

## บทที่ 2

### อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

#### อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

##### 1. อุปกรณ์การทดลอง

#### ตารางที่ 2.1 ชื่อเครื่องมือ รุ่น และบริษัทผู้ผลิตที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อเครื่องมือ	รุ่น	บริษัท
1. เครื่องเก็บปริมาตรย่อย	D - 180	Elyela, Japan
2. บีม	Fumilap pump Qsy-1	Fluid metering, USA
3. อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ	TU-160	Techne, England
4. อ่างน้ำเย็นควบคุมอุณหภูมิ	TRL-180	Thomas, Takatu CO, Ltd Japan
5. เครื่องเขย่า	G-560E	Scientific industries, Inc, USA
6. เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน	R E-52	Yamamoto, Japan
7. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง	V 3100	Shimadzu, Japan
8. เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ	WRT	Inform, Switzerland
9. Morat magnetic stirrer Morat heating unit	M22/1	Framo-Geratetechnik Germany
10. Ultrasonicator	DG1	Taiwan
11. HPLC	LC-6A	Shimadzu, Japan

## 2. สารเคมี

ตารางที่ 2.2 รายชื่อสารเคมีและบริษัทผู้ผลิต

สารเคมี	บริษัทผู้ผลิต
1. คาร์บอนกัมมันต์ (Activated carbon) - ชนิดผง - ชนิดเม็ด	
2. บิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีน ( Butylatehydroxytoluene )	Burroughs Wellcome & Co, England
3. เฮกเซน ( Hexane )	Commercial grade: Analytical grade: Merck, Germany
4. โทลูอีน ( Toluene )	Commercial grade: Analytical grade: Merck, Germany
5. เมทานอล ( Methanol )	Analytical grade: Merck, Germany
6. คลอโรฟอร์ม ( Chloroform )	J.T. Baker, USA
7. ไตรเอทิลเอมีน ( Triethylamine )	Fluka, USA
8. สารมาตรฐานบีตา-แคโรทีน ( Type III : from carrot )	Sigma, USA
9. อะซีโตนไตรล ( Acetonitrile )	AJAX, Australia
10. ไดคลอโรมีเทน ( Dichloromethane )	Merck, Germany
11. กระดาษกรองเบอร์ 2 ( Paper filter No.2 )	Whatman International Ltd, England
12. น้ำมันปาล์มโอเลอิน ( Crude olein )	Pamolá Factory

### 3. การทดลองในระบบแบทช์

#### 3.1 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของสารบีตา-แคโรทีน

##### 3.1.1 ความร้อน

ซึ่งน้ำมันปาล์มโอเลอิน 0.100 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองชนิดเกลียวมีฝาปิดขนาด 10 มิลลิลิตร จำนวน 35 หลอด แล้วนำไปให้ความร้อนโดยอ่างน้ำมันที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดยแบ่งการทดลองเป็น 7 ชุดการทดลอง แปรอุณหภูมิในแต่ละการทดลองเป็น 60°C - 120°C โดยมีช่วงห่างแต่ละอุณหภูมิ 10 °C และทำการแปรเวลาในการให้ความร้อนในแต่ละอุณหภูมิเป็น 15, 30, 45, 60 และ 90 นาที หลังจากนั้นนำมาละลายด้วยโทลูอีน 5.0 มิลลิลิตร แล้วทำการเจือจางสารตัวอย่างให้เป็น 10 เท่า นำมากรองผ่านกระดาษกรอง PTFE ขนาด 0.45 ไมครอนนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารบีตา-แคโรทีนด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้สภาวะในการวิเคราะห์ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณบีตา-แคโรทีนโดยเครื่อง HPLC

#### สภาวะในการวิเคราะห์

คอลัมน์	Shim pack CLC - ODS , steel, 150 x 6.0 มิลลิเมตร
สารละลายตัวพา	อะซีโตไนไตรล : เมททานอล : ไดคลอโรมีเทน 55:30:15
อัตราการไหล	1.0 มิลลิลิตร ต่อนาที
ความดัน	32 บาร์
ปริมาณที่ใช้วิเคราะห์	10 ไมโครลิตร
อุณหภูมิ	25 °C
ตัวทำละลายตัวอย่าง	โทลูอีน
การตรวจวัด	445 นาโนเมตร
การคำนวณ	พื้นที่ใต้พีค
เวลาในการวิเคราะห์	30 นาที
Sensitivity	0.4 AUFS
Attenuation	2

