

การวิเคราะห์หาปริมาณอัลลีลในหัวกระเทียมและผลิตภัณฑ์กระเทียม
โดยเทคนิคที่แอลซี-เดนซิโตเมตรี



นางสาวอาทิมนต์ แพทยานนท์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาเภสัชเวท

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2538

ISBN 974-632-671-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

QUANTITATIVE DETERMINATION OF ALLIIN IN GARLIC BULBS
AND
GARLIC PREPARATIONS BY TLC-DENSITOMETRY

MISS ARTHIMOND BEADYANONDA

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy
Department of Pharmacognosy

Graduate School

Chulalongkorn University

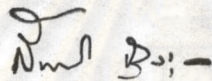
1995

ISBN 974-632-671-6

Copyright of the Graduate School, Chulalongkorn University

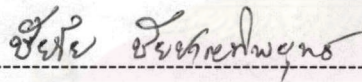
หัวข้อวิทยานิพนธ์ การวิเคราะห์หาปริมาณอัลลิอินในหัวกระเทียม และผลิตภัณฑ์กระเทียม
โดยเทคนิคที่แอลซี-เดนซิโตเมตรี
โดย นางสาวอาทิมนต์ แพทยานนท์
ภาควิชา เกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย ดีเอกนามกุล

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

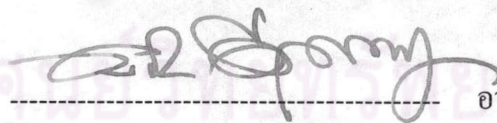


----- คณะบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. สันติ ดุงสุวรรณ)

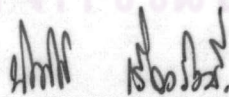
คณะกรรมการ



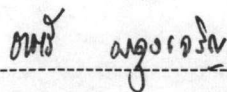
----- ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ชัยโย ชัยชาตพิพุกท)



----- อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย ดีเอกนามกุล)



----- กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. นิจศิริ เรืองรังษี)



----- กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ชาติรี ผดุงเจริญ)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว



อาทิมนต์ แพทยานนท์ : การวิเคราะห์หาปริมาณอัลลิอินในกระเทียมและผลิตภัณฑ์กระเทียม โดยเทคนิคที่แอลซี-เดนซิโตเมตรี (QUANTITATIVE DETERMINATION OF ALLIIN IN GARLIC BULBS AND GARLIC PREPARATIONS BY TLC-DENSITOMETRY) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.วันชัย ดีเอโกนามกุล, 121 หน้า. ISBN 974-632-671-6

อัลลิอิน เป็นสารสำคัญตัวหนึ่งที่มีอยู่ในกระเทียม เนื่องจากเป็นสารต้นกำเนิดของอัลลิซิน ซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์กำมะถันที่ให้ฤทธิ์ทางชีวภาพมากมาย ดังนั้นการวิเคราะห์หาปริมาณอัลลิอินใน หัวกระเทียมและผลิตภัณฑ์ของกระเทียมจึง เป็นวิธีหนึ่งที่สามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของวัตถุดิบและ ผลิตภัณฑ์ของกระเทียมได้

ที่แอลซี-เดนซิโตเมตรี เป็นวิธีหนึ่งที่น่ามาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลลิอิน เพื่อใช้ในการ ประเมินคุณภาพของกระเทียมพันธุ์ต่าง ๆ ที่ปลูกในประเทศไทย และผลิตภัณฑ์ของกระเทียมที่ใช้เป็นอาหาร เสริมสุขภาพ วิธีการนี้เริ่มโดยทำการสกัดสารอัลลิอินออกจากตัวอย่างโดยใช้เมธานอลแล้วนำมาทำการ แยกโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีฉาบบาง ซึ่งมีแผ่นซิลิกาเจล เป็นวัสดุภาคคงที่และมีระบบตัวทำละลายของ วิทยาศาสตร์เคลื่อนที่เป็นนอร์แมลโพลิวทานอล อะซิโตน กรดแอสติกกลั่น และน้ำ ในอัตราส่วน 35:35:7:23 นำแผ่นโครมาโทกราฟีฉาบบางที่ได้มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณอัลลิอินโดยใช้เครื่องมือที่แอลซี-เดนซิโต- มิเตอร์ พบว่าจากตัวอย่างกระเทียมทั้ง 7 พันธุ์ที่นำมาทำการทดลอง พันธุ์จีน 2 จะมีปริมาณอัลลิอินมาก กว่าร้อยละ 2 โดยน้ำหนักแห้ง และในผลิตภัณฑ์กระเทียม 11 ตัวอย่าง สามารถตรวจสอบพบอัลลิอินได้ 8 ตัวอย่าง โดยมีปริมาณของอัลลิอินอยู่ในช่วงร้อยละ 1.30-1.25 โดยน้ำหนัก และจากผลิตภัณฑ์ที่ ตรวจสอบพบอัลลิอินนี้ จะมีเพียง 4 ตัวอย่างเท่านั้น ที่สามารถตรวจพบเอนไซม์อัลลิอินเนส ซึ่งเอนไซม์นี้จะมี ความสำคัญในการเกิดของสารอัลลิซินในระบบทางเดินอาหาร

