ผลของการพรีทรีตเม้นต์ด้วยอัลตร้าซาวด์ต่อการสกัดอินนูลินจากหัวแก่นตะวัน

ชุติมา วันเพ็ญ[1] บุษราภรณ์ งามปัญญา[2], สุวัฒนา พฤกษะศรี[3]
พิมพ์ชนก จตุรพิรีย์[2] และ ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ[4*]
มหาวิทยาลัยศิลปากร อ.เมือง จ.นครปฐม 73000

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการพรีทรีตเม้นต์ด้วยคลื่นอัลตร้าซาวด์พลังงานสูง (750 วัตต์) ที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ซ ต่อประสิทธิภาพการสกัดสารอินนูลินจากหัวแก่นตะวัน โดยศึกษาค่าแอมพลิจูด (ร้อยละ 20, 40, 60, 80 และ 100) เวลา (1, 5 และ 10 นาที) และอุณหภูมิ (25 และ 80 องศาเซลเซียส) จากนั้นจึงสกัดด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยใช้สัดส่วนผงหัวแก่นตะวันต่อน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 50 โดยน้ำหนัก ผลการทดลองพบว่าร้อยละการสกัดอินนูลินด้วยน้ำร้อนเพียงอย่างเดียวมีค่า 49.8 (โดยน้ำหนักแห้ง) และการพรีทรีตเม้นต์ด้วยอัลตราซาวด์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดอินนูลินได้ โดยการพรีทรีตเม้นต์ที่ค่าแอมพลิจูด และเวลาที่สูงขึ้นมีแนวโน้มเพิ่มค่าประสิทธิภาพการสกัด และการพรีทรีตเม้นต์ที่อุณภูมิ 80 องศาเซลเซียสช่วยเพิ่มร้อยละการสกัดได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามจากการวิเคราะห์องค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตด้วยวิธี HPLC พบว่าการพรีทรีตเม้นต์ด้วยอัลตราซาวด์ส่งผลให้สัดส่วนของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและโมเลกุลคู่มีสัดส่วนเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอัลตราซาวด์มีผลต่อการตัดสายพอลิเมอร์ของอินนูลินได้

คำสำคัญ : ฟรุกแตน / คาร์โบไฮเดรต / คลื่นอัลตราโซนิค / ประสิทธิภาพการสกัด

---

* *Corresponding author: Email: kpramote@su.ac.th*

1 *นักศึกษา ปริญญาโท ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม*

2 *ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม*

3 *อาจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม*

4 *ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม*

The Effect of Ultrasonic Pretreatment on Inulin Extraction from Jerusalem Artichoke Tuber

Chutima Wanpen[1], Budsaraporn Ngampanya[2], Suwattana Pruksasri[3], Phimchanok Jaturapiree[2] and Pramote Khuwijitjaru[4*]

Silpakorn University, Nakhon Pathom, 73000

Abstract

This research was conducted to investigate the effect of pretreatment using high-power ultrasonic wave (750 W) at the sound frequency of 20 kHz on the extraction efficiency of inulin from Jerusalem artichoke tuber. Pretreatments were performed using various ultrasound wave amplitudes (20, 40, 60, 80 and 100%), pretreatment times (1, 5 and 10 min) and pretreatment temperatures (25 and 80 °C). This was followed by hot-water extraction at 80 °C for 1 h. The Jerusalem artichoke tuber powder to water ratio was 1:50 by weight. Results showed that without the pretreatment the inulin extraction yield was only 49.8% (dry weight). Pretreatment using ultrasound at every condition increased the extraction yield and the pretreatments at 80 °C resulted in higher extraction yields than the pretreatments at 25 °C. However, HPLC analysis of carbohydrate components revealed that the ultrasonic pretreatment resulted in higher mono- and di-saccharides ratio, which suggested that the ultrasound pretreatment was able to promote depolymerization of inulin chain.