### 3.1.2 สารป้องกันการเกิดออกซิเดชัน

ซึ่งคาร์บอนกัมมันต์ชนิดละเอียดอย่างละ 2.5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย 0.5 % บิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีนในเฮกเซน 40 มิลลิลิตร ซึ่งปรับสภาพความเป็นด่างของสารละลายดังกล่าวด้วยไตรเอทิลเอมีน แช่เป็นเวลานาน 30 นาที จากนั้นล้างคาร์บอนกัมมันต์ด้วยเฮกเซนแล้วกรองผ่านเครื่องกรองสุญญากาศ จนกระทั่งสารละลายที่ผ่านเครื่องกรองใสไม่มีสี

ชุดที่ 2 คาร์บอนกัมมันต์ที่ไม่ผ่านการแช่ใน 0.5% บิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีนในเฮกเซน จากนั้นเติมน้ำมันปาล์มโอเลอิน 10.0 กรัม ใส่ลงในคาร์บอนกัมมันต์แต่ละชุดการทดลอง นำไปตั้งบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 30 นาที โดยใช้อุณหภูมิในการดูดซับ 80 °ซ จากนั้นเติมเฮกเซน 80 มิลลิลิตรเพื่อล้างน้ำมันที่เกาะติดบนคาร์บอนกัมมันต์ออกให้หมด กรองผ่านเครื่องกรองสุญญากาศจะได้สารละลายสีเหลืองใสกับคาร์บอนกัมมันต์ที่ผ่านการดูดซับสารแคโรทีน นำสารละลายสีเหลืองใสไประเหยเอาเฮกเซนออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศใช้อุณหภูมิ 40 °ซ จำนวนรอบในการหมุน 100 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 30 นาที จนกระทั่งระเหยเอาเฮกเซนออกจนหมดจะได้น้ำมันปาล์มหลังการดูดซับ จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารแคโรทีนที่เหลืออยู่ในน้ำมันปาล์มโดยละลายตัวอย่างด้วยโทลูอีนแล้วนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 445 นาโนเมตร

นำคาร์บอนกัมมันต์ที่ดูดซับแคโรทีนแล้วแช่ในโทลูอีน 100 มิลลิลิตรเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมากรองผ่านเครื่องกรองสุญญากาศจะได้สารละลายสีส้มแดง นำไประเหยเอาโทลูอีนออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศใช้อุณหภูมิ 40 °ซ จำนวนรอบในการหมุน 100 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 45 นาที จนกระทั่งระเหยเอาโทลูอีนออกจนหมดจะได้สารแคโรทีนเข้มข้นสีส้มแดง นำสารแคโรทีนเข้มข้นที่สกัดได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารแคโรทีนโดยวัดการดูดกลืนแสงที่ 445 นาโนเมตร

## 3.2 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับ

### 3.2.1 ชนิดของตัวดูดซับ

ซึ่งตัวดูดซับแต่ละชนิดอย่างละ 2.5 กรัม คือ คาร์บอนกัมมันต์ชนิดละเอียด, คาร์บอนกัมมันต์ชนิดหยาบ, คาร์บอนกัมมันต์จากโรงงานพาไมลา, แอคติเวเตดเคลย์, และตัวดูดซับผสมระหว่างคาร์บอนกัมมันต์ชนิดละเอียดกับแอคติเวเตดเคลย์ นำมาแช่ใน 0.5% บิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีน (BHT) ในแยกเซนซึ่งมีสภาพเป็นต่าง จากนั้นดำเนินการทดลองทุกอย่างเหมือนวิธีการทดลองข้อ 3.1.2

### 3.2.2 อุณหภูมิในการดูดซับ

เตรียมการทดลองเหมือนวิธีการทดลองข้อ 3.1.2 แต่ผงคาร์บอนกัมมันต์ที่ใช้ต้องผ่านการแช่ในสารละลาย 0.5% บิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีน และแปรอุณหภูมิในการดูดซับเป็น อุณหภูมิ 25 °ซ, 80 °ซ, 90 °ซ, 100 °ซ, 110 °ซ และ 120 °ซ ตามลำดับ แล้วดำเนินการทดลองทุกอย่างเหมือนวิธีการทดลองข้อ 3.1.2

