http://journal.rmutp.ac.th

การศึกษาอุณหภูมิการอบแห้งรกสุกรและการสกัดโปรตีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

สุรีวรรณ ราชสม* และ เพ็ญวรัตน์ พันธ์ภัทรชัย

วิทยาลัยเทคโนโลยีและสหวิทยาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา
เลขที่ 128 ถนนห้วยแก้ว ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50300

รับบทความ 3 ตุลาคม 2561 แก้ไขบทความ 13 มีนาคม 2562 ตอบรับบทความ 26 มีนาคม 2562

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการอบแห้งรกสุกร และสารละลายที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนและสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรกสุกร โดยอุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้งแบ่งเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส และสารละลายที่ใช้ศึกษาในการสกัดโปรตีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากรกสุกร 3 ชนิด ได้แก่ น้ำปราศจากไอออน สารละลายเกลือฟอสเฟสบัฟเฟอร์ และเฮกเซน จากนั้นวัดปริมาณโปรตีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากรกสุกรสดและอบแห้ง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการอบรกสุกรคืออุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง เนื่องจากใช้เวลาในการอบน้อยที่สุดที่ทำให้ปริมาณความชื้นในรกสุกรลดต่ำสุดจนคงที่ด้วยความชื้นสุดท้ายร้อยละ 3.80±3.36 ฐานแห้ง และผลการวิเคราะห์พบว่าไม่พบโปรตีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากรกสดและอบแห้งที่สกัดด้วยเฮกเซน แต่พบว่ามีโปรตีนในรกสุกรสดและอบแห้งที่สกัดด้วยน้ำปราศจากไอออนและเกลือฟอสเฟสบัฟเฟอร์ ในปริมาณ 0.05±0.01 และ 0.04±0.01 มิลลิกรัมของโบวินซีรัมอัลบูมินต่อ 100 มิลลิกรัมของรกสด ตามลำดับสำหรับรกสุกรสด และ 0.12±0.03 และ 0.07±0.02 มิลลิกรัมของโบวินซีรัมอัลบูมินต่อ 100 มิลลิกรัมของรกสด ตามลำดับสำหรับรกสุกรแห้ง และพบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากรกสุกรสดและอบแห้งที่สกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน และเกลือฟอสเฟสบัฟเฟอร์ในระดับ 1.13±0.03 และ 1.29±0.04 มิลลิกรัมของโทรลอกซ์ต่อ 100 มิลลิกรัมของรกสด ตามลำดับสำหรับรกสุกรสด และ 3.37±0.02 และ 3.59±0.01 มิลลิกรัมของโทรลอกซ์ต่อ 100 มิลลิกรัมของรกสด ตามลำดับสำหรับรกสุกรแห้ง

คำสำคัญ : รกสุกร; การอบแห้ง; การสกัด; โปรตีน; ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

** ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทร: +66939541462, ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์: sureewan@rmutl.ac.th*

http://journal.rmutp.ac.th

Study of Drying Condition and Extraction Process of Protein and Antioxidants from Porcine Placenta

Sureewan Rajchasom* and Penwarat Phanphattharachai

College of Integrated Science and Technology, Rajamangala University Technology of Lanna
128 Huay Kaew Road, Muang, Chiang Mai, Thailand, 50300

Received 3 October 2018; Revised 13 March 2019 ; Accepted 26 March 2019

Abstract

This research aims to study the appropriate drying condition and extraction solvent for extracting protein and antioxidants from the porcine placenta. Three levels of drying temperature were used in this study which were 50, 60 and 70°C, the result shows that the best drying condition for porcine placenta was 70°C for 4 hours because this condition provided the least drying time and the lowest moisture content of porcine placenta (3.80±3.36% dry basis). After that, the fresh and dried porcine placenta were extracted by using three solvents which were deionized water (DI), phosphate buffered saline (PBS) and hexane. The efficiency of extraction was investigated by measuring the crude protein and antioxidant of the porcine placenta. It was found that there was no protein and antioxidant in fresh and dried porcine placenta extracted by hexane. However, the protein was found as 0.05±0.01 and 0.04±0.01 mg of bovine serum albumin/100 mg fresh for fresh porcine placenta and 0.12±0.030 and 0.07±0.016 mg of bovine serum albumin/100 mg fresh for dried porcine placenta extracted by DI and PBS, respectively. In additional, the antioxidant was found as 1.13±0.03 and 1.29±0.04 mg of trolox/100 mg fresh for fresh porcine placenta and 3.37±0.02 and 3.59±0.01 mg of trolox/100 mg fresh for dried porcine placenta extracted using DI and PBS, respectively.

Keywords : Porcine Placenta; Drying; Extraction; Antioxidant; Crude Protein

*** Corresponding Author. Tel.: +669 3954 1462, E-mail Address: sureewan@rmutl.ac.th***

1. บทนำ

ปัจจุบันผู้คนหันมาสนใจในการดูแลสุขภาพและการชะลอวัย (Antiaging) มากขึ้น เนื่องมาจากกระแสของการบริโภคอาหารและการดูแลสุขภาพที่ไม่ถูกต้องเป็นสาเหตุให้เกิดโรคและการเปลี่ยนแปลงภายในของร่างกายที่เสื่อมสภาพตามวัย ในหลายปีที่ผ่านมาทำให้ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีด้านวิทยาศาสตร์และทางการแพทย์เพิ่มสูงขึ้น เพื่อพัฒนานวัตกรรมที่จะช่วยในการเยียวยาการเสื่อมสภาพของร่างกายตามวัย

พลาเซนต้า (Placenta) คือรกของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เป็นส่วนที่เชื่อมต่อจากสะดือ ซึ่งมีส่วนสำคัญในการสร้างเซลล์ของสิ่งมีชีวิตเพื่อเลี้ยงดูตัวอ่อนที่อยู่ในครรภ์ให้เจริญเติบโต สารอาหารในรก เป็นแหล่งเก็บสะสมของไซโตไคน์ (Cytokines), ฮอร์โมน (Hormone), ไบโอแอคทีพเพปไทด์ (Bioactive Peptides), เอนไซม์ (Enzyme), โกรทแฟคเตอร์ (Growth Factor), วิตามิน (Vitamin), แร่ธาตุ (Minerals) และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive Compounds) อื่น ๆ [1] และจากการศึกษาเบื้องต้นมีข้อมูลทางงานวิจัยสนับสนุนว่ารกมีสารประกอบทางเคมีที่มีคุณค่ามากมาย ได้แก่ สารอาหาร ประเภท วิตามิน B6, เหล็ก และมีโปรตีนสูง นอกจากนี้ความพิเศษของรกคือ อุดมไปด้วยฮอร์โมน Oxytocin และสาร Cortisone, Interferon, Prolactin และ Prostaglandins สารสกัดจากรกยังประกอบไปด้วยเอนไซม์ต่าง ๆ เช่น เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (Alkaline Phosphatase) และเอนไซม์กลูตาเมต (Glutamate), ออกซาโลอะซิเตต (Oxaloacetate), ทรานซามิเนส (Transaminase) ตลอดจนกรดนิวคลิอิก, วิตามิน, กรดอะมิโน, สเตียรอยด์, และกรดไขมัน ซึ่งเป็นสารอาหารและฮอร์โมนที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์ กระตุ้นให้เกิดการผลัดเซลล์ผิวใหม่ที่สำคัญยังเหมาะสำหรับผู้ที่มีผิวแห้งแพ้ง่าย ผิวจึงดูอ่อนกว่าวัย นุ่มนวลพร้อมช่วยคืนความแข็งแรง และผ่องใสสู่ผิว [2], [3], [4] สำหรับรกสุกรนั้นมีคุณสมบัติทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมี ดังนี้ มีปริมาณความชื้นร้อยละ 79.26 โปรตีนร้อยละ 14.41 ไขมันร้อยละ 5.75 และเถ้าร้อยละ 0.47 โดยมวล [5] ในอุตสาหกรรมฟาร์มเลี้ยงสุกรนั้น “รก (Placenta)” ที่ได้จากสุกรแม่พันธุ์ในการคลอดลูกสุกรเป็นผลพลอยได้จากฟาร์มเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์ ซึ่งในบางประเทศได้นำเอาผลผลิตเหล่านี้มาเพิ่มมูลค่าโดยการนำมาสกัดสารสำคัญบางชนิด เช่น โปรตีน และสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อนำไปเป็นส่วนประกอบในการผลิตเครื่องสำอางหรือผลิตภัณฑ์บำรุงผิว จากประโยชน์มากมายของรก จึงมีหลายประเทศได้ทำการสกัดสารสำคัญออกมาจากสุกร วิธีการสกัดทำได้หลายวิธี เช่น ด้วยวิธีการย่อย (Hydrolysis) ด้วยด่าง (NaOH) หรือกรด (HCl) หรือการสกัดด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 5-12 ชั่วโมง [6] ซึ่งวิธีการเหล่านี้มีผลต่อการเสียสภาพของโปรตีน (Protein Denature) และโปรตีนเป็นสารสำคัญที่ต้องการจากการสกัดรกสุกรเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป จากการศึกษางานวิจัยพบว่ามีรายงานวิจัยการสกัดโปรตีนและสารสำคัญจากรกสุกรด้วยน้ำปราศจากไอออน (Deionized Water; DI) อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 120 นาที [5] และมีรายงานการใช้น้ำปราศจากไอออน (DI) ในการสกัดรกแพะที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 80 รอบต่อนาที นาน 10 ชั่วโมง [7]

จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นว่าสารสกัดจากรกสุกร ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบประเภทโปรตีน ซึ่งมีประโยชน์ในด้านการชะลอวัยและการบำรุงผิวพรรณ ดังนั้นเพื่อเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับ รกสุกร ที่ไม่มีการนำไปใช้ประโยชน์ใด ๆ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาสภาวะการอบแห้งเพื่อเตรียมรกสุกรสำหรับการนำไปสกัด และศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนและสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เหมาะสมจากรกสุกร ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์ด้านการเสริมอาหารหรือผลิตภัณฑ์เวชสำอาง

2. ระเบียบวิธีวิจัย

การศึกษานี้แบ่งระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology) เป็น 2 ส่วน ได้แก่ การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการอบรกสุกรก่อนนำไปสกัด และการศึกษาสารละลายที่เหมาะสมในการสกัดรกสุกร มีรายละเอียดดังนี้

2.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการอบรกสุกร

ในขั้นตอนนี้เป็นการเตรียมรกสุกรให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมก่อนการนำไปสกัด โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างการสกัดสารจากรกสุกรสดกับรกสุกรอบแห้ง การเตรียมตัวอย่างรกสุกรทำโดยนำรกสุกรสดไปล้างด้วยโซเดียมคลอไรด์ (NaCl), 0.9% [8] และน้ำสะอาด เพื่อขจัดเมือกและเลือดออกจนกว่าน้ำจะมีความใส [5] จากนั้นนำรกสุกรไปหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 1-2 เซนติเมตร สำหรับรกสุกรสดเก็บโดยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส ส่วนรกสุกรอบแห้งนั้นเตรียมโดยนำรกสุกรสดที่หั่นไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ด้วยตู้อบลมร้อน (รุ่น BD53 ยี่ห้อ BINNER ประเทศเยอรมนี) ในระหว่างการอบนั้นได้นำตัวอย่างรกสุกรออกมาชั่งน้ำหนักทุก ๆ 30 นาที จนกว่าน้ำหนักคงที่บันทึกผลน้ำหนักที่ชั่งได้เพื่อนำไปทำกราฟการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักและความชื้นระหว่างการอบแห้ง (Drying Curve) จากนั้นนำรกสุกรอบแห้งไปบดลดขนาดด้วยเครื่องปั่น (รุ่น HR-2068 ยี่ห้อ PHILIPS ประเทศไทย) ทำการปั่นที่ระดับ 5 นาน 1 นาที จนละเอียดเป็นผง บรรจุถุงฟอยด์ปิดผนึกแล้วนำไปเก็บในโถดูดความชื้น (Desiccator)

2.2 การศึกษากระบวนการสกัดรกสุกร

เปรียบเทียบกรรมวิธีการสกัดด้วยสารละลาย 3 ชนิด ได้แก่ 1) น้ำปราศจากไอออน (Deionized Water: DI) [5], [7], [9], [10] 2) สารละลายเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ซึ่งเตรียมจากสารประกอบต่อไปนี้ NaCl 8 กรัม $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 2.9 กรัม, KH_2PO_4 0.2 กรัม และ KCl 0.2 กรัม ปรับค่าความเป็นกรด-เบส (pH) เท่ากับ 7.4 แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร [8], [1] และ 3) สารละลายเฮกเซน (Hexane) [11] จากนั้นนำรกสุกรสดที่แช่แข็งมาทำการละลายน้ำแข็งโดยตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำมาปั่นด้วยเครื่องปั่น (รุ่น HR-2068 ยี่ห้อ PHILIPS ประเทศไทย) ระดับ 5 นาน 1 นาที จากนั้นนำรกสุกรสดที่ปั่นแล้วและรกสุกรอบแห้งแบ่งเป็น 3 ส่วนเท่า ๆ กัน ปริมาณส่วนละ 25 กรัม ผสมกับสารละลายทั้ง 3 ชนิด ในปริมาตร 100 มิลลิลิตร ให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สำหรับการสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI) และสารละลายเกลือฟอสเฟสบัฟเฟอร์บัฟเฟอร์ (PBS) [1] ส่วนสารละลายเฮกเซน (Hexane) บ่มนาน 24 ชั่วโมง [11] ด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) (รุ่น WNE14 ยี่ห้อ MEMMERT ประเทศเยอรมนี) ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 90 นาที ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) (รุ่น EBA20 ยี่ห้อ HETTICH ประเทศแอลเบเนีย) เก็บตัวอย่างส่วนใสแล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Crude Protein) ด้วยวิธีลาวรี่ (Lowry Method)

นำสารสกัดรกสุกรสดและแห้งที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลายต่างๆ มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Lowry [12] โดยใช้ Lowry A (Na_2CO_3 20%, NaOH 0.4%, Sodium Tartrate 0.16%, Sodium Dodecyl Sulfate 1%) ผสมกับ Lowry B ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 4%) ในอัตราส่วน 100 : 1 เพื่อเตรียม Lowry C จากนั้นนำสารสกัดจากรกสุกรที่ได้มา 50 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับ Lowry C ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ที่ 25 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 15 นาที จากนั้นเติม Folinciocalteu

Reagent 25% ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ทำปฏิกิริยาที่ 25 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 45 นาที จากนั้นนำมาวัดการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่นแสง 620 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายโบวินซีรัมอัลบูมิน (Bovine Serum Albumin; BSA) เป็น สารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 10-1000 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร และเทียบปริมาณโปรตีนในสารสกัดรกหมูจากกราฟมาตรฐานของสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมินได้ปริมาณโปรตีนเป็นหน่วยมิลลิกรัมของสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมิน (mg of BSA)

2.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (2,2'-azinobis-[3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid]) assay

เมื่อ ABTS ได้รับการกระตุ้นด้วย Potassium Peroxide จะทำให้ ABTS เปลี่ยนไปเป็นอนุมูล $ABTS^{+\bullet}$ ที่มีสีฟ้าเขียวดูดกลืนแสงที่ความถี่ยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เมื่อมีสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระบบจะทำให้อนุมูล $ABTS^{+\bullet}$เปลี่ยนกลับมาเป็น ABTS ได้ ดังนั้น สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง จะได้สารละลายไม่มีสี ผสมสารละลาย $ABTS^{\circ}+$ ที่ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย Potassium Persulphate 2.45 มิลลิโมลาร์ บ่มในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมงก่อนใช้ทำปฏิกิริยา จึงเจือจางด้วยเอทานอล (Ethanol) 95% ก่อนใช้ จนได้ absorbance ~ 0.70±0.02 จากนั้นจึงผสมสารละลาย $ABTS^{\circ}+$ ปริมาณ 2 มิลลิลิตร และสารละลายตัวอย่าง 50 ไมโครลิตร บ่มเป็นเวลา 6 นาที และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 720 นาโนเมตร โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสารละลาย $ABTS^{\circ}+$ จากสีเขียวอมฟ้าเป็นไม่มีสี/จางลงและคำนวณหาปริมาณของสารต้านออกซิเดชั่นของสารละลายตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานโทลอกซ์ (Trolox) ได้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดในหน่วยมิลลิกรัมของโทลอกซ์ (mg ของ Trolox) [13]

3. ผลการศึกษาและอภิปรายผล

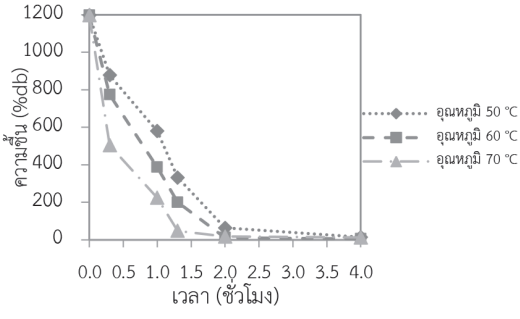
ผลการศึกษาและอภิปรายผลแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ผลการศึกษาสภาวะการอบแห้ง และผลการศึกษาสารละลายที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนและสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.1 ผลการศึกษาสภาวะการอบแห้งรกสุกร

3.1.1 ผลการอบแห้งรกสุกร

กราฟการเปลี่ยนแปลงปริมาณร้อยละความชื้นฐานแห้งเทียบกับเวลาการอบแห้งแสดงดังรูปที่ 1 แสดงถึงพฤติกรรมการอบแห้งของรกสุกร พบว่าความชื้นของรกสุกรทั้ง 3 อุณหภูมิ ก่อนกระบวนการอบแห้งมีปริมาณร้อยละความชื้นเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1197.10 1197.06±0.07 ฐานแห้ง (Dry Basis: d.b.) ต่อรกสุกรสด 100 กรัม หรือ 91.40-92.00±0.33 ฐานเปียก (Wet Basis: w.b.) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยที่รายงานว่ารกสุกรสดมีปริมาณความชื้นเท่ากับร้อยละ 90.02±1.308 ฐานเปียก [14] จากกราฟสามารถแบ่งช่วงการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นได้เป็น 2 ช่วง โดยช่วงแรกปริมาณความชื้นของรกสุกรลดลงอย่างรวดเร็ว (Falling Rate Period) ในระหว่างการอบแห้งที่ชั่วโมงที่ 0 ถึง 2 ทั้ง 3 อุณหภูมิของสภาวะการอบ เนื่องจากเริ่มต้นความชื้นภายในวัสดุมีค่าความชื้นสูงมาก จึงทำให้เกิดการระเหยของน้ำอย่างรวดเร็วด้วยอัตราการอบแห้งสูง [15], [16], [17] น้ำหนักรกสุกรลดลงเหลือ 12.58, 9.04 และ 8.56 กรัม คิดเป็นปริมาณความชื้นร้อยละ 62.91±0.54 17.25±0.31 และ 11.02±1.08 ฐานแห้ง สำหรับรกสุกรที่อบด้วยอุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ หลังจากนั้นในช่วงที่สองความชื้นในรกสุกรลดลงอย่างช้าๆ จนเกือบคงที่ ในระหว่างชั่วโมงที่ 2 ถึง 4 เนื่องจากความชื้นของชิ้นวัสดุเหลืออยู่น้อยทำให้การถ่ายเทมวลน้ำจากภายในชิ้น

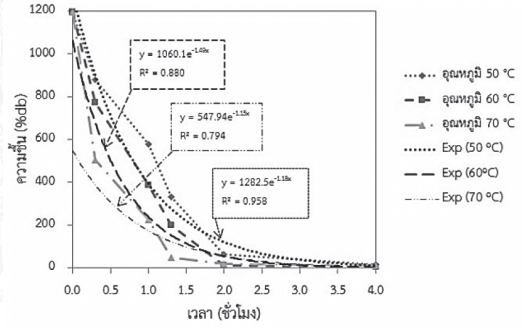
วัสดุไปที่ผิววัสดุมีน้อย จึงทำให้ความชื้นลดลงอย่างช้า ๆ จนคงที่ ช่วงอัตราการอลแห้งคงที่ (Constant Rate Period) [15], [16], [17] โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย 8.60±0.40, 8.55±0.27 และ 8.00±0.26 กรัม คิดเป็นปริมาณความชื้นร้อยละ 11.50±5.24, 10.59±3.57 และ 3.80±3.36 ฐานแห้ง สำหรับรกสุกรที่อบในสภาวะการอบที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสภาวะที่ดีที่สุดในการอบรกสุกรคืออุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง เนื่องจากใช้เวลาในการอบน้อยที่สุดที่จะทำให้ปริมาณน้ำที่อยู่ในตัวอย่างลดลงต่ำสุดคือปริมาณความชื้นร้อยละ 3.80±3.36 ฐานแห้ง หรือ 3.66±3.36 ฐานเปียก ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับรายงานวิจัยที่ทำการศึกษาการอบแห้งรกสุกรด้วยตู้อบลมร้อนด้วยอุณหภูมิ 60 และ 90 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง ให้ค่าปริมาณความชื้นสุดท้ายร้อยละ 5.11±1.73 และ 1.76±0.814 ฐานเปียก ตามลำดับ [14] นอกจากนั้นยังพบว่ามีการศึกษาการอบแห้งรกสุกรด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง วัดปริมาณความชื้นสุดท้ายได้ร้อยละ 8.59 ฐานเปียก ซึ่งใช้เวลานานและอุณหภูมิในการอบสูงกว่า [18]



รูปที่ 1 กราฟแสดงปริมาณความชื้นฐานแห้งของรกสุกรอบแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส

3.1.2 สมการอธิบายการอบแห้งรกสุกร

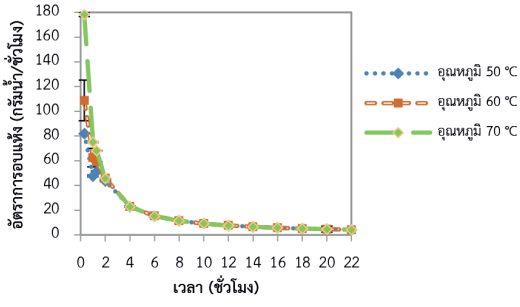
จากข้อมูลการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นฐานแห้งของรกสุกรในช่วงการอบชั่วโมงที่ 0 ถึง 4 นำมาสร้างเส้นแนวโน้ม เพื่อหาสมการในการอธิบายการเปลี่ยนแปลงความชื้นฐานแห้งกับเวลาของการอบแห้งรกสุกร ดังรูปที่ 2 โดยใช้สมการเอ็กซ์โพเนนเชียลในการสร้างเส้นแนวโน้ม [19] พบว่าการเปลี่ยนแปลงความชื้นเทียบกับเวลาสามารถอธิบายด้วยสมการเอ็กซ์โพเนนเชียลได้ โดยสมการที่ได้คือ $y=1282.5e^{-1.18x}$ $y=1060.1e^{-1.49x}$ และ $y=547.94e^{-1.15x}$ สำหรับการเปลี่ยนแปลงความชื้นเทียบกับเวลาของการอบแห้งรกสุกรที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และมีค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.96, 0.88 และ 0.79 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) ของสมการการทำนายการเปลี่ยนแปลงความชื้นฐานแห้งเทียบกับเวลาของการอบแห้งรกสุกรที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีค่าต่ำกว่าอุณหภูมิอื่น เนื่องจากช่วงแรกของการอบ (ชั่วโมงที่ 0-2) ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อเทียบกับช่วงเวลา 2-4 ชั่วโมง



รูปที่ 2 การสร้างสมการอธิบายการเปลี่ยนแปลงความชื้นของรกสุกรอบแห้งเทียบเวลาที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส

3.1.3 อัตราการอบแห้งรกสุกร

ในกระบวนการอบแห้งนั้นสิ่งสำคัญที่ใช้อธิบายกลไกการอบแห้งของวัสดุแต่ละชนิดได้ดีที่สุด คือ อัตราการอบแห้งซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงค่าความชื้นที่ระเหยออกไปต่อหน่วยเวลา ดังนั้นเมื่อนำข้อมูลน้ำหนักของน้ำในรกสุกรที่หายไประหว่างการอบแห้งมาคำนวณหาอัตราการอบแห้งโดยนำมาสร้างกราฟความสัมพันธ์เทียบกับเวลาแสดงดังรูปที่ 4 จากรูปพบว่าอัตราการอบแห้งของรกสุกร สามารถแบ่งเป็น 2 ช่วง โดยช่วงแรกอัตราการอบแห้งลดลงอย่างรวดเร็ว ที่เวลา 0 ถึง 4 ชั่วโมงโดยอัตราการอบแห้งหรืออัตราการระเหยน้ำของรกสุกรที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เท่ากับ 82.03±6.65, 108.76±29.12 และ178.30±6.65 กรัมน้ำต่อชั่วโมง จะเห็นได้ว่าอัตราการอบแห้งที่สภาวะการอบด้วยอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีค่าสูงสุด รองลงมาคือสภาวะการอบด้วยอุณหภูมิ 60 และ 50 องศาเซลเซียส ตามลำดับ กล่าวคือสภาวะการอบด้วยอุณหภูมิสูงทำให้อัตราการอบแห้งมีค่าสูง เนื่องจากอุณหภูมิสูงทำให้เกิดอัตราการแลกเปลี่ยนความร้อนสูงจากความแตกต่างของอุณหภูมิในตู้อบกับอุณหภูมิของรกสุกร และในช่วงที่สองของการอบแห้งคือช่วงอัตราการอบแห้งลดลงที่ช่วงเวลาชั่วโมงที่ 4 ถึง 22 พบว่ามีอัตราการอบแห้งของรกสุกรที่ใกล้เคียงกันทั้ง 3 อุณหภูมิ เนื่องจากปริมาณน้ำที่เหลืออยู่ในวัสดุมีปริมาณน้อยใกล้เคียงกัน



รูปที่ 3 อัตราการอบแห้งของรกสุกรอบแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส

3.2 ผลการศึกษาการสกัดโปรตีนและสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากรกสุกร

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสกัดโปรตีน (Crude Protein) และสารออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ในรกสุกรสดเปรียบเทียบกับรกสุกรแห้งด้วยสารละลาย 3 ชนิด ได้แก่ น้ำปราศจากไอออน สารละลายเกลือฟอสเฟสบัฟเฟอร์ และ เฮกเซน ผลของประสิทธิภาพการสกัดคำนวณได้จากร้อยละน้ำหนักของสารที่สกัดได้ต่อน้ำหนักสารตั้งต้น (%yield) และการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและสารออกฤทธิ์

3.2.1 ร้อยละผลได้ของการสกัดรกสุกร (%yield)

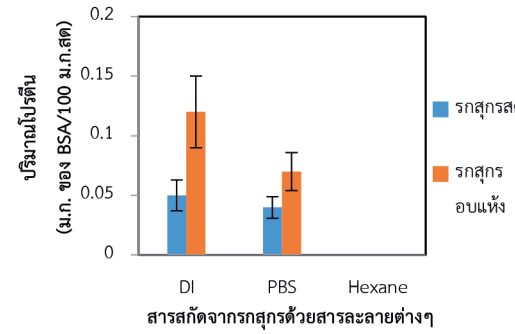
ร้อยละผลที่ได้ (%yield) ของการสกัดรกสุกรสดและแห้งจากการใช้สารละลายทั้ง 3 ชนิด แสดงในตารางที่ 1 พบว่ารกสุกรแห้งให้ปริมาณสารสกัดสูงกว่ารกสุกรสดในทุกสภาวะการสกัดด้วยสารละลายทั้ง 3 ชนิด และสารละลายที่สกัดได้สูงสุดคือ Phosphate Buffered Saline (PBS Buffer) ได้ค่าร้อยละผลได้ของการสกัด (% yield) มากกว่าการสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI water) และเฮกเซน (Hexane) ตามลำดับ โดยมีค่าร้อยละผลได้เท่ากับร้อยละ 7.48 3.20 และร้อยละ 0.60 โดยมวล (%w/w) ตามลำดับ สำหรับการสกัดรกสด และ 53.50, 41.70 และ 5.00 โดยมวล (%w/w) ตามลำดับ สำหรับการสกัดรกแห้ง

ตารางที่ 1 ร้อยละผลที่ได้ (%yield) ของการสกัดรกสุกรสดและแห้ง

Solvents	% yield (%w/w)	
	fresh placenta	dried placenta
DI water	3.20	41.70
PBS	7.48	53.50
Hexane	0.60	5.00

3.2.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Crude Protein)

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในรกสุกร สำหรับงานวิจัยนี้ใช้วิธีลาวรี่ (Lowry Method) ผลการศึกษาแสดงดังรูปที่ 4 จากรูปพบว่าไม่พบปริมาณโปรตีนในตัวอย่างรกสุกรที่สกัดด้วยสารละลายเฮกเซน (Hexane) ทั้งในตัวอย่างรกสดและรกแห้ง เนื่องจากสารละลายเฮกเซนเป็นตัวทำละลายไม่มีขั้วโดยส่วนใหญ่ใช้สกัดน้ำมันจากพืชในอุตสาหกรรมอาหาร แต่โปรตีนเป็นสารละลายมีขั้วละลายได้ดีในน้ำจึงทำให้ไม่สามารถสกัดออกมาได้ด้วยเฮกเซน แต่สารละลายน้ำปราศจากไอออน (Deionized Water: DI) และ สารละลายเกลือฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (Phosphate Buffered Saline: PBS) สามารถสกัดโปรตีนออกมจากรกสุกรได้ โดยพบว่าสารสกัดมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.05±0.013 และ 0.04±0.009 มิลลิกรัมของโบวินซีรัมอัลบูมินต่อ 100 มิลลิกรัมของรกสด ตามลำดับสำหรับรกสด และ 0.12±0.030 และ 0.07±0.016 มิลลิกรัมของโบวินซีรัมอัลบูมินต่อ 100 มิลลิกรัมของรกสด ตามลำดับสำหรับรกแห้ง กล่าวได้ว่าสารละลายน้ำปราศจากไอออน (DI) สามารถใช้เป็นสารละลายที่ใช้ในการสกัดโปรตีนในรกสุกรได้ และสารสกัดจากรกสุกรแห้งให้ปริมาณโปรตีนสูงกว่าสารสกัดจากรกสุกรสดประมาณ 2 เท่า แต่อย่างไรก็ตามในรายงานวิจัยพบว่ารกสุกรอบแห้ง (อบด้วยอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง) ที่ยังไม่ได้สกัดมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 84.50 สูงกว่ารกสุกรสด 4 เท่า ซึ่งรกสดมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 21.12 [18] และรกสุกรอบแห้ง(อบด้วยตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 60 และ 90 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง) มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 76.24±3.279 และ 78.88±2.949 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่ารกสุกรสดที่มีปริมาณความชื้นร้อยละ 79.26 ฐานเปียก ถึง 5 เท่า โดยรกสดมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 14.41 [14] แสดงว่าการสกัดโปรตีนจากรกสุกรทำให้ได้สารสกัดที่มีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในรกสุกร

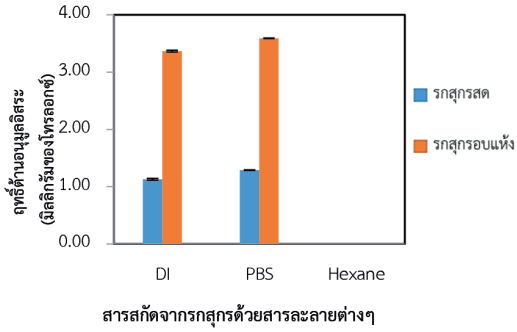


รูปที่ 4 ปริมาณโปรตีนในสารสกัดจากรกสุกรสดและรกสุกรอบแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

3.2.3 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในตัวอย่างรกสุกรสดและรกสุกรอบแห้ง วิธีที่ใช้ในการทดลองนี้คือ การวิเคราะห์ด้วยสารละลาย ABTS โดยทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดจากรกสุกรสดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ น้ำปราศจากไอออน (DI) สารละลายเกลือฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (PBS) และตัวทำละลายเฮกเซน (Hexane) ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 6 พบว่าไม่พบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในรกสุกรสดและรกสุกรอบแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน (Hexane) เนื่องจากเฮกเซนเป็นตัวทำละลายที่ใช้สำหรับการสกัดสารละลายที่ไม่มีขั้ว แสดงว่าในรกสุกรไม่มีสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสารประกอบมีขั้วเลย แต่พบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากรกสุกรสดและรกสุกรอบแห้งที่สกัดด้วยสารละลายน้ำปราศจากไอออน (DI) และสารละลายเกลือฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (PBS) โดยปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรกหมูสดมีปริมาณ 1.13±0.033 และ 1.29±0.038 มิลลิกรัมของโทลอกซ์ต่อ 100 มิลลิกรัมรกสด สำหรับสารสกัดจากรกสุกรด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI) และสารละลายเกลือฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (PBS) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบผลที่ได้กับรายงานวิจัยที่ได้ทำการสกัดสารจากรกสุกรสดด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI) พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 40

ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร [5] และสารสกัดจากรกสุกรอบแห้งพบว่ามีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 3.37±0.016 และ 3.59±0.005 มิลลิกรัมของโทรลอกซ์ต่อ 100 มิลลิกรัมรกสด สำหรับสารสกัดจากรกสุกรที่สกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI) และสารละลายเกลือฟอสเฟส (PBS) ตามลำดับ ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าพบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรกสุกรอบแห้งมากกว่ารกสุกรสด 3 เท่า และสารละลายทั้ง 2 ชนิดสามารถใช้สกัดรกสุกรให้ได้ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี แต่สารละลายเกลือฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (PBS) สามารถสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าน้ำปราศจากไอออน (DI) เพียงเล็กน้อย



รูปที่ 5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากรกสุกรสดและรกสุกรอบแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

4. สรุป

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าควรเตรียมรกสุกรด้วยวิธีการอบแห้งก่อนนำมาสกัด เนื่องจากเมื่อนำมาสกัดแล้วพบว่าให้ปริมาณโปรตีนและสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูงกว่ารกสุกรสดและสามารถเก็บวัตถุดิบได้นาน โดยสภาวะการอบแห้งที่เหมาะสม ได้แก่ การอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง โดยมีความชื้นสุดท้ายร้อยละ 3.80±3.36 ฐานแห้ง หรือร้อยละ 3.66±3.36 ฐานเปียก และสารละลายที่สามารถทำการสกัดได้ดีทั้งโปรตีน และสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากรกสุกร คือ น้ำปราศจากไอออน (DI) ซึ่งเป็นสารละลายที่เตรียมง่ายและราคาไม่สูง โดยพบปริมาณโปรตีน 0.12±0.030 มิลลิกรัมของโบวินซีรัมอัลบูมินต่อปริมาณรกสด 100 มิลลิกรัม และพบสารสกัดที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงถึง 3.37±0.016 มิลลิกรัมของโทรลอกซ์ต่อ 100 มิลลิกรัมรกสด ดังนั้นรกสุกรอบแห้งนำมาสกัดสารสำคัญเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางเวชสำอางได้ดีกว่ารกสุกรสด และเพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดอาจมีการศึกษาสภาวะกรดเบสหรือปัจจัยด้านอุณหภูมิในลำดับต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนภายใต้ “โครงการส่งเสริมการผลิตผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา” ประจำปี 2558 จากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา

6. เอกสารอ้างอิง

[1] H. J. Park et al., “Immune Modulation Effect of Pig Placenta Extracts in a Mouse Model: Putative Use as a Functional Food Supplement,” *Korea Journal Food Science and Animal Resource*, vol. 31, no. 5, pp. 701-709, Oct. 2011.

[2] W. Phuapradit, B. Chanrachakul, P. Thuvasethakul, S. Leelaphiwat, S. Sassanarakkit, and S. Chanworachaikul, “Nutrients and hormones in heat-dried human placenta,” *Journal of the Medical Association of Thailand*, vol. 83, no. 6, pp. 690-694, 2000.

[3] B. Y. Kim, T. G. Kim, W. Y. Kang, H. Baek, H. Y. Cheon and D. U. Kim, “Functional cosmetic effect of porcine placenta,” *Korean Chemical Engineering Research*,

vol. 48, no. 3, pp. 327-331, Jun. 2010.

[4] C. Yoshikawa, F. Takano, Y. Ishigake, M. Okada, S. Kyo, N. Suzuki, K. Sugiura and K. Koike, "Effect of porcine placental extract on collagen production in human skin fibroblasts *In Vitro*," *Gynecol Obstet,* vol. 3, no. 6, pp. 1-4, Nov. 2013.

[5] W. Tang, M. Zhang and Z. Fang, "Optimization of ultrasound-assisted-extraction of porcine placenta water-soluble proteins and evaluation of the antioxidant activity," *Journal of Food Science and Technology*, vol. 52, no. 7, pp. 4042-4053, Jul. 2015.

[6] D. W. Gu, M. J. Kim, M. G. Gwak, H. J. Cho and H. S. Lee, "A method for preparing pig placental extract to use as a feed additive and use thereof," *Patent WO2008002005A1*, Jan. 2008.

[7] O. Ruksounjik, S. Klaynongsruang, C. Hahnvajanawong and W. Khunkitti, "Bioactivities of goat placenta hydrolysates," *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 12, no. 3, pp. 61-71, 2016.

[8] A. Jash et al., "Topical application of porcine placenta extract inhibits the progression of experimental contact hypersensitivity," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 133, no. 2, pp. 654-662, Jan. 2011.

[9] S. H Park, J. H. Kim, S. G. Min, Y. J. Jo and J. Y. Chun, "Effects of Ethanol Addition on the Efficiency of Subcritical Water Extraction of Proteins and Amino Acids from Porcine Placenta," *Korean journal for food science of animal resources*, vol. 35, no. 2, pp. 265-271, Apr. 2015.

[10] N. Mahey, D. Arwapark and D. Pichairatana, "Optimization of high protein hydrolysate extraction from hard clam (*Meretrix casta*) using response surface methodology," *KKU science journal*, vol. 43, no. 3, pp. 425-438, 2015.

[11] M. W. Noall, H. A. Salhanick, G. M. Neher and M. X. Zarrow, "Method for the isolation of progesterone from human placentae," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 201, pp. 321-328, 1953.

[12] O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall, "Protein measurement with the folin phenol reagent," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 193, no. 1, pp. 265-275, Nov. 1951.

[13] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. R. Evans, "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 26, pp. 1231-1237, May 1999.

[14] A. Jang, C. Jo, I. J. Kim and M. Lee, "Nutritional quality of dried pig placenta," *Journal of Food Science and Nutrition*, vol. 12, pp. 89-94, Jun. 2007.

[15] J. Kunwisana, S. Prachayawarakorn and S. Soponronnarith, "Effect of drying temperature on volatile compounds and physical qualities of banana slices," *KMUTT Research and Development*

Journal, vol. 30, no. 4, pp. 611-621, 2007.

[16] S. Tirawanichakul, S. Lamaepae and Y. Tirawanichakul, "Combined infrared/ microwave and hot air drying for jackfruit: Kinetics quality sensory analysis," *Burapha Science Journal*, vol. 17, no. 1, pp. 117-129, Jan. 2012.

[17] S. Tirawanichakul, W. Naphatthalung and Y. Tirawanichakul, "Drying strategy of shrimp using hot air convection and hybrid infrared radiation/hot air convection," *Walailak Journal of Science and Technology*, vol. 55, no. 1, pp. 77-100, Jan. 2008.

[18] C. Supakorn and S. Thongpassno, "Effect of Dried Porcine Placenta on Growth Performance in Post-Weaning Pigs," *Walailak Journal of Science and Technology*, vol. 8, no. 2, pp. 167-173, Jun. 2011.

[19] A. Sae-Khow, S. Tirawanichakul and Y. Tirawanichakul, Effect of drying with heat convection and heat radiation on drying kinetics and quality aspect of black pepper," *Burapha Science Journal*, vol. 18, no. 1, pp. 166-180, Jan. 2013.