Keywords : Carbohydrate / Extraction efficiency / Fructan / Ultrasonic wave

* *Corresponding author: Email: kpramote@su.ac.th*

1 *Graduate Student, Department of Food Technology, Faculty of Engineering and Industrial Technology.*

2 *Assistant Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Engineering and Industrial Technology.*

3 *Lecturer, Department of Food Technology, Faculty of Engineering and Industrial Technology.*

4 *Assistant Professor, Department of Food Technology, Faculty of Engineering and Industrial Technology.*

1. บทนำ

อินนูลิน (inulin) เป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรต ประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลฟรุกโตสต่อกันและบางโครงสร้างอาจจะมีน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อที่ปลายสายด้วย อินนูลินมีจำนวนหน่วยน้ำตาลในสายพอลิเมอร์ตั้งแต่ 2 ถึง 60 หน่วย (DP 2 - 60) หรือมากกว่า อินนูลินมีประโยชน์เชิงสุขภาพหลายประการ โดยเฉพาะการทำหน้าที่เป็นเส้นใยอาหาร จึงใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพหลากหลายชนิดในปัจจุบัน [1] ในทางอุตสาหกรรมอินนูลินผลิตจากหัวของ chicory เป็นหลัก แต่อินนูลินสามารถพบได้ในพืชหลากหลายชนิด [2] แก่นตะวัน (Jerusalem artichoke) เป็นพืชหัวอีกชนิดหนึ่งที่สะสมอินนูลินในปริมาณสูง ซึ่งพืชชนิดนี้สามารถเพาะปลูกและให้ผลผลิตได้ดีในประเทศไทย หัวของแก่นตะวันมีอินนูลินในปริมาณ 14 – 20 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด [2, 3] หรือประมาณ 65-80 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง

ในการสกัดอินนูลินนั้นปรกติใช้การสกัดด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 60 - 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลาตั้งแต่ 20 นาที ถึง 1.5 ชั่วโมง [2, 4, 5] นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ศึกษา การใช้คลื่นอัลตร้าซาวด์ช่วยในการปรับปรุงประสิทธิภาพการสกัดอินนูลิน [5] เนื่องจากคลื่นอัลตร้าซาวด์ซึ่งเป็นคลื่นความถี่สูงมากกว่า 20 กิโลเฮิร์ซ ทำให้เกิดการแตกของเซลล์พืชจึงช่วยเร่งการปลดปล่อยสารต่างๆ ออกจากเซลล์ได้ ที่ผ่านมามีการศึกษาการประยุกต์ใช้เทคนิคนี้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดองค์ประกอบชนิดอื่นๆ อย่างกว้างขวาง [6] โดย Lingyun และคณะ [5] พบว่าการใช้คลื่นอัลตร้าซาวด์แบบโดยอ้อม คือใช้อ่างอัลตร้าซาวด์ (ultrasonic bath) และแบบโดยตรง คือการใช้อัลตร้าซาวด์โพรบ (ultrasonic probe) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดอินนูลินจากหัวแก่นตะวันได้ แต่การใช้อัลตร้าซาวด์โดยตรงซึ่งให้พลังงานที่สูงนั้นส่งผลให้เกิดการตัดสายพอลิเมอร์ของอินนูลินเกิดเป็นอินนูลินที่มีขนาดสายสั้นมากขึ้นได้ [5] ซึ่งผลของคลื่นอัลตร้าซาวด์ต่อการตัดสายพอลิเมอร์นั้นมีการศึกษาในคาร์โบไฮเดรตหลายประเภท Zou และคณะ [7] ได้ศึกษาผลการสลายตัวของ dextran ด้วยคลื่นอัลตร้าซาวด์ และพบว่าเป็นวิธีการตัดสาย dextran ที่ง่ายและควบคุมได้สะดวกเหมาะสำหรับการเตรียม dextran ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ นอกจากนี้ Machová และคณะ [8] ได้ศึกษาการตัดสายพอลิเมอร์ของสารประกอบ chitin-glucan เพื่อให้ได้องค์ประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ

ดังนั้นงานวิจัยนี้สนใจศึกษาการพรีทรีตเม้นต์หัวแก่นตะวันผงเป็นระยะเวลาสั้นๆ (1-10 นาที) ด้วยคลื่นอัลตร้าซาวด์โดยใช้ ultrasonic probe ก่อนการสกัดด้วยน้ำร้อนต่อปริมาณร้อยละการสกัดอินนูลิน และองค์ประกอบคาร์โบไฮเดรตของอินนูลินที่ได้จากหัวแก่นตะวัน ซึ่งงานวิจัยลักษณะนี้ยังไม่มีการรายงานผลมาก่อน ซึ่งการศึกษานี้จะทำให้เพื่อให้เข้าใจผลของคลื่นอัลตร้าซาวด์ต่อประสิทธิภาพการสกัดและต่อองค์ประกอบของอินนูลินที่สกัดได้มากยิ่งขึ้น ซึ่งสามารถนำไปสู่การหาสภาวะที่เหมาะสมการใช้คลื่นอัลตร้าซาวด์เพื่อให้ได้สารอินนูลินที่มีคุณสมบัติต่างๆ กัน