### 3.2.3 อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างผงคาร์บอนกัมมันต์ต่อปริมาณน้ำมันปาล์มโอเลอิน

ดำเนินการทดลองเหมือนวิธีการทดลองข้อ 3.1.2 แต่ใช้อุณหภูมิในการดูดซับเป็น 80°ซ , ระยะเวลาในการดูดซับ 30 นาที , ปริมาณน้ำมันปาล์มโอเลอิน 10.0 กรัม และแปรปริมาณผงคาร์บอนกัมมันต์ชนิดละเอียด ซึ่งผ่านการนำบดด้วย 0.5 % บิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีน เป็น 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, และ 3.3 กรัม ตามลำดับ แล้วดำเนินการทดลองทุกอย่างเหมือนวิธีการทดลองข้อ 3.1.2

### 3.2.4 เวลาที่ผงคาร์บอนกัมมันต์ถึงจุดอิ่มตัวในการดูดซับ

เตรียมการทดลองเหมือนวิธีการทดลองข้อ 3.1.2 แต่ใช้ปริมาณผงคาร์บอนกัมมันต์ชนิดละเอียดที่ผ่านการนำบดด้วย 0.5 % บิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีน ปริมาณ 2.5 กรัมต่อปริมาณน้ำมันปาล์มโอเลอิน 10.0 กรัม และแปรระยะเวลาในการดูดซับเป็น 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ แล้วดำเนินการทดลองทุกอย่างเหมือนวิธีการทดลองข้อ 3.1.2

### 3.3 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อภาวะ

#### 3.3.1 อุณหภูมิ

เตรียมการทดลองเหมือนวิธีการทดลองข้อ 3.1.2 โดยใช้ผงคาร์บอนกัมมันต์ชนิดละเอียดที่ผ่านการบำบัดด้วย 0.5 % บิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีน ปริมาณ 2.5 กรัม ใช้อุณหภูมิในการดูดซับ 80 °ซ , ระยะเวลาในการดูดซับ 30 นาที ปริมาณน้ำมันปาล์ม 10.0 กรัม แปรอุณหภูมิในขั้นตอนการระเหยไอน้ำออกจากผงคาร์บอนกัมมันต์เป็น 25 °ซ, 40 °ซ, 50 °ซ และ 60 °ซ ตามลำดับ โดยในขั้นตอนการระเหยไอน้ำควบคุมอุณหภูมิโดยนำไปตั้งบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 30 นาที, ใช้โทลูอีนปริมาณ 100 มิลลิลิตรเป็นตัวชะ หลังจากนั้นดำเนินการทดลองทุกอย่างเหมือนวิธีการทดลองข้อ 3.1.2

#### 3.3.2 ชนิดของตัวชะ

เตรียมการทดลองเหมือนวิธีการทดลองข้อ 3.3.1 แต่แปรชนิดของตัวชะเป็น เฮกเซน , โทลูอีน , ไซโคลเฮกเซน , ไดคลอโรมีเทน และ คลอโรฟอร์ม แล้วดำเนินการทดลองทุกอย่างเหมือนวิธีการทดลองข้อ 3.3.1

#### 3.3.3 การระเหยไอน้ำออกจากคาร์บอนกัมมันต์โดยใช้เครื่องอัลตราโซนิคส์ เปรียบเทียบกับวิธีอื่น ๆ

ซึ่งผงคาร์บอนกัมมันต์ 12.0 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย 0.5 % บิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีนปริมาณ 200 มิลลิลิตร นำไปตั้งไว้บนเครื่องเขย่านาน 30 นาที ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที หลังจากนั้นนำผงคาร์บอนกัมมันต์มากรอง โดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศและล้างผงคาร์บอนกัมมันต์ด้วยเฮกเซนปริมาณ 200 มิลลิลิตร จนกระทั่งผงคาร์บอนกัมมันต์แห้งสนิทแล้วนำผงคาร์บอนกัมมันต์ที่ได้ทั้งหมดใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ซึ่งมีน้ำมันปาล์มดิบ 6.0 กรัมละลายในเฮกเซน 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวางบนเครื่องเขย่านาน 30 นาที แล้วจึงทำการกรองของผสมที่ได้และล้างส่วนของน้ำมันที่ติดอยู่บนผงคาร์บอนกัมมันต์โดยใช้เฮกเซน 70 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายที่ได้มาปรับปริมาตรด้วยเฮกเซนเป็น 100 มิลลิลิตร เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนที่เหลืออยู่ในน้ำมันหลังการดูดซับ

นำผงคาร์บอนกัมมันต์ที่แห้งสนิทที่อยู่บนกระดาษกรองมาแบ่งซึ่งใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร ขวดละ 2.0 กรัม แล้วเติมโทลูอีนลงไปปริมาณขวดละ 30 มิลลิลิตร จำนวน 6 ขวด โดยแต่ละขวดทำการทดลองทำการทดลองดังนี้

จุดที่ 1 ทำการชะแคโรทีนออกจากผงคาร์บอนกัมมันต์ โดยนำไปตั้งไว้บนเครื่องเขี่ยนาน 30 นาที

จุดที่ 2 ทำการชะโดยแช่ทิ้งไว้ในโทลูอีน นาน 30 นาที

จุดที่ 3 ทำการชะโดยนำไปวางไว้บนเครื่องอัลตราโซนิคส์ นาน 30 นาที

หลังจากทำการชะแคโรทีนออกจากผงคาร์บอนกัมมันต์ทั้ง 3 จุดแล้ว กรองของผสมที่ได้ผ่านเครื่องกรองสุญญากาศ ใช้โทลูอีนล้างแคโรทีนที่ติดอยู่บนผงคาร์บอนกัมมันต์อีก 10 มิลลิลิตร จากนั้นจึงปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยโทลูอีน นำสารละลายแคโรทีนที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนโดยการ วัดการดูดกลืนแสงที่ 445 นาโนเมตร

นำผงคาร์บอนกัมมันต์ที่ผ่านการชะในครั้งแรกมาทำการชะซ้ำ โดยดำเนินการทดลองในขั้นตอนการชะเหมือนครั้งแรกทุกประการ

#### 3.4 ประสิทธิภาพของคาร์บอนกัมมันต์เมื่อใช้งานหลายรอบ

เตรียมการทดลองเหมือนวิธีการทดลองข้อ 3.1.2 แต่นำผงคาร์บอนกัมมันต์ที่ผ่านการใช้งานในรอบที่ 1 มาทำการทดลองซ้ำอีก 4 รอบ โดยดำเนินการทดลองทุกอย่างเหมือนวิธีการทดลองข้อ 3.1.2

#### 4. การวิเคราะห์หาปริมาณสารแคโรทีนโดยสเปกโตรโฟโตเมตรี

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารแคโรทีนในน้ำมันปาล์มหลังการดูดซับ และในสารแคโรทีนเข้มข้นที่สกัดได้ โดยชั่งน้ำมันปาล์มหลังการดูดซับ 0.1 กรัม และสารแคโรทีนเข้มข้น 0.01 กรัม นำแต่ละตัวอย่างมาละลายในโทลูอีน 5.0 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางสารละลายตัวอย่างทั้งสองเป็น 5 เท่า และ 10 เท่า ตามลำดับ นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 445 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตเมตรี คำนวณหาปริมาณสารแคโรทีนจากกราฟมาตรฐานในหน่วยของไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในภาคผนวก ค แล้วคำนวณกลับหาความเข้มข้นของสารแคโรทีนที่ได้ในหน่วยไมโครกรัมต่อกรัม

## 5. การทดลองในระบบคอสมัน

### 5.1 การศึกษาด้านแบบการดูดซับและการชะสารบีตา-แคโรทีนบนคาร์บอนกัมมันต์

#### 5.1.1 อัตราการไหลในขั้นตอนการดูดซับ

ทำการเตรียมคอสมันโดยบรรจุคาร์บอนกัมมันต์ชนิดเม็ด 5.0 กรัม ซึ่งแช่อยู่ใน 0.5% บิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีนในสภาวะเป็นต่าง ใส่ลงในคอสมันที่ควบคุมอุณหภูมิได้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.0 เซนติเมตร ความสูงของคาร์บอนกัมมันต์ 11.0 เซนติเมตร จากนั้นทำการล้างคอสมันให้สะอาดโดยผ่านเฮกเซน 125 มิลลิลิตรลงในคอสมัน จนกระทั่งสารละลายที่ออกจากคอสมันใสไม่มีสี แล้วจึงทำการผ่านสารละลายบีตา-แคโรทีนในโทลูอีนความเข้มข้น 800 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณ 25.0 มิลลิลิตร ซึ่งมีปริมาณบีตา-แคโรทีน 20.0 มิลลิกรัม ผ่านลงในคอสมันโดยแปรอัตราการไหลในขั้นตอนการดูดซับเป็น 0.5, 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิลิตรต่อนาที เก็บสารละลายที่ออกจากคอสมันเป็นลำดับส่วน 5.0 มิลลิลิตรต่อหลอดทดลอง ในขั้นตอนดูดซับหลังจากผ่านสารละลายบีตา-แคโรทีนหมดแล้ว ทำการล้างบีตา-แคโรทีนส่วนเกินที่ติดอยู่ในคอสมันออกมาจนหมดโดยผ่านเฮกเซนปริมาณ 75 มิลลิลิตร จากนั้นจึงทำการชะบีตา-แคโรทีนที่ถูกดูดซับบนผิวน้ำคาร์บอนกัมมันต์โดยใช้โทลูอีน 425 มิลลิลิตร ใช้อัตราการไหลในขั้นตอนการชะ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารบีตา-แคโรทีนโดยวัดการดูดกลืนแสงที่ 445 นาโนเมตร

#### 5.1.2 อัตราการไหลในขั้นตอนการชะ

ดำเนินการทดลองทุกอย่างเหมือนวิธีการทดลองข้อ 5.1.1 โดยใช้อัตราการไหลในขั้นตอนการดูดซับเป็น 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที แต่แปรอัตราการไหลในขั้นตอนการชะเป็น 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิลิตรต่อนาที

#### 5.1.3 อุณหภูมิในขั้นตอนการดูดซับและชะ

ดำเนินการทดลองทุกอย่างเหมือนวิธีการทดลองข้อ 5.1.1 โดยใช้อัตราการไหลในขั้นตอนการดูดซับและการชะเป็น 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และแปรอุณหภูมิในการดูดซับและการชะทั้งสองขั้นตอนควบคู่กันเป็น 25, 40, 50, 60, และ 70 °ซ ตามลำดับ



#### 5.1.4 ประสิทธิภาพของคอสม์เมื่อใช้งานหลายรอบ

ดำเนินการทดลองทุกอย่างเหมือนวิธีการทดลองข้อ 5.1.1 โดยใช้อัตราการไหลในขั้นตอนการดูดซับและการชะเท่ากับ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และอุณหภูมิในการดูดซับและการชะเท่ากับ 25 °ซ ทำการทดลองซ้ำ โดยใช้คอสม์เดิมที่ผ่านการทดลองในครั้งแรกมาทำการทดลองซ้ำอีก 4 ครั้ง

### 5.2 การสกัดสารแคโรทีนจากน้ำมันปาล์มโอเลอิน

#### 5.2.1 การเปรียบเทียบวิธีการต่างๆในขั้นตอนการดูดซับ ในระบบคอสม์เดี่ยว

ทำการเตรียมคอสม์ก่อนการใช้งานเหมือนข้อวิธีการทดลองข้อ 5.1.1 ใช้อัตราการไหลในขั้นตอนการดูดซับและการชะ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิในการชะ 25 °ซ และใช้โทลูอีนปริมาณ 425 มิลลิลิตรในการชะ แต่ในขั้นตอนการดูดซับดำเนินการทดลองดังนี้

วิธีการที่ 1 ผ่านน้ำมันปาล์มโอเลอินที่ไม่ละลายในตัวทำละลายชนิดใด

วิธีการที่ 2 ผ่านน้ำมันปาล์มโอเลอินที่ไม่ละลายในตัวทำละลายชนิดใด และใช้อุณหภูมิในการดูดซับ 40 °ซ

วิธีการที่ 3 ผ่านน้ำมันปาล์มโอเลอินที่ละลายในเฮกเซน 20 มิลลิลิตร โดยที่วิธีการที่ 1 และ 3 ใช้อุณหภูมิในการดูดซับ 25 °ซ แล้วดำเนินการทดลองทุกอย่างเหมือนวิธีการทดลองข้อ 5.1.1

#### 5.2.2 การสกัดสารแคโรทีนจากน้ำมันปาล์มโอเลอินในระบบคอสม์ต่อเนื่อง 3 คอสม์

เตรียมคอสม์ก่อนการใช้งานเหมือนวิธีการทดลองข้อ 5.1.1 แต่เพิ่มจำนวนคอสม์ที่ใช้เป็น 3 คอสม์ ดังแสดงชุดการทดลองในรูปที่ 2.1 โดยแต่ละคอสม์บรรจุเม็ดคาร์บอนกัมมันต์ 5.0 กรัมเท่ากันทุกคอสม์ จากนั้นจึงผ่านน้ำมันปาล์มโอเลอิน 20.0 กรัมลงในคอสม์โดยน้ำมันปาล์มที่ผ่านการดูดซับในคอสม์ที่ 1 แล้วจะผ่านลงสู่คอสม์ที่ 2 และ 3 ตามลำดับ ใช้อัตราการไหลในช่วงการดูดซับ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้อุณหภูมิในช่วงดูดซับ 40°ซ หลังจากนั้นจึงใช้เฮกเซน 200 มิลลิลิตร ล้างน้ำมันที่ติดอยู่ในคอสม์ เก็บตัวอย่างสารละลายน้ำมันปาล์มที่ผ่านออกมาจากแต่ละคอสม์ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร แล้วทำการระเหยเอา

ตัวทำละลายออก แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนที่เหลือจากการดูดซับตามวิธีการทดลอง  
ข้อ 5.1.1 ทุกประการ

ในขั้นตอนการระทำการระแคโรทีนที่ถูกดูดซับไว้บนเม็ดคาร์บอนกัมมันต์  
โดยทำการแยกการระออกที่ละคอลัมน์ แต่ละคอลัมน์ใช้ปริมาณโทลูอีน 425 มิลลิลิตร โดยใช้  
อัตราการไหลในการระ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาทีและอุณหภูมิในการระ 25 °ซ จากนั้นนำสารละลาย  
แคโรทีนที่ระได้จากแต่ละคอลัมน์ไประเหยเอาตัวทำละลายออก แล้ววิเคราะห์หาปริมาณสาร  
แคโรทีนตามวิธีการทดลองข้อ 5.1.1



รูปที่ 2.1 แสดงชุดการทดลองในการสกัดสารแคโรทีนจากน้ำมันปาล์มโอเลอินโดยระบบ  
คอลัมน์ต่อเนื่อง 3 คอลัมน์

6. การหาปริมาณของสารบีตา-แคโรทีนและแอลฟา-แคโรทีนในสารแคโรทีนเข้มข้นที่สกัดได้ด้วย เครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี

ทำการเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารบีตา-แคโรทีน และ สารแอลฟา-แคโรทีน ด้วยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี โดยชั่งสารแคโรทีนเข้มข้นที่สกัดได้ 0.01 กรัม ละลายด้วยโทลูอีน 1.0 มิลลิลิตร ทำการเจือจางด้วยโทลูอีนเป็น 5 เท่า จากนั้นนำสารละลายที่เจือจางแล้วมากรองผ่านกระดาษกรอง PTFE ที่มีขนาดรู 0.45 ไมครอน แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสารบีตา-แคโรทีนและสารแอลฟา-แคโรทีน ด้วยเครื่อง HPLC สภาวะในการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 2.3 จำนวนหาปริมาณบีตา-แคโรทีนและแอลฟา-แคโรทีน จากกราฟมาตรฐานในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในภาคผนวก ง, จ แล้วคำนวณกลับหาความเข้มข้นของสารแคโรทีนที่ได้ในหน่วยไมโครกรัมต่อกรัม

7. การสกัดแยกโทลูอีนออกจากสารแคโรทีนเข้มข้นที่สกัดได้โดยการกลั่นแบบลดความดัน

ชั่งสารแคโรทีนที่ได้จากการทดลอง 10.00 กรัม ใส่ในขวดกั้นกลขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปทำการกลั่นที่อุณหภูมิ 80 °ซ ให้ความร้อนจากอ่างน้ำมันที่ควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยในขณะที่ทำการทดลองต้องทำการคนสารตัวอย่างด้วยแท่งแม่เหล็กตลอดเวลา หลังจากนั้นจึงนำสารตัวอย่างที่ได้หลังจากทำการกลั่นเอาโทลูอีนออกไปแล้วมาทำการเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโทลูอีนที่เหลืออยู่โดยวิธีการทาง HPLC โดยชั่งสารตัวอย่าง 0.0126 กรัม ละลายด้วยไดคลอโรมีเทน 1.0 มิลลิลิตร แล้วทำการเจือจางด้วยไดคลอโรมีเทนให้เป็น 5 เท่า นำสารละลายตัวอย่างมากรองผ่านกระดาษกรอง PTFE ขนาด 0.45 ไมครอน แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโทลูอีนด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งสภาวะในการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 2.4 จำนวนหาปริมาณโทลูอีนจากกราฟมาตรฐานในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในภาคผนวก จ แล้วคำนวณกลับในหน่วยไมโครกรัมต่อกรัม

นอกจากนี้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารบีตา-แคโรทีนก่อนและหลังทำการกลั่นแยกโทลูอีนโดยวิธีการทาง HPLC ด้วย โดยใช้สภาวะในการวิเคราะห์ดังแสดงใน ตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.4 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโพลีอินทรีย์โดยเครื่อง HPLC

สภาวะในการวิเคราะห์

คอลัมน์	Shim-pack CLC-ODS, Steel 150x6.0 มิลลิเมตร
สารละลายตัวพา	เมทธานอล : น้ำ เท่ากับ 80 : 20
อัตราการไหล	1.0 มิลลิลิตรต่อนาที
ความดัน	140 บาร์
ปริมาณที่ใช้วิเคราะห์	10 ไมโครลิตร
อุณหภูมิ	25 °ซ
ตัวทำละลายตัวอย่าง	ไดคลอโรมีเทน
การตรวจวัด	254 นาโนเมตร
การคำนวณ	พื้นที่ใต้พีค
Sensitivity	0.04
Attenuation	2
ระยะเวลาในการวิเคราะห์	10 นาที

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

8. ศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อการชะสารแคโรทีนออกจากคาร์บอนกัมมันต์

ในขั้นตอนการดูดซับดำเนินการทดลองเหมือนข้อ 3.3.3 โดยใช้ น้ำมันปาล์มโอเลอิน 12.0 กรัม ละลายด้วยเฮกเซน 70 มิลลิลิตร และผงคาร์บอนกัมมันต์ 12.0 กรัม ส่วนในขั้นตอนการชะนำผงคาร์บอนกัมมันต์ที่ผ่านการดูดซับสารแคโรทีนในขั้นตอนการดูดซับแล้ว ซึ่งใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร ตัวอย่างละ 2.0 กรัม จำนวน 8 ตัวอย่าง แล้วดำเนินการทดลองเหมือนวิธีการทดลองข้อ 3.3.3 ทุกประการ แต่ใช้ตัวทำละลายในการชะแตกต่างกันไปตัวอย่างละ 30 มิลลิลิตร ดังนี้

ตัวอย่างที่ 1, 2 ทำการชะด้วยเฮกเซน

ตัวอย่างที่ 3, 4 ทำการชะด้วยโทลูอีน

ตัวอย่างที่ 5, 6 ทำการชะด้วยเฮกเซนซึ่งมีส่วนผสมของ Tween 80 2 % โดยปริมาตร

ตัวอย่างที่ 7, 8 ทำการชะด้วยโทลูอีนซึ่งมีส่วนผสมของ Tween 80 2 % โดยปริมาตร

นำสารละลายแคโรทีนที่ได้จากการชะออกจากผงคาร์บอนกัมมันต์แต่ละตัวอย่าง มาปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยโทลูอีนเป็น 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 445 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ แล้วคำนวณหาปริมาณสารแคโรทีนจากกราฟมาตรฐานซึ่งแสดงไว้ในภาคผนวก ค

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย