

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ขั้นตอนหลัก ได้แก่ (1) การศึกษาวิธีการสกัด (Extraction) ด้วยการเปรียบเทียบวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อนและการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัด (2) การศึกษาการทำให้บริสุทธิ์ (Purification) ด้วยการใช้เรซินแลกเปลี่ยนไอออน และ (3) การศึกษาวิธีการทำแห้ง (Drying) โดยเปรียบเทียบวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยและแบบแช่เยือกแข็ง โดยการศึกษาทั้ง 3 ขั้นตอนมีผลต่อปริมาณผลผลิตอินนูลินและคุณภาพของผงอินนูลิน ได้แก่ ความบริสุทธิ์ของผงอินนูลิน และสมบัติทางเคมีกายภาพ

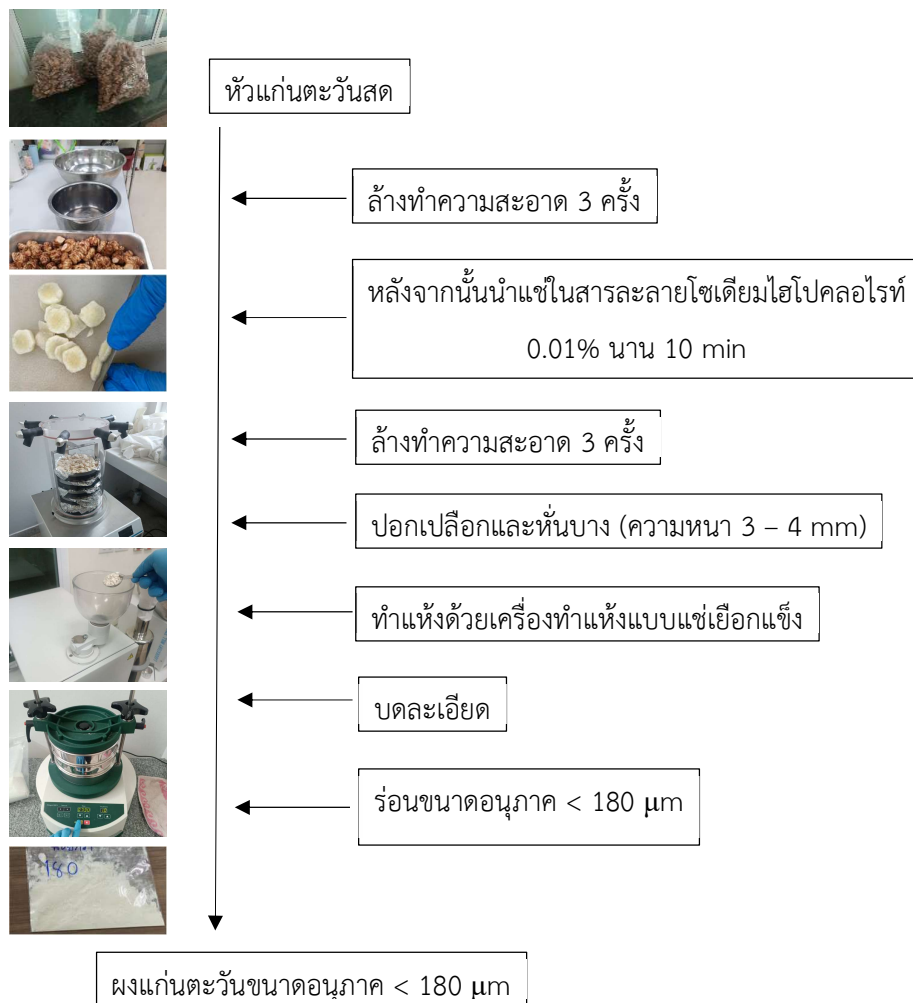
3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์

หัวแก่งตะวัน (JAT) ได้รับซื้อมาจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนเกษตรแปรรูปแก่งตะวันไต้หวัน ตำบลไทยสามัคคี อำเภอน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา ในงานวิจัยนี้ได้ใช้หัวแก่งตะวันที่มีอายุหลังการเก็บเกี่ยวระหว่าง 1 – 2 เดือน โดยหัวแก่งตะวันถูกเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

3.2 การเตรียมผงแก่งตะวัน

งานวิจัยนี้ได้เตรียมหัวแก่งตะวันก่อนนำมาทำผงแก่งตะวัน โดยเริ่มต้นจากการนำหัวแก่งตะวันมาล้างทำความสะอาด 3 ครั้ง หลังจากนั้นนำหัวแก่งตะวันแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite) 0.01% นาน 10 min เพื่อลดปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ให้น้อยลง แล้วล้างทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาดอีก 3 ครั้ง ก่อนปอกเปลือกออกแล้วหั่นเป็นชิ้นบาง ๆ ความหนา ระหว่าง 3 – 4 mm จากนั้นนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -86°C ก่อนนำไปแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer, CoolSafe Touch, LaboGene, Lillerød, Denmark) (รูปที่ 3.2) โดยระหว่างการทำแห้งได้ใช้ความดันอยู่ที่ 0.05 mbar อุณหภูมิของ condenser เท่ากับ -90°C ใช้เวลาทำแห้งนาน 48 h จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้มาบดลดขนาดด้วยเครื่องบดละเอียดแบบหัวค้อน (Hammer mill, Laboratory Mill 3100, Preten, MA, USA) (รูปที่ 3.3) หลังจากบดแล้วนำผงแก่งตะวันที่ได้ร่อนเพื่อแยกขนาดของผงโดยใช้เครื่องร่อน (Sieve shaker, Octagon 200CL, Endecotts, SW, UK) (รูปที่ 3.4) ให้ได้อนุภาคของผงแก่งตะวันที่มีขนาด 180 µm ดังแสดงขั้นตอนในรูปที่ 3.1

ซึ่งบรรจุผงแก่นตะวันในถุงและเก็บรักษาในตู้ดูดความชื้น ก่อนนำไปใช้ในการสกัดอินูลินในขั้นตอนถัดไป



รูปที่ 3.1 การเตรียมผงแก่นตะวันสำหรับงานวิจัย



รูปที่ 3.2 ภาพการดำเนินการทำแห้งหัวแค้นตะวันด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง



รูปที่ 3.3 ภาพการดำเนินการบดหัวแค้นตะวันแห้งด้วยเครื่องบดละเอียดแบบหัวค้อน



รูปที่ 3.4 ภาพการดำเนินการร่อนแยกขนาดด้วยเครื่องร่อนและตะแกรกร่อน

3.3 การสกัดสารอินนูลินจากผงแก่นตะวัน

งานวิจัยนี้ได้แบ่งทวิวิธีการสกัดอินนูลินจากผงแก่นตะวันออกเป็น 2 วิธี ได้แก่ (1) การสกัดอินนูลินด้วยการน้ำร้อน (Hot water extraction, HW-extraction) โดยใช้อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Shaking Water Bath, Shellab, WS272, USA) (รูปที่ 3.6) ซึ่งจัดเป็นวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม และ (2) การสกัดอินนูลินด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัด (Ultrasonic-assisted extraction, UAE-extraction) โดยใช้เครื่องกำเนิดคลื่นเสียงความถี่สูง (13 L Ultrasonic Cleaner, Cole-Parmer, IL, USA) (รูปที่ 3.7) ทั้งนี้ได้การออกแบบวิธีการสกัดอินนูลินโดยใช้การออกแบบการทดลองแบบแฟกทอเรียลเต็ม (Full factorial design) ที่มี 3 ระดับ โดยใช้โปรแกรม Minitab® 17 (Minitab LLC, State College, PA, USA) เพื่อวิเคราะห์ผลของตัวแปรต้น ได้แก่ อุณหภูมิในการสกัด และระยะเวลาในการสกัดต่อปริมาณอินนูลินในน้ำสกัด (Inulin content) ผลผลิตอินนูลิน (Inulin yield) และความสามารถในการสกัดอินนูลิน (Inulin extractability) โดยอุณหภูมิในการสกัดของ HW-extraction และ UAE-extraction คือ 60°C, 70°C และ 80°C และระยะเวลาในการสกัดของ HW-extraction นาน 20 min, 40 min และ 60 min และ UAE-extraction นาน 5 min, 10 min และ 15 min ดังแสดงการออกแบบการทดลองในตารางที่ 3.1 และ 3.2 ตามลำดับ โดยจากการทดลองเบื้องต้นพบว่าอัตราส่วนผงแก่นตะวันต่อน้ำกลั่นที่เหมาะสมคือ 1 g ต่อ 5 mL จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4°C รอบของการปั่นเหวี่ยง 10,000 rpm เป็นเวลา 10 min ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Legend XTR, Thermo Scientific, MA, USA) (รูปที่ 3.8) เพื่อแยกกาก (Residue) และสารสกัด

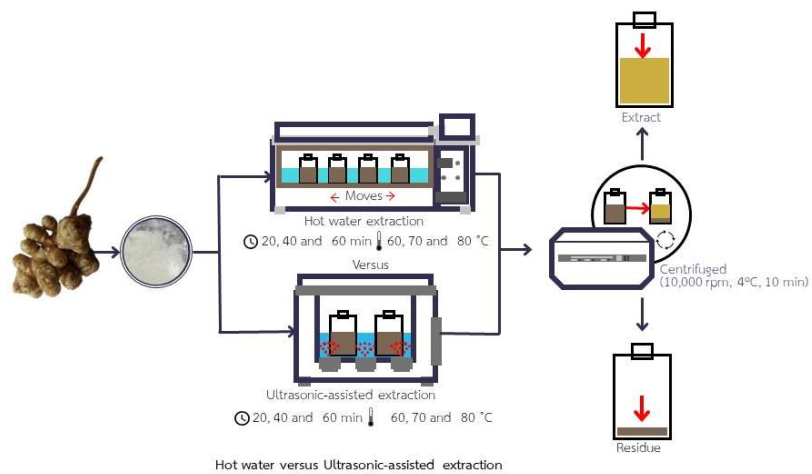
หรือของเหลว (Extract or supernatant) (แสดงขั้นตอนในรูปที่ 3.5) สำหรับการวิเคราะห์ในหัวข้อ 3.6 ต่อไป

ตารางที่ 3.1 การออกแบบการทดลองแบบ Full factorial design สำหรับการสกัดอินูลินด้วย น้ำร้อน (HW-extraction) โดยใช้อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า

Run order	Temperature (°C)	Time (min)
1	60	60
2	70	40
3	80	60
4	60	20
5	60	40
6	80	20
7	80	40
8	70	20
9	70	60

ตารางที่ 3.2 การออกแบบการทดลองแบบ Full factorial design สำหรับการสกัดอินูลินด้วย การใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัด (UAE-extraction)

Run order	Temperature (°C)	Time (min)
1	70	15
2	80	5
3	80	15
4	60	5
5	70	10
6	60	15
7	60	10
8	70	5
9	80	10



รูปที่ 3.5 แสดงขั้นตอนการสกัดสารอินูลินจากผงแก่นตะวัน



รูปที่ 3.6 ภาพการดำเนินการสกัดสารอินูลินด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ



รูปที่ 3.7 ภาพการดำเนินการสกัดสารอินนูลินด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง



รูปที่ 3.8 ภาพการดำเนินการแยกสารสกัดอินนูลินออกจากกาก (Residue) ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง

3.4 การทำสารสกัดอินนูลินให้บริสุทธิ์

หลังจากได้สารสกัดอินนูลิน (Extract) ที่แยกออกจากกาก (Residue) ในหัวข้อ 3.3 แล้ว ในงานวิจัยนี้ได้นำสารสกัดอินนูลินมาทำให้บริสุทธิ์มากขึ้น โดยใช้เรซินแลกเปลี่ยนไอออน (Ion exchange resin) เพื่อแยกสารเจือปนออกจากสารสกัด เช่น การกำจัดสารสี (Decolorization) และการกำจัดแร่ธาตุ (Demineralization) โดยใช้เรซิน 2 ชนิด ได้แก่ Strong acid cation (Amberlite FPC22Na, DuPont™, Delaware, USA) สำหรับกำจัดไอออนบวก และ Weak base anion (Amberlite FPA51, DuPont™, Delaware, USA) สำหรับกำจัดไอออนลบ (ดังแสดงในรูปที่ 3.9) ซึ่งการเลือกใช้ชนิดของเรซินได้ดัดแปลงจากงานวิจัยของ Akyildiz et al. (2022) และ Zhang et al. (2022) โดยระหว่างการแลกเปลี่ยนไอออนนั้นได้ควบคุมอัตราการไหลของสารสกัดผ่านเรซินให้อยู่ที่

1.5 mL/Sec สารสกัดที่ผ่านการแยกสารเจือปนถูกนำมาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและนำไปทำแห้งด้วยวิธีการในหัวข้อ 3.5 เพื่อให้ได้ผงอินนูลินต่อไป



รูปที่ 3.9 ภาพการดำเนินการทำบริสุทธิ์สารด้วย Ion exchange resin

3.5 การทำแห้งสารสกัดอินนูลิน

ในงานวิจัยนี้ สารสกัดอินนูลินที่ผ่านการแยกสิ่งเจือปนด้วยเรซินแลกเปลี่ยนไอออนแล้วถูกแบ่งออกเป็นสองส่วน โดยส่วนที่หนึ่งถูกนำมาทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying) และส่วนที่สองถูกนำมาแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) โดยก่อนการทำแห้งแบบพ่นฝอยสารสกัดอินนูลินถูกนำมาทำให้เข้มข้นโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary Evaporator, N-110, Cole Parmer, Tokyo Rikakikai, Co.,Ltd., Tokyo, Japan) ที่อุณหภูมิ 45°C เพื่อให้ได้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid, TSS) ที่ 22°Brix (รูปที่ 3.10) การทำแห้งแบบพ่นฝอยได้ใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray-dryer, Mini Spray Dryer B-290, Buchi, BÜCHI Labortechnik AG, Flawil, Switzerland) โดยใช้หัวฉีดแบบสองทาง (Two way nozzle) ขนาด Nozzle tip เท่ากับ 0.7 mm และ Nozzle cap เท่ากับ 1.5 mm ซึ่งทำการติดตั้งหัวฉีดและประกอบเครื่อง โดยกำหนดอุณหภูมิขาเข้า (Inlet temperature) ที่ 150°C ความเร็วลม (Aspirator) เท่ากับ 100% Peristaltic pump rate เท่ากับ 25% อัตราการป้อน (Feed flow) อยู่ระหว่าง 8 – 9 mL/min อุณหภูมิขาออก (Outlet temperature) ที่ $75 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (รูปที่ 3.11) สำหรับการแห้งแบบแช่เยือกแข็งนั้น สารสกัดอินนูลินถูกนำไปแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -86°C (Snijders Labs, Evosafe

Model VF120-86G, Netherlands) นาน 24 h ก่อนนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-dryer, CoolSafe Touch, LaboGene, Lillerød, Denmark) (รูปที่ 3.12) โดยสภาวะในการทำแห้งคือ ความดันที่ 0.05 mbar อุณหภูมิของ condenser เท่ากับ -90°C ระยะเวลา 48 h จากนั้นบรรจุผงอินนูลินในถุงและเก็บรักษาในตู้ดูดความชื้น (Desiccator) ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อรอการวิเคราะห์คุณภาพในหัวข้อ 3.6 ต่อไป



รูปที่ 3.10 ภาพการดำเนินการทำให้สารสกัดเข้มข้นเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน



รูปที่ 3.11 การทำแห้งแบบพ่นฝอยสารสกัดอินนูลิน



รูปที่ 3.12 การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสารสกัดอินนูลิน

3.6 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพของผงแก่นตะวันและผงอินนูลิน

3.6.1 สมบัติทางเคมี

3.6.1.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (Moisture content) โดยการชั่งผงของสารสกัด 3 g แล้วนำไปวิเคราะห์ความชื้นด้วยเครื่องวัดความชื้น (OHAUS, MB-25, OHAUS Instruments Co., Ltd., Shanghai, China) (รูปที่ 3.13) โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ



รูปที่ 3.13 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณความชื้นของผงอินนูลิน

3.6.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ (Water activity, a_w) โดยชั่งผงของสารสกัด 1 g แล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระด้วยเครื่องวัดค่า Water Activity (AquaLab Pre, METER Group, Inc., WA, USA) (รูปที่ 3.14) โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ



รูปที่ 3.14 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ของผงอินนูลิน

3.6.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Ash content) โดยนำผงแก่นตะวันแห้งและผงอินนูลินแห้งมาวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าด้วยเตาเผา (CBF Series, Cole-Parmer, NC, USA) ที่อุณหภูมิ 550°C เวลา 24 h (รูปที่ 3.15) โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ



รูปที่ 3.15 ภาพการดำเนินการวิเคราะห์ปริมาณเถ้าด้วยเตาเผา

3.6.1.4 การวิเคราะห์ปริมาณอินนูลิน

การวิเคราะห์ปริมาณอินนูลินโดยใช้ชุดทดสอบ Fructan Assay Kit (Megazyme International, Wicklow, Ireland) (รูปที่ 3.16) โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ



รูปที่ 3.16 ชุดทดสอบ Fructan Assay Kit

3.6.1.5 การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของผงอินนูลินด้วยแสงซินโครตรอนกับ

เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

โครงสร้างทางเคมีของอินนูลินถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยแสงซินโครตรอนกับเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Synchrotron-radiation-based Fourier transform infrared, SR-FTIR) โดยเริ่มจากการละลายผงสารสกัดอินนูลินในน้ำกลั่นที่ความเข้มข้น 10 mg/mL จากนั้นหยดสารละลายลงบนแผ่นผลึกโพแทสเซียมโบรไมด์ (Potassium bromide (KBr) window) แล้วปล่อยให้แห้ง นำตัวอย่างที่ได้วางบนกล้องจุลทรรศน์อินฟราเรด (IR microscope, Bruker Hyperion 2000) ซึ่งเชื่อมต่อกับเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด (Vertex 70 FTIR Spectrometer, Bruker Optics, Ettlingen, Germany) โดยเครื่องมือทั้งหมดนี้ตั้งอยู่ที่แนวลำแสงอินฟราเรดสเปกโตรสโกปีและการสร้างภาพ (Infrared Spectroscopy and Imaging Beamline, BL4.1) ของสถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน ข้อมูลจากการวิเคราะห์ถูกควบคุมและจัดเก็บผ่านโปรแกรม OPUS เวอร์ชัน 7.2 ที่ช่วงความยาวคลื่น $3800 - 800 \text{ cm}^{-1}$, ความละเอียดของสเปกตรัม (Spectral resolution) 4 cm^{-1} และจำนวนสแกน 64 รอบ/ครั้ง โดยใช้อากาศเป็นตัวอ้างอิง (รูปที่ 3.17)



รูปที่ 3.17 การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของผงสารสกัดอินนูลินด้วย SR-FTIR

3.6.1.6 การวิเคราะห์ค่าความเป็นผลึกของผงอินนูลินด้วยแสงซินโครตรอนกับเทคนิคการกระเจิงรังสีเอกซ์

การวิเคราะห์ค่าความเป็นผลึก (Crystallinity) ของผงสารสกัดอินนูลินด้วยแสงซินโครตรอนดำเนินการโดยใช้เทคนิคการกระเจิงรังสีเอกซ์มุมกว้าง ((Synchrotron-radiation-based wide angle X-ray scattering, SR-WAXS) โดยตัวอย่างถูกติดบนเฟรมอะลูมิเนียมแล้วนำไปวิเคราะห์ที่ระบบลำแสงที่ 1.3W :SAXS/WAXS (BL1.3W: WAXSสถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน ประเทศไทย) โดยใช้พลังงาน 9 KeV และตรวจวัดด้วยหัววัด MarCCD LX170HS ข้อมูลที่ได้ถูกนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SAXSIT ซึ่งพัฒนาโดยนักวิทยาศาสตร์ที่สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (ประเทศไทย) (รูปที่ 3.18)



รูปที่ 3.18 ภาพการดำเนินการวิเคราะห์ค่าความเป็นผลึก (Crystallinity)

3.6.2 สมบัติทางกายภาพ

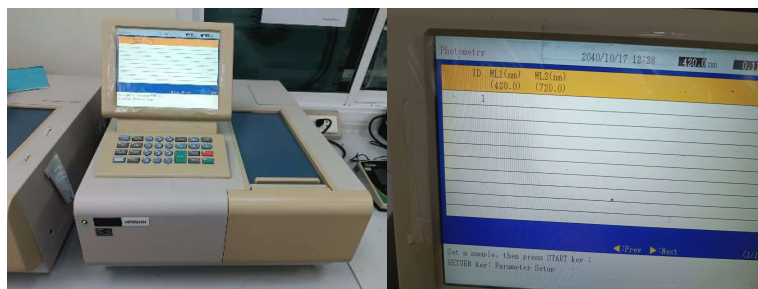
3.6.2.1 การวิเคราะห์อัตราการกำจัดสี (Decolorization ratio) ของสารสกัด

สารสกัดที่ถูกทำให้บริสุทธิ์ถูกนำมาวิเคราะห์อัตราการกำจัดสี (Decolorization ratio) ตามวิธีของ Zhang et al. (2022) โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ความยาวคลื่น 420 nm และ 720 nm ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer, U2900, Hitachi, Kyoto, Japan) (รูปที่ 3.19) โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ และคำนวณอัตราการกำจัดสี ตามสมการที่ 1

$$\text{Decolorization ratio (\%)} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100 \quad (1)$$

โดยที่ A_1 คือ ความแตกต่างของค่าแสงที่ถูกดูดกลืนโดยสารสกัดก่อนกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ ที่ช่วงความยาวคลื่น 420 nm และ 720 nm

A_2 ความแตกต่างของค่าแสงที่ถูกดูดกลืนโดยสารสกัดหลังกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ ที่ช่วงความยาวคลื่น 420 nm และ 720 nm



รูปที่ 3.19 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

3.6.2.2 ปริมาณผลผลิตทั้งหมด ความหนาแน่นปรากฏ Tapped density, Carr's index และ Hausner ratio

การวิเคราะห์ปริมาณผลผลิตทั้งหมด ความหนาแน่นปรากฏ (Bulk density), Tapped density, Carr's index และ Hausner ratio ในงานวิจัยนี้ ได้วิเคราะห์ตามวิธีการของศิริพร (2561) สำหรับ tapped density ได้จากการนำกระบอกตวงที่บรรจุผงอินนูลินมาเคาะบนฝ่าจำนวน 50 ครั้ง และบันทึกปริมาตรที่อ่านได้ และสามารถคำนวณปริมาณผลผลิตทั้งหมด ความหนาแน่นปรากฏ และ Tapped density ด้วยสมการ 2 – 4 ตามลำดับ คำนวณ Carr's index และ Hausner ratio ด้วยสมการ 5 – 6 ตามลำดับ (Yousefi et al. 2022; Arepally and Goswami, 2018) โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

$$\text{ปริมาณผลผลิตทั้งหมด (\%)} = \frac{\text{มวลของผงอินนูลิน (g)}}{\text{มวลของผงแก่นตะวันก่อนการสกัด (g)}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{ความหนาแน่นปรากฏ (g/mL)} = \frac{\text{มวลผงอินนูลิน (g)}}{\text{ปริมาตร (mL)}} \quad (3)$$

$$\text{Tapped density (g/mL)} = \frac{\text{มวลผงอินนูลิน (g)}}{\text{ปริมาตร (mL)}} \quad (4)$$

$$\text{Carr's index (\%)} = \frac{\text{Tapped density (g/mL)} - \text{Bulk density (g/mL)}}{\text{Tapped density (g/mL)}} \quad (5)$$

$$\text{Hausner ratio} = \frac{\text{Tapped density (g/mL)}}{\text{Bulk density (g/mL)}} \quad (6)$$

3.6.2.3 ความสามารถในการละลาย

การวิเคราะห์ความสามารถในการละลาย (Solubility) ของผงแก่นตะวัน และผงอินนูลิน ดัดแปลงจากวิธีการของ ศิริพร (2561) โดยชั่งผงอินนูลิน 1 g ละลายในน้ำกลั่น 5 mL จากนั้นนำตัวอย่างเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge, Legend XTR, Thermo Scientific, MA, USA) โดยใช้ความเร็วรอบ 10,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4°C นาน 15 min จากนั้นแยกส่วนของเหลวเทลงในถ้วยอะลูมิเนียม แล้วนำตัวอย่างเข้าตู้อบลมร้อนที่ 105°C นาน 5 h และนำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ก่อนชั่งน้ำหนักหลังอบ โดยความสามารถในการละลายสามารถคำนวณด้วยสมการที่ 7 โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

$$\text{การละลาย (\%)} = \frac{\text{มวลของผงสารสกัดหลังอบ (g)}}{\text{มวลของผงสารสกัดก่อนอบ (g)}} \times 100 \quad (7)$$

3.6.2.4 ความสามารถในการดูดความชื้นกลับ

ความสามารถในการดูดความชื้นกลับ (Hygroscopicity) โดยชั่งผงสารสกัด 0.5 g ใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียม จากนั้นนำใส่ในตู้อบควบคุมความชื้น (CTC256, Memmert, Memmert GmbH+Co.KG, Germany) (รูปที่ 3.20) โดยอุณหภูมิอยู่ที่ 30°C ความชื้นสัมพัทธ์ 90%RH ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3,600 min นำตัวอย่างออกมาชั่งน้ำหนักหลังเข้าสู่สมดุล และคำนวณค่าความสามารถในการดูดความชื้นตามสมการที่ 8

$$\text{ความสามารถในการดูดความชื้น (\%)} = \frac{\text{มวลของผงสารสกัดหลังเข้าสู่สมดุล (g)} - \text{มวลของผงสารสกัดเริ่มต้น (g)}}{\text{มวลของผงสารสกัดเริ่มต้น (g)}} \times 100 \quad (8)$$



รูปที่ 3.20 ภาพการดำเนินการวิเคราะห์ความสามารถในการดูดความชื้นกลับ

3.6.2.5 การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคและการกระจายตัว

การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของผงอินนูลินด้วยเครื่องวิเคราะห์การกระจายตัวของขนาดอนุภาค (Particle size distribution analyzer, LA-9502v, Horiba, Kyoto, Japan) (รูปที่ 3.21) ได้ใช้ไอโซโพรพานอล (Isopropanol) เป็นสารตัวกลางซึ่งทำให้ผงของอินนูลิน กระจายตัวได้ดี โดยนำผงอินนูลิน 10 mg ละลายในไอโซโพรพานอล 10 mL จากนั้นทำการคนจนกระทั่งตัวอย่างกระจายตัวสม่ำเสมอในสารตัวกลาง หลังจากนั้นดูดตัวอย่างที่เตรียมแล้วใส่ใน Sample cell ที่บรรจุด้วยไอโซโพรพานอล และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ขนาดอนุภาคเพื่อคำนวณหาขนาดและการกระจายตัวของอนุภาคผง โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ



รูปที่ 3.21 ภาพการดำเนินการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคและการกระจายตัว

3.6.2.6 การศึกษาโครงสร้างทางระดับจุลภาค

งานวิจัยนี้ได้วิเคราะห์ผลของวิธีการสกัดต่อลักษณะโครงสร้างระดับจุลภาคของผงแก่นตะวันที่ได้หลังจากการสกัด โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่มีการปล่อยสนามไฟฟ้า (Field Emission Scanning Electron Microscope, FE-SEM) (ดังแสดงในรูปที่ 3.22) ที่ระดับพลังงาน 10 kV โดยทำการถ่ายภาพตัวอย่างที่กำลังขยาย 500 เท่า และ 3,000 เท่า ตามลำดับ เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผงอินนูลินที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีการใช้น้ำร้อนและการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัด



รูปที่ 3.22 การศึกษาโครงสร้างทางระดับจุลภาคของผงแค้นตะวันหลังการสกัด

3.6.2.7 การวิเคราะห์ค่าสี (Color value)

ผงแค้นตะวัน ผงสารสกัดอินนูลิน และผงอินนูลินถูกนำมาวิเคราะห์คุณภาพด้านสีด้วยเครื่องวัดสี (Ultrascan VIS, ColorQuest® XE, Hunter Associates Laboratory, Inc., VA, USA) (รูปที่ 3.23) ใน CIE L* a* b* โดยค่า L* หมายถึงค่าความสว่างของตัวอย่าง (Lightness) ค่า a* หมายถึงค่าความเป็นสีแดงของตัวอย่าง (Redness) และค่า b* หมายถึงค่าความเป็นสีเหลืองของตัวอย่าง (Yellowness) โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 5 ซ้ำ จากนั้นนำมาวิเคราะห์ดัชนีความขาว (Whiteness Index, WI) ตามวิธีของ Chatchavanthatri et al. (2021) และวิเคราะห์ค่าความเป็นสีน้ำตาล (Browning index, BI) ตามวิธีของ Shewale and Hebbar (2016) โดยคำนวณด้วยสมการที่ 9 และ 10 ตามลำดับ

ดัชนีความขาว (Whiteness Index, WI)

$$WI = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2} \quad (9)$$

ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล (browning index, BI)

$$BI = \frac{100 (x - 0.31)}{0.17} \quad (10)$$

$$\text{โดย } x = \frac{a^* + 1.75L^*}{5.645L^* + a^* - 3.012b^*}$$



รูปที่ 3.23 การวิเคราะห์ค่าสีด้วยเครื่องวัดสี

3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

งานวิจัยนี้ได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ (1) การศึกษาผลของวิธีการสกัด (2) การศึกษาวิธีทำสารสกัดให้บริสุทธิ์ และ (3) การศึกษาผลของวิธีการทำแห้ง โดยการศึกษาผลของวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อนในการสกัดและการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัดต่อปริมาณผลผลิตอินูลินนั้นได้ออกแบบการทดลองแบบแฟกทอเรียลเต็ม (Full factorial design) และวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนแบบสองทาง (Two-way ANOVA) โดยทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Turkey's Honestly Significant Difference (HSD) ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$) สำหรับการศึกษาวิธีทำสารสกัดอินูลินให้บริสุทธิ์โดยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและกายภาพของสารสกัดอินูลิน และการศึกษาผลของวิธีการทำแห้งสารสกัดนั้นได้นำผงอินูลินที่ได้มาทำการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพ การทดลองนี้ได้วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design, CRD) และวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธีการทดสอบของ Turkey's honestly significant difference (HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) โดยโปรแกรม Minitab® 17 (Minitab Inc., USA)