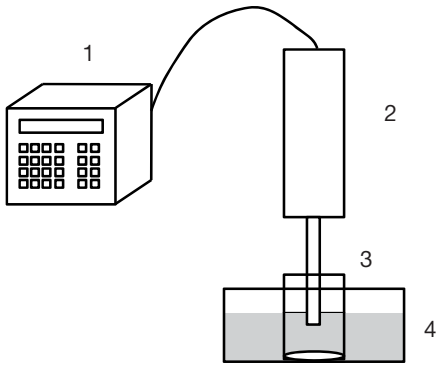
2. วิธีวิจัย

2.1 วัตถุดิบ

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้หัวแก่นตะวันสดสายพันธุ์เบอร์ 2 จากร้านแก่นตะวันทอง จังหวัดนครราชสีมา อายุ 12 สัปดาห์ นำไปล้าง ปอกเปลือก และหั่นให้มีความหนา 3-5 มิลลิเมตร หลังจากนั้นนำไปอบเพื่อลดปริมาณความชื้นด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนมีน้ำหนักคงที่ (ความชื้นร้อยละ 6.87 โดยน้ำหนักเปียก) จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องบดแบบค้อนเหวี่ยง ร่อนผ่านตะแกรงร่อนให้มีขนาดอนุภาค 100 ไมโครเมตร แล้วบรรจุถุงอะลูมิเนียมฟอยล์เพื่อรอการศึกษาต่อไป

2.2 การพรีทรีตเม้นต์ด้วยอัลตร้าซาวด์และการสกัดอินนูลิน

การพรีทรีตเม้นต์ด้วยอัลตร้าซาวด์ใช้เครื่องอัลตร้าซาวด์รุ่น Vibra-Cell VC-750 (Sonics & Materials, USA) ซึ่งให้คลื่นเสียงความถี่สูง 20 kHz ผ่านโพรบอัลตร้าซาวด์ (ultrasonic probe) ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร สามารถปรับค่าพลังงานของคลื่นได้ในช่วง 1-100 % ของค่าแอมพลิจูด (amplitude) สูงสุด การติดตั้งเครื่องมือในการพรีทรีตเม้นต์ด้วยอัลตร้าซาวด์แสดงดังรูปที่ 1 อุณหภูมิของตัวอย่างระหว่างการพรีทรีตเม้นต์



รูปที่ 1 อุปกรณ์สำหรับการพรีทรีตเม้นต์ด้วยอัลตร้าซาวด์ ประกอบด้วย (1) เครื่องควบคุมอัลตร้าซาวด์ (2) โพรบอัลตร้าซาวด์ (3) ภาชนะบรรจุตัวอย่าง และ (4) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

ด้วยอัลตร้าซาวด์ถูกควบคุมด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

ชั่งตัวอย่างแก่นตะวันผงปริมาณ 2 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำหัวโพรบจุ่มลงในบีกเกอร์ลึกประมาณ ½ ของความสูงตัวอย่าง และพรีทรีตเม้นต์ด้วยค่าแอมพลิจูด (20, 40, 60, 80 และ 100%) เวลา (1, 5 และ 10 นาที) ตัวอย่างที่ผ่านการพรีทรีตเม้นต์ถูกนำมาสกัดด้วยการให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้กรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 1) ก่อนการวิเคราะห์ สำหรับตัวอย่างควบคุมคือตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยน้ำร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงโดยไม่ผ่านขั้นตอนพรีทรีตเม้นต์ วางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD [9] โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ

2.3 การวิเคราะห์

2.3.1 ปริมาณอินนูลิน

วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดโดยใช้วิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก [10] โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นสารละลายมาตรฐาน และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้วิธี Dinitrosalicylic (DNS) assay [11] โดยใช้น้ำตาลฟรุกโตสเป็นสารมาตรฐาน

ปริมาณอินนูลินคำนวณจากผลต่างของปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ [5] และคำนวณร้อยละการสกัดอินนูลินจาก

ร้อยละการสกัดอินนูลิน = ปริมาณอินนูลินที่สกัดได้/น้ำหนักแห้งของหัวแก่นตะวัน × 100 **(1)**

2.3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่สกัดได้

วิเคราะห์องค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่สกัดได้ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (Shimadzu, Japan) โดยใช้เครื่องตรวจวัดการหักเหของแสง (RID-10A) แยกองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่สกัดได้โดยใช้คอลัมน์ Rezex RCM-Monosaccharide Ca+2 (8%) (7.8 × 300 mm, Phenomenex, USA) และใช้น้ำกลั่นเป็น mobile phase ที่อัตราการไหล 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิคอลัมน์ที่ 85 องศาเซลเซียส ฉีดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใช้น้ำตาลฟรุกโตสและซูโครสเป็นตัวเปรียบเทียบเวลาคงค้าง (retention time) สำหรับน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่ตามลำดับ

2.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

เปรียบเทียบอิทธิพลของปัจจัยที่ศึกษา (แอมพลิจูด ระยะเวลา และอุณหภูมิในการพรีทรีตเม้นต์) ต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และร้อยละการสกัดอินนูลินโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้เทคนิค Tukey ที่ระดับนัยสำคัญ p = 0.05 ด้วยซอฟท์แวร์ IBM SPSS Statistics (เวอร์ชั่น 18, SPSS, USA)

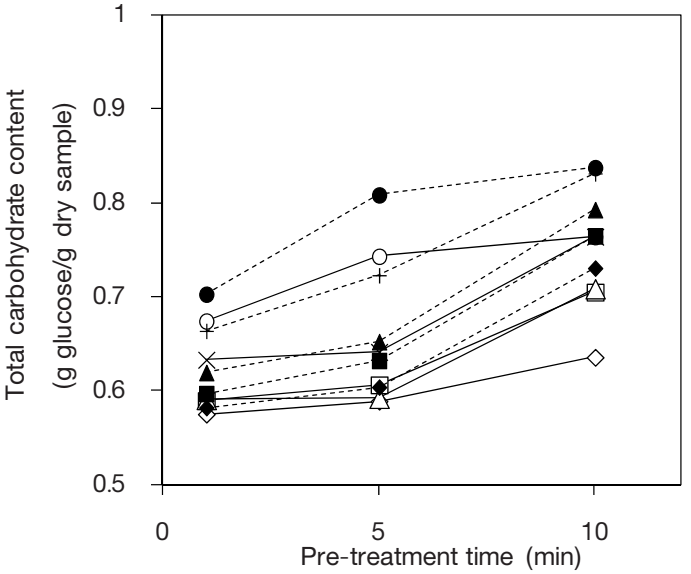
3. ผลการทดลองและอภิปราย

3.1 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

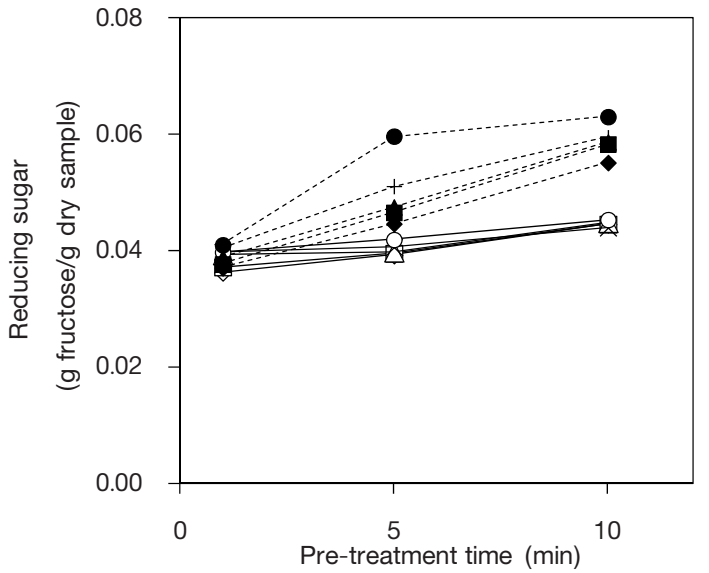
ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดของตัวอย่างที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อนโดยไม่ผ่านการพรีทรีตเม้นต์ (ตัวอย่างควบคุม) มีค่าเท่ากับ 0.40 กรัมต่อกรัมตัวอย่าง

แห้ง การพรีทรีตเมนต์ด้วยอัลตร้าซาวด์ทุกสภาวะก่อนการสกัดด้วยน้ำร้อนให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดสูงกว่าตัวอย่างควบคุม ดังแสดงในรูปที่ 2 จากการวิเคราะห์ทางสถิติไม่พบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างปัจจัยที่ศึกษาในครั้งนี้และสามารถสรุปอิทธิพลหลักของปัจจัย (main effect) ได้ โดยทั้งสามปัจจัยมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด ($p < 0.05$) โดยพบว่าการใช้ระดับแอมพลิจูดร้อยละ 20 – 60 ให้ผลไม่แตกต่างกัน แต่ระดับแอมพลิจูดร้อยละ 80-100 ให้ค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดสูงขึ้น ในขณะที่การเพิ่มเวลาในการพรีทรีตเม้นต์ทำให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องซึ่งแสดงให้เห็นว่าการพรีทรีตเม้นต์ด้วยคลื่นอัลตร้าซาวด์ที่มีกำลังสูงเพียงพอเป็นระยะเวลาสั้นๆ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดคาร์โบไฮเดรตจากผงหัวแก่นตะวันได้ เนื่องจากการเกิดคาวิเทชั่น (cavitation) ส่งผลให้เกิดการทำลายโครงสร้างที่ทำหน้าที่เก็บกักอินนูลินไว้ [6] เช่นเดียวกับการใช้อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียสทำให้ได้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดสูงกว่าที่ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่พบโดยทั่วไปในการสกัดด้วยตัวทำละลายโดยเป็นผลจากการที่อุณหภูมิสูงช่วยเพิ่มอัตราการแพร่และเพิ่มค่าการละลายของอินนูลินไปยังเฟสของน้ำได้มากขึ้นการสกัดจึงมีประสิทธิภาพสูงขึ้นด้วย [12] การพรีทรีตเมนต์ด้วยอัลตร้าซาวด์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ด้วยระดับแอมพลิจูดร้อยละ 80-100 เป็นระยะเวลา 10 นาที ให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่สูงที่สุด คือ 0.84 กรัมกลูโคสต่อกรัมตัวอย่างแห้ง

สำหรับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์นั้นพบว่ามีปริมาณต่ำมากคืออยู่ในช่วง 0.04 – 0.06 กรัมฟรุกโตสต่อกรัมตัวอย่างแห้ง (รูปที่ 3) หรือประมาณไม่ถึงร้อยละ 1 ของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าคาร์โบไฮเดรตส่วนใหญ่อยู่ในรูปสายพอลิเมอร์ และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการพรีทรีตเม้นต์ด้วยอัลตร้าซาวด์จึงไม่ได้เปรียบเทียบผลทางสถิติต่อไป



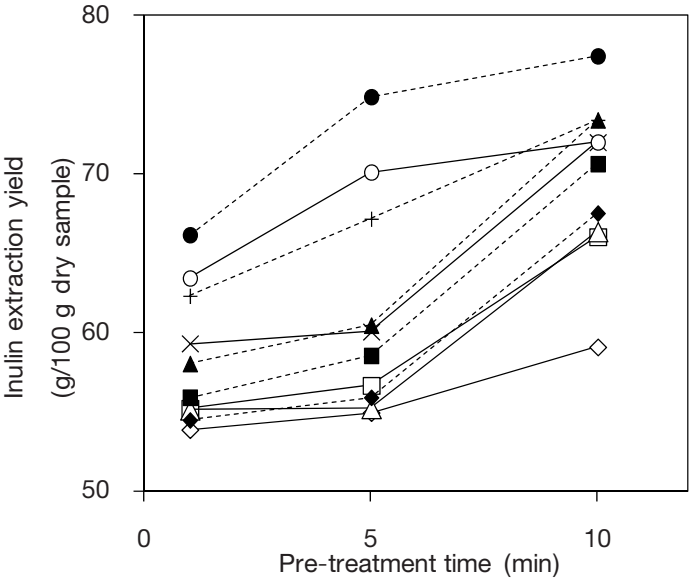
รูปที่ 2 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดของตัวอย่างที่สกัดได้เมื่อผ่านการพรีทรีตเม้นต์ด้วยอัลตร้าซาวด์ที่ร้อยละ 20 (◇, ◆) 40 (△, ▲), 60 (□, ■), 80 (×, +) และ 100 (○, ●) ของระดับแอมพลิจูดสูงสุดโดยใช้อุณหภูมิ 25 (เส้นทึบ) และ 80 (เส้นประ) องศาเซลเซียส



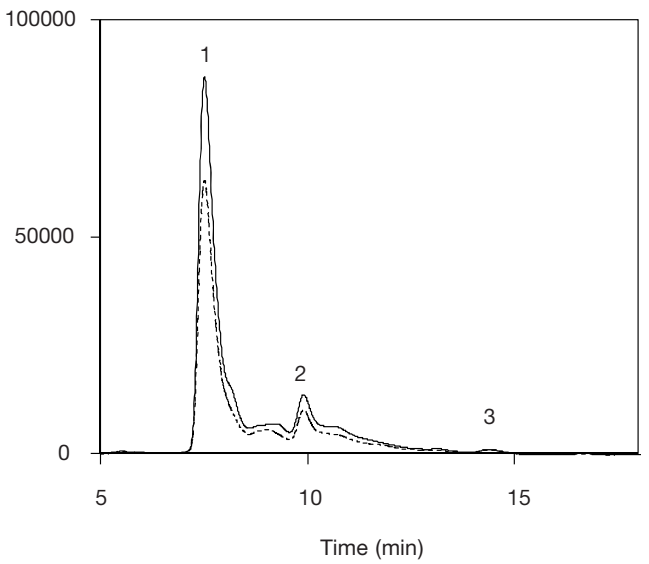
รูปที่ 3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของตัวอย่างที่สกัดได้เมื่อผ่านการพรีทรีตเม้นต์ด้วยอัลตร้าซาวด์ที่ร้อยละ 20 (◇, ◆) 40 (△, ▲), 60 (□, ■), 80 (×, +) และ 100 (○, ●) ของระดับแอมพลิจูดสูงสุด โดยใช้อุณหภูมิ 25 (เส้นทึบ) และ 80 (เส้นประ) องศาเซลเซียส

3.2 ร้อยละการสกัดอินนูลิน

ร้อยละการสกัดอินนูลิน ของตัวอย่างควบคุม คำนวณตามสมการที่ (1) มีค่าร้อยละ 49.8 จากรูปที่ 3 จะเห็นได้ว่าการพรีทรีตเมนต์ด้วยอัลตร้าซาวด์ทุกสภาวะทำให้ปริมาณร้อยละการสกัดเพิ่มขึ้น จากการวิเคราะห์ทางสถิติไม่พบอิทธิพลร่วมของปัจจัยที่ศึกษา ผลของของระดับแอมพลิจูดและอุณหภูมิสอดคล้องกับผลของปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด แต่ผลของเวลาในการสกัดพบว่าการสกัดที่ 1 และ 5 นาทีให้ค่าร้อยละการสกัดไม่แตกต่างกัน การพรีทรีตเม้นต์ที่ระดับแอมพลิจูดร้อยละ 100 อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที สามารถให้ปริมาณร้อยละการสกัดอินนูลินเป็น 77.5 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานผลการวิเคราะห์ปริมาณของอินนูลินในหัวแก่นตะวัน [13]



รูปที่ 4 ร้อยละการสกัดอินนูลินจากหัวแก่นตะวันเมื่อผ่านการพรีทรีตเม้นต์ด้วยอัลตร้าซาวด์ที่ร้อยละ 20 (◇, ◆) 40 (△, ▲), 60 (□, ■), 80 (×, +) และ 100 (○, ●) ของระดับแอมพลิจูดสูงสุดโดยใช้อุณหภูมิ 25 (เส้นทึบ) และ 80 (เส้นประ) องศาเซลเซียส



รูปที่ 5 โครมาโตแกรมของตัวอย่างที่แยกด้วยคอลัมน์ Rezex RCM-Monosaccharide Ca+2 (8%) พีคที่ 1 คือ โอลิโกแซคคาไรด์ พีคที่ 2 คือไดแซคคาไรด์ (เทียบด้วยซูโครส) และพีคที่ 3 คือโมโนแซคคาไรด์ (เทียบด้วยฟรุกโตส) เส้นประ (----) แสดงตัวอย่างควบคุม และเส้นทึบ (——) แสดงตัวอย่างที่ผ่านการพรีทรีตเม้นต์ด้วยอัลตร้าซาวด์ที่ระดับแอมพลิจูดร้อยละ 100 ที่ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที

3.3 องค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรต

ในการศึกษาครั้งนี้ได้วิเคราะห์องค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่สกัดได้จากบางสภาวะของการสกัดโดยใช้วิธี HPLC โดยแยกสารด้วยคอลัมน์ Rezex RCM-Monosaccharide Ca+2 (8%) ซึ่งเป็นคอลัมน์แบบ ion-exclusion สามารถแยกชนิดน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และแยกกลุ่มน้ำตาลโมเลกุลคู่ โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีจำนวนหน่วยน้ำตาล 3 และ 4 หน่วย (http://www.phenomenex.com) แต่เนื่องจากอินนูลินประกอบด้วยสายพอลิเมอร์ของน้ำตาลที่มีจำนวนหน่วยตั้งแต่ 2 ถึง 60 หน่วย โดย Saengthongpinit และคณะ [14] ได้วิเคราะห์ความยาวสายของอินนูลินที่พบในหัวแก่นตะวัน พบว่ามีน้ำตาลซูโครสประมาณร้อยละ 8 สายขนาด 3-10 หน่วยประมาณร้อยละ 47 สายขนาดยาว 11 - 20 หน่วย ประมาณร้อยละ 30 สายขนาด 21 - 30 หน่วยประมาณร้อยละ 10 และสายยาวมากกว่า 30 หน่วย ประมาณร้อยละ 4 ดังนั้นโครมาโตแกรมที่ได้จากการศึกษานี้จึงแสดงให้เห็นเพียงปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โมเลกุลคู่ และโอลิโกแซคคาไรด์โดยรวมเท่านั้น (รูปที่ 5) ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทดลองใช้ตัวอย่างมาตรฐานของน้ำตาลฟรุกโตสและซูโครสเป็นตัวแทนของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและโมเลกุลคู่ตามลำดับ แต่เนื่องจากไม่ได้ใช้สารอินนูลินมาตรฐานในการวิเคราะห์ HPLC จึงไม่สามารถคำนวณปริมาณได้ ดังนั้นจึงใช้พื้นที่ใต้พีคของพีคทั้งสามในการเปรียบเทียบเท่านั้น (ตารางที่ 1)

จากตารางที่ 1 พบว่าในตัวอย่างที่สกัดได้มีสัดส่วนของพีคของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและโมเลกุลคู่เพิ่มขึ้นเล็กน้อยและมีสัดส่วนพื้นที่พีคของโอลิโกแซคคาไรด์ลดลงเมื่อใช้การพรีทรีตเม้นต์ด้วยอัลตร้าซาวด์ในสภาวะที่รุนแรงขึ้น ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อใช้การพรีทรีตเม้นต์ที่รุนแรงขึ้น และสอดคล้องกับผลการทดลองของ Lingyun และคณะ [5] ที่พบว่าการใช้อัลตร้าซาวด์ทำให้มีอินนูลินสายสั้นเพิ่มขึ้น และสอดคล้องกับงานวิจัยอีกหลายงานที่พบว่าอัลตร้าซาวด์ที่ระดับพลังงานสูงสามารถตัดสายพอลิเมอร์ของคาร์โบไฮเดรต (depolymerization) หลายชนิดได้ [7, 8, 15, 16] อย่างไรก็ตามการที่การพรีทรีตเม้นต์ด้วยอัลตร้าซาวด์ช่วยเพิ่มร้อยละการสกัดขึ้นได้ นอกจากนี้เนื่องจากยังไม่สามารถระบุได้ว่าการตัดสายพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นส่งผลอย่างไรต่อคุณสมบัติทั้งทางกายภาพและเชิงหน้าที่ของอินนูลินที่ได้ ดังนั้นการพรีทรีตเม้นต์ด้วยอัลตร้าซาวด์ในการสกัดอินนูลินจากหัวแก่นตะวันจึงเป็นวิธีการที่น่าสนใจในการศึกษาในรายละเอียดต่อไปเนื่องจากเป็นไปได้ที่จะได้อินนูลินที่มีสมบัติที่แตกต่างจากการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม

ตารางที่ 1 ร้อยละพื้นที่พีคของคาร์โบไฮเดรตสามกลุ่มในตัวอย่างที่สกัดได้

สภาวะการพรีทรีตเมนต์	สัดส่วน (ร้อยละพื้นที่พีคต่อพื้นที่พีคทั้งหมด)		
	Oligosaccharides	Disaccharides	Monosaccharides
สภาวะควบคุม (control)	93.71	5.06	1.23
20% 1 นาที 25°C	92.78	5.97	1.25
20% 1 นาที 80°C	92.70	6.02	1 28
20% 10 นาที 25°C	92.91	5.63	1.46
20% 10 นาที 80°C	92.64	5.83	1.53
100% 1 นาที 25°C	92.79	5.95	1.26
100% 1 นาที 80°C	93.20	5.47	1.33
100% 10 นาที 25°C	92.89	5.64	1.47
100% 10 นาที 80°C	91.68	6.73	1.59

4. สรุป

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการพรีทรีตเม้นต์ด้วยคลื่นอัลตราซาวด์พลังงานสูงเป็นระยะเวลาสั้นๆ เพียง 10 นาที ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดอินนูลินได้เป็นอย่างดี แต่อย่างไรก็ตามพบว่าคลื่นอัลตราซาวด์อาจจะทำให้เกิดการตัดสายพอลิเมอร์ของอินนูลินที่ได้ ซึ่งจำเป็นต้องศึกษาระดับของการตัดสายนี้โดยการวิเคราะห์ความยาวสายของคาร์โบไฮเดรตด้วยวิธีที่ละเอียดมากขึ้น รวมถึงสมบัติเชิงกายภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ที่อาจจะเปลี่ยนแปลงไปต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2555 จากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร (SURDI 55/02/14)

6. เอกสารอ้างอิง

1. Vorasoot, N., and Jogloy, S. 2006. Inulin : Non-digestable cabohydrate as soluable fiber from Kaentawan for human health. *Khon Kaen Agriculture Journal*, Vol. 34, pp. 85-91 (In Thai).

2. Judprasong, K., S. Tanjor, P. Puwastien, and Sungpuag, P., 2011. Investigation of Thai plants for potential sources of inulin-type fructans. *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 24, pp. 642-649.

3. Tanjor, S., K. Judprasong, C. Chaito, and Jogloy, S., 2012. Inulin and fructooligosacharides in different varieties of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *KKU Research Journal*, Vol. 17, pp. 25-34 (in Thai).

4. Gaafar, A. M., M. F. Serag El-Din, E. A. Boudy, and H. H. El-Gazar. 2010. Extraction conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers and its effects on blood glucose and lipid profile in diabetic rats. *The Journal of American Science*, Vol. 6, pp. 36-43.

5. Lingyun, W., W. Jianhua, Z. Xiaodong, T. Da, Y. Yalin, C. Chenggang, F. Tianhua, and Z. Fan. 2007. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. *Journal of Food Engineering*, Vol. 79, pp. 1087-1093.

6. Vinatoru, M. 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, Vol. 8, pp. 303-313.

7. Zou, Q., Y. Pu, Z. Han, N. Fu, S. Li, M. Liu, L. Huang, A. Lu, J. Mo, and S. Chen. 2012. Ultrasonic degradation of aqueous dextran: Effect of initial molecular weight and concentration. *Carbohydrate Polymers*, Vol. 90, pp. 447-451.

8. Machová, E., G. Kogan, L. Šoltés, K. Kvapilová, and J. Šandula. 1999. Ultrasonic depolymerization of the chitin-glucan isolated from *Aspergillus niger*. *Reactive and Functional Polymers*, Vol. 42, pp. 265-271.

9. Kuehl, R. O. 2000. Design of experiment: statistical principles of research design and analysis. Duxbury Press, Pacific Grove.

10. DuBois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, Vol. 28, pp. 350-356.

11. Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, Vol. 31, pp. 426-428.

12. Meireles, M. A. A., M. E. M. Braga, P. F. Leal, M. R. Maróstica, C. G. Pereira, and T. M. Takeuchi. 2001. Low-pressure solvent extraction (solid-liquid extraction, microwave assisted, and ultrasound assisted) from condimentary plants. p. 137–218. *In* M.A.A. Meireles (ed.), Extracting Bioactive Compounds for Food Products CRC Press, USA.

13. Tanjor, S., K. Judprasong, C. Chaito, and

Jogloy, S., 2012. Inulin and fructooligosaccharides in different varieties of Jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus L.). Vol. 17, pp. 25-34 (In Thai).

14. Saengthongpinit, W., and T. Sajjaanantakul. 2005. Influence of harvest time and storage temperature on characteristics of inulin from Jerusalem artichoke *(Helianthus tuberosus* L.*)* tubers. Postharvest Biology and Technology, Vol. 37, pp. 93-100.

15. Machová, E., G. Kogan, D. ChorvatoviČová, and J. Šandula. 1999. Ultrasonic depolymerization of the chitin-glucan complex from *Aspergillus* niger and antimutagenic activity of its product. *Ultrasonics Sonochemistry*, Vol. 6, pp. 111-114.

16. Machová, E., K. Kvapilová, G. Kogan, and J. Šandula. 1999. Effect of ultrasonic treatment on the molecular weight of carboxymethylated chitin-glucan complex from *Aspergillus* niger. *Ultrasonics Sonochemistry*, Vol. 5, pp. 169-172.