การวิเคราะห์หาปริมาณอัลลิอิน โดยเทคนิคที่แอลซี-เดนซิโตเมตรีนี้เป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว และ สามารถทำการวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมากได้ในเวลาเดียวกัน ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าวิธีนี้มีความแม่นยำ สูง เมื่อทำการเปรียบเทียบกับเทคนิคเอชพีแอลซี วิทยานิพนธ์นี้เป็นที่ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณของอัลลิอินใน กระเทียมและผลิตภัณฑ์กระเทียมที่ใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ ซึ่งจากข้อมูลที่ได้สามารถนำมาสรุปและนำไปใช้ในการคัดเลือกพันธุ์กระเทียมที่เหมาะสม เป็นวัตถุดิบในการนำมาผลิต เป็นผลิตภัณฑ์กระเทียมและ สามารถนำมาเป็นข้อมูลในการประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์กระเทียมที่ใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา เกษัชเวช
สาขาวิชา เกษัชเวช
ปีการศึกษา 2538

ลายมือชื่อนิสิต อาทิมนต์ แพทยานนท์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม



##C675423 : MAJOR PHARMACOGNOSY

KEY WORD: *ALLIUM SATIVUM* L./ ALLIIN/ GARLIC/ TLC-DENSITOMETRY

ARTHIMOND BEADYANONDA : QUANTITATIVE DETERMINATION OF ALLIN IN GARLIC BULBS AND GARLIC PREPARATIONS BY TLC-DENSITOMETRY. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. WANCHAI DE-EKNAMKUL, Ph.D. 121 pp. ISBN 974-632-671-6

Alliin is an important component in garlic bulbs because it is the precursor of allicin, the sulfur-containing compound with various biological activities. Therefore, determination of alliin content in garlic bulbs and their health-food products could lead to quality improvement of both the raw material and the garlic products.

To evaluate the quality of various garlic varieties of Thailand and their products, a TLC-densitometric technique was used to determine the content of alliin. The method involved alliin extraction from the sample by using methanol followed by separation of the compound by TLC (silica gel) using n-BuOH, acetone, glacial acetic acid and water (35:35:7:23) as mobile phase. The TLC plate was then analyzed for alliin content by TLC-densitometer. Among 7 garlic bulb samples, it appeared that Chinese variety #2 cultivated at Cheing-Mai experiment field gave more than 2% alliin by dry weight of garlic bulbs. Of 11 garlic health-food products, 8 of them contained alliin in the range between 1.30-2.15% by dry weight but only 4 of those containing alliin have alliinase enzyme activity which is necessary for producing allicin in the digestive system.

The quantitative analysis of alliin by TLC-densitometry is simple, rapid and allows many samples to be analyzed at one time. It is highly accurate as shown in this study by comparison with HPLC method. The method is, therefore, useful for selection of the suitable garlic varieties to be used as raw material for garlic health food and also to evaluate the quality of the finished products.


ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา..... เภสัชเวท.....

สาขาวิชา..... เภสัชเวท.....

ปีการศึกษา..... 2538.....

ลายมือชื่อนิสิต..... อภิพนต์ ทรัพย์านนท์.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... 

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....



กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย ดีเอกนามกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องของการศึกษาวิจัย ตลอดจนให้ความรู้และข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ด้วยดีตลอดมา

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ, รองศาสตราจารย์ ดร. นิจศิริ เรืองรังษี และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ธาตรี ผดุงเจริญ ที่ได้กรุณาตรวจสอบแก้ไขให้วิทยานิพนธ์เรื่องนี้มีคุณภาพถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ ภาควิชาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความรู้ตลอดการศึกษาในระดับมหาบัณฑิต

ขอขอบพระคุณเพื่อนๆทุกคนที่ได้ช่วยเหลือในการทำวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาสนับสนุนทุนบางส่วนในการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

อาทิมนต์ แพทยานนท์



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง.
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ.
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ.
สารบัญรูป.....	ฉ.
สารบัญตาราง.....	ฐ.
คำอธิบายลักษณะและคำย่อ.....	ฒ.
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. วารสารปริทัศน์.....	4
3. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ.....	35
อุปกรณ์.....	35
วิธีการ.....	41
ส่วนที่ 1 การสูมตัวอย่าง.....	42
ส่วนที่ 2 การหาปริมาณน้ำในตัวอย่างกระเทียม.....	43
ส่วนที่ 3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหาปริมาณอัลลิอิน ด้วยเทคนิคทาง TLC-Densitometry.....	44
ส่วนที่ 4 การศึกษาวิธีวิเคราะห์การหาปริมาณอัลลิอิน โดยเทคนิค HPLC.....	50
4. ผลการวิจัย.....	55
4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณอัลลิอินในกระเทียม โดยเทคนิค TLC-densitometry	55
4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณอัลลิอินในกระเทียม โดยใช้เทคนิคทาง HPLC.....	66
4.3 การเปรียบเทียบความแม่นยำของเทคนิค TLC-densitometry กับเทคนิค HPLC.....	81
4.4 การสกัดสารอัลลิอิน จากกระเทียมตัวอย่าง.....	83
4.5 ปริมาณน้ำในตัวอย่างกระเทียม.....	84
4.6 ปริมาณสารอัลลิอินในกระเทียมที่ปลูกในประเทศไทย.....	86
4.7 ปริมาณสารอัลลิอินในผลิตภัณฑ์กระเทียมที่ใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ...	89

5. การวิจารณ์ผลการทดลอง.....	94
6. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	98
เอกสารอ้างอิง.....	101
ประวัติผู้เขียน.....	121



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1 การเกิดของสารอัลลิซิน โดยมีสารอัลลิอินเป็นสารตั้งต้น.....	1
2 ส่วนต่างๆของกระเทียม.....	6
3 ภาพจุลทรรศน์ลักษณะของหัวกระเทียม.....	7
4 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนสารอัลลิอินไปเป็นสารอัลลิซิน โดยเอนไซม์อัลลิอินเนส.....	17
5 การสลายตัวของสารอัลลิซินไปเป็นสารประกอบซัลเฟอร์ต่างๆ.....	19
6 รูปโครงสร้างของอัลลิซิน.....	21
7 รูปแสดงสูตร โครงสร้างของอัลลิอิน.....	29
8 IR spectrun ของอัลลิอินที่ได้จากการสังเคราะห์.....	32
9 การเกิดปฏิกิริยาอนุพันธ์ของอัลลิอินกับสาร OPA และ tert-butylthiol...	32
10 HPLC โครมาโทแกรมของอัลลิอินที่ได้จากการสังเคราะห์.....	33
11 HPLC โครมาโทแกรมของอัลลิอินในกระเทียมผง.....	34
12 ภาพถ่ายของกระเทียมพันธุ์ต่างๆ.....	37
13 ภาพถ่ายผลิตภัณฑ์กระเทียมชนิดต่างๆ.....	37
14 ภาพถ่ายเครื่อง TLC-Densitometer.....	40
15 ภาพถ่ายเครื่อง HPLC.....	40
16 ชุดเครื่องมือกลั่นมาตรฐานแบบ Toluene Moisture Apparatus.....	43
17 ผลของระบบตัวทำละลายของวัฏภาคเคลื่อนที่ต่างๆต่อการแยกของสารในสารสกัดกระเทียม.....	57
18 ภาพถ่ายของการตรวจหาตำแหน่งของสารอัลลิอิน.....	59
19 สเปกตรัมของการดูดกลืนแสงของสารอัลลิอิน.....	61
20 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบของกระเทียมที่ผ่านการแยกโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีฉบับาง.....	62
21 ผลของปริมาณนินไฮดรินที่พ่นลงบนแผ่น TLC ต่อพื้นที่ใต้พีคของอัลลิอิน	63
22 สเปกตรัมของสารมาตรฐานอัลลิอินที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้น.....	65
23 กราฟมาตรฐานของสารอัลลิอิน.....	65

24	ปฏิกิริยาการเกิดอนุพันธ์ของสารอัลลิอินกับ OPA.....	66
25	ลักษณะโครมาโทแกรมของสารสกัดกระเทียมในระบบตัวทำละลาย 1....	68
26	ลักษณะโครมาโทแกรมของสารสกัดกระเทียมในระบบตัวทำละลาย 2....	69
27	ลักษณะโครมาโทแกรมของสารสกัดกระเทียมในระบบตัวทำละลาย 3....	70
28	ลักษณะโครมาโทแกรมของสารสกัดกระเทียมในระบบตัวทำละลาย 4....	71
29	ลักษณะโครมาโทแกรมของสารสกัดกระเทียมในระบบตัวทำละลาย 5....	72
30	ลักษณะโครมาโทแกรมของสารสกัดกระเทียมในระบบตัวทำละลาย 6....	73
31	ลักษณะโครมาโทแกรมของสารสกัดกระเทียมในระบบตัวทำละลาย 7....	74
31	ลักษณะโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานอัลลิอินในระบบตัวทำละลาย 7....	74
33	ลักษณะโครมาโทแกรมของสารอัลลิอินและอินเทอร์นอลสแตนดาร์ด.....	77
34	ลักษณะโครมาโทแกรมของสารสกัดกระเทียมและอินเทอร์นอลสแตนดาร์ด	78
35	กราฟมาตรฐานของสารอัลลิอิน.....	80
36	ลักษณะโครมาโทแกรมของสารสกัดกระเทียมที่วิเคราะห์โดย TLC-Densitometry.....	86
37	ลักษณะโครมาโทแกรมของสารสกัดกระเทียมที่วิเคราะห์โดย HPLC.....	87
38	ลักษณะโครมาโทแกรมของสารสกัดผลิตภัณฑ์กระเทียมที่วิเคราะห์โดย TLC-Densitometry.....	89
39	ลักษณะโครมาโทแกรมของสารสกัดผลิตภัณฑ์กระเทียมที่วิเคราะห์โดย HPLC.....	90
40	ลักษณะ HPLC โครมาโทแกรมของสารสกัดผลิตภัณฑ์กระเทียมที่ตรวจ ไม่พบสารอัลลิอินเมื่อวิเคราะห์ ด้วย TLC-Densitometry.....	91
41	ลักษณะโครมาโทแกรมของผลิตภัณฑ์กระเทียมที่นำมาตรวจหาการมีอยู่ ของเอนไซม์อัลลิอินเนส.....	93

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ลักษณะประจำพันธุ์ของกระเทียม.....	9
2 องค์ประกอบด้านพฤกษเคมีของกระเทียม.....	14
3 ลำดับการพัฒนาในเรื่องความรู้ทางเคมีของสารสำคัญในกระเทียม.....	15
4 สารอาหารที่มีในกระเทียมสด.....	16
5 องค์ประกอบหลักของผลิตภัณฑ์น้ำมันกระเทียม.....	20
6 ผลของความเป็นกรดต่างต่อการเกิดของสารประกอบซัลเฟอร์.....	21
7 องค์ประกอบหลักของผลิตภัณฑ์น้ำมันกระเทียมที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำ.....	27
8 รายละเอียดของกระเทียมพันธุ์ต่างๆที่ใช้ในการวิจัย.....	35
9 รายละเอียดของผลิตภัณฑ์กระเทียมต่างๆที่ใช้ในการวิจัย.....	36
10 รายละเอียดของระบบตัวทำละลายของวัฏภาคเคลื่อนที่.....	45
11 รายละเอียดเกี่ยวกับส่วนประกอบของระบบตัวทำละลาย และค่า Rf value ของสารอัลลิอิน.....	56
12 ปริมาณอัลลิอินจากสารสกัดกระเทียมที่ทำการวิเคราะห์จาก เทคนิค TLC-densitometry เปรียบเทียบกับเทคนิค HPLC.....	81
13 การวิเคราะห์ความเที่ยงตรงของเทคนิค TLC-densitometry	82
14 เปรียบเทียบปริมาณอัลลิอินที่ได้จากวิธี TLC-densitometry กับเทคนิค HPLC ในกระเทียมพันธุ์ต่างๆ.....	83
15 ปริมาณน้ำในตัวอย่างกระเทียมพันธุ์ต่างๆ.....	85
16 ปริมาณอัลลิอินของกระเทียมพันธุ์ต่างๆที่ปลูกในประเทศไทย.....	88
17 ปริมาณอัลลิอินของผลิตภัณฑ์กระเทียม.....	92
18 เปรียบเทียบปริมาณอัลลิอินที่ได้จากวิธี TLC-densitometry กับเทคนิค HPLC ในผลิตภัณฑ์กระเทียม.....	95

คำอธิบายสัญลักษณ์และตัวย่อ

มก.	มิลลิกรัม
มคก.	ไมโครกรัม
มล.	มิลลิลิตร
มคด.	ไมโครลิตร
มม.	มิลลิเมตร
ซม.	เซนติเมตร
ซม ²	ตารางเซนติเมตร
°ซ.	องศาเซลเซียส
%	เปอร์เซ็นต์ หรือร้อยละ
nm	nanometre
ml	millilitre
µg	microgram
µl	microlitre
M	Molar
min	minute



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย