Kim et al., 2003) การสกัด raffinose family oligosaccharides (RFOs) ใน leguminous vine peas (Ekvall et al., 2007) ส่วนในประเทศไทยยังมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการสกัดพรีไบโอติกส์จากพืชเกษตรไม่มากนัก โดยในงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้มีการศึกษาศักยภาพในการเป็นแหล่งพรีไบโอติกส์จากพืชหลายชนิด เช่น กระเจี๊ยบเขียว มะพร้าวอ่อน เงาะ จำปาตะ

ตาลโตเนด และขนุน ซึ่งพบว่าเมล็ดขนุนมีศักยภาพสูงที่สุด (Thammarutwasik, 2007) ในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นไปที่การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดพรีไบโอติกส์จากเมล็ดขนุน โดยศึกษาในชุดทดลองขนาดเล็ก แล้วขยายเป็นขนาดโรงงานจำลอง

2. วิธีการวิจัย

2.1 การเตรียมวัตถุดิบ

นำเมล็ดขนุนสายพันธุ์ทองประเสริฐที่ซื้อจากทะเลโก้ โลตัส สาขาหาดใหญ่ ซึ่งมาจากแหล่งผลิตเดียวกันในทุกชุดของการทดลองมาตากแดดให้ผิวเปลือกนอกแห้งจนมีความชื้น $88 \pm 2\%$ จากนั้นนำมาหั่นเป็นชิ้นแล้วลดขนาดด้วยเครื่องบด (Moulinex, FP 2031, France) แล้วจึงนำไปแยกขนาดด้วยตะแกรงร่อนให้ได้อนุภาคขนาด 1.0-2.0, 2.0-2.8 และ 2.8-5.6 มม.

2.2 การสกัดด้วยชุดทดลองขนาดเล็ก

ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล 50% และเอทานอล 95% อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักอนุภาคเมล็ดขนุนต่อปริมาตรตัวทำละลายเท่ากับ 1:2, 1:4, 1:6 และ 1:8 โดยทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง เวลาในการสกัด 60 นาที กวนด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที จากนั้นนำสารที่ได้จากการสกัดกรองด้วยกระดาษกรอง whatman No.1 นำไปทำแห้งด้วยเครื่อง Freeze dryer แล้วจึงหาผลได้ของสารสกัด (%yield) โดยคำนวณจากน้ำหนักสารสกัดแห้งที่ได้ต่อน้ำหนักเริ่มต้นของอนุภาคเมล็ดขนุน จากนั้นเลือกสภาวะที่ได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุดจากการทดลองทั้งหมด 3 ชั่วโมง โดยวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA) โดย $P < 0.05$ เพื่อนำไปเป็นสภาวะตั้งต้นในการสกัดด้วยชุดสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลองต่อไป

2.3 การสกัดด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง

เครื่องสกัดแบบแบทช์ประกอบด้วยถังสกัดความจุ 80 ลิตร และส่วนประกอบอื่นๆ แสดงดังรูปที่ 1 และ 2 ภายในถังสกัดไม่ได้ติดตั้งใบพัดกวนเนื่องจากต้องการหลีกเลี่ยงความไม่สะดวกในการบรรจุวัตถุดิบ แต่ใช้การบีบสารละลายจากด้านล่างถังเวียนกลับมาด้านบนของถัง

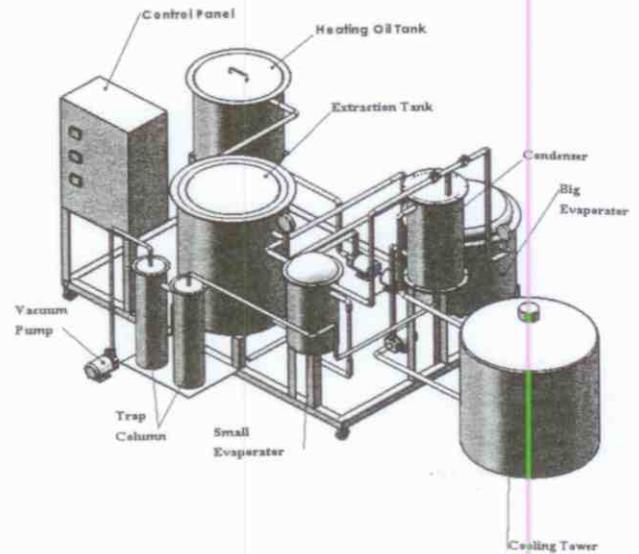
หมุนเวียนเช่นนี้เพื่อช่วยให้เกิดการสัมผัสระหว่างอนุภาค เมล็ดขนุนและตัวทำละลายจนครบเวลาของการสกัด จึงป้อนสารละลายที่ได้เข้าสู่ถังระเหยขนาดใหญ่ (ความจุ 80 ลิตร) เพื่อระเหยตัวทำละลายภายใต้สภาวะ สูญญากาศจนเหลือสารละลายประมาณ 10 ลิตร จึงป้อนสารละลายสู่ถังระเหยขนาดเล็กเพื่อระเหยตัวทำละลายต่อ จนได้สารละลายเข้มข้น

ทำการสกัดโดยเตรียมอนุภาคเมล็ดขนุนขนาด 1.0-2.0 มม. ปริมาณ 4.5 กก. และสารละลาย เอทานอล 50% ปริมาตร 36 ลิตร (อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักอนุภาค เมล็ดขนุนต่อปริมาตรตัวทำละลายเท่ากับ 1:8) บรรจุในถัง ตะแกรงโดยมีแผ่นตะแกรงแบ่งวัตถุเป็น 4 ชั้น โดยทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง (30°C) และอุณหภูมิ 60°C เก็บตัวอย่างสารสกัดที่เวลา 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 360 และ 480 นาที ตัวอย่างที่ได้ถูกนำไปหาผลได้ ของสารสกัด ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) น้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) และน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ (non-reducing sugar) ซึ่งคาดว่าเป็นส่วนของฟรุคโตส และยีนยันคุณสมบัติการเป็นฟรุคโตสด้วยความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ โพรไบโอติกส์ (Nualla-ong, 2008)

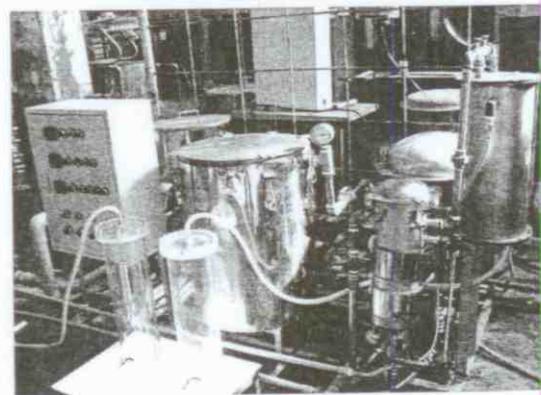
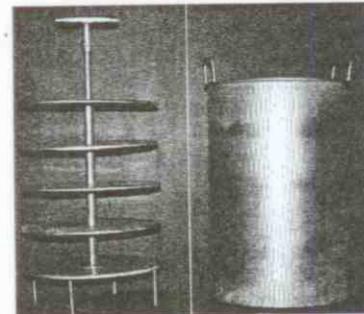
2.4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล

2.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ซึ่งได้แก่ องค์ประกอบทั้งหมดของคาร์โบไฮเดรต คือ โมโนแซคคาไรด์ ไดแซคคาไรด์ โอลิโกแซคคาไรด์ และโพลีแซคคาไรด์ด้วยวิธี Modified phenol sulfuric method (Dubois et al., 1956) โดยป้อนตัวอย่างสารละลายที่ต้องการวิเคราะห์ปริมาณ 25 ไมโครลิตร ลงใน 96-well microplate เติมสารละลายฟีนอล 5% ปริมาตร 25 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น ปริมาตร 125 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำ microplate ใส่ถุงซิปล็อค ปิดให้สนิท จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วย อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80°C เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เย็นและนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร โดยใช้ลูโคสเป็นสารมาตรฐานในการเทียบความเข้มข้นของปริมาณน้ำตาล



รูปที่ 1 แบบจำลองเครื่องสกัดสารฟรุคโตสแบบ แบบทรี



รูปที่ 2 (ก) เครื่องสกัดฟรุคโตสแบบแบบทรีขนาด โรงงานจำลอง (ข) ถังตะแกรงและชุดแบ่งชั้นวัตถุ

2.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งได้แก่ น้ำตาลในกลุ่มโมโนแซคคาไรด์และไดแซคคาไรด์ ซึ่งมีหมู่คาร์บอนิล ที่สามารถถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายด้วยวิธี Modified

dinitrosalicylic acid method (Miller, 1959) โดยเปิดตัวอย่างสารละลายที่ต้องการวิเคราะห์ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงใน 96-well microplate เติมสารละลาย dinitrosalicylic acid (ประกอบด้วย dinitrosalicylic acid 1%, phenol 0.2%, sodium sulfite 0.05%, sodium hydroxide 1% และ potassium sodium tartrate 20%) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารละลายผสมกัน นำ microplate ใส่ในถุงซีปล็อก ปิดให้สนิท จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80°C เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เย็นและนำไปวัดการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร โดยใช้กลูโคสเป็นสารมาตรฐานในการเทียบความเข้มข้นของปริมาณน้ำตาล

2.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์

ปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ (non-reducing sugar) คือน้ำตาลในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์และโพลีแซคคาไรด์ โดยสามารถคำนวณได้จาก

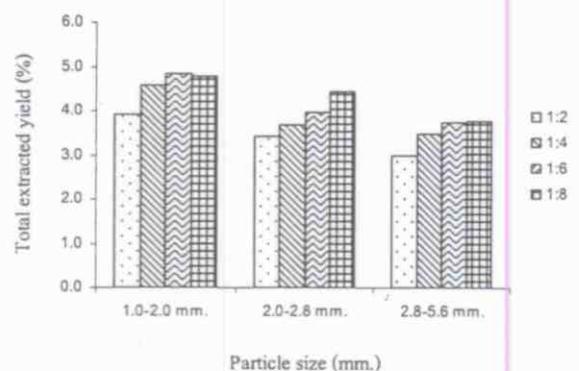
$$\text{non-reducing sugar} = \text{total sugar} - \text{reducing sugar} \quad (\text{Thammarutwasik, 2007})$$

3. ผลการวิจัย

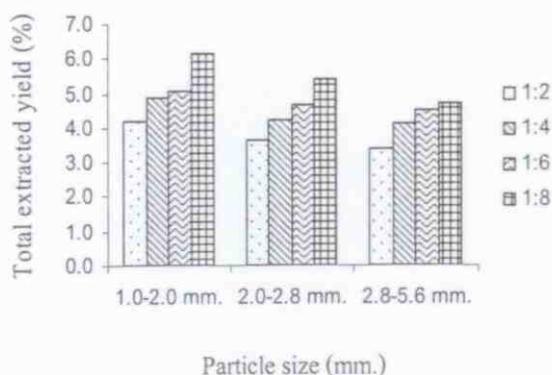
3.1 การสกัดด้วยชุดทดลองขนาดเล็ก

จากการทดลองพบว่า อนุภาคเมล็ดขนุนที่มีขนาดเล็กกว่าจะให้ผลได้ของสารสกัดที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในรูปที่ 3, 4 และ 5 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kim et al. (2003) ที่สกัด oligosaccharides จาก defatted soybean meal ที่ผ่านการบดได้มากกว่าเมื่อยังไม่ได้บด ทั้งนี้อาจเนื่องจากในขั้นตอนของการลดขนาดเปลือกที่ห่อหุ้มอยู่ส่วนนอกของเมล็ดขนุนได้ถูกทำลาย ทำให้การแพร่ของตัวทำละลายและสารสกัดเกิดได้ดีขึ้น และอนุภาคเมล็ดขนุนที่เล็กกว่าจะมีพื้นที่สัมผัสกับตัวทำละลายมากกว่า จึงได้ปริมาณสารสกัดมากกว่า ส่วนเมื่อพิจารณาอัตราส่วนระหว่างอนุภาคเมล็ดขนุนต่อตัวทำละลาย พบว่าผลได้ของสารสกัดเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีของการถ่ายโอนมวลที่อัตราส่วนระหว่างของแข็งต่อตัวทำละลายที่สูงกว่าจะมี driving force ที่สูงกว่า (Angela and Meireles, 2009) โดยเมื่อใช้เอทานอล 50% เป็นตัวทำละลายจะให้ผลได้

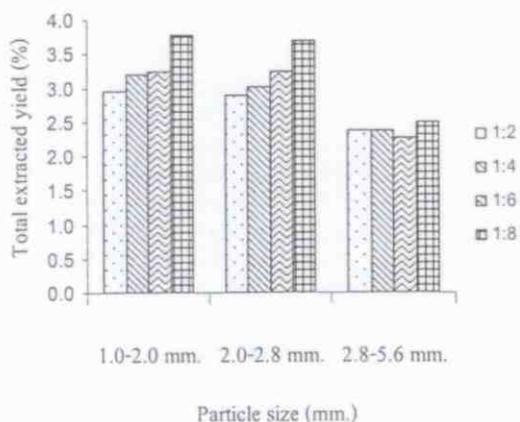
ของสารสกัดมากกว่าการใช้ น้ำกลั่นและเอทานอล 95% ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Xiaoli et al. (2008) ที่สกัด oligosaccharides จากเมล็ด chickpea โดยตัวทำละลายเอทานอล 50% สามารถสกัด oligosaccharides ได้มากกว่าเอทานอลที่ความเข้มข้นอื่นหรือน้ำกลั่น และสอดคล้องกับการทดลองของ Ekvall et al. (2007) ที่เอทานอล 50% สามารถสกัด raffinose family oligosaccharides จาก leguminous vine peas ได้ดีกว่าเอทานอล 80% โดยน้ำกลั่นหรือเอทานอลที่ความเข้มข้นต่ำ ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วสูงควรจะเหมาะในการสกัดน้ำตาลที่มีมวลโมเลกุลต่ำ แต่ฟรีโบโอติคส์เป็นสารที่มีมวลโมเลกุลสูง ส่วนการใช้เอทานอลที่มีความเข้มข้นสูงกว่า 50% อาจทำให้เกิดการสกัดที่ไม่สมบูรณ์ เนื่องจากโปรตีนเกิดการเสียสภาพ (Denatured) แล้วขัดขวางการแพร่ของ oligosaccharides โดยในเมล็ดขนุนมีคาร์โบไฮเดรตประมาณ 30.6% และโปรตีนประมาณ 5.5% (Wawsripong, 1986) ดังนั้นสภาวะเบื้องต้นที่นำไปใช้ในการสกัดด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง คือตัวทำละลายเอทานอล 50% ขนาดของเมล็ดขนุน 1.0-2.0 มม. และอัตราส่วนระหว่างอนุภาคเมล็ดขนุนกับตัวทำละลายคือ 1:8



รูปที่ 3 ผลได้จากการสกัดเมล็ดขนุนขนาด 1.0-2.0, 2.8-2.0 และ 5.6-2.8 มม. ด้วยน้ำกลั่น โดยอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลายเป็น 1:2, 1:4, 1:6 และ 1:8 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที



รูปที่ 4 ผลได้จากการสกัดเมล็ดขุ่นขนาด 1.0-2.0, 2.8-2.0 และ 5.6-2.8 มม. ด้วยเอทานอล 50% โดยอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขุ่นกับตัวทำละลายเป็น 1:2, 1:4, 1:6 และ 1:8 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที



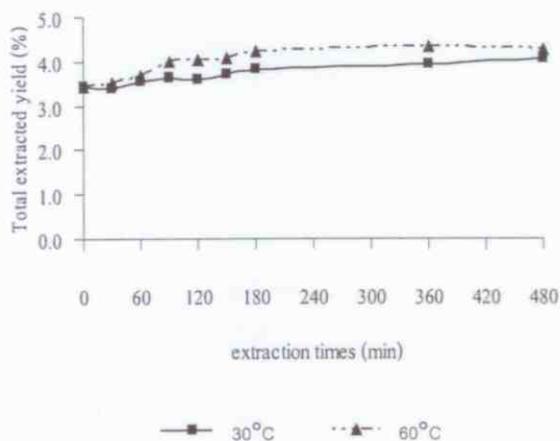
รูปที่ 5 ผลได้จากการสกัดเมล็ดขุ่นขนาด 1.0-2.0, 2.8-2.0 และ 5.6-2.8 มม. ด้วยเอทานอล 50% โดยอัตราส่วนระหว่างเมล็ดขุ่นกับตัวทำละลายเป็น 1:2, 1:4, 1:6 และ 1:8 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที

3.2 การสกัดด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง

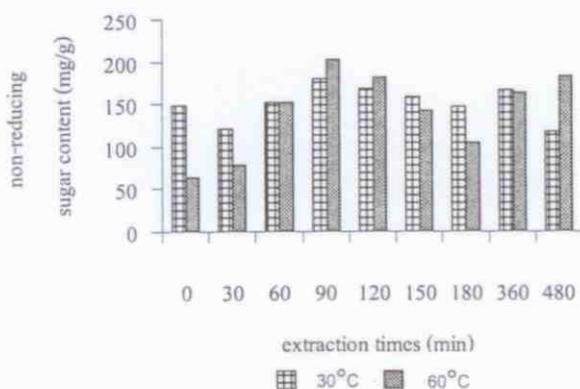
ในเบื้องต้นได้ดำเนินการสกัดในขนาดโรงงานจำลอง โดยไม่ได้มีการแช่อนุภาคเมล็ดขุ่นในตัวทำละลายเอทานอล 50% ก่อนการสกัด เช่นเดียวกับการทดลองในชุดทดลองขนาดเล็ก ซึ่งผลได้สารสกัดมีค่าประมาณ 3%

ซึ่งน้อยกว่าผลได้จากการสกัดด้วยชุดทดลองขนาดเล็กถึง 2 เท่า ทั้งนี้เนื่องมาจากในชุดทดลองขนาดเล็กจะมีการกวนด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที แต่ในชุดทดลองขนาดโรงงานจำลองไม่ได้มีการติดตั้งใบพัดกวน การใช้ระบบบ่มไหลเวียนสารละลายยังทำไม่ได้ดีพอ ซึ่งจะต้องมีการปรับปรุงระบบต่อไป ในการทดลองจึงได้ทำการแช่เมล็ดขุ่นในตัวทำละลายเอทานอล 50% ก่อนการสกัดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

จากรูปที่ 6 พบว่าเมื่อระยะเวลาในการสกัดนานขึ้นผลได้ของสารสกัดเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยและหลังจากเวลาในการสกัด 90 นาที ผลได้ของสารสกัดเริ่มมีค่าคงที่และเมื่อนำสารสกัดไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ซึ่งคาดว่าเป็นฟรีโบโอติกส์นั้น ที่เวลา 90 นาที ก็จะได้ปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์สูงที่สุด ดังแสดงในรูปที่ 7 เวลาของการสกัดที่เหมาะสมจึงเป็น 90 นาที เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิ พบว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 60°C มีค่าผลได้สูงกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 30°C เพียงเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องจากโปรตีนที่อยู่ภายในเมล็ดขุ่นเกิดการเสียสภาพที่อุณหภูมิ 60°C ทำให้เกิดการขัดขวางการสัมผัสกันระหว่างตัวถูกละลายกับตัวทำละลาย เช่นเดียวกับการศึกษาของ Kim et al. (2003) ที่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดเป็น 65°C จะทำให้ผลได้ของการสกัดลดลง นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Xiaoli et al. (2008) และเมื่อทำการทดลองด้วยชุดสกัดขนาดเล็กเพื่อยืนยันผลอีกครั้ง ก็พบว่า ผลได้ของสารสกัดที่อุณหภูมิ 30 และ 60°C มีค่าเป็น 6.57 และ 7.27% ตามลำดับ และในส่วนของน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ พบว่าที่อุณหภูมิ 30 และ 60°C มีค่าเป็น 522.36 และ 236.92 มิลลิกรัม/กรัม สารสกัด ตามลำดับ ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดฟรีโบโอติกส์ได้แก่อุณหภูมิ 30°C และเมื่อนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ ก็พบว่าสารสกัดที่ได้สามารถส่งเสริมการเจริญของ *Lactobacillus plantarum*



รูปที่ 6 ผลได้จากการสกัดเมล็ดขนุนขนาด 1.0-2.0 mm เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล 50% อัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุน 1:8 เวลาในการสกัด 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 360, 480 นาที และอุณหภูมิในการสกัด 30 และ 60 °C



รูปที่ 7 ปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล 50% ขนาดเมล็ดขนุน 1.0-2.0 mm อัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุน 1:8 เวลาในการสกัด 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 360, 480 นาที และอุณหภูมิในการสกัด 30 และ 60 °C

4. สรุปผลการทดลอง

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดฟิโอบิติน คือ ตัวทำละลายเอทานอล 50% ขนาดอนุภาคเมล็ดขนุน 1.0-2.0 มิลลิเมตร อัตราส่วนระหว่างน้ำกับอนุภาคเมล็ดขนุนต่อปริมาตรตัวทำละลาย 1:8 โดยในการสกัดด้วยเครื่องสกัดแบบแบทช์ขนาดโรงงานจำลอง ควรใช้เวลาในการสกัดนาน 90 นาที โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30 °C โดยได้

ปริมาณสารสกัดทั้งหมดประมาณ 6% สารสกัดที่ได้มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์

5. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติที่ได้ให้ทุนเพื่อดำเนินการตามโครงการสมองไหลกลับ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนทุนวิจัยอีกส่วนหนึ่ง และภาควิชาวิศวกรรมเคมีที่ให้การสนับสนุนในเรื่องอื่นๆ

เอกสารอ้างอิง

- Angela, M., Meireles, A. (2009). *Extracting Bioactive Compounds for Food Products: Theory and Applications*, CRC Press, US.
- Crittenden, R.G., Playne, M.J. (1996). Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides, *Trends in Food Science and Technology*. Vol 7, 353-360.
- Dubois, M. Gilles, K.A. Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances, *Analytical Chemistry*. Vol 28, 350-356.
- Ellegard, L. Andersson, H. and Bosaeus, I. (1997). Inulin and oligofructose do not influence the absorption of cholesterol, or the excretion of cholesterol, Ca, Mg, Zn, Fe or bile acids but increases energy excretion in ileostomy subjects, *European Journal of Clinical Nutrition*. Vol 51, 1-5.
- Ekvall, J., Stegmark, R., Nyman, M. (2007). Optimization of Extraction Methods for Determination of the Raffinose Family Oligosaccharides in Leguminous Vine Peas (*Pisum sativum* L.) and Effects of Blanching, *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol 20, 13-18.

- Gulewicz, P., Ciesiolka, D., Frias, J., Vidal-Valverde, C., Frejnagel, S., Trojanowska, K., Gulewicz, K. (2003). Simple method of isolation and purification of α -galactosides from legumes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 48, 3120-3123.
- Huebner, J., Wehling, R.L., Parkhurst, A., Hutkins, R.W. (2008). Effect of processing conditions on the prebiotic activity of commercial prebiotics, *International Dairy Journal*. Vol 18, 287-293.
- Kim, S. Kim, W., Hwang, I.K.. (2003). Optimization of the Extraction and Purification of Oligosaccharides from Defatted Soybean Meal, *International Journal of Food Science and Technology*. Vol 38, 337-342.
- Miller, G.L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar, *Analytical Chemistry*. Vol 31, 426-428.
- Nualla-ong, S., Chetpattananondh, P., Prasertsit, K., Yamsaengsung, R. (2008). Extraction of prebiotics from sugar palm shells, PEC, The 6th PSU-Engineering Conference, Hat Yai 8-9 May. (In Thai).
- Thammarutwasik, P. (2008). Progress report: Extraction of prebiotics from agricultural plants. Faculty of Agro-Industry. Prince of Songkla University. (In Thai).
- Tuohy, K.M., Probert, H.M., Smejkal, C.W, Gibson, G.R. (2003). Using probiotics and prebiotics to improve gut health, *Drug Discovery Today*. Vol 8, 692-700.
- Wang, Y. (2009). Prebiotics: Present and future in food science and technology, *Food Research International*. Vol 42, 8-12.
- Wawsripong, N. (1986). *Plantation of jackfruit*. Pimsuay Publishing Inc., Bangkok (In Thai).
- Xiaoli, X., Liyi, Y., Shuang, H., Wei, L., Yi, S., Hao, M., Jusong, Z., Xiaoxiong, Z. (2008). Determination of oligosaccharide content in 19 cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L) seeds by high performance liquid chromatography, *Food Chemistry*. Vol 111, 215-219.